

Strokovni prispevek/Professional article

CITOLOGIJA BRONHOALVEOLARNEGA IZPIRKA PRI INTERSTICIJSKIH PLJUČNIH BOLEZNIH

CYTOLOGY OF BRONCHOALVEOLAR LAVAGE FLUID IN THE INTERSTITIAL LUNG DISEASES

Izidor Kern, Damijan Eržen, Peter Kecelj, Mitja Košnik, Milivoj Mermolja

Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, Bolnišnica Golnik, 4204 Golnik

Prispelo 2002-11-20, sprejeto 2003-01-27; ZDRAV VESTN 2003; 72: 217-21

Gljučne besede: intersticijske pljučne bolezni; bronhoalveolarni izpirek; citologija

Izveček – Izhodišča. Bronhoalveolarni izpirek (BAI) je celični vzorec, ki ga dobimo z izpiranjem perifernih dihalnih poti in pljučnega parenhima med bronhoskopijo. Spregledom vzorca BAI dobimo pomembne informacije o vnetnem dogajanju pri intersticijskih pljučnih boleznih. Postopek odvzema vzorca BAI in njegova laboratorijska obdelava sta v naši bolnišnici standardizirana. Za zagotavljanje kakovosti je priporočljivo, da ima vsaka ustanova svoje značilne vrednosti za posamezne bolezni. Namen analize je bil prikazati citološke značilnosti BAI pri bolnikih s sarkoidozo, z ekstrinzičnim alergijskim bronhoalveolitisom (EABA), azbestozo in idiopatskimi intersticijskimi pljučnicami (IIP).

Material in metode. V analizo smo zajeli 135 vzorcev BAI ustrezne kakovosti bolnikov, ki so imeli klinično, rentgenološko in patološko diagnosticirano eno od omenjenih diagnoz. Po opravljeni diferenciaciji neepitelnih celic v citospinih in fenotipizaciji limfocitov z imunofluorescenco smo jih razvrstili v naslednje kategorije: normalni BAI, limfocitni, nevtrofilni, eozinofilni, makrofagni in mešanocelični alveolitis. Statistično metodo analize variance smo opravili s pomočjo programske opreme SAS.

Rezultati. BAI bolnikov s sarkoidozo je bil v 71% limfocitni ali mešanocelični (limfocitni in nevtrofilni ali eozinofilni). Zvišano razmerje ($> 3,5$) CD4/CD8 limfocitov T je bilo pri 61,4% BAI bolnikov s sarkoidozo. BAI bolnikov z EABA je bil v 53,3% limfocitni ali mešanocelični (limfocitni in nevtrofilni ali eozinofilni). Znižano razmerje (< 1) CD4/CD8 limfocitov T je bilo pri 38,5% bolnikov z EABA. Pri bolnikih z azbestozo je bil najbolj pogost makrofagni alveolitis (52,9%) z normalnim ali znižanim razmerjem CD4/CD8. Bolniki z IIP so imeli različne alveolitise v BAI, najpogosteje (53,3%) je bil prisoten povišan delež nevtrofilcev. V 65,5% je bilo razmerje CD4/CD8 znižano.

Zaključki. BAI je najbolj značilen pri sarkoidozi (CD4 limfocitni alveolitis). Pri azbestozi je pogost makrofagni alveolitis. BAI bolnikov z EABA in IIP imajo manj značilne vrednosti.

Key words: interstitial lung diseases; bronchoalveolar lavage fluid; cytology

Abstract – Background. By the bronchoscopic lavaging we obtain cytological specimen of the peripheral airways and lung parenchyma. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) examination gives us information about inflammation in the interstitial lung diseases. BALF sampling and its laboratory processing are standardized in our hospital. Quality assurance practice requires that each institution establish disease characteristic BALF profiles. The aim of this study was to find common cytological characteristics of BALF specimens in sarcoidosis, extrinsic allergic bronchoalveolitis (EABA), asbestosis and idiopathic interstitial pneumonias (IIP).

