

**Persönliche PDF-Datei für
J. Schildge, J. Frank, B. Klar**

Mit den besten Grüßen vom Georg Thieme Verlag

www.thieme.de

Der Stellenwert der bronchoalveolären Lavage bei der Diagnostik der idiopathischen Lungenfibrose

DOI 10.1055/s-0042-107267
Pneumologie 2016; 70: 435–441

Dieser elektronische Sonderdruck ist nur für die Nutzung zu nicht-kommerziellen, persönlichen Zwecken bestimmt (z. B. im Rahmen des fachlichen Austauschs mit einzelnen Kollegen und zur Verwendung auf der privaten Homepage des Autors). Diese PDF-Datei ist nicht für die Einstellung in Repositorien vorgesehen, dies gilt auch für soziale und wissenschaftliche Netzwerke und Plattformen.

Verlag und Copyright:
© 2016 by
Georg Thieme Verlag KG
Rüdigerstraße 14
70469 Stuttgart
ISSN 0934-8387

Nachdruck nur
mit Genehmigung
des Verlags

 **Thieme**

Der Stellenwert der bronchoalveolären Lavage bei der Diagnostik der idiopathischen Lungenfibrose – eine Analyse unter Berücksichtigung des Proteingehaltes*

The Role of Bronchoalveolar Lavage in the Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis: An Investigation of the Relevance of the Protein Content

Autoren

J. Schildge¹, J. Frank², B. Klar²

Institute

¹ Medizin. Klinik, Abt. Pneumologie, St. Vincentius-Kliniken Karlsruhe gAG
² Fakultät für Mathematik, Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

eingereicht 11.3.2016
akzeptiert nach Revision
26.3.2016

Bibliografie

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0042-107267>
Online-Publikation: 24.5.2016
Pneumologie 2016; 70: 435–441
© Georg Thieme Verlag KG
Stuttgart · New York
ISSN 0934-8387

Korrespondenzadresse

Dr. med. Johannes Schildge
St. Vincentius-Kliniken Karlsruhe
gAG
Medizinische Klinik – Abteilung
Pneumologie
Südenstraße 32
76137 Karlsruhe
johannes.schildge@vincentius-
ka.de
www.vincentius-ka.de

Zusammenfassung

Obwohl die bronchoalveoläre Lavage (BAL) bei der Diagnostik interstitieller Lungenkrankheiten (ILK) häufig zum Einsatz kommt, ist ihr Stellenwert insbesondere bei der idiopathischen Lungenfibrose (IPF) wissenschaftlich umstritten. Berücksichtigt werden in der klinischen Routine die Zellverteilungen in der BAL, nichtzelluläre Merkmale der BAL spielen keine Rolle.

Die vorliegende Arbeit untersucht mit Hilfe mathematischer Datenmodellierung, in welchem Umfang BAL-Merkmale einen Rückschluss auf die zugrundeliegende ILK zulassen und/oder eine IPF ausschließen können. In die Berechnung einbezogen werden zelluläre Befunde der BAL, daneben der Protein- und Albumin-Gehalt der BAL, die Nikotinanamnese (pack years) und die Spirometrie (IVC, FEV1).

Mittels linearer Diskriminanzanalyse und Erstellung von Klassifikationsbäumen wurde die Relevanz der Merkmale von 806 Patienten mit ILK untersucht (183 IPF, 191 kryptogen organisierende Pneumonie, 147 Lungenbeteiligung bei Autoimmunerkrankung, 97 respiratorische Bronchiolitis mit interstitieller Lungenkrankheit, 118 exogen allergische Alveolitis, 41 lymphozytische interstitielle Pneumonie (LIP), 23 nichtspezifische interstitielle Pneumonie (NSIP), 88 Kontrolle).

Protein zeigte in der Gesamtgruppe eine enge positive Beziehung zu den Lymphozyten. Bei IPF und NSIP ist diese Korrelation nicht vorhanden. Albumin ist in allen Gruppen eng mit dem Protein korreliert.

Die Lymphozyten sind am besten geeignet, die verschiedenen ILK voneinander abzugrenzen. Eine zuverlässige Kalkulation der ILK ist auf dem Boden der untersuchten Faktoren aber nicht

Abstract

Although bronchoalveolar lavage (BAL) is often used in the diagnosis of interstitial lung diseases (ILDs), its importance in investigating, in particular, idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is controversial. The cell distributions in the BAL are taken into account in the clinical routine, non-cellular characteristics of the BAL play no role.

Using mathematical modeling of data, the present work investigated the extent to which BAL features enable drawing conclusions about the underlying ILK or help exclude IPF. Included in the calculation are cellular findings of the BAL, in addition the protein and albumin content of the BAL, the nicotine history (pack years), and spirometry (FEV1, IVC).

Using linear discriminant analysis and creating classification trees, the relevance of the characteristics of 806 patients with ILK was examined (183 IPF, 191 cryptogenic organizing pneumonia, 147 lung involvement in autoimmune disease, 97 respiratory bronchiolitis interstitial lung disease, 118 extrinsic allergic alveolitis, 41 lymphocytic interstitial pneumonia (LIP), 23 non-specific interstitial pneumonia (NSIP), 88 controls).

There was a close positive relationship between protein levels and lymphocytes in the group as a whole. No such correlations were seen in IPF and NSIP. Albumin was closely correlated with the protein content in all groups.

The lymphocytes are best suited to distinguish between different ILDs. Yet, a reliable calculation of the ILD is not possible on the basis of the investigated factors, the classification error ranged from 23.5% (IPF) to 100% (LIP, NSIP).

Constellations that likely (>99%) speak against an IPF are lymphocytosis >34% or protein content >347 mg/l. The same applies to the constellation: lymphocytes >25% together with protein >250 mg/l.

