

Joanna Domagała-Kulawik

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumologii i Alergologii, Akademia Medyczna w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. med. Ryszarda Felczak-Chazan



Trudności interpretacyjne w ocenie rozmazów komórkowych BAL i płwociny indukowanej

Difficulties in the interpretation BALF and induced sputum cell smears

Abstract

The role of quantitative methods in the cytological diagnosis of pulmonary diseases increases in recent years. Bronchoalveolar lavage (BAL) and induced sputum (IS) belong to these methods. Bronchoalveolar lavage plays an important role in the diagnosis of interstitial lung diseases, IS — in the differential diagnosis of asthma, chronic obstructive lung disease, persistent cough. Both methods are valuable in the evaluation of pathogenesis of lung diseases.

The aim of this presentation is to show the main similarities and differences in the morphology of cells in the BAL and IS and difficulties in the interpretation of results of these examinations (on the basis of 1000 BAL and 200 IS smears). The preparation of cell smears according to the obligatory standards plays the most important role in the quality of BAL and IS. If the fluid is bloody or epithelial cells are numerous it can not be qualified as diagnostic. A very good knowledge of the cell morphology is necessary in the quantitative analysis. Epithelial cells, macrophages, lymphocytes, neutrophils and eosinophils are routinely identified. Alveolar macrophages are very numerous heterogeneous cell population in the BAL. IS macrophages are less numerous, are smaller in size, have more condensed cytoplasm, contain less cigarette smoke particles, have higher expression of activation markers than BAL cells. Neutrophils are larger and eosinophils more often degranulated in the IS than in the BALF. Interpretation of squamous epithelial cells needs caution because of the phagocytary function of these cells. This study details differences significant in quantitative and qualitative analysis of BAL and IS in routine and immunocytochemical tests.

Key words: BAL, induced sputum, cytology

Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 261–267

Streszczenie

W ostatnich latach istotnie wzrosło znaczenie badań ilościowych: płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) i płwociny indukowanej (PI) w cytodiaagnostyce chorób płuc. W rozmazach komórkowych otrzymanych po odwirowaniu płynu z BAL i PI identyfikuje się komórki nabłonka oraz makrofagi, limfocyty, granulocyty obojętnochłonne i kwasochłonne. O ile badanie BAL ma największe znaczenie w diagnostyce chorób śródmiąższowych, o tyle badanie PI — w diagnostyce i różnicowaniu chorób obturacyjnych dróg oddechowych.

Celem opracowania jest przedstawienie podobieństw i różnic w morfologii komórek w BAL i PI oraz interpretacja wyników tych badań na podstawie wyników badań własnych: ponad 1000 badań BAL i 200 badań PI. Podstawowe znaczenie ma przygotowanie rozmazów komórkowych według obowiązujących standardów oraz zasady uznania materiału za diagnostyczny. Domieszka krwi obwodowej lub zwiększony odsetek komórek nabłonka dyskwalifikują materiał. W analizie ilościowej konieczna jest odpowiednia znajomość morfologii komórek; szczególne trudności może sprawiać ocena makrofagów i różnicowanie ich z innymi formami komórek jednojądrzastych. O ile w płynie z BAL jest to dominująca populacja komórek, o tyle w PI stanowią mniej liczną, bardziej jednorodną populację komórek. Cechuje je bardziej skondensowana cytoplazma, u palaczy zawierająca mniej pyłów niż komórki z BAL. Podobnie w odniesieniu do granulocytów kwasochłonnych obserwuje się znaczne różnice morfologiczne. W identyfikacji komórek nabłonka należy zwrócić uwagę na własności fagocytarne

Adres do korespondencji: Joanna Domagała-Kulawik, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumologii i Alergologii, Akademia Medyczna w Warszawie, ul. Banacha 1a, 02–097 Warszawa, tel.: (022) 599 12 43, e-mail: jokula@amwaw.edu.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 25.07.2007 r.
Copyright © 2007 Via Medica
ISSN 0867–7077

komórek nabłonka oraz występowanie tak zwanych nagich jąder. W pracy szczegółowo omówiono różnice istotne w analizie ilościowej i jakościowej BAL i PI w badaniach rutynowych i immunocytochemicznych.

