

Anna Krakowiak  
Tomasz Wittczak  
Cezary Pałczyński

## BADANIE PŁWOCINY INDUKOWANEJ W DIAGNOSTYCE CHOROÓB PŁUC, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM ASTMY ZAWODOWEJ

THE EXAMINATION OF SPUTUM INDUCED IN DIAGNOSIS OF PULMONARY DISEASES IN GENERAL  
AND OCCUPATIONAL ASTHMA IN PARTICULAR

Z Kliniki Chorób Zawodowych  
i Ośrodka Alergii Zawodowej i Środowiskowej  
Instytutu Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi

**STRESZCZENIE** Astma oskrzelowa jest jedną z najczęściej rozpoznawanych chorób zawodowych układu oddechowego w wielu krajach świata. Rozpoznanie choroby zawodowej opiera się na: analizie wywiadu chorobowego, uwzględniającej ocenę stanu klinicznego oraz związek dolegliwości chorobowych z ekspozycją zawodową, wynikach badań immunologicznych z potencjalnymi czynnikami alergizującymi oraz badaniach czynnościowych układu oddechowego. W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się metodzie płwociny indukowanej, jako badaniu przydatnemu w diagnostyce chorób zawodowych układu oddechowego. W artykule przedstawiono aktualny stan wiedzy, dotyczący roli badania płwociny indukowanej w diagnostyce astmy zawodowej i innych chorób układu oddechowego. Med. Pr. 2004; 55 (1): 47–53

**SŁOWA KLUCZOWE:** płwocina indukowana, astma zawodowa diagnostyka

**ABSTRACT** Occupational bronchial asthma is one of the most frequent occupational lung diseases in many countries throughout the world. The diagnosis of this disease is based on clinical and occupational histories, positive immunological tests with potentially allergic agents and functional respiratory tests. However, over the recent years, the induced sputum method has become a new test with promising results for the study of occupational airway diseases. The current state of knowledge of the role of induced sputum in occupational asthma and other respiratory diseases is presented in this article. Med Pr 2004; 55 (1): 47–53

**KEY WORDS:** induced sputum, occupational asthma, diagnostics

Adres autorów: Św. Teresy 8, 90-950 Łódź, e-mail: annakrak@imp.lodz.pl  
Nadesłano: 24.09.2003  
Zatwierdzono: 2.01.2004  
© 2004, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi

### WPROWADZENIE

Częstość występowania astmy oskrzelowej u dorosłych w krajach rozwiniętych szacowana jest na 2–8% (1,2). Obecnie przyjmuje się, że ok. 10% przypadków astmy dorosłych spowodowanych jest narażeniem na zawodowe czynniki uczulające w miejscu pracy (3). Tak duże rozpowszechnienie astmy zawodowej rodzi pilną konieczność dysponowania obiektywną, trafną, bezpieczną metodą diagnostyki tej choroby.

Zapalenie alergiczne jest kluczowym elementem patogenezы astmy, a zatem stwierdzenie jego obecności w drogach oddechowych i zależności od ekspozycji na zawodowe czynniki uczulające stanowi podstawowe zadanie procedur diagnostycznych, służących rozpoznaniu astmy zawodowej. Bezpośrednia ocena procesów zapalnych w błonie śluzowej oskrzeli jest możliwa za pomocą analizy składu morfologicznego i biochemicznego popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych lub morfologicznej analizy wycinków błony śluzowej oskrzeli. Jednak z uwagi na inwazyjny charakter wymienionych metod, nie znajdują one zastosowania w rutynowej diagnostyce astmy. Z tego powodu w ostatnich latach duże zainteresowanie budzi praktycznie nieinwazyjna metoda płwociny indukowanej, połączona z oceną cytologiczną uzyskanego materiału biologicznego i oznaczaniem w nim poziomów biomarkerów zapalenia.

### RYS HISTORYCZNY

Już ponad 100 lat temu Gollasch i Ellis (4,5) zauważyli obecność granulocytów kwasochłonnych w płwocinie osób chorych na astmę oskrzelową. Później stwierdzono, że płwocina pacjentów z astmą zawiera nie tylko komórki, ale także inne charakterystyczne elementy – kryształki Charcota-Leydena utworzone przez pochodzącą z eozynofilów lizofosfolipazę (6), czy też konglomeraty komórek nabłonka oskrzeli zwane ciałkami Creoli (7).

W 1952 r. badanie płwociny znalazło zastosowanie w diagnostyce takich chorób układu oddechowego, jak: nowotwory płuc i gruźlica (8). Ponieważ zbyt mała ilość śluzu oskrzelowego powodowała, że był on często połykany przez pacjentów lub też były problemy z jego odkrztuszeniem, w 1958 r. Bickermann i wsp. (8) zastosowali inhalacje hipertonicznego roztworu chlorku sodu u pacjentów z chorobą nowotworową w celu pozyskania większej ilości materiału biologicznego do dalszej diagnostyki cytologicznej.

