

Ewa Sozańska, Adam Barczyk, Marta Biedroń-Machura, Władysław Pierzchała

Katedra i Klinika Pneumonologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
Kierownik: prof. dr hab. n. med. W. Pierzchała

Przydatność badania płwociny indukowanej w diagnostyce niektórych przewlekłych chorób zapalnych układu oddechowego

Usefulness of induced sputum in the diagnostics of selected chronic inflammatory airway diseases

Abstract

Introduction: Usefulness of the cytological analysis in diagnostics some of chronic inflammatory diseases of the respiratory system was assessed on the basis of the normal values for the composition of sputum inflammatory cells among healthy inhabitants of Silesia.

Material and methods: Examined: 96 healthy subjects (control group), 42 patients with bronchial asthma, 49 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and 30 patients with chronic bronchitis (CB). Spirometry, before and 15 minutes after 200 μ g of salbutamol, and sputum examination were performed in all participants. Airway responsiveness on metacholine was performed in people with no contraindication.

Results: In comparison to the control group, the percentage of eosinophils was significantly higher in all patients ($p < 0.00001$). Median values were following: asthma patients – 10.3%, COPD patients — 1.5%, CB patients — 1.6% and control subjects — 0.3%. Important statistic differences ($p < 0.05$) have been observed in the average percentage of the neutrophils in induced sputum between healthy subjects and patients with asthma, COPD and CB. Respective median values were: 45.75%, 38.1%, 77.5% and 58.1%. The percentage of patients whose sputum eosinophils results were above the normal values ($> 2.8\%$) was as follows: 85% of the number of patients with bronchial asthma, 38% of patients with COPD, 20% of patients with CB and 6% of healthy subjects.

Conclusions: These results suggest that cytological examination of induced sputum is a good adjunctive test in diagnostics of the chronic inflammatory diseases of the respiratory system. The percentage of eosinophils in induced sputum above 2.8% most probably confirms bronchial asthma diagnosis.

Key words: induced sputum, bronchial asthma, COPD, CB

Pneumonol. Alergol. Pol. 2009; 77: 349–356

Streszczenie

Wstęp: Na podstawie wyznaczonych wartości prawidłowych dla składu komórek zapalnych w płwocinie indukowanej osób zdrowych zamieszkałych na Śląsku określono przydatność badania cytologicznego płwociny indukowanej w diagnostyce astmy oskrzelowej, przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP) oraz przewlekłego zapalenia oskrzeli (PZO).

Material i metody: Analizą objęto wyniki badań pochodzące od 96 zdrowych osób (grupa kontrolna), 42 osób chorych na astmę oskrzelową, 49 pacjentów chorych na POChP oraz od 30 osób chorych na PZO. Wszystkim badanym wykonano spirometrię z próbą odwracalności po inhalacji 200 μ g salbutamolu, badanie indukowanej płwociny oraz, osobom bez przeciwwskazań, badanie nadreaktywności oskrzeli z metacholiną.

Wyniki: Stwierdzono znamienne podwyższone ($p < 0,00001$) odsetek eozynofiliów we wszystkich badanych grupach chorych w porównaniu z grupą kontrolną. Wartości median wynosiły: dla astmy oskrzelowej — 10,3%, dla POChP — 1,5%, dla PZO — 1,6%, dla grupy kontrolnej — 0,3%. Zauważono istotne statystycznie różnice ($p < 0,05$) pomiędzy średnimi odsetkami neutrofilów w płwocinie indukowanej osób zdrowych a chorymi na astmę oskrzelową, POChP i PZO. Wartości median wynosiły kolejno: 45,75%; 38,1%; 77,5% i 58,1%. Odsetek chorych z dodatnim wynikiem eozynofiliów w płwocinie

Adres do korespondencji: dr n. med. Ewa Sozańska, Katedra i Klinika Pneumonologii ŚUM, SPCSK, ul. Medyków 14, 40–752 Katowice, tel./faks: (+ 48 32) 252 38 31, e-mail: esozanska@poczta.fm

Praca wpłynęła do Redakcji: 8.09.2008 r.
Copyright © 2009 Via Medica
ISSN 0867–7077

(> 2,8%) wynosił w grupie chorych na astmę oskrzelową 85%, chorych na POChP — 38%, chorych na PZO — 20%, w grupie kontrolnej — 6%.

Wnioski: 1. Badanie cytologiczne indukowanej płwociny jest dobrym testem wspomagającym diagnostykę przewlekłych chorób zapalnych dróg oddechowych. 2. Odsetek eozynofiliów w płwocinie indukowanej powyżej 2,8% z dużym prawdopodobieństwem potwierdza rozpoznanie astmy oskrzelowej.

Słowa kluczowe: płwocina indukowana, astma oskrzelowa, POChP, PZO

Pneumonol. Alergol. Pol. 2009; 77: 349–356

Wstęp

Astma oskrzelowa, przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP) i przewlekłe zapalenie oskrzeli (PZO) należą do chorób o najwyższym rozpowszechnieniu spośród wszystkich schorzeń układu oddechowego. W ich patogenezie istotne znaczenie odgrywa stan zapalny dróg oddechowych, a diagnostyka opiera się głównie na badaniu podmiotowym i przedmiotowym oraz wynikach badań czynnościowych płuc (spirometria i test odwracalności obturacji po podaniu krótko działającego β_2 -mimetyku) i teście nadreaktywności oskrzeli. Choć obraz kliniczny tych jednostek chorobowych często nakładają się, to jednak patogeniza zachorowań jest różna, co może się wyrażać odmienną reakcją chorych na leczenie, na przykład lekami przeciwzapalnymi. Wyniki badań nad patogenizacją i patofizjologią wymienionych chorób przekonują o konieczności identyfikacji rodzaju procesu zapalnego, zanim zostanie podjęte leczenie [1–5].

