

Pneumologie

Herausgegeben von

Rudolf Ferlinz, Mainz

Unter Mitarbeit von

Jürgen Meier-Sydow,
Frankfurt/M.
Udo Smidt, Moers
Peter v. Wichert, Marburg

Beirat

P. Endres, Sande
H. Fabel, Hannover
R. Felix, Berlin
G. Frühmann, München
W. Hartung, Bochum
D. Hofmann, Frankfurt/M.
F. Kummer, Wien
H. Magnussen, Großhansdorf
J. A. Nakhosteen, Bochum
P. Satter, Frankfurt/M.
V. Sill, Hamburg
R. Wettengel, Bad Lippspringe

8 Med. 92 64 (42.2)

457-898

7

42. Jahrgang
Juli 1988
Seite 451-652

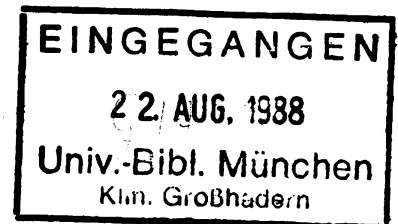
Verhandlungsbericht

19. Jahrestagung
der Österreichischen Gesellschaft
für Lungenerkrankungen und Tuberkulose

Chronische Atemwegserkrankungen –
Tuberkulose – Rehabilitation

Wien, 28. bis 31. Mai 1987

Herausgegeben von:
F. Muhar, Wien



 **Thieme**

Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York

Prax. Klin. Pneumol. ISSN 0312-7498



*This journal is regularly
listed in Science Citation Index,
Index Medicus,
and Excerpta Medica*

Beeinflusst die bronchoalveoläre Lavage das Milieu in der Alveole?

Th. Joka, J. A. Nakhosteen¹, U. Obertacke, J. Herrmann, Th. Coenen, M. Brand, M. Jochum², G. Zilow³, A. Dwenger⁴, E. Kreuzfelder⁵

Universitätsklinikum Essen, Medizinische Einrichtungen der Universität – Gesamthochschule – Essen.

Abteilung für Unfallchirurgie, Direktor: Prof. Dr. K. P. Schmit-Neuerburg

¹Augusta-Krankenanstalten Bochum, Abt. f. Lungen- und Bronchialheilkunde

²Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie in der Chirurgischen Klinik Innenstadt der Universität München

³Abteilung für Immunologie der Universität Heidelberg

⁴Abteilung für klinische Biochemie der Medizinischen Hochschule Hannover

⁵Institut für Virologie und Immunologie Gesamthochschule Essen

Gefördert: DFG II B 6/322239

Does Bronchoalveolar Lavage Exercise an Influence on the Milieu in the Alveoli?

In view of interpretative difficulties encountered by us in studying acute posttraumatic pulmonary changes caused by bronchoalveolar lavage (BAL) we tried to determine the influence of repeated BAL on the alveolar micromilieu. Ten healthy subjects were subjected to one BAL each on three successive days (lingula pulmonis sinistri, LB 4) by a researcher using local anaesthesia. Repeated lavages trigger a chemotactical stimulus for neutrophil granulocytes (PMN = polymorphonuclear neutrophil leukocytes), resulting in a moderate PMN influx; however, with the exception of a significant elastase-alpha-1-PI complex increase, no further pathological cell activities or mediator releases were seen.

Zusammenfassung

Aufgrund von Interpretationsschwierigkeiten bei der Erforschung akuter posttraumatischer Lungenveränderungen durch die bronchoalveoläre Lavage (BAL), versuchten wir in der vorliegenden Arbeit, den Einfluß der wiederholten BAL auf das Mikromilieu der Alveole zu klären. 10 gesunde Probanden unterzogen sich an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je einer BAL (Lingula, LB 4), die durch einen Untersucher in Lokalanästhesie durchgeführt wurden. Wiederholte Lavagen lösen einen chemotaktischen Reiz für neutrophile Granulozyten (PMN) aus. Es kommt zu einem mäßigen alveolären PMN-Influx, wobei mit Ausnahme eines signifikanten Elastase-Alpha-1-PI-Komplex-Anstieges weitere pathologische Zellaktivitäten oder Mediatorenfreisetzungen nicht nachgewiesen werden konnten.

Einleitung

Die BAL gilt heute als Standardverfahren in der Erforschung interstitieller Lungenerkrankungen (4, 5, 8, 15, 21, 22). Gerade bei chronischen interstitiellen Erkrankungen hat sich eine gute Übereinstimmung mit Probeexzisionen aus den entsprechenden Lungenabschnitten gezeigt (8). Diese Übereinstimmung, die gefahrlose Durchführung der BAL (10, 22) und gute Reproduzierbarkeit bei chronisch interstitiellen Lungenerkrankun-

gen (4, 8) haben viele Untersucher ermutigt, über dieses Verfahren auch pathophysiologische Zusammenhänge akuter Lungenerkrankungen, speziell des Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS), zu klären (5, 7, 9, 11, 12).

Sehr rasch treten aber Schwierigkeiten bei der Interpretation der BAL-Befunde auf, da es sich beim ARDS um Untersuchungen akuter Krankheitsbilder mit raschem Wechsel des Mikromilieus in der Alveole handelt (5, 9, 16, 18).

