

# Citološka analiza bronhalnog aspirata u dijagnostici plućnih bolesti djece

---

**Banac, Srđan**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2001**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:188:372550>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-02**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka Library - SVKRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET

Srđan Banac

CITOLOŠKA ANALIZA BRONHALNOG ASPIRATA  
U DIJAGNOSTICI PLUĆNIH BOLESTI DJECE

Doktorska disertacija

Rijeka, 2001.

## I AUTOR

---

Ime i prezime : Srđan Banac  
Datum i mjesto rođenja.: 5. rujna 1961. Rijeka  
Završeni fakultet : Medicinski fakultet Rijeka, 1987.  
Posdiplomski studij: Medicinski fakultet u Rijeci 1992  
Sadašnje zaposlenje: liječnik- pedijatar, K B C Rijeka

---

## II PODACI O DISERTACIJI I MENTORIMA

---

Naslov rada: CITOLOŠKA ANALIZA BRONHALNOG ASPIRATA U  
DIJAGNOSTICI PLUĆNIH BOLESTI DJECE  
Broj str. 103, sl. 17, tab.13, bibliografskih podataka: 151  
Ustanova ili mjesto gdje je disertacija izrađena: K B C Rijeka  
Znanstveno područje: BIOMEDICINA I ZDRAVSTVO  
Znanstveno polje: Kliničke medicinske znanosti  
Znanstvena grana: Pedijatrija  
Mentori: prof.dr.sc. Vladimir Ahel  
Fakultet na kojem je obranjena: Medicinski fakultet Rijeka

## III OCJENA I OBRANA

---

Datum prijave teme: 28 lipnja 1999.  
Datum predaje rad: 25. rujna 2001.  
Datum sjednice Vijeća na kojoj je rad prihvaćen: 27. studenoga 2001.  
Sastav Povjerenstva koje je rad ocijenilo  
doc.dr.sc. Vojko Rožmanić, doc.dr.sc. Ksenija Lučin i prof.dr.sc. Jadranka Franulović  
Datum obrane : 18. prosinca 2001.  
Sastav Povjerenstva pred kojim je rad obranjen: doc.dr.sc. Vojko Rožmanić,  
doc.dr.sc. Ksenija Lučin, prof.dr.sc. Jadranka Franulović i prof.dr.sc. Vladimir Ahel;

---

Mentor rada:            prof.dr.sc. Vladimir Ahel, dr.med.

Doktorska disertacija obranjena je dana \_\_\_\_\_ na \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_

3. \_\_\_\_\_

4. \_\_\_\_\_

5. \_\_\_\_\_

Rad ima 103 lista.

UDK klasifikacija:    616-076.5: 616.24: 616-053.2



Zahvaljujem se *profesoru Vladimiru Ahelu* kao mentoru i učitelju na nesebičnom prenošenju svojih znanja i vještina iz područja pedijatrijske traheobronhoskopije i pedijatrijske pulmologije uopće. Zahvaljujem mu se na pomoći i stalnoj podršci tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se *docentici Jeleni Roganović* na velikom trudu koji je uložila vršeći citološke preglede bronhalnih aspirata.

Zahvaljujem se *docentu Vojku Rožmaniću* na korisnim savjetima, laboranticama Zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC Rijeka na ažurnom pripremanju uzoraka bronhalnih aspirata, i svim onim kolegama koji su mi na bilo koji način pružili svoju pomoć tijekom izrade ovog rada.

## SAŽETAK

**Ciljevi istraživanja.** Odrediti dijagnostičku vrijednost standardne citološke analize bronhalnih aspirata u traheobronhoskopiranih pedijatrijskih bolesnika. Odrediti koja bi od traheobronhoskopskih indikacijskih grupa bolesnika mogla umjesto zdrave djece poslužiti za izradu referentnih vrijednosti staničnih komponenti bronhalnog aspirata. Odrediti dijagnostičku vrijednost kvantifikacije lipidima opterećenih alveolarnih makrofaga (LLAM) u bronhalnim aspiratima djece po pojedinim aspiracijskim sindromima, i u djece s tvrdokornom, kroničnom respiratornom simptomatologijom suspektom na kroničnu mikroaspiraciju.

**Ispitanici i metode.** Istraživanjem su obuhvaćeni 41 dječak i 40 djevojčica u dobi od 5 dana do 15,5 godina (median 3,5 godine) na kojima su od listopada 1998. do lipnja 2001. na Klinici za dječje bolesti KBC Rijeka učinjeni traheobronhoskopski pregled i citološka analiza bronhalnog aspirata. Osim diferencijalnog brojanja alveolarnih makrofaga (*Am*), limfocita (*Lym*), neutrofilnih (*Neu*) i eozinofilnih (*Eos*) granulocita, na "Oil-red" bojanim preparatima bronhalnih aspirata vršena je kvantifikacija LLAM računanjem indeksa lipidne opterećenosti makrofaga (LLMI). Rezultati citološke analize standardnim su statističkim metodama uspoređivani između ispitanika sa stanjima: jasne kronične aspiracije, akutne aspiracije hrane, sumnje na aspiraciju stranog tijela i normalnim traheobronhoskopskim nalazom, tvrdokornih bronhoopstruktivnih epizoda, ponavljajućih pneumonija. Ispitanici sa stanjima kod kojih je mogućnost aspiracije isključena služili su kao kontrolna grupa.

**Rezultati.** Povišenje *Neu* i *Lym* dominira u svim ispitivanim grupama osim u ispitanika sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela i normalnim traheobronhoskopskim nalazom kod kojih su dominirali *Am*. Povišeni *Eos* karakteriziraju ispitanike s recidivima bronhoopstrukcija. Najviše srednje vrijednosti LLMI imali su ispitanici s jasnom kroničnom aspiracijom ( $205 \pm 47$ ) i ispitanici s akutnom aspiracijom mekane hrane ( $169 \pm 78$ ). Značajno niži LLMI ( $43 \pm 47$ ;  $p < 0,001$ ) imala je kontrolna grupa. Ispitanici s tvrdokornim bronhoopstrukcijama vrijednostima LLMI ( $119 \pm 52$ ) bili su rangirani između tih dviju krajnosti sa značajnim razlikama ( $p < 0,001$ ) u oba smjera. Ispitanici s ponavljajućim pneumonijama

imali su značajno niži LLMI ( $68 \pm 58$ ;  $p < 0,001$ ) u usporedbi sa svim grupama ispitanika osim s kontrolnom.

**Zaključci.** Standardna citološka analiza bronhalnog aspirata daje izrazito nespecifične rezultate, dijagnostička vrijednost joj je malena. Kvantitativna analiza LLAM upotrebljiva je dijagnostička metoda u sklopu bronhološke obrade plućnih bolesti djece. LLMI  $> 200$  ukazuje gotovo sigurno na aspiraciju, LLMI  $< 50$  govori protivno aspiraciji. Tvrdokorne bronhoopstruktivne epizode izglednija su manifestacija kronične mikroaspiracije od ponavljajućih pneumonija. Vrijednosti LLMI treba tumačiti u sklopu racionalnog kliničkog prosuđivanja i rezultata ostalih dijagnostičkih pretraga.

Ključne riječi: Aspiracijski sindromi, mikroaspiracija; Bronhalni aspirat; Bronhoalveolarna lavaža, stanične komponente; Djeca; Lipidima opterećeni alveolarni makrofazi, indeks lipidne opterećenosti makrofaga; Respiratorni simptomi, kronični.



## SUMMARY

### CYTOLOGICAL ANALYSIS OF BRONCHIAL ASPIRATES IN DIAGNOSIS OF LUNG DISEASES IN CHILDREN

**Objectives.** To evaluate diagnostic usefulness of cytological analysis of bronchial aspirates in paediatric patients who had undergone tracheobronchoscopy. To determine the group of patients according to indications for tracheobronchoscopy who could be recruited instead of healthy children to obtain reference values for cellular components of bronchial aspirates. To determine diagnostic usefulness of lipid-laden alveolar macrophages (LLAM) quantitation in children with various aspiration syndromes, and in children with persistent, chronic respiratory symptoms due to chronic microaspiration.

**Patients and methods.** We studied 41 boys and 40 girls ranging in age from 5 days to 15.5 years (median 3.5 years) all hospitalised between October 1998 and June 2001 on Paediatric clinic, Clinical hospital centre Rijeka. They had undergone tracheobronchoscopy and bronchial aspirate sampling. The differential cytology – alveolar macrophages (*Am*), lymphocytes (*Lym*), neutrophils (*Neu*), and eosinophils (*Eos*) – of aspirates was counted. Moreover, quantitation of LLAM was performed using the lipid-laden macrophage index (LLMI). LLAM indices were compared among several groups of patients suffering from: visible recurrent aspiration, acute aspiration of food and normal tracheobronchoscopical finding, bronchoobstructive episodes, recurrent pneumonias, and patients considered as definitive nonaspirators or negative controls.

**Results.** *Neu* and *Lym* dominated in differential cell counts in all groups except in patients suspected for foreign body aspiration with normal tracheobronchoscopical findings. Increased percentages of *Eos* were associated with persistent bronchoobstrutions. The highest mean LLMI showed patients with visible recurrent aspirations ( $205\pm 47$ ) and patients with acute aspiration of food ( $169\pm 78$ ). Patients considered as definitive nonaspirators had

the lowest LLMI ( $43\pm 47$ ;  $p < 0,001$ ). Patients with persistent bronchoobstructions showed LLMI ( $119\pm 52$ ) ranked between former two extremities with significant difference ( $p < 0,001$ ) in both directions. Patients with recurrent pneumonias had lower LLMI ( $68\pm 58$ ) in comparison to all groups except the negative controls.

**Conclusions.** Standard cytological analysis of bronchial aspirates showed very unspecific results, thus its diagnostic value is quite poor. Quantitation of LLAM is a useful diagnostic test as a part of bronchological evaluation of chronic lung diseases in children. LLMI  $>200$  strongly suggests aspiration, LLMI  $<50$  confirms nonaspiration. Persistent bronchoobstructive episodes are likely to be a respiratory manifestation of chronic microaspiration than recurrent pneumonias. LLMI values should be interpreted together with other proper diagnostic tests and good clinical judgment.

Key words: Aspiration syndromes, microaspiration; Bronchal aspirate; Bronchoalveolar lavage, cellular constituents; Children; Lipid-laden alveolar macrophages, lipid-laden macrophage index; Respiratory symptoms, chronic.

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b>	1
<b>1.1. Traheobronhoskopija u djece</b>	1
1.1.1. Indikacije za traheobronhoskopiju	2
<b>1.2. Bronhalna aspiracija i BAL</b>	5
1.2.1. Stanične komponente bronhalnog aspirata ili BAL	6
1.2.2. Indikacije za bronhalnu aspiraciju ili BAL	9
<b>1.3. Aspiracijski sindromi i LLAM</b>	12
1.3.1. LLAM kao pokazatelji stanja kronične aspiracije	14
1.3.2. Metode kvantifikacije LLAM	17
<b>1.4. GER, kronična mikroaspiracija, i kronične bolesti pluća</b>	20
<b>2. CILJ ISTRAŽIVANJA</b>	23
<b>3. ISPITANICI I METODE</b>	25
3.1. Ispitanici	25
3.2. Ispitivane grupe	27
3.3. Traheobronhoskopski pregled	30
3.4. Uzimanje uzorka bronhalnog aspirata	31
3.5. Priprema bronhalnog aspirata za citološku analizu	31
3.6. Kvantifikacija LLAM i određivanje LLMI	32
3.7. Statistička obrada podataka	32
<b>4. REZULTATI</b>	34
<b>4.1. Analiza staničnih komponenti bronhalnog aspirata i razlike zastupljenosti tipova stanica između glavnih ispitivanih grupa</b>	34
4.1.1. Zastupljenost <i>Neu</i>	34
4.1.2. Zastupljenost <i>Lym</i>	35
4.1.3. Zastupljenost <i>Am</i>	35
4.1.4. Zastupljenost <i>Eos</i>	35
<b>4.2. Kvantitativna analiza LLAM kod svih ispitanika</b>	37
4.2.1. Usporedba vrijednosti LLMI i nalaza opisne metode kvantifikacije LLAM kod svih ispitanika	37
4.2.2. Vrijednosti LLMI u odnosu prema dobi ispitanika	39
4.2.3. Vrijednosti LLMI u odnosu prema spolu ispitanika	41



4.2.4. Usporedba razlika srednjih vrijednosti LLMI između glavnih grupa ispitanika	42
4.2.5. Razlike u zastupljenosti tipova LLAM između glavnih grupa ispitanika	45
<b>4.3. Kvantifikacija LLAM i analiza staničnih komponenti bronhalnog aspirata u ispitanika sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela</b>	<b>47</b>
4.3.1. Vrijednosti LLMI među ispitanicima sa sumnjom na akcidentalnu aspiraciju stranog tijela	47
4.3.2. Zastupljenost tipova LLAM između ispitanika sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela	51
4.3.3. Zastupljenost standardnih tipova stanica između ispitanika sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela	53
4.3.4. Vrijednosti LLMI u ovisnosti o vremenskom periodu od aspiracije do ekstrakcije stranog tijela	55
<b>4.4. Kvantifikacija LLAM i analiza staničnih komponenti bronhalnog aspirata u ispitanika s kroničnim tvrdokornim respiratornim simptomima</b>	<b>57</b>
4.4.1. Vrijednosti LLMI među ispitanicima s kroničnim tvrdokornim respiratornim simptomima	57
4.4.2. Zastupljenost tipova LLAM između ispitanika s kroničnim tvrdokornim respiratornim simptomima	61
4.4.3. Zastupljenost standardnih tipova stanica između ispitanika s kroničnim tvrdokornim respiratornim simptomima	63
<b>4.5. Dijagnostička upotrebljivost metode kvantifikacije LLAM</b>	<b>65</b>
<b>5. RASPRAVA</b>	<b>66</b>
<b>6. ZAKLJUČAK</b>	<b>85</b>
<b>7. LITERATURA</b>	<b>87</b>
Popis skraćenica	101
Životopis	102

# 1. UVOD

## 1.1 TRAHEOBRONHOSKOPIJA U DJECE

Bronhološka obrada u dječjoj dobi neizostavan je segment dijagnostike i liječenja bolesti traheobronhalnog stabla. Indikacije za njeno provođenje svakim danom sve se više proširuju. Cjelinu bronhološke obrade djeteta čini više dijagnostičkih postupaka od kojih traheobronhoskopija predstavlja ključnu metodu pretrage. Ostale metode, endobronhalni video zapis i bronhografija, dijelovi su bronhološke obrade koji se nadovezuju na traheobronhoskopiju i u određenim slučajevima ju nadopunjuju (1,2).

Iako traheobronhoskopiju, s obzirom na indikacije i njene endoskopske mogućnosti kao takve, dijelimo na dijagnostičku i terapijsku, one se u većini slučajeva preklapaju (3). Dijagnostička traheobronhoskopija omogućuje ne samo direktni vizualni pregled sluznice i morfologije traheobronhalnog stabla, nego i ciljano uzimanje uzoraka plućnog tkiva, stanica i nestaničnog materijala. U tu svrhu stoje nam na raspolaganju tehnike dijagnostičke bronhoalveolarne lavaže (BAL), odnosno bronhalne aspiracije, te transbronhalne ili "brush" biopsije (4-6). Ovisno o indikaciji i upotrebljenoj tehnici uzimanja uzorka tkiva, bronhalnog aspirata ili lavata, dobiveni materijal može se analizirati mikrobiološkim, histološkim, citološkim, biokemijskim, imunološkim i imunohistokemijskim metodama (7,8). Rezultati navedenih pretraga dopunjuju vizualno dobivene podatke dajući traheobronhoskopskom pregledu dodatnu dijagnostičku vrijednost (9).

Terapijska traheobronhoskopija omogućuje evakuaciju stranog tijela, traheobronhalnog sekreta ili mukoznih čepova, terapijsku lavažu pluća i ciljanu instilaciju medikamenata, resekciju granulacijskog tkiva, dilataciju traheobronhalnih stenoza i traheobronhoskopsku intubaciju (10-13). Pronalaskom i izradom ultratankih fleksibilnih bronhoskopa dijagnostičke i terapijske mogućnosti traheobronhoskopije danas se sve više



koriste i u jedinicama neonatalne intenzivne terapije kako u neventilirane, tako i ventilirane novorođenčadi (14-16). Najčešće terapijske indikacije bronhoskopije kod prematurne novorođenčadi su: masivne atelektaze koje ne reagiraju na standardnu terapiju i pomoć kod postavljanja endotrahealnog tubusa u slučaju mandibularne hipoplazije, orofaringealnih masa ili sl. Sumnja na kongenitalne anomalije dišnih puteva i pluća, stridor, lokalizirana hiperinflacija pluća, atelektaza, hemoptiza, najčešće su dijagnostičke indikacije (17,18).

Do unazad dvadeset godina traheobronhoskopija u djece izvodila se isključivom krutim bronhoskopima iz razloga što se nisu mogla iznaći tehnička rješenja za konstrukciju fleksibilnog bronhoskopa s dovoljno malim vanjskim promjerom primjerenim dimenzijama dječjih dišnih puteva (19). Današnji pedijatrijski fleksibilni bronhoskopi s vanjskim promjerom od samo 2,8 mm i s promjerom sukcijskog kanala od 1,2 mm predstavljaju značajan napredak poglavito na području dijagnostičke traheobronhoskopije (20,21). Pri tome valja istaći da se rigidna i fleksibilna traheobronhoskopija međusobno ne isključuju, štoviše one su komplementarne metode i njihov izbor ovisi o svakom slučaju pojedinačno (22,23). Uz nekoliko važnih iznimaka, općenito vrijedi – ono što se može učiniti fleksibilnim bronhoskopom može se učiniti rigidnim, i obratno (24,25). Kod sumnje na aspiraciju stranog tijela za njegovu ekstrakciju obavezno treba koristiti rigidnu traheobronhoskopiju (26,27). Svaki endoskopičar dječjih donjih dišnih puteva trebao bi vladati obim tehnikama.

### 1.1.1. INDIKACIJE ZA TRAHEOBRONHOSKOPIJU

Sve indikacije za traheobronhoskopiju u odraslih mogu se primijeniti i na pedijatrijsku populaciju. Međutim, uzimajući u obzir karakteristike pulmološke kazuistike dječje dobi, zastupljenost pojedinih indikacija za pedijatrijski traheobronhoskopski pregled bitno je drugačija od onih u odraslih (28). Dok su u djece tumori pluća izuzetna rijetkost, u odraslih bolesnika endoskopičar je često u potrazi upravo za promjenama koje uzrokuju maligne bolesti pluća. S druge strane, u djece su opstrukcija dišnih puteva, kongenitalne anomalije,

atelektaze, tvrdokorne infekcije, a poglavito aspiracija stranog tijela endoskopičarev "svakodnevni kruh" (29). Indikacije za izvođenje traheobronhoskopije u djece su:

- aspiracija ili sumnja na aspiraciju stranog tijela,
- ponavljajuće i/ili tvrdokorne pneumonije,
- tvrdokorne atelektaze,
- bronhiektazije,
- tvrdokorni kašalj nejasnog uzroka,
- tvrdokorno hripanje koje ne reagira na liječenje,
- atipični oblici astme,
- kongenitalni stridor,
- kongenitalne anomalije pluća,
- hemoptiza,
- plućna tuberkuloza, itd.

Fleksibilni dječji bronhoskop često služi i za pregled gornjih dišnih puteva kod slijedećih indikacija (21,30):

- kronična neprohodnost nosa,
- opstruktivna "sleep-apnea",
- dugotrajna promuklost,
- sumnja na paralizu glasnica,
- epistaksa,
- aspiracija.

Učestalost pojedinih indikacija za traheobronhoskopiju možda najbolje prikazuju skupni statistički podaci iz 51 europskog centra navedeni u Tablici 1 (23).

**Tablica 1.** Prosječna zastupljenost najčešćih indikacija za traheobronhoskopski pregled postavljenih u 51 europskom centru (23). Neki centri vrše isključivo fleksibilnu bronhoskopiju (FB), neki isključivo rigidnu bronhoskopiju (RB), neki koriste obje tehnike (FB + RB). Numeričke vrijednosti su postoci. N: nije određeno.

<i>Indikacija (%)</i>	<i>FB</i>	<i>RB</i>	<i>FB + RB</i>
<i>Tvrdokorni kašalj i hripanje</i>	23,4	N	19,3
<i>Aspiracija stranog tijela</i>	4,9	36,7	17,9
<i>Ponavljajuće pneumonije</i>	17,0	17,5	15,7
<i>Stridor</i>	13,3	21,6	14,0
<i>Perzistentne atelektaze</i>	14,3	12,2	11,9
<i>Malformacije pluća</i>	8,1	10,6	8,6
<i>Intersticijska pneumonija</i>	6,4	N	6,5
<i>Plućna TBC</i>	6,2	6,0	4,5
<i>Hemoptiza</i>	2,6	N	2,6

Indikacije za traheobronhoskopski pregled svakim danom sve su šire. U tom smislu postoji samo jedna indikacija za dijagnostičku traheobronhoskopiju – potreba za informacijom o stanju u dišnim putevima i plućima do koje se najsigurnije, najučinkovitije i najlakše dolazi traheobronhoskopijom, i samo jedna indikacija za terapijsku bronhoskopiju – opstrukcija donjih dišnih puteva koja se najsigurnije, najučinkovitije i najlakše može ukloniti traheobronhoskopijom (30).

Ne postoje apsolutne kontraindikacije za trehaobronhoskopiju ukoliko su zadovoljeni uvjeti adekvatne stručne i tehničke opremljenosti, i ukoliko je pretraga zaista indicirana. Relativne kontraindikacije su: stanje hemoragijske dijateze, teška stenoza dišnog puta i teška



hipoksemija. Komplikacije poput prolazne bradikardije i laringospazma vrlo su rijetke, pneumotoraks još rjeđi. Opisan je i smrtni slučaj djeteta s kroničnom opstrukcijom gornjih dišnih puteva uslijed sekundarne plućne hipertenzije i kongestivnog zatajenja srca neposredno nakon traheobronhoskopskog pregleda (31). Problem postavljanja indikacije ili kontraindikacije za traheobronhoskopski pregled možda najbolje razrješava načelo Chevalier Jacksona, jednog od začetnika traheobronhoskopije, koji je još 1915 godine zapisao: "U slučaju dvoumljenja da li bronhoskopiju treba učiniti ili ne, tada ju uvijek treba učiniti" (32).

## 1.2. BRONHALNA ASPIRACIJA I BRONHOALVEOLARNA LAVAŽA

U sklopu dijagnostičke traheobronhoskopije za dobivanje analitičkog uzorka iz donjih dišnih puteva i alveola koriste se metode bronhalne aspiracije ili bronhoalveolarne lavaže (BAL). Dobiveni uzorak zapravo je tekućina koja oblaže epitel donjih dišnih puteva (*engl.* epithelial lining fluid - ELF) i sastoji se od staničnih i nestaničnih komponenti (33).

Bronhalna aspiracija podrazumijeva ciljanu aspiraciju uzorka ELF iz bronhalnog stabla. BAL se razlikuje od bronhalne aspiracije po tome što se prethodno u donje dišne puteve instilira, a zatim aspirira fiziološka otopina u dovoljnoj količini koja bi garantirala da se u povratnoj tekućini nalazi ELF alveolarnih prostora. Danas dostupnim tehnikama BAL nije moguće dobiti uzorak ELF iz alveolarnih prostora bez da povratna aspirirana tekućina ne sadrži primjese uzorka ELF bronhalnih prostora. Primjese ELF bronhalnih prostora umanjuju se ukoliko se povratna tekućina uzima u više frakcija (34). Analogno tome, bronhalnom aspiracijom ne dobiva se isključivo ELF bronhalnih prostora zbog tendencije kretanja ELF iz alveolarnih prostora prema bronhiolima i bronhima (30).

Većina publiciranih saznanja o rezultatima BAL na ljudima dobivena su na odraslim bolesnicima i na odraslim zdravim dobrovoljcima (35,36). Kod njih se za izvođenje BAL mogu koristiti relativno velike količine fiziološke otopine koje ih neće životno ugroziti, niti će izazvati nastup značajnijih akutnih komplikacija. U pedijatrijskih bolesnika korištenje dijagnostičke BAL nije tako često kao kod odraslih. Dišni putevi djece manjih su dimenzija, stoga im, uz

njihovu osnovnu bolest, instilacija većih količina fiziološke otopine potrebne za izvođenje BAL može dodatno kompromitirati zdravstveno stanje. Nadalje, metoda BAL u djece još uvijek nije u potpunosti standardizirana i postoje sumnje u reproducibilnost dobivenih rezultata. Mnogi joj osporavaju dijagnostičku vrijednost u slučaju neinfektivnih bolesti plućnog parenhima (7). Ulažu se napori s ciljem usklađivanja metodologije, te kliničke i istraživačke primjene BAL od strane pedijatrijske radne grupe u okviru "European Respiratory Society" (ERS) (37,38). Na zadnjim godišnjim kongresima u Madridu 1999. i Firenzi 2000, ERS je pokušao donijeti preporuke i smjernice za: tehniku izvođenja BAL, postupak i obradu povratne tekućine, donošenje referentnih vrijednosti, usklađivanje indikacija i definiranje područja budućih istraživanja (39-41).

Primarna klinička važnost metoda bronhalne aspiracije ili BAL dobivanje je reprezentativnog uzorka ELF iz donjih dišnih puteva (7). Rezultati ispitivanja na odraslima pokazali su da je vrlo teško donijeti specifičnu dijagnozu nekog bolesnog stanja na temelju kvantitativne analize normalnih komponenti BAL. Nasuprot tome, ukoliko analiza bronhalnog aspirata ili BAL otkrije u uzorku prisutnost neke komponente, npr. vrste stanica, koja u zdrave osobe ne bi smjela biti prisutna, tada je to vrlo korisna dijagnostička informacija. Na primjer, kliničaru ne znači mnogo (osim u istraživačke svrhe) da li koncentracija nekog proteina u uzorku BAL iznosi 1 ili 3 µg/L. Međutim, prisutnost bilo kojeg broja *Pneumocystis carinii* abnormalan je nalaz i ima dijagnostičko značenje.

#### 1.2.1. STANIČNE KOMPONENTE BRONHALNOG ASPIRATA ILI BRONHOALVEOLARNOG LAVATA

Za analizu staničnih komponenti bronhalnog aspirata ili BAL nakon određivanja ukupnog broja stanica, čije vrijednosti jako variraju i kod zdrave djece, vrši se centrifugiranje ili sedimentacija uzorka. Zatim se osušeni preparati pripremaju bojama May-Grünwald i Giemsa za citološki pregled i diferencijalno brojanje stanica: neutrofilnih granulocita (Neu), limfocita (Lym), alveolarnih makrofaga (Am) i eozinofila (Eos). Za analizu i prezentaciju



rezultata brojanja preporučuje se zastupljenost populacija stanica izraziti u postocima. Prisustvo epitelnih stanica treba zabilježiti, ali ih se ne uključuje u diferencijalno brojanje. Analiza limfocitnih površinskih markera ne smatra se rutinskom procedurom. Moguće je preparate bojati po Grammu ili drugim specijalnim bojanjima u sklopu mikrobiološke analize uzorka. Neki laboratoriji rutinski vrše i "Oil-red" bojanje za dokazivanje masti i bojanje periodnom kiselinom, tzv. Schiffovim reagensom (39).

S obzirom da etički razlozi ne dozvoljavaju ispitivanja na zdravoj djeci, referentne vrijednosti analize staničnih komponenti bronhalnog aspirata i BAL teško je odrediti. Ono malo publiciranih podataka dobiveno je najčešće na djeci koja su bila podvrgnuta općoj anesteziji i kirurškom zahvatu zbog bolesti koje nisu imale veze sa dišnim sustavom (42). Tablica 2 na slijedećoj stranici sažeto prikazuje publicirane rezultate referentnih vrijednosti diferencijalnog brojenja stanica u uzorcima BAL "zdrave" djece.

Prema rezultatima prikazanim u Tablici 2 proizlazi da bez obzira na dob, u zdrave djece zastupljenošću dominiraju Am, a iza njih slijede Lym. Određena neslaganja rezultata između ispitivanja navedenih u Tablici 2 zamjećuju se u vrijednostima Neu i Lym. Razlike su vjerojatno posljedica dobi ispitanika, te malog broja ispitanika kod kojih dobiveni rezultati stanične analize BAL nisu pratili normalnu distribuciju (42,44,45). Izgleda da su Neu zastupljeniji u djece mlađe od 12 mjeseci u usporedbi s djecom u dobi 13-36 mjeseci (45).

Analiza zastupljenosti staničnih komponenti BAL u određenim patološkim stanjima dišnih puteva i pluća obično pokazuje nespecifično povišenje zastupljenosti Neu i/ili Lym s posljedičnim padom vrijednosti Am. U odraslih s bakterijskom progresivnom pneumonijom, kao i kod alveolarnih i intersticijskih infiltrata bez popratne vrućice i leukocitoze, uočen je znakovit porast zastupljenosti Neu (47). U pedijatrijskih plućnih bolesnika također je zapažen porast vrijednosti Neu i Lym, što svakako sugerira abnormalan nalaz, međutim, nalaz je nespecifičan glede tipa infektivne ili neinfektivne plućne bolesti (7). Virusne infekcije gornjih i donjih dišnih puteva djece također utječu na povišenje vrijednosti Lym i Neu (48,49), kao i rekurentne infekcije dišnih puteva (50). Jako velik porast Lym i pad vrijednosti Am uz

diskretno povišenje vrijednosti Eos zabilježen je kod lipidne pneumonije (51). Povišene vrijednosti Eos nađene su u BAL djece s astmom (52).

**Tablica 2.** Pregled referentnih vrijednosti diferencijalnog brojenja stanica dobivenih bronhoalveolarnom lavažom u “zdrave” djece; *Neu*: neutrofilni granulocit; *Lym*: limfocit; *Am*: alveolarni makrofag; *Eos*: eozinofilni granulocit; N: nije određeno.

<i>Referenca</i>	43	42	44	45	46
<i>Ispitanici (n)</i>	11	48	18	16	11
<i>Dob (god)</i>	1-15	3-5	1mj-10	2mj-3	4-16
<b><i>Neu %</i></b>					
<i>aritm.sred. ±SD</i>	1,3 ± 0,9	1,9 ± 2,9	N	5,5 ± 4,8	1,2 ± 1,2
<i>median</i>	1	0,9	1,7	3,5	1
<i>raspon</i>	0-3	0-17	0,6-3,5	0-17	0-3
<b><i>Lym %</i></b>					
<i>aritm.sred. ±SD</i>	8,7 ± 4,6	16,2 ± 12,4	N	8,7 ± 5,8	8,9 ± 5,6
<i>median</i>	10	12,5	7,5	7	8
<i>raspon</i>	1-17	2-61	4,7-12,8	2-22	2-22
<b><i>Am %</i></b>					
<i>aritm.sred. ±SD</i>	89,7 ± 5,2	81,2 ± 12,7	N	86 ± 7,8	89,9 ± 5,5
<i>median</i>	89	84	91	87	92,5
<i>raspon</i>	85-97	35-94	84-94	71-98	77-98
<b><i>Eos %</i></b>					
<i>aritm.sred. ±SD</i>	N	0,4 ± 0,6	N	0,2 ± 0,3	0
<i>median</i>	N	0,2	0,2	0	0
<i>raspon</i>	N	0-3,6	0-0,3	0-1	0



## 1.2.2. INDIKACIJE ZA BRONHALNU ASPIRACIJU ILI BRONHOALVEOLARNU LAVAŽU

Indikacije za provođenje bronhalne aspiracije i BAL mogu biti dijagnostičke i terapijske. Dijagnostičke indikacije djece su brojne. BAL služi za otkrivanje uzročnika tvrdokornih plućnih infekcija u slučajevima kada standardnim metodama ne možemo dobiti uzorak sekreta (53). Ova indikacija poglavito je bitna u imunokompromitirane djece (HIV, imunosupresija, primarne imunodeficijencije) za dokazivanje patogenih mikroba koji nisu uobičajeni uzročnici infekcija u plućima (*Pneumocistis carinii*, *Legionella pneumophila*, *Nocardia*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, itd) čime se često izbjegne izvođenje otvorene biopsije pluća (54-58). BAL je indicirana i kod neinfektivnih bolesti pluća. Štoviše, BAL je ključna metoda u postavljanju dijagnoze intersticijskih bolesti pluća kod kojih citološka analiza uglavnom ukazuje na povišenu zastupljenost Lym i pjenušavih Am (59-60). Tipični nalazi BAL kod nekih intersticijskih bolesti pluća prikazani su na slijedećoj stranici, na Tablici 3 (33, 39, 61).