W licznych pracach badawczych, których celem była analiza płwociny indukowanej pochodzącej od chorych na przewlekłe choroby układu oddechowego, wykazano, że skład komórek zapalnych płwociny w poszczególnych jednostkach chorobowych nieco się różni. Płwocina większości pacjentów, bo ponad 80% chorych na niekontrolowaną i ponad 50% chorych z dobrze kontrolowaną astmą oskrzelową, w porównaniu z osobami zdrowymi charakteryzuje się zwiększonym odsetkiem granulocytów kwasochłonnych [3–8], natomiast płwocinę osób chorych na POChP cechuje zazwyczaj zwiększony odsetek granulocytów obojętnochłonnych [9–12]. Ponadto, wśród chorych na astmę oraz chorych na POChP znajdują się osoby o nietypowym rozkładzie komórek w płwocinie, na przykład chorzy na astmę o zdecydowanie neutrofilowym profilu komórek zapalnych [13] oraz chorzy na POChP ze zwiększonym odsetkiem granulocytów kwasochłonnych (eozynofiliów) [14]. Mimo że wiele prac badawczych potwierdza znaczenie wykrywania eozynofiliów w płwocinie [6, 15–18], diagnostyka tych chorób oraz monitorowa-

nie ich leczenia na podstawie cytologicznych wskaźników zapalnych w praktyce klinicznej są rzadko stosowane. Przyczyną może być pracochłonność metody, jeśli się ją porówna do oznaczania eozynofiliów we krwi obwodowej. Jednak komórki zapalne w płwocinie, pochodząc bezpośrednio z miejsca objętego zapaleniem, są bardziej czułym i swoistym wskaźnikiem procesu zapalnego płuc niż oznaczane we krwi obwodowej [19].

Celem pracy była ocena przydatności badania cytologicznego płwociny indukowanej w diagnostyce przewlekłych chorób zapalnych układu oddechowego (astmy oskrzelowej, POChP, PZO) na podstawie wyznaczonych wcześniej wartości prawidłowych dla składu komórek zapalnych w płwocinie indukowanej osób zdrowych zamieszkałych na Śląsku [20, 21].

Materiał i metody

Wyniki przedstawione w pracy pochodzą z materiału pobranego od pacjentów leczonych ambulatoryjnie w Poradni Przyklinicznej Centralnego Szpitala Klinicznego w Katowicach-Ligocie oraz uczestników akcji prozdrowotnych organizowanych przez szpital. Wyniki były zbierane przez sześć lat pracy Laboratorium i Pracowni Badań Czynnościowych Układu Oddechowego Kliniki Pneumonologii.

Analizowano płwocinę indukowaną pochodzącą od:

- 42 osób chorych na astmę oskrzelową,
- 49 osób chorych na przewlekłą obturacyjną chorobę płuc,
- 30 osób chorych na przewlekłe zapalenie oskrzeli,
- 96 osób bez dolegliwości układu oddechowego (grupa kontrolna).

Kryteria włączenia do badania

Przyjęto następujące kryteria kliniczne rozpoznania:

- 1) astmy oskrzelowej: rozpoznanie przez lekarza prowadzącego astmę oskrzelowej, odwracalność obturacji 15 minut po inhalacji 200 μ g salbutamolu większa niż 12% wartości wyj-

- ściowej lub nadreaktywność oskrzeli w teście z metacholiną ($PC_{20} < 8$ mg/ml), palenie tytoniu w wywiadzie mniejsze niż 10 paczkat; 2) POChP: rozpoznanie przez lekarza prowadzącego przewlekłej obturacyjnej choroby płuc, początek dolegliwości po 40. roku życia, osoby aktualnie lub w przeszłości palące papierosy (liczba wypalonych papierosów odpowiada co najmniej 10 paczkatom), nie stwierdzono objawów atopii w wywiadzie, w badaniu czynnościowym układu oddechowego: wartość $FEV_1 < 85\%$ wartości należnej, $FEV_1/VC < 70\%$ wartości należnej, odwracalność obturacji 15 minut po inhalacji 200 μ g salbutamolu mniejsza niż 10% wartości należnej; 3) PZO: rozpoznanie przez lekarza prowadzącego przewlekłego zapalenia oskrzeli, nie stwierdzono objawów atopii w wywiadzie; 4) grupa kontrolna: prawidłowy wynik badania spirometrycznego, w tym $FEV_1 \geq 85\%$ wartości należnej oraz $FEV_1/VC \geq 70\%$. Do kryteriów wyłączenia z badania należała obecność nadreaktywności oskrzeli w teście z metacholiną ($PC_{20} < 8$ mg/ml) oraz dodatni wywiad dotyczący chorób alergicznych.

Osoby chore oraz zakwalifikowane do grupy kontrolnej podczas wykonywania badań znajdowały się w stabilnym okresie choroby, czyli w czasie badania oraz w ciągu trzydziestu dni poprzedzających badanie nie wystąpiło zaostrzenie, infekcja, chorzy nie byli hospitalizowani ani nie udzielano im pomocy ambulatoryjnej.