In der Verlaufsbeobachtung der BAL im ARDS fehlte eine geeignete Referenzgröße, auf die relative Veränderungen der verschiedenen humoralen und zellulären Komponenten in der Lavage-Flüssigkeit bezogen werden konnten (5, 7, 9, 16). Wir verwandten die Epithelial Lining Fluid (ELF), die den durch die BAL erreichten epithelialen Oberflächenflüssigkeitsfilm des tiefen Respirationstraktes quantitativ faßbar macht. Unter der Voraussetzung der freien Diffusion des Harnstoffs (Urea) errechnet sich das Volumen der ELF wie folgt (19):

$$\text{ELF (ml)} = \frac{\text{BAL Harnstoffkonz. (mg/ml)} \times \text{Recovery (ml)}}{\text{Plasma-Harnstoffkonzentration (mg/ml)}}$$

Jeder zelluläre bzw. löslicher Bestandteil der Lavage kann zu dieser – fiktiven – Größe in Bezug gesetzt und damit in einem täglichen Verlauf eingeschätzt werden. Dadurch gelingt ein Vergleich von Konzentrationen aller Stoffe in den Körperflüssigkeiten.

Weiterhin wurden Beeinflussungen der Alveole durch die mehrfach wiederholte BAL selbst diskutiert (3, 17, 23). Im Vordergrund stand dabei der Einwand, die BAL übe einen Reiz zur Aktivierung des alveolären Zellsystems aus.

Aufgrund der beschriebenen Problematik führten wir Serienuntersuchungen bei Normalprobanden durch drei, täglich aufeinanderfolgende BAL's durch.

Material und Methode

10 Mitarbeiter unseres wissenschaftlichen Teams unterzogen sich an drei aufeinanderfolgenden Tagen je einer BAL. Die BAL wurde nach beschriebener Technik (10) von nur einem Untersucher (J. A. N.) durchgeführt. Die Gesamtpülmenge von 100 ml 0,9%igem Kochsalz wurde in 10 Einzelportionen a 10 ml jeweils in das Segment LB 4 (Lingula) instilliert. Die Lokalanästhetika wurden sowohl vor der BAL inhalativ, als auch lokal auf Stimmritze und in das gespülte Segment verabreicht (insgesamt 8 ml 4% und 6 ml 2% Lidocain). Bei den 7 Männern und 3 Frauen handelte es sich ausschließlich um gesunde Pro-

Tab 1 Recovery, Harnstoff-Werte und theoretisches ELF-Volumen in der Serienlavage von 10 gesunden Normalprobanden, aufgeteilt in Raucher (n = 6) und Nichtraucher (n = 4)

	Tag 1		Lavage				alle Tage
	Raucher		Raucher		Raucher		
	nein	ja	nein	ja	nein	ja	
	MEAN	MEAN	MEAN	MEAN	MEAN	MEAN	MEAN
	SEM	SEM	SEM	SEM	SEM	SEM	SEM
Recovery	60,75	70,33	68,25	59,83	63,25	60,17	63,70
	8,86	6,89	2,43	3,25	4,85	4,48	2,19
ELV-Volumen (ml)	0,95	1,39	1,31	1,09	1,46	1,30	1,26
	0,20	0,12	0,34	0,03	0,21	0,11	0,08
Blut-Harnstoff (mg/dl)	24,30	22,70	24,07	20,93	23,85	30,75	24,51
	1,52	3,98	1,85	4,21	2,59	8,83	1,77
BAL-Harnstoff (mg/dl)	0,38	0,48	0,44	0,63	0,57	0,70	0,54
	0,06	0,12	0,09	0,14	0,13	0,18	0,05

banden mit einem durchschnittlichen Lebensalter von 31,3 Jahren. 6 Probanden waren Raucher.

Aufarbeitung der Spülflüssigkeit

Zelluläre Anteile: Auftrennung des Zellsedimentes über einen Percoll-doppelgradienten (69%/45% Percoll).

1. Zellzahlbestimmung mit dem Coultercounter bzw. Auszählung in einer Neubauer Zählkammer.
2. Morphologische Auswertung mit Zytozentrifugenausstrichen*. Färbung nach Pappenheim und Papanicolaou.

Tab 2a Relative und absolute Zellverteilung in der Serienlavage von 10 gesunden Normalprobanden, aufgeteilt in Raucher (n = 6) und Nichtraucher (n = 4). (Zellzahlen bezogen auf NATIV-Lavage und ELF)