Wooton i Dulfano (9) w opublikowanej w 1978 r. pracy zwrócili uwagę na celowość zastosowania odczynników DTT (Dithiothreitol) i DTE (Dithioethreitol) w czasie opracowywania materiału biologicznego pobranego od chorego. Odczynniki te, zmniejszając lepkość śluzu, ułatwiają wyizo-

lowania frakcji komórkowych, nie powodując równocześnie uszkodzenia elementów morfotycznych (10,11).

W 1992 r. Pin i wsp. (12,13) jako pierwsi opublikowali doniesienia o przydatności badania płwociny indukowanej w diagnostyce zapalenia eozynofilowego u pacjentów chorych na astmę oskrzelową.

W latach 1950–1980 wielu badaczy podejmowało próby określenia zmian w składzie komórkowym płwociny w astmie oskrzelowej i przewlekłym zapaleniu oskrzeli w okresach stabilnych klinicznie oraz w czasie zaostrzenia (14–16). Wyniki tych badań oraz liczne modyfikacje metodyki badania płwociny indukowanej, zmierzające do jej udoskonalenia, doprowadziły ostatecznie do uznania wartości tej metody w diagnostyce astmy oskrzelowej i innych chorób układu oddechowego (17–20).

### **BADANIE PŁWOCINY INDUKOWANEJ – METODYKA POBIERANIA PRÓBEK WYDZIELINY ORAZ ANALIZA MORFOLOGICZNA I BIOCHEMICZNA ODKRZTUSZONEGO MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO**

Badanie płwociny indukowanej jest metodą, która pozwala na bezpośrednią ocenę charakteru i nasilenia procesów zapalnych w dolnych drogach oddechowych. Podawany drogą wziewną hipertoniczny roztwór chlorku sodu zwiększa przepuszczalność naczyń śluzówki dróg oddechowych dla białek osocza (21), powoduje zmniejszenie lepkości śluzu i pobudza proces oczyszczania rzęskowego, co ostatecznie prowadzi do wzrostu objętości wydzieliny w drogach oddechowych oraz ułatwia jej odkrztuszenie.

Metoda ta nadaje się do stosowania u osób dorosłych, a także u dzieci powyżej 7 roku życia (13). Jest to badanie nieinwazyjne i bezpieczne dla pacjenta (22); zdecydowanie mniej uciążliwe niż zabieg bronchoskopii. U niektórych badanych inhalacja hipertonicznego roztworu chlorku sodu może wywołać skurcz oskrzeli. Mechanizm skurczu związany jest z degranulacją komórek tucznych, w trakcie której

uwalniane są mediatory, powodujące zwężenie dróg oddechowych, w tym histamina (23). Aby nie dopuścić do wystąpienia tego niekorzystnego zjawiska, zaleca się stosowanie w czasie indukowania płwociny wziewnego preparatu leku z grupy  $\beta_2$ -sympatykomimetyków o krótkim czasie działania (24). Należy podkreślić, że inhalacja  $\beta_2$ -sympatykomimetyku nie wpływa na zmianę składu komórkowego płwociny indukowanej (25). Inhalacja stężonego roztworu chlorku sodu powoduje także kaszel, który występuje niezależnie od zwężenia oskrzeli i prawdopodobnie spowodowany jest podrażnieniem zakończeń nerwowych aferentnych w drogach oddechowych (26).

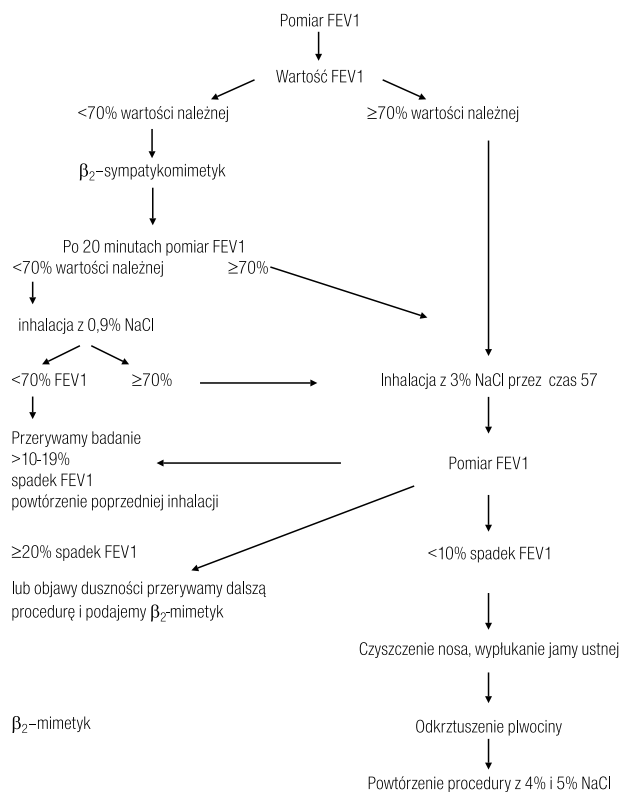
Procedurę indukcji określają zalecenia Europejskiego Towarzystwa Oddechowego (European Respiratory Society) (27) – zawarte w tabeli 1. Schemat badania płwociny indukowanej stosowany w diagnostyce zawodowej astmy oskrzelowej w Klinice Chorób Zawodowych Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi przedstawiono w postaci algorytmu na ryc. 1.