Słowa kluczowe: BAL, plwocina indukowana, makrofagi, cytologia

Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 261–267

Wstęp

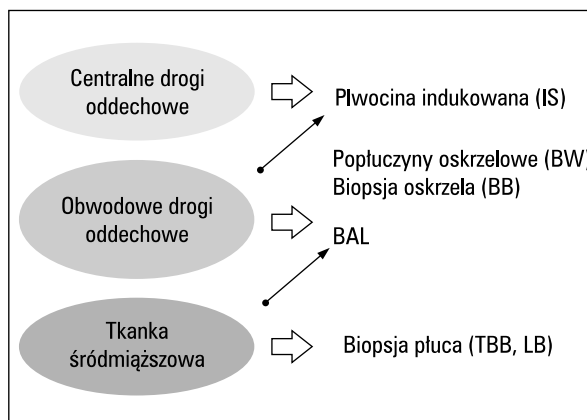
Historia powszechnego stosowania badania popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL, *bronchoalveolar lavage*) w diagnostyce chorób płuc ma niewiele ponad ćwierć wieku [1, 2]. O ogromnej wartości badania płynu z BAL świadczy to, że jego metodologia prawie się nie zmieniła na przestrzeni lat. Tymczasem coraz częściej słyszy się, że metoda ta „się przeżyła”, nie ma znaczenia w diagnostyce pneumonologicznej, nie jest wiarygodna i właściwie można ją traktować nieomal jako historyczną. Niestety, stosunkowo często poglądy takie głoszą osoby, które rutynowo zlecają wykonanie badania u chorych w trakcie diagnostyki zmian w płucach. Z jednej strony więc korzystają ze stosunkowo mało inwazyjnej, powtarzalnej metody diagnostycznej, z drugiej natomiast — deprecjonują znaczenie tego badania na wykładach lub w różnych opracowaniach przeglądowych. Poza znaczeniem diagnostycznym badanie BAL ma niezwykle szerokie zastosowanie w badaniach naukowych. Obecnie trudno sobie wyobrazić opracowanie materiału komórkowego z dróg oddechowych bez zastosowania tej metody. Tymczasem w tytułach artykułów naukowych, a nawet w słowach kluczowych nie podaje się określenia „BAL”. Dla przykładu: w jednym z ostatnich numerów „*European Respiratory Journal*” BAL był wykorzystany jako istotna metoda badawcza w 17 opublikowanych pracach, w słowach kluczowych zaś podany był jedynie w jednej z tych prac. Znaczenie BAL podkreśla wysoki poziom odbywających się co kilka lat międzynarodowych konferencji poświęconych tej metodzie [3].

W wielu ośrodkach, w których BAL przez lata wykorzystywano w diagnostyce oraz badaniach naukowych, w jego miejsce próbuje się stosować plwocinę indukowaną (PI, *induced sputum*). Wielu badaczy usiłuje zastąpić BAL materiałem łatwiej dostępnym, jakim jest PI. Co więcej, autorzy licznych opracowań udowadniają skuteczność tej metody w ocenie zmian w obrębie obwodowych dróg oddechowych, a także znajdują zastosowanie dla plwociny indukowanej w diagnostyce różnicowej chorób śródmiąższowych [4, 5]. Porównywanie obu materiałów niesie jednak wiele pułapek. Istotą obu badań jest analiza ilościowa składu komórkowego

i ewentualnie stężenia składników pozakomórkowych. Wynik przedstawia odsetek i liczbę poszczególnych rodzajów komórek zapalnych. Prawidłowa ocena morfologii poszczególnych typów komórek w bardzo istotnym stopniu wpływa na ostateczny wynik badania. Celem obecnego opracowania jest wykazanie pewnych różnic w morfologii komórek limfoidalnych w płynie z BAL i w plwocinie indukowanej. Podstawą jest materiał z ponad 1000 badań BAL i 200 badań PI wykonanych w Pracowni Cytologii Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii AMW. Skupiono się na różnicach istotnych, nie rozważając szczegółów morfologicznych, które mogłyby być bardziej interesujące dla cytopatologów. Przedstawienie tego problemu w czasopiśmie skierowanym głównie do klinicyстів wynika z tego, że oceną BAL i PI często zajmują się lekarze niebędący patomorfologami. Wydaje się również wskazane, by klinicyści, którzy analizują wyniki badania w toku diagnostycznym, znali możliwe przyczyny niejednoznacznych wyników.