Cytologie	Tag 1		Lavage			
	Raucher		Tag 2		Tag 3	
	nein	ja	nein	ja	nein	ja
	MEAN	MEAN	MEAN	MEAN	MEAN	MEAN
	SEM	SEM	SEM	SEM	SEM	SEM
Makrophagen (%)	80,3	87,8	69,5	83,3	57,8	75,7
	3,6	4,0	5,9	4,0	7,9	5,0
Granulozyten (%)	2,8	1,8	6,3	5,7	23,0	6,7
	0,9	0,6	1,9	2,1	12,5	2,2
Lymphozyten (%)	17,0	10,3	24,3	11,0	18,8	17,7
	3,5	3,6	4,2	2,2	4,9	4,6
Makrophagen/ml	$1,2 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$	$5,9 \times 10^4$	$4,3 \times 10^5$	$6,3 \times 10^4$	$2,5 \times 10^5$
NATIV-LAVAGE	$6,5 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$	$8,8 \times 10^3$	$1,3 \times 10^5$	$1,5 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$
Granulozyten/ml	$1,3 \times 10^3$	$6,4 \times 10^3$	$5,8 \times 10^3$	$2,9 \times 10^4$	$3,7 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$
NATIV-LAVAGE	$7,7 \times 10^2$	$2,8 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$	$6,9 \times 10^3$
Lymphozyten/ml	$1,9 \times 10^4$	$3,9 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$4,7 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$
NATIV-LAVAGE	$4,5 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$	$7,2 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$	$6,7 \times 10^3$	$1,9 \times 10^4$
Gesamtzellzahl/ml	$1,4 \times 10^5$	$4,3 \times 10^5$	$2,6 \times 10^4$	$5,0 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$
NATIV-LAVAGE	$6,9 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$	$1,7 \times 10^4$	$1,4 \times 10^5$	$3,5 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$
Makrophagen/ml ELF	$7,7 \times 10^6$	$1,8 \times 10^7$	$3,3 \times 10^6$	$2,5 \times 10^7$	$2,7 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$
	$3,9 \times 10^6$	$7,8 \times 10^6$	$5,1 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$	$6,0 \times 10^5$	$6,7 \times 10^6$
Granulozyten/ml ELF	$1,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$2,9 \times 10^5$	$5,4 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$	$7,3 \times 10^5$
	$3,4 \times 10^4$	$1,7 \times 10^5$	$9,9 \times 10^4$	$2,2 \times 10^5$	$9,0 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$
Gesamtzellzahl/ml ELF	$9,1 \times 10^6$	$2,0 \times 10^7$	$4,8 \times 10^6$	$2,7 \times 10^7$	$4,8 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$
	$4,1 \times 10^6$	$8,1 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5$	$1,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^6$	$7,1 \times 10^6$
PEAK (mV)	9,8	9,2	18,3	16,8	35,5	34,8
	3,6	0,9	8,2	3,2	2,7	10,2

3. Funktionsteste der Zellsysteme: Entsprechend der Zellzahl auffüllen mit dem Nährmedium (RPMI), um eine standardisierte Zellzahl von 1,5 Mio/ml zu erreichen. Daran schließt sich die luminolverstärkte Chemolumineszenz (LKB Luminometer 1251) mit AB-opsoniertem Zymosan (20 µl) für eine einheitliche Zellzahl von 375.000 Zellen für jedes Zellsystem an. Das PEAK-Maximum nach Zymosanstimulation gilt als Maß für die metabolische Aktivität der Zellsysteme (12).

Plasmatische Faktoren

Anteile der Lavage-Flüssigkeit werden zunächst vor der Zentrifugation mit verschiedenen Zusätzen versetzt, die weitere biochemische Reaktionen stoppen. (EDTA, Citrat, Diclofenac usw.) Nach Zentrifugation über 10 Minuten bei 4000 Umdrehungen/min werden die zellfreien Überstände bei -70 °C zunächst eingefroren (1, 10, 11, 16, 20). An plasmatischen Faktoren wurden sowohl in der Lavage-Flüssigkeit, wie in den Blutplasmen Harnstoff, Gesamtprotein, Albumin, Alpha-2-Makroglobulin, Coeruloplasmin, Transferrin, IGA, IGG, NAG, C3a, Elastase, Alpha-1-Proteinase-Inhibitor und LDH gemessen. Neben dem Gesamtphospholipid wurde das Phospholipid-Profil mittels HPLC bestimmt (18). Sämtliche Lavage-Parameter wurden auf das ELF bezogen (19).

Statistische Auswertung

Die Ergebnisse der Lavage wurde mittels Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben auf Unterschiede zwischen 1. und 3. Lavage, mittels Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben

* Cytospin I Shandon Frankfurt FRG

Tab 2b Relative und absolute Zellverteilung in der Serienlavage von 10 gesunden Normalprobanden; Raucher und Nichtraucher zusammengefaßt (Zellzahlen bezogen auf Nativ-Lavage und ELF)

Cytologie	Tag 1		Tag 2		Tag 3		alle Tage	
	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM
Makrophagen (%)	84,8	2,9	77,8	3,9	68,5	5,0	77,0	2,6
Granulozyten (%)	2,2	0,5	5,9	1,4	13,2	5,45	7,1	2,0
Lymphozyten (%)	13,0	2,7	16,3	3,0	18,1	3,2	15,8	1,7
Makrophagen (+ ml/Nativ-Lavage)	$3,0 \times 10^5$	$8,4 \times 10^4$	$2,8 \times 10^5$	$9,7 \times 10^4$	$1,8 \times 10^5$	$6,6 \times 10^4$	$2,5 \times 10^5$	$4,8 \times 10^4$
Granulozyten (ml/Nativ-Lavage)	$5,1 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^4$	$7,9 \times 10^3$	$2,5 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$
Lymphozyten (ml/Nativ-Lavage)	$3,2 \times 10^4$	$9,6 \times 10^3$	$3,7 \times 10^4$	$9,3 \times 10^3$	$3,3 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$3,4 \times 10^4$	$5,8 \times 10^3$
Gesamtzellzahl (ml/Nativ-Lavage)	$3,3 \times 10^5$	$9,1 \times 10^4$	$3,4 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5$	$7,3 \times 10^4$	$3,0 \times 10^5$	$5,1 \times 10^4$
Makrophagen (ml/ELF)	$1,4 \times 10^7$	$5,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$	$5,9 \times 10^6$	$7,9 \times 10^6$	$3,7 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$2,8 \times 10^6$
Granulozyten (ml/ELF)	$2,7 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$4,6 \times 10^5$	$5,6 \times 10^5$	$1,7 \times 10^5$
Lymphozyten (ml/ELF)	$1,4 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5$	$1,2 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5$	$9,9 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$	$1,2 \times 10^6$	$1,7 \times 10^5$
Gesamtzellzahl (ml/ELF)	$1,6 \times 10^7$	$5,4 \times 10^6$	$1,4 \times 10^7$	$6,1 \times 10^6$	$9,9 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$	$2,9 \times 10^6$
PEAK (mV)	9,4	1,4	17,4	3,5	35,1	6,0	20,6	3,0

auf Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern am jeweils selben Tag getestet. Alle Angaben sind als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM) ausgedrückt.