* Unterstützt von der Hans und Dagmar Mende Stiftung zur Förderung der Pneumologie an den St. Vincentius-Kliniken Karlsruhe gAG

möglich, der Klassifikationsfehler betrug zwischen 23,5% (IPF) und 100% (LIP, NSIP).

Konstellationen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit gegen eine IPF sprechen, sind eine Lymphozytose >34% oder ein Proteingehalt >347 mg/l. Gleiches gilt für die Konstellation Lymphozyten >25% und Protein >250 mg/l.

Bei ILK können BAL-Befunde die Diagnose eingrenzen, sind aber selten diagnosesichernd. Zum Ausschluss einer IPF kann die BAL aber einen wichtigen Beitrag leisten.

Einleitung

Interstitielle Lungenerkrankungen (ILK) sind eine inhomogene Krankheitsgruppe verschiedener, meist seltener Lungenerkrankungen mit unterschiedlicher Prognose und Therapierbarkeit. Aus diesem Grund ist eine möglichst genaue Diagnose erforderlich [1, 2]. Insbesondere ist es wichtig, eine idiopathische Lungenfibrose (IPF) zu erkennen, da sie unter den ILK eine besonders ungünstige Prognose hat und der Erfolg der Therapie von einem möglichst frühen Therapiebeginn abhängt [3].

Neben Anamnese, Klinik, Lungenfunktion, Radiologie und Labor wird im Rahmen der Diagnostik von ILK häufig die Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage (BAL) eingesetzt. Sie ist bei geringer Invasivität in der Lage, relevante oder sogar diagnosesichernde Befunde zu liefern [4].

Die multidisziplinäre Diskussion im Fibroseboard unter Wertung der klinischen, radiologischen und histologischen Befunde ist der Goldstandard der Diagnostik von ILK [2].

Während der Stellenwert der BAL im Rahmen der Diagnostik vieler ILK, beispielsweise bei granulomatösen Lungenerkrankungen wie Sarkoidose oder exogen-allergischer Alveolitis (EAA), weitgehend akzeptiert ist, ist ihr Einsatz bei der Gruppe der Idiopathischen Interstitiellen Pneumonien (IIP) umstritten [5, 6].

Die vorliegende Arbeit untersucht an Patienten mit ILK einschließlich IIP, ob, und wenn ja, welche Merkmale der BAL eine Aussage hinsichtlich der zugrundeliegenden Krankheit erlauben. Auch soll analysiert werden, ob spezielle Befundkonstellationen zum Ausschluss einer IPF beitragen können.

In der medizinischen Literatur gilt es als akzeptiert, dass eine ausgeprägte Vermehrung der Lymphozyten in der BAL gegen die Diagnose einer IPF spricht und die Frage nach einer anderen Diagnose aufwirft, wobei empirische Raten von 30% [5] und 40% [7] mitgeteilt werden.

Einbezogen werden in unsere Analyse zwei Merkmale der BAL, welche in der klinischen Routine keine Beachtung finden, nämlich der Gehalt der BAL an Protein und Albumin.

Prinzipiell gelten azelluläre Bestandteile in der BAL als nicht hilfreich in der klinischen Routinediagnostik von ILK [8]. Vergleichbare Untersuchungen, die den Proteingehalt der BAL an einem größeren Kollektiv von Patienten mit verschiedenen ILK untersuchten, wurden bislang nicht publiziert.

Dagegen spielt in der Grundlagenforschung von Lungenerkrankungen die Proteinzusammensetzung der BAL eine große Rolle. Zu dieser als "Proteomics" bezeichneten Analyse des Proteoms der Lunge existieren zu verschiedenen Erkrankungen zahlreiche Arbeiten, die beispielsweise spezifische Schädigungsmuster oder Aktivitätsparameter untersuchen [9, 10].

In ILD, BAL findings can narrow the diagnosis, but they are seldom diagnostic. BAL can make an important contribution to excluding of IPF.

Methoden

Patienten

Die Daten von Patienten mit ILK, die in der Klinik für Pneumologie der St. Vincentius-Kliniken Karlsruhe ambulant oder stationär untersucht werden, werden in einem Fibroseregister fortlaufend und standardisiert erfasst. In die Auswertung wurden 806 Patienten, die zwischen Januar 2004 und Dezember 2014 mit einem Krankheitsbild aus der Gruppe der idiopathischen interstitiellen Pneumonien (IIP), mit Lungenbeteiligung im Rahmen einer Autoimmunerkrankung (KOL) oder mit EAA untersucht wurden, in die Auswertung aufgenommen. Die beiden letztgenannten Krankheitsbilder werden deshalb berücksichtigt, weil sie insbesondere in fortgeschrittenen Stadien radiomorphologisch und histologisch nicht immer zuverlässig von einer IPF abgegrenzt werden können [11]. Von 375 Patienten (47%) lag eine histologische Diagnose vor (Tab. 1).

Ausgewertet wurden epidemiologische Angaben (Alter, Geschlecht), die quantitative Nikotinanamnese (pack years), Spirometrie (IVC, FEV1) und die BAL-Analytik. 88 Patienten, die mit fraglichen interstitiellen Veränderungen im CT des Thorax zum Ausschluss einer interstitiellen Lungenerkrankung untersucht wurden und bei denen Spirometrie, BAL und transbronchiale Lungenbiopsie (TBB) keine pathologischen Befunde zeigten, dienten als Kontrolle. Der Datensatz ist hinsichtlich der BAL-Analytik vollständig. Bei 29 Patienten fehlen die Angaben zur Nikotinanamnese, bei 70 die spirometrischen Daten.