Badanie płwociny indukowanej nie powinno być stosowane w diagnostyce astmy oskrzelowej u osób z wartością wskaźnika natężonej objętości wydechowej pierwszosekundowej (FEV1) poniżej 60% wartości należnej, a więc u chorych z astmą ciężką (28). U takich pacjentów również wykonanie swoistych prób prowokacyjnych jest często niemożliwe lub wymaga wcześniejszego wdrożenia odpowiedniego leczenia farmakologicznego.

W trakcie indukcji płwociny powszechnie stosuje się inhalację hipertonicznym roztworem chlorku sodu we wzrastających stężeniach, tj. 3% – 4% – 5% (13,29,30). W przypadku pacjentów z zaostrzeniem astmy zaleca się w początkowym etapie badania podanie roztworu soli fizjologicznej i dopiero w przypadku niewystąpienia reakcji bronchospastycznej, podanie w kolejnym etapie badania drogą wziewną roztworu chlorku sodu we wzrastającym stężeniu (31). Odzysk materiału z dolnych dróg oddechowych po inhalacji hipertonicznych roztworów chlorku sodu jest znacznie większy niż po inhalacji roztworu soli w stężeniu fizjologicznym.

**Tabela 1.** Zalecenia Europejskiego Towarzystwa Oddechowego (European Respiratory Society) dotyczące wymogów technicznych wykonania badania płwociny indukowanej

Wymagania dotyczące warunków technicznych pomieszczeń, sprzętu oraz kwalifikacji kadry medycznej	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Pomieszczenie powinno być wyposażone w wentylację i urządzenia ostarczające i odprowadzające wodę</li> <li>■ Nebulizator ultradźwiękowy, spirometry, mierniki do pomiaru wartości wskaźnika PEF</li> <li>■ Naczynia do gromadzenia płwociny, zamrażarka do przechowywania pobranego materiału, sterylny roztwór soli fizjologicznej</li> <li>■ Doświadczona kadra medyczna – pielęgniarka oraz lekarz</li> </ul>
Konieczność zastosowania leków bronchodilatacyjnych przed rozpoczęciem badania	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Zaleca się podanie 200–400 mmg salbutamolu drogą wziewną</li> </ul>
Konieczność monitorowania czynności wentylacyjnej układu oddechowego	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Pomiar wartości wskaźników FEV1 bądź PEF</li> <li>■ Ocena parametrów wentylacyjnych przynajmniej przed i po indukcji płwociny; zawsze w przypadku wystąpienia objawów niepożądanych</li> </ul>
Wymagania dotyczące nebulizatorów	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Preferowany nebulizator ultradźwiękowy o możliwości wyrzutu roztworu soli pomiędzy 0,2–4,6 ml/min</li> </ul>
Stężenia roztworu soli	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Preferowane 0,9; 3; 4 i 5%</li> <li>■ Podawać w kolejności wzrastania, bądź to samo stężenie</li> </ul>
Czas trwania inhalacji	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Zalecany 10–30 minut</li> </ul>



Ryc. 1. Schemat indukcji płwociny.

W kolejnym etapie badania, makroskopowo ocenia się jakość płwociny oraz stopień jej zanieczyszczenia. W trakcie dalszej obróbki, do materiału zostaje dodany odczynnik DTT (Dithiothreitol), który ułatwia oddzielenie materiału śluzowego od elementów morfotycznych (10,11). Materiał po odwirowaniu może zostać zamrożony i wykorzystany do dalszych badań, bądź poddany natychmiastowej obróbce. Za każdym razem określa się żywotność komórek oraz cytogram z barwionych preparatów. Pozbawiony komórek supernatant może zostać wykorzystany do oznaczeń wielu biomarkerów (32,33).

## ROLA BADANIA PŁWOCINY INDUKOWANEJ W CHOROBYCH UKŁADU ODDECHOWEGO ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM ZAWODOWEJ ASTMY OSKRZELOWEJ

W płwocinie zdrowego człowieka większość komórek (ok. 60%) stanowią makrofagi, a pozostałe komórki to głównie neutrofile (granulocyty obojętne) (34). Eozynofile (granulocyty kwasochłonne), komórki metachromatyczne i limfocyty stanowią niewielki procent komórkowego składu płwociny (u zdrowych dzieci średni odsetek eozynofiliów w indukowanej płwocinie wynosi około 0,3%) (35).

Analiza zmian w składzie morfologicznym płwociny indukowanej dostarcza wielu informacji, służących lepszemu poznaniu procesów zapalenia alergicznego w błonie śluzowej oskrzeli, udoskonaleniu diagnostyki oraz monitorowa-

niu przebiegu astmy. Wzrost liczby i odsetka eozynofiliów w płwocinie indukowanej informuje o nasileniu procesu alergiczno-zapalnego, a także ma znaczenie w ocenie odpowiedzi na leczenie glikokortykosteroidami i antagonistami leukotrienów (36,37). Obecność eozynofiliów w płwocinie indukowanej u pacjenta z astmą oskrzelową wskazuje na potencjalnie dobrą odpowiedź na leczenie kortykosteroidami. Spadek odsetka eozynofiliów w płwocinie w wyniku zastosowania tych leków świadczy o ich skuteczności i spowodowany jest najprawdopodobniej wpływem terapii na mechanizmy adhezji komórkowej i przepuszczalność naczyń (38). Zmniejszenie liczby eozynofiliów w płwocinie obserwowano także u dzieci leczonych montelukastem (37).