Ergebnisse

Komplikationen traten in den Untersuchungsreihen nicht auf. Lediglich je ein Raucher und Nichtraucher entwickelte bei anfänglich geringen – bronchoskopisch sichtbaren – Infektzeichen (Schleimhautrötung bei 1. Lavage), eine Bronchitis im Laufe der Spülserie. Die Recovery betrug im Gesamtkollektiv $63,7 \pm 2,19$ ml. Hämoglobin in der zurückgewonnenen Spülflüssigkeit konnte nicht nachgewiesen werden. Das durchschnittliche ELF-Volumen wurde mit $1,26 \pm 0,08$ ml errechnet (Tab. 1).

Zellverhalten

Die Gesamtzellzahl betrug für unser untersuchtes Normalkollektiv am 1. Tag $16 \pm 5,4 \times 10^6$ Zellen/ml ELF, am 2. Tag $14 \pm 6,1 \times 10^6$ Zellen/ml ELF und am 3. Tag $9,9 \pm 3,8 \times 10^6$ Zellen. Gemittelt über alle 3 Tage wurden durchschnittlich $13 \pm 2,9 \times 10^6$ Zellen/ml ELF, das entspricht 30000 ± 51000 /ml BAL, nachgewiesen (Tab. 2b). Dabei fand sich ein statistisch signifikanter Unterschied ($P < 0,01$) zwischen Nichtrauchern ($6 \pm 1,2 \times 10^6$ Zellen/ml ELF) und Rauchern ($20 \pm 4,7 \times 10^6$ Zellen/ml ELF). An den einzelnen Tagen wiesen Raucher 2- bis 4-fach höhere Gesamtzellzahlen als Nichtraucher auf (Tab. 2a). Die Zellverteilung änderte sich im Laufe der Spülserie. Es kam zu einem Anstieg der Granulozyten von $2,2 \pm 0,5\%$ über $5,9 \pm 1,4\%$ auf $13,2 \pm 5,4\%$ am 3. Tag. Diesen ansteigenden Verlauf sahen wir auch bei den Lymphozyten (Tab. 2b). Der Anteil der Makrophagen im Lavageausstrich ging dementsprechend zurück. Diese Veränderungen waren auf dem 5%-Niveau signifikant. Bei dem Verlauf der Absolutzellzahl der einzelnen Zelltypen bestätigt sich zwar der Anstieg der Granulozyten und der Abfall der Makrophagen, die Lymphozyten aber fallen im Gegensatz zur prozentualen

Verteilung stetig ab (Tab. 2b). Das Zellspektrum offenbarte auch deutliche Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern. Bei dem Nichtraucher mit dem beginnenden Infekt stieg in der 3. Lavage die Gesamtzellzahl auf das 2,5fache des Ausgangswertes. Bei gleichgebliebener Makrophagenzahl wurde dieser Anstieg durch den 20fachen Anstieg der Granulozyten und der Lymphozyten auf das 5fache hervorgerufen (Tab. 2a). Die Zelldifferenzierung im Blut zeigte bis auf einen klinisch unauffälligen Probanden mit einer Lymphozytose und Monozytose keine Auffälligkeiten.

Chemolumineszenz (Abb. 2b)

Der Aktivitätsgrad aller Phagozyten in der 1. BAL bei der Luminol-verstärkten Chemolumineszenz zeigte eine niedrige Grundaktivität und eine geringe Stimulierbarkeit der Zellen mit opsoniertem Zymosan auf einen mittleren Peak von 9 mVolt. Diese Stimulierbarkeit nahm im Laufe der Lavage-Serie bis auf das 4fache zu, überschritt aber nicht 40 mVolt. Eine ähnliche Aktivitätssteigerung in der Serien-Lavage konnten wir auch bei den durch Percollgradienten gereinigten Makrophagen beobachten. Die Peak-Höhe war unabhängig von der Granulozytenzahl. Die Peak-Zeit reichte von 2–60 min und stand nicht mit der Peak-Höhe in Zusammenhang.

Humorale BAL-Komponenten

Der Gehalt an Gesamtprotein in allen BAL's des ersten Tages lag bei $12,325$ g/l ELF (= $0,27159$ g/ml BAL). Dies entspricht etwa 5% des Serumwertes. In der Serien-Lavage zeigt die Gesamtprotein-Konzentration gering steigende Tendenz (Abb. 3b). In der Alveole von Nichtrauchern wurde am ersten Tag deutlich mehr Gesamtprotein ($p = 0,013$) nachgewiesen (Tab. 3a). Albumin, Alpha-2-Makroglobulin, Coeroluplasmin, Transferrin, Alpha-1-PI und IGA waren ebenfalls in geringerer Konzentration in der Lavage gegenüber dem Blut nachzuweisen (Tab. 3b). Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern entstanden nicht. Auffällig war, daß die Proteine mit

Tab 3 a Proteine und Enzyme im Serum und in der Serienlavage von 10 gesunden Normalprobanden, aufgeteilt in Raucher (n = 6) Nichtraucher (n = 4), (Lavagewerte bezogen auf die ELF)