Bronchoskopie, BAL, TBB

Die Bronchoskopie wurde mit einem flexiblen Video-Bronchoskop (Olympus Optical Co. GmbH, Hamburg) unter pulsoxymetrischer Überwachung und Sauerstoffapplikation über Nasensonde durchgeführt. Nach intravenöser Prämedikation mit 5–7,5 mg Midazolam wurde das Bronchoskop unter lokaler Anästhesie mit maximal 20 ml 2%iger Xylocainlösung inhalativ und über den Instrumentierkanal transoral eingeführt. Zur BAL wurde die Bronchoskopspitze in einem Subsegmentbronchus in wedge-Position gebracht und über einen im Instrumentierkanal liegenden Kunststoffkatheter 100 ml isotonische, sterile, im Wasserbad auf 37 °C erwärmte Kochsalzlösung in Portionen zu 20 ml über eine Einmalspritze aus Kunststoff instilliert und sofort in die Spritze reaspiert. Die Menge des Rückgewinns wurde festgehalten. Ort der Lavage war bei generalisierten Veränderungen der Mittellappen, sonst der Bronchus des infiltratragenden Segmentes. Die TBB wurde aus einem nicht lavagierten Bronchus entnommen.

BAL-Analytik

Nach Entnahme von 5 ml zur mikrobiologischen Analytik wurde die BAL durch Filtration über Gaze von groben Partikeln befreit und in einem sterilen Kunststoffgefäß gepoolt. Die Gesamtzellzahl wurde durchflusszytometrisch bestimmt. Zellpräparate

Tab. 1 Diagnosen, demografische Daten, Nikotinanamnese, Spirometrie, BAL-Parameter, \bar{x} = Mittelwerte, SD = Standardabweichungen, (Anzahl der Patienten/weibl. Patienten), p = Vergleich zwischen den Diagnosen im Kruskal-Wallis-Test.

Diagnose (n/♀)	Alter (Jahre)	Nikotin (pack years)	IVC (% Soll)	FEV1 (% Soll)	Albumin in BAL (mg/l)	Protein in BAL (mg/l)	Zellen in BAL (Millionen)	Makro- phagen in BAL (%)	Lympho- zyen in BAL (%)	Granulo- zyen in BAL (%)	
IPF (183/56)	\bar{x}	69,57	15,65	67,40	75,57	47,92	142,24	16,56	73,74	9,09	16,60
	SD	9,36	21,54	18,66	19,77	29,49	69,02	21,31	18,66	8,91	16,69
COP (191/76)	\bar{x}	64,41	13,97	77,12	79,53	230,45	568,38	23,18	43,11	41,03	14,86
	SD	13,00	21,99	21,01	22,33	329,15	689,65	25,87	25,38	23,98	14,95
KOL (147/106)	\bar{x}	63,09	7,48	76,17	78,97	79,92	205,37	19,15	64,64	24,67	10,22
	SD	12,90	13,99	20,65	20,09	106,29	207,66	39,04	21,95	20,24	10,58
RBILD (97/27)	\bar{x}	51,85	41,97	83,23	82,46	43,86	117,45	16,09	89,19	5,81	4,84
	SD	11,88	23,70	17,11	18,52	45,76	78,46	12,66	11,63	9,30	6,69
EAA (118/38)	\bar{x}	60,93	7,48	76,37	79,13	174,69	485,09	26,75	35,76	51,36	11,81
	SD	14,04	16,69	20,84	21,93	221,00	474,46	17,81	21,87	22,69	11,40
LIP (41/18)	\bar{x}	62,54	8,47	79,84	82,00	197,19	446,47	21,47	37,09	52,34	9,24
	SD	13,34	16,07	19,49	22,04	177,12	434,64	13,90	20,25	17,91	10,80
NSIP (29/13)	\bar{x}	66,14	12,14	70,56	76,79	75,34	189,99	16,63	55,52	30,15	13,96
	SD	12,16	20,48	19,36	21,21	55,02	105,78	11,55	18,63	18,40	13,03
KO (88/52)	\bar{x}	56,05	7,93	98,81	97,65	36,78	97,22	9,41	90,73	7,11	2,09
	SD	15,85	14,32	17,76	17,34	20,22	36,87	6,77	5,94	5,23	2,11
	p	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000

IPF = idiopathische Lungenfibrose; COP = kryptogene organisierende Pneumonie; KOL = Kollagenose mit Lungenbeteiligung; RBILD = respiratorische Bronchiolitis mit interstitieller Lungenerkrankung; EAA = exogen-allergische Alveolitis; LIP = lymphozytische interstitielle Pneumonie; NSIP = nichtspezifische interstitielle Pneumonie; KO = Kontrolle.

Tab. 2 Patienten mit histologisch bestätigter Diagnose. Die Prozentwerte beziehen sich auf das jeweilige Krankheitsbild.

Diagnose	TBB (n)	VATS (n)	%
IPF	14	57	38,8
COP	123	5	67,0
KOL	22	8	20,4
RBILD	64	5	71,1
EAA	44	8	44,1
LIP	6	3	22,0
NSIP	10	6	18,2
Summe	283	92	46,5

TBB = transbronchiale Biopsie; VATS = videoassistierte Thoraxchirurgie; IPF = idiopathische Lungenfibrose; COP = kryptogene organisierende Pneumonie; KOL = Kollagenose mit Lungenbeteiligung; RBILD = respiratorische Bronchiolitis mit interstitieller Lungenerkrankung; EAA = exogen-allergische Alveolitis; LIP = lymphozytische interstitielle Pneumonie; NSIP = nichtspezifische interstitielle Pneumonie.

wurden durch Zentrifugation angefertigt. Die prozentuale Verteilung der Zellarten wurde durch mikroskopische Auszählung von 500 Zellen eines nach May-Grünwald-Giemsa gefärbten Präparates ermittelt. Festgehalten wurde der prozentuale Anteil an Makrophagen, Lymphozyten und Granulozyten. Die Granulozyten entsprechen der Summe der neutrophilen und eosinophilen Granulozyten und der Mastzellen.