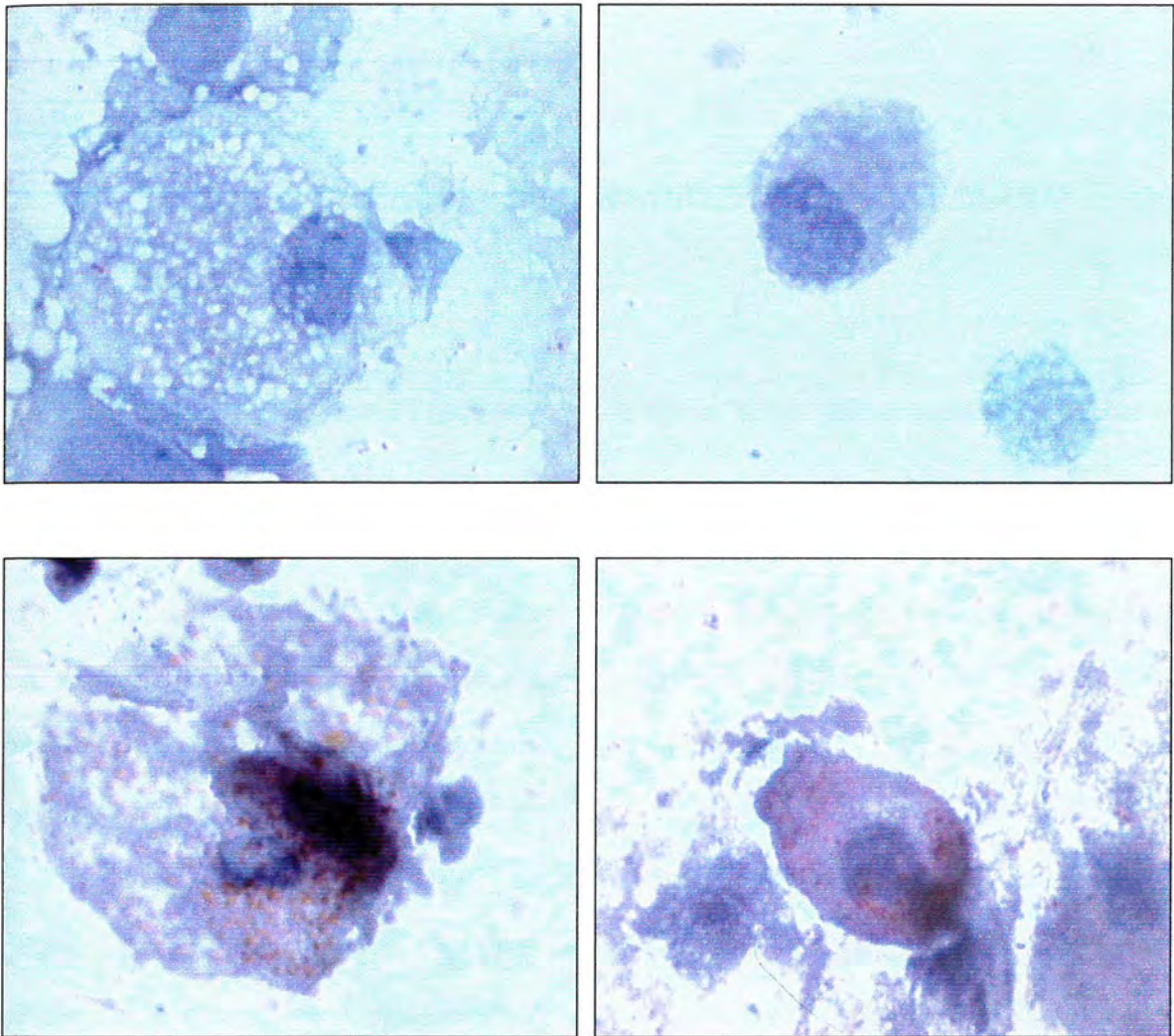
Kod djece s cističnom fibrozom BAL ne služi samo za egzaktno utvrđivanje koloniziranosti traheobronhalnog stabla bakterijama ili gljivicama (62), nego služi i za procjenu postojanja endobronhalne upale koju karakterizira nalaz BAL s povećanom zastupljenošću Neu, s povećanim koncentracijama TNF- $\alpha$  i interleukina-8, te s pojačanom aktivnošću elastaze. Ovakvi nalazi BAL prisutni su i kod dojenčadi s cističnom fibrozom prije nastupa plućne simptomatologije (63). Iako dječja astma ili ponavljajući opstruktivni bronhitis nisu apsolutna indikacija, nalazi BAL kod astmatičara su ukazali na visoku negativnu korelaciju zastupljenosti Eos i praga reakcije (PC<sub>20</sub>) pri histaminskoj bronhoprovokaciji (64).



**Tablica 3.** Tipični nalazi bronhoalveolarne lavaže (BAL) kod nekih intersticijskih bolesti pluća (modificirano prema 33,39,61). CD: markeri diferencijacije; ↑: povišenje; ↓: sniženje; ↑↓: variranje; Am: alveolarni makrofag; Gr: granulocit; Lym: limfocit; Eos: eozinofilni granulocit; NK: stanice prirodne ubojice; PAS: Schiffov reagens.

<b>Bolest</b>	<b>Tipičan nalaz BAL</b>	
	<b>Citologija</b>	<b>CD</b>
<b>Sarkoidoza</b>	↑ Lym	↑ CD4/CD8
<b>Alergijski alveolitis</b>	↑ Lym; ↑ Eos	↓ CD4/CD8; ↑ NK
<b>Kolagenoze</b>	↑ Lym ili ↑ Gr	↑↓ CD4/CD8
<b>Crohnova bolest</b>	↑ Lym	↑ CD4/CD8
<b>Idiopatska fibroza pluća</b>	↑ Lym ili ↑ Gr	↑ CD4/CD8
<b>Plućna histiocitoza</b>	CD1 i protein-S100 pozitivne stanice	
<b>Plućna hemosideroza</b>	>20% siderofaga	
<b>Alveolarna proteinoza</b>	Pjenušavi Am; PAS-pozitivni Am	

Od dijagnostičkih indikacija za provođenje BAL posebno ističemo i plućne aspiracijske sindrome kod kojih je kao indikator aspiracije lipoidnih tvari, hrane ili želučanog sadržaja prisutan pozitivan citološki nalaz lipidima opterećenih alveolarnih makrofaga (*engl.* lipid-laden alveolar macrophage - LLAM). Radi se o alveolarnim makrofazima kod kojih se specijalnim bojanjima citološkog preparata, najčešće bojom "Oil-red", može dokazati prisutnost fagocitiranih crvenih kapljica lipida u citoplazmi stanice. Prisutnost LLAM može se dokazati i kod drugih plućnih bolesti. Kod zdrave djece nalaz LLAM trebao bi biti negativan (33). Na Slici 1 uspoređeni su normalni Am i LLAM u čijoj se citoplazmi uočavaju fagocitirana crvena zrnca lipida.



**Slika 1.** Mikroskopske snimke citoloških preparata bronhalnih aspirata naših ispitanika. Normalni alveolarni makrofazi (gornje fotografije); Lipidima opterećeni alveolarni makrofazi (LLAM) u čijoj se citoplazmi daju zamijetiti crvena zrnca lipida (donje fotografije). Bojanje "Oil-red", povećanje 1000x.



Jedina prava indikacija za terapijski BAL je lavaža kod bolesnika s alveolarnom proteinozom. Međutim, BAL se terapijski može uspješno koristiti i za liječenje plućnih komplikacija u djece s cističnom fibrozom (65), za evakuaciju žilavog sekreta kod astmatičara ili kod nespecifičnih opsežnih upala pluća (66).

### **1.3. ASPIRACIJSKI SINDROMI I LIPIDIMA OPTEREĆENI ALVEOLARNI MAKROFAZI**

Tek nakon 1946 godine i Mendelsonovog opisa "astmi slične reakcije" u pacijenata koji su tijekom opće anestezije aspirirali velike količine želučanog sadržaja (67), kliničari su postali svjesni brojnih stanja koja mogu dovesti do aspiracijske ozljede pluća. Aspiracija je relativno čest incident koji izaziva akutne simptome, ponekad do stupnja respiratornog distresa. Međutim, vjerojatno još češće postoji suprotna krajnost kod koje aspiracija nije popraćena očiglednim akutnim simptomima, nego se odvija kronično i "tiho", čak i u "zdrave" djece (68).

Kod masivne aspiracije egzogenog lipidnog materijala i posljedičnog razvoja egzogene lipidne pneumonije (LP), LLAM sastavni su dio njene patohistološke slike (69) i u velikom broju nalaze se u dijagnostičkim uzorcima bronhalnih aspirata ili BAL (70). U dojenačkoj dobi rizik za razvoj egzogene LP uglavnom je vezan uz forsirano hranjenje plačljivog djeteta, uz peroralno davanje ili intranazalnu instilaciju uljnatih preparata. Opisani su brojni slučajevi LP u novorođenčadi i dojenčadi jedne sjeverozapadne regije Saudijske Arabije. LP u te djece dokazane su analizom BAL, a posljedica su tradicionalnog forsiranog davanja djeci životinjskog loja s ciljem "jačanja" malog djeteta (71). Egzogene LP može nastupiti kao komplikacija primjene preparata srednjelančanih triglicerida hranjenjem pomoću nazogastrične sonde (72), ali i kao posljedica gastroezofagealnog refluksa (GER) opisanog u slučaju dvanaestogodišnjakinje s kroničnim respiratornim problemima i tvrdokornim radiološkim infiltratima na plućima. Bronhološka obrada djevojčice ukazala je na

bronhiektazije gornjeg i srednjeg reznja desnog pluća, te postojanje pjenušavih LLAM. Naknadno učinjeni kontinuirani ezofagealni 24-satni pH monitoring samo je potvrdio da se u djevojčice radi o jakom GER-u i posljedičnoj aspiraciji s razvojem LP (73). Zanimljiv je slučaj četverogodišnjeg dječaka koji je razvio LP uslijed kronične aspiracije tekućeg parafina kojeg mu je majka tijekom dvije godine uporno davala zbog opstipacije. S obzirom na prilično nespecifične simptome i znakove LP, a uz impresivni radiološki nalaz na plućima, dugo se dijagnostički "lutalo" u navedenom slučaju. Tek je citološka analiza BAL i detekcija brojnih LLAM dovela do ispravne dijagnoze (51). Sličan je i slučaj LP u adolescentice koja je tijekom dužeg vremenskog razdoblja prekomjerno koristila ruž za usnice (74).

U male i predškolske djece LP najčešće je uzrokovana akcidentalnom aspiracijom tekućih ugljikovodika, odnosno njihovih lipidnih derivata. U veće djece i adolescenata isto je povezano uz abuzus organskih otapala, aromatskih ugljikovodika, boja ili lakova (75). Aspiracija hrane i želučanog sadržaja javlja se često u vitalno ugrožene, hipotone, slabe i iscrpljene djece s poremećajem procesa rasta i razvoja (76). U takve djece obično postoji niz rizičnih čimbenika koji interferiraju s normalnim aktom gutanja ili refleksom kašljanja i dovode do aspiracije hrane u donje dišne puteve – dugotrajan vodoravni položaj tijela, iznurenost, neuromuskularna bolest, rascjep nepca ili kakva druga anatomska abnormalnost. Sva djeca rođena s traheo-ezofagealnom fistulom (TEF) imaju jače ili slabije izraženu komunikaciju jednjaka i traheje što je uzrok prelaska hrane ili želučanog sadržaja u donje dišne puteve. Čak i nakon korektivnog operativnog zahvata TEF, poremećena je cjelovitost, prohodnost i motilitet jednjaka, tako da većina takve djece i dalje kronično aspirira hranu u donje dišne puteve (77-79).

Već je prije dvadesetak godina zapaženo da su aspiracije manjih volumena orofaringealnog sekreta tijekom spavanja u odraslih relativno česta pojava (80). Takve aspiracije nazivaju se još mikroaspiracijama ili "tihim" aspiracijama kod kojih je teško dokazati njihovu povezanost s kroničnim respiratornim tegobama. Obično je puno lakše dokazati GER što je vjerojatno razlog zbog čega se GER češće povezuje s respiratornim simptomima. Situaciju dodatno komplicira činjenica da bolesnici s poremećajem gutanja



obično imaju i GER, a kliničke studije često ne poklanjaju pozornost na međusobno diferenciranje GER-a, poremećaja gutanja i stanja kronične mikroaspiracije. GER i aspiracija mogu biti prisutni u bolesnika neovisno jedno od drugog (68).

Treba istaći da se LLAM mogu detektirati i kod endogene LP čiji uzroci nisu sasvim jasni. Pretpostavlja se da postoji još uvijek nepoznati podražaj koji potiče pneumocite tipa-II na produkciju lipida ili pak koči uklanjanje lipida inhibiranjem aktivnosti Am (70). U svakom slučaju radi se o endogenim lipidima kao što su fosfolipidi iz staničnih membrana, surfaktant, kolesterol, slobodne masne kiseline i trigliceridi koji se oslobađaju tijekom propadanja plućnog tkiva iz bilo kojeg razloga (69). Čak su publicirana zapažanja prema kojima se lipidi egzogenog porijekla pojavljuju kao krupnozrnati LLAM, a endogeni lipidi kao sitnozrnati LLAM (81). Čini se, ipak, da to nije točno (82,83). LLAM su nađeni i u trahealnim aspiratima ventilirane novorođenčadi koja su dobivala intravenske infuzije lipida (84,85), a opisani su i kod masne embolije pluća u slučaju bolesnika sa srpastom anemijom i akutnim torakalnim sindromom (86).

### 1.3.1. LIPIDIMA OPTEREĆENI ALVEOLARNI MAKROFAZI KAO POKAZATELJI STANJA KRONIČNE ASPIRACIJE

Ponavljajuće mikroaspiracije u djece često se spominju u diferencijalnoj dijagnozi kroničnih bolesti i ponavljajućih respiratornih simptoma (87). S obzirom da se dostupnim dijagnostičkim metodama postojanje aspiracije ne može utvrditi u svakom trenutku, kliničaru je doista veliki problem dokazati stanje kronične mikroaspiracije kao podlogu djetetovih respiratornih simptoma (88). Obično se ta dijagnoza postavlja "per exclusionem", a ukoliko se ta dijagnoza i postavi nameće se pitanje da li je kronična aspiracija uzrok ili posljedica plućne bolesti (89).

Još početkom prošlog stoljeća primjećeno je da pozitivan nalaz LLAM u sekretu donjih dišnih puteva ima dijagnostičku vrijednost kod aspiracijske LP, a prije pedesetak godina Williams i Freeman izvijestili su o pozitivnim nalazima kvalitativne analize LLAM u

trahealnim aspiratima 18 od 23 dojenčeta sa pneumonijama za koje se sumnjalo da su uzrokovane aspiracijom mlijeka (90).

Desetak godina kasnije Corwin i Irwin razvili su metodu kvantitativne analize LLAM koja se temeljila na izračunavanju indeksa lipidne opterećenosti alveolarnih makrofaga (*engl.* lipid-laden macrophage index – LLMI). Ova metoda od tada je najčešće korištena metoda kvantifikacije nalaza LLAM. Na temelju rezultata istraživanja kod odraslih bolesnika Corwin i Irwin zaključili su da je pozitivan nalaz LLAM u sekretu donjih dišnih puteva nespecifičan pokazatelj bolesti plućnog parenhima, a da izračunavanje vrijednosti LLMI može biti korisno za isključivanje aspiracije kao uzroka bolesti plućnog parenhima (82).

Ubrzo nakon toga, također se koristeći izračunavanjem LLMI, Colombo i Hallberg usporedili su grupu od 22 djece s klinički i radiološki dokazanom kroničnom aspiracijom sa grupom od 23 djece za koje su smatrali da nemaju kliničkih elemenata koji bi govorili u prilog stanja kronične aspiracije. Rezultati su ukazali na značajno veću srednju vrijednost LLMI u grupi s klinički dokazanom kroničnom aspiracijom. Između ispitanika jedne i druge grupe čak nije bilo preklapanja niti u pojedinačnim vrijednostima (83).

Istovremeno, svojim istraživanjem Nussbaum i suradnici također su potvrdili da je nalaz LLAM upotrebljiv pokazatelj aspiracije u djece s kroničnim respiratornim tegobama i dokazanim GER-om. Naime, utvrdili su da od 74 djeteta s kroničnim respiratornim tegobama i s dokazanim GER-om njih 63 (85%) ima pozitivan nalaz LLAM u bronhalnom lavatu, za razliku od grupe djece s kroničnim respiratornim tegobama bez dokazanog GER-a kod kojih je pozitivan nalaz LLAM utvrđen u njih 8 (19%) od ukupno 41 djeteta (91).

Godinu dana kasnije Moran i suradnici usporedili su vrijednosti LLMI i sadržaj laktoze u trahealnim aspiratima intubirane novorođenčadi s ciljem da utvrde da li je pozitivan nalaz LLAM koristan pokazatelj aspiracije želučanog sadržaja u novorođenčadi s plućnim bolestima. Uzimajući nalaz laktoze u trahealnom aspiratu kao "zlatni standard" zaključili su da je pozitivan nalaz LLAM prilično nespecifičan jer se pokazao pozitivnim i u novorođenčadi bez dokazane laktoze u aspiratu. Naime, pri vrijednostima LLMI > 100 senzitivnost testa je bila 100%, ali specifičnost samo 22%. Ipak, istakli su kako vrijednosti LLMI > 150 svakako



upućuju na aspiraciju, jer kod te vrijednosti LLMI senzitivnost testa je 73%, ali specifičnost raste na 84% (92).

Collins i suradnici tijekom desetogodišnjeg razdoblja sakupili su 244 trahealna aspirata pedijatrijskih bolesnika koje su podijelili u 2 grupe: grupa s dokazanim GER-om i aspiracijom, odnosno grupa s dokazanim GER-om bez aspiracije. Vlastitom metodom kvantificirali su nalaz LLAM svakom od ispitanika. Usporedbom nalaza broja LLAM između tih dviju grupa zaključili su da je senzitivnost metode kvantifikacije LLAM u otkrivanju kronične aspiracije 61%, a specifičnost čak 97% (93). Reagirajući na rezultate tog istraživanja, Langston i Pappin smatraju da je pri kvantifikaciji nalaza LLAM nepotrebno koristiti složene sisteme stupnjevanja nalaza LLAM s ciljem izrade numeričkih indeksa. Smatraju da tako dobivene brojke stvaraju lažnu sigurnost u postavljanju dijagnoze kronične aspiracije koja zasigurno ostaje složeni klinički dijagnostički problem (94).

Ahrens i suradnici su još unazad gotovo deset godina izvjestili o upotrebljivosti BAL i kvantifikacije LLAM u dijagnostici ponavljajućih aspiracija u djece (95). Njihov recentni rad to je i potvrdio. U njemu su usporedili srednje vrijednosti LLMI između grupe djece s kroničnim respiratornim tegobama i dokazanim GER-om, djece s kroničnim respiratornim tegobama bez dokaza za GER, i djece bez ikakvih respiratornih tegoba. Dobili su značajno više vrijednosti LLMI u grupi bolesnika s dokazanim GER-om u usporedbi s ostale dvije ispitivane grupe. Zaključili su da je kvantitativna analiza LLAM upotrebljiva dijagnostička metoda za otkrivanje "tihe" aspiracije u djece s kroničnim respiratornim tegobama, poglavito u slučajevima viših vrijednosti LLMI (96).

Također u recentnom radu, Bauer i Lyrene pokušali su odrediti senzitivnost i specifičnost metode analize LLAM u stanjima kronične plućne aspiracije. Rezultati su ukazali na značajno veću srednju vrijednost LLMI (aritmetička sredina = 104) u djece sa dijagnozom kronične plućne aspiracije u usporedbi sa djecom s nedokazanom kroničnom plućnom aspiracijom (aritmetička sredina = 44). Ipak, izračunata senzitivnost iznosila je samo 69%, a specifičnost 85%. Naime, iako se srednje vrijednosti LLMI između dviju ispitivanih grupa značajno razlikuju, postoji vrlo velik broj bolesnika obih grupa čije se pojedinačne vrijednosti

LLMI preklapaju što je bitno umanjilo dijagnostičku vrijednost metode kao takve. Autori su zaključili da metoda detekcije i kvantifikacije LLAM ne može sa potpunom sigurnošću utvrditi ili isključiti stanje kronične aspiracije kod djece. Visoke vrijednosti LLMI dobro koreliraju s kliničkom dijagnozom aspiracije, poglavito ukoliko je vrijednost LLMI  $> 85$ , dok u djece s normalnim rastom i razvojem vrijednosti LLMI  $< 86$  govore protivno klinički značajnoj kroničnoj plućnoj aspiraciji (97).

Knauer-Fischer i Ratjen u svojem su istraživanju usporedili vrijednosti LLMI između djece bez ikakve plućne bolesti ili kroničnih respiratornih simptoma i djece s različitim plućnim bolestima bez kliničkih elemenata za prisutnost GER-a. Budući su dobili statistički značajnu razliku srednjih vrijednosti LLMI između dviju grupa (60,2 vs. 119,6), zaključili su da se povišene vrijednosti LLMI mogu naći u djece s različitim plućnim bolestima kod kojih nema dokaza za prisutnost GER-a. Stoga smatraju da LLMI nije dovoljno specifičan dijagnostički pokazatelj "tihe" plućne aspiracije (98).

Zanimljivo je istraživanje provedeno od strane Schellhase i suradnika koji su ustvrdili da je citološka analiza BAL i detekcija LLAM korisno dijagnostičko sredstvo u male djece koja pate od ponavljajućih epizoda hripanja (*engl. wheezing*), a nemaju dobar odgovor na bronhodilatatornu farmakoterapiju. Naime, u grupi od 27 djece s ponavljajućim hripanjem, čak petoro njih (19%) imalo je pozitivan nalaz LLAM što su autori protumačili stanjem neprepoznate kronične aspiracije kao patogenetske podloge njihovih tegoba (49).

### 1.3.2. METODE KVANTIFIKACIJE NALAZA LIPIDIMA OPTEREĆENIH ALVEOLARNIH MAKROFAGA

Najčešće korištena metoda kvantifikacije nalaza LLAM je metoda po Corwinu i Irwinu (82) koja podrazumijeva izračunavanje numeričkog indeksa - LLMI. Ovom metodom služili smo se u našem istraživanju. Ukratko, postupak prvo zahtjeva stupnjevanje zamjećene količine lipidnih zrnaca u citoplazmi svakog pojedinačnog alveolarnog makrofaga. Stupnjevanje se vrši donošenjem brojčane ocjene na slijedeći način:



- 0 = nema zrnaca lipida,
- 1 = jedno zrnce ili nekoliko zrnaca,
- 2 = više razdvojenih zrnaca,
- 3 = više konfluirajućih zrnaca koja ne zaklanjaju jezgru,
- 4 = više konfluirajućih zrnaca koja zamućuju citoplazmu i zaklanjaju jezgru.

Nakon što se brojčano ocijeni 100 Am zbrajaju se njihove ocjene. Dobiveni zbroj, koji može imati raspon 0-400, označava se kao LLMI. Konačni LLMI predstavlja prosjek 2 brojanja istog preparata od strane iste osobe u 2 odvojena navrata. Na Slici 2 (slijedeća stranica) prikazani su tipovi LLAM obzirom na količinu lipidnih zrnaca u citoplazmi stanice.

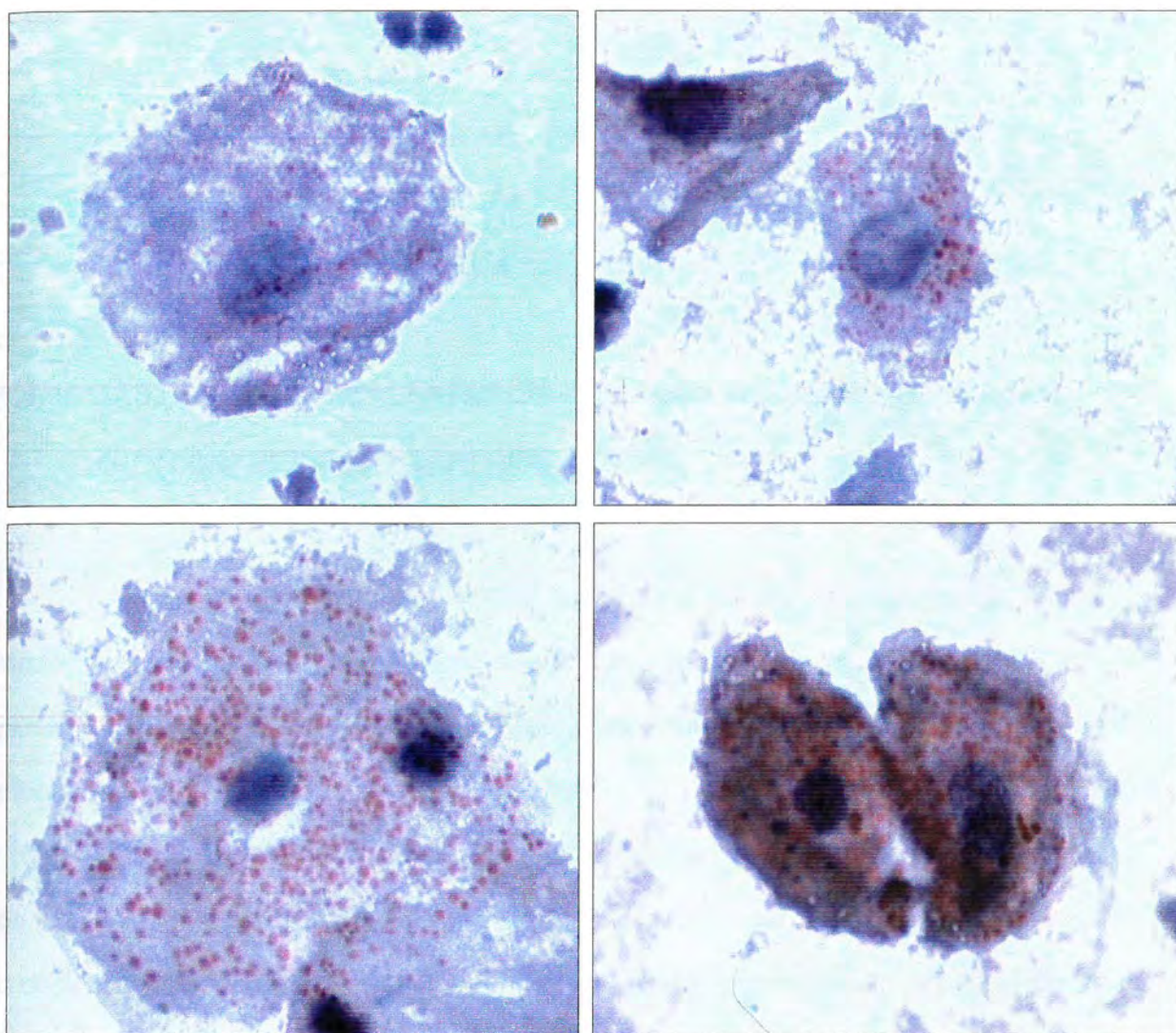
Metoda po Langstonu i Pappinu (94), kojom smo se također služili u našem istraživanju, podrazumijeva kvantifikaciju LLAM opisnim nalazom preparata i donošenjem skupne brojčane ocjene 0-3 na slijedeći način:

- 0 = nijedan LLAM,
- 1 = rijetki LLAM,
- 2 = brojni LLAM,
- 3 = vrlo brojni LLAM.

Metode kojima su se služili Colombo i Hallberg (83), te Ahrens i suradnici (96), temelje se na metodi Corwina i Irwina s nekim manjim razlikama. Procjena količine lipida po svakom Am vrši se također brojčanom ocjenom 0-4 na slijedeći način:

- 0 = nema opacificata u citoplazmi,
- 1 = do 1/4 citoplazme opacificirano,
- 2 = od 1/4 do 1/2 citoplazme opacificirano,
- 3 = 1/2 do 3/4 citoplazme opacificirano,
- 4 = citoplazma potpuno opacificirana.

Za izračunavanje LLMI Colombo i Hallberg analizirali su 100 Am i zbrajajući im ocjene dobivaju LLMI s mogućim rasponom vrijednosti 0-400. Ahrens i suradnici brojali su 900 Am tako da dobivaju LLMI s mogućim rasponom vrijednosti 0-3600.



**Slika 2.** Mikroskopske snimke citoloških preparata bronhalnih aspirata naših ispitanika. Prikazana su 4 tipa lipidima opterećenih alveolarnih makrofaga (LLAM) stupnjevanih prema Corwinu i Irwinu (82) s obzirom na količinu sadržanih zrnaca lipida. LLAM-1 (gore lijevo), LLAM-2 (gore desno), LLAM-3 (dolje lijevo), LLAM-4 (dolje desno). Bojanje "Oil-red", povećanje 1000x.



Collins i suradnici (93) kvantifikaciju LLAM vršili su stupnjevanjem nalaza brojčanom ocjenom 0-3 s obzirom na broj zamjećenih LLAM u preparatu:

- 0 = nema LLAM,
- 1 = prisutno 1-25 LLAM,
- 2 = prisutno 26-50 LLAM,
- 3 = prisutno >50 LLAM.

#### **1.4. GASTROEZOFAGEALNI REFLUKS, KRONIČNA MIKROASPIRACIJA I KRONIČNI RESPIRATORNI SIMPTOMI**

Kronični ili ponavljajući respiratorni simptomi u vidu tvrdokornog kašlja, hripanja i stridora, kao i pojava tvrdokornih i ponavljajućih pneumonija i nejasnih radioloških infiltrata na plućima javljaju se u značajnog broja djece, i nerijetko predstavljaju složen dijagnostički problem (99-102). Ovisno o dijagnostičkim kriterijima 25-80% takve djece ima dokazani GER (103,104). Mnogima od njih antirefluksna terapija, za razliku od bronhodilatatorne, dovela je do smanjenja respiratornih tegoba i poboljšanja plućnih funkcija (105-108). GER je, poglavito u dojenčadi, relativno čest funkcionalni poremećaj pasaže hrane između jednjaka i želuca čiji točan odnos spram kroničnih respiratornih bolesti nije jednostavan, niti je u potpunosti jasan (77,109-111). Povijesno gledano, povezanost GER-a i respiratornih bolesti dugo se smatrala isključivo posljedicom aspiracije želučanog sadržaja neovisno o prisutnosti gastrointestinalnih simptoma (112). Međutim, otkriće vagalne refleksne povezanosti želuca i jednjaka s dišnim putevima u tumačenju respiratornih simptoma uzrokovanih GER-om, gurnulo je mehanizam aspiracije u drugi plan, poglavito u djece koja nemaju jasnu kliničku prezentaciju GER-a (103). Ipak, daljnja istraživanja na području aspiracija nedovoljnih da izazovu vidljive radiografske promjene na plućima, tzv. kronične mikroaspiracije, vjerojatno će dovesti do prihvaćanja važnosti oba ova glavna patogenetska mehanizma (68).

Smatra se da postoji više načina putem kojih GER uzrokuje nastup respiratornih simptoma i plućnih bolesti (113-115). Aspiracija želučanog sadržaja mogući je mehanizam pri čemu može doći do direktnog djelovanja aspiriranog sadržaja na donje dišne puteve i razvoj bronhoopstrukcije, edema sluznice bronha, bronhospazma, pneumonije ili atelektaze. Ukoliko aspirirani sadržaj samo podraži gornje dišne puteve ili traheju tada može doći do niza laringotrahealnih manifestacija - stridora, laringitisa, refleksnog laringospazma, laringealne diskinezije, traheitisa, noćnog trahealnog kašlja, a u novorođenčadi i dojenčadi do apnoičkih ataka i respiratornog distresa što se ponekad zamjećuje kao doživljaj očite životne ugroženosti (116,117). Stridor koji se pojavljuje kao posljedica GER-a praktički se ne razlikuje od stridora uzrokovanog strukturalnim anomalijama grkljana (118). Stoga ne iznenađuju rezultati traheobronhoskopskih pregleda u djece s kongenitalnim stridorom prema kojima se u više od trećine slučajeva ne zamjećuju tipični znaci laringomalacije, odnosno u 18% slučajeva zamjećena je izolirana traheomalacija (119).

Ukoliko uopće ne dođe do aspiracije želučanog sadržaja u traheobronhalno stablo, tada kiseli sadržaj podražajem sluznice jednjaka može vagalnim refleksima izazvati bronhospazam (113,114). Ovaj mehanizam smatra se poglavito odgovornim za tvrdokorne noćne astmatične tegobe djeteta, odnosno astmu koja ne reagira na standardnu bronhodilatatornu i protuupalnu terapiju (120,121). U međuodnosu astmatskih simptoma i GER-a ističe se i važnost individualnih karakteristika astmatičara, na primjer stupnja bronhalne osjetljivosti. Naime, Hampton i suradnici nisu dokazali korelaciju između jačine GER-a i poremećaja plućne funkcije u astmatičara (122). Stoga neki autori smatraju da postoje određeni predisponirajući faktori kao što je poremećaj bazičnog praga bronhalne osjetljivosti koji određuje težinu astmatskih simptoma trigeriranih GER-om (123).