Zastosowane metody

1. Badania spirometryczne wykonano na aparacie MasterLab firmy Jaeger zgodnie z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Oddechowego oraz Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc [22, 23].
2. Badanie odwracalności obturacji 15 minut po podaniu 200 μ g salbutamolu.
3. Test nadreaktywności oskrzeli z metacholiną u osób, u których nie stwierdzono przeciwwskazań (np. $FEV_1 < 70\%$ wartości należnej [w.n.]) wykonano zgodnie z protokołem opisanym przez Sterka i wsp. [24].
4. Badanie indukowanej płwociny wykonano zgodnie z protokołem opartym na metodzie opisanej przez Pavorda i wsp. [7] oraz Popowa i wsp. [25] oraz z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Oddechowego [26]:
Indukcja płwociny poprzedzona była wykonaniem spirometrii przed i po podaniu 200 μ g salbutamolu w celu zapobiegnięcia reakcji bronchospastycznej. Płwocinę indukowano za

pomocą roztworów chlorku sodu o stężeniach 3, 4 i 5% podawanych kolejno, w ilości po 7 ml, w postaci aerozolu wytwarzanego przez nebulizator ultradźwiękowy firmy deVilbis (prędkość przepływu 1 ml/min). Po każdej dawce soli wdychanej przez ustnik osoba badana proszona była o przepłukanie jamy ustnej wodą, oczyszczenie przewodów nosowych i odkrztuszenie płwociny do sterylnego naczynia. Po każdej inhalacji wykonywano spirometrię w celu stwierdzenia ewentualnego spadku wartości FEV_1 . W przypadku obniżenia FEV_1 o 20% w stosunku do wartości wyjściowej (15 minut po salbutamolu) indukację płwociny przerywano. Całkowity czas inhalacji wynosił około 20 minut.

Obróbka płwociny — oddzieloną od śliny płwocinę ważono i dodawano do niej taką ilość mililitrów 0,1% roztworu dithiothreitolu w HBSS (*Hanks Balanced Salt Solutions*), która równała się czterokrotnej wadze płwociny wyrażonej w gramach. Uzyskaną zawiesinę homogenizowano przez aspirację pipetą, a następnie mieszano 20 minut na kołysce laboratoryjnej. Dodawano HBSS w ilości równej objętości zawiesiny komórek i ponownie 5 minut mieszano. Uzyskany homogenat wirowano 10 minut przy sile wirowania $790 \times g$. Supernatant zamrażano w temperaturze $-70^\circ C$, a osad komórek płwociny zawieszano w niewielkiej ilości HBSS. Określano żywotność komórek za pomocą błękitu trypanu, obliczano całkowitą liczbę komórek nabłonkowych i nienabłonkowych w komorze hematologicznej Neubauera oraz wykonano dwa preparaty cytopspinowe przy użyciu wirówki MPW 342 z zestawem „cytoseł”, wirując 6 minut przy 600 obr./min. Po wybarwieniu preparatów metodą May-Grunwalda-Giemsa za pomocą mikroskopu świetlnego określano odsetek poszczególnych typów komórek, licząc 400 kolejnych komórek nienabłonkowych w każdym z dwóch preparatów. Do obróbki płwociny przystępowano nie później niż dwie godziny od jej uzyskania.

5. Analiza statystyczna — wyniki przedstawiono w postaci wartości średnich, odchyleń standardowych (SD, *standard deviation*), median, zakresów międzypercentylowych. Rozkłady poszczególnych typów komórek oceniano za pomocą testu Kołmogorowa-Smirnowa. Analizę porównawczą dla grup dokonano przy użyciu testów: U Manna-Whitneya oraz ANOVA rang Kruskala-Wallisa. Różnice między badanymi grupami przyjęto za znamienne statystyczne, gdy $p < 0,05$.

Tabela 1. Charakterystyka badanych grup

Table 1. The characteristic of study groups

	Astma/Asthma	POChP/COPD	PZO/CB	Kontrola/Control
Liczba badanych Number of subjects	42	49	30	96
Wiek (lata) Age (years)	46 (20–73)	64 (48–78)	59 (41–75)	44 (17–79)
Kobiety/Mężczyźni Females/Males	28/13	8/42	9/21	37/59
Niepalący/Palący/Byli palacze Non smokers/Smokers/Ex-smokers	32/3/6	0/29/21	7/13/10	57/27/12
FEV ₁ (%)	85,5 (19,3)	54,9 (18,7)	92,3 (16,2)	109,1 (11,1)
FEV ₁ /VC (%)	72,5 (10,1)	52,6 (9,2)	76,5 (9,9)	86,5 (6,5)
PC ₂₀ (mg/ml)	0,6 (0,05–3,9)	Nie wykonano/Not done	9,4 (0,2–25,0)	> 16

COPD (*chronic obstructive pulmonary disease*) — przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP); CB (*chronic bronchitis*) — przewlekłe zapalenie oskrzeli (PZO); FEV₁ (*forced expiratory volume in one second*) — natężona pojemność wydechowa w pierwszej sekundzie natężonego wydechu, VC (*vital capacity*) — pojemność życiowa; PC₂₀ (*provocative concentration causing a 20% fall in FEV₁*) — stężenie metacholiny, które powoduje spadek FEV₁ o 20% w stosunku do wartości wyjściowej
Wiek wyrażono w postaci wartości średnich (zakresy); wartości FEV₁ i FEV₁/VC wyrażono w postaci średnich (odchylenie standardowe); wartości PC₂₀ wyrażono w postaci średnich (min.–maks.)/Age are expressed as means with ranges; values FEV₁ and FEV₁/VC are expressed as medians and ranges between percentiles, PC₂₀ are expressed as means (min.–max.)