Der Proteingehalt der BAL wurde turbidimetrisch gemessen, der Albumingehalt der BAL wurde mit dem immunologischen Trübungstest bestimmt. Die Analysen erfolgten photometrisch mit dem Analysegerät COBAS 6000 (Fa. Roche), es handelt sich hierbei um kommerzielle Testverfahren.

Statistik

Die Analyse der Daten mit dem Shapiro-Wilk-Test zeigt, dass bei den zellulären BAL-Parametern, dem Albumin- und Proteingehalt der BAL keine Normalverteilung vorliegt, sodass die logarithmierten Werte für die Berechnungen verwendet wurden.

Unterschiede zwischen den Diagnosen wurden mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests untersucht, bei zweiseitigen Vergleichen kam der Wilcoxon-Test mit p-Wert-Korrektur nach Holm zur Anwendung. Korrelationen wurden mit der Korrelationsanalyse nach Spearman ermittelt.

Die grundsätzliche Frage der Arbeit, ob sich Patienten anhand ihrer epidemiologischen Daten, ihrer Nikotinanamnese, ihrer Spirometrie und BAL-Befunde klassifizieren und einem speziellen Krankheitsbild zuordnen lassen, wurde mithilfe der Linearen Diskriminanzanalyse und durch Erstellung von Klassifikationsbäumen (unter Verwendung von Ensembleverfahren wie „Bootstrapping“ und „Bagging“) untersucht. Es handelt sich dabei um überwachte statistische Lernverfahren im Sinne von maschinellem Lernen, welche in der Lage sind, die Aussagekraft eines Merkmals zu quantifizieren, seine Relevanz für die Klassifizierung zu ermitteln und den Klassifikationsfehler eines derartigen Rechenmodells abzuschätzen [12].

Diese sehr aufwendige statistische Berechnung erfolgte im Rahmen einer Masterarbeit an der Fakultät für Mathematik des Karlsruher Institutes für Technologie (KIT) [13].

Zur Überprüfung der diagnostischen Wertigkeit der einzelnen BAL-Merkmale wurden 90%, 95% und 99%-Quantile in Form von parametrischen Quantilen errechnet, welche die mathematische Verteilung der Daten berücksichtigen. Außerdem erfolgte deren Darstellung als Receiver-Operating-Characteristic- (ROC) Kurven.

Resultat

Allgemeine Betrachtung

Signifikante Unterschiede zwischen den Diagnosen zeigten sich bei allen untersuchten Parametern, auch beim Protein- und Albumingehalt der BAL (◉ Tab. 2, ◉ Abb. 1).

Im Paarvergleich zwischen den einzelnen Diagnosen zeigte der Proteingehalt Unterschiede auf dem 5%-Niveau bei den meisten Paaren (◉ Tab. 3).

Tab. 3 Protein in der BAL. Unterschiede zwischen den Diagnosen (Paarweiser Vergleich nach Wilcoxon).

	IPF	COP	KOL	RBILD	EAA	LIP	NSIP
COP	<0,000	–	–	–	–	–	–
KOL	0,054	<0,000	–	–	–	–	–
RBILD	<0,000	<0,000	<0,000	–	–	–	–
EAA	<0,000	1,0	<0,000	<0,000	–	–	–
LIP	<0,000	1,0	<0,000	<0,000	1,0	–	–
NSIP	0,024	0,001	1,0	<0,000	<0,000	0,005	–
KO	<0,000	<0,000	<0,000	0,303	<0,000	<0,000	<0,000

IPF = idiopathische Lungenfibrose; COP = kryptogene organisierende Pneumonie; KOL = Kollagenose mit Lungenbeteiligung; RBILD = respiratorische Bronchiolitis mit interstitieller Lungenerkrankung; EAA = exogen-allergische Alveolitis; LIP = lymphozytische interstitielle Pneumonie; NSIP = nichtspezifische interstitielle Pneumonie; KO = Kontrolle.

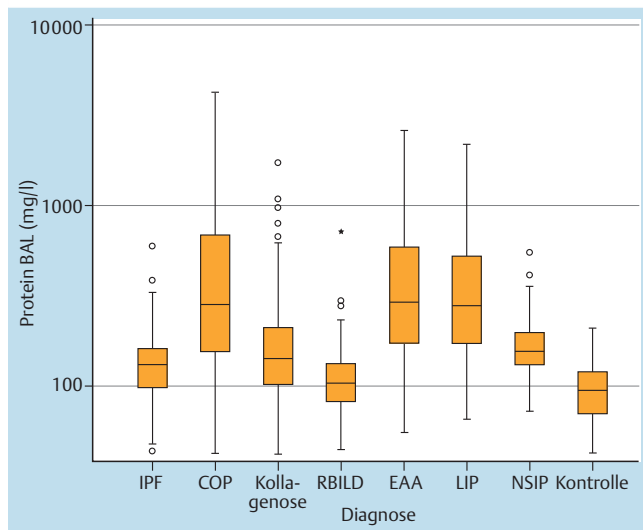


Abb. 1 Protein in der BAL bei interstitiellen Lungenerkrankungen. Boxplot (50%-Quartile, Mediane, Extremwerte und Ausreißer). IPF = idiopathische Lungenfibrose; COP = kryptogene organisierende Pneumonie; RBILD = respiratorische Bronchiolitis mit interstitieller Lungenerkrankung; EAA = exogen-allergische Alveolitis; LIP = lymphozytische interstitielle Pneumonie; NSIP = nichtspezifische interstitielle Pneumonie.