S obzirom da se ezofagealni aciditet smatra odgovornim za nastup vagalnog refleksa i posljedičnu indukciju astmatskih tegoba, postavlja se pitanje mehanizma djelovanja alkalnog GER-a za kojeg se također ispostavilo da može izazivati nastup bronhoopstruktivnih respiratornih simptoma (122). Mnogi smatraju da se odnos između alkalnog GER-a i astme može tumačiti samo mehanizmom mikroaspiracije (88). Teoriju mikroaspiracije želučanog



sadržaja u pluća nije lako dokazati i predstavlja veliki izazov. Klasični ezofagogram metoda je s najmanjom senzitivnošću u detekciji GER-a. Ona je dobra u isključivanju anatomskih i funkcionalnih uzroka regurgitacije ili plućnih simptoma uzrokovanih ezofagealnim membranama, hijatalnom hernijom ili poremećajima gutanja (124). Scintigrafija pomoću hranjenja ispitanika mlijekom koje sadrži radioizotope tehnecija nije se pokazala dovoljno osjetljivom, jer mikroaspiracijom dolaze u pluća jako male količine izotopa koji se rasprši u dišnim putevima i ne da se dobro detektirati (120).

Kontinuirani 24-satni ezofagealni pH monitoring (EpHM) danas se smatra "zlatnim standardom" u dijagnostici GER-a, međutim, pozitivni rezultati ne znače nužno da je došlo do prelaska kiselog sadržaja iz jednjaka u donje dišne puteve djeteta (125-127). Čak niti postavljanje proksimalne elektrode pH-metra visoko u jednjak nije uspjelo dokazati mikroaspiraciju kao mehanizam refluksne indukcije respiratornih tegoba (128,129). Ipak, simultanim mjerenjem trahealnog i ezofagealnog pH zamjećeni su pad vrijednosti trahealnog pH i pogoršanje plućne funkcije bolesnika neposredno nakon pada vrijednosti ezofagealnog pH. Autori su zaključili da je time dokazana mikroaspiracija kao mehanizam pogoršanja plućne funkcije u astmatičara. Naravno, invazivnost i potreba za općom anestezijom ovu metodu uvelike ograničavaju u rutinskom kliničkom radu, poglavito u djece (130).

Traheobronhoskopija uz pomoć BAL također se koristi u pokušaju dokazivanja mikroaspiracije detekcijom LLAM. Kao što je navedeno u prethodnom poglavlju, jednostavno zapažanje prisutnosti LLAM u sekretu donjih dišnih puteva vrlo je nespecifičan nalaz. Kvantifikacijom nalaza LLAM ta specifičnost se popravija. Eksperimentalni modeli na zečevima pokazali su da se LLAM mogu detektirati već nakon 6 sati od instilacije mlijeka u dišne puteve životinje. Isto tako brzo nestaju, obično 1-2 dana nakon jednokratne instilacije mlijeka (131). O toj dinamici moguće prisutnosti LLAM svakako treba voditi računa kada se procjenjuju dijagnostičke vrijednosti te metode. Neki zamjeraju da se metodom detekcije LLAM ne može razlikovati aspiracija uzrokovana GER-om ili kroničnim mikroaspiracijama od aspiracije uzrokovane poremećajima gutanja (124).

## 2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Iz ovog pregleda dosadašnjih spoznaja o citološkoj analizi bronhalnih aspirata i BAL u sklopu traheobronhoskopske dijagnostike plućnih bolesti dječje dobi proizlazi da postoji čitav niz pitanja na koja još uvijek nemamo zadovoljavajuće odgovore. Standardna citološka analiza bronhalnih aspirata ili BAL pokazala se prilično nespecifičnom dijagnostičkom metodom u nizu plućnih bolesti djece. Da li je razlog tome nedostatak pravih referentnih vrijednosti ili manjkavost u standardizaciji postupka BAL?

Prije gotovo 20 godina pažnju istraživača privukla je metoda detekcije LLAM u sekretima donjih dišnih puteva kao mogućeg pokazatelja ponavljajućih aspiracija u djece s kroničnom respiratornom problematikom. Nakon što se zaključilo da su rezultati vrlo nespecifični ispitivanja na tom području su zamrla. Prošlo je više od desetljeća kad se ta problematika, unazad 2 godine, opet "aktualizirala" kao posljedica nedostatka "zlatnog standarda" u dijagnostici kronične aspiracije pedijatrijskih plućnih bolesnika. Zapravo na području detekcije LLAM u djece ima vrlo malo publiciranih radova, a mišljenja o dijagnostičkoj vrijednosti nalaza LLAM prilično su podijeljena.

Naše istraživanje počelo je još prije 7 godina. U sklopu bronhološke obrade bolesnika pokušali smo uz vizualni traheobronhoskopski nalaz i standardnu mikrobiološku obradu bronhalnih aspirata dobiti još više dijagnostičkih informacija. Pretpostavili smo da bi nam možda citološka analiza bronhalnih aspirata traheobronhoskopirane djece mogla to pružiti. Posebno smo bili usmjereni na metodu detekcije LLAM. U početku smo vršili samo kvalitativnu analizu LLAM. Međutim, prvi preliminarni rezultati naših ispitivanja, prezentirani unazad dvije godine, ukazali su nam na činjenicu da svakako trebamo vršiti i kvantitativnu analizu tih stanica (132,133).

Iz ovo malo objavljenih radova u Uvodu citiranih autora proizlazi niz indicija, ali ne i dokaza da je detekcija LLAM u sekretu donjih dišnih puteva koristan dijagnostički test. Mi



smo predmnijevali da bi se moglo raditi o korisnoj komplementarnoj pretrazi za svako bolesno dijete kod kojeg postoje indikacije za traheobronhoskopski pregled, odnosno bronhološku obradu. Štoviše, ukoliko rezultati istraživanja pokažu da se radi o pretrazi sa solidnom dijagnostičkom vrijednošću hipotetski bi se moglo razmisliti i o proširenju indikacija za traheobronhoskopski pregled. Što se tiče detekcije LLAM u sklopu traheobronhoskopskih iskustava ostalih naših pedijatrijskih centara, izgleda da ista ne postoje u publiciranom obliku (134,135).

Pretpostavljali smo da bi dijagnostička vrijednost detekcije LLAM mogla doći do izražaja u sklopu traheobronhoskopskog pregleda nekoliko indikacijskih grupa – bolesnici s aspiracijskim sindromima (136), i bolesnici s tvrdokornom kroničnom plućnom problematikom. Stoga smo ciljeve našeg istraživanja postavili na slijedeći način:

- U sklopu standardne citološke analize bronhalnih aspirata ciljevi istraživanja su:
  - Odrediti dijagnostičku vrijednost standardne citološke analize po pojedinim grupama bolesnika s aspiracijskim sindromima i s kroničnom respiratornom simptomatologijom.
  - Odrediti koji bi ispitanici u sklopu indikacijskih grupa za traheobronhoskopiju mogli umjesto zdrave djece poslužiti za izradu referentnih nalaza.
- U sklopu detekcije LLAM u bronhalnim aspiratima ciljevi istraživanja su:
  - Odrediti najbolju metodu kvantifikacije LLAM.
  - Odrediti eventualan utjecaj dobi ili spola bolesnika na detekciju LLAM.
  - Odrediti dijagnostičku vrijednost detekcije LLAM po pojedinim grupama bolesnika s aspiracijskim sindromima i s kroničnom respiratornom simptomatologijom.

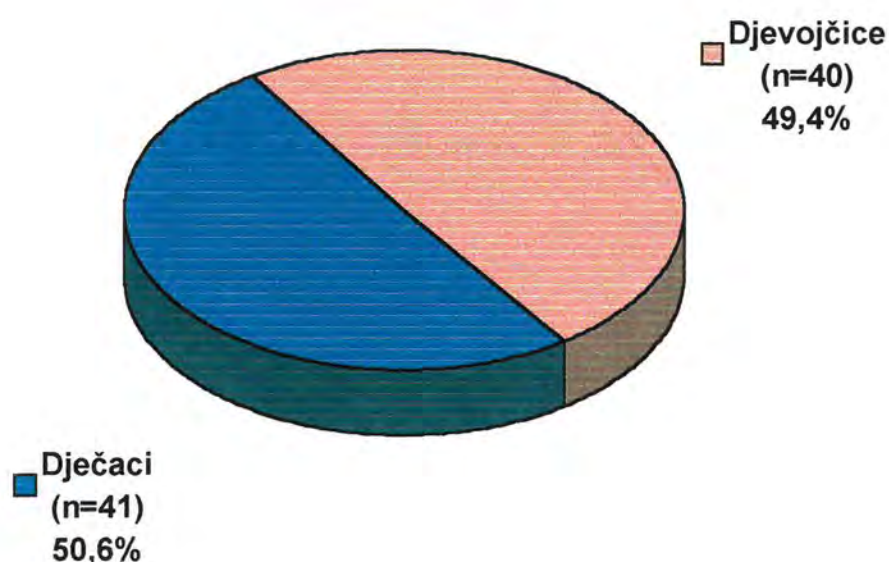
Istraživačka hipoteza ovog istraživanja je:

- Detekcija LLAM upotrebljiva je i korisna dijagnostička metoda u sklopu traheobronhoskopske obrade plućnih bolesti u dječjoj dobi.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. ISPITANICI

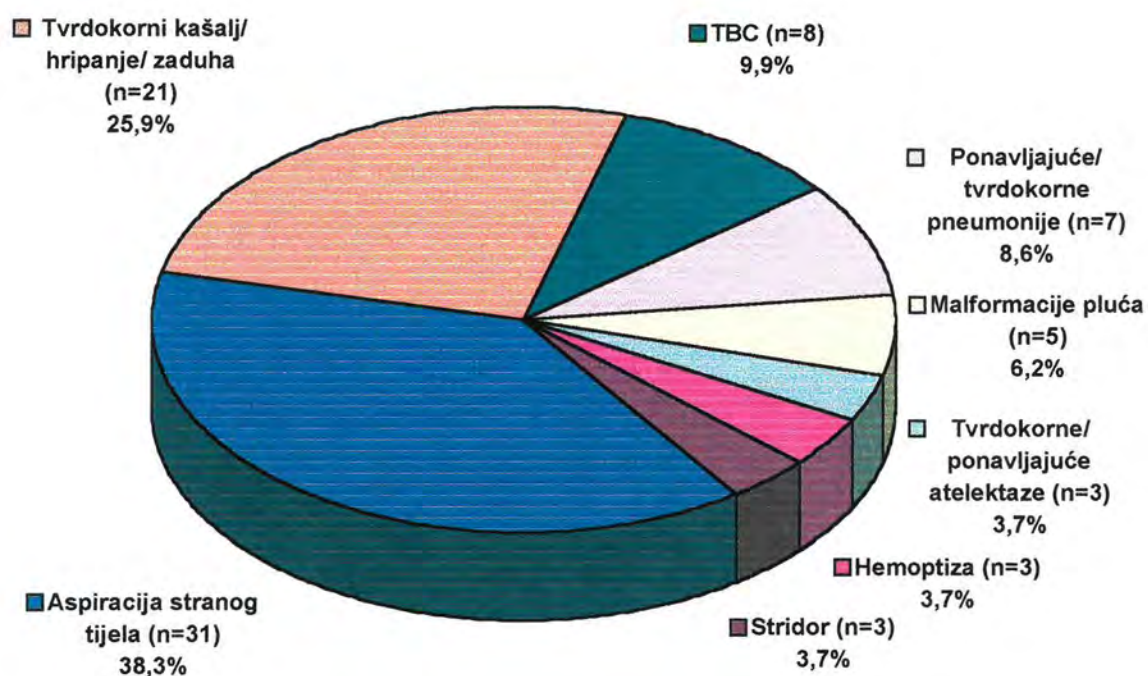
Istraživanjem smo obuhvatili djecu koja su u razdoblju od listopada 1998. do lipnja 2001 godine u sklopu svog boravka i liječenja na Klinici za dječje bolesti Kliničkog bolničkog centra u Rijeci bila podvrgnuta traheobronhoskopskom pregledu, i kojima je tijekom tog pregleda uzet uzorak bronhalnog aspirata. U navedenom razdoblju ukupno je obrađen 81 ispitanik. Njihova dob kretala se u rasponu od 5 dana do 15 godina i 8 mjeseci (aritmetička sredina = 5,6 godina; SD = 5,1 godina; median = 3 godine i 7 mjeseci). Razdioba ispitanika prema spolu bila je gotovo podjednaka i grafički je prikazana na Slici 3.



Slika 3. Zastupljenost ispitanika prema spolu.



Svi ispitanici podvrgnuti su traheobronhoskopskom pregledu u skladu s dobro znanim i opće priznatim indikacijama (28,29). Pretraga je vršena uz pismeni pristanak roditelja ili zakonskog skrbnika. Niti jedno dijete nije podvrgnuto traheobronhoskopskom pregledu zbog potreba ovog istraživanja. Indikacije na temelju kojih su ispitanici podvrgnuti traheobronhoskopskom pregledu i zastupljenost tih indikacija među ispitanicima prikazana je na Slici 4.



**Slika 4.** Zastupljenost pojedinih indikacija na temelju kojih su ispitanici podvrgnuti traheobronhoskopskom pregledu.

### 3.2. ISPITIVANE GRUPE

Sve smo ispitanike podijelili u 6 grupa čiji su osnovni deskriptivni statistički parametri navedeni u Tablici 4. Kriteriji za podjelu ispitanika na grupe bili su: indikacija za izvođenje traheobronhoskopskog pregleda i traheobronhoskopski nalaz, te završne dijagnoze bolesnih stanja koje je ispitanik dobio nakon provedene bolničke obrade i liječenja.

**Tablica 4.** Broj i spol ispitanika po grupama, te deskriptivni statistički parametri dobi po grupama. 1: ispitanici bez kliničkih elemenata za akutnu ili kroničnu aspiraciju; 2: ispitanici sa dokazanim gastro-ezofagealnim refluksom ili traheoezofagealnom fistulom; 3: ispitanici sa sumnjom na akutnu aspiraciju stranog tijela i s pozitivnim traheobronhoskopskim nalazom; 4: ispitanici sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela i s negativnim traheobronhoskopskim nalazom; 5: ispitanici s tvrdokornim i ponavljajućim bronhoopstruktivnim tegobama i stridorom; 6: ispitanici s ponavljajućim pneumonijama. m: dječaci; ž: djevojčice.

<i>Ispitanici</i>		<i>Grupa</i>					
		<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
<b>Spol</b>	<b>N</b>	16	7	21	10	20	7
	<i>m / ž</i>	5/11	5/2	13/8	3/7	11/9	4/3
<b>Dob (mjeseci)</b>	<b>Aritm. sred.</b>	133,4	11,1	43,0	73,8	49,4	93,3
	<b>SD</b>	47,9	10,5	42,0	58,9	55,1	50,7
	<b>Median</b>	146	8	22	66	19	87
	<b>Minimum</b>	50	0	7	11	1	24
	<b>Maksimum</b>	188	30	138	143	156	156
	<b>Raspon</b>	138	30	131	132	155	132



**Grupu 1** sačinjavalo je 16 ispitanika za koje smatramo da njihova osnovna bolest ili stanje na temelju kojeg je postavljena indikacija za traheobronhoskopski pregled nikako ne mogu biti uzrok niti posljedica moguće akutne ili kronične aspiracije hrane, odnosno želučanog sadržaja. Gledano s tog aspekta, ova grupa predstavlja svojevrsnu "negativnu kontrolu". Grupu je sačinjavalo: 8 ispitanika koji su traheobronhoskopirani zbog TBC kontakta, od kojih je samo dvoje imalo aktivnu primarnu plućnu TBC uz traheobronhoskopski nalaz naviranja "gnojnog" sekreta iz lobarnog ušća za gornji režanj desnog pluća, zatim 3 ispitanika s hemoptizom, 2 ispitanika s kongenitalnom asimptomatskom dijafragmalnom hernijom, 2 ispitanika s primarnim spontanom pneumotoraksom i 1 ispitanik s Kartagenerovim sindromom.

**Grupu 2** sačinjavalo je 7 ispitanika za koje sigurno možemo tvrditi da su njihove respiratorne tegobe posljedica akutne ili kronične aspiracije hrane, odnosno želučanog sadržaja. Osim jasno izražene kliničke simptomatologije GER-a, u četvero ispitanika dokazano je dijaskopski, a u jednog ispitanika korištenjem EpHM, postojanje patološkog GER-a. U dvoje ispitanika radiološki je dokazana TEF. S aspekta akutne ili kronične aspiracije hrane ova grupa stoga predstavlja "pozitivnu kontrolnu grupu".

**Grupu 3** sačinjavao je 21 ispitanik traheobronhoskopiran zbog sumnje na akcidentalnu aspiraciju stranog tijela s pozitivnim traheobronhoskopskim nalazom. Pozitivnim nalazom smatrali smo endoskopsku vizualizaciju stranog tijela, ili vizualne promjene sluznice traheobronhalnog stabla u smislu akutnih upalnih promjena ili prisutnosti granulacijskog tkiva koje svakako u kontekstu anamnestičkih podataka, fizikalnog pregleda i prethodne radiološke obrade govore u prilog aspiraciji. U svih ispitanika ove grupe radilo se o aspiraciji hrane, osim u jednog kod kojeg je pronađeno strano tijelo anorganskog porijekla. Prema konzistenciji stranog tijela grupa je podijeljena u dvije podgrupe: **Grupa 3a** sastojala se od 5 ispitanika koji su aspirirali hranu mekane konzistencije i **Grupa 3b** koju je činilo preostalih 16 ispitanika koji su aspirirali hranu izrazito tvrde konzistencije. U sklopu *Grupe 3b* izdvojena je i

**Grupa 3b'** sa 10 ispitanika koji su aspirirali srodna vegetabilna strana tijela (kikiriki, badem, lješnjak, orah) s relativno visokim sadržajem lipida. U tih ispitanika određivan je i vremenski period koji je protekao od aspiracije do ekstrakcije stranog tijela. Na Tablici 5 prikazane su osnovne karakteristike ispitanika *Grupe 3* i njenih podgrupa s obzirom na kvalitetu aspiriranog stranog tijela.

**Tablica 5.** Podjela *Grupe 3* (ispitanici s dokazanom aspiracijom stranog tijela) na podgrupe s obzirom na vrstu i konzistenciju aspiriranog stranog tijela. *Grupa 3a*: aspiracija mekane ili tekuće hrane; *Grupa 3b*: aspiracija stranog tijela tvrde konzistencije; *Grupa 3b'*: aspiracija sličnih vegetabilnih stranih tijela prema konzistenciji i prema relativnom sadržaju lipida.

		<i>Strano tijelo</i>	<i>Broj ispitanika</i>
<b>Grupa 3a</b>		Kašasta hrana	2
		Riba	2
		Juha	1
<b>Grupa 3b</b>	<b>Grupa 3b'</b>	Kikiriki	4
		Badem	4
		Lješnjak	1
		Orah	1
		Grah	1
		Mrkva	1
		Jabuka	1
		Luk	1
		Listići lovora	1
		Vršak kemijske olovke	1



**Grupu 4** sačinjavalo je 10 ispitanika traheobronhoskopiranih zbog sumnje na akcidentalnu aspiraciju stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom. Negativnim nalazom smatrali smo nalaz kod kojeg nije vizualizirano strano tijelo, a izgled sluznice traheobronhalnog debla bio je potpuno u granicama normale.

**Grupu 5** sačinjavalo je 17 ispitanika s kroničnim respiratornim tegobama u vidu tvrdokornog kašlja i/ili hripanja i/ili zaduhe koji su liječeni pod dijagnozom astme ili recidivirajućeg opstruktivnog bronhitisa, i koji ne reagiraju na standardnu bronhodilatatornu i protuupalnu terapiju. Tu su uvrštena i 3 ispitanika s kongenitalnim stridorom. Obzirom na traheobronhoskopski nalaz ispitanici ove grupe podijeljeni su u dvije podgrupe: **Grupu 5a** čini 11 ispitanika s patološkim traheobronhoskopskim nalazom, bilo u vidu traheomalacije sa ili bez pridružene bronhomalacije (7 ispitanika), bilo u vidu akutnih upalnih promjena (4 ispitanika). **Grupu 5b** čini preostalih 9 ispitanika koji su imali normalni traheobronhoskopski nalaz.

**Grupu 6** sačinjavalo je 6 ispitanika s ponavljajućim pneumonijama i jedan ispitanik s tvrdokornom pleuropneumonijom. Traheobronhoskopski nalaz u ovih ispitanika bio je karakteriziran kroničnim upalnim promjenama sluznice traheobronhalnog stabla, a u troje ispitanika iz zahvaćenih područja plućnog parenhima navirao je gnoj iz odgovarajućih segmentalnih i subsegmentalnih ušća.

### 3.3. TRAHEOBRONHOSKOPSKI PREGLED

Traheobronhoskopski pregledi ispitanika vršeni su rigidnim pedijatrijskim bronhoskopom i odgovarajućom optikom proizvođača Richard Wolf, Njemačka. Traheobronhoskopija je vršena u općoj anesteziji u skladu s opisanom i opće prihvaćenom tehnikom izvođenja same pretrage (137,138). Svim ispitanicima 4-6 sati prije pregleda

ukinuto je uzimanje hrane i tekućine na usta. Zamjećene morfološke abnormalnosti traheobronhalnog debla pismeno su zabilježene, a neki od specifičnijih nalaza pohranjeni su i u obliku endobronhalnog video prikaza.

### **3.4. UZIMANJE UZORKA BRONHALNOG ASPIRATA**

Uzorak bronhalnog aspirata uziman je pomoću krute aspiracijske cijevi koja je kroz tubus bronhoskopa uvađana u lumen traheobronhalnog debla. Aspiracija je vršena pod kontrolom oka s onog mjesta na kojem su patološke promjene bile najizraženije, bilo da su lokalizirane vizualno ili prethodno radiološki. U slučaju nalaza difuznih promjena, ili pak normalnog vizualnog nalaza, uzorak bronhalnog aspirata uziman je sa područja lobarnog ušća za srednji režanj desnog pluća. Aspirirani materijal uz dodatak fiziološke otopine sakupljan je u sabirnoj epruveti. Epruveta s bronhalnim aspiratom odmah je odnošena u laboratorij na analizu.

### **3.5. PRIPREMA BRONHALNOG ASPIRATA ZA CITOLOŠKU ANALIZU**

Uzorak bronhalnog aspirata navukao bi se u melanžer do oznake 1,0 ml. Do preostalih 11 ml navukla bi se Türkova otopina. Tako pripremljenom uzorku odredila bi se celularnost brojenjem stanica u Bürker-Türkovoju komori. U slučaju zadovoljavajuće celularnosti 100  $\mu$ l bronhalnog aspirata postavilo bi se na stakalce koje bi se zatim u citocentrifugi okretalo brzinom od 2000 okretaja/min tijekom 10 min. Nakon što bi se preparat na stakalcu osušio pristupalo se njegovom bojenju.

Preparati su bojani dvjema metodama: dobro znanom metodom po Papenheimu, bojama May-Grünwald i Giemsa, analogno hematološkom bojanju krvnog razmaza, i metodom bojanja za dokazivanje masti pomoću boje "Oil-red", proizvođač Merck. Preparati



obojani bojama May-Grünwald i Giemsa služili su za međusobno diferencijalno brojanje Neu, Lym, Am i Eos. Brojanje je vršeno na barem 300 stanica.

Preparati obojani "Oil-red" bojom služili su za detekciju LLAM i njihovu kvantifikaciju. Ukratko, prvo se zasićena otopina boje "Oil-red" razrijedi sa destiliranom vodom u omjeru 3:2. Preparat bronhalnog aspirata fiksira se u formalinskim parama, ispere se pod tekućom vodom i nekoliko puta uroni u 60%-tni izopropilni alkohol. Zatim se preparat uroni u prethodno pripremljenu boju "Oil-red" u kojoj se drži 30 minuta bez prisustva svjetla. Nakon toga ispere se u 60%-tnom izopropilnom alkoholu do stupnja nježno ružičaste boje. Zatim se ispere u destiliranoj vodi i kontrastno se boji u hematoksilinu tijekom 10 minuta. Na kraju se preparat opet ispere destiliranom vodom i stavi se na sušenje.

### **3.6. KVANTIFIKACIJA LLAM I ODREĐIVANJE LLMI**

Kvantifikaciju nalaza LLAM vršili smo u skladu s već opisanim metodama - po Langstonu i Pappinu (94), te po Corwinu i Irwinu (82) s izračunavanjem vrijednosti LLMI. Metode su detaljno opisane u Uvodu.

### **3.7. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA**

Statistička obrada podataka vršena je na osobnom računalu koristeći namjenske programe SPSS i Statistica.

Za deskriptivne statističke parametre dobi i spola svih ispitanika, te vrijednosti LLMI i zastupljenosti pojedinih tipova stanica, od mjera centralne tendencije koristili smo aritmetičku sredinu i medijan, a od mjera varijabilnosti standardnu devijaciju i raspon.

Usporedbu dviju metoda kvantifikacije nalaza LLAM, odnosa dobi ispitanika i vrijednosti LLMI, te odnosa LLMI s vremenskim periodom boravka stranog tijela u dišnim putevima vršili smo Pearsonovim koeficijentom korelacije.

Testiranje razlika srednjih vrijednosti LLMI prema spolu ispitanika, kao i prema podgrupama ispitanika s aspiracijom stranog tijela, odnosno prema podgrupama ispitanika s tvrdokornim ponavljajućim bronhoopstrukcijama, vršili smo Studentovim t-testom. U slučaju potonjih dviju podgrupa razlike su dodatno testirane i neparametrijskim Mann-Whitneyevim U-testom.

Testiranje razlika srednjih vrijednosti dobi ispitanika prema glavnim grupama, razlika srednjih vrijednosti LLMI i razlika srednjih vrijednosti zastupljenosti tipova stanica istovremeno među svim grupama i podgrupama ispitanika vršeno je jednosmjernom analizom varijance. Naknadna testiranja istih razlika pojedinačno po parovima grupa ili podgrupa ispitanika vršili smo Student-Newman-Keulsovim (SNK) testom.

Kod svih učinjenih analiza i tumačenja rezultata za granicu statističke značajnosti uzimana je razina od 5%.



## 4. REZULTATI

### 4.1. ANALIZA STANIČNIH KOMPONENTI BRONHALNOG ASPIRATA I RAZLIKE ZASTUPLJENOSTI TIPOVA STANICA IZMEĐU GLAVNIH ISPITIVANIH GRUPA

Standardna analiza staničnih komponenti bronhalnog aspirata podrazumijevala je određivanje zastupljenosti, odnosno diferencijalno brojanje neutrofilnih granulocita, limfocita, alveolarnih makrofaga i eozinofilnih granulocita. Razlike prosječnih vrijednosti zastupljenosti navedenih tipova stanica između 6 glavnih ispitivanih grupa testirane su jednosmjernom analizom varijance, a naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa vršeno je pomoću SNK testa.

#### 4.1.1. ZASTUPLJENOST NEUTROFILNIH GRANULOCITA

Dobiveni rezultati pokazuju da se navedene grupe ispitanika statistički značajno razlikuju s obzirom na prosječne vrijednosti zastupljenosti *Neu* ( $F_{5,80} = 2,68$ ;  $p < 0,05$ ). Naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa pokazuje da ispitanici iz negativne i pozitivne kontrolne grupe u smislu stanja aspiracije hrane ili želučanog sadržaja (*Grupe 1 i 2*), te ispitanici s ponavljajućim pneumonijama (*Grupa 6*) imaju statistički značajno više prosječne vrijednosti zastupljenosti *Neu* od ispitanika sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela i s normalnim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 4*), dok ispitanici sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela i s patološkim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 3*) imaju statistički značajno višu prosječnu vrijednost ne samo od *Grupe 4*, nego i od ispitanika s tvrdokornim i ponavljajućim bronhoopstruktivnim tegobama ili stridorom (*Grupa 5*). Između ostalih parova grupa nije bilo statistički značajnih razlika.

#### 4.1.2. ZASTUPLJENOST LIMFOCITA

Razlike srednjih vrijednosti zastupljenosti *Lym* između svih 6 grupa također su statistički značajne ( $F_{5,80} = 2,55$ ;  $p < 0,05$ ). Naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa pokazuje da ispitanici sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela i s normalnim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 4*) imaju statistički značajno višu prosječnu zastupljenost *Lym* od ispitanika u *Grupama 1* i *3*. *Grupa 5* ima statistički značajno višu prosječnu zastupljenost *Lym* od *Grupe 3*. Između ostalih parova grupa nije bilo statistički značajnih razlika.

#### 4.1.3. ZASTUPLJENOST ALVEOLARNIH MAKROFAGA

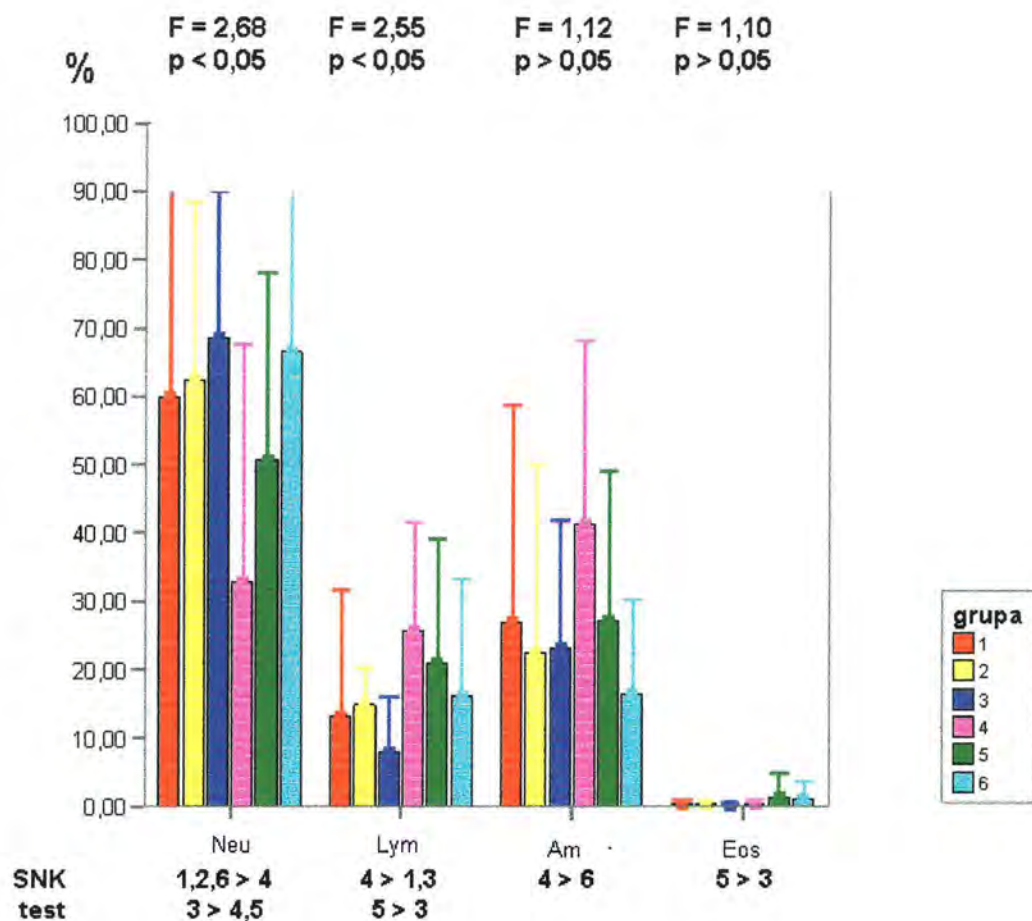
Razlike srednjih vrijednosti zastupljenosti *Am* između glavnih ispitivanih grupa statistički se nisu pokazale značajnim ( $F_{5,80} = 1,12$ ;  $p > 0,05$ ). Međutim, naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa pokazalo je da ispitanici *Grupe 4* (*sumnja na aspiraciju stranog tijela i normalnan traheobronhoskopski nalaz*) imaju statistički značajno višu prosječnu vrijednost zastupljenosti *Am* od ispitanika *Grupe 6* (*ponavljajuće pneumonije*). Između ostalih parova grupa nije bilo statistički značajnih razlika.