Material and methods. We included 135 BALF specimens of good quality from patients with one of the mentioned entities that were diagnosed clinically, radiographically and pathologically. Based on differential cell counts and lymphocytic phenotypisation done by immunofluorescence, BALF specimens were categorized as normal type, lymphocytic, neutrophilic, eosinophilic, macrophagic and mixed cell alveolitis. Statistical comparison was performed by the analysis of variance which was done by SAS software.

Results. BALF in sarcoidosis shown in 71% lymphocytic or mixed cell (lymphocytic and neutrophilic or eosinophilic) type alveolitis with increased CD4/CD8 ratio (> 3.5) in 61.4% specimens. EABA patients had lymphocytic or mixed cell (lymphocytic and neutrophilic or eosinophilic) type alveolitis in 53.3% of BALF specimens with decreased CD4/CD8 ratio (< 1) in 38.5% of specimens. Macrophagic alveolitis was the most common type found in asbestosis (52.9%). CD4/CD8 ratio was usually decreased or normal. Patients with IIP had all types of alveolitis and none of them prevailed, but neutrophils were increased often (53.3%). CD4/CD8 ratio was decreased in 65.5% of BALF specimens in IIP.

Conclusions. Sarcoidosis has the most characteristic BALF profile (CD4 lymphocytic alveolitis). We often see macrophagic alveolitis in asbestosis. BALF specimens in EABA and IIP have less characteristic profiles.

Uvod

Bronhoalveolarno izpiranje je minimalno invaziven postopek, s katerim izperemo periferne dihalne poti in pljučni parenhim. Izpirek pregledamo v laboratoriju. Med standardne laboratorijske preiskave vzorca BAI sodi določitev volumna dobljene tekočine, koncentracije celic, deleža viabilnih celic, diferencialne slike neepitelnih celic in imunofenotipizacija limfocitov T z izračunom razmerja med CD4 in CD8 limfociti T. Drugi parametri, pomembni pri nekaterih boleznih, ki jih določamo selektivno, so opis morfologije celic, ugotavljanje prisotnosti azbestnih teles, lipoproteinskih substanc, citokinov in mikroorganizmov (1). Rezultat laboratorijskega pregleda vzorca BAI ima lahko diagnostično vrednost, večinoma pa so dobljeni podatki koristni skupaj z rezultati drugih laboratorijskih in/ali kliničnih preiskav. S pregledom vzorca BAI dobimo informacije o vnetnem dogajanju v pljučnem parenhimu. Zato vzorec BAI pogosto pregledujemo pri boleznih, ki prizadanejo to pljučno strukturo. V prvi vrsti gre za intersticijske pljučne bolezni (IPB), med katerimi so v naših razmerah najpogostejše sarkoidoza, ekstrinzični alergijski alveolitis (EABA), azbestoza in idiopatske intersticijske pljučnice (IIP). Vprašljivo je, ali na osnovi dobljenih podatkov pregleda vzorca BAI lahko sklepamo tudi o aktivnosti in prognozi IPB (2).

Izpiranje bronhoalveolarnega prostora in laboratorijska obdelava izpirka sta standardizirana postopka (3). Kljub temu da standardne upošteva večina ustanov, ki se poglobljeno ukvarjajo z IPB in laboratorijsko obdelavo BAI, se objavljene normalne in patološke vrednosti posameznih parametrov razlikujejo med ustanovami. Razponi med najnižjimi in najvišjimi izmerjenimi vrednostmi tako pri zdravih osebah kakor tudi bolnikih so zelo veliki. Rezultati se med seboj prekrivajo in distribucija celic ni normalna (4, 5). Pogosto se razlikujejo tudi citološki opisi posameznih bolezni. Razlike deloma pripisujemo izvedbi izpiranja in obdelave izpirka, deloma so posledica intenzivnosti bolezenskega procesa in stadija bolezni, v katerem je bil postopek odvzema vzorca BAI opravljen. Za zagotavljanje kakovosti je priporočljivo, da ima vsaka ustanova, ki se ukvarja z BAI, standardiziran postopek odvzema in obdelave vzorca, svoje referenčne vrednosti, značilne vrednosti in opise citološke slike posameznih bolezni.