6. Czułość i swoistość diagnostyczną badania płwociny indukowanej, czyli zdolność testu do rozpoznawania lub wykluczania choroby, wyliczono ze wzorów: czułość (%) = PD/(PD+FU) × 100%, gdzie PD oznaczało wyniki prawdziwie dodatnie, FU — wyniki fałszywie ujemne; swoistość (%) = PU/(PU+FD) × 100%, gdzie PU to wyniki prawdziwie ujemne, a FD — wyniki fałszywie dodatnie [27].

Wyniki

Dane demograficzne badanych osób oraz wyniki badań czynnościowych układu oddechowego przedstawiono w tabeli 1. Charakterystykę płwociny indukowanej dla poszczególnych grup badanych (rozkłady odsetkowe komórek zapalnych, rozkłady wyrażone w liczbach bezwzględnych oraz całkowite liczby komórek zapalnych w przeliczeniu na gram płwociny) scharakteryzowano w tabeli 2.

Odsetek eozynofili w płwocinie indukowanej był znamienne zwiększony we wszystkich trzech grupach chorych na astmę, POChP i PZO ($p < 0,00001$) w porównaniu z grupą kontrolną. Ilustruje to rycina 1. Wartości median wynosiły odpowiednio: 10,3%; 1,5%; 1,6% oraz 0,3%. Podobnie znamienne różnice zaobserwowano w odniesieniu do wartości bezwzględnych ($p < 0,00001$).

Stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy średnimi odsetkami neutrofilów w płwocinie indukowanej osób zdrowych a chorymi na astmę oskrzelową, POChP i PZO ($p < 0,005$). Wartości median wynosiły kolejno: 45,7%; 38,1%;

77,5% oraz 58,1%. Podobnie znamienne różnice odnotowano w odniesieniu do wartości bezwzględnych ($p < 0,05$). Różnice między poszczególnymi grupami osób badanych przedstawiono na rycinie 2.

Zaobserwowano wyraźnie mniejszy odsetek makrofagów w płwocinie indukowanej chorych na POChP w porównaniu z chorymi na PZO, astmę i osób zdrowych ($p < 0,00001$). Wartości median wynosiły kolejno: 15,4%; 37,7%; 42,3% oraz 51,9%. Nie stwierdzono znamienych różnic pomiędzy liczbami wartości bezwzględnych dla makrofagów w poszczególnych grupach badanych.

Nie zauważono znaczących różnic pomiędzy odsetkami limfocytów w płwocinie osób zdrowych a osób chorych na astmę oraz POChP. Różnice istotne występowały jedynie między grupą osób zdrowych i chorymi na przewlekłe zapalenie oskrzeli. Wartości median wynosiły kolejno: 1,0%; 1,65%, $p = 0,025$. Znamienne różnice stwierdzono w odniesieniu do liczby limfocytów wyrażonych w wartościach bezwzględnych pomiędzy grupą chorych na PZO a pacjentami chorymi na POChP, astmę oskrzelową i osobami zdrowymi.

Odnotowano istotne różnice pomiędzy całkowitą liczbą komórek w przeliczeniu na gram płwociny osób zdrowych i chorych na POChP (mediany kolejno: $2,0 \times 10^6/g$, $3,3 \times 10^6/g$, $p = 0,0006$) oraz osób cierpiących na POChP i astmę oskrzelową (mediany kolejno: $3,3 \times 10^6/g$; $2,0 \times 10^6/g$, $p = 0,0009$).

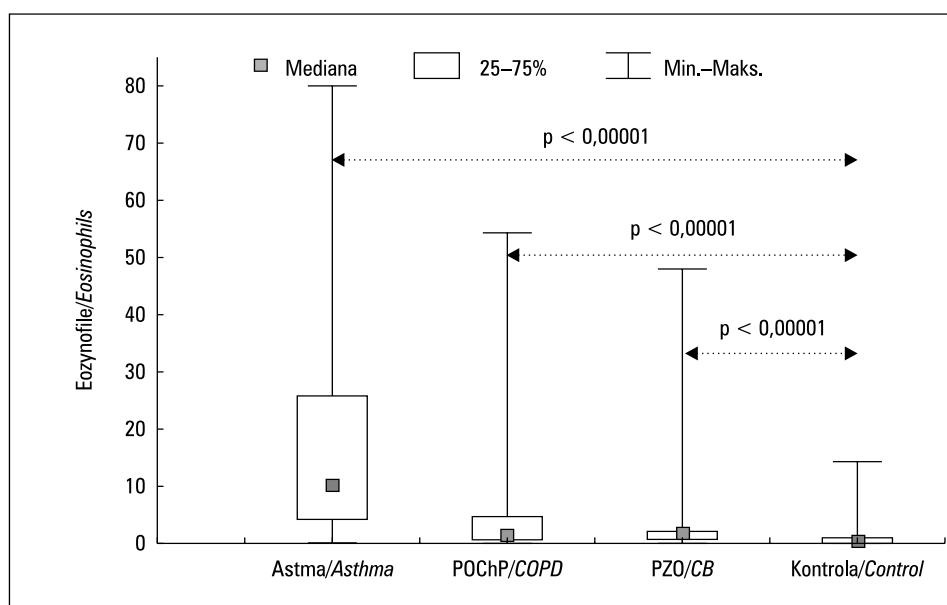
Czułość wykrywania stanu zapalnego o przebiegu eozynofilowym w płwocinie indukowanej osób badanych wynosiła 83,7%, a swoistość wykluczenia stanu zapalnego o przebiegu eozynofi-