Zdaniem niektórych autorów, liczba eozynofiliów w płwocinie wykazuje korelację z obiektywnymi wskaźnikami zaostrenia astmy (12,17). Zauważono, że okresom zaostrenia tej choroby, ze znacznym ograniczeniem przepływu powietrza w drogach oddechowych, towarzyszy wzrost liczby eozynofiliów oraz uwalnianych przez te komórki mediatorów zapalnych, w tym eozynofilowego białka kationowego (ECP; ang. Eosinophil Cationic Protein) (39,40). Liczba eozynofiliów w płwocinie jest zatem markerem stanu zapalnego dróg oddechowych u chorych na astmę oskrzelową.

U chorych na astmę obserwuje się także zwiększenie liczby komórek tucznych w płwocinie indukowanej, w porównaniu do osób zdrowych i chorych na przewlekłe zapalenie oskrzeli (13). W świetle licznych doniesień wydaje się jednak, że brak jest istotnej korelacji pomiędzy liczbą tych komórek w płwocinie a innymi markerami zaostrenia astmy, tzn. wartością wskaźnika FEV1 oraz reaktywnością dróg oddechowych na metacholinę (41,42).

W płwocinie chorych na astmę wykrywa się również mediatory reakcji alergicznej uwalniane przez komórki tuczne, czyli tryptazę i histaminę, jednakże ich stężenia nie wykazują istotnych różnic w porównaniu do wykrywanych u osób zdrowych (43).

Zwiększony odsetek neutrofilów w płwocinie (53%) w porównaniu z astmą łagodną (35%) obserwuje się w grupie chorych na ciężką astmę oporną na leczenie glikokortykosteroidami doustnymi (44,45). Przewaga neutrofilów jest również charakterystyczna dla chorób dróg oddechowych wywołanych przez czynniki infekcyjne.

Badanie płwociny indukowanej może być także przydatne w różnicowaniu astmy oskrzelowej i przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POCHP). W płwocinie chorych na POCHP obserwuje się zwiększoną liczbę neutrofilów, makrofagów i limfocytów CD8 w porównaniu do osób z astmą (46). Wykrywa się tu także wyższe stężenia interleukiny 8 (IL-8), posiadającej zdolność aktywacji neutrofilów oraz powodującej przejście procesu zapalnego w stan przewlekły, co prowadzi do miejscowego niszczenia tkanek (47). Należy brać pod uwagę, że płwocina chorych na POCHP w okresie zaostrenia tej choroby lub w przypadku jej współistnienia z astmą może zawierać również zwiększoną liczbę eozynofiliów.

**Tabela 2.** Zmiany w składzie odsetkowym komórek w badaniu płwociny indukowanej w zależności od czynnika etiologicznego

Dominujące komórki	Przyczyna wzrostu liczby komórek
Eozynofile	astma niekontrolowana eozynofilowe zapalenie oskrzeli bez astmy ekspozycja na alergeny i chemiczne czynniki uczulające przewlekłe ograniczenie przepływu w drogach oddechowych odpowiadające na glikokortykosteroidy
Neutrofile	palenie papierosów zanieczyszczenia powietrza np. ozon endotoksyna infekcje astma oporna na leczenie glikokortykosteroidami
Makrofagi	refluks żołądkowo przełykowy lewokomorowa niewydolność krążenia (makrofagi hemocyderynowe)
Limfocyty	Sarkoidoza infekcja Chlamydia pneumoniae

Zmiany w składzie komórkowym płwociny indukowanej w różnych stanach chorobowych oraz pod wpływem ekspozycji na czynniki biologiczne, fizyczne i chemiczne przedstawiono w tabeli 2 (34).

W ostatnich latach coraz powszechniej oznacza się w płwocinie indukowanej stężenia markerów świadczących o aktywacji limfocytów Th2, a więc komórek odgrywających kluczową rolę w zapaleniu alergicznym. Ocenia się stężenia m.in. niektórych cytokin – GM-CSF, IL-5, IL-4 i IL-13 (48,49). Ostatnie badania wykazały także, że zapaleniu alergicznemu towarzyszy zwiększona ekspresja w płwocinie indukowanej mRNA dla IL-4, IL-5 i TNF- $\alpha$  (29,48,49).

Zastosowanie badania płwociny indukowanej w diagnostyce astmy zawodowej

Pierwsze doniesienia dotyczące przydatności badania płwociny indukowanej w diagnostyce zawodowej astmy oskrzelowej pochodzą z 1994 r. Maestrelli i wsp. zwrócili uwagę na celowość zastosowania tej metody w przypadku astmy spowodowanej uczuleniem na izocyjaniiny (50). Badacze ci obserwowali w materiale odkrztuszonym przez pacjenta po ekspozycji zawodowej, istotny wzrost liczby eozynofiliów, w czasie odpowiadającym fazie późnej reakcji alergicznej. Wzrost liczby granulocytów obojętnochłonnych nie wykazywał istotności statystycznej (50).

