



11237

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES
HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ**

**DETERMINACION DE MACROFAGOS ALVEOLARES
CARGADOS DE LIPIDOS EN PACIENTES ASMATICOS
CON REFLUJO GASTROESOFAGICO.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALIDAD EN PEDIATRIA MEDICA
PRESENTA:**

DRA. CONSUELO / SALGADO RABADAN

**ASESORES: DR. SERGIO ADRIAN TRUJILLO PONCE
DRA. LOURDES AVILA CASTAÑON**



MEXICO, D. F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

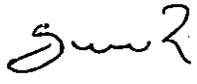
**DETERMINACIÓN DE MACROFAGOS ALVEOLARES
CARGADOS DE LÍPIDOS EN PACIENTES ASMÁTICOS
CON REFLUJO GASTROESOFAGICO.**

ASESORES


DR. SERGIO ADRIAN TRUJILLO PONCE


DRA. LOURDES AVILA CASTAÑON

TESISTA


DRA. CONSUELO SALGADO RABADÁN



INDICE

Capítulo	Página
Antecedentes	4
Pregunta de Investigación	10
Justificación	11
Objetivos	12
Hipótesis	13
Material y Métodos	14
Análisis Estadístico	15
Resultados	16
Discusión	19
Conclusiones	20
Bibliografía	21

ANTECEDENTES

El reflujo gastroesofágico (RGE) se puede definir como el paso del contenido gástrico al esófago, dicho contenido está formado por ácido clorhídrico, pepsina, ácidos biliares y enzimas pancreáticas, que tienen la capacidad de irritar y lesionar los tejidos que no están adaptados a la presencia de estas sustancias potencialmente nocivas. El RGE es común en la infancia, con una alta morbilidad y mortalidad, cuando no es diagnosticado o tratado adecuadamente (1,2).

Los síntomas clásicos del RGE en la infancia incluyen el vómito, hematemesis, sangre oculta en heces, disfagia, dolor toracoabdominal, sialorrea, rumiación, eructo, hipo y náusea, la pirosis no es un síntoma predominante en niños. De los síntomas extraintestinales se asocia con alteración en el crecimiento, irritabilidad, llanto nocturno, anemia ferropriva, síndrome de Sandifer e incluso muerte súbita. Un gran número de complicaciones de las vías aéreas se han asociado con RGE, y con frecuencia los niños no presentan los síntomas clásicos de RGE (3, 4, 5, 6).

Existen varias clasificaciones de RGE. La clasificación básica aceptada es aquella que divide al RGE en fisiológico y patológico. Los episodios de reflujo pueden ser un fenómeno fisiológico, particularmente en el periodo postprandial, el cual es frecuente encontrarlo en recién nacidos y lactantes, y usualmente desaparece espontáneamente alrededor de los 12 a 18 meses. Los niños con RGE fisiológico presentan episodios de vómito infrecuentes. El RGE patológico ocurre cuando la frecuencia del reflujo es mayor que en el estado fisiológico, dando lugar a los síntomas o enfermedad y puede presentarse en recién nacidos, lactantes y niños.

mayores (7). Los niños con RGE patológico pueden presentar varios episodios al día de vómito, sin embargo, el concepto de reflujo gastroesofágico silencioso, pertenece a este tipo de reflujo. Kennedy (8) describió el RGE silencioso en asociación con problemas respiratorios en 1962, y fue uno de los primeros autores en documentar el significado del RGE en ausencia de los síntomas clásicos.

En los últimos 30 años se ha reportado una asociación entre RGE y laringitis, tos crónica nocturna, asma, neumonía recurrente, bronquiectasias, y estenosis subglótica (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16).

Se sabe que el principal mecanismo antirreflujo está mediado por un gradiente de resistencia dado por un esfínter esofágico inferior (EEI) competente. Sin embargo, la incompetencia del EEI, no es el único factor importante de reflujo. Otros tres componentes se han identificado en la patogénesis del RGE: 1) Reflejos generados por el efecto irritante del material gastrointestinal que refluye a la mucosa esofágica, 2) Aclaración esofágico inefectivo y 3) vaciamiento gástrico retrasado(17, 18, 19, 20).