#### 4.1.4. ZASTUPLJENOST EOZINOFILNIH GRANULOCITA

Testiranjem razlika prosječne zastupljenosti *Eos* između svih 6 grupa nije dobivena statistička značajnost ( $F_{5,80} = 1,10$ ;  $p > 0,05$ ). Naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa pokazalo je da ispitanici *Grupe 5* (*tvrdokorne i ponavljajuće bronhoopstruktivne tegobe i stridor*) imaju statistički značajno višu prosječnu vrijednost u varijabli *Eos* od *Grupe 3* (*sumnja na aspiraciju stranog tijela i patološki traheobronhoskopski nalaz*). Između ostalih parova grupa nije bilo statistički značajnih razlika.



Navedeni rezultati skupno su prikazani na Slici 5 na kojoj je uočljivo da u svim ispitivanim grupama dominira zastupljenost *Neu* osim u *Grupi 4* (*aspiracija stranog tijela i normalan traheobronhoskopski nalaz*) kod koje su najviše zastupljeni *Am*.



**Slika 5.** Aritmetičke sredine i standardne devijacije zastupljenosti neutrofilnih granulocita (*Neu*), limfocita (*Lym*), alveolarnih makrofaga (*Am*) i eozinofila (*Eos*) po pojedinim ispitivanim grupama, te usporedba razlika srednjih vrijednosti diferencijalne zastupljenosti navedenih tipova stanica između glavnih ispitivanih Grupa: 1 (*negativna kontrola*); 2 (*GER/TEF – pozitivna kontrola*); 3 (*aspiracija stranog tijela i pozitivan traheobronhoskopski nalaz*); 4 (*aspiracija stranog tijela i negativan traheobronhoskopski nalaz*); 5 (*kronični tvrdokomi respiratorni simptomi*); 6 (*ponavljajuće pneumonije*).

## 4.2. KVANTITATIVNA ANALIZA NALAZA **LLAM** KOD SVIH ISPITANIKA

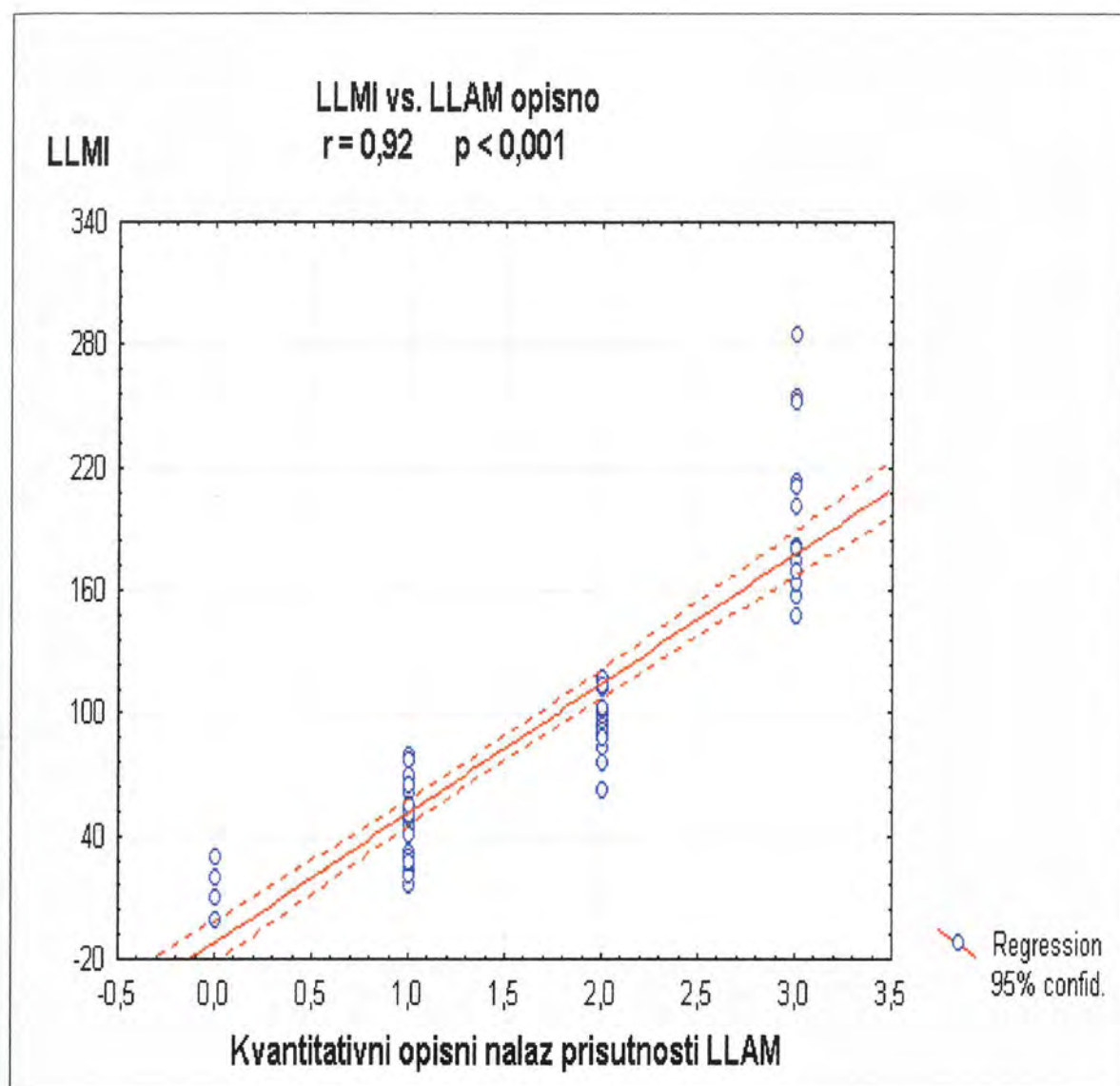
Kvantitativna analiza LLAM vršena je: opisnom metodom prema Langstonu i Pappinu, izračunavanjem LLMI prema Corwinu i Irwinu, i određivanjem zastupljenosti LLAM prema pojedinim tipovima s obzirom na količinu lipidnih zrnaca u citoplazmi.

### 4.2.1. USPOREDBA VRIJEDNOSTI **LLMI** I NALAZA OPISNE METODE

#### KVANTIFIKACIJE **LLAM** KOD SVIH ISPITANIKA

Izračunat je Pearsonov koeficijent korelacije između vrijednosti LLMI izračunatih metodom prema Corwinu i Irwinu (82) i nalaza opisne metode kvantifikacije LLAM prema Langstonu i Pappinu (94) kod svih ispitanika. Dobiven je visok, statistički značajan, pozitivan koeficijent korelacije ( $r = 0,92$  ;  $p < 0,001$ ). Ovaj rezultat ukazuje da ispitanici imaju to višu vrijednost u jednoj varijabli što im je viša vrijednost i u drugoj. S obzirom na tako visoku korelaciju između ovih dviju metoda, u svim daljnjim analizama rezultata koristili smo se samo vrijednostima LLMI izračunatih metodom prema Corwinu i Irwinu. Naime, za razliku od metode prema Langstonu i Pappinu kod koje se kvantificirani nalaz LLAM može kretati u rasponu vrijednosti 0-3, LLMI s rasponom vrijednosti 0-400 omogućava finiju diferencijaciju nalaza LLAM među ispitanicima i ispitivanim grupama. Grafički odnos koreliranih varijabli prikazan je na Slici 6.

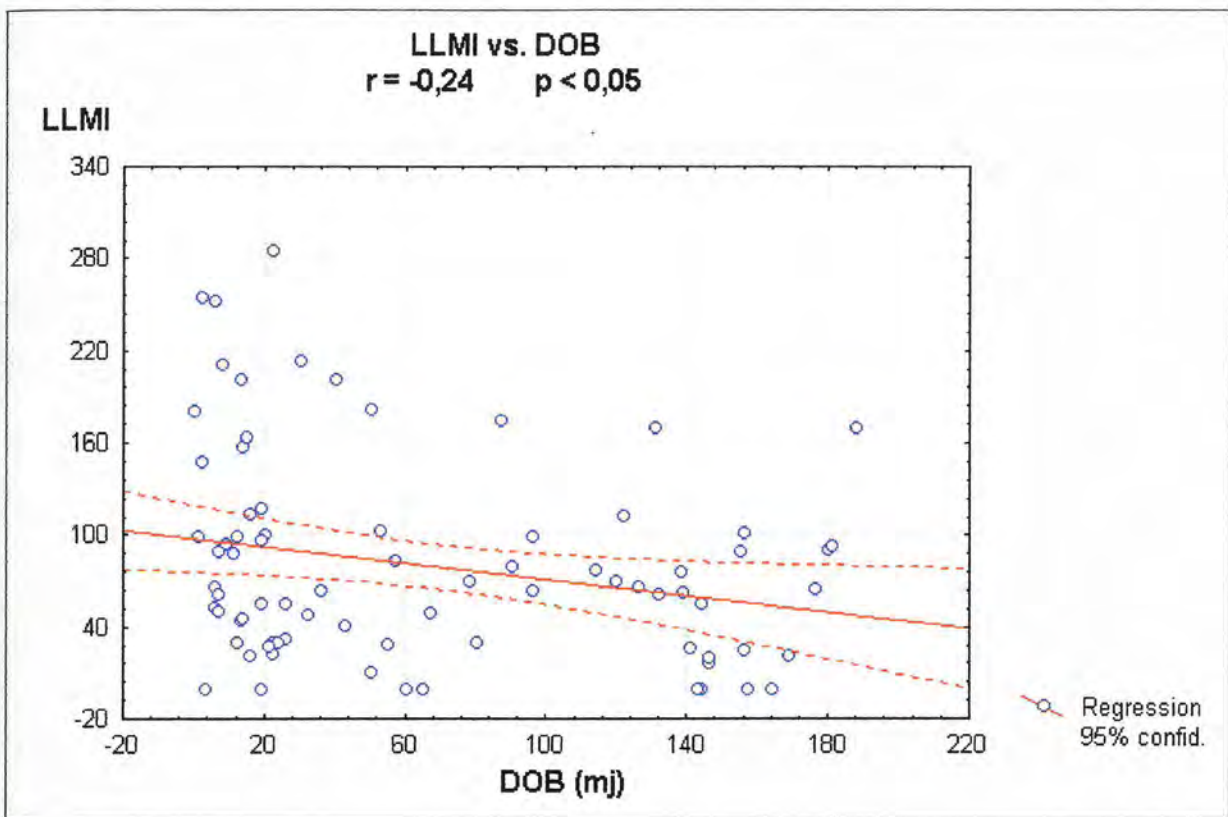




**Slika 6.** Scatter dijagram koji pokazuje korelaciju između vrijednosti indeksa lipidne opterećenosti makrofaga (LLMI) izračunatih prema Corwinu i Irwinu (82), i vrijednosti kvantitativnog opisnog nalaza prisutnosti lipidima opterećenih alveolarnih makrofaga (LLAM) prema Langstonu i Pappinu (94) u svih ispitanika.

#### 4.2.2. VRIJEDNOSTI **LLMI** U ODNOSU PREMA DOBI ISPITANIKA

S obzirom da smo htjeli odrediti eventualan utjecaj dobi ispitanika na LLMI, izračunat je Pearsonov koeficijent korelacije između vrijednosti LLMI i dobi svih ispitanika. Dobiven je statistički značajan negativan koeficijent korelacije ( $r = -0,24$  ;  $p < 0,05$ ) koji je i grafički prikazan na Slici 7. Dakle, što su ispitanici stariji to su im vrijednosti LLMI niže.



**Slika 7.** Scatter dijagram korelacije između vrijednosti indeksa lipidne opterećenosti makrofaga (LLMI) i dobi ispitanika.

Rezultati korelacije vrijednosti LLMI i dobi ispitanika po pojedinim grupama pokazale su laku negativnu povezanost ( $r = -0,34$ ) samo u ispitanika s dokazanim GER/TEF (*Grupa 2*).



Kod svih ostalih grupa Pearsonov koeficijent korelacije nije ukazao na povezanost dviju varijabli.

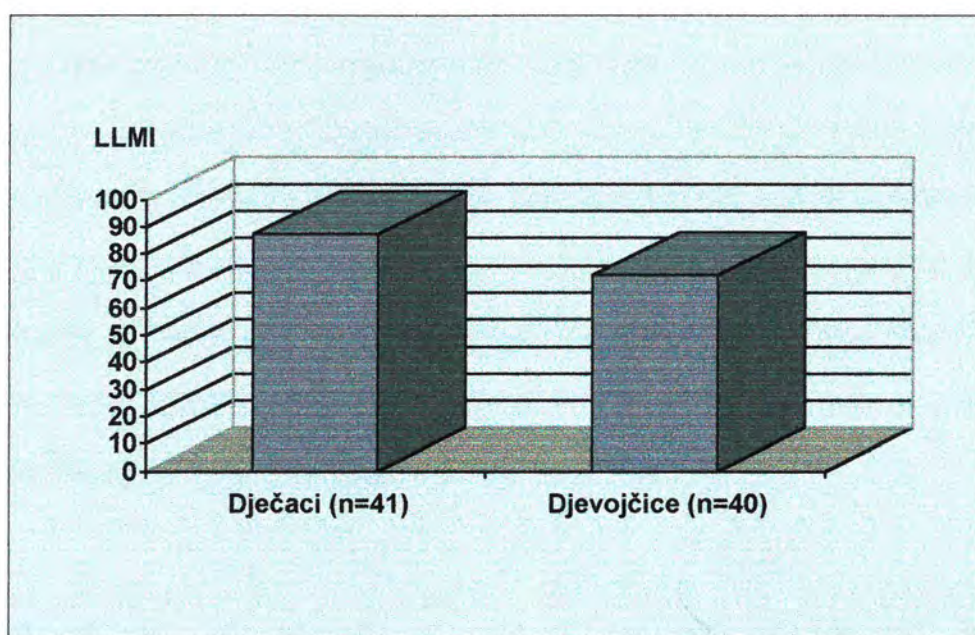
Da bismo mogli dodatno tumačiti eventualan utjecaj dobi na vrijednosti LLMI, jednosmjernom analizom varijance izračunate su razlike u prosječnoj dobi ispitanika između svih 6 ispitivanih grupa. Dobiveni rezultati pokazuju da se ovih 6 grupa statistički značajno razlikuje s obzirom na prosječnu dob ( $F_{5,80} = 9,95$ ;  $p < 0,001$ ). Naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa izvršeno je pomoću SNK testa, a njegovi rezultati pokazuju da je *Grupa 1 (negativna kontrola)* statistički značajno starija od *Grupa 2 (GER / TEF - pozitivna kontrola)*, *3 (sumnja na aspiraciju stranog tijela s pozitivnim traheobronhoskopskim nalazom)*, *4 (sumnja na aspiraciju stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom)* i *5 (tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstruktivne tegobe i stridor)*, da je *Grupa 6 (ponavljajuće pneumonije)* statistički značajno starija od *Grupa 2, 3 i 5*, te da je *Grupa 4* statistički značajno starija od *Grupe 2*. Između ostalih parova grupa nije bilo statistički značajne razlike s obzirom na prosječnu dob ispitanika. Ovi rezultati pregledno su prikazani na Tablici 6.

**Tablica 6.** Razlike u prosječnoj dobi ispitanika prema glavnim ispitivanim grupama (1-6), i njihova statistička značajnost.

<i>Dob (mj)</i>	<i>Grupa</i>					
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
Aritmet. sredina	133,4	11,1	43,0	73,8	49,4	93,3
SD	47,9	10,5	42,0	58,9	55,1	50,7
F; p	$F_{5,80} = 9,95$ ; $p < 0,001$					
SNK test	1 > 2, 3, 4, 5; 6 > 2, 3, 5; 4 > 2					

#### 4.2.3. VRIJEDNOSTI **LLMI** U ODNOSU PREMA SPOLU ISPITANIKA

Studentovim t-testom za nezavisne uzorke testirana je značajnost razlika srednjih vrijednosti LLMI između svih ispitanika ženskog i muškog spola. Rezultat je pokazao da između muških i ženskih ispitanika nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima LLMI što se da uočiti na grafičkom prikazu na Slici 8, a proizlazi iz rezultata t-testa prikazanog na Tablici 7.



**Slika 8.** Prosječne vrijednosti indeksa lipidne opterećenosti makrofaga (LLMI) prema spolu ispitanika.

**Tablica 7.** Testiranje razlike srednjih vrijednosti indeksa lipidne opterećenosti makrofaga (LLMI) po spolovima pokazuje da ista nije statistički značajna.

SPOL	LLMI	
	ARITMETIČKA SREDINA	STANDARDNA DEVIJACIJA
Muški	87,46	71,66
Ženski	71,95	61,87
t; p	t = 1,04; p >0.05	



#### 4.2.4. USPOREDBA RAZLIKA SREDNJIH VRIJEDNOSTI **LLMI** IZMEĐU GLAVNIH GRUPA ISPITANIKA

Razlike prosječnih vrijednosti LLMI između svih 6 grupa ispitanika testirane su jednosmjernom analizom varijance. Dobiveni rezultati pokazuju da se ovih 6 grupa statistički značajno razlikuje s obzirom na prosječne vrijednosti LLMI ( $F_{5,80} = 8,61$ ;  $p < 0,001$ ). Naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa izvršeno je pomoću SNK testa. Rezultati tog testa pokazuju da ispitanici s dokazanim GER ili TEF (*Grupa 2*) imaju statistički značajno više prosječne vrijednosti LLMI od svih ostalih ispitivanih grupa, te da ispitanici s akcidentalnom aspiracijom stranog tijela i pozitivnim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 3*) i ispitanici sa tvrdokornim ponavljajućim bronhoopstruktivnim epizodama i stridorom (*Grupa 5*) imaju statistički značajno više prosječne vrijednosti LLMI od ispitanika čija indikacija za traheobronhoskopski pregled nije uzrok niti posljedica akutne ili kronične aspiracije hrane ili želučanog sadržaja (*Grupa 1*). Između ostalih parova grupa nije bilo statistički značajnih razlika. Rezultati su prikazani na Tablici 8.

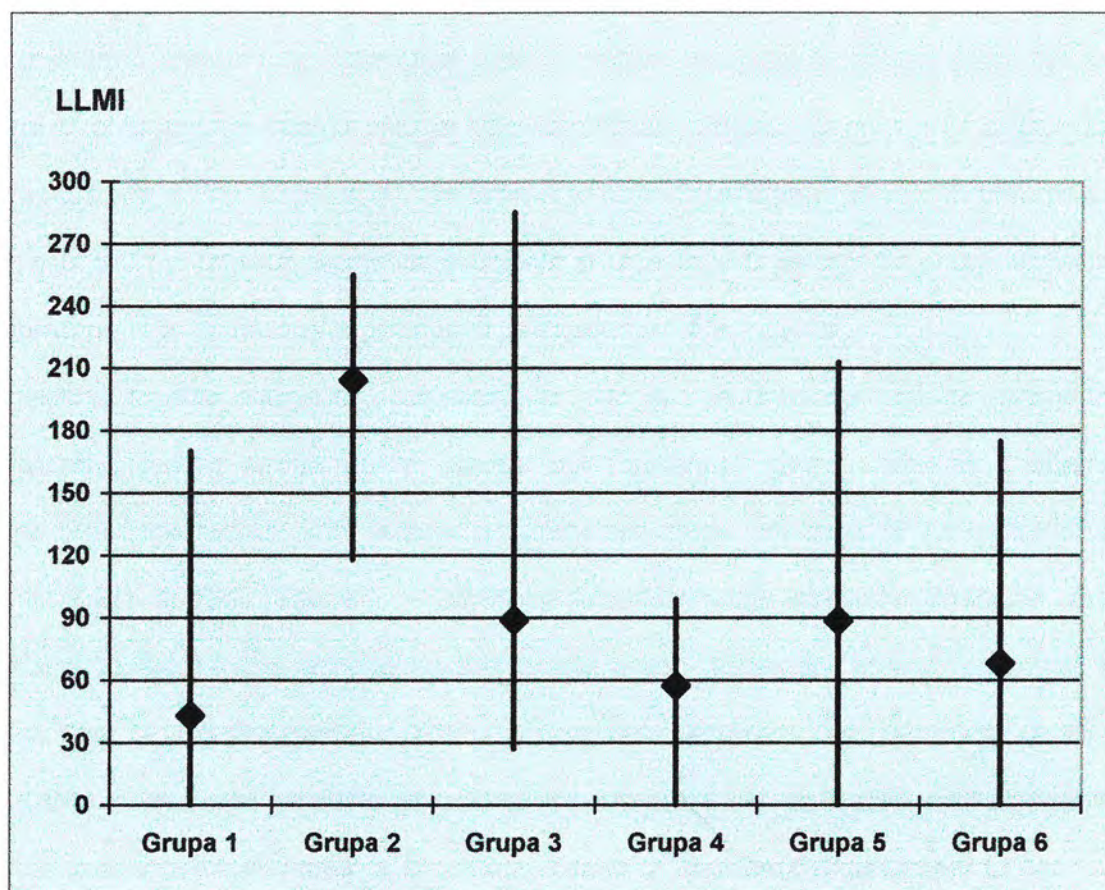
**Tablica 8.** Deskriptivni statistički parametri za varijablu LLMI za svih 6 glavnih ispitivanih grupa i rezultati jednosmjerne analize varijance i SNK testa. 1: negativna kontrola; 2: GER / TEF – pozitivna kontrola; 3: aspiracija stranog tijela s pozitivnim traheo-bronhoskopskim nalazom; 4: aspiracija stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom; 5: tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstruktivne epizode i stridor; 6: ponavljajuće pneumonije.

LLMI	Grupa					
	1	2	3	4	5	6
Aritmet. sredina	43,2	204,6	89,0	57,6	88,6	68,4
SD	46,7	46,7	66,9	28,6	63,9	57,9
Median	25,5	211	67	63,5	96,5	77
Minimum	0	118	27	0	0	0
Maksimum	170	255	285	99	213	175
Raspon	170	137	258	99	213	175
F; p	F <sub>5,80</sub> = 8,61; p < 0,001					
SNK test	2 > 1, 3, 4, 5, 6; 3, 5 > 1					

Na Slici 9 isti rezultati grafički su prikazani radi boljeg uočavanja preklapanja raspona varijable LLMI između pojedinih grupa. Uspoređujući tako svih 6 grupa međusobno, vidi se da je razlika srednjih vrijednosti LLMI najveća između grupe ispitanika čija indikacija za traheobronhoskopski pregled nije uzrok niti posljedica aspiracije hrane ili želučanog sadržaja (Grupa 1) i grupe ispitanika sa dokazanim GER ili TEF (Grupa 2). Stoga, promatrano s aspekta stanja akutne ili kronične aspiracije hrane ili želučanog sadržaja, Grupe 1 i 2 zaista možemo smatrati referentnim grupama, odnosno Grupom 1 negativnom, a Grupom 2 pozitivnom



kontrolnom grupom. Uočava se da uopće nema preklapanja pojedinačnih vrijednosti LLMI između Grupe 2 i ispitanika sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela i negativnim traheobronhoskopskim nalazom (Grupa 4).



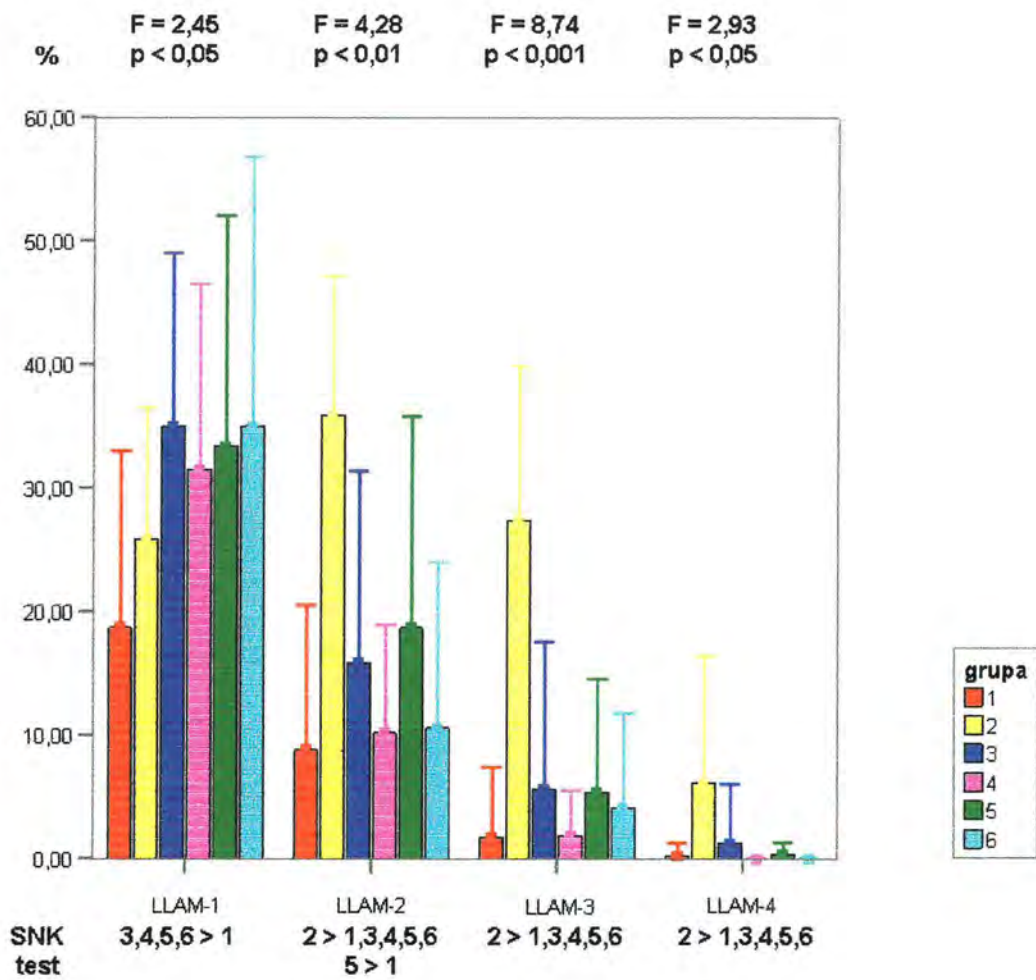
**Slika 9.** Grafički prikaz prosječnih vrijednosti i raspona varijable LLMI za svaku glavnu ispitanu grupu. 1: negativna kontrola; 2: GER / TEF – pozitivna kontrola; 3: aspiracija stranog tijela s pozitivnim traheo-bronhoskopskim nalazom; 4: aspiracija stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom; 5: tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstruktivne epizode i stridor; 6: ponavljajuće pneumonije.

#### 4.2.5. RAZLIKE U ZASTUPLJENOSTI TIPOVA **LLAM** IZMEĐU GLAVNIH GRUPA ISPITANIKA

Već smo ranije spomenuli da se kvantifikacija LLAM metodom prema Corwinu i Irwinu temelji na brojčanoj ocjeni količine uočenih fagocitiranih lipidnih zrnaca u citoplazmi svakog pojedinog alveolarnog makrofaga. Naime, ukoliko se zamijete crvena zrnca lipida u citoplazmi alveolarnog makrofaga tada se njihova količina gradiura ocjenom 1-4 i na taj način definiraju se 4 tipa LLAM. S ciljem da utvrdimo eventualno postojanje određenih obrazaca ili razlika u izgledu i prezentaciji fagocitiranih lipidnih zrnaca između definiranih grupa ispitanika određivali smo među njima razlike prosječne zastupljenosti 4 tipa LLAM.

Jednosmjerna analiza varijance pokazala je da su međusobne razlike prosječne zastupljenosti pojedinih tipova LLAM između svih ispitivanih grupa statistički značajne. Naknadno testiranje razlika SNK testom po parovima grupa pokazalo je da ispitanici sa dokazanim GER ili TEF (*Grupa 2 – pozitivna kontrola*) imaju statistički značajno veću zastupljenost LLAM-2,3,4 u odnosu na sve ostale grupe. Navedeni rezultati prikazani su grafički na Slici 10. Ukoliko gledajući Sliku 10 pozornost usmjerimo na distribuciju različitih tipova LLAM unutar svake pojedine grupe tada se vrlo jasno vidi da razlika među grupama nema. Kod svih ispitivanih grupa, s izuzetkom *Grupe 2*, najviše su zastupljeni LLAM-1, a najrjeđe LLAM-4. Općenito, za sve ispitivane grupe vrijedi – čim je viši stupanj LLAM niža je frekvencija njegove zastupljenosti.





**Slika 10.**

Prikazane su aritmetičke sredine i standardne devijacije zastupljenosti pojedinih tipova LLAM stupnjevanih na temelju količine lipidnih zrnaca u citoplazmi ocjenama 1-4. Navedeni su i rezultati testiranja razlika srednjih vrijednosti njihove zastupljenosti prema ispitivanim Grupama - 1: negativna kontrola; 2: GER / TEF – pozitivna kontrola; 3: aspiracija stranog tijela s pozitivnim traheo-bronhoskopskim nalazom; 4: aspiracija stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom; 5: tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstruktivne epizode i stridor; 6: ponavljajuće pneumonije.

#### 4.3. KVANTIFIKACIJA **LLAM** I ANALIZA STANIČNIH KOMPONENTI BRONHALNOG ASPIRATA U ISPITANIKA SA SUMNJOM NA ASPIRACIJU STRANOG TIJELA

##### 4.3.1. VRIJEDNOSTI **LLMI** MEĐU ISPITANICIMA SA SUMNJOM NA AKCIDENTALNU ASPIRACIJU STRANOG TIJELA

Kao što je već ranije objašnjeno u metodologiji ovog ispitivanja, svi ispitanici koji su traheobronhoskopirani zbog sumnje na akcidentalnu aspiraciju stranog tijela podijeljeni su u dvije grupe: **Grupa 3** - ispitanici sa sumnjom na akcidentalnu aspiraciju stranog tijela i pozitivnim traheobronhoskopskim nalazom i **Grupa 4** - ispitanici sa sumnjom na akcidentalnu aspiraciju stranog tijela i negativnim traheobronhoskopskim nalazom. Također ističemo već ranije spomenuti podatak da su sva strana tijela aspirirana od ispitanika *Grupe 3* bila organskog porijekla i sastavni su dio naše svakodnevne prehrane. Samo u jednog ispitanika radilo se o aspiraciji anorganskog stranog tijela (Tablica 5).

Iz već prikazanih rezultata na Tablici 8 proizlazi da ne postoji statistički značajna razlika srednjih vrijednosti LLMI između ispitanika *Grupe 3* (*aspiracija stranog tijela s pozitivnim traheobronhoskopskim nalazom*) i *Grupe 4* (*aspiracija stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom*). Međutim, *Grupa 3* ima statistički značajno višu srednju vrijednost LLMI u usporedbi s *Grupom 1* (*negativna kontrola*), što pak nije slučaj s *Grupom 4* koja u odnosu na *Grupu 1* nema statistički značajnu razliku srednjih vrijednosti LLMI. Osim toga, uočljivo je na Slici 9 da vrijednosti LLMI ispitanika *Grupe 3* imaju daleko najveći raspon u usporedbi s ostalim grupama, a po maksimalnoj vrijednosti LLMI čak nadmašuju *Grupu 2* (*pozitivna kontrola*), iako *Grupa 2* u odnosu na *Grupu 3* ima statistički značajno veću srednju vrijednost LLMI. Tako veliki raspon vrijednosti LLMI u ispitanika *Grupe 3* poglavito je



uočljiv u usporedbi s vrlo malim rasponom u ispitanika *Grupe 4 (aspiracija stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom)*.

Navedeni rezultati i zapažanja doveli su nas do pretpostavke da na ovako veliki raspon vrijednosti LLMI u ispitanika *Grupe 3* vjerojatno utiče konzistencija aspiriranog stranog tijela. Stoga smo ispitanike *Grupe 3* podijelili na već ranije spomenute podgrupe: *Grupu 3a (aspiracija mekane hrane)* i *Grupu 3b (aspiracija tvrde hrane)* (Tablica 5). Razlike srednjih vrijednosti LLMI između ispitanika ***Grupe 3a*** koji su aspirirali hranu mekane konzistencije (kaša, riba, juha) i ispitanika ***Grupe 3b*** koji su aspirirali hranu izrazito tvrde konzistencije (kikiriki, badem, lješnjak, orah, mrkva, itd) testirane su t-testom za nezavisne uzorke. Dobiveni rezultati prikazani su na Tablici 9.

**Tablica 9.** Razlike srednjih vrijednosti LLMI između ispitanika *Grupe 3a (aspiracija mekane hrane)* i *Grupe 3b (aspiracija tvrde hrane)*.