Tab. 4 Korrelation zwischen Protein in der BAL und anderen Merkmalen. k = Korrelationskoeffizienten (Korrelation nach Spearman).

	k	p
Alter (Jahre)	–0,041	0,173
Nikotin (pack years)	–0,165	0,000
Rückgewinn BAL (ml)	–0,009	0,208
IVC (% Soll)	–0,110	0,000
FEV1 (% Soll)	–0,085	0,046
Zellen in BAL (Millionen)	0,489	0,000
Makrophagen in BAL (%)	–0,699	0,000
Lymphozyten in BAL (%)	0,629	0,000
Granulozyten in BAL (%)	0,330	0,000
Albumin in BAL (mg/l)	0,903	0,000

Tab. 5 Korrelation zwischen Lymphozyten (%) und dem Protein (mg/l) in der BAL in Abhängigkeit vom Krankheitsbild. k = Korrelationskoeffizient (Korrelation nach Spearman).

	IPF	COP	KOL	RBILD	EAA	LIP	NSIP	KO
k	0,07	0,28	0,35	0,76	0,52	0,51	0,25	0,26
p	0,343	<0,000	<0,000	0,006	<0,000	0,001	0,194	0,017

IPF = idiopathische Lungenfibrose; COP = kryptogene organisierende Pneumonie; KOL = Kollagenose mit Lungenbeteiligung; RBILD = respiratorische Bronchiolitis mit interstitieller Lungenerkrankung; EAA = exogen-allergische Alveolitis; LIP = lymphozytische interstitielle Pneumonie; NSIP = nichtspezifische interstitielle Pneumonie; KO = Kontrolle.

Der Proteingehalt der BAL ist nicht mit der Höhe des Rückgewinns der BAL korreliert. Außer mit dem Alter fanden sich Korrelationen mit allen untersuchten Merkmalen, wobei enge, positive Beziehungen mit dem Albumingehalt, den Lymphozyten, der Zellzahl sowie den Granulozyten in der BAL auffallen. Negative Korrelationen bestehen mit den Makrophagen in der BAL, der Nikotinanamnese und der IVC (● Tab. 4).

Eine interessante Entdeckung ist dabei, dass Lymphozyten und Protein, trotz deutlicher Korrelation im Gesamtkollektiv, in der Gruppe IPF und NSIP nicht signifikant miteinander korrelieren (● Tab. 5, ● Abb. 2).

Relevanz der einzelnen Parameter

Der logarithmierte Lymphozytenanteil wird in der linearen Diskriminanzanalyse als die Größe erkannt, die einzeln verwendet am besten geeignet ist, die acht Diagnosen voneinander zu unterscheiden, und ist somit der klare Sieger (● Tab. 6). Die drei bestplatzierten Größen nach den Lymphozyten sind Proteingehalt, Albumingehalt und Makrophagenanteil in der BAL.

Dennoch erkennt das Baggingverfahren in der Bewertung der Relevanz der Merkmale zur Diagnoseeinstufung nach den Lymphozyten einen höheren Stellenwert für Granulozyten, pack years und Alter als für Protein und Albumin (● Tab. 7).

Mithilfe des Granulozytenanteils lässt sich die IPF von der Kontrollgruppe gut trennen.

Durch die zusätzliche Information von Packungsjahren und Alter lassen sich zusätzlich vor allem RBILD-Patienten identifizieren, da sie starke Raucher und relativ jung sind.

Die Aufnahme von der prozentualen inspiratorischen Vitalkapazität führt nur noch zu marginalen Verbesserungen des Modells. Die abschließende statistische Klassifizierung der Patienten geht aus ● Tab. 8 hervor. Die Fehlklassifizierungen betragen bei der IPF 23,5%. Seltene Krankheiten wie LIP und NSIP werden durch ihre geringen A-priori-Wahrscheinlichkeiten nicht erkannt. Des Weiteren besitzen die häufigen, von hohen Entzündungswerten geprägten Krankheiten EAA und COP einen ähnlichen BAL-Befund und sind statistisch kaum voneinander zu unterscheiden. Diese Gegebenheiten führen zu strukturell hohen Klassifikationsfehlern.

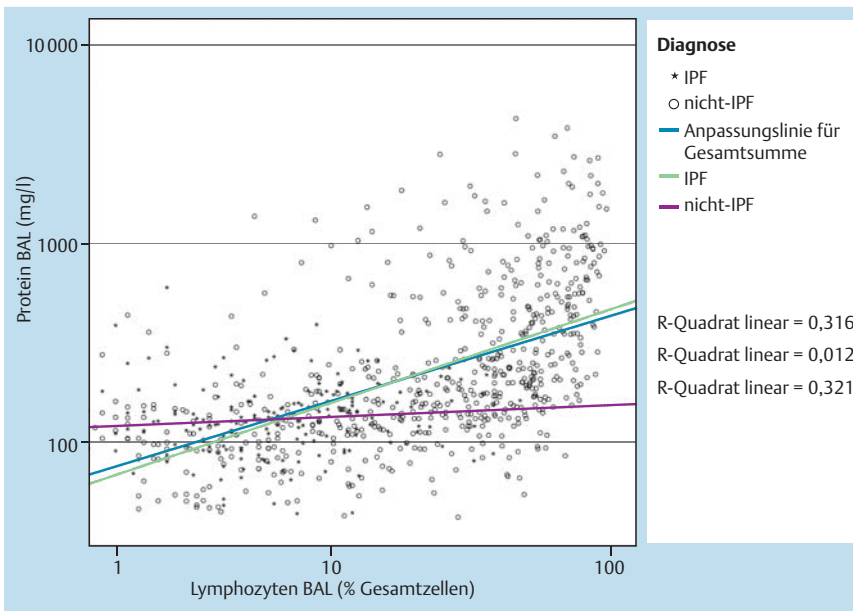


Abb. 2 Zusammenhang zwischen Lymphozyten in der BAL und Protein in der BAL. Streudiagramm mit Regressionskurven. IPF = idiopathische Lungenfibrose; nicht-IPF = Patienten mit interstitiellen Lungenkrankheiten außer IPF.