Proteine und Enzyme	Lavage					
	Tag 1 Raucher		Tag 2 Raucher		Tag 3 Raucher	
	nein MEAN SEM	ja MEAN SEM	nein MEAN SEM	ja MEAN SEM	nein MEAN SEM	ja MEAN SEM
BAL-Protein (g/ELF)	15,12	10,09	13,98	10,65	13,38	13,19
Blut-Protein (g/l)	1,60	0,50	2,35	0,65	1,67	1,44
BAL-Albumin (g/ELF)	68,2	70,14			68,25	69,42
Blut-Albumin (g/L)	2,87	1,72			2,06	2,34
BAL-A2-Makroglobulin (mg/dl)	3,79	2,82	4,70	1,87	3,96	4,11
Blut-A2-Makroglobulin (mg/dl)	0,65	1,37	0,68	1,02	0,75	0,52
BAL-Coerulopl. (mg/dl ELF)	46,07	44,40			46,15	43,22
Blut-coerulopl. (mg/dl)	0,47	1,59			0,53	1,08
BAL-Transferrin (mg/dl ELF)	14,89	9,07	11,72	6,66	9,37	6,75
Blut-Transferrin (mg/dl)	0,57	3,21	2,53	1,93	1,25	1,63
BAL-Myoglobulin (µg/l ELF)	117,12	178,90			141,50	178,87
Blut-Myoglobulin (µg/l)	15,50	25,73			36,47	19,58
BAL-IgA (mg/dl ELF)	3,61	2,96	3,88	2,77	1,46	3,21
Blut-IgA (mg/dl)	0,17	0,17		0,50		0,78
BAL-IgG (mg/dl ELF)	21,40	41,17			20,70	37,97
Blut-IgG (mg/dl)		5,99				7,35
BAL-NAG (mU/ELF)	28,29	23,11	46,39	19,96	23,12	29,2
Blut-NAG (mU/l)	5,77	6,0	17,73	4,96	1,82	5,04
BAL-Elastase (ng/ml ELF)	324,00	345,50			321,00	356,33
Blut-Elastase (ng/ml)	6,12	27,98			21,77	48,04
BAL-Coerulopl. (mg/dl ELF)	874,31	146,7	241,48	134,66	218,80	150,79
Blut-Coerulopl. (mg/dl)	378,56	146,78	99,20	134,66	77,40	93,39
BAL-IgA (mg/dl ELF)	91,25	62,67			87,00	53,17
Blut-IgA (mg/dl)	21,61	6,81			20,85	5,75
BAL-IgG (mg/dl ELF)	12,94	7,56	30,64	9,95	20,83	15,81
Blut-IgG (mg/dl)	5,01	1,31	25,65	0,54	15,76	5,02
BAL-Transferrin (mg/dl ELF)	229,75	166,83			213,75	165,33
Blut-Transferrin (mg/dl)	39,31	17,06			35,98	17,32
BAL-NAG (mU/ELF)	18976,6	116706	12393,9	149507	24057,4	54617
Blut-NAG (mU/l)	3795,66	51439,4	2705,17	74786,1	8675,44	21625,1
BAL-C3a (ng/ml ELF)	7774,50	7773,80			7814,75	6685,25
Blut-C3a (ng/ml)	1346,03	1275,63			1149,90	385,15
BAL-Elastase (ng/ml ELF)	1891,97	1491,44	2234,38	780,44	2206,60	2644,22
Blut-Elastase (ng/ml)	1109,42	1022,11	1325,90	780,44	1103,44	1102,76
BAL-A1-Antitrypsin (ml/dl ELF)	252,00	207,00			232,00	189,33
Blut-A1-Antitrypsin (ml/dl)	30,02	3,68			8,0	15,41
BAL-Elastase (ng/ml ELF)	803,08	515,90	1103,98	1446,22	2897,50	2177,27
Blut-Elastase (ng/ml)	109,51	153,65	94,88	242,47	1086,36	744,23
BAL-A1-Antitrypsin (ml/dl ELF)	131,47	117,02			119,72	391,27
Blut-A1-Antitrypsin (ml/dl)	15,51	19,13			5,61	212,02
BAL-A1-Antitrypsin (ml/dl ELF)	19,14	11,9	12,36	11,87	24,24	18,16
Blut-A1-Antitrypsin (ml/dl)	2,92	2,06	4,51	2,95	13,71	2,40
BAL-LDH (U/ELF)	235,75	300,03			238,75	280,17
Blut-LDH (U/l)	8,49	13,39			14,20	17,46
BAL-LDH (U/ELF)	2006,76	2262,48	1269,24	3421,68	1427,44	2569,52
Blut-LDH (U/l)	166,54	516,79	123,17	1574,07	178,10	557,32
BAL-LDH (U/ELF)	184,75	154,50				144,00
Blut-LDH (U/l)	19,79	5,00				

überwiegend kapillärem Ursprung von Lavage zu Lavage an Konzentration abnehmen. Dies trifft besonders für die großen Proteine wie Alpha-2-Makroglobulin und Coeruloplasmin zu. Signifikant war diese Konzentrationsabnahme aber nicht (Tab. 3b). Bei den überwiegend lokal produzierten Proteinen und Enzymen (LDH, NAG, Elastase, C3a) war die Schwankungsbreite der Meßwerte sehr hoch (Tab. 3b). Der Gehalt in der Alveole war bis zum 10fachen höher als im Blut. Raucher wiesen höhere LDH und NAG-Werte in der BAL auf, ohne daß dieser Unterschied statistisch zu sichern war.