ISPITANICI	LLMI		
	N	ARITMET. SREDINA	SD
<b><i>Grupa 3a</i></b>	<b>5</b>	<b>169,4</b>	<b>77,5</b>
<b><i>Grupa 3b</i></b>	<b>16</b>	<b>63,8</b>	<b>39,1</b>
<b><i>t; p</i></b>		<b>t = 4,15; p &lt; 0,001</b>	

Rezultati pokazuju da ispitanici koji su aspirirali hranu mekane konzistencije (*Grupa 3a*) imaju statistički značajno višu prosječnu vrijednost u varijabli LLMI nego ispitanici koji su aspirirali hranu tvrde konzistencije (*Grupa 3b*). Zbog relativno malog broja ispitanika, ukupno 21 u obje grupe, i relativno velike razlike između dviju testiranih grupa u broju ispitanika (5 prema 16), razlika srednjih vrijednosti LLMI između ovih dviju grupa testirana je i

neparametrijskim Mann-Whitneyevim U-testom. I ovim testiranjem dobivena je statistički značajna razlika ( $z = 2,89$ ;  $p < 0,01$ ), pa se može zaključiti da statistički značajna razlika dobivena t-testom nije posljedica malog broja ispitanika niti nesrazmjera u broju ispitanika između dviju analiziranih grupa.

Srednje vrijednosti LLMI ispitanika *Grupe 3a (aspiracija hrane mekane konzistencije)* i *Grupe 3b (aspiracija tvrde hrane)* usporedili smo s onima iz *Grupe 1 (negativna kontrola)*, *Grupe 2 (pozitivna kontrola)* i *Grupe 4 (suspektna aspiracija s normalnim traheobronhoskopskim nalazom)*. Usporedba je izvršena pomoću jednosmjerne analize varijance, a za naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa korišten je SNK test. Rezultati usporedbe prikazani su na Tablici 10.

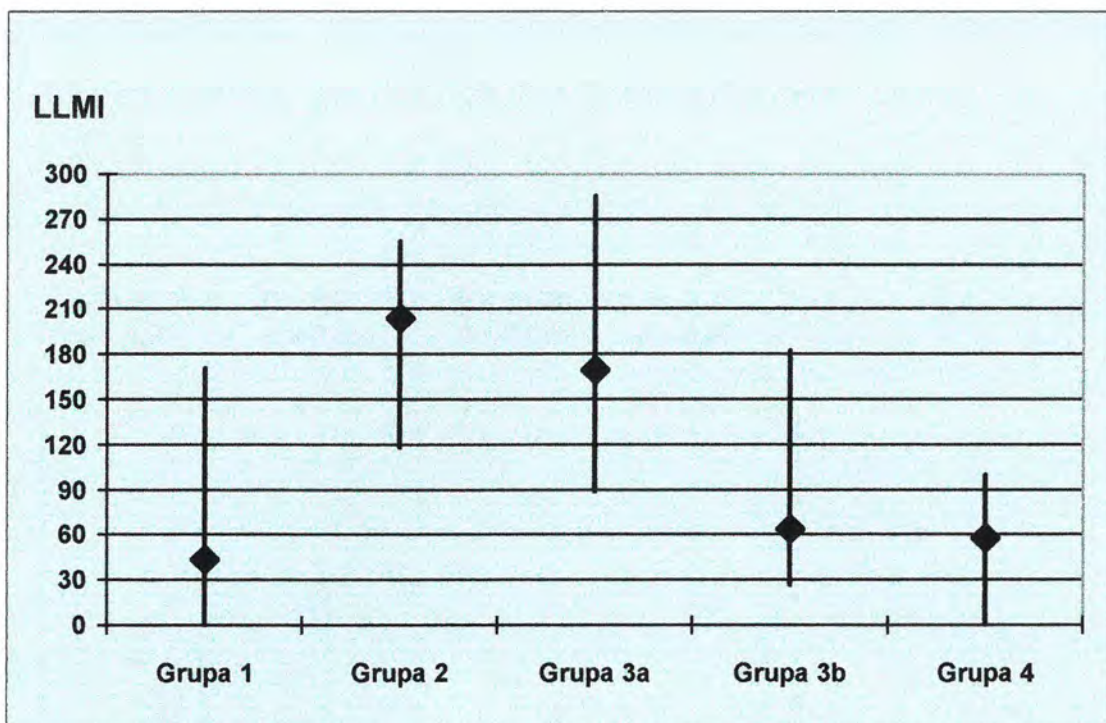
**Tablica 10.** Deskriptivni statistički parametri varijable LLMI i rezultati usporedbe prosječnih vrijednosti LLMI među Grupama: 1 (*negativna kontrola*), 2 (*pozitivna kontrola*), 3a (*aspiracija mekane hrane*), 3b (*aspiracija tvrde hrane*) i 4 (*negativna aspiracija stranog tijela*).

LLMI	Grupa				
	1	2	3a	3b	4
<b>Aritmet. sredina</b>	43,2	204,6	169,4	63,8	57,6
<b>SD</b>	46,7	46,7	77,5	39,1	28,6
<b>Median</b>	25,5	211	158	53	63,5
<b>Minimum</b>	0	118	89	27	0
<b>Maximum</b>	170	255	285	182	99
<b>Raspon</b>	170	137	196	155	99
<b>N</b>	16	7	5	16	10
<b>F; p</b>	<b>F<sub>4,53</sub> = 21,82; p &lt; 0,001</b>				
<b>SNK</b>	2 > 1, 3b, 4; 3a > 1, 3b, 4				



Dobiveni rezultati pokazuju da se ovih 5 grupa statistički značajno razlikuje s obzirom na prosječne vrijednosti u varijabli LLMI ( $F_{4,53} = 21,82$ ;  $p < 0,001$ ). Naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa izvršeno je pomoću SNK testa, a njegovi rezultati pokazuju da *Grupa 2 (pozitivna kontrola)* i *Grupa 3a (aspiracija meke hrane)* imaju statistički značajno više prosječne vrijednosti u varijabli LLMI od svih preostalih grupa, dok između te dvije grupe nema statistički značajne razlike.

Kada se isti rezultati grafički prikažu na Slici 11, tada je uočljivo da su se svojim srednjim vrijednostima LLMI i gotovo sukladnim rasponom LLMI *Grupa 2* i *Grupa 3a* izdvojile od ostalih analiziranih grupa. To se moglo i očekivati s obzirom da se konzistencija aspirirane hrane u ispitanika *Grupe 3a* bitno ne razlikuje od one želučanog sadržaja do čije aspiracije dolazi u ispitanika *Grupe 2*. Također se uočava da ne dolazi ni do najmanjeg preklapanja vrijednosti LLMI između ispitanika *Grupe 2 (pozitivna kontrola)* i *Grupe 4 (negativna aspiracija stranog tijela)*. Iako nema statistički značajne razlike između srednjih vrijednosti LLMI ispitanika *Grupe 4 (negativna aspiracija stranog tijela)* i *Grupe 3b (aspiracija tvrde hrane)*, valja istaći daleko veću maksimalnu vrijednost LLMI u potonjih ispitanika. Uočava se i činjenica da je minimalna vrijednost LLMI u *Grupi 3b* veća od 0, za razliku od *Grupa 1* i *4*, a slično *Grupama 2* i *3a*.



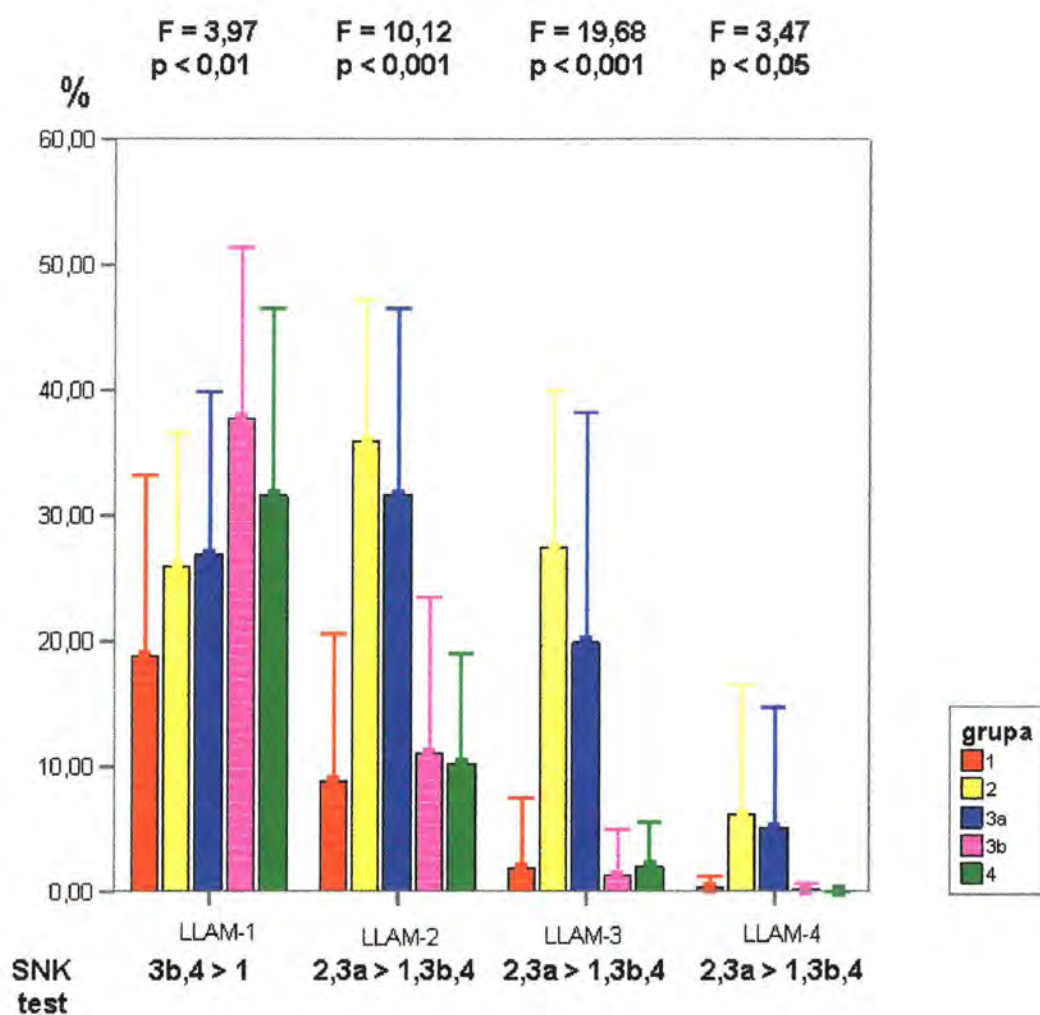
**Slika 11.** Grafički prikaz prosječnih vrijednosti i raspona varijable LLMI po *Grupama*: 1 (*negativna kontrola*), 2 (*pozitivna kontrola*), 3a (*aspiracija meke hrane*), 3b (*aspiracija tvrde hrane*) i 4 (*negativna aspiracija*).

#### 4.3.2. ZASTUPLJENOST TIPOVA **LLAM** IZMEĐU ISPITANIKA SA SUMNJOM NA ASPIRACIJU STRANOG TIJELA

Jednosmjerna analiza varijance pokazala je da su međusobne razlike prosječne zastupljenosti pojedinih tipova LLAM između svih ispitivanih grupa statistički značajne. Naknadno testiranje razlika SNK testom po parovima grupa pokazalo je da ispitanici sa dokazanim GER ili TEF (*Grupa 2 – pozitivna kontrola*) i ispitanici koji su aspirirali hranu mekane konzistencije (*Grupa 3a*) imaju statistički značajno veću zastupljenost LLAM-2,3,4 u



odnosu na ostale grupe. Navedeni rezultati prikazani su grafički na Slici 12. Analizirajući zastupljenost različitih tipova LLAM unutar svake pojedine grupe tada se vrlo jasno vidi da *Grupa 2* i *Grupa 3a* poprimaju gotovo jednaki obrazac distribucije tipova LLAM.

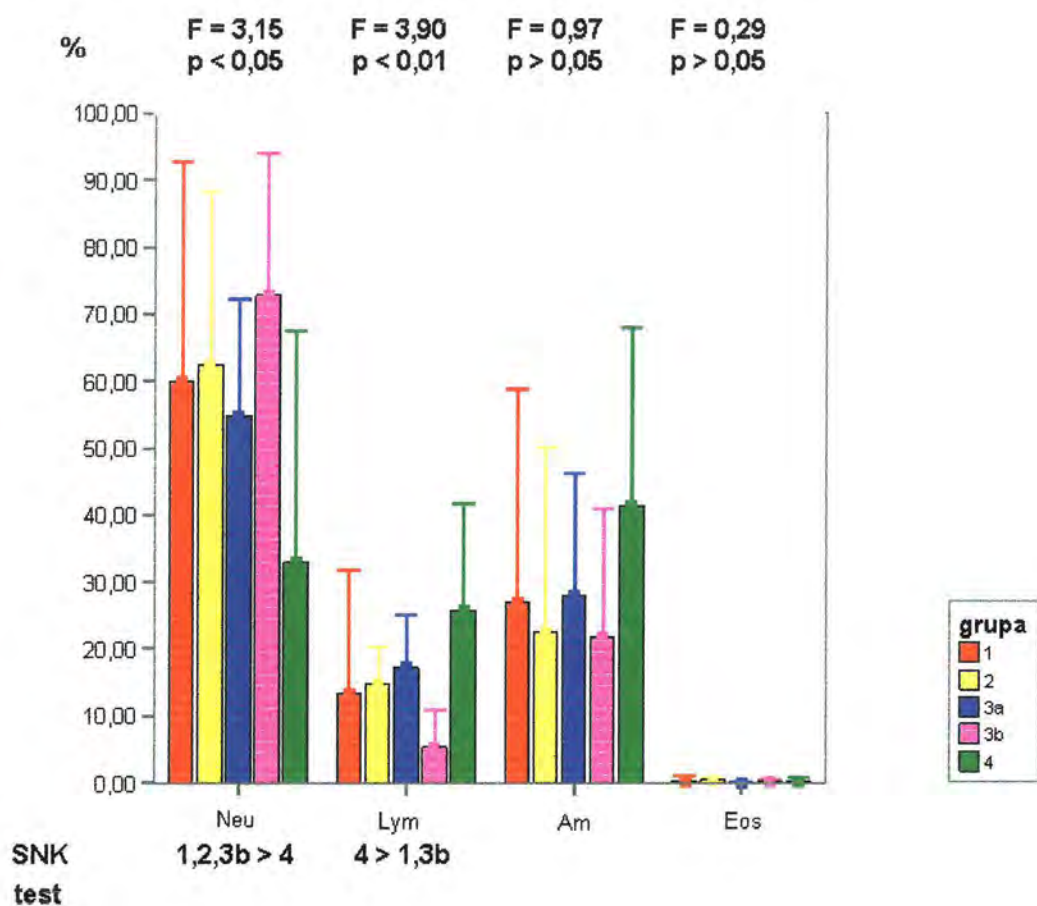


**Slika 12.** Prikazane su aritmetičke sredine i standardne devijacije zastupljenosti pojedinih tipova LLAM stupnjevanih na temelju količine lipidnih zrnaca u citoplazmi ocjenama 1-4. Navedeni su i rezultati testiranja razlika srednjih vrijednosti njihove zastupljenosti prema ispitivanim grupama - 1 (*negativna kontrola*), 2 (*GER / TEF – pozitivna kontrola*), 3a (*aspiracija meke hrane*), 3b (*aspiracija tvrde hrane*), 4 (*negativna aspiracija stranog tijela*).

#### 4.3.3 ZASTUPLJENOST STANDARDNIH TIPOVA STANICA IZMEĐU ISPITANIKA SA SUMNJOM NA ASPIRACIJU STRANOG TIJELA

Rezultati jednosmjerne analize varijance pokazali su da se ispitanici kontrolnih grupa (*Grupe 1 i 2*) i 3 grupe ispitanika sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela (*Grupe 3a, 3b i 4*) statistički međusobno značajno razlikuju s obzirom na prosječnu zastupljenost *Neu* ( $F_{4,53} = 3,15$ ;  $p < 0,05$ ) i *Lym* ( $F_{4,53} = 3,90$ ;  $p < 0,01$ ). Naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa izvršeno je pomoću SNK testa, a njegovi rezultati između ostalih pokazali su da ispitanici s aspiracijom tvrdog stranog tijela (*Grupa 3b*) imaju statistički značajno više prosječne vrijednosti zastupljenosti *Neu* od ispitanika s negativnim traheobronhoskopskim nalazom u smislu aspiracije stranog tijela (*Grupa 4*). Obratno vrijedi za varijablu *Lym*, dok statistički značajne razlike za varijable *Am* i *Eos* nije bilo. Navedeni rezultati grafički su prikazani na Slici 13.





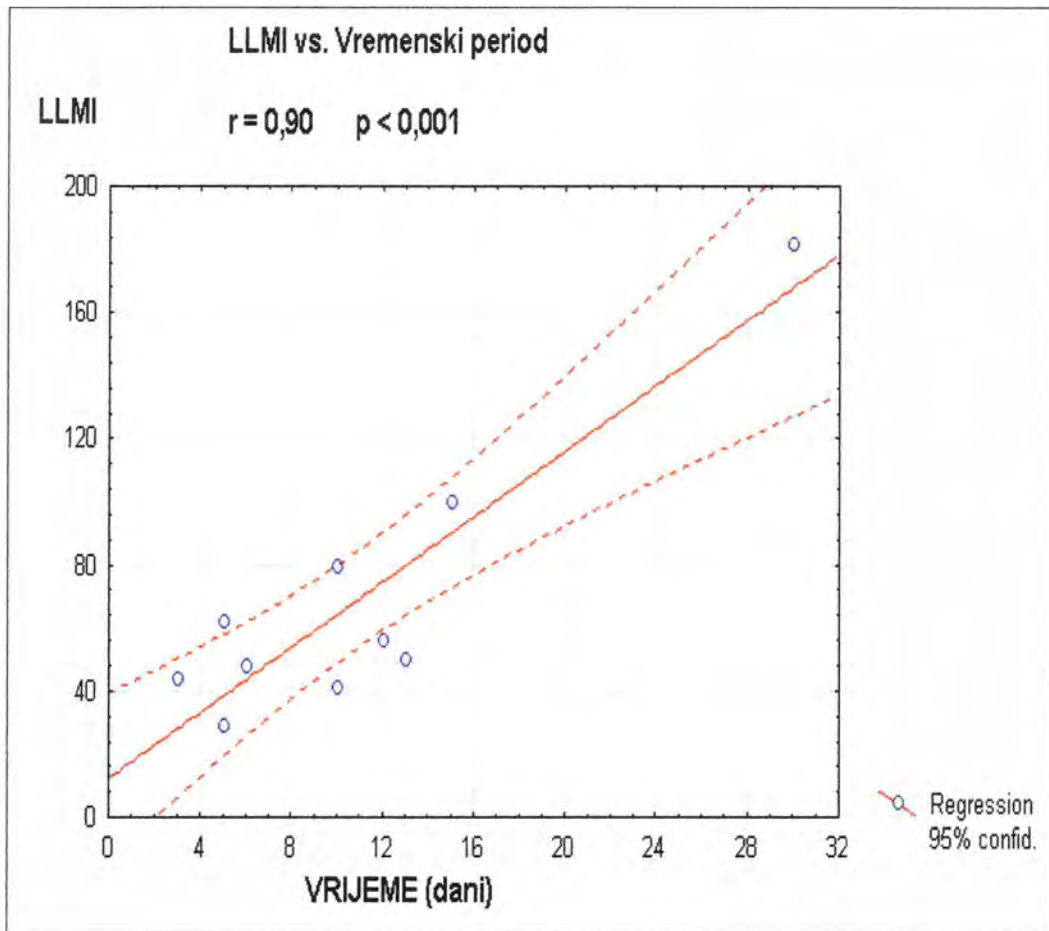
**Slika 13.** Aritmetičke sredine i standardne devijacije zastupljenosti neutrofilnih granulocita (*Neu*), limfocita (*Lym*), alveolarnih makrofaga (*Am*) i eozinofila (*Eos*) prema ispitivanim grupama ispitanika sa sumnjom na akcidentalnu aspiraciju stranog tijela, te usporedba razlika srednjih vrijednosti zastupljenosti navedenih tipova stanica između tih grupa. 1 (*negativna kontrola*), 2 (*pozitivna kontrola*), 3a (*aspiracija mekane hrane*), 3b (*aspiracija tvrde hrane*) i 4 (*negativna aspiracija stranog tijela*).

#### 4.3.4. VRIJEDNOSTI **LLMI** U OVISNOSTI O VREMENSKOM PERIODU OD ASPIRACIJE DO EKSTRAKCIJE STRANOG TIJELA

Iako nije bilo statistički značajne razlike srednjih vrijednosti LLMI između ispitanika *Grupe 3b* (aspiracija tvrde hrane), *Grupe 1* (negativna kontrola) i *Grupe 4* (suspektna aspiracija stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom), a ponukani ipak višim minimalnim i maksimalnim vrijednostima LLMI u *Grupi 3b*, odlučili smo unutar te grupe izdvojiti **Grupi 3b'**. Tu grupu sačinjavalo je 10 ispitanika koji su aspirirali srodna vegetabilna strana tijela (kikiriki, badem, lješnjak, orah) izrazito tvrde konzistencije s relativno visokim sadržajem lipida (Tablica 5). Usprkos aspiraciji hrane tako bogate lipidima vrijednosti LLMI kod ovih ispitanika očito nisu bile dovoljno visoke da podignu srednju vrijednost LLMI *Grupe 3b* na onu razinu koja bi dala statistički značajnu razliku u odnosu na srednje vrijednosti LLMI *Grupe 1* i *Grupe 4* (Tablica 10 i Slika 11).

Pretpostavili smo stoga da je kod aspiracije ovako tvrdih vegetabilnih stranih tijela, za razliku od tekuće hrane, vjerojatno potreban duži period boravka istog u traheobronhalnom stablu da bi došlo do "oslobađanja" značajnije otopljene količine lipidnih spojeva koje bi alveolarni makrofazi tada mogli fagocitirati. Da bismo potvrdili tu pretpostavku odredili smo Pearsonov koeficijent korelacije između varijable LLMI i varijable vremenskog perioda proteklog od aspiracije do ekstrakcije stranog tijela. Dobiven je visok, statistički značajan pozitivan koeficijent korelacije ( $r = 0.90$  ;  $p < 0,001$ ). Dakle, što je vremenski period duži, više su i vrijednosti LLMI. Na Slici 14 "scatter" dijagramom prikazan je odnos između ovih dviju varijabli.





**Slika 14.** "Scatter" dijagram koji pokazuje korelaciju između vrijednosti indeksa lipidne opterećenosti makrofaga (LLMI) i vremenskog perioda proteklog od aspiracije do ekstrakcije stranog tijela u ispitanika (*Grupa 3b*) koji su aspirirali srodna vegetabilna strana tijela (kikiriki, badem, lješnjak, orah) s relativno jednakim sadržajem lipida.

#### 4.4. KVANTIFIKACIJA **LLAM** I ANALIZA STANIČNIH KOMPONENTI BRONHALNOG ASPIRATA U ISPITANIKA S KRONIČNIM TVRDOKORNIM RESPIRATORNIM SIMPTOMIMA

##### 4.4.1. VRIJEDNOSTI **LLMI** MEĐU ISPITANICIMA S KRONIČNIM TVRDOKORNIM RESPIRATORNIM SIMPTOMIMA

Već smo ranije prikazali rezultate (Tablica 8) koji ukazuju na statistički značajno višu srednju vrijednost LLMI ispitanika *Grupe 5* (ispitanici s ponavljajućim i tvrdokornim bronhoopstruktivnim epizodama, i stridorom, koji ne reagiraju na standardnu bronhodilatatoru i protuupalnu terapiju) u usporedbi s ispitanicima *Grupe 1* (negativna kontrola). Isto tako, ispitanici *Grupe 5* pokazuju statistički značajno nižu srednju vrijednost LLMI u usporedbi s ispitanicima *Grupe 2* (pozitivna kontrola). Statistički značajna razlika srednjih vrijednosti LLMI ne postoji kada se usporede *Grupa 6* (ispitanici s ponavljajući i tvrdokornim pneumonijama) i *Grupa 1* (negativna kontrola), niti kada se međusobno usporede ispitanici *Grupa 5* i *6*.

Prema tome, analizirajući srednje vrijednosti LLMI ispitanici *Grupe 5* "rangirani" su nekako između negativne (*Grupa 1*) i pozitivne (*Grupa 2*) kontrolne grupe što vjerojatno ukazuje da među njima ipak postoji određeni broj ispitanika čije respiratorne tegobe možemo tumačiti kroničnom aspiracijom želučanog sadržaja. Obzirom da se kod ispitanika s kroničnom aspiracijom želučanog sadržaja može očekivati postojanje patološkog ekvivalenta u traheobronhoskopskom nalazu, podijelili smo ispitanike *Grupe 5* na dvije podgrupe: *Grupa 5a* - ispitanici s pozitivnim traheobronhoskopskim nalazom u vidu traheo/bronhomalacije i/ili akutnih upalnih promjena i *Grupa 5b* - ispitanici čiji je traheobronhoskopski nalaz bio u granicama normale.



Razlike u varijabli LLMI između *Grupa 5a* i *5b* testirane su t-testom za nezavisne uzorke. Dobiveni rezultati prikazani su na Tablici 11.

**Tablica 11.** Razlika srednjih vrijednosti LLMI između podgrupa ispitanika s tvrdokornim ponavljajućim respiratornim simptomima podijeljenih na temelju traheobronhoskopskog nalaza. *Grupa 5a*: traheo-bronhomalacija ili akutne upalne promjene; *Grupe 5b*: uredan traheobronhoskopski nalaz.

GRUPA		LLMI	
		ARITMET. SREDINA	SD
<b>5a</b>	<i>(N = 11)</i>	118,9	52,2
<b>5b</b>	<i>(N = 9)</i>	51,7	59,2
<i>t; p</i>		<i>t = 2,70; p &lt; 0,05</i>	

Ispitanici s patološkim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 5a*) imaju statistički značajno višu prosječnu vrijednost u varijabli LLMI nego ispitanici s normalnim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 5b*). I u ovom slučaju razlika između ovih dviju grupa provjerena je i neparametrijskim Mann-Whitneyevim U-testom koji je potvrdio prethodno navedenu statistički značajnu razliku prosječnih vrijednosti LLMI između ovih dviju grupa ( $z = 2,25$ ;  $p < 0,05$ ).

Nadalje, prosječne vrijednosti varijable LLMI *Grupa 5a* i *5b* uspoređene su s onima *Grupe 1* (*negativna kontrola*), *Grupe 2* (*pozitivna kontrola*) i *Grupe 6* (*ispitanici s ponavljajućim pneumonijama*) korištenjem jednosmjerne analize varijance i SNK testa za naknadnu usporedbu između pojedinih parova grupa. Rezultati su prikazani na Tablici 12.

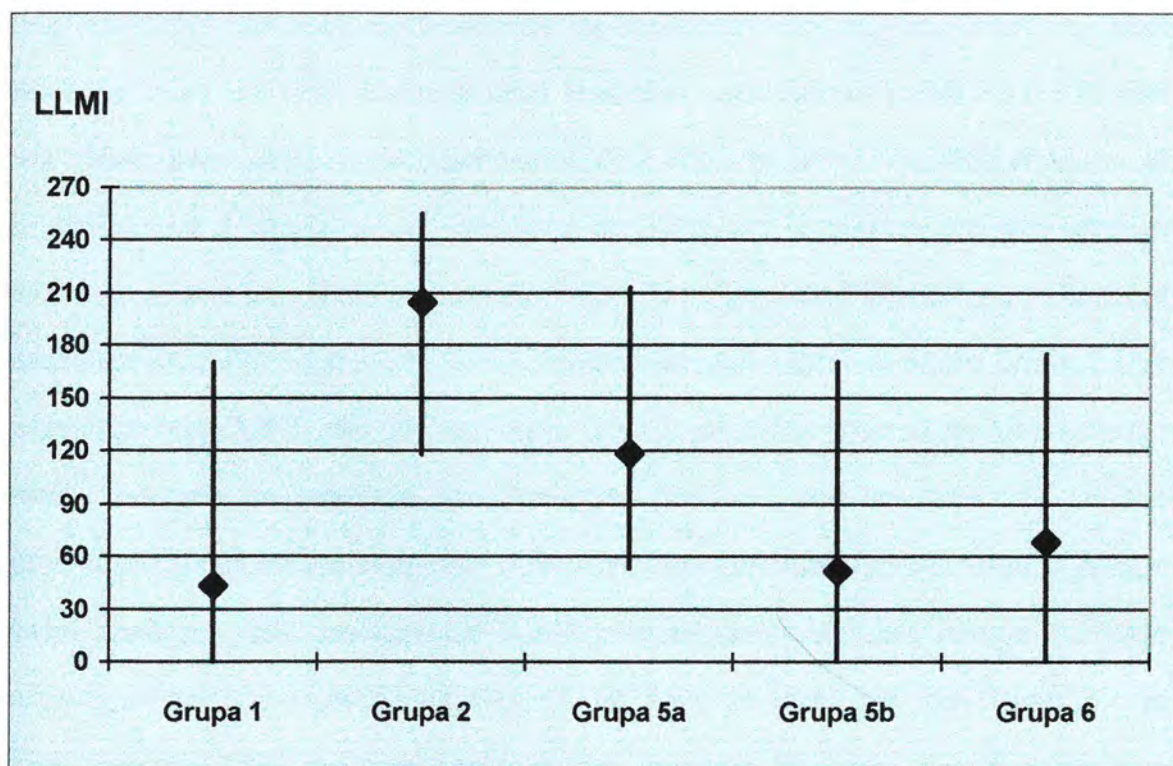
**Tablica 12.** Deskriptivni statistički parametri za vrijednosti indeksa lipidne opterećenosti makrofaga (LLMI) po *Grupama*: 1 (*negativna kontrola*), 2 (*GER / TEF - pozitivna kontrola*), 5a (*tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstruktivne te i patološki traheobronhoskopski nalaz*), 5b (*kronične bronhoopstruktivne tegobe i normalan traheo-bronhoskopski nalaz*) i 6 (*ponavljajuće pneumonije*), te rezultati jednosmjerne analize varijance i SNK testa.

LLMI	Grupa				
	1	2	5a	5b	6
<i>Aritmet. sredina</i>	43,2	204,6	118,8	51,7	68,4
<i>SD</i>	46,7	46,7	52,2	59,2	57,9
<i>Median</i>	25,5	211	102	23	77
<i>Minimum</i>	0	118	53	0	0
<i>Maksimum</i>	170	255	213	170	175
<i>Raspon</i>	170	137	160	170	175
<i>N</i>	16	7	11	9	7
<i>F; p</i>	$F_{4,49} = 14,13; p < 0,001$				
<i>SNK</i>	2 > 1, 5a, 5b, 6; 5a > 1, 5b, 6				

Dobiveni rezultati pokazuju da se ovih 5 grupa statistički značajno razlikuje s obzirom na prosječne vrijednosti u varijabli LLMI ( $F_{4,49} = 14,13; p < 0,001$ ). Naknadno testiranje značajnosti razlika između pojedinih parova grupa izvršeno je pomoću SNK testa, a njegovi rezultati pokazuju da *Grupa 2 (pozitivna kontrola)* ima značajno više prosječne vrijednosti u varijabli LLMI od svih preostalih grupa. Međutim, ističemo rezultat prema kojem ispitanici s tvrdokornim ponavljajućim bronhoopstruktivnim tegobama i patološkim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 5a*) imaju značajno više prosječne vrijednosti LLMI od ispitanika negativne kontrolne grupe (*Grupa 1*), od ispitanika s tvrdokornim ponavljajućim



bronhoopstruktivnim tegobama i normalnim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 5b*) i od ispitanika s ponavljajućim pneumonijama (*Grupa 6*). Razlike između ostalih parova grupa nisu se statistički pokazale značajnima. Ovaj rezultat vrlo dobro se uočava i na grafičkom prikazu na Slici 15 na kojoj je vidljivo da *Grupa 5a* bitno odskaače srednjom vrijednošću i rasponom vrijednosti LLMI od *Grupa 1*, *5b* i *6*, za razliku od situacije kada smo te ispitanike u okviru čitave *Grupe 5* uspoređivali s tim istim grupama (Slika 9).