Tab. 6 Diagnostische Aussage der Einzelmerkmale (Lineare Diskriminanzanalyse). Ein geringerer Wert für „Error“ entspricht einer höheren Aussagekraft.

Reihenfolge	Merkmal	Error
1	Lymphozyten in BAL	0,643
2	Protein in BAL	0,682
3	Albumin in BAL	0,685
4	Makrophagen in BAL	0,697
5	Alter	0,729
6	IVC (% Soll)	0,729
7	Tiffeneau-Index	0,737
8	Geschlecht	0,740
9	Zellzahl in BAL	0,746
10	pack years	0,749
11	Granulozyten in BAL	0,765
12	FEV1 (% Soll)	0,767

Tab. 7 Diagnostische Relevanz der Merkmale im Gesamtmodell (Klassifikationsbäume). Die Prozentwerte entsprechen der Höhe des diagnostischen Stellenwertes der verschiedenen Merkmale.

Reihenfolge	Merkmal	Relevanz (%)
1	Lymphozyten in BAL	36
2	Granulozyten in BAL	20,5
3	pack years	16,3
4	Alter	8,3
5	Protein in BAL	3,8
6	Makrophagen in BAL	3,3
7	IVC	2,8
8	Albumin in BAL	2,7
9	Tiffeneau-Index	2,4
10	Geschlecht	1,5
11	FEV1	1,3
12	Zellzahl in BAL	1,1

Tab. 8 Klassifikationstabelle: statistische Einteilung und Fehlerraten. Dargestellt sind die durch das Baggingverfahren errechneten Diagnosen als Kreuztabelle. Die Diagonale (fett) gibt die Anzahl der korrekt ermittelten Patienten an.

	IPF	COP	KOL	RBILD	EAA	LIP	NSIP	KO
IPF	140	23	38	16	8	0	8	6
COP	16	142	47	1	79	36	14	2
KOL	5	13	39	0	9	3	7	3
RBILD	11	4	9	74	0	0	0	19
EAA	0	3	2	0	22	2	0	0
LIP	0	0	0	0	0	0	0	0
NSIP	0	0	0	0	0	0	0	0
KO	11	6	12	6	0	0	0	58
Summe	183	191	147	97	118	41	29	88
Fehlerrate	23,5%	25,7%	73,5%	23,7%	81,4%	100%	100%	34,1%

IPF = idiopathische Lungenfibrose; COP = kryptogene organisierende Pneumonie; KOL = Kollagenose mit Lungenbeteiligung; RBILD = respiratorische Bronchiolitis mit interstitieller Lungenerkrankung; EAA = exogen-allergische Alveolitis; LIP = lymphozytische interstitielle Pneumonie; NSIP = nichtspezifische interstitielle Pneumonie; KO = Kontrolle.

Test auf IPF

Auch der vorliegende Datensatz bestätigt, dass eine erhebliche BAL-Lymphozytose $>40\%$ gegen eine IPF spricht – nur 2 der 183 BAL-Befunde der IPF-Patienten zeigen eine derartige Lymphozytose. Da bei den Patienten mit IPF keine Korrelation zwischen dem Protein und den Lymphozyten in der BAL nachweisbar war, wurde die Frage untersucht, ob der Proteingehalt in der BAL bei der Frage nach einer IPF diagnostisch verwertbar ist. Dabei zeigte sich, dass auch ein erhöhter Proteingehalt gegen eine IPF spricht. Die Hypothese, dass ein Patient an einer IPF leidet, kann mit den kritischen Werten aus **Tab. 9** verworfen werden.

Tab. 9 Test auf IPF mit Lymphozyten und Protein in der BAL. Grenzwerte zum Ausschluss einer idiopathischen Lungenerkrankung.

Quantil	Lymphozyten in BAL (%)	Protein in BAL (mg/l)
90 %	$> 19,7$	> 223
95 %	$> 24,3$	> 260
99 %	$> 33,9$	> 347

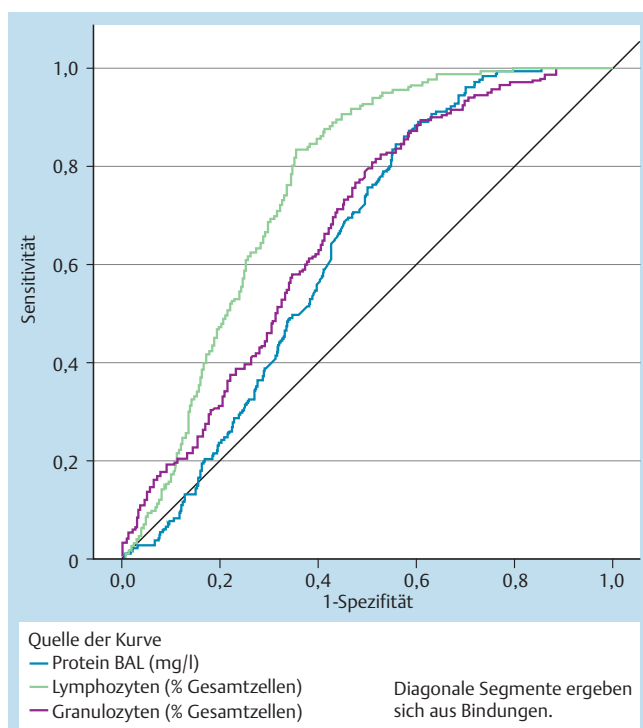


Abb. 3 Receiver Operator Characteristics (ROC) zur Diagnostik einer idiopathischen Lungenerkrankung durch BAL-Merkmale. Area under the curve (AUC): Lymphozyten 0,76 ($p < 0,000$), Granulozyten 0,67 ($p < 0,000$), Protein 0,635 ($p < 0,000$).