V tem članku želimo prikazati skupne citološke značilnosti v vzorcih BAI pri bolnikih z najpogostejšimi IPB in primerjati rezultate z objavljenimi drugih avtorjev.

Material in metode

V obdelavo smo zajeli vzorce 135 bolnikov z različnimi IPB, ki smo jih diagnosticirali na osnovi kliničnih podatkov, rentgenološkega pregleda prsnih organov in histopatoloških sprememb v pljučih. Med IPB smo vključili sarkoidozo, EABA, azbestozo in IIP. Osnovni podatki o bolnikih so prikazani v razporednici 1. Bolniki so bili stari od 21 do 78 let (52 ± 14 , povprečje \pm standardna deviacija). Bolniki z IIP so bili v povprečju za 13 do 17 let starejši od bolnikov z drugimi IPB. Razmerje med moškimi in ženskami je bilo 1,5. Kadilcev je bilo 18%. Delež kadilcev je bil večji pri bolnikih z azbestozo in IIP.

Bronhoalveolarno izpiranje smo opravili na standardni način (6). V laboratoriju smo izmerili volumen dobljenega vzorca BAI, ga precedili skozi gazo, izmerili koncentracijo in viabilnost celic. Vzorce BAI, v katerih je bila koncentracija celic manjša od 50 celic/ μ l, volumen dobljenega vzorca BAI manjši od 30% instilirane volumna tekočine in viabilnost celic manjša od 60%, smo ocenili kot neustrezne in jih nismo zajeli v obdelavo. Iz vsakega ustreznega vzorca BAI smo s citocentrifugo (Cytospin II, Shandon, VB) naredili šest preparatov. Dva smo obarvali z May Grünwald - Giemso, dva po Papanicolaou, dva pa smo shranili za dodatna barvanja. Diferencirali smo 200 neepitelnih celic. Če je bilo v diferencialni sliki enako ali več

Razpr. 1. Osnovni podatki o bolnikih.

Table 1. Basic patient data.

Intersticijska pljučna bolezen	Število bolnikov	Povprečna starost (leta)	Odstotek kadilcev
Interstitial lung disease	Number of patients	Average age (years)	Percentage of smokers
Sarkoidoza Sarcoidosis	73	47 \pm 12	12
Ekstrinzični alergijski bronhoalveolitis (EABA) Extrinsic allergic bronchoalveolitis (EABA)	15	48 \pm 16	7
Azbestoza Asbestosis	17	51 \pm 9	29
Idiopatske intersticijske pljučnice (IIP) Idiopathic interstitial pneumonias (IIP)	30	64 \pm 11	27
Skupno Total	135	52	18

kot 15% limfocitov, smo izvedli fenotipizacijo limfocitov z imunofluorescenco in določili razmerje med CD4 in CD8 limfociti T.

Med vzorce z normalno citološko sliko smo uvrstili tiste, pri katerih je bila koncentracija celic med 50-150 celic/ μ l, v diferencialni sliki pa je bilo alveolarnih makrofagov več kot 80%, limfocitov manj kot 15%, nevtrofilcev manj kot 4% in eozinofilcev manj kot 3% (razpr. 2). Med vzorce s patološko citološko sliko smo uvrstili tiste, ki so imeli povečano koncentracijo celic in/ali povečan odstotek katerekoli vrste neepitelnih celic. Citološka opredelitev alveolitisa je bila odvisna od koncentracije celic in diferencialne slike (razpr. 3). Če je bilo limfocitov več kot 15%, odstotki drugih vrst celic pa niso bili povečani, smo opredelili patološki proces kot limfocitni alveolitis. Pri nevtrofilnem alveolitisu je bil odstotek nevtrofilcev večji od 4. Pri eozinofilnem alveolitisu je bil odstotek eozinofilcev večji od 3. Če je bil pri povečani koncentraciji celic odstotek alveolarnih makrofagov večji od 80, smo ga opredelili kot makrofagni alveolitis. Če je bil povečan odstotek več vrst celic, smo alveolitis označili kot mešanocelični.

Razpr. 2. Vrednosti normalnega BAI.