La asociación de REG con asma fue descrita por Osler en 1882 (21). En 1934, Bray observó que el comer mucho poco tiempo antes de ir a la cama precipitaba el asma en algunos de estos pacientes, y postuló que la distensión gástrica induce el reflejo de broncoconstricción mediante la estimulación del nervio vago(21). En 1946, Mendelsohn reportó que la aspiración de contenido gástrico en los pulmones producía un síndrome parecido al asma(23).

La prevalencia de RGE en pacientes asmáticos varía del 47- 64% en niños a 33- 90% en adultos, dependiendo del parámetro empleado para el diagnóstico de RGE (19, 24).

Se han propuesto dos hipótesis para explicar el asma secundaria a RGE. Uno atribuye el asma al broncoespasmo que se presenta por la aspiración de contenido gástrico que refluye a la tráquea "Teoría de la microaspiración". La segunda hipótesis atribuye el broncoespasmo a reflejos vagales mediados por la estimulación de receptores esofágicos por pH bajo y distensión "Teoría del reflejo". Es posible que ambos mecanismos contribuyan al asma en diferentes grados para cada paciente(25, 26, 27, 28, 29).

Sin embargo el asma también se considera como un factor disparador del RGE. Ya que la presión intratorácica negativa a la inspiración, aumenta durante las exacerbaciones de asma, contra una presión abdominal positiva, lo cual favorece el reflujo. La teofilina oral, terbutalina, glucocorticoides y los β - adrenérgicos, disminuyen el tono del esfínter esofágico inferior (19 , 30).

El sistema no-adrenérgico no-colinérgico (NANC) , también puede jugar un papel importante en el asma complicado con RGE. Las vías aferentes y eferentes del NANC del epitelio de la vía aérea están mediadas por el nervio vago. Neuropeptidos NANC como la sustancia P y el péptido intestinal vasoactivo, se han encontrado en tejido gastrointestinal y respiratorio. Tienen propiedades adrenérgicas y colinérgicas y son moduladores potentes de las células del sistema inmune. La estimulación esofágica produce liberación de neuropeptidos, mediados por el sistema NANC dando lugar a la inflamación neurogénica de la vía aérea(19).

El diagnóstico preciso del RGE comienza con un índice alto de sospecha. La historia clínica en niños con síntomas clásicos es de gran ayuda; sin embargo, en

caso de ausencia de estos síntomas, como en el RGE silencioso, se requiere de más estudios para ser diagnosticado. La evaluación ideal de RGE idealmente debería demostrar la presencia o ausencia de reflujo, la severidad del reflujo, y la identificación del reflujo como etiología de los síntomas en los niños(31). No existe una sola prueba que pueda cumplir con todos estos criterios; por lo que frecuentemente se emplea una combinación de varias pruebas. Las pruebas más comúnmente empleadas son la monitorización del pH esofágico, la serie esofagogastroduodenal, la medicina nuclear, esofagoscopia con o sin biopsia, broncoscopia con macrófagos cargados de lípidos y la prueba de Bernstein modificada.

La confiabilidad del estudio con bario es aproximadamente de 86% en pacientes conocidos con reflujo; alrededor de 14% tiene estudios normales. Los hallazgos del estudio con bario pueden ser positivos en 30 a 50% de pacientes que no tienen complicaciones por reflujo (32). Con antecedentes importantes de RGE y hallazgos negativos en el estudio con bario, es necesario un segundo estudio para excluir RGE. Con un antecedente clínico importante y un estudio de bario positivo, por lo general se obtiene confirmación con otro estudio, pero no es absolutamente necesario (33).

La medición del pH esofágico ha tomado dos formas. La primera es una medición a corto plazo del pH esofágico, denominada prueba de Tuttle. La segunda una obtención prolongada más exacta del pH esofágico, descrita por primera vez en 1974 (34). Desde entonces se ha modificado la monitorización para uso en pacientes pediátricos (35), que generalmente es un estudio de 24 horas.

Se miden los episodios de reflujo observados por un explorador de pH en el esófago distal. El sistema de puntuación utiliza el número de episodios, el número de episodios que duran más de 5 minutos, la duración del episodio más prolongado, la duración promedio del reflujo, y el porcentaje de tiempo que el pH fue menor de 4. Estos se combinan para producir una puntuación que se puede utilizar para cuantificar el RGE. La sensibilidad y especificidad son alrededor de 90 a 95% para esta prueba.