Tabela 2. Charakterystyka płwociny indukowanej osób badanych

Table 2. The characteristic of induced sputum from study subjects

	Astma/Asthma	POChP/COPD	PZO/CB	Kontrola/Control
Całkowita liczba komórek $\times 10^6/g$ Total cell count $\times 10^6/g$	2,0 (0,7–9,8)	3,3 (1,1–39,6)	3,2 (0,2–22)	2,0 (0,4–11)
Eozynofile (%) Eosinophils (%)	10,3 (1,3–65,4)	1,5 (0–53)	1,6 (0–48)	0,3 (0–2,8)
Neutrofile (%) Neutrophils (%)	38,1 (5,7–74,9)	77,5 (32–92)	58,1 (18,3–94)	45,7 (23–74,6)
Limfocyty (%) Lymphocytes (%)	0,8 (0–5,0)	0,68 (0–4,8)	1,7 (0,5–6,0)	1,0 (0–3,9)
Makrofagi (%) Macrophages (%)	42,3 (11,6–66)	15,4 (6–46)	37,7 (9–65)	51,9 (19,2–78)
Eozynofile $\times 10^6/g$ Eosinophils $\times 10^6/g$	0,2 (0,04–0,77)	0,09 (0,0–1,29)	0,04 (0,02–0,2)	0,00 (0,0–0,07)
Neutrofile $\times 10^6/g$ Neutrophils $\times 10^6/g$	0,4 (0,15–1,08)	2,6 (0,97–13,9)	1,8 (0,47–7,4)	0,9 (0,2–3,9)
Limfocyty $\times 10^6/g$ Lymphocytes $\times 10^6/g$	0,01 (0,0–0,09)	0,02 (0,0–0,33)	0,07 (0,01–0,2)	0,02 (0,0–0,08)
Makrofagi $\times 10^6/g$ Macrophages $\times 10^6/g$	0,8 (0,6–1,32)	0,8 (0,39–1,48)	1,2 (0,38–2,15)	0,9 (0,5–1,44)

COPD (*chronic obstructive pulmonary disease*) — przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP); CB (*chronic bronchitis*) — przewlekłe zapalenie oskrzeli (PZO)
Wartości wyrażono w postaci median, w nawiasach zakresy między 10 i 90 percentylem/Values are expressed as medians and ranges between 10 and 90 percentiles

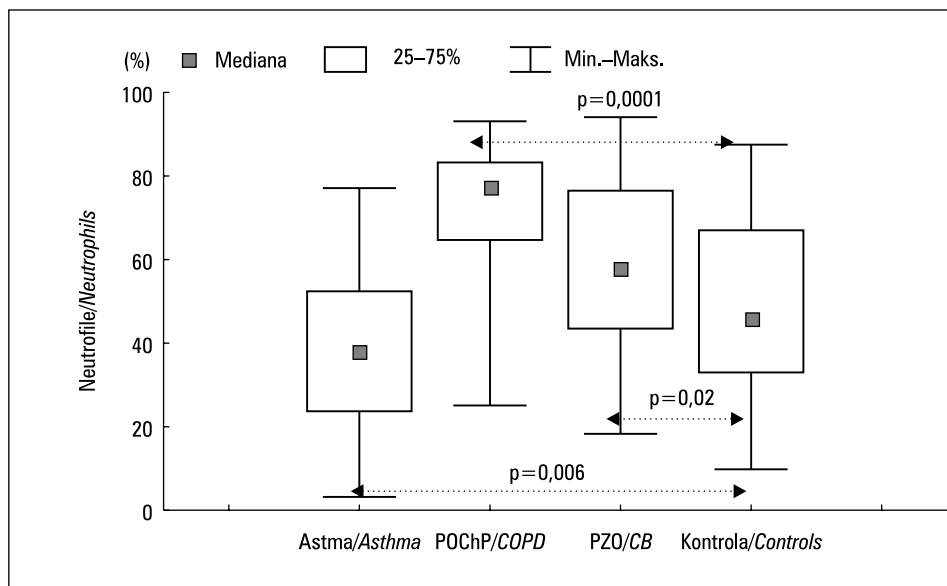


Rycina 1. Odsetek eozynofilów w płwocinie indukowanej chorych na astmę oskrzelową, POChP i PZO w porównaniu z osobami zdrowymi

Figure 1. The percentages of eosinophils in induced sputum of asthmatics, COPD and CB patients compared to healthy subjects

lowym — 93,8%. Czułość wykrywania stanu zapalnego o przebiegu neutrofilowym w płwocinie indukowanej osób badanych wynosiła 54,5%, a swoistość wykluczenia stanu zapalnego o przebiegu neutrofilowym — 96,9%.

Średnie zmiany wartości FEV_1 pod wpływem inhalacji soli hipertonicznej stanowiły: $-0,61\%$ u osób zdrowych, $-6,5\%$ u chorych na astmę oskrzelową, $-6,7\%$ u chorych na POChP, $-0,78\%$ u chorych na PZO. Znaczące różnice zaobserwo-



Rycina 2. Odsetek neutrofilów w płwocinie indukowanej chorych na astmę oskrzelową, POChP i PZO w porównaniu z osobami zdrowymi (grupą kontrolną)

Figure 2. The percentages of neutrophils in induced sputum of asthmatics, COPD and CB patients compared to healthy subjects

wano pomiędzy grupą osób zdrowych a pacjentami chorymi na astmę oraz POChP ($p = 0,0001$).