Table 2. Normal BALF profile.

Parameter Parameter	Vrednost Value
Koncentracija celic (celic/ μ l) / Cell concentration (cells/ μ l)	50-150
Alveolarni makrofagi (%) / Alveolar macrophages (%)	> 80
Limfociti (%) / Lymphocytes (%)	< 15
Nevtrofilci (%) / Neutrophils (%)	< 4
Eozinofilci (%) / Eosinophils (%)	< 3

Razpr. 3. Vrste alveolitsov glede na koncentracijo in diferencialno sliko celic v vzorcu BAI.

Table 3. Type of alveolitis based on cell concentration and differential cell count in BALF.

Limfocitni alveolitis Lymphocytic alveolitis	\geq 15% limfocitov lymphocytes \geq 15%
Nevtrofilni alveolitis Neutrophilic alveolitis	\geq 4% nevtrofilcev neutrophils \geq 4%
Eozinofilni alveolitis Eosinophilic alveolitis	\geq 3% eozinofilcev eosinophils \geq 3%
Makrofagni alveolitis Macrophagic alveolitis	Koncentracija celic \geq 150 celic/ml in \geq 80% makrofagov Cell concentration \geq 150 cells/ μ l and macrophages \geq 80%
Mešanocelični alveolitis Mixed cell alveolitis	Dva ali več zgoraj naštetih kriterijev Two or more of above criteria

Za ugotavljanje normalnosti porazdelitve vrednosti pri merjenih parametrih smo opravili univariantno analizo. Razlike med povprečnimi vrednostimi posameznih normalno porazdeljenih parametrov smo primerjali z analizo variance. Pri parametrih, kjer smo zavrnili ničelno hipotezo o enakosti povprečij, smo razliko med podskupinami ovrednotili s Tukeyevim testom. Statistično značilnost razlik smo označili pri verjetnosti pod 5%. Za analizo smo uporabili program SAS 8.02 proceduro UNIVARIATE in GLM za analizo variance skupin z neena- kum številom meritev.

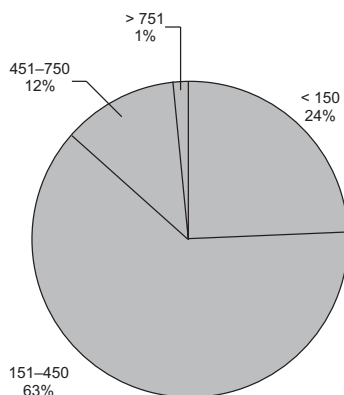
Rezultati

Povprečni *volumen dobljenega vzorca BAI* je znašal 68% volumna instilirane tekočine (razpr. 4). Razlike med skupinami niso bile statistično značilne. Povprečna *koncentracija celic* je bila 269 celic/ μ l. Pri sarkoidozi je bila enaka povprečju vseh vzorcev, pri EABA je bila nekoliko večja in pri azbestozi in IIP nekoliko manjša. Razlike med boleznimi niso bile statistično značilne. Pri več kot polovici bolnikov je bila koncentracija celic zmerno povečana 151–450 celic/ μ l (sl. 1). Normalna je bila v eni četrtini vzorcev, pri desetini bolnikov je bila zelo povečana (451–750 celic/ μ l), pri dveh bolnikih so bile vrednosti izjemno visoke (> 751 celic/ μ l). En bolnik z izjemno povečano koncentracijo celic in hkrati višjim odstotkom limfocitov je imel sarkoidozo. Drugi bolnik je imel EABA z mešanoceličnim alveolitom. Povprečna *viabilnost celic* je bila 79%. Pri sarkoidozi in IIP je bila statistično značilno boljša viabilnost celic kot pri azbestozi.