Dagegen war der C3a- und IGA-Gehalt der Nichtraucher im Durchschnitt in allen Lavagen höher (Tab. 3a). Im Laufe der BAL-Serien stieg der Gehalt an Transferrin von Lavage zu Lavage geringfügig an. Dagegen verloren LDH und NAG an Konzentration von Lavage zu Lavage. Signifikant stieg die granulozytäre Elastase im Laufe der BAL-Serie an (Tab. 3a). Beeinflussungen durch die wiederholte BAL waren bei den Fraktionsverläufen der Phospholipide des Lungensurfactant nicht sichtbar (Die Daten wurden nicht gezeigt).

Diskussion

Die BAL wird heute auch bei Patienten im ARDS (Adult Respiratory Distress Syndrom) zum Studium des zellulären und biochemischen Milieus der Alveole durchgeführt (5, 7, 9, 11, 12). Wir nutzen die BAL zu prospektiven täglichen Verlaufuntersuchungen bei ARDS-gefährdeten Polytraumapatienten. Schwierigkeiten bei der Gewinnung und Interpretation der Daten treten auf, da es sich um Untersuchungen akuter Krankheitsbilder mit raschem Wechsel der chemisch-biologischen BAL-Zusammensetzung handelt (5, 9, 16, 17). Durch Standardisierung des Verfahrens und Umrechnung aller Parameter auf eine Referenzgröße (ELF) konnten die meisten Interpretationsbehindernisse ausgeräumt werden. Die ELF entspricht dem tatsächlich durch die BAL der alveolären Oberfläche entnommenen Flüssigkeitsvolumen. Die ELF ist zudem für eine bestimmte BAL-Technik (z. B. 10 × 10 ml NaCl 0,9%) relativ konstant (19). Die Bestimmung der ELF mittels Harnstoff als frei diffundierender Marker ist nur durch die Möglichkeit einer Harnstoffdiffusion auch während der BAL begrenzt (13). Ein Lavage-Volumen von 100 ml NaCl 0,9%ig läßt die Errechnung der ELF über den Harnstoff jedoch zu. Der Bezug eines BAL-Faktors auf die ELF dient weniger der Bestimmung von Absolutwerten oder Normalwerten als vielmehr Interpretationen von BAL-Faktorenverläufen aufgrund der Unabhängigkeit von Verdünnungsgrad. Eine Beeinflussung der Alveole durch die bronchoskopische Diagnostik wurde immer wieder diskutiert (4, 19, 23). Parson (17), Cohen (3) und Woodside (23) berichteten über chemotaktische Aktivitäten mit erheblichem Granulozyten-Influx nach Bronchoskopie und BAL. Zusätzlich fand Cohen (3) eine Stimulierung des Knochenmarks mit Auftreten jugendlicher Zellformen in der Peripherie. In dieser Arbeit sollte deshalb untersucht werden, welche Veränderungen durch die BAL-Serienuntersuchung bei gesunden Menschen ausgelöst werden. Die Gesamtzellzahl und Zellverteilung unseres Kollektives entsprach am Tag 1 den bisher veröffentlichten Literaturangaben (13000 ± 2900 Zellen/µl ELF bzw. 300000 ± 51000/ml BAL) (4, 5, 8, 19, 20, 21, 22). Darüberhinaus entsprechen die übrigen zellulären und humoralen Komponenten der Alveole am Tag 1 den mitgeteilten (1, 4, 5) und den von uns gefundenen (16) Normalwerten.

Auf die wiederholte BAL reagiert die Alveole: Der Anstieg der Granulozyten in der Alveole nach 3maliger BAL muß einem chemotaktischen Reiz auf die PMN zugeschrieben werden. Parallel dazu verläuft nicht signifikant die steigende Reizantwort in der Chemolumineszenz auf das Bakterienantigen Zymosan bis zu einem maximalen Peak von 40 mV, zum anderen der vermehrte Nachweis des Elastase-Alpha-1-PI-Komplexes. Diese Aktivierung des phagozytären Zellsystems betrifft nach unserer Auffassung überwiegend die PMN. Dies schließen wir aus dem zahlenmäßigen Anstieg der PMN wie der parallel damit ansteigenden Elastasefreisetzung als granulozytäres Enzym. Die Aktivierung der Makrophagen scheint aufgrund

Tab 3 b –Proteine und Enzyme im Serum und in der Serienlavage von 10 gesunden Normalprobanden, Raucher und Nichtraucher zusammengefaßt (Lavagewerte bezogen auf ELF).