La manometría esofágica se reporta en forma esporádica como útil en el diagnóstico de RGE; por que brinda información complementaria sobre la motilidad esofágica y la presión del esfínter esofágico inferior, en niños tiene la desventaja de que es un método invasivo que requiere sedación, la cual podría alterar los resultados.

Algunos autores consideran útil la centellografía esofágica como un medio para diagnosticar el RGE y, en forma específica, demostrar aspiración del contenido gástrico (36), pero otros la consideran casi sin valor (37, 38).

El ultrasonido recientemente se ha informado como un estudio útil en el diagnóstico de RGE, al igual que para la medición del vaciamiento gástrico y el control posterior de niños con este padecimiento. Se necesita más experiencia para establecer su utilidad (39).

Algunos autores refieren que la endoscopia es de poca utilidad diagnóstica; su función primaria es la demostración de las complicaciones del RGE como esofagitis y estenosis; así como para descartar alteraciones anatómicas. La biopsia probablemente es de mayor valor para la selección de un tratamiento

quirúrgico, ya que las secuelas de una esofagitis tratada en forma inadecuada es la constricción (40).

La broncoscopia para identificar alteraciones de la mucosa laringotraqueal, con aspiración traqueal de macrófagos cargados de lípidos a alcanzado un papel importante en el diagnóstico de RGE con aspiración (41, 42, 43). Debido a que el contenido gástrico frecuentemente contiene lípidos que pueden ser ingeridos por los macrófagos en la vía respiratoria, se ha postulado que los macrófagos alveolares cargados de lípidos puede ser un indicador útil de la aspiración pulmonar.

La sensibilidad al encontrar macrófagos alveolares cargados de lípidos (MACLs), para la detección de RGE con aspiración es del 85%, sin embargo la ausencia de MACLs no excluye la presencia de RGE (43).

Debido a que existe un alto número de síntomas respiratorios asociados con RGE, se ha recomendado utilizar la broncoscopia rutinariamente al tiempo de realizar la endoscopia.

Con el uso de métodos de broncoscopia de fibraóptica se ha podido entender aun más la patogénesis del asma, así como el mecanismo de acción de las drogas antiasmáticas. Probablemente es más apropiado estudiar el lavado broncoalveolar y la biopsia bronquial simultáneamente ya que existen diferencias entre la vía aérea y el tejido pulmonar (44, 45, 46, 47).

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Tiene valor diagnóstico la determinación de macrófagos alveolares cargados de lípidos como marcador de aspiración en niños asmáticos con reflujo gastroesofágico?

JUSTIFICACIÓN

La broncoaspiración es comúnmente considerada como diagnóstico diferencial de enfermedades pulmonares crónicas o recurrentes; en el caso del asma las microaspiraciones forman parte de una de las teorías de los mecanismos fisiopatogénicos de esta, en asociación con reflujo gastroesofágico. Por lo que consideramos conveniente el evaluar la presencia de Macrófagos alveolares cargados de lípidos en los niños asmáticos con reflujo gastroesofágico, como posible gatillo disparador de los síntomas pulmonares.

OBJETIVOS

Objetivo principal

1. Determinar la presencia de macrófagos alveolares cargados de lípidos en pacientes asmáticos con reflujo gastroesofágico.

Objetivos secundarios

1. Establecer una asociación entre la presencia de macrófagos alveolares y el grado de reflujo gastroesofágico.
2. Establecer una asociación entre la presencia de macrófagos alveolares cargados de lípidos y la gravedad del asma.

HIPÓTESIS

1. La presencia de macrófagos alveolares cargados de lípidos en pacientes asmáticos con reflujo gastroesofágico actúan como marcador de aspiración.
2. La presencia de macrófagos alveolares cargados de lípidos es directamente proporcional al grado de reflujo gastroesofágico.
3. La presencia de macrófagos alveolares cargados de lípidos es directamente proporcional a la gravedad del asma.

MATERIAL Y METODOS

Se trata de un estudio transversal descriptivo en el que se investigo la asociación de macrófagos alveolares cargados de lípidos en pacientes asmáticos con reflujo gastroesofágico, para lo cual se incluyeron 22 pacientes (previa firma de la carta de consentimiento) del servicio de Alergia e Inmunología clínica del Hospital Infantil de México, de Marzo a Octubre del 2000.