Auch ROC-Kurven (**Abb. 3**) zeigen, dass bei der IPF die BAL-Merkmale signifikant von einer Zufallsverteilung abweichen und dass der Lymphozytengehalt die größte diagnostische Aussage hat.

Außerdem haben IPF-Patienten mit Ausreißern in den Lymphozyten $>25\%$ in unserer Serie keinen hohen Proteingehalt. 191 Patienten zeigten in der BAL *sowohl* eine Lymphozytose $>25\%$ *als auch* einen Proteingehalt >250 mg/l. In dieser Gruppe fand sich kein einziger Patient mit IPF (**Abb. 4**).

Diskussion

Die Analyse unseres Kollektivs hinsichtlich der etablierten zellulären Merkmale der BAL zeigt die erwarteten und bekannten Befunde [8]. Das Protein in der BAL war im klinischen Routinebetrieb einfach und zuverlässig zu bestimmen. In der Kontrollgruppe bestanden nur geringe Streuungen um den Mittelwert (97 mg/l), es zeigten sich weder Extremwerte noch Ausreißer. Auch fanden sich keine Abhängigkeiten von der Höhe des Rückgewinns der BAL. Die Resultate waren mit publizierten Werten gesunder Raucher und Nichtraucher vergleichbar [14].

Mit Ausnahme der RBILD war das Protein im Vergleich mit der Kontrollgruppe bei allen ILLD signifikant erhöht. Besonders deutliche Erhöhungen um 400–500% zeigten sich bei COP, EAA und LIP, mäßige Erhöhungen um etwa 100% bei NSIP und KOL und geringe Erhöhungen um etwa 50% bei IPF.

Die Korrelationsanalyse zeigt enge Beziehungen zwischen Protein und den zellulären Parametern der BAL, insbesondere den Lymphozyten. Eine Ausnahme machen die IPF und die NSIP, wo diese Korrelation nicht nachweisbar war.

Somit scheint das Protein in der BAL ein entzündliches Geschehen zu repräsentieren. Die nur geringe Erhöhung des Proteins bei der IPF in unserer Serie spricht gegen die vorwiegend inflammatorische Genese dieser Erkrankung. Auch in der aktuellen Forschung ergeben sich klare Hinweise darauf, dass der IPF keine primäre Entzündung zugrunde liegt, sondern beispielsweise Veränderungen im Bereich von Surfactant-Proteinen und des Telomerase-Komplexes mit der Konsequenz einer krankhaften Bindegewebsbildung [15, 16].

Die fehlende Korrelation von Lymphozyten mit Protein bei IPF und NSIP wäre dadurch zu erklären, dass BAL-Lymphozyten bei IPF und NSIP mehr regulatorische Aufgaben wahrnehmen und weniger Ausdruck einer aktiven Entzündung sind.

Die Korrelationsanalyse zeigte außerdem, dass Protein und Albumin eine nahezu identische Aussage haben.

Die lineare Diskriminanzanalyse zeigt, dass die Möglichkeiten der statistischen Klärung der Diagnose durch die Auswertung der von uns untersuchten Merkmale einschließlich des Proteins an klare Grenzen stoßen.

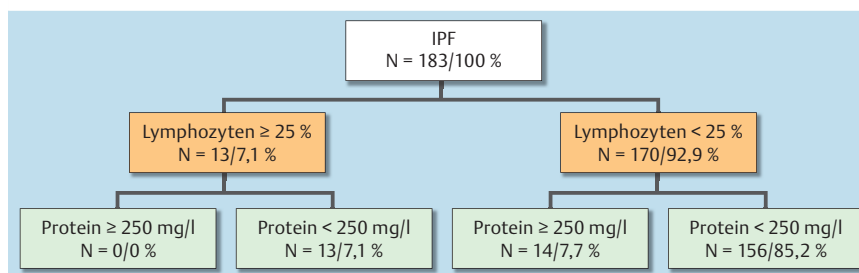


Abb. 4 Algorithmus zum Ausschluss einer idiopathischen Lungenerkrankung bei mäßiger BAL-Lymphozytose durch zusätzliche Proteinbestimmung.

Die Klassifikationsverfahren bevorzugen unter den BAL-Befunden die Lymphozyten und verzichten für eine geringere Modellkomplexität auf die Eingabewerte Protein und Albumin, die in der Gesamtgruppe bei enger Korrelation mit den Lymphozyten einen vergleichbaren Informationsgehalt besitzen. Die Daten lassen sich so grob in die Gruppen, in denen diese Werte kaum (IPF, RBILD, KO), stark (COP, EAA, LIP) und moderat erhöht sind (KOL, NSIP), unterteilen.

Hieraus ergibt sich einmal mehr, dass aus der BAL kein beweisender diagnostischer Befund, etwa der eines „IPF-Patterns“, erwartet werden kann.