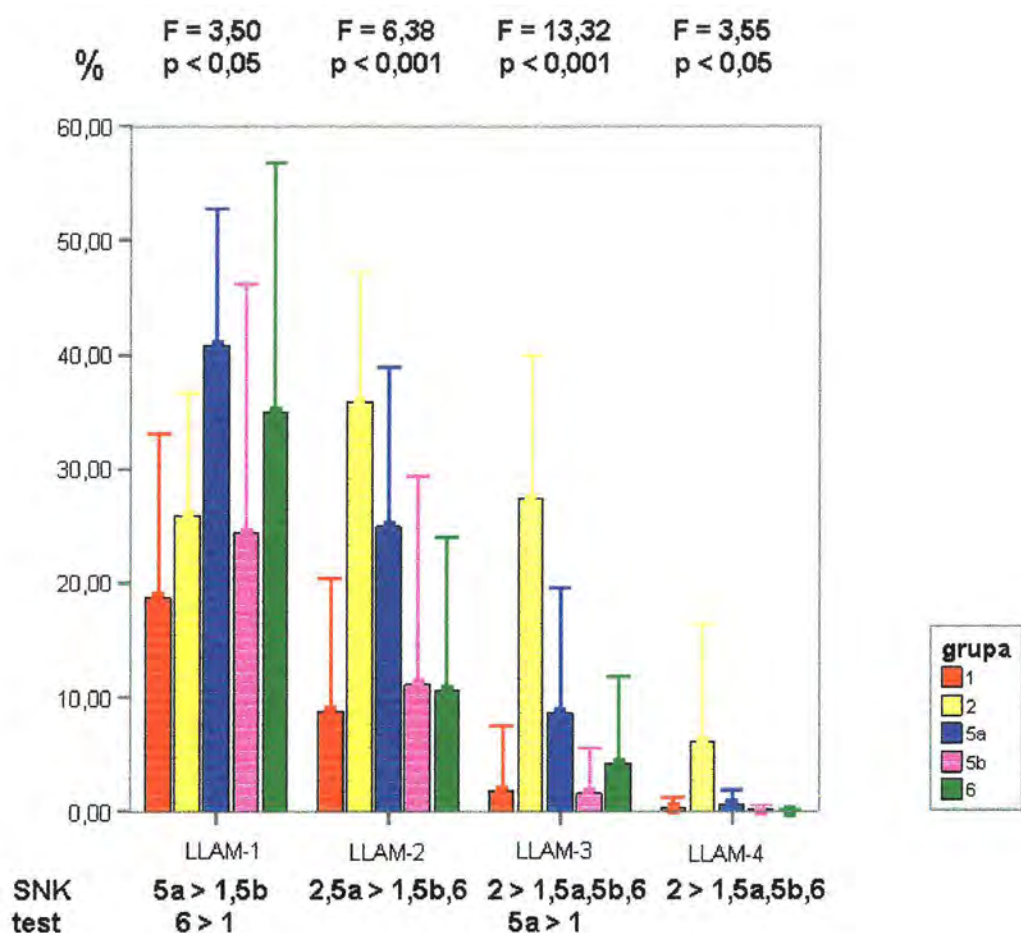


**Slika 15.** Prosječne vrijednosti i rasponi indeksa lipidne opterećenosti makrofaga (LLMI) po Grupama: 1 (*negativna kontrola*), 2 (*pozitivna kontrola*), 5a (*tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstrukcije i patološki traheobronhoskopski nalaz*), 5b (*tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstrukcije i normalan traheobronhoskopski nalaz*) i 6 (*ponavljajuće pneumonije*).

#### 4.4.2. ZASTUPLJENOST TIPOVA **LLAM** IZMEĐU ISPITANIKA S KRONIČNIM TVRDOKORNIM RESPIRATORNIM SIMPTOMIMA

Jednosmjerna analiza varijance pokazala je da su međusobne razlike prosječne zastupljenosti pojedinih tipova LLAM između svih grupa ispitanika s kroničnim tvrdokornim respiratornim simptomima statistički značajne. Naknadno testiranje razlika SNK testom po parovima grupa pokazalo je da ispitanici sa dokazanim GER ili TEF (*Grupa 2 – pozitivna kontrola*) imaju statistički značajno veću prosječnu zastupljenost LLAM-2,3,4 u odnosu na sve ostale grupe, osim u zastupljenosti LLAM-2 kod koje nema statistički značajne razlike između *Grupe 2* i ispitanika s tvrdokornim ponavljajućim bronhoopstruktivnim tegobama ili stridorom (*Grupa 5a*). Nadalje, ispitanici *Grupe 5a* imaju statistički značajno veću prosječnu zastupljenost LLAM-1 u odnosu na sve ostale grupe uključujući i ispitanike *Grupe 2*, a prema zastupljenosti LLAM-3, iako zaostaju za *Grupom 2*, još uvijek imaju statistički značajno veću razliku u odnosu na negativnu kontrolnu grupu (*Grupa 1*), kao što ispitanici s tvrdokornim ponavljajućim bronhoopstrukcijama i normalnim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 5b*) imaju značajno veću zastupljenost LLAM-1 od negativne kontrole (*Grupa 1*). Navedeni rezultati prikazani su grafički na Slici 16 na kojoj se jasno vidi da *Grupe 2* i *5a* po zastupljenosti LLAM dominiraju nad ostalim grupama pri čemu *Grupa 2* dominira po zastupljenosti LLAM viših stupnjeva opterećenosti lipidima, a *Grupa 5a* i donekle *Grupa 5b* po zastupljenosti LLAM nižeg stupnja opterećenosti lipidima.





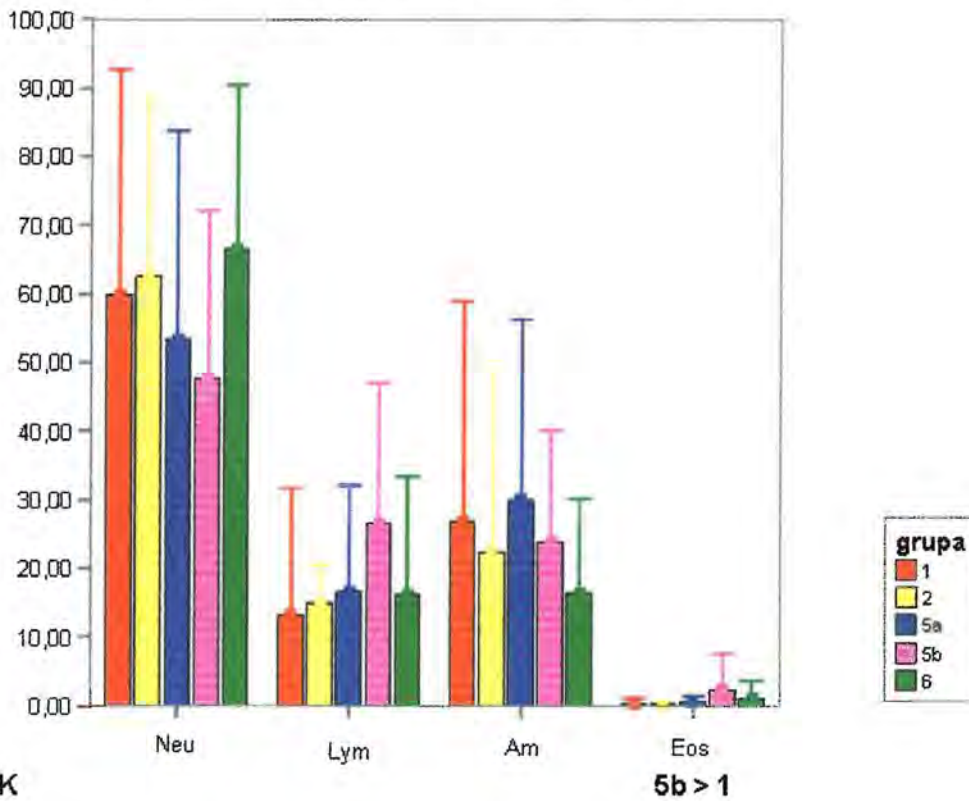
**Slika 16.** Prikazane se aritmetičke sredine i standardne devijacije zastupljenosti pojedinih tipova lipidima opterećenih alveolarnih makrofaga (LLAM) stupnjevanih na temelju količine lipidnih zrnaca u citoplazmi ocjenama 1-4. Navedeni su i rezultati testiranja razlika srednjih vrijednosti njihove zastupljenosti prema ispitivanim grupama - 1 (*negativna kontrola*), 2 (*GER / TEF – pozitivna kontrola*), 5a (*tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstrukcije s patološkim traheobronhoskopskim nalazom*), 5b (*tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstrukcije s normalnim traheobronhoskopskim nalazom*), 6 (*ponavljajuće pneumonije*).

#### 4.4.3. ZASTUPLJENOST STANDARDNIH TIPOVA STANICA IZMEĐU ISPITANIKA S KRONIČNIM TVRDOKORNIM RESPIRATORNIM SIMPTOMIMA

Rezultati jednosmjerne analize varijance pokazali su da između grupa ispitanika s kroničnim tvrdokornim respiratornim simptomima ne postoji statistički značajna razlika prema zastupljenosti standardnih tipova stanica - *Neu*, *Lym*, *Am* i *Eos*. Ističemo jedino rezultat naknadnog testiranja značajnosti razlika između pojedinih parova grupa SNK testom prema kojem postoji statistički značajnije veća zastupljenost *Eos* u ispitanika s tvrdokornim ponavljajućim bronhoopstrukcijama i normalnim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 5b*) u odnosu na ispitanike negativne kontrolne grupe (*Grupa 1*).



%       $F = 0,57$        $F = 0,94$        $F = 0,34$        $F = 1,18$   
           $p > 0,05$        $p > 0,05$        $p > 0,05$        $p > 0,05$



**Slika 17.** Aritmetičke sredine i standardne devijacije zastupljenosti neutrofilnih granulocita (*Neu*), limfocita (*Lym*), alveolarnih makrofaga (*Am*) i eozinofila (*Eos*) prema ispitivanim grupama ispitanika s kroničnim tvrdokornim respiratornim simptomima, te usporedba razlika srednjih vrijednosti zastupljenosti navedenih tipova stanica između tih Grupa – 1 (*negativna kontrola*), 2 (*GER / TEF - pozitivna kontrola*), 5a (*tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstrukcije s patološkim traheo-bronhoskopskim nalazom*), 5b (*tvrdokorne ponavljajuće bronhoopstrukcije s normalnim traheobronhoskopskim nalazom*), 6 (*ponavljajuće pneumonije*).

#### 4.5. DIJAGNOSTIČKA UPOTREBLJIVOST METODE KVANTIFIKACIJE LLAM

Na temelju svih prethodno prikazanih rezultata i izračunavanja LLMI – aritmetičkih sredina, standardnih devijacija, mediana, minimalnih i maksimalnih vrijednosti - dijagnostičko značenje vrijednosti LLMI po pojedinim aspiracijskim sindromima odredili smo u obliku Tablice 13.

**Tablica 13.** Pregled dijagnostičkog značenja vrijednosti indeksa lipidnog opterećenja makrofaga (LLMI) prema pojedinim aspiracijskim sindromima. Vjerojatnost da se radi o svakom pojedinom aspiracijskom sindromu izražena je znakovima: (-) negativna, ( $\pm$ ) dvojbena, (+) izgledna, (++) vrlo izgledna.

Tip aspiracije	LLMI					
	< 50	50-85	85-120	120-160	160-200	> 200
<b>Stanje očigledne kronične aspiracije</b>	-	-	-	$\pm$	+	++
<b>Akutna aspiracija hrane meke konzistencije</b>	-	-	$\pm$	+	++	
<b>Stanje tihe kronične mikroaspiracije</b>	-	$\pm$	+	++		
<b>Akutna aspiracija hrane tvrde konzistencije</b>	$\pm$	+	++			



## 5. RASPRAVA

U sklopu traheobronhoskopskog pregleda pedijatrijskih bolesnika danas se širom svijeta sve češće koriste metode bronhalne aspiracije i BAL (1,30). Posljedica je to ne samo napretka u tehničkim aspektima i konstrukciji sve boljih dječjih bronhoskopa, nego i napora u izradi jedinstvenih preporuka i standardizacije postupka BAL u djece (39). U narednih nekoliko godina očekuje se da BAL postane glavna dijagnostička metoda u sklopu obrade niza plućnih bolesti djece (7). Nedostatak kontrolnih ispitanika, odnosno referentnih vrijednosti u zdrave djece bit će i dalje glavni ograničavajući faktor u interpretaciji nalaza BAL (39).

U ovo istraživanje u kojem smo pokušali odrediti dijagnostičku vrijednost stanične analize bronhalnih aspirata naših bolesnika, uključeni su ispitanici koji su na našoj klinici u navedenom trogodišnjem razdoblju redom bili podvrgnuti traheobronhoskopskom pregledu iz opće poznatih indikacija (21,23,28,29,32). Ukoliko usporedimo zastupljenost pojedinih indikacija između naših ispitanika i prosječnu zastupljenost indikacija za traheobronhoskopski pregled djece postavljenih u 51 europskom centru, tada vidimo da se podaci vrlo dobro poklapaju (Slika 4 i Tablica 1). Aspiracija ili sumnja na aspiraciju stranog tijela bila je indikacija u nešto više od trećine naših ispitanika što u potpunosti svojom zastupljenošću odgovara europskim centrima u kojima se vrši isključivo rigidna traheobronhoskopija. Naime, aspiracija stranog tijela apsolutna je indikacija za korištenje rigidnog, a nikako fleksibilnog bronhoskopa (26,136). Četvrtina naših ispitanika traheobronhoskopirana je zbog tvrdokornog kašlja i hripanja koji nisu reagirali na standardno provedeno liječenje bez obzira na dijagnozu pod kojom su se ta djeca vodila prije izvršenog traheobronhoskopskog pregleda. Usprkos činjenici što smo se služili rigidnim bronhoskopom, u usporedbi s europskim centrima uočava se da smo u ovoj indikaciji čak ispred centara koji

vrše isključivo fleksibilnu traheobronhoskopiju. Time smo potvrdili istinu prema kojoj se rigidnim bronhoskopom može učiniti gotovo sve što i s fleksibilnim, i obratno (24,25,30). Bitan izuzetak od ovog pravila su već spomenuta strana tijela u dišnim putevima.

U usporedbi s europskim centrima imamo manju zastupljenost stridora i tvrdokornih atelektaza kao bronhoskopskih indikacija. S obzirom da stridor uglavnom obilježava novorođenačku i dojenačku dob, i da u većini slučajeva s vremenom spontano prolazi, moglo bi se zaključiti da smo restriktivni kod postavljanja indikacije za traheobronhoskopski pregled u najmlađim dobnim skupinama djece. Slično je i s atelektazama na koje velik dio otpadaju one u vitalno ugrožene strojno ventilirane novorođenčadi uzrokovane impakcijom mukoznog čepa u neki veći ili manji bronh (13-15). Zanimljivo je da TBC pluća kao indikacija nije bila značajnije češće zastupljena u usporedbi s europskim centrima. To tumačimo činjenicom da se većina naših bolesnika regrutira iz krajeva s najnižom stopom morbiditeta tuberkuloze u Hrvatskoj (139). U indikacijama kao što su hemoptiza ili kongenitalne malformacije pluća potpuno smo izjednačeni s europskim centrima.

Ukupan broj ispitanika obuhvaćen ovim istraživanjem može izgledati relativno malen, poglavito kada se pogleda broj ispitanika po pojedinim ispitivanim grupama. Međutim, ukoliko se učini analiza ono malo publiciranih radova koji se bave problemom citološke analize BAL u djece u zadnjih 15 godina, uočava se da ispitivane grupe sadrže otprilike jednako malen broj ispitanika kao i ovo istraživanje. Radovi na području određivanja dijagnostičke vrijednosti LLAM izvještavaju o rezultatima koji su dobiveni na grupama 9-32 ispitanika (49,82,96-98), osim kod dva publicirana rada koji su po pojedinim grupama imali više od 50 ispitanika (91,93). Razlog tome vjerojatno je taj što je bronhološka obrada kao takva ipak indicirana u relativno malog broja djece u usporedbi s ukupnim brojem plućnih pedijatrijskih bolesnika koji prođu kroz neki pulmološki odjel. Povrh toga, kada se bronhološki obrađeni bolesnici prema svojim kliničkim karakteristikama, u skladu s istraživačkim ciljem, podijele na manje grupe, tada je jasno zašto se javlja problem malih uzoraka.



Problem malog broja ispitanika naročito je izražen u publiciranim radovima koji su pokušali odrediti referentne vrijednosti stanične analize BAL u djece. Takvih je radova također vrlo mali broj, svega 5 (42-46). Razlog tome su etički aspekti, odnosno neopravdanost vršenja bronhološke obrade na zdravom djetetu. Kada se analiziraju karakteristike tih ispitanika vidi se da su ta djeca podvrgnuta traheobronhoskopiji zbog stridora, zbog sumnje na aspiraciju stranog tijela, ili zbog sumnje na sarkoidozu s obzirom na dijagnosticirani uveitis (43-46). Prema tome, to ipak nisu bila zdrava djeca. Njihov broj po pojedinom ispitivanju kretao se 11-18, tako da su i sami autori priznali kako dobivene vrijednosti stanične analize BAL nisu pratile normalnu distribuciju. Za razliku od prethodno citiranih autora, Ratjen i suradnici objavili su referentne vrijednosti staničnih komponenti BAL dobivenih na 48 ispitanika u dobi od 3-5 godina koji su bili traheobronhoskopirani u općoj anesteziji tijekom elektivnog kirurškog zahvata koji nije imao veze sa bolestima dišnog sustava, niti su ispitanici imali bilo kakve respiratorne tegobe kronične prirode (42). Etička opravdanost ovakvog postupka očito je upitna.

Podjela svih ispitanika obuhvaćenih ovim istraživanjem na ispitivane grupe jedan je od ključnih elemenata metodologije samog istraživanja. S obzirom da cilj i glavni rezultati istraživanja imaju težište u vrednovanju metode kojom se dokazuje fenomen kronične mikroaspiracije, podjela je učinjena tako da se dobiveni rezultati pokušaju usporediti između ispitanika koji pripadaju ili različitim dobro definiranim aspiracijskim sindromima ili pripadaju različitim grupama bolesnika diferenciranih prema tipu respiratorne simptomatologije. Ovakav pristup istraživanju uočava se u većini radova u kojima se pokušavao procijeniti značaj detekcije LLAM (49,82,83,91-94,96-98). Naime, metoda koja bi predstavljala "zlatni standard" u dokazivanju kronične mikroaspiracije želučanog sadržaja ne postoji (89) što otežava podjelu i usporedbu ispitivanih grupa. Međutim, upravo činjenica da dijagnostičkog "zlatnog standarda" nema, razlog je provođenja ovakvih ispitivanja dijagnostičke upotrebljivosti detekcije LLAM.

Gledano upravo s aspekta aspiracije želučanog sadržaja, *Grupu 1*, kao svojevrсну "negativnu kontrolnu grupu", formirali smo od ispitanika za koje smo smatrali da njihova



osnovna bolest, zbog koje su uostalom traheobronhoskopirani, nema nikakve veze s mogućom aspiracijom. Od 8 ispitanika s indikacijom TBC pluća, njih 6 su zapravo djeca kod koje nije dokazana bolest, nego su bili u primarnom kontaktu s TBC bolesnikom. U ovu grupu uključili smo i dvije veće djevojčice s asimptomatskim, slučajno otkrivenim dijafragmalnim hernijama. S obzirom da se smatra kako promjene u abdominalno-pleuralnom pritisku mogu provocirati nastup GER-a (68), moglo bi se prigovoriti njihovom uvrštavanju u negativnu kontrolnu grupu. Uzimajući u obzir činjenicu da djevojčice nisu pokazivale nikakvu akutnu, niti su ikada imale kroničnu respiratornu simptomatologiju, a u "kroničnom" nedostatku "zdravih" ispitanika, ipak smo ih obuhvatili ispitivanjem.

U *Grupi 2*, kao pozitivnu kontrolnu grupu, uvrstili smo djecu sa radiološki dokazanim GER-om ili TEF-om kako bismo bili sigurni da u njih dolazi do aspiracije hrane ili želučanog sadržaja u traheobronhalno stablo. Jedan ispitanik imao je potvrđenu dijagnozu GER-a metodom EpHM koja zasigurno otkriva GER, ali ne i aspiraciju (125-127). Ovu činjenicu potvrđuju rezultati ispitivanja Ahrensa i suradnika u kojem su srednje vrijednosti LLMI u grupi ispitanika s dokazanim GER-om (na temelju nalaza EpHM) značajno veće od ispitanika u grupi bez dokazanog GER-a. Međutim, široko je područje preklapanja pojedinačnih vrijednosti LLMI između ispitanika obih grupa. Štoviše, nekoliko ispitanika iz grupe s dokazanim GER-om ima gotovo negativan nalaz LLAM (96).

Analizom rezultata diferencijalne zastupljenosti staničnih komponenti bronhalnih aspirata naših ispitanika u usporedbi s referentnim vrijednostima zdrave djece (42-46) odmah se uočava izražena dominacija Neu sa smanjenim udjelom Am u svim grupama ispitanika osim u grupi ispitanika sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela i negativnim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 4*) (Slika 5). Kod navedenih ispitivanih grupa značajno je viši i udio Lym, no sve te promjene očito su vrlo nespecifične prirode s obzirom na rezultate usporedbe između pojedinih grupa ispitanika. Dobiveni rezultat ne iznenađuje, jer ispitanici nisu zdrava djeca, a poznato je da diferencijalni nalaz staničnih komponenti BAL karakteriziraju povišene vrijednosti Neu i Lym kod niza patoloških stanja – bakterijske ili

virusne infekcije gornjih i donjih dišnih puteva, rekurentne infekcije, ali i neinfektivne bolesti dišnih puteva i pluća (7,47-50). Dominantnom zastupljenošću Am najmanje odstupanja od referentnih vrijednosti pokazuju ispitanici *Grupe 4*. Zapravo to su potpuno zdrava djeca kod kojih postoji samo sumnja, najčešće kao heteroanamnestički podatak, na aspiraciju stranog tijela do koje zapravo nije niti došlo. Stoga je jasno zašto ispitanici *Grupe 4* imaju takvu zastupljenost stanica koja je najbliža literaturnim referentnim vrijednostima. Međutim, i kod ispitanika *Grupe 4* nešto je viši udio Neu. Povišene vrijednosti Neu opažene su u male "zdrave" djece, a tumače se aktivnijim procesima alveolarnog i bronhijalnog rasta, kao i tehničkom nemogućnošću da se uzorak uzme dovoljno distalno kao što je to moguće u veće djece. Naime, uzorci aspirata ili BAL uzeti u proksimalnijim dijelovima traheobronhalnog stabla imaju povišene vrijednosti Neu (45).

Statistički značajna pozitivna korelacija između vrijednosti LLMI (prema Corwinu i Irwinu) i opisne kvantifikacije nalaza LLAM (prema Langstonu i Pappinu) ukazuje na pouzdanost tehnike očitavanja nalaza LLAM u ovom istraživanju (Slika 6). Rezultati većine dosadašnjih radova na tom području općenito izvještavaju da su prisutnost i kvantifikacija LLAM senzitivni, ali nedovoljno specifični test aspiracije želučanog sadržaja (68). Zato Langston i Pappin navode da je nepotrebno uvoditi komplicirane sisteme stupnjevanja i izračunavanja indeksa za test koji pokazuje slabu specifičnost. Smatraju da sama činjenica što neki autori pri kvantifikaciji LLAM pokušavaju iznaći manje ili više složene kalkulacije za dobivanje brojčanih vrijednosti, govori da brojevi sami po sebi stvaraju lažni osjećaj sigurnosti u postavljanju dijagnoze tako složenog kliničkog problema kao što je kronična mikroaspiracija za koju inače ne postoji niti jedna pouzdana dijagnostička metoda koja bi tu dijagnozu nedvosmisleno potvrdila (94). Metoda kvantifikacije LLAM po Langstonu i Pappinu temelji se na vrlo gruboj – *nijedan, rijetki, brojni, vrlo brojni* - vizualnoj procjeni prisutnosti LLAM u preparatu. Ovakva procjena preparata mogla bi u slučajevima upalnih promjena u dišnim putevima davati pogrešne rezultate. Kao što smo vidjeli iz rezultata analize diferencijalne zastupljenosti stanica u aspiratima ispitivanih grupa, osim *Grupe 4* ("negativna



aspiracija”), prevladavaju Neu i na taj način indirektno izazivaju smanjenu zastupljenost Am, a to bi moglo davati lažno negativne rezultate, odnosno pojedini slučajevi aspiracije metodom Langstona i Pappina mogli bi biti propušteni. To je glavni razlog zbog čega smo kvantitativnu analizu LLAM u ovom istraživanju isključivo vršili metodom izračunavanja LLMI prema Corwinu i Irwinu. Osim toga, ova metoda dajući raspon nalaza 0-400, u usporedbi s metodom Langstona i Pappina s rasponom nalaza 0-3, zasigurno može finije diferencirati pojedine ispitanike i na taj način pružiti bolji uvid u dijagnostičku vrijednost metode kao takve.

Neki autori u svojim radovima izvijestili su da nema korelacije između vrijednosti LLMI u odnosu na dob ili spol ispitanika (49,83,98). U ovom istraživanju dobili smo laku negativnu povezanost između vrijednosti LLMI i dobi ispitanika. Dakle, što su ispitanici mlađi vrijednosti LLMI su više. Kada se pogleda grafički prikaz korelacije s pojedinačnim vrijednostima (Slika 7) jasno je da se radi o gotovo neznačajnoj povezanosti dviju varijabli, međutim, statistički ipak značajnom ( $p < 0,05$ ). Navedeni rezultat može se tumačiti činjenicom da je GER češći i izraženiji u djece mlađe od 12 mjeseci zbog dobro poznatih anatomskih i funkcionalnih osobitosti odnosa jednjaka i želuca u dojenčeta (109). Usporedbom dobi po pojedinim grupama vidi se da su upravo ispitanici sa dokazanim GER ili TEF (*Grupa 2*), čija je srednja dob samo 11 mjeseci, značajno mlađi od ostalih ispitivanih grupa. Smatramo da je upravo to razlog lagane povezanosti vrijednosti LLMI i dobi u naših ispitanika.

Skupno sagledavajući rezultate ovog istraživanja, kvantitativna analiza LLAM dala je vrlo zanimljive rezultate koji upućuju na solidnu dijagnostičku vrijednost ove metode u dokazivanju makro i mikroaspiracije hrane ili želučanog sadržaja kao podloge niza plućnih bolesti djece.

Ispitanici sa dokazanim GER-om ili TEF-om (*Grupa 2*) visokim vrijednostima LLMI (aritm.sred.  $204,6 \pm 46,7$  ; median 211 ; raspon 118-255) pokazali su se kao vrlo dobra pozitivna kontrolna grupa aspiracije. Kada njihove rezultate kvantifikacije LLAM usporedimo s publiciranim rezultatima drugih autora uočavamo da su srednje vrijednosti LLMI u naših

ispitanika među najvišima. Corwin i Irwin u svom ispitivanju na odraslim bolesnicima u grupi "sigurnih aspiratora" dobili su sličnu srednju vrijednost LLMI (aritm. sred.  $207 \pm 80$ ) (82). U ispitivanju evaluacije LLMI koje su proveli Bauer i Lyrene srednja vrijednost LLMI (aritm. sred.  $104 \pm 62$ ; raspon 20-233) u grupi djece "kronične plućne aspiracije" bila je nešto nižih vrijednosti (97). Nižu srednju vrijednost LLMI (aritm. sred.  $139 \pm 46$ ; raspon 86-241) dobili su također Colombo i Hallberg u grupi djece "aspiratora" (83). Iznenađujuće niske vrijednosti kvantitativne analize LLAM dobili su Ahrens i suradnici. Izračunavanje njihovog "LLAM skora" temeljilo se na brojenju i ocjenjivanju 900 Am. Način stupnjevanja identičan je onome prema Corwinu i Irwinu, stoga je bilo dovoljno njihove vrijednosti podijeliti s 9 kako bi se dobio LLMI. Kada na taj način pretvorimo njihov "LLAM skor" u LLMI, zamjećuje se da je u grupi djece s dokazanim GER-om LLMI imao vrlo niske vrijednosti (aritm. sred. 24,3; median 13; raspon 1-106). Međutim, te vrijednosti LLMI bile su još uvijek značajno više ( $p < 0,01$ ) od vrijednosti LLMI u grupi s ponavljajućim pneumonijama bez dokazanog GER-a (96). Dakle, usporedni rezultati različitih ispitivanja pokazuju dosta velika odstupanja u srednjim vrijednostima LLMI koja se javljaju u nekih autora u grupama "pozitivne aspiracije". Smatramo da je uzrok tome prije svega u postavljanju kriterija za formiranje grupa djece "aspiratora". Naime, studije koje su, između ostalih kliničkih kriterija, uključivale i nalaz EpHM (96,97) imale su niže srednje vrijednosti LLMI uz velik raspon pojedinačnih vrijednosti tako da im maksimalne vrijednosti LLMI ipak nisu bitno odstupale od naših ispitanika *Grupe 2*, ili od vrijednosti LLMI ispitanika obuhvaćenih kronološki starijim ispitivanjima kada EpHM još nije bio u kliničkoj primjeni (82,83). Navedena zapažanja samo potvrđuju već znanu činjenicu da pozitivan nalaz EpHM ne znači nužno da je došlo do aspiracije želučanog sadržaja (125-127). Prema tome, u ispitanika s nižim vrijednostima LLMI očito ne dolazi do mikroaspiracija usprkos prisutnosti GER-a. Među ispitanicima *Grupe 2* samo je jedan uvršten u tu grupu na temelju pozitivnog nalaza EpHM. Svi ostali uvršteni su u grupu pozitivne kontrole na temelju kliničke slike i uz radiološke pokazatelje sigurne aspiracije u slučaju bolesnika s TEF, odnosno uvršteni su na temelju potvrde GER-a radiološkim studijama koje tada daju snažne indicije da zaista dolazi i do aspiracije želučanog sadržaja.



Kada se raspravlja o rezultatima srednjih vrijednosti LLMI (aritm.sred.  $43,2 \pm 46,7$  ; median 25,5 ; raspon 0-170) ispitanika čija indikacija za traheobronhoskopiju nije uzrok niti posljedica aspiracije (*Grupa 1*), isti su "opravdali" svoju ulogu negativne kontrole. Ukoliko se usporede rasponi vrijednosti LLMI, odnosno minimalne i maksimalne vrijednosti, tada se zapaža (Slika 9) da ispitanici *Grupe 4* (sumnja na aspiraciju stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom) također imaju niske vrijednosti LLMI (aritm.sred.  $57,6 \pm 28,6$  ; median 63,5 ; raspon 0-99) i da čak uopće nemaju preklapanja pojedinačnih vrijednosti LLMI s ispitanicima *Grupe 2*! Dakle, i oni mogu predstavljati negativnu kontrolnu grupu. U *Grupi 1* zapravo odskače vrijednostima LLMI samo jedan ispitanik koji je traheobronhoskopiran zbog sumnje na hemoptizu. Njegova vrijednost LLMI iznosila je 170, svi ostali ispitanici *Grupe 1* imali su LLMI  $< 93$ . Zbog toga je vrijednost standardne devijacije prilično velika, a niska vrijednost mediana samo potvrđuje ispravnost kriterija za uvrštavanje ispitanika u *Grupu 1*. Na temelju tih rezultata dalo bi se zaključiti da vrijednosti LLMI  $< 90$  zapravo isključuju mogućnost da se radi o kroničnoj aspiraciji hrane ili želučanog sadržaja.

Ukoliko usporedimo srednje vrijednosti LLMI naših "negativnih ispitanika" (*Grupe 1 i 4*) s kontrolnim grupama "neaspiratora" drugih autora vidimo da se vrijednosti uglavnom slažu. Corwin i Irwin u svojoj studiji na odraslima kao kontrolnu grupu imaju čak zdrave dobrovoljce s daleko najnižim vrijednostima LLMI (aritm.sred.  $0,6 \pm 1,7$ ) (82). Kontrolna grupa u studiji Colomba i Hallberga bila su djeca kod kojih se "apsolutno smatralo da ne aspiriraju hranu", a traheobronhoskopirani su zbog uobičajenih indikacija. Njihove vrijednosti LLMI (aritm.sred.  $21 \pm 20$ ; raspon 0-72) prilično dobro odgovaraju našim kontrolama (83), kao i vrijednosti LLMI (aritm.sred.  $44 \pm 39$ ; raspon 0-170) kontrolne grupe u studiji Bauera i Lyrena sastavljene od djece s reaktivnim dišnim putevima kod kojih nema indicija da se radi o "kroničnim aspiratorima" (97). Studija Ahrensa i suradnika imala je vrlo niske vrijednosti LLMI (aritm.sred. 6,8 ; median 4 ; raspon 0-21) (96) u grupi kirurških kontrola.