Razpr. 4. *Volumen dobljenega vzorca BAI glede na volumen instilirane tekočine, koncentracija in viabilnost celic.*

Table 4. *Volume of recovered BALF sample as a percentage of total instillate, cell concentration and viability.*

Bolezen	Število vzorcev	Povprečni odstotek dobljenega vzorca	Viabilnost celic (%)	Koncentracija celic (celic/ μ l)
Disease	Number of specimens	Mean percentage of recovered fluid	Cell viability (%)	Cell concentration (cells/ μ l)
Sarkoidoza Sarcoidosis	73	68	80	269
EABA	15	67	78	311
Azbestoza Asbestosis	17	66	71	254
IIP	30	69	79	256
Skupno Total	135	68	79	269



Sl. 1. *Koncentracija celic v BAI (celic/ μ l).*

Figure 1. *Cell concentration in BALF (cells/ μ l).*

Pri 8,1% bolnikov je bila citološka slika v vzorcih BAI normalna. Največ vzorcev BAI z normalno citološko sliko je bilo pri azbestozi (17,6%). Pri EABA ni bilo vzorcev z normalno citološko sliko, pri IIP je bil samo eden, pri sarkoidozi pa 9,6%.

Odstotek *limfocitov* je bil povečan v več kot polovici vzorcev BAI bolnikov s sarkoidozo. Pri manjšem številu vzorcev z mešanoceličnim alveolitom so bili razen odstotka limfocitov povečani tudi odstotki nevtrofilcev in/ali eozinofilcev (sl. 2). Najpogostejši so bili limfocitni alveolitisi pri sarkoidozi (71,2%) in EABA (53,3%). Pomembno manj pogosti kot pri sarkoidozi so bili limfocitni alveolitisi pri IIP (33,3%) in azbestozi (17,6%). Podobno velja za povprečne vrednosti odstotka limfocitov v vzorcih BAI posameznih bolezni (razpr. 5). Pri sarkoidozi je bil v večini vzorcev povečan samo odstotek limfocitov. Le pri manjšem številu vzorcev BAI bolnikov s sarkoidozo je bil razen odstotka limfocitov povečan tudi odstotek nevtrofilcev in/ali eozinofilcev. Pri EABA je bil delež vzorcev, v katerih je bil poleg odstotka limfocitov povečan tudi odstotek nevtrofilcev in/ali eozinofilcev, večji kot pri sarkoidozi, vendar razlika med obema boleznima ni statistično značilna. Pri IIP je bil delež bolnikov z mešanoceličnim (limfocitno in nevtrofilnim in/ali eozinofilnim) alveolitom pomembno večji kot pri sarkoidozi in EABA.

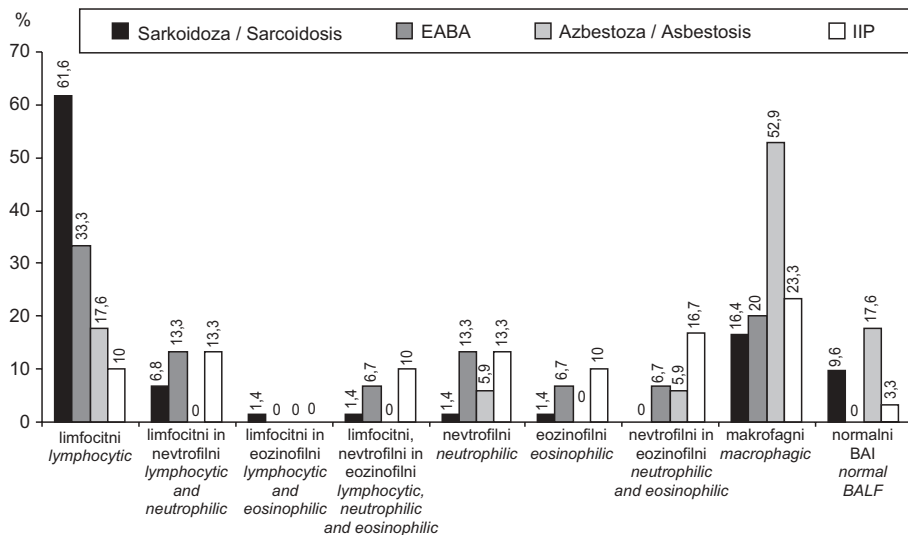
Razpr. 5. *Skupne citološke značilnosti BAI po boleznih. Vrednosti za celice izražene v %. Povprečne vrednosti \pm standardna deviacija.*