Los pacientes contaban con diagnostico de asma y síntomas sugestivos de reflujo gastroesofágico, tanto intestinales (nausea, vómito, dolor abdominal, pirosis e hiporexia) como extraintestinales (tos, sibilancias, infecciones de vías aéreas superiores, anemia ferropriva, falta de incremento ponderal); por lo que se procedió a realizar estudios complementarios, como serie esofagogastroduodenal (SEGD), endoscopia y broncoscopia, por el servicio de Cirugía de Tórax, con toma de biopsia y lavado broncoalveolar, los cuales se enviaron al servicio de patología de la misma institución.

En la serie esofagogastroduodenal se realizó la búsqueda intencionada de alteraciones anatómicas como hernia hiatal, unión esofagogástrica amplia, e incluso vaciamiento gástrico retardado y datos indirectos de gastritis y esofagitis.

En la endoscopia de igual manera se busco intencionadamente alteraciones anatómicas, y se tomo biopsia de esófago, estomago y duodeno; en búsqueda de lesiones secundarias al reflujo gastroesofagico. Durante el procedimiento de endoscopia previo a esta con broncoscopio de fibra óptica pediátrico se realizó

lavado broncoalveolar para búsqueda intencionada de macrófagos alveolares cargados de lípidos, previa sedación para realizar el procedimiento.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó estadística descriptiva midiendo frecuencias y porcentajes de las diferentes variables, con cuyos resultados se realizaron las gráficas de pastel. Para determinar si existía asociación entre variables se empleo regresión logística con chi² de Pearson.

RESULTADOS

Se incluyeron 22 pacientes con diagnóstico de asma y datos sugestivos de reflujo gastroesofágico, de ambos sexos (50% hombres y 50% mujeres), cuyas edades oscilaron entre 2 y 16 años, con un promedio de 5.3 años. Siendo los pacientes de 4 años el grupo más numeroso, que corresponde al 31.8% del total de pacientes.

En relación a el diagnóstico de la enfermedad pulmonar 3 pacientes (13.6%) tenían diagnóstico de Asma leve intermitente, 7 (31.8%) asma leve persistente, 11 (50%) asma moderada persistente y 1 (4.5%) asma grave (ver figura 1).

diagnostico

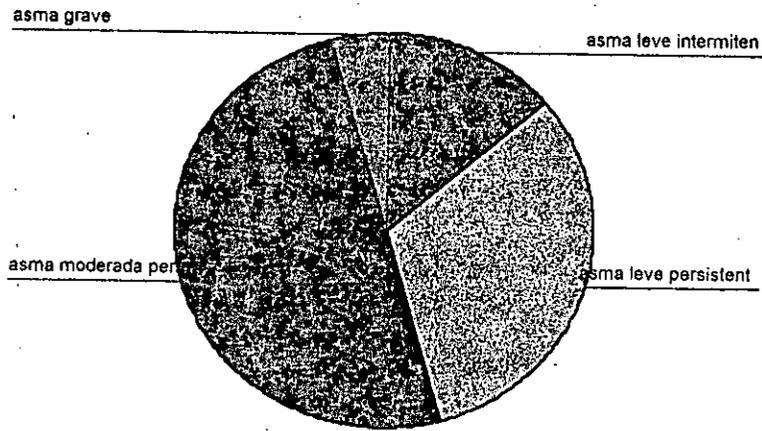


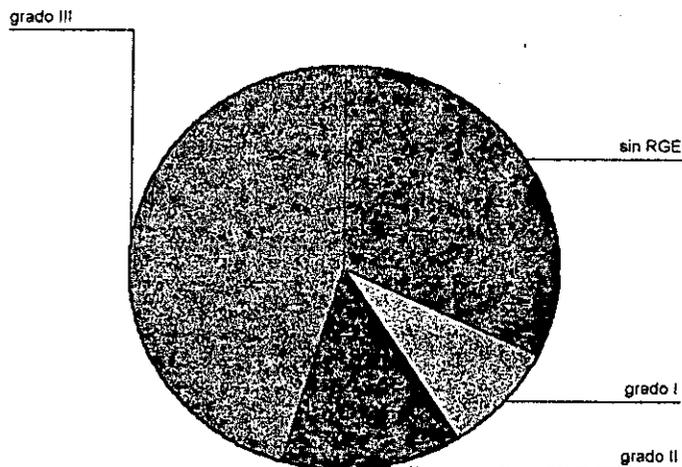
Figura 1. Gravedad del Asma.