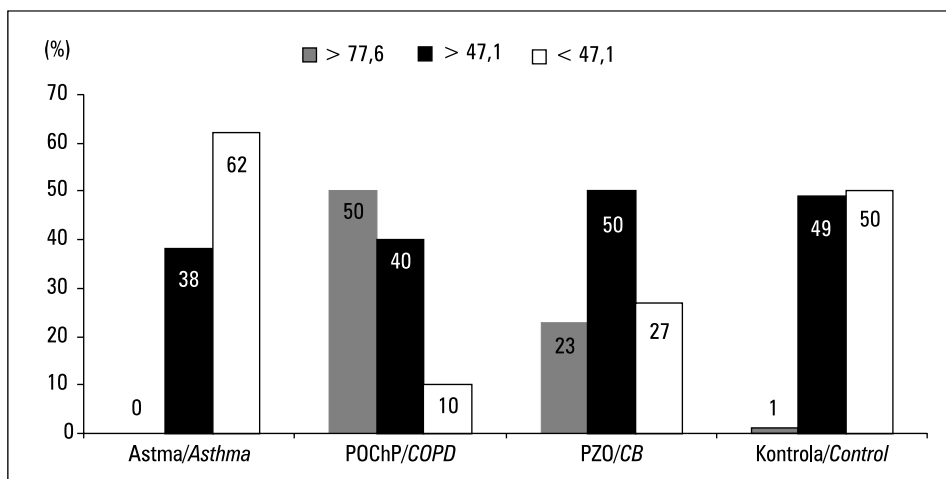
Omówienie

Wyniki niniejszej pracy potwierdziły rezultaty prac innych autorów [3–8], którzy już wcześniej wykazali zwiększony odsetek granulocytów kwasochłonnych (eozynofiliów) w płwocinie większości chorych na astmę oskrzelową oraz zwiększony odsetek granulocytów obojętnochłonnych (neutrofilów) w płwocinie indukowanej większości badanych chorych na POChP i PZO w porównaniu z osobami zdrowymi. W niniejszej pracy odsetek oraz wartości bezwzględne eozynofiliów w płwocinie indukowanej chorych na astmę, POChP i PZO były znamienne zwiększone w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast odsetek (podobnie i wartości bezwzględne) neutrofilów w płwocinie indukowanej był wyraźnie zwiększony jedynie w grupach chorych na POChP i PZO, podczas gdy u astmatyków stwierdzono jego zdecydowane zmniejszenie.

Uzyskane przez autorów wyniki porównywano do zakresu wartości prawidłowych komórek zapalnych w płwocinie indukowanej, co było przedmiotem wcześniejszej publikacji [20]. Jak wykazano, zakres wartości referencyjnych dla neutrofilów jest bardzo szeroki — dla 96 osób zdrowych wynosił 22,5–74,6% [20], a dla większej grupy (116 osób) — 16,1–77,6% [21]. Ze względu na tak

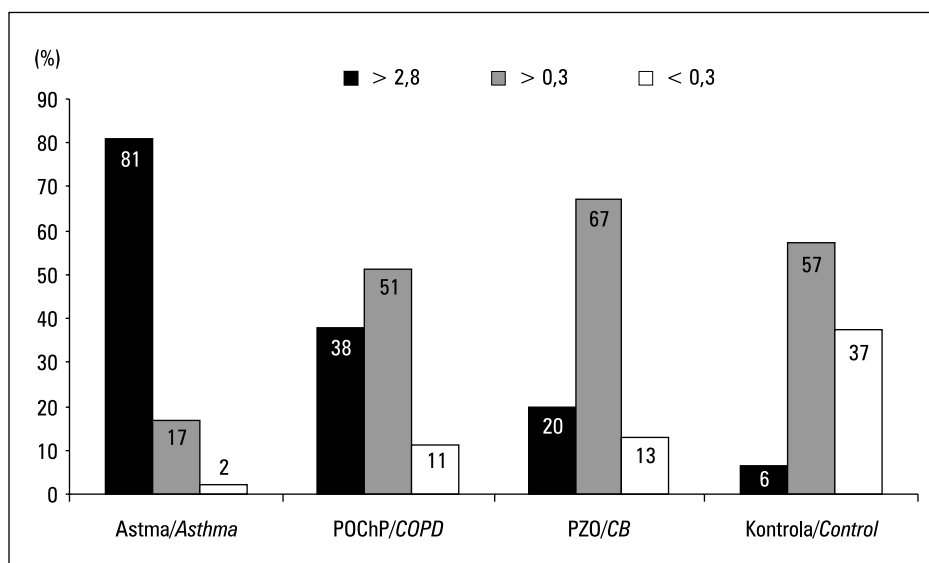
szeroki zakres wartości referencyjnych trudno jest ustalić dla tych komórek wartość graniczną, która mogłaby mieć znaczenie diagnostyczne. Szeroki zakres sugeruje brak ostrych granic pomiędzy stanem choroby i stanem zdrowia w obrazie cytologicznym płwociny indukowanej. Wcale nierzadkie są sytuacje, kiedy zaburzeniom, które wyrażają się nieprawidłową spirometrią i objawami zgłaszanymi przez pacjenta, odpowiadają wartości ocenianych tu parametrów, które mieszczą się w zakresie wartości referencyjnych. W niniejszym badaniu 10% chorych na POChP oraz 27% badanych cierpiących na PZO miało odsetek neutrofilów w płwocinie poniżej wartości średniej występującej w grupie kontrolnej, czyli poniżej 45,7%. Z drugiej jednak strony u 50% chorych na POChP i u 23% chorych na PZO odsetek neutrofilów w płwocinie był większy niż górna granica wartości referencyjnej dla tych komórek, to znaczy ponad 4,6%. Czułość wykrywania zapalenia o przebiegu neutrofilowym za pomocą badanego testu wynosiła tylko 54,5%, jednakże wskazuje to, że u części chorych z podejrzeniem POChP lub PZO znacznie zwiększony odsetek neutrofilów w płwocinie indukowanej może mieć znaczenie diagnostyczne (ryc. 3).