Pochodzenie komórek

Na rycinie 1 przedstawiono schematycznie metody badania zmian zapalnych w drogach od-



Rycina 1. Możliwości badania reakcji zapalnych w drogach oddechowych w zależności od obszaru zapalenia

Figure 1. Methods of evaluation of airway inflammation in relation to region of inflammation; IS — induced sputum; BW — bronchial washing; BB — bronchial biopsy; TBB — transbronchial biopsy; LB — lung biopsy

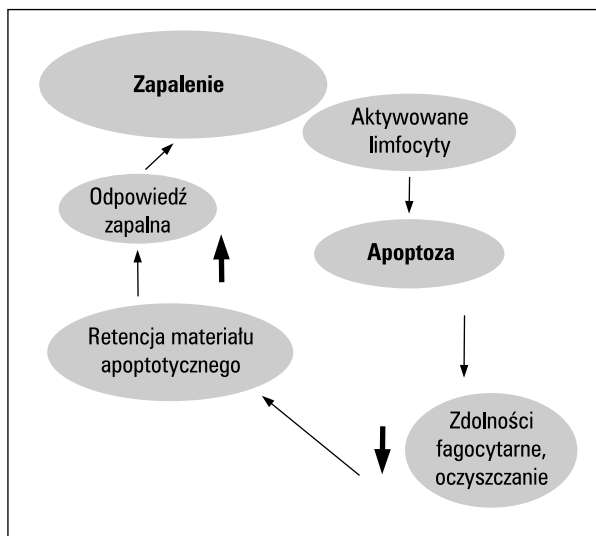
dechowych z uwzględnieniem podziału na poszczególne piętra. Komórki w płynie z BAL odzwierciedlają zmiany zapalne w obwodowych drogach oddechowych. Płwocina pochodzi z dróg centralnych, proksymalnych [6]. O ile BAL może odzwierciedlać zmiany zapalne toczące się w tkance śródmiąższowej, o tyle materiał z centralnych dróg oddechowych raczej nie może wypełniać tego zadania. Nie trzeba używać dodatkowych metod identyfikacji komórek, żeby udowodnić inne ich pochodzenie w obu materiałach. O innym obszarze pochodzenia komórek świadczy już choćby metoda pobrania materiału do badania: płwocinę uzyskuje się poprzez wymuszone odkrztuszenie, badanie BAL zaś wykonuje się głęboko zaklinowanym bronchofiberoskopem. W składzie komórkowym płwociny znaczną domieszkę stanowią zwykle komórki nabłonka płaskiego, wyściełającego górne drogi oddechowe. Nawet jeżeli preparuje się jedynie grudki wydzieliny, eliminując ślinę, nadal obecne są komórki nabłonka płaskiego. Co ciekawe, komórki nabłonka gruczołowego spotyka się wyjątkowo. Dotyczy to także chorych na astmę oskrzelową, u których dochodzi do złuszczenia komórek nabłonka oskrzelowego i destrukcji struktury nabłonka. O ile u tych chorych obserwuje się obecność komórek nabłonka gruczołowego w BAL, o tyle w PI stanowią one rzadkość [7]. O innym pochodzeniu komórek w BAL i PI świadczy między innymi fenotyp makrofagów. Jakkolwiek wyniki prac na temat fenotypu makrofagów w PI są mało spójne, co wynika z małych liczebnie grup badanych oraz stosowania różnych metod, to można zauważyć, że makrofagi centralnych dróg oddechowych w odróżnieniu do makrofagów pęcherzykowych z BAL mają większą ekspresję antygenów związanych z aktywacją, są bardziej dojrzałe, ale też bardziej zbliżone do linii monocytarnej. Potwierdza to zwiększona liczba komórek z ekspresją CD14, CD71 oraz HLA DR w materiale z płwociny indukowanej w porównaniu z BAL [8, 9, obserwacje własne].

Analiza składu komórkowego wydzieliny z dróg oddechowych od dawna znajduje zastosowanie w diagnostyce chorób płuc. Ustalono normy składu komórkowego BAL i PI i ustalono, jakiego typu odchylenia od norm wskazują na możliwość obecności danej jednostki chorobowej. I tak na przykład przewaga eozynofilii w PI odpowiada astmie oskrzelowej, neutrofilia zaś jest typowa dla przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP). Badania BAL i PI są również powszechnie wykorzystywane w badaniach poznawczych chorób płuc. Uważa się, że wskaźniki zapalenia identyfikowane w świetle dróg oddechowych są reprezentatywne dla reakcji zapalnych toczących się w warstwach