Auf der anderen Seite sind Abläufe im bronchoalveolären Raum, die zu einer erheblichen Lymphozyten-Vermehrung in der BAL führen, bereits als hartes Argument gegen eine IPF anerkannt. Dies bestätigt auch unsere Untersuchung, wobei das 99%-Quantil für einen Ausschluss einer IPF bei einer Lymphozytose von > 34% liegt.

Als erstmals publizierte Information legt unsere Auswertung zusätzlich nahe, dass mit vergleichbarer Sicherheit auch eine deutliche Erhöhung des Proteingehaltes der BAL über den Normalwert (99%-Quantil > 347 mg/l) gegen eine IPF spricht.

Außerdem war in unserem Kollektiv auch bei einer weniger ausgeprägten Lymphozytose > 25% und einer zusätzlichen Protein-erhöhung > 250 mg/l eine IPF extrem unwahrscheinlich.

Schlussfolgerung

Die Lymphozyten in der BAL sind trotz breiter Überschneidungen prinzipiell am besten geeignet, die verschiedenen ILK voneinander zu unterscheiden. Der Proteingehalt der BAL ist einfach und zuverlässig zu bestimmen. Er ist – außer bei IPF und NSIP – eng mit den Lymphozyten in der BAL korreliert und in seiner diagnostischen Aussage mit diesen vergleichbar. Insgesamt erlaubt die BAL in unserer Auswertung keine eindeutige Aussage auf die zugrundeliegende ILK. Jedoch kann die BAL zum Ausschluss einer IPF eine Rolle spielen. Starke Erhöhungen der Lymphozyten oder des Proteingehaltes sprechen gegen eine IPF. In Ergänzung zu radiologischen und histologischen Kriterien einer IPF wären bei der BAL folgende Ausschlusskriterien vorstellbar:

„BAL – inconsistent with IPF“:

1. Lymphozyten > 34% oder
2. Protein > 347 mg/l oder
3. Lymphozyten > 25% und Protein > 250 mg/l.

Einschränkungen

Unsere Studie hat mehrere Einschränkungen. Trotz fortlaufender und standardisierter Datenerfassung handelt es sich um eine retrospektive Auswertung eines klinischen Krankengutes. Die internationalen Diagnosestandards der IPF unterlagen während des Zeitraums der Rekrutierung unserer Patienten wesentlichen Änderungen. Eine Gegenkontrolle der radiologischen, histologischen und klinischen Befunde ist nicht erfolgt. Die Resultate sind nur zutreffend für die angewandte Methodik, was insbesondere für die Durchführung der BAL gilt. Eine weitere Einschränkung ergibt sich aus der Möglichkeit, dass der Parameter „Lymphozytose in der BAL“ bereits bei der klinischen Differenzialdiagnose als Argument gegen eine IPF gewertet wurde. Dies könnte hinsichtlich der fehlenden Lymphozytose bei IPF zu einem Bias geführt haben.

Interessenkonflikt

Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- 1 Travis WD, Costabel U, Hansell DM et al. An official american thoracic society/european respiratory society statement: Update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 188: 733 – 748
- 2 Behr J, Günther A, Ammenwerth W et al. S2K-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der idiopathischen Lungenfibrose. *Pneumologie* 2013; 67: 81 – 111
- 3 Raghu G, Rochwerger B, Zhang Y et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline: Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. An Update of the 2011 clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med* 2015; 192: e3 – e19
- 4 Meyer KC, Raghu G. Bronchoalveolar lavage for the evaluation of interstitial lung disease: is it clinically useful? *Eur Respir J* 2011; 38: 761 – 769
- 5 Wells AU. The revised ATS/ERS/JRS/ALAT diagnostic criteria for idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) – practical implications. *Respiratory Research* 2013; 14: (Suppl. 01): S2
- 6 Larsen BT, Colby TV. Update for Pathologists on Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136: 1234 – 1241
- 7 Raghu G, Collard HR, Egan JJ et al. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Statement: Idiopathic pulmonary fibrosis: Evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 788 – 824
- 8 Meyer KC, Raghu G, Baughman RP. Guideline: The clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185: 1004 – 1014 [On-Line Supplement]
- 9 Matute-Bello G, Downey G, Moore BB et al. An official american thoracic society workshop report: Features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011; 44: 725 – 738
- 10 Hirsch J, Hansen KC, Matthay MA et al. Proteomics: Current techniques and potential applications to lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 287: 152 – 301
- 11 Wuyts WA, Cavazza A, Rossi G et al. Differential diagnosis of usual interstitial pneumonia: when is it truly idiopathic? *Eur Respir Rev* 2014; 23: 308 – 319
- 12 Witte IH, Iain H. Data mining: Practical machine learning tools and techniques. In: Witten IH, Frank E, Hrsg. *Data management systems*. Morgan Kaufmann; 2005
- 13 Frank J. Vergleich von statistischen Lernverfahren und eine Anwendung in der Pneumologie. Masterarbeit 29. Oktober 2015. Fakultät für Mathematik, Karlsruher Institut für Technologie (KIT); EVASTAR ID: 1000051921. Web-Adresse: urn:nbn:de:swb:90-519215
- 14 Plymoth A, Yang Z, Loeffdahl CG et al. Rapid proteome analysis of bronchoalveolar lavage samples of lifelong smokers and never-smokers by micro-scale liquid chromatography and mass spectrometry. *Clinical Chemistry* 2006; 52: 671 – 679
- 15 Kropski JA, Blackwell TS, Loyd JE. The genetic basis of idiopathic pulmonary Fibrosis. *Eur Respir J* 2015; 45: 1717 – 1727
- 16 Grimminger F, Günther A, Vancheri C. The role of tyrosine kinases in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2015; 45: 1426 – 1433