Proteine und Enzyme	Tag 1		Tag 2		Tag 3		alle Tage	
	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM
BAL-Protein (g/l ELF)	12,33	1,13	12,56	1,44	13,28	1,02	12,71	0,66
Blut-Protein (g/l)	69,29	1,52			68,84	1,46	69,08	1,03
BAL-Albumin (g/l ELF)	3,25	0,79	3,49	0,78	4,04	0,42	3,58	0,39
Blut-Albumin (g/l)	45,14	0,91			44,69	0,79	44,93	0,59
BAL-A-2-Makroglobulin (mg/dl ELF)	11,56	2,09	9,55	1,85	8,06	1,07	9,65	0,97
Blut-A-2-Makroglobulin (mg/dl)	151,44	18,49			160,19	20,42	155,56	13,32
BAL-Coeruloplasmin (mg/dl ELF)	3,12	0,20	3,14	0,47	3,02	0,58	3,09	0,23
Blut-Coeruloplasmin (mg/dl)	36,22	6,51			33,65	6,75	34,94	4,37
BAL-Transferrin (mg/dl ELF)	25,41	4,05	33,17	10,10	26,65	3,05	27,92	3,24
Blut-Transferrin (mg/dl)	336,90	16,68			342,20	29,42	339,55	16,47
BAL-Myoglobin (μ g/l ELF)	447,01	216,01	195,70	76,60	184,80	57,60	271,70	76,56
Blut-Myoglobin (μ g/l)	74,10	9,97			66,70	9,98	70,40	6,92
BAL-IgA (mg/dl ELF)	9,95	2,35	20,30	12,37	17,96	6,61	15,32	3,97
Blut-IgA (mg/dl)	192,00	20,21			184,70	18,31	188,35	13,30
BAL-NAG (mU/l ELF)	73270,5	32127,7	71156,8	39603,5	39337,2	12234,8	61342,9	16742,7
Blut-NAG (mU/l)	7774,11	868,32			7250,00	600,58	7527,47	527,37
BAL-C3a (ng/ml ELF)	1669,45	707,31	1611,26	821,94	2456,67	727,47	1891,33	421,39
Blut-C3a (ng/ml)	225,00	13,38			203,56	12,44	214,84	9,28
BAL-Elastase (ng/dl ELF)	643,58	105,36	1250,65	125,48	2537,38	624,59	1451,91	265,45
Blut-Elastase (ng/dl)	143,44	12,17			255,50	110,79	185,59	53,27
BAL-A1-Antitrypsin (mg/dl ELF)	15,52	2,15	12,15	2,66	21,20	6,55	16,47	2,54
Blut-A1-Antitrypsin (mg/dl)	274,80	13,50			268,40	13,91	271,60	9,46
BAL-LDH (UI ELF)	2148,83	284,30	2191,71	739,86	1998,48	346,32	2111,22	254,26
Blut-LDH (UI)	166,60	9,22			144,00		164,55	8,59

der Abnahme der monozytären Zellen zunächst unwahrscheinlich. Die Linksverschiebung der Blutzellen, wie sie von *Cohen* (3) im Tierexperiment nach Bronchoskopie beschrieben wurde, können wir in unserem Kollektiv nicht nachvollziehen. Den Stellenwert dieser Veränderungen der Alveole durch die BAL schätzen wir als gering ein. Eine Aktivierung des Zellsystems im Sinne des „Respiratory Burst“ können wir aufgrund der nur geringfügigen und nur wenige Parameter umfassenden Änderungen ausschließen. Demgegenüber steht eine erhebliche Funktionssteigerung der alveolären Zellen in der Pneumonie und ARDS (11). Eine maximale Stimulation bis zu einem Peak von 40 mV ist auch in unserem Erfahrungsgut an der oberen Grenze des Physiologischen (16). Freie Elastase oder Leukotriene werden nach 3maliger BAL nicht nachgewiesen. LDH und NAG als Marker des Zellerfalles haben abnehmende Konzentrationstendenz. Als Ausdruck der lokalen Reizung finden wir lediglich gering vermehrt Transferrin und IGA. Beide Stoffe spielen in der lokalen alveolären Infektabwehr eine relevante Rolle (6, 14). Aufgrund der Vergleichsmessungen im Blut und in der BAL (KonzentrationBAL/Konzentration Blut) können wir die humoralen Faktoren unterteilen in:

1. Stoffe überwiegend kapillären Ursprungs, die über das Ausmaß der Permeabilitäts-Veränderungen der alveolo-kapillären Barriere schließen lassen: Harnstoff, Albumin, Alpha-2-Makroglobulin, Transferrin, Alpha-1-PI, Coeruloplasmin und IGA (6).
2. aus Phagozyten bzw. lokal alveolär freigesetzte Enzyme und Mediatoren: LDH, NAG, Elastase, Komplementspaltprodukte (1, 5, 7) (Tab. 3b).

Aus dem Verhalten der humoralen Faktoren ist nachzuweisen, daß die Serienlavage keinen alveolokapillären Barrierschaden verursacht. Die Abnahme zahlreicher Proteine mit kapillärem Ursprung mit hohem Molekulargewicht, wie Alpha-2-Makroglobulin und Coeruloplasmin schließt diese Störung aus. Insofern sind gravierende Proteinverteilungsänderungen bei Serienlavagen im ARDS nicht durch die Methode der BAL erklärt, sondern als Ausdruck einer Schrankenstörung der alveolo-capillären Membran interpretierbar (11). Abschließend kann der lokale Effekt der Bronchoskopie bzw. bronchoalveolären Lavage auch am Verhalten des Surfactant des gespülten Segments abgeschätzt werden. Im Verlauf unserer Spülserien kam es weder zu Veränderungen der Gesamt-

Phospholipid-Konzentrationen bzw. seiner Fraktionen, noch zu einer Einbuße der Surfactant-Funktion, gemessen an der unveränderten Hysterese-Kurve.

Acknowledgement

Frau G. Borowitzki und Frau S. Oberste-Beulmann wird für die klinische Hilfe gedankt.