podnabłonkowych, tkance śródmiąższowej, a także są związane ze zmianami w krążeniu. Tymczasem wyniki obecnych badań zdają się wskazywać na to, że zmiana składu komórkowego w świetle dróg oddechowych może być wypadkową zaburzonej przepuszczalności nabłonka, niewydolnego mechanizmu oczyszczania i przewagi martwicy oraz cytolizy nad mechanizmami naturalnej śmierci komórek, czyli apoptozy. Wyniki badań grupy badaczy pod kierunkiem Erjefalta wskazują na konieczność pewnej weryfikacji poglądów na znacznie obserwowanych zaburzeń w składzie komórkowym BAL i PI oraz ich roli w ocenie patomechanizmu chorób obturacyjnych, a być może i śródmiąższowych płuc [10, 11]. Autorzy ci sugerują, że napływ danych komórek zapalnych do światła dróg oddechowych świadczy nie tyle o nasilonym zapaleniu z udziałem tych komórek w ścianie oskrzela i warstwach podnabłonkowych, ile o korzystnym dla zdrowienia usuwaniu tych komórek z miejsca zapalenia. Według autorów rozejście zapalenia nie odbywa się z udziałem apoptozy, lecz głównie migracji komórek pod wpływem cytokin, na przykład chemokina β syntetyzowana przez limfocyty T (RANTES, *regulated upon activation, T-lymphocyte expressed and secreted*) [12]. Zgodnie z powyższą hipotezą są wyniki prac Hodge i wsp., w których wskazano na rolę niewydolnego mechanizmu oczyszczenia z martwych komórek w rozwoju zapalenia w POChP [13, 14]. Autorzy obserwowali zwiększony odsetek limfocytów CD4 oraz CD8 z ekspresją Fas i w fazie apoptozy u chorych na POChP (również w badaniach własnych autorka uzyskała podobne wyniki [15]). Wnioskowano, że przetrwałe zapalenie w POChP wynika ze zwiększonej częstości apoptozy aktywowanych limfocytów. Nagromadzenie martwych komórek prowadzi do niewydolności mechanizmów fagocytozy i uruchomienia przetrwałego łańcucha zapalenia (ryc. 2). Omówienie mechanizmów reakcji zapalnych nie jest przedmiotem niniejszego opracowania. Przedstawiono je jednak, ponieważ wydaje się, że oba stosunkowo nowe poglądy na temat pochodzenia komórek w świetle dróg oddechowych warto uwzględnić w badaniach z użyciem materiału z BAL i PI, szczególnie jeśli odnosi się je do oceny patomechanizmów chorób i wyników leczenia.

Kwalifikacja materiału

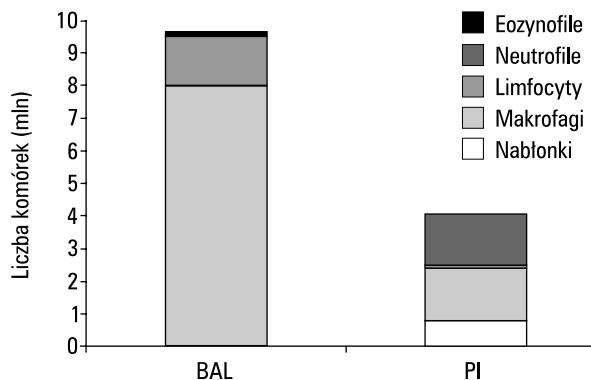
W diagnostyce cytologicznej niezwykle ważne jest zakwalifikowanie do badania materiału jako wartościowego dla dalszej analizy i diagnostycznego. Pierwszą przeszkodę w możliwości analizy może stanowić ilość materiału uzyskanego do badania.



Rycina 2. Mechanizm przetrwałego zapalenia w POChP w świetle teorii Hodge i wsp. [13] — upośledzona funkcja fagocytarne makrofagów zmniejsza wydolności mechanizmów „oczyszczanie”, na przykład z patogenów lub apoptotycznych komórek limfoidalnych

Figure 2. Mechanism of persistent inflammation in COPD according to Hodge et al. [13]: impaired phagocytary function of macrophages results in failure to clear the pathogens and/or apoptotic cells