Problem kontrolnih grupa i preklapanje pojedinačnih vrijednosti LLMI između "aspiratora" i "neaspiratora" zapravo otvara raspravu o specifičnosti detekcije LLAM za koju se, za razliku od senzitivnosti, većinom tvrdi da nije dovoljno visoka (77,98,140). Dakle, na temelju kvantifikacije nalaza LLAM obično se ispitanici mogu sa sigurnošću isključiti iz grupe "aspiratora", odnosno mogućeg "aspiratora" ne možemo sa sigurnošću potvrditi. Nažalost, ne raspolažemo testom koji bi predstavljao dijagnostički "zlatni standard" aspiracije u djece. Usprkos tome, neki autori (91-93,97) u svojim ispitivanjima navode podatke o senzitivnosti i specifičnosti metode detekcije LLAM koristeći se kombinacijama kliničkih kriterija, ili rezultata EpHM, ili radioloških studija. Na temelju njih kategoriziraju bolesnike u ispitivane grupe. To je svakako jedini način da se pokuša metoda kao takva vrednovati, što smo pokušali učiniti i mi ovim istraživanjem. Međutim, određivanje točne senzitivnosti i specifičnosti metode zapravo je nemoguće učiniti, jer kada bi navedeni kriteriji bili potpuno prediktivni postavlja se pitanje zašto autori uopće vrše detekciju LLAM (94). Odgovor koji slijedi je – zato jer ne postoji dijagnostički "zlatni standard" kronične mikroaspiracije (89). Time je zapravo zatvoren "začarani krug" u kojem se nalaze istraživači na području ove problematike.

Od studija koje su pokušale vrednovati detekciju LLAM kao pokazatelja plućne aspiracije, studija Knauera-Fischera i Ratjena izdvaja se od ostalih studija po tome što zaključuje da su povišene vrijednosti LLMI u tom smislu potpuno nespecifične. Oni su usporedili srednje vrijednosti LLMI između grupe "zdrave" djece (aritm.sred.  $60,2 \pm 23,6$ ) koja su traheobronhoskopirana tijekom kirurškog zahvata nevezanog uz bolesti pluća, i grupe djece s različitim plućnim bolestima bez kliničkih elemenata GER-a (aritm.sred.  $119,6 \pm 28,8$ ). Srednja vrijednost LLMI bila je statistički značajno viša ( $p < 0,001$ ) u ovoj potonjoj grupi. Na temelju toga autori su zaključili da povišene vrijednosti LLMI mogu biti prisutne u raznim plućnim bolestima nevezano uz prisutnost GER-a, te da kao takve nisu specifičan parametar plućne aspiracije (98). Ovako postavljena, ova studija ima nedostatak u tome što nema grupu djece suspektnih "aspiratora" kako bi rezultati bili komparabilni s drugim studijama koje uglavnom imaju takvu grupu. Analizirajući dijagram na kojem su grafički



prikazali rezultate zamjećuju se neuobičajeno visoke vrijednosti LLMI (oko 100) u nekih ispitanika iz grupe "zdravih" kirurških kontrola (n=18). U tu grupu uvršteno je 7 ispitanika kojima je učinjen BAL tijekom operativnog ukljanjanja tonzila ili adenoida !? U grupi plućnih bolesnika (n=18) mogućnost postojanja GER-a isključena je na temelju anamnestičkih podataka koji su potpuno nepouzdana kriterij za isključivanje GER-a ili "tihe" aspiracije (141). Nadalje, analizirajući sastav te grupe vidi se da 2/3 njih čine djeca s antileukemičnom terapijom (indikacija za traheobronhoskopiju bila je pneumonija), troje sa cističnom fibrozom, te po jedno dijete s obliterirajućim bronhiolitisom, s idiopatskom plućnom hemosiderozom, i s egzogenim alergijskim alveolitisom. Dakle, to su djeca s rijetkim i teškim plućnim bolestima kod kojih je u većini slučajeva izraženo propadanje plućnog parenhima. Colombo i suradnici, grupa autora s najviše iskustva u detekciji LLAM, navode kako su upravo najviše vrijednosti LLMI nalazili u bolesnika pod kemoterapijom ili s razvijenom "graft vs. host" reakcijom (89). Slične vrijednosti LLMI (aritm.sred.  $121 \pm 97$ ) nalazimo u studiji Corwina i Irwina u grupi odraslih plućnih bolesnika "neaspiratora". Ova grupa bolesnika (n=40) u trećini slučajeva imala je karcinom pluća, intersticijsku fibrozu imalo je 18% bolesnika, a po 15% bolesnika imalo je bronhiektazije, odnosno sarkoidozu (82). Vrijednosti LLMI naših ispitanika s ponavljajućim pneumonijama (aritm. sred.  $68,4 \pm 57,9$  ; median 77 ; raspon 0-175) (Grupa 6) mogle bi se grubo usporediti s ovim skupinama bolesnika.

Poznato je da se endogeni lipidi kao što su fosfolipidi iz staničnih membrana, surfaktant, holesterol, slobodne masne kiseline i trigliceridi oslobađaju tijekom propadanja plućnog tkiva iz bilo kojeg razloga (69). Time se mogu tumačiti povišene vrijednosti LLMI u grupi djece s plućnim bolestima u prethodno opisanom ispitivanju Knaur-Fischera i Ratjena (98). Upravo nemogućnost diferenciranja intracelularnih lipida s obzirom na endogeno ili egzogeno porijeklo vjerojatno je glavni uzrok preklapanja vrijednosti LLMI između ispitanika "aspiratora" i "neaspiratora", odnosno "pozitivnih" i "negativnih" kontrolnih grupa (89). Svojevremeno su neki autori izvještavali o krupnozrnatim LLAM koji ukazuju na egzogeno porijeklo intracelularnog lipida, odnosno o LLAM s finim, sitnim, točkastim zrcima koji govore u prilog endogenog porijekla lipida (81). Kasnije su to u svojim radovima Corwin i

Irwin, te Nussbaum i suradnici opovrgnuli navodeći da se citološkim pregledom porijeklo intracelularnih lipida ne može odrediti. Oni su na temelju svojih istraživanja zaključili da veća količina LLAM u sekretu dišnih puteva nije nužan pokazatelj egzogene LP, te da su u bolesnika s različitim plućnim bolestima detektirani LLAM znali biti zastupljeni u varirajućim količinama (82,83). Nadalje, već je ranije utvrđeno da se endogena LP može razviti kao posljedica bronhalne opstrukcije (142). Drugi poremećaji koji su povezani s nastupom endogene LP su maligne bolesti (82, 143), inhalacija organske prašine (144), masna embolija pluća (86), plućna alveolarna proteinoza i obliterirajući bronhiolitis (89). Poznato je da i upotreba intravenskih lipida u novorođenčadi i u veće djece uzrokuje pojavu LLAM koji se mogu detektirati i nakon 19 dana od prekida primjene tih preparata (84,85,89).

Upravo s ciljem da utvrdimo hipotetično postojanje određenih obrazaca ili razlika u izgledu i prezentaciji fagocitiranih lipidnih zrnaca između definiranih grupa ispitanika, što bi eventualno upućivalo na endogeno ili egzogeno porijeklo intracelularnih lipida, određivali smo razlike prosječne zastupljenosti 4 tipa LLAM za svaku ispitanu grupu (Slika 10). S obzirom da nije bilo uočljivih razlika po grupama ispitanika u distribuciji, odnosno zastupljenosti pojedinih tipova LLAM očito je da se citološkim pregledom morfologije LLAM ne može diferencirati porijeklo intracelularnih lipida. Ahrens i suradnici (96) učinili su sličnu analizu i došli su do istog zaključka - zastupljenost pojedinog tipa LLAM to je manja čim je viši njegov stupanj sadržavanja lipidnih zrnaca bez obzira na ispitanu grupu. Ipak, ističemo naše ispitanike s dokazanim GER-om ili TEF (*Grupa 2*) koji su imali veću zastupljenost LLAM-2 od LLAM-1 (Slika 10). Ovaj podatak očito ukazuje da kod značajnije (i/ili dugotrajnije?) aspiracije hrane i želučanog sadržaja, LLAM viših stupnjeva sadržavanja lipida imaju tendenciju "istisnuti" LLAM nižih stupnjeva u diferencijalnom brojenju na 100 stanica.

Zanimljivi su i rezultati detekcije LLAM u djece s akcidentalnom aspiracijom stranog tijela. Iz Tablice 5 vidljivo je da sva strana tijela, osim u jednom slučaju kojeg statistički možemo i zanemariti, zapravo predstavljaju hranu vegetabilnog ili animalnog porijekla. Općenito, kod aspiriranih stranih tijela u djece dominiraju tijela organskog porijekla, najčešće



kao sastavni dio hrane, i to gotovo u 90% slučajeva (26,136,145-147). Iako je srednja vrijednost LLMI ispitanika sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela i pozitivnim traheobronhoskopskim nalazom (aritm.sred.  $89,0 \pm 66,9$  ; median 67 ; raspon 27-285) (*Grupa 3*) bila nešto veća u usporedbi s ispitanicima sa sumnjom na aspiraciju stranog tijela i negativnim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 4*) (aritm.sred.  $57,6 \pm 28,6$  ; median 63,5 ; raspon 0-99) iznenadilo nas je što ta razlika nije bila statistički značajna. Ipak, vrlo veliki raspon vrijednosti LLMI i najveća pojedinačna vrijednost LLMI od svih ispitanika uopće ukazivali su da unutar *Grupe 3* vjerojatno postoji neka varijabla zbog koje se ti ispitanici međusobno razlikuju. S obzirom da je jedina takva varijabla bila vrsta aspiriranog stranog tijela, odnosno hrane, podjelu ispitanika izvršili smo na temelju njene konzistencije. Takva podjela odmah je izazvala promjenu i pojavu statistički značajno veće srednje vrijednosti LLMI podgrupe ispitanika koji su aspirirali hranu mekane konzistencije (kaša, juha, riba) (*Grupa 3a*) u usporedbi s podgrupom koja je aspirirala tvrdu hranu (*Grupa 3b*) (Tablica 9). Štoviše, između srednjih vrijednosti LLMI *Grupe 3a* i ispitanika s dokazanim GER-om ili TEF-om kao pozitivnim kontrolama (*Grupa 2*) sada više nije bilo statistički značajne razlike (Tablica 10) ! Ovo "približavanje" vrijednosti LLMI *Grupe 3a* prema vrijednostima *Grupe 2* najbolje se zapaža vizualno na Slici 11. Osim toga, analiza zastupljenosti tipova LLAM po pojedinim grupama pokazala je da *Grupa 3a*, za razliku od svih ostalih grupa, ima jednak obrazac *Grupi 2*, a taj je da LLAM viših stupnjeva (LLAM-2) sadržavanja lipida imaju tendenciju "istisnuti" LLAM nižih stupnjeva (LLAM-1) (Slika 12).

Navedeni rezultati mogli su se i očekivati s obzirom da hrana koju su jednokratno aspirirali ispitanici *Grupe 3a* svojom konzistencijom, pa prema tome i "dostupnošću" fagocitnim mogućnostima Am, sada puno više nalikuje hrani ili želučanom sadržaju ispitanika *Grupe 2* koji su zapravo "prototip" klinički očigledne kronične aspiracije. Iako nema statistički značajne razlike, vrijednosti LLMI ispitanika *Grupe 3a* niže su od onih *Grupe 2*, iz čega bi se dalo zaključiti da značajna kronična aspiracija hrane ili želučanog sadržaja ipak nešto više podiže vrijednosti LLMI u usporedbi s jednokratnom aspiracijom istog sadržaja. Ovakva pretpostavka vrlo je gruba, jer zasigurno vrijednosti LLMI ovise i o vremenskom periodu

proteklom od zadnje aspiracije do trenutka uzimanja uzorka bronhalnog aspirata. Ovaj podatak praktički je nemoguće sa sigurnošću odrediti u ispitanika *Grupe 2*.

To je bio razlog zašto smo izdvojili podgrupu ispitanika (*Grupa 3b*) koji su aspirirali vrlo srodna organska strana tijela (kikiriki, badem, orah, lješnjak) s relativno jednakim sadržajem lipida. Osim toga, vrlo niske vrijednosti LLMI u ispitanika ove podgrupe su nas iznenadile s obzirom da su navedeni plodovi zapravo vrlo bogati lipidima. Rezultati su pokazali da je potreban vrlo dug period boravka ovako tvrdih vegetabilnih stranih tijela u traheobronhalnom stablu da bi došlo do značajnijeg porasta vrijednosti LLMI u usporedbi s aspiracijom mekane hrane ili želučanog sadržaja. Oslobođanje značajnije otopljene količine lipida koje bi bile "dostupne" fagocitozi od strane Am u slučaju navedenih plodova prema našim rezultatima zahtjeva i do mjesec dana. Stoga nam ovaj rezultat ne pomaže mnogo u tumačenju eventualnih razlika vrijednosti LLMI između jednokratne i kronične aspiracije hrane i želučanog sadržaja.

Zanimljivo je dosad navedene rezultate usporediti s rezultatima dobivenim na eksperimentalnom modelu akutne i kronične aspiracije mlijeka u zečeva (131). Ovaj eksperimentalni model razvili su Colombo i suradnici s ciljem otkrivanja razlika u vrijednostima LLMI izazvanih jednokratnom i višekratnom (kroničnom) aspiracijom mlijeka, kao i razjašnjenja dinamike kretanja LLMI u ovisnosti o vremenu koje protekne od aspiracije do pojave LLAM, i vremena potrebnog da LLAM nestanu iz dišnih puteva. Rezultati su pokazali da od jednokratne instilacije mlijeka u donje dišne puteve zečeva treba proći najmanje 6 sati do značajnog porasta LLMI. Nakon toga vrijednosti LLMI progresivno padaju. Nakon 4 dana od instilacije LLMI je pao na bazične vrijednosti u 50% zečeva, a nakon 12 dana i u preostalih životinja. U grupi zečeva koji su bili izloženi višekratnim instilacijama mlijeka (1x tjedno tijekom 5 tjedana) nakon zadnje instilacije vrijednosti LLMI nisu bile tako visoke kao kod grupe s jednokratnom instilacijom. Međutim, statistički značajno više vrijednosti LLMI bile su prisutne gotovo 3 tjedna nakon zadnje instilacije. Ukoliko si dozvolimo tumačenje ovih rezultata s aspekta pedijatrijskih bolesnika tada se može zaključiti da kod aspiracije mlijeka, pa vjerojatno i želučanog sadržaja, odnosno hrane tekuće ili



kašaste konzistencije, plućni Am vrlo brzo fagocitiraju egzogene lipide dajući dijagnostički nedvojbeno visoke vrijednosti LLMI nakon klinički jasne i opažene epizode aspiracije. U slučaju djeteta s kroničnom aspiracijom metodu detekcije LLAM također ćemo moći iskoristiti u dijagnostičke svrhe ukoliko ne protekne predugi period od zadnje aspiracije do trenutka traheobronhoskopskog pregleda. Problem predstavljaju djeca s kroničnom aspiracijom hrane ili želučanog sadržaja koja nemaju jasne simptome niti pokazuju znakove aspiracije ("tiha aspiracija"). Kod njih ne možemo sa sigurnošću znati koliko je vremena prošlo od zadnje aspiracije, pa se može desiti da i vrijednosti LLMI budu niže, odnosno da rezultat pretrage bude lažno negativan.

Ističemo i rezultat dobiven na prethodno opisanom eksperimentalnom modelu prema kojem je u grupi zečeva izloženih višekratnim (kroničnim) instilacijama mlijeka u citološkom nalazu BAL bilo značajno više binuklearnih Am u usporedbi sa zečevima izloženim jednokratnom instilacijom (131). Porijeklo i značaj binuklearnih Am nisu sasvim jasni. Oni su očito odraz "aktiviranosti" tih stanica i kao takvi predstavljaju relativno nespecifični nalaz kronične stimulacije sluznice donjih dišnih puteva (148). Da li je pojava binuklearnih makrofaga posljedica nuklearne replikacije ili fuzije stanica - nije jasno. Međutim, njihova prisutnost vjerojatno može poslužiti kao dodatna dijagnostička informacija kliničaru u slučajevima kronične aspiracije (131). Rezultati standardne citološke analize bronhalnih aspirata u naših ispitanika s aspiracijom stranog tijela ukazali su na značajno višu diferencijalnu zastupljenost Neu u ispitanika s pozitivnim traheobronhoskopskim pregledom (*Grupa 3*) u usporedbi s ispitanicima koji su imali negativan (normalan) traheobronhoskopski nalaz (*Grupa 4*). To je vrlo nespecifičan nalaz kojeg nalazimo u nizu akutnih i kroničnih bolesti dišnih puteva i pluća (7,47-50). Iako smo prisutnost binuklearnih makrofaga u bronhalnim aspiratima naših ispitanika uočili, nismo ih kvantitativno analizirali.

Kronični ili ponavljajući respiratorni simptomi i znakovi bilo da su u vidu ponavljajućih tvrdokornih pneumonija ili ponavljajućih "opstruktivnih bronhitisa" koji ne reaguju na standardnu bronhodilatatornu i protu-upalnu terapiju, kao podlogu mogu imati neprepoznati

GER (103,104,149). Smatra se da postoje dva glavna patogenetska mehanizma kojima GER uzrokuje nastup respiratornih simptoma - direktna aspiracija želučanog sadržaja u dišne puteve i vagalni refleks izazvan kiselim sadržajem u jednjaku s posljedičnim bronhospazmom (113-115). I dok se EpHM pokazao kao "zlatni standard" u dijagnostici GER-a, danas još ne raspolažemo dovoljno osjetljivom i specifičnom dijagnostičkom metodom za dokazivanje kronične mikroaspiracije kao podloge respiratornih bolesti (89,125-127).

Rezultati ovog istraživanja na ispitanicima s tvrdokornim i ponavljajućim bronhoopstruktivnim epizodama i stridorom (*Grupa 5*), odnosno na ispitanicima s ponavljajućim pneumonijama (*Grupa 6*) ukazuju da detekcija LLAM u bronhalnim aspiratima ili lavatima može biti upotrebljiva dijagnostička metoda u otkrivanju respiratornih bolesnika s kroničnim mikroaspiracijama želučanog sadržaja. To se posebno odnosi na ispitanike *Grupe 5*, dakle na djecu koja pate od upornog kašlja ili hripanja (*engl. wheezing*), eventualno stridora i čestih bronhoopstruktivnih epizoda koje ne reagiraju na standardnu terapiju. Zanimljivo je da su ta djeca imala statistički značajno veću aritmetičku sredinu LLMI (88,6 vs. 43,2) od negativne kontrolne grupe (*Grupa 1*) (Tablica 8). Median (96,5 vs. 25,5) je ukazao na još veću razliku između tih dviju grupa. Prema tome, bilo je vrlo izgledno da neki od ispitanika *Grupe 5* imaju kroničnu mikroaspiraciju želučanog sadržaja kao osnovu svojih tegoba. Veliki raspon vrijednosti LLMI (0-213) samo je potvrdio našu pretpostavku da se tu radi o vrlo heterogenoj grupi bolesnika koje bi trebalo pokušati na temelju nekog kriterija izdiferencirati da se dobije suženi krug "kandidata" za dijagnozu kronične mikroaspiracije.

Varijabla na temelju koje su ti ispitanici podijeljeni na dvije podgrupe (*Grupa 5a i 5b*) bila je vizualni traheobronhoskopski nalaz. Naime, ukoliko kod tih ispitanika zaista dolazi do aspiracije hrane ili želučanog sadržaja u traheobronhalno stablo, tada smo pretpostavili da je izgledno da takav kronični podražaj uzrokuje vidljive morfološke ili funkcionalne promjene struktura traheobronhalnog stabla koje bi se dale zamijetiti traheobronhoskopskom vizualizacijom. Poznato je da aspirirani sadržaj, ovisno o količini i visini (bolje rečeno dubini) do koje je dosegnuo dišne puteve može uzrokovati stridor, laringitis, refleksni laringospazam, laringealnu diskineziju, traheitis, bronhitis, edem sluznice bronha, bronhospazam,



pneumoniju ili atelektazu (68,116,117). Stridor koji se pojavljuje kao posljedica GER-a praktički se ne razlikuje od stridora uzrokovanog strukturalnim anomalijama grkljana (118). Stoga ne iznenađuju rezultati traheobronhoskopskih pregleda u djece s kongenitalnim stridorom prema kojima se u više od trećine slučajeva ne zamjećuju tipični znaci laringomalacije, odnosno u 18% slučajeva zamjećena je izolirana traheomalacija (119). Dakle, stridor i laringomalacija, analogno tome hripanje i traheomalacija u odsustvu drugih vidljivih uzročnih čimbenika, mogu biti sekundarne promjene uzrokovane GER-om.

Na temelju iznesenoga, ispitanike *Grupe 5* koji su imali traheobronhoskopski nalaz traheomalacije sa ili bez pridružene bronhomalacije, kao i nalaz akutnih upalnih promjena sluznice traheobronhalnog stabla, uvrstili smo u *Grupu 5a*. Ostali ispitanici koji su zapravo imali normalan vizualni traheobronhoskopski nalaz uvršteni su u *Grupu 5b*. Niti u jednoj dosad publiciranoj studiji koja se bavi problemom evaluacije LLAM kao pokazatelja kronične plućne aspiracije (82,83,91-94,96-98) vizualni traheobronhoskopski nalaz nije korišten kao kriterij diferencijacije ispitanika. Štoviše, vizualni traheobronhoskopski nalaz uopće se u tim radovima ne spominje, s izuzetkom studije Schellhasea i suradnika koji su u grupi djece (n=30) s ponavljajućim hripanjem (*engl. wheezing*) u 17 njih našli abnormalan nalaz. U većini slučajeva (n=12) radilo se o segmentalnoj traheomalaciji koja je često, ali ne isključivo bila povezivana s vaskularnom kompresijom (n=10). U tom radu, međutim, autori ne uspoređuju nalaze detekcije LLAM s navedenim traheobronhoskopskim nalazima (49).

Podjelom ispitanika s tvrdokornim i ponavljajućim respiratornim simptomima na *Grupe 5a* i *5b* dobili su se vrlo zanimljivi rezultati, pri čemu su se svojim statistički značajno višim vrijednostima LLMI ispitanici s patološkim traheobronhoskopskim nalazom odvojili od ispitanika s normalnim traheobronhoskopskim nalazom, kao i od ispitanika s ponavljajućim pneumonijama (*Grupa 6*). Srednja vrijednost LLMI ispitanika *Grupe 5a* ipak nije dosegla razinu vrijednosti LLMI u ispitanika s dokazanim GER-om i TEF-om. Prema tome, kada se usporede vrijednosti LLMI između ispitanika *Grupe 5a* i ispitanika kontrolnih grupa tada se vidi da su oni "rangirani" između pozitivne (*Grupa 2*) i negativne (*Grupa 1*) kontrolne grupe s još uvijek statistički značajno višim srednjim vrijednostima LLMI od ispitanika s tvrdokornim

ponavljajućim respiratornim simptomima i urednim traheobronhoskopskim nalazom (*Grupa 5b*) i ispitanika s ponavljajućim pneumonijama (*Grupa 6*) (Tablica 12 i Slika 15). Ovakav rezultat slaže se s općim uvjerenjem prema kojem bolesnici s "tihim" kroničnim mikroaspiracijama ipak imaju niže vrijednosti LLMI nego bolesnici s jasno izraženim simptomima aspiracije (89). To potvrđuje i analiza zastupljenosti tipova LLAM u ispitanika *Grupe 5a* (Slika 16) koji nemaju obrazac distribucije tipova LLAM kao što to imaju ispitanici s očitim, dokazanim GER-om ili TEF-om (*Grupa 2*), ili kao što su to imali ispitanici s akutnom epizodom akcidentalne aspiracije mekane hrane (*Grupa 3a*). Dakle, oni nemaju toliku zastupljenost LLAM viših stupnjeva koji bi istisnuli iz diferencijalnog brojenja tipove LLAM nižih stupnjeva (Slika 16).

Već je prije dvadesetak godina zapaženo da su mikroaspiracije orofaringealnog sekreta tijekom spavanja u odraslih relativno česta i normalna pojava (80). Da li te "normalne" mikroaspiracije mogu izazvati lažno visoke vrijednosti LLMI? Podaci Gleesona i suradnika koji se temelje na primjeni radioizotopne metode mjerenja ukazuju da odrasli muškarac za vrijeme noćnog spavanja može aspirirati 0,1-0,2 ml orofaringealnog sekreta (150). Eksperimentalni model pokazao je da u traheju zeca treba instilirati barem 0,05 ml/kg mlijeka da bi se mogao detektirati značajan broj LLAM. To je otprilike 15 puta više od volumena aspiriranog sekreta za vrijeme noćnog spavanja. Prema tome, zaista su mali izgledi da normalne mikroaspiracije uzrokuju značajan porast LLMI. Međutim, ukoliko je takvom stanju pridružen značajan GER tada se zasigurno može očekivati da će porasti i količina aspiriranog sekreta (89).

Kliničke studije obično ne poklanjaju pozornost na međusobno diferenciranje GER-a i stanja kronične mikroaspiracije, a poglavito ne na poremećaje gutanja koji mogu uzrokovati značajnu aspiraciju hrane ili orofaringealnog sekreta (68). Volumen jednog prosječnog gutljaja odraslog muškarca iznosi oko 25 ml (151). Ukoliko se samo mali dio te količine aspirira pri više gutljaja koji se učine tijekom dana tada je za očekivati da se vrlo lako može prijeći onaj prag nakon kojeg će se u sekretu donjih dišnih puteva moći dokazati LLAM. Colombo stoga ističe da o tome treba voditi računa u studijama gdje se uspoređuju ispitanici



sa sumnjom na "tihu" aspiraciju i ispitanici sa jasno vidljivom aspiracijom tijekom gutanja, dokazanom klinički ili radiološki. Iako nema potrebe za razvijanjem posebne dijagnostičke metode za bolesnike koji jasno i uočljivo imaju ponavljajuće aspiracije, upravo zbog nepostojanja dijagnostičkog "zlatnog standarda" takve bolesnike dobro je u ispitivanjima imati kao grupu za usporedbu. U našem ispitivanju to je bila *Grupa 2* – ispitanici sa GER-om ili TEF-om, odnosno s nedvosmisleno dokazanom aspiracijom hrane ili želučanog sadržaja koje smo u tumačenju rezultata često navodili kao "pozitivnu kontrolnu" grupu.

Zanimljiv je rezultat standardne citološke analize bronhalnog aspirata ispitanika s tvrdokornim ponavljajućim bronhoopstruktivnim epizodama i normalnim traheo-bronhoskopskim nalazom (*Grupa 5b*) nakon "odvajanja" ispitanika sa suspektnom kroničnom mikroaspiracijom (*Grupa 5a*). Naime, kod njih (*Grupa 5b*) se u usporedbi s negativnom kontrolnom grupom (*Grupa 1*) pojavila statistički značajno veća zastupljenost Eoz (Slika 17). Dakle, pretpostavljamo da su u *Grupi 5b* sada došli do izražaja oni ispitanici čije tvrdokorne i ponavljajuće bronhoopstruktivne epizode nisu posljedica kronične mikroaspiracije, nego se radi o djeci koja boluju od perzistentnog oblika bronhalne astme. Zapravo to je indirektni pokazatelj da smo na temelju vizualnog traheobronhoskopskog nalaza uspjeli postići određenu diferencijaciju između djece čije "astmatske" tegobe imaju podlogu u mikroaspiracijama, od djece koja boluju od klasične bronhalne astme kod koje eozinofilija predstavlja njihov "zaštitni znak".

Što se tiče ispitanika s ponavljajućim pneumonijama (*Grupa 6*), njihove vrijednosti LLMI više su u odnosu na *Grupu 5b* i negativnu kontrolu (*Grupa 1*), međutim ta razlika nije statistički značajna. Smatramo stoga da bolesnici s ponavljajućim pneumonijama imaju manju vjerojatnost da su im tegobe uzrokovane kroničnim mikroaspiracijama od bolesnika s tvrdokornim ponavljajućim bronhoopstruktivnim epizodama. Njihove nešto više vrijednosti LLMI mogu se tumačiti fagocitozom endogenih lipida oslobođenih tijekom propadanja upalnih stanica i stanica plućnog tkiva. Naime, u polovici tih ispitanika traheobronhoskopski nalaz ukazivao je na velike količine navirućeg gnoja iz segmentalnih i subsegmentalnih bronhalnih

ušća upalom zahvaćenih režnjeva pluća. To potvrđuje i dominantna zastupljenost Neu u standardnoj citološkoj analizi njihovih bronhalnih aspirata.

Zaključno, smatramo da su rezultati ovog ispitivanja svakako potvrdili postavljenu istraživačku hipotezu koja glasi - citološka analiza bronhalnih aspirata u smislu detekcije LLAM upotrebljiva je i korisna dijagnostička metoda u sklopu traheobronhoskopske obrade plućnih bolesti u dječjoj dobi. Senzitivnost i specifičnost ove metode nismo odredili iz razloga što dijagnostički "zlatni standard" ne postoji, odnosno zato što svi ostali kriteriji za dijagnozu kronične aspiracije hrane ili želučanog sadržaja u djece nemaju dovoljnu prediktivnu snagu. Na temelju dobivenih rezultata smatramo da je izračunavanje vrijednosti LLMI prilično osjetljiva metoda za dijagnozu patološke aspiracije hrane ili želučanog sadržaja. Metoda ne može diferencirati aspiraciju uzrokovanu poremećajem gutanja od one izazvane GER-om. Određene plućne bolesti nevezane uz aspiraciju mogu izazvati povišenje vrijednosti LLMI, ali njih dijagnostički nije teško razlučiti od aspiracije. Usporedba rezultata više publiciranih ispitivanja ukazuje da tehnika uzimanja aspirata i bojanje citoloških preparata mogu također utjecati na rezultat, stoga se preporučuje da svaka ustanova koja se služi ovom dijagnostičkom metodom izradi svoje vlastite referentne vrijednosti (89). Smatramo da je uz ostale dijagnostičke metode koje nam stoje na raspolaganju i uz dobro kliničko rasuđivanje, metoda detekcije i kvantifikacije LLAM u sekretima dišnih puteva vrijedno dijagnostičko sredstvo u evaluaciji plućnih bolesti djece. U tom kontekstu podrazumijeva se i upotreba tablično prikazanih vrijednosti LLMI kao pomoći u sklopu kliničkog postupka dijagnostičke diferencijacije pojedinih bolesnika (Tablica 13).



## 6. ZAKLJUČAK

- Na temelju rezultata standardne citološke analize bronhalnih aspirata donijeli smo sljedeće zaključke:
  1. Povišene vrijednosti *Neu* i *Lym* odraz su patoloških zbivanja u plućima bez obzira na analiziranu bolesničku grupu. Nalaz je izrazito nespecifičan i dijagnostička vrijednost mu je vrlo malena.
  2. Povišene vrijednosti *Eos* upućuju na bronhalnu astmu.
  3. Djeca s anamnestičkim podatkom o sumnji na akcidentalnu aspiraciju krutog stranog tijela s negativnim traheobronhoskopskim nalazom mogu poslužiti umjesto zdrave djece za izradu referentnih vrijednosti staničnih komponenti bronhalnog aspirata.
  
- Na temelju rezultata citološke detekcije i kvantitativne analize LLAM donijeli smo sljedeće zaključke:
  1. Potvrđena je istraživačka hipoteza – detekcija i kvantitativna analiza LLAM upotrebljiva je i korisna dijagnostička metoda u sklopu bronhološke obrade plućnih bolesti djece.
  2. Metoda izračunavanja LLMI po Corwinu i Irwinu metoda je izbora za kvantitativnu analizu nalaza LLAM. Uz izračunavanje LLMI kvantitativnu analizu LLAM treba nadopuniti određivanjem diferencijalne zastupljenosti pojedinih tipova LLAM s obzirom na količinu sadržanih lipida.

3. Vrijednosti LLMI pokazuju blagu povezanost s dobi ispitanika. Što su ispitanici stariji to su im vrijednosti LLMI niže. Vrijednosti LLMI ne ovise o spolu ispitanika.
4. Vrijednosti LLMI najviše su u ispitanika s klinički jasnim stanjem kronične aspiracije i u ispitanika s akutnom aspiracijom hrane meke konzistencije. Obilježava ih dominacija LLAM viših stupnjeva koji imaju tendenciju "istisnuti" LLAM nižih stupnjeva u diferencijalnom brojenju na 100 stanica.
5. Vrijednosti LLMI umjereno su povišene u ispitanika suspektnih na stanje kronične mikroaspiracije. Obilježava ih pravilna zastupljenost tipova LLAM kao i kod kontrolne grupe – čim je viši stupanj LLAM niža je frekvencija njegove zastupljenosti.
6. Respiratorni simptomi u vidu tvrdokornih i ponavljajućih bronhoopstruktivnih epizoda izglednija su manifestacija kronične mikroaspiracije želučanog sadržaja od tvrdokornih i ponavljajućih pneumonija.
7. Vrijednosti LLMI u ispitanika s akutnom aspiracijom vegetabilnog stranog tijela krute konzistencije postaju značajno povišene tek ukoliko strano tijelo boravi u dišnim putevima duže od 3 tjedna.
8. Vrijednosti LLMI > 200 sigurno govore u prilog aspiracije hrane ili želučanog sadržaja. Vrijednosti LLMI < 50 sigurno govore protivno aspiraciji.
9. Dobivene vrijednosti LLMI uvijek treba tumačiti u sklopu racionalnog kliničkog prosuđivanja i rezultata ostalih dijagnostičkih pretraga.