Table 5. *Disease characteristic BALF profiles. Values for cell types expressed as %. Average values \pm standard deviation.*

	Sarkoidoza Sarcoidosis	EABA	Azbestoza Asbestosis	IIP
Alveolarni makrofagi Alveolar macrophages	67,4 \pm 19,2	70,9 \pm 20,8	88,8 \pm 8,8	78,0 \pm 14,0
Limfociti Lymphocytes	29,4 \pm 18,6	19,8 \pm 18,8	7,9 \pm 8,7	10,5 \pm 9,5
Nevtrofilci Neutrophils	2,4 \pm 2,4	6,5 \pm 8,9	2,6 \pm 3,4	8,9 \pm 8,8
Eozinofilci Eosinophils	0,6 \pm 1,5	1,9 \pm 3,2	0,5 \pm 1,1	2,3 \pm 2,8
Bazofilci Basophils	0,2 \pm 0,4	0,9 \pm 2,1	0,2 \pm 1,0	0,3 \pm 0,6
Razmerje CD4/CD8 CD4/CD8 ratio	5,9 \pm 5,3	1,8 \pm 2,2	1,8 \pm 1,5	1,1 \pm 1,2

Nevtrofilci so bili v povečanem odstotku prisotni skupno v 23% vzorcev BAI. Največ vzorcev s povečanim odstotkom nevtrofilcev je bilo pri IIP (53,3%) in EABA (40%). Večinoma je bil pri teh dveh boleznih razen odstotka nevtrofilcev povečan tudi odstotek limfocitov in/ali eozinofilcev. Pri sarkoidozi so bili nevtrofilci v povečanem odstotku prisotni le v približno desetini vzorcev. Tudi pri sarkoidozi je bil večinoma razen odstotka nevtrofilcev povečan tudi odstotek limfocitov; v enem vzorcu pa tudi eozinofilcev. Pri azbestozi je bil odstotek nevtrofilcev povečan samo pri dveh bolnikih. Povprečni odstotek nevtrofilcev je bil značilno večji v vzorcih IIP v primerjavi z vzorci sarkoidoze in azbestoze. Podobno velja za povprečni odstotek nevtrofilcev pri EABA v primerjavi s sarkoidozo.

Eozinofilci so bili v povečanem odstotku prisotni skupno v 13,3% vzorcev BAI. Najpogosteje so bili prisotni pri IIP (36,7%) in pri EABA (20,0%). Pri sarkoidozi so bili eozinofilci prisotni v povečanem odstotku samo v treh vzorcih. Pri IIP je bil skoraj v polovici vzorcev s povečanim odstotkom eozinofilcev povečan tudi odstotek nevtrofilcev. V delu vzorcev je bil povečan tudi odstotek limfocitov. Skoraj v tretjini eozinofilnih vzorcev pri IIP je bil povečan samo odstotek eozinofilcev. Pri azbestozi je bil odstotek eozinofilcev povečan samo v enem vzorcu, in še to skupno z nevtrofilci. Povprečni odstotek eozinofil-



Sl. 2. Pogostost vrst alveolitisev po boleznih.

Figure 2. Frequency distribution of alveolitis types according to diseases.

cev je pomembno večji v vzorcih IIP v primerjavi z vzorci sarkoidoze in azbestoze.

Makrofagni alveolitisev so bili skupno prisotni pri 23% vzorcev BAL. Najpogostejši so bili pri azbestozi (> 50%). Pri drugih boleznih so alveolarni makrofagi prevladovali v 16,4% do 23,3% vzorcev. Povprečni odstotek alveolarnih makrofagov je bil pomembno večji v vzorcih azbestoze v primerjavi z vzorci EABA in sarkoidoze. Tudi v vzorcih IIP je bil povprečni odstotek alveolarnih makrofagov večji kot v vzorcih sarkoidoze.

Bazofilci so bili prisotni izjemoma. V vzorcih EABA je bil povprečni odstotek bazofilcev pomembno večji kot v vzorcih sarkoidoze.