W przypadku BAL pożądanym jest odzysk około 50% podanego płynu do płukania. W przypadku PI podejmuje się próby otrzymania 2 ml odkrztuszonej wydzieliny. Odpowiednią jakością rozmazów komórkowych umożliwi odpowiednią analizę ilościową. Oczywiście jest znaczenie uzyskania jednolitej, cienkiej warstwy komórek w rozmazie oraz odpowiednie ich utrwalenie. W przypadku płwociny indukowanej należy zminimalizować domieszkę śluzu. W przypadku BAL znaczną przeszkodę może stanowić domieszka krwi. W trakcie dalszych badań materiał ocenia się na podstawie domieszki komórek nabłonka płaskiego. Płwocina indukowana kwalifikuje się do badania, jeżeli zawiera mniej niż 50% komórek nabłonka płaskiego i co najmniej 200 policzalnych komórek nienabłonkowych [16]. Popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe nie powinny zawierać więcej niż 5% komórek nabłonka gruczołowego [17]. Większy odsetek tych komórek świadczy o znacznej domieszce frakcji oskrzelowej. Duży odsetek granulocytów obojętnochłonnych zarówno w BAL, jak i PI wskazuje na możliwość ostrego zapalenia infekcyjnego. Wydaje się, że wartości powyżej 40% neutrofilów w BAL, a powyżej 60% w PI mogą być związane z infekcją bakteryjną i nakazują powtórzenie badania po wyleczeniu.



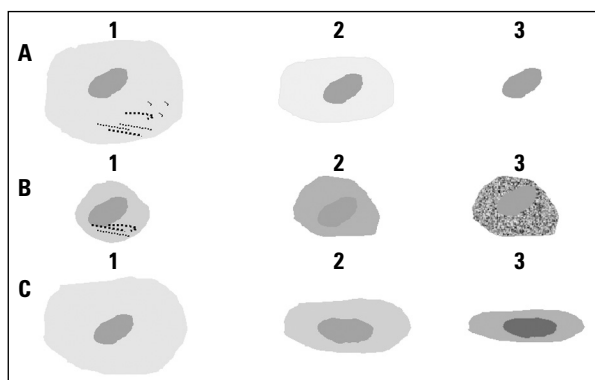
Rycina 3. Skład komórkowy płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) i płwociny indukowanej (PI) — porównanie bezwzględnej liczby komórek u osób zdrowych, niepalących

Figure 3. Total and differential cell count in healthy nonsmokers: comparison of BALF and induced sputum (IS)

Porównanie składu komórkowego BAL i PI. Analiza morfologiczna komórek zapalnych i możliwe przyczyny pomyłek

Materiał z BAL i PI jest opracowywany zgodnie z obowiązującymi standardami. Niebawem zostaną wydane polskie wytyczne opracowane przez Sekcję BAL Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc. Tymczasem podstawy metodologiczne czerpie się z różnych źródeł (i z różnym efektem). U osób zdrowych, niepalących, liczba komórek i skład komórkowy BAL i PI istotnie się różnią, jak pokazano na rycinie 3 [18–20]. Jest oczywiste, że podczas analizy materiału z dróg oddechowych należy pamiętać o wpływie palenia tytoniu [8, 21–23]. Inne, mniej istotne czynniki pozachorobowe to wiek (zwiększenie odsetka neutrofilów [24]), inne zabiegi czy aktywność fizyczna [25].

Na rycinie 4 przedstawiono pewne cechy komórek w PI, które mogą być przyczyną pomyłek. Na wynik badania, w którym podaje się wzór odsetkowy komórek, wpływa wiele czynników, jak liczba, wybór pól do badania, równomierność rozkładu elementów, możliwość dokładnej oceny typowych cech morfologicznych czy czystość tła. Odsetek jednej populacji determinuje odsetek pozostałych typów (np. zmniejszenie odsetka limfocytów może być pozorne, na skutek dominacji makrofagów). Wskazane jest więc podawanie wyników także w wartościach bezwzględnych liczby komórek. W przypadku klasycznej oceny mikroskopowej liczenie komórek może być obciążone błędem subiektywizmu. W badaniu ilościowym niezwykle ważna jest odpowiednia klasyfikacja typów komórek. Pomocna w analizie ilościowej



Rycina 4. Morfologia komórek nabłonka płaskiego i makrofagów w płwocinie indukowanej jako możliwa przyczyna pomyłek diagnostycznych; **A.** Komórki nabłonka płaskiego: 1) sfagocytowane bakterie w cytoplazmie; 2) jasna, słabo widoczna cytoplazma; 3) „nagie” jądra komórek nabłonka; **B.** Makrofagi: 1) sfagocytowane bakterie w cytoplazmie; 2) typowy obraz makrofaga; 3) makrofag od czynnego palacza tytoniu; **C.** Komórki nabłonka płaskiego: 1) komórka prawidłowa; 2) cechy metaplazji; 3) komórka dysplastyczna

Figure 4. Changes in the morphology of squamous cells and macrophages in the induced sputum as a possible cause of misinterpretation; **A.** Squamous epithelium cells: 1) bacteria in the cytoplasm; 2) pale cytoplasm, less visible; 3) „nude” nucleus; **B.** Macrophages: 1) bacteria in the cytoplasm; 2) typical morphology of macrophage; 3) macrophage of current smokers; **C.** Squamous epithelium cells: 1) normal cell; 2) metaplastic cell; 3) dysplasia

może być zasada brania pod uwagę tylko tych rodzajów komórek, które nie budzą wątpliwości, jakkolwiek trzeba mieć świadomość, że może to prowadzić do pewnych przekłamań.