Literatur

1. Bell, D. Y., J. A. Hasemann, A. Spock, G. Mc Lennan, G. E. R. Hook: Plasma proteins of the bronchoalveolar surface of the lungs of smokers and non-smokers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 124 (1981) 72–79
2. Burns, D. M., D. Shure, R. Francoz, M. Kalafer, J. Harrell, K. Witzum, K. M. Moser: The physiologic consequences of saline lobar lavage in healthy human adults. *Am. Rev. Respir. Dis.* 127 (1983) 695–701
3. Cohen A. B., G. K. Barta: Bronchoscopy and lung lavage induced bilateral pulmonary neutrophil influx and blood leucocytosis in dogs and monkeys. *Am. Rev. Resp. Dis.* Vol. 122 (1980) 239–247
4. Costabel, U., K. J. Bross, H. Matthys: Bronchoalveoläre Lavage: Klinische Bedeutung zytologischer und immunzytologischer Befunde. *Prax. Klin. Pneumol.* 39 (1985) 343–355
5. Crystal, R. G., H. Y. Reynolds, A. R. Kalica: Bronchoalveolar Lavage. The report of an international conference. *Chest* 89 (1986) 122–131
6. Delacroix, D. L., F. X. Marchandise, C. Francis, Y. Sibille: Alpha-2-macroglobulin, monomeric and polymeric immunoglobulin A and immunoglobulin M in bronchoalveolar lavage. *Am. Rev. Resp. Dis.* 132 (1985) 829–835
7. Dwenger, A., G. Regel, TH. Joka, G. Schweitzer: Zum Pathomechanismus des ARDS: Blut und BAL-Protein/Harnstoff-Relationen bei Patienten mit multiplem Trauma. *Chirurgisches Forum* 1986. Springer Berlin Heidelberg (pp 211–215)
8. Hunninghake, G. W., J. E. Gadek, O. Kawanami, V. J. Ferrans, R. G. Chrystal: Inflammatory and immune processes in the human lung in health and disease: evaluation by bronchoalveolar lavage. *Am. J. Pathology* 97 (1979) 149–198
9. Idell, S. A. B. Cohen: Bronchoalveolar lavage in patients with the adult respiratory distress syndrom. *Clinics in Chest Medicine* 6 (1985) 459–471
10. Joka TH., U. Obertacke, U. Pison, F. Neudeck, HO. Kleinecke: Die bronchoalveoläre Lavage als Diagnostikum in der Intensivtherapie. *Anaesth. Intensivth. Notfallmed.* 20 (1985) 79–83
11. TH. Joka, U. Obertacke, W. Schönfeld, S. Oberste-Beulmann, U. Pison, E. Kreuzfelder, M. Jochum, G. Zilow: Reaction pattern of alveolar cells in the posttraumatic lung failure. 1th Vienna Shock Forum 1986. In: Schlag, G., Redl, H. (Eds.): *Progress in Clinical and Biological Research* Vol 236 A Alan R. Liss. Inc. New York (1987) (pp 509–515)
12. M. Maghsudi, J. A. Sturm, G. Regel, H. J. Oestern, A. Dwenger, G. Schweitzer: Die Granulozytenfunktion nach schwerem Polytrauma. *Chr. Forum* 1985, Langenbecks Arch. Chir. Springer Berlin Heidelberg (1985)
13. T. W. Marcy, W. W. Merrill, J. A. Rankin, H. Y. Reynolds: Limitations of using urea to quantify epithelial lining fluid recovered by bronchoalveolar lavage. *Am. Rev. Respir. Dis.* 135 (1987) 1276–1280
14. B. Müller, P. v. Wichert: Bronchoalveolar lavage proteins. *Klin. Wochenschr.* 63 (1985) 781–787
15. J. A. Nakhosteen, D. C. Zavala: Atlas und Lehrbuch der flexiblen Bronchoskopie. Springer Berlin Heidelberg (1983)
16. Obertacke, U., TH. Joka, U. Pison, H. D. Riewendt, W. Stimming: Die bronchoalveoläre Lavage als Diagnostikum in der Intensivmedizin, Teil 2: Normalwerte der Zellverteilung und -Funktion in der menschlichen Alveole. *Anaesth. Intensivth. Notfallmed.* 22 (1987) 224–228
17. Parsons, P. E., A. A. Fowler, T. M. Hyers, P. M. Heson: Chemotactic activity in bronchoalveolar lavage fluid from patients with ARDS. *Am. Rev. respir. Dis.* 132 (1985) 490–493
18. Pison, U., E. Gono, TH. Joka, U. Obertacke, M. Obladen: High pressure liquid chromatography of the adult human bronchoalveolar lavage: essay for phospholipid lung profile. *J. Chromatography* 377 (1986) 79–89
19. S. I. Rennard, G. Bassett, D. Lecossier, K. M. O'Donnell, P. Pinkston, P. G. Martin, R. G. Crystal: Estimation of volume of epithelial lining fluid recovered by lavage using urea as marker of dilution. *J. Appl. Physiol.* 60 (1986) 532–538
20. Reynolds, H. Y., H. H. Newball: Analysis of proteins and respiratory cells obtained from human lungs by bronchial lavage. *J. Lab. Clin. Med.* 84 (1974) 559–573
21. Rubin, R.: Bronchoalveoläre Lavage. *Prax. Klin. Pneumonol.* 37 (1983) 768–773
22. Schulz, V.: Bronchoalveoläre Lavage. Bochum 29.5.–1.6.1985. I. Bochumer Fortbildungsseminar zur Qualitätssicherung in der Bronchologie
23. Woodside, K. H., S. B. Latham, S. M. Denas: Increased Recovery of Neutrophils, Macrophages and Lymphocytes following repeated lavage of sheep lung in vivo. *Exper. Lung Res.* 5 (1983) 295–303

Für die Autoren: Dr. med. Theo Joka, Oberarzt der Abteilung für Unfallchirurgie, Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, D-4300 Essen 1