Razmerje CD4/CD8 limfociti T je bilo določeno pri 125 bolnikih. Pri sarkoidozi je bilo razmerje večje od 3,5 v 61,4% vzorcev, večje od 5 pa v 47,1% vzorcev (razpr. 6). Pri drugih skupinah boleznih je bilo razmerje večje od 3,5 v 6,8 do 23,1% vzorcev. Glede na dejstvo, da je za sarkoidozo značilen povečani odstotek CD4 pozitivnih limfocitov T, izračun pokaže, da sta pri razmerju CD4/CD8, ki je večje od 3,5, senzitivnost 61% in specifičnost 87%; pri razmerju, ki je večje od 5, pa je senzitivnost manjša (47%), specifičnost pa večja (96%). Pri sarkoidozi je bila povprečna vrednost razmerja CD4/CD8 štirikrat večja kot pri ostalih boleznih. Pri IIP je bilo CD4/CD8 razmerje nižano (< 1) v dveh tretjinah vzorcev, medtem ko je bilo pri EABA nižano le v 38,5% vzorcev.

Razpr. 6. Razmerje CD4/CD8 limfocitov T v vzorcih BAI po boleznih.

Table 6. CD4/CD8 ratio in BALF samples according to diseases.

	< 1	1-3,5	3,5-5	> 5
Sarkoidoza Sarcoidosis	14,3	24,3	14,3	47,1
EABA	38,5	38,5	15,4	7,7
Azbestoza Asbestosis	38,5	46,2	15,4	0,0
IIP	65,5	27,6	3,4	3,4

Razpravljanje

Rezultati naše raziskave potrjujejo pomembnost citološkega pregleda BAI; obenem nakazujejo, da moramo biti pri inter-

pretaciji rezultatov previdni in da jih lahko uporabimo le skupaj z drugimi laboratorijskimi in/ali kliničnimi rezultati. Prvotne domneve, da vnetje in imunske celice v vzorcu BAI odražajo tip in aktivnost vnetnega procesa pri IPB in da bo pregled BAI v mnogih primerih nadomestil zahtevnejše posege, so se izkazale za nekoliko preveč optimistične (7). Citološki pregled BAI je postal pomemben sestavni del diagnostične obdelave, spremljanja poteka bolezni in proučevanja patogeneze IPB.

Delež dobljenega vzorca BAI glede na instilirani volumen tekočine in odstotek viabilnih celic sta parametra, ki sta zelo odvisna od odvzema in obdelave vzorca. Z določevanjem obeh parametrov ugotavljamo ustreznost vzorca. Za zagotavljanje kakovosti mora biti predanalitična faza standardizirana. Na splošno velja, da so vrednosti obeh parametrov zmanjšane pri starejših osebah, kadilcih, bolnikih z obstrukcijo dihalnih poti in z motenim klirensom (3, 8). Med

boleznimi v raziskavi se povprečni odstotki dobljenega vzorca BAI glede na instilirani volumen tekočine niso statistično značilno razlikovali. Odgovor na vprašanje, zakaj je bil povprečen odstotek viabilnih celic pri sarkoidozi in IIP statistično značilno večji kot pri azbestozi, bi lahko bil v najvišjem odstotku kadilcev med bolniki z azbestozo.

Koncentracija celic v BAI pri IPB je bila večinoma zmerno povečana ali v mejah normalnih vrednosti. Izredno povečana je le v posameznih primerih. Izrazitega povečanja koncentracije celic pri EABA nismo ugotovili.