Park i wsp. (51) opisali istotny wzrost liczby granulocytów kwaso- i obojętnochłonnych oraz komórek tucznych w płwocinie indukowanej, pobranej od osób zawodowo ekspozowanych na pyły zbóż. Powyższym zmianom towarzyszył wzrost stężeń mediatorów zapalnych, w tym mieloperoksydazy i IL-8. Prowokacja wziewna pyłem zbóż nie wpłynęła w istotny sposób na zmiany w składzie morfologicznym płwociny indukowanej oraz na stężenia wymienionych mediatorów zapalnych u osób z astmą atopową, uczulonych na alergeny roztoczy kurzu domowego, stanowiących grupę kontrolną.

Obata i wsp. (52) odnotowali znamienny wzrost odsetka eozynofiliów w płwocinie indukowanej u 17 osób z rozpo-

znaną astmą oskrzelową zawodową, w 6 i 24 godzinie po prowokacji alergenami cedru czerwonego.

W płwocinie indukowanej, uzyskanej od pacjentów chorych na zawodową astmę oskrzelową, stwierdza się także zwiększoną liczbę komórek tucznych. Na przykład Alvarez i wsp. (53) poza znamiennym wzrostem odsetka eozynofiliów i komórek nabłonkowych po prowokacjach pyłem zbóż, obserwowali w płwocinie istotny wzrost liczby komórek tucznych oraz wzrost poziomu tryptazy mastocytarnej.

Prace Lemiera i wsp. wskazują na użyteczność badania płwociny indukowanej w diagnostyce zawodowej astmy oskrzelowej, gdy nie jest możliwa szczegółowa identyfikacja alergenu, a test prowokacji w miejscu pracy jest dodatni (54). Badacze ci obserwowali istotny wzrost liczby eozynofiliów i poziomu ECP w płwocinie indukowanej osób, u których w trakcie pracy występował co najmniej 20% spadek wartości wskaźnika FEV1 i co najmniej czterokrotny wzrost reaktywności śluzówki oskrzeli.

Badania płwociny indukowanej mogą umożliwić określenie roli poszczególnych komórek w patogenezie astmy zawodowej. Analiza opublikowanych doniesień, dotyczących zastosowania tej metody, wskazuje, że szczególne znaczenie w astmie spowodowanej uczuleniem na czynniki o dużej masie cząsteczkowej mają eozynofile, a spowodowanej czynnikami o małej masie – neutrofile (35,55,56,57).

Poza zmianami komórkowymi istotne znaczenie mają również zmiany biochemiczne. Zwiększonemu napływowi eozynofiliów do płwociny indukowanej po prowokacjach swoistym alergenem towarzyszy wzrost stężenia albumin w płwocinie indukowanej (niepublikowane obserwacje własne). Podobne zmiany obserwowaliśmy również w popłuczynach nosowych (58,59). Stosunek albumin do białka całkowitego (tzw. wskaźnik przepuszczalności naczyń) jest przydatnym parametrem w diagnostyce różnicowej zapalenia alergicznego i procesów zapalnych o innym podłożu.

Charakterystyczna dla astmy nieswoista nadreaktywność oskrzeli, której stopień może być oceniany za pomocą wziewnego testu z histaminą, z oznaczeniem wskaźnika PC20 (ang. provocation concentration causing a fall of 20% FEV1) często koreluje ze zmianami w składzie komórkowym płwociny oraz z poziomem mediatorów uwalnianych przez komórki zapalne. Gibson i wsp. (60) stwierdzili istotną zależność pomiędzy eozynofilią w płwocinie, liczbą komórek tucznych w błonie śluzowej oskrzeli a nadreaktywnością na hipertoniczny roztwór chlorku sodu.

Istnieje jednak pewna grupa chorych na astmę oskrzelową, u których po prowokacji czynnikiem alergizującym obserwuje się jedynie napływ komórek zapalnych przy braku istotnych spadków wskaźników spirometrycznych i zmian w stopniu reaktywności śluzówki oskrzeli na bodźce nieswoiste (54,56). Najprawdopodobniej przyczyną tej nietypowej odpowiedzi na swoisty alergen może być niedostateczna ilość materiału użytego w czasie wykonywania prób prowokacyjnych lub zbyt długi okres od zakończenia ekspozycji zawodowej.

Wprowadzenie metody płwociny indukowanej w diagnostyce astmy, w tym o podłożu zawodowym, doprowadziło do identyfikacji nowej jednostki chorobowej, jaką jest alergiczne eozynofilowe zapalenie oskrzeli bez astmy (61). U takich chorych obrazowi alergicznego zapalenia błony śluzowej oskrzeli i obiektywnym wskaźnikom alergizacji (dodatnie wyniki punktowych testów skórnych, obecność alergenowo swoistych IgE w surowicy) towarzyszą skąpe objawy ze strony układu oddechowego (kaszel, odpluwanie niewielkiej ilości płwociny) przy braku typowej dla astmy nadreaktywności oskrzeli i jej symptomatologii klinicznej. Może mu towarzyszyć przyspieszony spadek wskaźników spirometrycznych związany z wiekiem.