De los síntomas gastrointestinales que presentaron 20 pacientes (90.9%) presentaron dolor abdominal, 16 pacientes (72.7%) vómito, 10 (45.5%) náusea, 8 (36.4%) referían hiporexia y 7 pacientes (31.8%) pirosis.

De los síntomas extraintestinales predominó la tos en 21 pacientes (95.5%) y de estos 20 (90.9%) presentaron tos nocturna, seguido de infecciones de vías aéreas superiores en 18 pacientes (81.8%), 10 pacientes (45.5%) referían sibilancias y 7 (31.8%) las presentaba de predominio nocturno, pobre incremento ponderal se reportó en 5 pacientes (22.7%) y anemia ferropíva únicamente la presentaron 3 pacientes (13.6%).

A todos los pacientes se les realizó serie esofagogastroduodenal en la cual reportaron 10 pacientes (45.5%) con reflujo gastroesofágico grado III, 3 (13.6%) con reflujo grado II, 2 (9.1%) grado I y 7 (31.8%) sin reflujo gastroesofágico demostrable por este estudio (ver figura 2).

Grado de RGE en SEG D



De los hallazgos reportados en la serie esofagogastroduodenal 4 pacientes (18.2%) presentaban hernia hiatal, y 4 pacientes más (18.2%) unión esofagagástrica amplia, 2 (9.1%) datos indirectos de esofagitis y 1 (4.5%) vaciamiento gástrico retardado.

A todos los pacientes se les realizó broncoscopia con lavado broncoalveolar cuyo reporte de patología fue de presencia de macrófagos alveolares cargados de lípidos (lipófagos) con la tinción de rojo oleoso en 13 pacientes (59.09%) y 9 el 40% sin lipófagos.

El reporte de biopsias por patología fue de 20 pacientes el 90.91% con presencia de esofagitis crónica leve a moderada, 8 el 36.3% gastritis crónica activa y 5 pacientes el 22.73% con duodenitis leve inespecífica. En un paciente se encontró *Helicobacter pylori*.

Se trató de ver si existía alguna asociación entre el grado de reflujo gastroesofágico y la gravedad del asma con la presencia de macrófagos alveolares cargados de lípidos, por medio de prueba de χ^2 Pearson reportando una p de 0.634, con lo cual podemos concluir que ni el grado de reflujo, ni la gravedad del asma predicen la presencia de macrófagos alveolares cargados de lípidos, aun que este valor podría tener significancia estadística si el tamaño de muestra se incrementa.

ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

DISCUSIÓN

La aspiración del contenido gástrico actúa como un cuerpo extraño, y la presencia de lípidos en la vía aérea, especialmente aceite mineral, puede dañar la función ciliar. Los alimentos libres de ácidos grasos rápidamente son hidrolizados, ocasionando un proceso inflamatorio agudo a nivel pulmonar. Los macrófagos migran al alveolo y rápidamente ingieren la grasa exógena, formando células gigantes. Los macrófagos cargados de lípidos tiene un periodo corto de vida, y pueden liberar nuevamente los lípidos al parénquima pulmonar. Presentándose edema, necrosis y hemorragia, dando como resultado fibrosis pulmonar y bronquiectasias.

Por lo que algunos autores han propuesto emplear un índice de macrófagos cargados de lípidos en lavado broncoalveolar en muestras de adultos enfermedades del parénquima pulmonar, en el que sugieren que más de 100 células pueden ser sugestivas pero no diagnósticas de aspiración, por lo que sugieren realizar más evaluaciones para este diagnóstico. En el caso de los niños algunos autores sugieren que un índice $>$ de 90 células es un probable indicador de aspiración recurrente.

En el presente estudio a pesar de que no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la gravedad del asma y el grado de reflujo gastroesofágico con la presencia de lipofagos, probablemente por que la mera presencia de estas células en la vía respiratoria no sean un marcador específico de enfermedad pulmonar, sin embargo es posible que el conteo de lipofagos para

tratar de establecer un índice útil para excluir a la aspiración como causa de enfermedad pulmonar.