Ocena preparatów z BAL nie stwarza tyle trudności ile materiał PI. Nawet dobrze przygotowana płwocina nie jest tak jednorodna i czytelna jak BAL. Najwięcej trudności sprawiają obecne w mniejszym lub większym odsetku komórki nabłonka płaskiego. Komórki te mają właściwości żerne i często zawierają w cytoplazmie sfagocytowane bakterie, przez co upodobniają się do makrofagów. Słabo widoczne granice cytoplazmy lub obecność nagich jąder mogą powodować błędne ich policzenie jako makrofagów. Zmienione formy komórek nabłonka — metaplastyczne lub dysplastyczne — mogą stwarzać problemy interpretacyjne i być mylnie klasyfikowane. Makrofagi w płwocinie wydają się mieć mniej skondensowaną cytoplazmę i z pewnością są bardziej jednorodne niż w BAL. W płynie z BAL stwierdza się ogromną różnorodność form morfologicznych tych komórek [P. Haslam, kontakt osobisty], można to zaobserwować szczególnie w chorobach śródmiąższowych i u palaczy. Makrofagi palaczy w płynie z BAL zdają się

zwierać więcej pyłów. W płwocinie palaczy nie stwierdza się tak licznych makrofagów z cząsteczkami pyłów w cytoplazmie jak w płynie z BAL. W badaniach immunocytochemicznych potwierdza się różnice populacji makrofagów. Jak już wspomniano, w PI większy jest odsetek komórek z ekspresją markerów aktywacji niż w płynie BAL.

Podstawowe znaczenie diagnostyczne PI wiąże się w dużej mierze z oceną eozynofilii. Cytując P.A. Work: „PI może być wykorzystana w diagnostyce chorób dróg oddechowych na podstawie możliwości wykrycia eozynofilowego zapalenia oskrzeli w rozpoznawaniu przyczyn kaszlu i różnicowaniu astmy eozynofilowej i nieeozynofilowej” [26]. W wielu przypadkach głównym wskazaniem klinicznym do badania PI jest określenie odsetka granulocytów kwasochłonnych. Poza astmą oskrzelową eozynofilia towarzyszy wielu chorobom układu oddechowego [27]. Jednak także w przypadku tych komórek mogą wystąpić trudności interpretacyjne wynikające ze zmian ich morfologii. O ile granulocyty kwasochłonne w rozmazach z płynu z BAL stanowią dość jednolitą populację łatwych do interpretacji komórek, o tyle w PI często obecne są formy zdegranulowane. Nierzadko widuje się nagie wielopłatowe jądro komórki na tle rozproszonych ziarnistości bez otoczki błony komórkowej. Można podejrzewać, że są to formy komórek hipodensyjnych lub będących w fazie apoptozy.

Limfocyty stanowią w PI bardzo nieliczną populację komórek. Zwykle stanowią 2–4% komórek nienabłonkowych. W znacznej mierze utrudnia to ocenę fenotypu limfocytów. W materiałach bogatych w komórki nabłonka płaskiego pojedyncze limfocyty mogą być niewidoczne, przykryte cytoplazmą nabłonków.

Wymienione powyżej komórki nabłonkowe i limfoidalne stanowią typowy skład PI i BAL. Wszelkie inne komórki, szczególnie nowotworowe, świadczą o patologii. Znaczenie badania PI w rutynowej diagnostyce nowotworów jest ograniczone, podobnie jak badanie płwociny spontanicznej. Badanie PI może mieć pewne znaczenie w przypadku guzów wewnątrzoskrzelowych, szczególnie raka płaskonabłonkowego [28]. Popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe mają wartość diagnostyczną w przypadku guzów obwodowych, rozsiewów nowotworowych, szczególnie *lymphangiosis carcinomatosa*, lub rozrostów chłonnych [16, 29]. Szczególna postać raka rozpoznawanego w płynie z BAL to rak oskrzelikowo-pęcherzykowy. Należy bezwzględnie przestrzegać zasady weryfikacji przez patomorfologa materiału, w którym stwierdzono obecność komórek budzących podejrzenie pochodzenia nowotworowego. Trzeba pamiętać, że obec-