## METODA PŁWOCINY INDUKOWANEJ – PERSPEKTYWY ZASTOSOWANIA

Zastosowanie metody indukcji płwociny, jak dotychczas jedynej nieinwazyjnej techniki pozyskiwania materiału biologicznego z oskrzeli, stworzyło wiele nowych możliwości w zakresie badań naukowych i codziennej praktyce klinicznej. W chwili obecnej najistotniejszym wydaje się standaryzacja i określenie zakresu wartości prawidłowych dla biomarkerów obecnych w fazie płynnej materiału. Z punktu widzenia immunologa bardzo ważnym jest także dalszy rozwój techniki cytofluorymetrii limfocytów, uzyskiwanych drogą indukcji płwociny, co może zaowocować bezcennymi informacjami, dotyczącymi patogenyzy chorób układu oddechowego. Konieczne są dalsze badania odnoszące oznaczenia parametrów płwociny indukowanej uzyskanej od chorych z astmą do stanu klinicznego, historii naturalnej, funkcji płuc, remodelingu dróg oddechowych, nadreaktywności oskrzelowej i skuteczności terapii. Pojawiła się nowa perspektywa screeningu raka płuca – dzięki zastosowaniu metod immunologicznych i PCR w skojarzeniu z metodą płwociny indukowanej można określać mutacje i markery nowotworowe w materiale pochodzącym z miejsca procesu chorobowego. Metoda płwociny indukowanej z pewnością znajdzie szerokie zastosowanie w ocenie alergizującego, toksycznego, w tym genotoksycznego wpływu środowiska pracy, a także ocenie czynników infekcyjnych i wywołanych przez nie efektów biologicznych w układzie oddechowym.

## PODSUMOWANIE

Metoda płwociny indukowanej stwarza możliwość wielokrotnego uzyskiwania materiału biologicznego z oskrzeli drogą nieinwazyjną. Tym samym pozwala na monitorowanie zmian cytologicznych i biochemicznych w oskrzelach, co przyczynia się do głębszego wniknięcia w patogenyzy wielu chorób układu oddechowego, udoskonalenia diagnostyki i terapii, a także oceny efektów biologicznych negatywnego oddziaływania ekspozycji zawodowej.

## PIŚMIENNICTWO:

1. European Community Respiratory Health Survey: Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). *Eur. Respir. J.* 1996; 9: 687–695.
2. Schafer T., Ring J.: Epidemiology of allergic diseases. *Allergy* 1997; 52: 14–22.
3. Chan-Yeung M.: Occupational asthma – global perspective. *Allergy Clin. Immunol. Intern.* 2003; 15: 203–207.
4. Gollasch H.: Zur Kenntniss der asthmatischen Sputums. *Fortschr. Med.* 1889; 7: 361–365.
5. Ellis A.G.: The pathological anatomy of bronchial asthma. *Am. J. Med. Sci.* 1908; 36: 407–429.
6. Dorp P.J., Ackerman S.J., Gleich J.: Charcot-Leyden crystal proteins and eosinophil granule major basic protein in sputum of patients with respiratory diseases. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1984; 130: 1072–1077.
7. Naylor B.: The shedding of the mucosa of the bronchial tree in asthma. *Thorax* 1962; 17: 69–72.
8. Bickerman H.A., Sproul E.E., Barach A.L.: An aerosol method of producing bronchial secretions in human subjects: a clinical technic for the detection of lung cancer. *Dis. Chest* 1958; 33: 347–362.
9. Wooton O.J., Dulfano M.J.: Improved homogenisation techniques for sputum cytology counts. *Ann. Allergy* 1978; 41: 150–154.
10. Hamid Q., Kelly M.M., Linden M., Louis R., Pizzichini M.M., Pizzichini E. i wsp.: Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hybridisation. *Eur. Respir. J.* 2002; 20 Suppl. 37: 19–23.
11. Pizzichini E., Pizzichini M.M., Efthimiadis A., Hargreave F.E., Dolovich J.: Measurement of inflammatory indices in induced sputum: effects of selection of sputum to minimize salivary contamination. *Eur. Respir. J.* 1996; 9: 1174–1180.
12. Pin I., Gibson P.G., Kolendowicz R., Girgis-Gabardo A., Denburg J.A., Hargreave F.E. i wsp.: Induced sputum cell counts: a non-invasive method to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47: 25–29.
13. Grootendorst D.C., Henry R.L., Pin J., Ryttila P.H., Wark P., Wilson N. i wsp.: Sputum induction in children. *Eur. Respir. J.* 2002; 20: 44–6.
14. Brown H.M.: Treatment of chronic asthma with prednisolone: significance of eosinophils in sputum. *Lancet* 1958; ii: 1245–247.
15. Turnbull L.S., Turnbull L.W., Leitch A.G., Crofton J.W., Kay A.B.: Mediators of immediate – type hypersensitivity in sputum from patients with chronic bronchitis and asthma. *Lancet* 1977; i: 526–529.
16. Viera V.G., Prolla J.C.: Clinical evaluation of eosinophils in sputum. *J. Clin. Path.* 1979; 32: 1054–1057.
17. Sterk P.J., Hargreave F.E., Kips J.C., Inman M.D., Louis R., Pizzichini M.M. i wsp.: Clinical application of assessment of airway inflammation using induced sputum. *Eur. Respir. J.* 2002; 20: 40–43.
18. Norzila M.Z., Fakes K., Henry R.L., Simpson J., Ginson P.: Interleukin – 8 secretion and neutrophil recruitment accompanies induced sputum eosinophil activation in children with acute asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161: 769–774.
19. Parameawaran K., Anvari M., Efthimiadis A., Kamada D., Hargreave F.E., Allen C.J.: Lipid – laden macrophages in induced sputum as a marker of oropharyngeal reflux and possible acid aspiration in gastro-esophageal reflux. *Eur. Respir. J.* 2000; 16: 1119–1122.