CONCLUSIONES

El reflujo gastroesofágico en la población pediátrica presenta una variedad de manifestaciones. La asociación con enfermedades como asma es muy alta, por lo que una historia sugestiva de reflujo gastroesofágico, debe ser motivo de un estudio a fondo, incluyendo la búsqueda de macrófagos alveolares, ya que consideramos que el hallazgo de gran cantidad de lipófagos puede ser un método sensible para diagnosticar aspiración patológica.

tratar de establecer un índice útil para excluir a la aspiración como causa de enfermedad pulmonar.

CONCLUSIONES

El reflujo gastroesofágico en la población pediátrica presenta una variedad de manifestaciones. La asociación con enfermedades como asma es muy alta, por lo que una historia sugestiva de reflujo gastroesofágico, debe ser motivo de un estudio a fondo, incluyendo la búsqueda de macrófagos alveolares, ya que consideramos que el hallazgo de gran cantidad de lipófagos puede ser un método sensible para diagnosticar aspiración patológica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Benjamín S. Extraesophageal complications of gastroesophageal reflux. *J Clin Gastroenterol* 1986; 8: 68-71.
2. Deschner WK, Benjamin S. Extraesophageal manifestations of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 1-5.
3. Koufman J. The otolaryngic manifestations of gastroesophageal reflux disease. *Laryngoscope* 1991; 101 (suppl 53).
4. Bain W, Harrington J, Thomas L, Schaefer S. Head and neck manifestations of gastroesophageal reflux. *Laryngoscope* 1983; 93: 175-9.
5. Gaynor E. Gastroesophageal reflux as an etiologic factor in laryngeal complications of intubation. *Laryngoscope* 1988; 98: 972-9.
6. Little F, Koufman J, Kohut R, Marshall R. Effect of gastric acid on the pathogenesis of subglottic stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1985; 94: 516-9.
7. Shepherd R, Wren J, Evans S, Lander M, Ong T. Gastro-esophageal reflux in children. *Clin Pediatr (Phila)* 1987; 26: 55-60.
8. Kennedy J. "Silent" gastroesophageal reflux: an important but little known cause of pulmonary complications. *Dis Chest* 1962; 42: 42-5.
9. Malfroot A, Vandenplas Y, Verlinden M, Piepsz A, Dabs I. Gastroesophageal reflux and unexplained chronic respiratory disease in infants and children. *Pediatr Pulmonol* 1987; 3: 208-213.

10. Berquist W, Rachelefsky G, Kadden M, Siegel S, Katz R, Fonkels E, Ament M. Gastroesophageal reflux associated recurrent pneumonia and chronic asthma in children. *Pediatrics* 1981; 68:29-35.
11. Barish C, Wu W, Castell D. Respiratory complications of gastroesophageal reflux. *Arch Intern Med* 1985;145:1882-1888.
12. Burton D, Pransky S, Kearns D, Katz R, Seid A. Pediatric airway manifestations of gastroesophageal reflux. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992; 101: 742-749.
13. Waring P, Lacayo L, Hunter J, Katz R, Suwak B. Chronic cough and hoarseness in patients with severe gastroesophageal reflux disease. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1093-1097.
14. Field K, Underwood M, Brant r, CowieR. Prevalence of gastroesophageal reflux symptoms in asthma. *Chest* 1996; 109: 317-322.
15. Van Den Abbeele T, Bruhier N, Narcy P. Severe laryngeal manifestations of Gastroesophageal Reflux in children, *Pediatr Pulmonol* 1997; 16: 237-238.
16. Bobin S, Attal P. Laryngotracheal Manifestations of Gastroesophageal Reflux in Children. *Pediatr Pulmonol* 1999; 18: 73-75.
17. Castell D. The lower esophageal sphincter. *Ann Intern Med* 1975; 83: 390-391.
18. Richter J, Castell D. Drugs, foods and other substances in the cause and treatment of reflux esophagitis. *Med Clin North Am* 1981; 65: 1223-1234.
19. Theodoropoulos D, Lockey R, Boyce H, Bukantz S. Gastroesophageal reflux and asthma: a review of pathogenesis, diagnosis and therapy. *Allergy* 1999; 54: 651-661.