W praktyce klinicznej znacznie większe znaczenie odgrywa określenie odsetka eozynofiliów w indukowanej płwocinie, które stosuje się w diagnostyce i monitorowaniu astmy oskrzelowej. W prezentowanej pracy aż u 81% pacjentów chorych na astmę autorzy stwierdzili zwiększony (ponad 2,8%) odsetek eozynofiliów w płwocinie indukowanej.



Rycina 3. Odsetek osób badanych z neutrofilią w płwocinie indukowanej powyżej normy (> 77,6%), powyżej wartości średniej (> 47,1%) oraz poniżej wartości średniej (< 47,1%)

Figure 3. The percentage of subjects with abnormal percentage of neutrophiles in the induced sputum (> 77.6%), above the mean values (> 47.1%) and below the mean values (< 47.1%)



Rycina 4. Odsetek osób badanych z eozynofilią w płwocinie indukowanej powyżej norm (> 2,8%), powyżej wartości średniej (> 0,3%) oraz poniżej wartości średniej (< 0,3%)

Figure 4. Percentage of subjects with abnormal percentage of eosinophiles the induced in the induced sputum (> 2.8%), above the mean values (> 0.3%) and below the mean values (< 0.3%)

Czułość diagnostyczna badania indukowanej płwociny w wykrywaniu zapalenia eozynofilowego była wysoka i wynosiła 83,7%. **Najważniejszym wnioskiem wynikającym z naszego badania jest stwierdzenie, że zwiększona wartość eozynofili w płwocinie indukowanej z dużym prawdopodobieństwem potwierdza rozpoznanie astmy oskrzelowej.** U części chorych na POChP i PZO — odpowiednio u 38% i 20% (ryc. 4) — odsetek eozynofili w płwocinie był również znamienne zwiększony. Identyfikacja osób ze zwiększonym odset-

kiem granulocytów kwasochłonnych w płwocinie indukowanej może być istotna w diagnostyce przewlekłego kaszlu, szczególnie u chorych na przewlekłe zapalenie oskrzeli. Wczesne rozpoczęcie leczenia tych chorych może zapobiec konsekwencjom przewlekłego, nieleczzonego stanu zapalnego dróg oddechowych, a mianowicie rozwinięciu się astmy oskrzelowej lub eozynofilowej postaci POChP. Prawdopodobnie właśnie z takiej grupy osób wywodzą się chorzy na POChP, którzy nigdy nie palili papierosów, na co zwrócili uwagę w swojej pracy Biring i wsp. [28].

Obliczanie liczby oraz odsetka limfocytów w płwocinie indukowanej osób chorych budzi mniejsze zainteresowanie diagnostów, co może wynikać z małej powtarzalności tego pomiaru [21, 25]. Nie mniej jednak, autorzy D'Ippolito i wsp. oraz Fireman i wsp. [29, 30] udowodnili przydatność badania płwociny w diagnostyce chorób śródmiąższowych płuc. Wykazali, że odsetek limfocytów w płwocinie indukowanej badanych chorych był ponad dwukrotnie większy niż w płwocinie osób zdrowych. W niniejszej pracy liczba bezwzględna limfocytów u chorych na przewlekłe zapalenie oskrzeli w porównaniu z pozostałymi grupami osób badanych była znacznie zwiększona. Spostrzeżenie to wymagałoby jednak potwierdzenia w kolejnych badaniach.

Wartość określenia odsetka makrofagów w płwocinie indukowanej okazała się mała. Wynika to z faktu, że odsetek tych komórek w płwocinie odzwierciedla zmiany dotyczące neutrofilów. Niewielką wartość oznaczania makrofagów w płwocinie potwierdziło dodatkowo wyliczenie liczb wartości bezwzględnych tych komórek, które nie różniły się znacząco w poszczególnych grupach badanych. Być może w przyszłości, kiedy techniki immunocytochemiczne staną się dostępne w rutynowej praktyce klinicznej, obliczenie odsetka subpopulacji małych i dużych makrofagów w płwocinie znajdzie zastosowanie w diagnostyce, na przykład wczesnego wykrywania POChP [31], konieczne jednak jest prowadzenie dalszych badań nad znaczeniem tych komórek w cytodiaagnostyce chorób zapalnych płuc.