20. Leigh R., Sharon R.F., Efthimiadis A., Hargreave F.E., Kitching A.D.: Diagnosis of left - ventricular dysfunction from induced sputum examination. *Lancet* 1999; 354: 833-834.
21. Chanez P., Holz O., Ind P.W., Djukonovic., Maestrelli P.: Sputum induction. *Eur. Respir. J.* 2002; 20 Supl. 37: 3-8.
22. Hunter C.J., Ward R., Woltmann G., Wardlaw A.J., Pavord I.D.: The safety and success rate of sputum induction using a low output ultrasonic nebuliser. *Respir. Med.* 1999; 93: 345-348.
23. Finney M.J.B., Anderson S.D., Black J.L.: Terfenadine modifies airway narrowing induced by inhalation of nonisotonic aerosols in subjects with asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990; 141: 1151-1157.
24. Jatakanon A., Lim S., Kharitonow S.A., Chung K.F., Barnes P.J.: Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils and metacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1998; 53: 91-95.
25. Cianchetti S., Bacci E., Bartoli M.L., Riocco L., Carnevali S., Dente F.L. i wsp.: Effect of beta 2 agonist pre-treatment on cell counts and soluble mediator concentrations in hypertonic saline-induced sputum. *Clin. Exp. Allergy* 1999; 29: 712-718.
26. Eschenbacher W.L., Boushey H.A., Sheppard D.: Alternation in asmolality of inhaled aerosols cause bronchoconstriction and cough, but absence of a permanent anion causes cough alone. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1984; 129: 211-215.
27. Ryttila P.: Induced sputum for assessment of airway inflammation in patients with COPD, asthma and asthma-like symptoms [praca doktorska]. University of Helsinki 2002.
28. Kips J.C., Fahy J.V., Hargreave F.E., Ind P.W., Veen J.C.C.M.: Methods for sputum induction and analysis of induced sputum: a method for assessing airway inflammation in asthma. *Eur. Respir. J.* 1998; 11: 9-12.
29. Olivenstein R., Taha R., Minshall E.M., Hmid Q.A.: IL - 4 and IL - 5 mRNA expression in induced sputum of asthmatic subjects: comparison with bronchial wash. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999; 103: 238-245.
30. Grootendorst D.C., Sont J.K., Willems L.N.A., Kluin-Nelemans J.C., Van Kricken J.H., Veselic-Charvat M. i wsp.: Comparison of inflammatory cell count in asthma. Induced sputum vs bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies. *Clin. Exp. Allergy* 1997; 27: 769-779.
31. Pizzichini M.M., Pizzichini E., Clelland L., Efthimiadis A., Hussack P., Evans S. i wsp.: Spontaneous and induced sputum to measure indices of airway inflammation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 154: 866-869.
32. Gauvreau G., Lee J.M., Watson R.M., Irani A.M.A., Schwartz L.B., O'Byrne P.M.: Increased numbers of both airway basophils and mast cells in sputum after allergen inhalation challenge of atopic asthmatic. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161 (5): 1473-1478.
33. Stick S.M.: Non-invasive monitoring of airway inflammation. *MJA* 2002; 177: 59-60.
34. Jayaram L., Parameswaran K., Sears M.R., Hargreave F.E.: Induced sputum cell counts: their usefulness in clinical practice. *Eur. Respir. J.* 2000; 16: 150-158.
35. Ulińska D., Szmidi M.: Użyteczność badania eozynofili w indukowanej płwocinie w astmie oskrzelowej. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2001; 69 (9-10): 581-589.
36. Parameswaran K., Hargreave F.: The use of sputum cell counts to evaluate asthma medications. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2001; 52: 121-128.
37. Pizzichini E., Leff J.A., Reiss T.F., Hendeless L., Boulet L.P., Wei L.X. i wsp.: Montelukast reduces airway eosinophilic inflammation in asthma: a randomised controlled trial. *Eur. Respir. J.* 1999; 14: 12-18.
38. Gibson P.G., Wlodarczyk J., Hensley M.J., Gleeson M., Henry R.L., Cripps A.W. i wsp.: Epidemiological association of airway inflammation with asthma symptoms and airway hyperresponsiveness in childhood. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 158: 36-41.
39. Keatings V., Leigh R., Peterson C., Shute J., Venge P., Djukonovic R.: Analysis of fluid - phase mediators. *Eur. Respir. J.* 2002; 20 Supl. 37: 24-39.
40. Pizzichini M.M., Pizzichini E., Efthimiadis A., Dolovich J., Hargreave F.E.: Measuring airway inflammation in asthma; eosinophils and eosinophilic cationic protein in induced sputum compared with peripheral blood. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997; 99: 539-544.
41. Kirby J.G., Hergreaves F.E., Gleich G.J., O'Byrne P.M.: Bronchoalveolar cell profiles of asthmatic and nonasthmatic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987; 136: 379-85.
42. Wardlaw A.J., Dunnette S., Gleuch G.J., Collins J.V., Kay A.B.: Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subjects with mild asthma. Relationship to bronchial hyperreactivity. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988; 137: 62-69.
43. Fahy J.V., Liu J., Wong H., Boushey H.A.: Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993; 147: 1126-1131.
44. Fahy J.V., Kim K.W., Liu J., Boushey H.A.: Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbations. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1995; 95: 843-852.
45. Jatakanon A., Uasuf C., Maziak W., Lim S., Ching K.F., Barnes P.J.: Neutrophilic inflammation in severe persistent asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 160: 1532-1539.
46. 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: 449-455.
47. Saetta M., Di Stefano A., Maestrelli P., Turato G., Mapp C.E., Pieno M. i wsp.: Airway eosinophilia and expression of interleukin-5 protein in asthma and exacerbations of chronic bronchitis. *Clin. Exp. Allergy* 1996; 26: 766-774.
48. Olivenstein R., Taha R., Minshall E.M., Hamid Q.A.: IL - 4 and IL - 5 mRNA expression in induced sputum of asthmatic subjects: comparison with bronchial wash. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999; 103: 238-245.
49. Bettiol J., Sele M., Henket M., Louise E., Malaise M., Batsch P. i wsp.: Cytokine production from sputum cells after allergenic challenge in IgE - mediated asthma. *Allergy* 2002; 5 (12): 1145-1150.
50. Maestrelli P., Saetta M., Stefano A., Calcagni P.G., Turato G., Rugieri M.P. i wsp.: Comparison of leukocyte counts in sputum, bronchial biopsies and bronchoalveolar lavage. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152: 1926-1931.
51. Park H.S., Jung K.S., Hwang S.C., Nahm D.H., Yim H.E.: Neutrophil infiltration and release of IL - 8 in airway mucosa from subjects with grain - dust induced occupational asthma. *Clin. Exp. Allergy* 1998; 28: 724-730.
52. Obata H., Dittirick H., Chan H., Chan Yeung M.: Sputum eosinophils and exhaled nitric oxide during late asthmatic reaction in patients with western red cedar asthma. *Eur. Respir. J.* 1999; 13: 489-495.
53. Alvarez M.J., Castillo R., Rey A., Ortega N., Blanco C., Carrilo T.: Occupational asthma in a grain worker due to *Lepidoglyphus destructor*, assessed by bronchial provocation test and induced sputum. *Allergy* 1999; 54: 884-889.