Tabela 1. Porównanie badania fenotypu metodami immunologicznymi komórek w płynie z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL, bronchoalveolar lavage) i w płwocinie indukowanej**Table 1. Comparison of immunophenotypic BALF cells and induced sputum cells**

BAL	Płwocina indukowana
Więcej limfocytów	Mniej komórek
Więcej makrofagów	Komórki „niewyraźne” Dużo granulocytów Reakcje krzyżowe, np. CD11b
Łatwiejsza interpretacja	Trudniejsza interpretacja
Mniej pomyłek	Więcej nieprawidłowości i niejednoznacznych wyników

ność komórek „atypowych” towarzyszy wielu procesom patologicznym w układzie oddechowym [30].

Jednak dla niewprawnego oka nawet niektóre formy makrofagów lub komórek nabłonkowatych w BAL mogą przypominać komórki z atypią jąder i budzić podejrzenie, że są to komórki nowotworowe. W takich przypadkach warto bardzo wnikliwie dokonać porównania komórek „podejrzanych” z makrofagami. Bardzo niebezpieczna jest ocena komórek w bardzo dużych powiększeniach. Wstępny ogląd preparatu w powiększeniu 100 lub 200 razy jest wystarczający do wykrycia komórek atypowych. Większe powiększenia mogą służyć głębszej analizie morfologii jądra komórkowego i atypii.

Dodatkowe metody immunocytochemiczne znajdują zastosowanie w ocenie podtypu komórek, szczególnie w odniesieniu do limfocytów. W tabeli 1 przedstawiono porównanie możliwości badań immunocytochemicznych (ICC, immunocytochemistry) w płynie z BAL i PI. W interpretacji wyników badań fenotypu komórek (szczególnie z zastosowaniem cytometrii przepływowej) należy rozróżnić wyniki podawane jako odsetek komórek z ekspresją danego antygenu od wyników stopnia ekspresji antygenu [31].

Inne różnice

Poza innym składem komórkowym różnice między BAL i PI dotyczą obecności drobnoustrojów. Prawidłowo pobrany płyn z BAL jest jałowy i obecność bakterii, grzybów lub pasożytów świadczy o zakażeniu danym drobnoustrojem. Z tego też wynika znaczenie tego badania w diagnostyce zakażeń oportunistycznych. Natomiast obecność bakterii w PI jest dość typowa. Mimo przestrzega-

nia toalety jamy ustnej przed indukcją płwociny bardzo często w rozmazach widuje się skupiska bakterii, a niekiedy fragmenty grzybów. Zastosowanie PI w diagnostyce mikrobiologicznej budzi pewne wątpliwości w związku z możliwością rozprzestrzenienia infekcji, szczególnie w odniesieniu do zakażenia prątkami gruźlicy.