## 7. LITERATURA

1. Ahel V, Banac S, Zubović I, Čače N. Uloga bronhološke obrade u dječjoj dobi. *Paediatr Croat* 2001; 45(Supl 1): 31-3.
2. Waring WW. Diagnostic and therapeutic procedures. U: Chernick V, Kendig EL, ur. *Kendig's disorders of the respiratory tract in children*. 5. izd. Philadelphia: W.B.Saunders, 1990; str. 77-96.
3. Ahel V, Rakiđija M, Leković A, Šaina G. Indikacije i mogućnosti bronhološke obrade u dječjoj dobi. *Medicina* 1980; 17: 139-43.
4. Henderson AJW. Bronchoalveolar lavage. *Arch Dis Child* 1994;70:167-9.
5. Whithead B, Scott JP, Helms P i sur. Technique and use of transbronchial biopsy in children and adolescents. *Pediatr Pulmonol* 1992; 12: 240-6.
6. Mullins D, Livne M, Mallory GB, Kemp JS. A new technique for transbronchial biopsy in infants and small children. *Pediatr Pulmonol* 1995; 20: 253-7.
7. Riedler J, Grigg J, Robertson CF. Role of bronchoalveolar lavage in children with lung disease. *Eur Respir J* 1995; 8: 1725-30.
8. Nakhosteen JA. Role of bronchoscopy in asthma research. *J Bronchol* 1996; 3: 300-10.
9. Godfrey S, Avital A, Maayan C, Rotschild M, Springer C. Yield from flexible bronchoscopy in children. *Pediatr Pulmonol* 1997; 23: 261-9.
10. Marquette CH, Martinot A, Brichet A. Interventional bronchoscopy. *Pediatr Pulmonol* 1999; Suppl 18: 125-9.
11. Millis RM, Young RC, Kulczycki LL. Validation of therapeutic bronchoscopic bronchial washing in cystic fibrosis. *Chest* 1977; 71: 508-13.
12. Finer NF, Etches PC. Fiberoptic bronchoscopy in the neonate. *Pediatr Pulmonol* 1989; 7: 116-20.

13. Nussbaum E. Pediatric flexible bronchoscopy and its application in infantile atelectasis. *Clin Pediatr* 1985; 24: 379-82.
14. Dab I, Malroof A, Goossens A. Therapeutic bronchoscopy in ventilated neonates. *Arch Dis Child* 1993; 69: 533-7.
15. de Blic J, Delacourt C, Scheinmann P. Ultrathin flexible bronchoscopy in neonatal intensive care units. *Arch Dis Child* 1991; 66: 1383-5.
16. Downing GJ, Kilbride HW. Evaluation of airway complications in high-risk preterm infants: application of flexible fiberoptic airway endoscopy. *Pediatrics* 95; 567-72.
17. deBlic J, Scheinmann P. Fiberoptic bronchoscopy in infants. *Arch dis Child* 1992; 67: 159-61.
18. Shinwell ES. Ultrathin fiberoptic bronchoscopy for airway toilet in neonatal pulmonary atelectasis. *Pediatr Pulmonol* 1992; 13: 48-9.
19. Wood RE, Postma D. Endoscopy of the airway in infants and children. *J Pediatr* 1988; 112: 1-6.
20. Wood RE. The diagnostic effectiveness of the flexible bronchoscope in children. *Pediatr Pulmonol* 1985; 1: 188-92.
21. Perez CR, Wood RE. Update on pediatric flexible bronchoscopy. *Pediatr Clin North Am* 1994; 41: 385-400.
22. Godfrey S, Springer C, Maayan Ch, Avital A, Vatashky E, Belin B. Is there a place for rigid bronchoscopy in the management of pediatric lung disease? *Pediatr Pulmonol* 1987; 3: 179-84.
23. Barbato A, Magarotto M, Crivellaro M i sur. Use of the paediatric bronchoscope, flexible and rigid, in 51 European centres. *Eur Respir J* 1997; 10: 1761-6.
24. Niggemann B. Bronchologische Techniken – Starre Bronchoskopie. U: Rieger C, von der Hardt H, Sennhauser FH, Wahn U, ur. *Pädiatrische Pneumologie*. Berlin: Springer, 1999; str. 220-2.



25. Seidenberg J. Bronchologische Techniken – Flexible Bronchoskopie. U: Rieger C, von der Hardt H, Sennhauser FH, Wahn U, ur. Pädiatrische Pneumologie. Berlin: Springer, 1999; str. 222-5.
26. Bressler KL, Green CG, Holinger LD. Foreign body aspiration. U: Taussig LM, Landau LI, ur. Pediatric respiratory medicine. St.Louis: Mosby, 1999; str. 430-5.
27. Nussbaum E. Flexible fiberoptic bronchoscopy and laryngoscopy in infants and children. Laryngoscope 1993; 8: 1073-5.
28. American Thoracic Society. Flexible endoscopy of the pediatric airway. Am Rev Respir Dis 1992;145:233-5.
29. Szekely E. Paediatric bronchology. Eur Respir Mon 1998; 9: 209-23.
30. Wood RE. Diagnostic and therapeutic procedures in pediatric pulmonary patients. U: Taussig LM, Landau LI, ur. Pediatric respiratory medicine. St.Louis: Mosby, 1999; str. 244-62.
31. Wagener JS. Fatality following fiberoptic bronchoscopy in a two-year-old child. Pediatr Pulmonol 1987; 3: 197-9.
32. Wood RE. Spelunking in the pediatric airways: explorations with the flexible fiberoptic bronchoscope. Pediatr Clin North Am 1984; 31: 785-99.
33. Ratjen F. Bronchologische Techniken - Bronchoalveoläre Lavage. U: Rieger C, von der Hardt H, Sennhauser FH, Wahn U, ur. Pädiatrische Pneumologie. Berlin: Springer, 1999; str. 225-300.
34. Pohunek P, Pokorna H, Striž I. Comparison of cell profiles in separately evaluated fractions of bronchoalveolar lavage (BAL) fluid in children. Thorax 1996; 51: 615-8.
35. Saltini C, Hance AJ, Ferrans VJ, Basset F, Bitterman PB, Crystal RG. Accurate quantification of cells recovered by bronchoalveolar lavage. Am Rev Respir Dis 1984; 130: 650-8.
36. Lam S, LeRiche JC, Kijek K. Effect od filtration and concentration on the composition on bronchoalveolar lavage fluid. Chest 1985; 87: 740-2.

37. Donner CF. Short notes from the scientific assemblies - clinical assembly. ERS Newsletter 1998; 8: 74.
38. Carlsen K-H. Short notes from the scientific assemblies - paediatrics assembly. ERS Newsletter 1998; 8: 78-9.
39. de Blic J, Midulla F, Barbato A i sur. ERS task force on bronchoalveolar lavage in children. Eur Respir J 2000; 15:217-31.
40. Midulla F, Ratjen F. Special considerations for bronchoalveolar lavage in children. Eur Respir Rev 1999; 66: 38-42.
41. Ratjen F, Bruch J. Adjustment of bronchoalveolar lavage volume to body weight in children. Pediatr Pulmonol 1996; 21: 184-8.
42. Ratjen F, Bredendiek M, Brendel M, Meltzer J, Costabel U. Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in normal children. Eur Respir J 1994; 7: 1865-70.
43. Clement A, Chadelat K, Massliah J i sur. A controlled study of oxygen metabolise release by alveolar macrophages from children with interstitial lung disease. Am Rev Respir Dis 1987; 136: 1424-28.
44. Riedler J, Grigg J, Stone C, Tauro G, Robertson CF. Bronchoalveolar lavage cellularity in healthy children. Am J Respir Crit Care Med 1995; 152: 163-8.
45. Midulla F, Villani A, Merolla R, Bjermer L, Sandstrom T, Ronchetti R. Bronchoalveolar lavage studies in children without parenchymal lung disease: cellular constituents and protein levels. Pediatr Pulmonol 1995; 20: 112-8.
46. Tessier V, Chadelat K, Baculard A, Housset B, Clement A. A controlled study of differential cytology and cytokine expression profiles by alveolar cells in pediatric sarcoidosis. Chest 1996; 109: 1430-8.
47. Thorpe JE, Baughman RP, Frame PT, Wesseler TA, Staneck JL. Bronchoalveolar lavage for diagnosing acute bacterial pneumonia. J Infect Dis 1987; 155: 855-61.
48. Grieg J, Riedler J, Robertson CF. Bronchoalveolar lavage fluid cellularity and soluble intercellular adhesion molecule-1 in children with colds. Pediatr Pulmonol 1999; 28: 109-16.



49. Schellhase DE, Fawcett DD, Schutze GE, Lensing SY, Tryka FA. Clinical utility of flexible bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in young children with recurrent wheezing. *J Pediatr* 1998;132: 312-8.
50. Pryjma J, Kaszuba-Zwoinska J, Pawlik J i sur. Alveolar macrophages of children suffering from recurrent infections of respiratory tract are less efficient in eliminating apoptotic neutrophils. *Pediatr Pulmonol* 1999; 27: 167-73.
51. Midulla F, Strappini PM, Ascoli V i sur. Bronchoalveolar lavage cell analysis in a child with chronic lipid pneumonia. *Eur Respir J* 1998; 11: 239-42.
52. Ferguson AC, Wong FW. Bronchial hyperresponsiveness in asthmatic children: correlation with macrophages and eosinophils in bronchoalveolar fluid. *Chest* 1989; 96: 988-91.
53. Fan LL, Lum Lung MC, Wagener JS. The diagnostic value of bronchoalveolar lavage in immunocompetent children with chronic diffuse pulmonary infiltrates. *Pediatr Pulmonol* 1997;23:8-13.
54. de Blic J, McKelvie P, Le Bourgeois M, Blanche S, Benoist MR, Scheinmann P. Value of bronchoalveolar lavage in the management of severe acute pneumonia and interstitial pneumonitis in the immunocompromised child. *Thorax* 1987; 42: 759-65.
55. de Blic J, Blanche S, Danel C, Le Bourgeois M, Caniglia M, Scheinmann P. Bronchoalveolar lavage in HIV infected patients with interstitial pneumonitis. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1246-50.
56. Bye MR, Bernstein L, Shah K, Ellaurie M, Rubinstein A. Diagnostic bronchoalveolar lavage in children with AIDS. *Pediatr Pulmonol* 1987; 3: 425-8.
57. Pattishall EN, Noyes BE, Orenstein DM. Use of bronchoalveolar lavage in immunocompromised children with pneumonia. *Pediatr Pulmonol* 1988; 5: 1-5.
58. Frankel LR, Smith DW, Lewiston NJ. Bronchoalveolar lavage for diagnosing of pneumonia in the immunocompromised child. *Pediatrics* 1988; 81: 785-8.

59. Ronchetti R, Midulla F, Sandstrom T i sur. Bronchoalveolar lavage in children with chronic diffuse parenchymal lung disease. *Pediatric Pulmonol* 1999; 27: 395-402.
60. Bokulic RE, Hilman BC. Interstitial lung disease in children. *Pediatr Clin North Am* 1994; 41: 543-
61. King TE. Role of bronchoalveolar lavage in diagnosis of interstitial lung disease. *UpToDate* 1999;7(1): 6 str.
62. Armstrong DS, Grimwood K, Carlin JB, Carzino R, Olinsky A, Phelan PD. Bronchoalveolar lavage or oropharyngeal cultures to identify lower respiratory pathogens in infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1996; 21: 267-75.
63. Birrer P, McElvaney NG, Rudeberg A i sur. Protease-antiprotease imbalance in the lungs of children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 207-13.
64. Ferguson AC, Whitlaw M, Brown H. Correlation of bronchial eosinophil and mast cell activation and bronchial hyperresponsiveness in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 609-13.
65. Connett GJ, Doull IJM, Keeping K, Warner JO. Flexible fibre-optic bronchoscopy in the management of lung complications in cystic fibrosis. *Acta Paediatr* 1996; 85: 675-8.
66. Grigg J, van den Borre C, Malfroot A, Pierard D, Wang D, Dab I. Bilateral fiberoptic bronchoalveolar lavage in acute unilateral lobar pneumonia. *J Pediatr* 1993; 122: 606-8.
67. Mendelson CL. The aspiration of stomach contents into the lungs during obstetric anesthesia. *Am J Obstet Gynecol* 1946; 52: 191-205.
68. Colombo JL, Sammut PH. Aspiration Syndromes. U: Taussig LM, Landau LI, ur. *Pediatric respiratory medicine*. St.Louis: Mosby, 1999; str. 435-43.
69. Wright JL. Consequences of aspiration and bronchial obstruction.U: Thurlbeck WM, ur. *Pathology of the lung*. Stuttgart: Georg Thieme, 1988; str. 751-67.



70. Stephan V. Lipidpneumonien. U: Rieger C, von der Hardt H, Sennhauser FH, Wahn U, ur. Pädiatrische Pneumologie. Berlin: Springer, 1999; str. 1053-4.
71. Kameswaran M, Annobil SH, Benjamin B, Salim M. Bronchoscopy in lipid pneumonia. Arch Dis Child 1992; 67: 1376-7.
72. Wolfson BJ, Allen JL, Panitch HB, Karmazin N. Lipid aspiration pneumonia due to gastroesophageal reflux: a complication of nasogastric lipid feedings. Pediatr Radiol 1989; 19: 545-7.
73. Kurlandsky LE, Vaandrager V, Davy CL, Stockinger FS. Lipoid pneumonia in association with gastroesophageal reflux. Pediatr Pulmonol 1992;13:184-8.
74. Becton DL, Lowe JE, Falletta JM. Lipid pneumonia in an adolescent girl secondary to use of lip gloss. J Pediatr 1984; 105: 421-5.
75. Henning R, Duke T. Lung trauma: toxin inhalation and ARDS. U: Taussig LM, Landau LI, ur. Pediatric respiratory medicine. St.Louis: Mosby, 1999; str. 376-404.
76. Yee WFH. Aspiration syndromes. U: Burg FD, Ingelfinger JR, Wald ER, Polin RA, ur. Gelli's & Kagan's current pediatric therapy. 16. izd. Philadelphia: W.B.Saunders, 1999; str. 521-4.
77. Orenstein DM. Aspiration pneumonias and gastroesophageal reflux – related respiratory disease. U: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, ur. Nelson textbook of pediatrics. 16. izd. Philadelphia: W.B.Saunders, 2000:1288-91.
78. Zubović I, Ahel V, Rožmanić V, Banac S. Prirodene anomalije traheobronhalnog stabla. Paediatr Croat 2001; 45 (Supl 1): 63-8.
79. Christie DL. Pulmonary complications of esophageal disease. Pediatr Clin North Am 1984; 31: 835-49.
80. Huxley EJ, Viroslav J, Gray WR, Pierce AK. Pharyngeal aspiration in normal adults and patients with depressed consciousness. Am J Med 1978; 64: 564-8.
81. Sundberg RH, Kirschner KE, Brown MJ. Evaluation of lipid pneumonia. Dis Chest 1959; 36: 594-601.

82. Corwin RW, Irwin RS. The lipid-laden macrophage as a marker of aspiration in parenchymal lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:576-81.
83. Colombo JL, Hallberg TK. Recurrent aspiration in children: lipid-laden alveolar macrophage quantitation. *Pediatr Pulmonol* 1987; 3: 86-9.
84. Kajetanowicz A, Stinson D, Laybolt KS, Resch L. Lipid-laden macrophages in the tracheal aspirate of ventilated neonates receiving Intralipid: a pilot study. *Pediatr Pulmonol* 1999; 28: 101-8.
85. Recalde AL, Nickerson BG, Vegas M i sur. Lipid-laden macrophages in tracheal aspirates of newborn infants receiving intravenous lipid infusions: a cytologic study. *Pediatr Pathol* 1984; 2: 25-34.
86. Vichinsky E, Williams R, Das M i sur. Pulmonary fat embolism: a distinct cause of severe acute chest syndrome in sickle cell anemia. *Blood* 1994; 11: 3107-12.
87. Springer C, Godfrey S. The approach to the child with apparent pediatric chronic lung disease. U: Kerem E, Canny GJ, Branski D, Levison H, ur. *Advances in pediatric pulmonology*. *Pediatr Adolesc Med*. Basel: Karger, 1997; vol. 7, str. 125-37.
88. Nickerson BG. A test for recurrent aspiration in children. *Pediatr Pulmonol* 1987; 3: 65-6.
89. Colombo JL, Hallberg TK. Pulmonary aspiration and lipid-laden macrophages: in search of gold (standards). *Pediatr Pulmonol* 1999; 28: 79-82.
90. Williams HE, Freeman M. Milk inhalation pneumonia: the significance of fat filled macrophages in tracheal secretions. *Aust Paediatr J* 1973; 9: 286-8.
91. Nussbaum E, Maggi CJ, Mathis R, Galant SP. Association of lipid-laden alveolar macrophages and gastroesophageal reflux in children. *J Pediatr* 1987; 110: 190-4.
92. Moran RJ, Block SM, Lyerly AD, Brooks LE, Dillard RG. Lipid-laden alveolar macrophage and lactose assay as markers of aspiration in neonates with lung disease. *J Pediatr* 1988; 112: 643-5.



93. Collins KA, Geisinger KR, Wagner PH, Blackburn KS, Washburn LK, Block SM. The cytologic evaluation of lipid-laden alveolar macrophages as an indicator of aspiration pneumonia in young children. *Arch Pathol Lab Med* 1995; 119: 229-31.
94. Langston C, Pappin A. Lipid-laden alveolar macrophages as an indicator of aspiration pneumonia. *Arch Pathol Lab Med* 1996;120:326-7.
95. Ahrens P, Heller K, Keul H-G, Zielen S, Kitz R, Hofmann D. Bronchoalveolar lavage (BAL): a test for recurrent aspiration in children. *Eur J Pediatr* 1993; 152: 282.
96. Ahrens P, Noll C, Kitz R, Willigens P, Zielen S, Hofmann D. Lipid-laden alveolar macrophages (LLAM): a useful marker of silent aspiration in children. *Pediatr Pulmonol* 1999; 28: 83-8.
97. Bauer ML, Lyrene RK. Chronic aspiration in children: evaluation of the lipid-laden macrophage index. *Pediatr Pulmonol* 1999; 28: 94-100.
98. Knauer-Fischer S, Ratjen F. Lipid-laden macrophages in bronchoalveolar lavage fluid as a marker for pulmonary aspiration. *Pediatr Pulmonol* 1999; 27: 419-22.
99. Boat TF, Orenstein DM. Chronic or recurrent respiratory symptoms. U: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, ur. *Nelson textbook of pediatrics*. 16. izd. Philadelphia: W.B.Saunders, 2000: str.1311-5.
100. Berquist WE, Rachelefsky GS, Kadden M i sur. Gastroesophageal reflux-associated recurrent pneumonia and chronic asthma in children. *Pediatrics* 1981; 68: 29-35.
101. Winter HS, Grand RJ. Gastroesophageal reflux. *Pediatrics* 1981; 68: 134-3.
102. Platzker ACG. Gastroesophageal reflux and respiratory illness. U: Chernick V, Kendig EL, ur. *Kendig's disorders of the respiratory tract in children*. 5. izd. Philadelphia: W.B.Saunders, 1990; str. 466-75.
103. Orenstein SR, Orenstein DM. Gastroesophageal reflux and respiratory disease in children. *J Pediatr* 1988; 112: 847-58.

104. Malfroot A, Vandenplas Y, Verlinden M, Piepsz A, Dab I. Gastroesophageal reflux and unexplained chronic respiratory disease in infants and children. *Pediatr Pulmonol* 1987; 3: 208-13.
105. Buts JP, Barudi C, Moulin D, Claus D, Cornu G, Otte JB. Prevalence and treatment of silent gastro-esophageal reflux in children with recurrent respiratory disorders. *Eur J Pediatr* 1986; 145: 396-400.
106. Ahrens P, Heller K, Beyer P i sur. Antireflux surgery in children suffering from reflux-associated respiratory diseases. *Pediatr Pulmonol* 1999; 28: 89-93.
107. Sheikh S, Goldsmith LJ, Howell L, Hamlyn J, Eid N. Lung function in infants with wheezing and gastroesophageal reflux. *Pediatr Pulmonol* 1999; 27: 236-41.
108. Čepin-Bogović J, Kolaček S, Grgurić J i sur. Patološki gastroezofagealni refluks i pridružene respiratorne bolesti. *Pediatr Croat* 2000; 44: 17-21.
109. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, ur. Gastroesophageal reflux (Chalasia). *Nelson Textbook of pediatrics*. 16. izd. W.B.Saunders Co. Philadelphia, 2000: str. 1125-6.
110. Barnes PJ, Godfrey S. *Asthma*. 2. izd. London: Martin Dunitz, 1996: str. 60.
111. Skopnik H, Wenzl TG. Gastroösophagealer Reflux. U: Rieger C, von der Hardt H, Sennhauser FH, Wahn U, ur. *Pädiatrische Pneumologie*. Berlin: Springer, 1999; str. 787-92.
112. Danus O, Casar C, Larrain A, Pope CE. Esophageal reflux – an unrecognized cause of recurrent obstructive bronchitis in children. *J Pediatr* 1976; 89: 220-4.
113. Rožmanić V, Ahel V, Banac S. Gastroezofagealni refluks u djece s kroničnim bolestima dišnih putova. *Paediatr Croat* 2001; 45 (Supl 1): 99-105.
114. Herbst JJ. Gastroesophageal reflux and respiratory disorders. *Pediatr Pulmonol* 1999; 27: 229-30.
115. Faber J, Canny GJ. Gastroesophageal reflux and the lung. U: Kerem E, Canny GJ, Branski D, Levison H, ur. *Advances in pediatric pulmonology*. *Pediatr Adolesc Med*. Basel: Karger, 1997; vol. 7, str. 75-87.



116. Bobin S, Attal P. Laryngotracheal manifestations of gastroesophageal reflux in children. *Pediatr Pulmonol* 1999; Supl 18: 73-5.
117. MacFayden UM, Hendry GMA, Simpson H. Gastro-oesophageal reflux in near-miss sudden infant death syndrome or suspected recurrent aspiration. *Arch Dis Child* 1983; 58: 87-91.
118. Nielson DW, Heldt GP, Tooley WH. Stridor and gastroesophageal reflux in infants. *Pediatrics* 1990; 85: 1034-9.
119. Lis G, Szczerbinski T, Cichocka-Jarosz E. Congenital stridor. *Pediatr Pulmonol* 1995; 20: 220-4.
120. Dab I, Malfroot A. Gastroesophageal reflux. U: Silverman M, ur. *Childhood asthma and other wheezing disorders*. London: Chapman & Hall Medical, 1995; str. 231-7.
121. Reid MJ. Complicating features of asthma. *Pediatr Clin North Am* 1992; 39: 1327
122. Hampton FJ, MacFayden UM, Beardsmore CS, Simpson H. Gastro-oesophageal reflux and respiratory function in infants with respiratory symptoms. *Arch Dis Child* 1991; 66: 848-53.
123. Malfroot A, Dab I. Pathophysiology and mechanisms of gastroesophageal reflux in childhood asthma. *Pediatr Pulmonol* 1995; Suppl 11: 55-6.
124. del Rosario JF, Orenstein SR. Evaluation and management of gastroesophageal reflux and pulmonary disease. *Curr Opin Pediatr* 1996; 8: 209-15.
125. Rožmanić V. Kontinuirani ezofagealni pH monitoring u otkrivanju gastroezofagealnog refluksa u djece s kroničnim bolestima dišnih putova. Sveučilište u Rijeci, 1996. 152 str. Disertacija.
126. Rožmanić V, Ahel V, Peršić M, Banac S. Reliability of short-term oesophageal pH monitoring versus 24-hour study in asthmatic children. *Eur Respir J* 1999; 14 (Supl 30): 262.
127. Skopnik H, Wenzl TG. Gastroösophagealer Reflux. U: Rieger C, von der Hardt H, Sennhauser FH, Wahn U, ur. *Pädiatrische Pneumologie*. Berlin: Springer, 1999; str. 787-92.

128. Cucchiara S, Santamaria F, Minella R i sur. Simultaneous prolonged recordings of proximal and distal intraesophageal pH in children with gastroesophageal reflux disease and respiratory symptoms. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 1791-6.
129. Vijayaratnam V, Lin CH, Simpson P, Tolia V. Lack of significant proximal esophageal acid reflux in infants presenting with respiratory symptoms. *Pediatr Pulmonol* 1999; 27: 231-5.
130. Jack CIA, Calverley PMA, Donnelly RJ i sur. Simultaneous tracheal and oesophageal pH measurements in asthmatic patients with gastroesophageal reflux. *Thorax* 1995; 50: 201-4.
131. Colombo JL, Hallberg TK, Sammut PH. Time course of lipid-laden macrophages with acute and recurrent milk aspiration in rabbits. *Pediatr Pulmonol* 1992;12:95-8.
132. Banac S, Roganović J, Ahel V, Damijanjević T. Značaj citološke analize bronhalnog aspirata u dječjoj dobi. XIII. simpozij Hrvatskog društva za pedijatrijsku pulmologiju, Zadar, 18-19. lipnja 1999.
133. Banac S, Ahel V, Roganović J, Rožmanić V, Čače N. Identification of lipid-laden alveolar macrophages in children with respiratory symptoms. *Alergie* 2001; 3 (Suppl 1): 118.
134. Zoričić-Letoja I, Javorović B, Medar-Lasić M, Zimić L. Fleksibilna bronhoskopija u djece - metoda i dijagnostičke indikacije. *Paediatr Croat* 1996;40:87-90.
135. Raos M, Dodig S, Kovač K, Koncul I. Fleksibilna bronhoskopija u djece - šest godina iskustva. *Paediatr Croat* 1997; 42: 113-7.
136. Ahel V, Čače N, Zubović I, Palčevski G, Rožmanić V. Strana tijela donjih dišnih putova u djece - naše iskustvo. *Paediatr Croat* 1996;40:131-4.
137. Stradling P. *Diagnostic bronchoscopy: an introduction*. 3 izd. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1976, str. 3-25.
138. Smalhout B, Hill-Vaughan AB. *Das dyspnoische Kind – Die Bronchoskopie zur Diagnose und Behandlung*. Biberach an der Riss: Thomae; 1979, str. 7-24.



139. Koncul I, Raos M, Zoričić-Letoja I, Milković Đ. Tuberkuloza dječje dobi krajem desetljeća. XIV. simpozij Hrvatskog društva za pedijatrijsku pulmologiju, Sl.Brod, 12-13. svibnja 2000.
140. Orenstein DM. Cough – differential diagnosis and treatment. U: Kliegman RM, ur. Practical strategies in pediatric diagnosis and therapy. Philadelphia: W.B.Saunders, 1996; str. 79.
141. Vandenplas Y, Goyvaerts H, Helven R, Sacre L. Gastroesophageal reflux, as measured by 24-hour pH monitoring, in 509 healthy infants screened for risk of sudden infant death syndrome. Pediatrics 1991; 88: 834-40.
142. Cohen AB, Cline MJ. In vitro studies of the foamy macrophage of postobstructive endogenous lipid pneumonia in man. Am Rev Respir Dis 1972; 106: 69-78.
143. Tamura A, Hebisawa A, Fukushima K, Yotsumoto H, Mori M. Lipoid pneumonia in lung cancer: radiographic and pathological features. Jpn J Clin Oncol 1998; 28: 492-6.
144. Corrin B, King E. Experimental endogenous lipid pneumonia and silicosis. J Pathol 1969; 97: 325-30.
145. Cotton E, Yasuda K. Foreign body aspiration. Pediatr Clin North Am 1984; 31: 937-41.
146. Kercksmar CM, Ferkol T. Respiratory distress – Foreign body aspiration. U: Kliegman RM, ur. Practical strategies in pediatric diagnosis and therapy. Philadelphia: W.B.Saunders, 1996; str. 107.
147. Salzberg AM, Brooks JW, Krummel TM. Foreign bodies in the air passages. U: Chernick V, Kendig EL, ur. Kendig's disorders of the respiratory tract in children, 5. izd. Philadelphia: W.B.Saunders, 1990; str. 476-80.
148. Crawford SW, Kang AH, Mainardi CL. Interstitial collagenase secretion and giant cell formation from rabbit alveolar macrophages. Effects of dexamethasone. Am Rev Respir Dis 1983; 127: 46-50.

149. Peršić M, Ahel V, Šaina G, Leković A. Recidivirajući obstruktivni bronhitis u djece uzrokovani gastroezofagealnim refluksom. *Medicina* 1988; 24: 21-5.
150. Gleeson K, Egli DF, Maxwell SL. Quantitative aspiration during sleep in normal subjects. *Chest* 1997; 111: 1266-72.
151. Nilsson H, Ekberg O, Olsson R, Kjellin O, Hindfelt B. Quantitative assessment of swallowing in healthy adults. *Dysphagia* 1996; 11: 110-16.



## POPIS SKRAĆENICA

Am	-	Alveolarni makrofag
BAL	-	Bronhoalveolarna lavaža
ELF	-	Tekućina koja oblaže bronhalni epitel ( <i>engl.</i> epithelial lining fluid)
Eos	-	Eozinofilni granulocit
EpHM	-	Kontinuirani 24-satni ezofagealni pH monitoring
GER	-	Gastro-ezofagealni refluks
LLAM	-	Lipidima opterećen alveolarni makrofag ( <i>engl.</i> lipid-laden alveolar macrophage)
LLMI	-	Indeks lipidnog opterećenja makrofaga ( <i>engl.</i> lipid-laden macrophage index)
LP	-	Lipoidna pneumonija
Lym	-	Limfocit
Neu	-	Neutrofilni granulocit
SNK	-	Student-Newman-Keuls
TEF	-	Traheo-ezofagealna fistula

## ŽIVOTOPIS

mr.sc. SRĐAN BANAC, dr.med.

KBC Rijeka

Klinika za pedijatriju

Istarska 43, 51000 Rijeka

tel. 051/659 111

Datum i mjesto rođenja:

05. rujna 1961, Rijeka

Kućna adresa:

Omladinska 1, 51000 Rijeka

tel. 051/226 815

### OBRAZOVANJE

Sveučilište u Rijeci – Medicinski fakultet:

1981-1986: Dodiplomski studij Opće medicine, srednja ocjena 4,0.

1989-1991: Poslijediplomski studij iz Kliničke patofiziologije.

1993-1995: Poslijediplomski studij iz Medicine razvojne dobi.

KBC Rijeka – Klinika za pedijatriju:

1994-1998: Specijalistički staž iz pedijatrije.

1998: Specijalistički ispit iz pedijatrije.

### AKADEMSKI NASLOVI

1987: Doktor medicine (Diplomski rad: "Prijemčivost i klinička slika eksperimentalnog alergijskog encefalomijelitisa u ovisnosti o soju, dobi i spolu štakora" mentor: prof.dr.sc. Predrag Eberhardt).

1992: Magistar medicinskih znanosti (Magistarski rad: "Epidemiološka studija bronhalne astme školske djece na području cresko-lošinjskog arhipelaga" mentor: doc.dr.sc. Branko Vukelić).



### ZAPOSLENJA

- 1988-1996: Dječja bolnica za alergijske bolesti Veli Lošinj, odjelni liječnik  
1996- KBC Rijeka - Klinika za pedijatriju, odjelni liječnik

### ČLANSTVA U ZNANSTVENIM I STRUKOVNIM UDRUŽENJIMA

- 1987- Hrvatski liječnički zbor (HLZ):
- Hrvatsko pedijatrijsko društvo
  - Hrvatsko društvo za pedijatrijsku pulmologiju (1999- funkcija tajnika)
  - Hrvatsko društvo za kliničku imunologiju i alergologiju

### STRUČNA USAVRŠAVANJA U INOZEMSTVU

- IX/1991: Državni institut za dječju astmu i alergije "Voksentoppen", Oslo (N)  
V/1995: Državni institut za dječju astmu i alergije "Voksentoppen", Oslo (N)  
XI/1999: VI. Pedijatrijski poslijediplomski tečaj fleksibilne bronhoskopije, Davos (CH)  
II/2000: Pulmološki odjel Sveučilišne pedijatrijske klinike, Graz (A)

### RADOVI PUBLICIRANI U

Periodicum Biologorum, Jugoslavenska Pedijatrija, Medicina, Paediatrica Croatica, Acta Paediatrica, Acta Medica Croatica, Pediatric International

### NAGRADE

- 1998: Nagrada Hrvatskog pedijatrijskog društva "Ernst Mayerhofer" za najbolji objavljeni znanstveni ili stručni rad u inozemnom časopisu tijekom međukongresnog razdoblja.  
2000: Zahvalnica Hrvatskog liječničkog zbora za zasluge u radu Zbora, unapređenje medicinske struke, te za zdravstvenu i humanitarnu djelatnost.