20. Yasser M, Philip O, Jan G, Donald O. Ineffective Esophageal Motility: The most common motility abnormality in patients with GERD-Associated Respiratory Symptoms.
21. Osler W. The principles and practice of medicine. 8th ed. New York: D. Appleton, 19912: 628-631.
22. Bray G. Recent advances in the treatment of asthma and hay fever. Practitioner 1934; 34:368.
23. Mendelsohn C. The aspiration of the stomach contents into the lungs during obstetric anesthesia. Am J Obstet Gynecol 1946; 52:1991.
24. Stephen J. Gastroesophageal Reflux and Asthma. The Am J Med 1997; 103: 84-90.
25. Ekstrom T, Tibbling L. Esophageal acid perfusion, airway function and symptoms in asthmatic patients with marked bronchial hyperreactivity. Chest 1989; 96: 995-998.
26. Wright R, Snider H. Gastroesophageal reflux-induced bronchial constriction (Editorial). Chest 1995; 108: 1187-1188.
27. Jack C, Calverley P, Donnelly R, Tran J. Simultaneous tracheal and esophageal pH measurements in asthmatic patients with gastroesophageal reflux. Thorax 1995; 50: 201-204.
28. Reich S, Earley W, Goodman M. Evaluation of gastro-pulmonary aspiration by a radioactive technique. J Nucl Med 1977; 17: 1079-1081.
29. Mansfield L, Hameister H, Spaulding H. The role of the vagus nerve in airway narrowing caused by intraesophageal hydrochloric acid provocation and esophageal distention. Ann Allergy 1981; 47: 431-434.

30. William G. Gastroesophageal reflux disease and Asthma. Arch Intern Med 1995; 155:798-803.
31. Tunnel W. Gastroesophageal reflux in childhood: implications for surgical treatment. Pediatr Ann 1989; 18: 192-6.
32. Meyers W, Roberts C. Value of tests for evaluation of gastroesophageal reflux in children. J Ped Surg 1985; 20:515-520.
33. Ashcraft K, Holder T, Amoury R. Treatment of gastroesophageal reflux in children by Thal fundoplication. J Thorac Cardiovasc Surg 1981; 82:706-712.
34. Johnson L, DeMeester T. Twenty-four hour pH monitoring in the distal esophagus. Am J Gastroenterol 1974; 62:325-332.
35. Hill J, Pelligrine C. Technique and experience with 24-hour esophageal pH monitoring in children. J Pediatr Surg 1977; 12: 877-887.
36. Berger D, Bischof-Delaloye A. Esophageal and pulmonary scintiscanning in gastroesophageal reflux in children. Prog Pediatr Surg 1985; 18:68-77.
37. Fawcett H, Hayden D. How useful is gastroesophageal reflux scintigraphy in suspected childhood aspiration. Pediatr Radiol 1988; 18:311-313.
38. Berdon W, Melins R, Levy J. Commentary on how useful is gastroesophageal reflux scintigraphy in suspected childhood aspiration. Pediatr Radiol 1988; 18: 309-310.
39. Sjirk J, Herbert H, Taminiu J. Symptomatic Gastroesophageal Reflux: Diagnosis with Ultrasound. J Pediatr Gastroenterol Nutrition 1994; 19:58-63.
40. Orenstein S, Orenstein D. Gastroesophageal reflux and respiratory disease in children. J Pediatr 1988; 112:847-858.

41. Corwin R, Irwin R. The lipid-laden alveolar macrophage as a marker of aspiration in parenchymal lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:576-81.
42. Moran J, Block S, Lyerty A, Brooks L, Dillard R. Lipid laden alveolar macrophage and lactose assay as markers of aspiration in neonates with lung disease. *J Pediatr* 1988; 112: 643-645.
43. Nussbaum E, Maggi J, Mathis R, Galand S. Association of lipid-laden alveolar macrophages and gastroesophageal reflux in children. *J Pediatr* 1987; 110:190-194.
44. Ratko Djukanivic. Bronchoscopy as a research tool for the study of asthma pathogenesis and effects of antiasthma drugs.
45. Nizar N, Stephen P, Ratko D, Calhoun W. Investigative Use of Bronchoscopy in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157: 692-697.
46. Sally E, Stanley J, Donald M, Sloan S, Michael D. Bronchoscopic Evaluation of severe Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 737-743.
47. Humbert M, Robinson D, Assoufi B, Kay B, Durham S. Safety of fiberoptic bronchoscopy in asthmatic and control subjects and effect on asthma control over two weeks. *Thorax* 1996;51: 664-669.