Piśmiennictwo

- Daniele R.P., Elias J.A., Epstein P.E., Rossman M.D. Bronchoalveolar lavage: role in the pathogenesis, diagnosis, and management of interstitial lung disease. *Ann. Intern. Med.* 1985; 102: 93–108.
- Domagała-Kulawik J. Płukanie oskrzeli i pęcherzyków płucnych — znaczenie w diagnostyce chorób płuc. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 1984; 71: 119–125.
- Chcialowski A., Chorostowska-Wynimko J., Domagała-Kulawik J. Raport z 10 Konferencji BAL, Coimbra 2006. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2006; 74: 444–445.
- Fireman E., Lerman Y. Possible future of induced sputum in interstitial lung disease. *Eur. Respir. J.* 2000; 5: 240–242.
- Fireman E., Topilsky I., Greif J. i wsp. Induced sputum compared to bronchoalveolar lavage for evaluating patients with sarcoidosis and non-granulomatous interstitial lung disease. *Respir. Med.* 1999; 93: 827–834.
- Holz O., Kips J., Magnussen H. Update on sputum methodology. *Eur. Respir. J.* 2000; 16: 355–359.
- Pin I., Gibson P.G., Kolendowicz R. i wsp. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47: 25–29.
- Lensmar C., Elmberger G., Sandgren P., Skold C.M., Eklund A. Leukocyte counts and macrophage phenotypes in induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid from normal subjects. *Eur. Respir. J.* 1998; 12: 595–600.
- Frankenberger M., Menzel M., Betz R. i wsp. Characterization of a population of small macrophages in induced sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease and healthy volunteers. *Clin. Exp. Immunol.* 2004; 138: 507–516.
- Uller L., Persson C.G., Erjefalt J.S. Resolution of airway disease: removal of inflammatory cells through apoptosis, egression or both? *Trends. Pharmacol. Sci.* 2006; 27: 461–466.
- Erjefalt J.S., Uller L., Malm-Erjefalt M., Persson C.G. Rapid and efficient clearance of airway tissue granulocytes through transepithelial migration. *Thorax* 2004; 59: 136–143.
- Uller L., Lloyd C.M., Rydell-Tormanen K., Persson C.G., Erjefalt J.S. Effects of steroid treatment on lung CC chemokines, apoptosis and transepithelial cell clearance during development and resolution of allergic airway inflammation. *Clin. Exp. Allergy.* 2006; 36: 111–121.
- Hodge S., Hodge G., Holmes M., Reynolds P.N. Apoptosis in COPD. *Current Respir. Med. Rev.* 2005; 1: 33–41.
- Hodge S.J., Hodge G.L., Reynolds P.N., Scicchitano R., Holmes M. Increased production of TGF-beta and apoptosis of T lymphocytes isolated from peripheral blood in COPD. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mo. Physiol.* 2003; 285: L492–L499.
- Domagała-Kulawik J., Hoser G., Dabrowska M., Chazan R. Increased proportion of Fas positive CD8+ cells in peripheral blood of patients with COPD. *Respir Med.* 2007; 101: 1338–1343.
- Keatings V.M., Barnes P.J. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and normal subjects. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 155: 449–453.
- Costabel U. Atlas of bronchoalveolar lavage. Chapman & Hall Medical, 1998.
- Maestrelli P., Saetta M., Di Stefano A. i wsp. Comparison of leukocyte counts in sputum, bronchial biopsies, and bronchoalveolar lavage. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152: 1926–1931.
- Merchant R.K., Schwartz D.A., Helmers R.A., Dayton C.S., Hunninghake G.W. Bronchoalveolar lavage cellularity. The distribution in normal volunteers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992; 146: 448–453.
- Belda J., Leigh R., Parameswaran K., O'Byrne P.M., Sears M.R., Hargreave F.E. Induced sputum cell counts in healthy adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161: 475–478.

21. Domagała-Kulawik J., Maskey-Warzechowska M., Kraszewska I., Chazan R. The cellular composition and macrophage phenotype in induced sputum in smokers and ex-smokers with COPD. *Chest* 2003; 123: 1054–1059.
22. Vaart van der H., Postma D.S., Timens W. i wsp. Acute effects of cigarette smoking on inflammation in healthy intermittent smokers. *Respir. Res.* 2005; 1: 22.
23. Lensmar C., Elmberger G., Skold M., Eklund A. Smoking alters the phenotype of macrophages in induced sputum. *Respir. Med.* 1998; 92: 415–420.
24. Thomas R.A., Green R.H., Brightling C.E. i wsp. The influence of age on induced sputum differential cell counts in normal subjects. *Chest* 2004; 126: 1811–1814.
25. Vaart van der H., Postma D.S., Timens W., Kauffman H.F., Hylkema M.N., Ten Hacken N.H. Repeated sputum inductions induce a transient neutrophilic and eosinophilic response. *Chest* 2006; 130: 1157–1164.
26. Wark P.A., Gibson P.G., Fakes K. Induced sputum eosinophils in the assessment of asthma and chronic cough. *Respirology* 2000; 5: 51–57.
27. Domagała-Kulawik J. Eozynofilia w płwocinie indukowanej — wartość diagnostyczna. *Mag. Alergol.* 2004; 4: 46–51.
28. Khajotia R.R., Mohn A., Pokieser L., Schalleschak J., Vetter N. Induced sputum and cytological diagnosis of lung cancer. *Lancet* 1991; 338: 976–977.
29. Linder J., Radio S.J., Robbins R.A., Ghafouri M., Rennard S.I. Bronchoalveolar lavage in the cytologic diagnosis of carcinoma of the lung. *Acta. Cytol.* 1987; 31: 796–801.
30. Domagała-Kulawik J., Droszcz P. Squamous metaplasia of bronchial epithelium- role in the pulmonary tumors diagnosis. *Medical Science Monitor* 1998; 4: 993–997.
31. Kopinski P. Phenotype of alveolar lymphocytes-theoretical and practical implications. *Przegl. Lek.* 2000; 57: 493–498.