- 
54. Lemiere C., Chaboillez S., Trudeau C., Taha R., Maghni K., Martin J.G. i wsp.: Characterization of airway inflammation after repeated exposures to occupational agents. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; 106: 1163–1170.
55. Park H.S., Jung K.S., Kim H.Y., Nahm D.H., Kang K.R.: Neutrophil activation following TDI bronchial challenges to the airway secretion from subjects with TDI induced asthma. *Clin. Exp. Allergy* 1999; 29: 1395–1401.
56. Lemiere C., Chaboillez S., Malo J.L., Cartier A.: Changes in sputum cell counts after exposure to occupational agents: What do they mean? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 107: 1063–1068.
57. Cartier A., Malo J.L.: Occupational challenge tests W: Bernstein I.L., Chan-Yeung M., Malo J.L., Bernstein D.I. [red.]. *Asthma in the Workplace*. Wyd. 2. Marcel Dekker, New York 1999, s. 211–235.
58. Górski P., Krakowiak A., Ruta U.: Nasal and bronchial responses to flour inhalation in subjects with occupationally induced allergy affecting airways. *Inter. Arch. Occup. Environ. Health* 2000; 73: 488–497.
59. Pałczyński C., Walusiak J., Ruta U., Górski P.: Occupational asthma and rhinitis due to glutaraldehyde: changes in nasal lavage fluid after specific inhalatory challenge test. *Allergy* 2001; 56: 1186–1191.
60. Gibson P.G., Saltos N., Borgas T.: Airway mast cells and eosinophils correlate with clinical severity and airway hyperresponsiveness in corticosteroid – treated asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; 105: 752–759.
61. Vignola A.M., Chanez P., Campbell A.M., Souques L., Lebel B., Enander I. i wsp.: Airway inflammation in mild intermittent and in persistent asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 157: 403–409.