Piśmiennictwo

- Leuppi J.D., Salome C.R., Jenkins H. Markers of airway inflammation and airway hyperresponsiveness in patients with well-controlled asthma. *Eur. Respir. J.* 2001; 18: 444–450.
- Begany T. Lung damage in asthma may not be reversible. *Pulmonary Reviews Com.* 2000; 5: 3.
- Parameswaran K., Pizzichini E., Pizzichini M.M., Husack P., Efthimiadis A., Hargreave F.E. Clinical judgement of airway inflammation versus sputum cell counts in patients with asthma. *Eur. Respir. J.* 2000; 15: 486–490.
- Turner M.O., Hussack P., Sears M.R., Dolowich J., Hargreave F.E. Exacerbations of asthma without sputum eosinophilia. *Thorax* 1995; 50: 1057–1061.
- Gibson P.G., Fujimuro M., Niimi A. Eosinophilic bronchitis: clinical manifestations and implications for treatment. *Thorax* 2002; 57: 178–182.
- Green R.H., Brightling C.E., McKenna S., Hargadon B., Parker D., Bradding P. Asthma exacerbation and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 1715–1721.
- Pavord I.D., Pizzichini M.M., Pizzichini E., Hargreave F.E. The use of induced sputum to investigate airway inflammation. *Thorax* 1997; 52: 498–501.
- Barczyk A., Pierzchała W., Sozańska E. Interleukin-17 in sputum correlates with airway hyperresponsiveness to metacholine. *Respiratory Medicine* 2003; 97: 726–733.
- Keatings V.M., Barnes P.J. Granulocyte Activation Markers in induced Sputum: Comparison between chronic pulmonary disease, asthma and normal subjects. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 155: 449–453.
- Ronchi M.C., Piragino C., Rosi E., Amendola M., Duranti R., Scano G. Role of sputum differential cell count in detecting airway inflammation in patients with chronic bronchial asthma or COPD. *Thorax* 1996; 51: 1000–1004.
- Keatings V.M., Collins P.D., Scott D.M., Barnes P.J. Differences in IL-8 and TNF- α in induced sputum from patients with COPD and Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 153: 530–534.
- Barczyk A., Pierzchała W., Sozańska E. Stężenie CC-chemokina (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β) w indukowanej płwocinie pacjentów chorych POChP oraz PZO. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2001; 69: 40–49.
- Green R.H., Brightling C.E., Woltmann G., Parker D., Wardlaw A.J., Pavord I.D. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophils and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax* 2002; 57: 875–879.
- Brightling C.E., Monteiro W., Ward R. i wsp. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease: a randomized controlled trial. *Lancet* 2000; 356: 1480–1485.
- Metso R.P., Petays T., Sohlman A., Tyolahti H. Eosinophilic airway inflammation as an underlying mechanism of undiagnosed prolonged cough in primary health care patients. *Respiratory Medicine* 2002; 96: 52–58.
- Deykin A., Lazarus S.C., Fahy J.V. Sputum eosinophil counts predict asthma control after discontinuation of inhaled corticosteroids. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 115: 720–727.
- Hunter C.J., Brightling C.E., Woltmann G., Wardlaw J., Pavord I.D. A comparison of the validity of different diagnostic tests in adults with asthma. *Chest* 2002; 121: 1051–1057.
- Magnussen H., Holz O. Monitoring airway inflammation in asthma by induced sputum. *Eur. Respir. J.* 1999; 13: 5–7.
- Pizzichini E., Pizzichini M.M., Efthimiadis A. i wsp. Measuring airway inflammation in asthma: eosinophils and eosinophilic cationic protein in induced sputum compared with peripheral blood. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997; 99: 539–554.
- Sozańska E., Gąsior G., Semik A., Barczyk A., Pierzchała W. Zakres wartości prawidłowych dla komórek występujących w płwocinie indukowanej w populacji śląskiej. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2005; 73:148–152.
- Sozańska E. Badanie wyidukowanej płwociny. Opracowanie wartości referencyjnych cytazy dla mieszkańców aglomeracji górnośląskiej. Rozprawa doktorska, Śląska Akademia Medyczna, Katowice 2007.
- Quanjer Ph., Tammeling G.J., Cotes J.E. i wsp. Lung volumes and forced ventilatory flows, Report Working Party Standardization of Lung Function Tests European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur. Respir. J.* 1993; 6 (supl.) 5–40.
- Zalecenia Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc dotyczące wykonywania badań spirometrycznych. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2006; 74: 5–44.
- Sterk P.J., Fabri L.M., Quanjer P.H. i wsp. Airway responsiveness standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Statement of the European Respiratory Society. *Eur. Respir. J.* 1993; 16: 53–83.
- Popov T., Gottschalk R., Kolendowicz R., Dolowich J., Powers P., Hargreave F.E. The evaluation of a cell dispersion method of sputum examination. *Clinical and Experimental Allergy* 1994; 24: 778–783.
- Annual Congress 2003, September 27–October 1, Vienna, Austria, Reports of working groups 1–8. *Eur. Respir. J.* 2003; 20: 1s–51s.
- Nastalski W.J. Pojęcie normy, wartości referencyjnych i ich znaczenie dla formułowania diagnozy. W: A. Dembińska-Kieć, W.J. Naskalski. (red.) Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Urban & Partner, Wrocław 1998; 47–57.
- Birring S.S., Brightling C.E., Bradding P. i wsp. Clinical, radiological, and induced sputum features of chronic obstructive pulmonary disease in nonsmokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 166: 1078–1083.
- D'Ippolito R., Foresi A., Chetta A. i wsp. Induced sputum in patients with newly diagnosed sarcoidosis. *Chest* 1999; 115: 1611–1615.
- Fireman E., Topilsky I., Greif J. i wsp. Induced sputum compared to bronchoalveolar lavage for evaluating with sarcoidosis and non-granulomatous interstitial lung disease. *Respir. Med.* 1999; 93: 827–834.
- Frankenberger M., Menzel M., Betz R. i wsp. Characterization of a population of small macrophages in induced sputum of COPD disease and healthy volunteers. *Clin. Exp. Immunol.* 2004; 138: 507–516.