Tako po naših rezultatih kakor tudi rezultatih drugih avtorjev so limfociti v povečanem odstotku najpogosteje prisotni pri sarkoidozi in EABA (9). Za citološko sliko BAI pri sarkoidozi je značilen CD4 limfocitni alveolitis z zmerno povečano koncentracijo celic. Treba je upoštevati, da je lahko limfocitoza prisotna tudi pri drugih boleznih. Winterbauer in sod. (10) omenjajo povečan odstotek limfocitov pri 23 različnih boleznih, med katerimi so zlasti pogoste IPB, okužbe, vnetja in malignomi. Po drugi strani ugotavljamo, da tudi pri sarkoidozi odstotek limfocitov ni povečan pri vseh bolnikih (11). Pri nekaterih naših bolnikih s sarkoidozo je bila namreč citološka slika BAI normalna ali pa je bil povečan odstotek alveolarnih makrofagov ali granulocitov. Nagai in Izumi (12) sta celo ugotovila, da je imelo tipičen limfocitni alveolitis samo 29,5% bolnikov s sarkoidozo. Na osnovi analize naših rezultatov se nam zdi pomemben podatek, da pri sarkoidozi prevladujejo čisti limfocitni alveolitisev in da je alveolitis malokdaj mešanega tipa. Pri naših bolnikih z EABA je bil limfocitni alveolitis prisoten v nekaj več kot polovici vzorcev. Zelo izrazite limfocitoze, ki jo pri EABA opisujejo nekateri drugi avtorji, nismo opazili (13). Več kot 45% limfocitov v diferencialni sliki sta imela samo dva bolnika. Delež bolnikov, pri katerih je bil poleg odstotka limfocitov povečan tudi odstotek granulocitov, je bil pri EABA nekoliko večji kot pri sarkoidozi. Limfocitni alveolitis je dokaj pogost tudi pri bolnikih z IIP; v posamičnih primerih pa tudi pri azbestozi. Na splošno je za alveolitisev pri IIP značilno, da so pogosto mešanega tipa. Razen odstotka limfocitov je namreč največkrat povečan tudi odstotek nevtrofilcev in/ali eozinofilcev, razmerje CD4/CD8 pa je nižano.

Alveolitisev z izrazito povečanim odstotkom nevtrofilcev so značilni zlasti za bakterijske okužbe. Določanje deleža nevtrofilcev je zato pomembno za razlikovanje med bakterijskimi pljučnicami in IPB (14). Za alveolitisev pri IPB je značilno zmerno povečanje deleža nevtrofilcev. Pri naših bolnikih so bili nev-

trofilni alveolitisi najpogostejši pri IIP in EABA. Pri bolnikih s sarkoidozo in azbestozo je bil odstotek nevtrofilcev povečan le v približno desetini vzorcev. Čeprav nekateri podatki govore v prid domnevi, da je prisotnost nevtrofilcev v BAI bolnikov z IPB znak slabše prognoze in razvoja bolezni v smeri fibroze, dejanska njihova vloga v patogenezi IPB še ni povsem razjasnjena (9, 15). Pri EABA je bil delež bolnikov s povečanim odstotkom nevtrofilcev v diferencialni sliki večji kot pri sarkoidozi. Večinoma je bila nevtrofilija zmerno izražena. Pogosteje kot pri sarkoidozi je bil pri EABA razen odstotka nevtrofilcev povečan tudi odstotek limfocitov ali eozinofilcev. Še pogosteje kot pri EABA so bili nevtrofilci v povečanem odstotku prisotni pri bolnikih z IIP. Tudi pri tej skupini bolezni je bila nevtrofilija večinoma zmerno izražena. Pogosto je bil razen odstotka nevtrofilcev povečan tudi odstotek eozinofilcev; v manjšem številu vzorcev tudi limfocitov. Kljub temu da je skupina bolnikov z IIP heterogena, je s citološkega vidika skupna obravnava opravičljiva. Bolezni se namreč po citološki sliki BAI med seboj bistveno ne razlikujejo (1).

Povečan odstotek eozinofilcev smo najpogosteje ugotovili pri bolnikih z IIP in EABA. Pri bolnikih s sarkoidozo in azbestozo pa so bili eozinofilci prisotni v povečanem odstotku samo v posamičnih primerih. Podobno kot za IPB navajajo drugi avtorji, da je bila tudi pri naših bolnikih eozinofilija večinoma le zmerno izražena (16). Največkrat je bil razen odstotka eozinofilcev povečan tudi odstotek nevtrofilcev; pri delu bolnikov pa tudi limfocitov.

Pri razmeroma velikem številu bolnikov z IPB je bila koncentracija celic v BAI povečana, diferencialna slika pa je bila v mejah normalnih vrednosti. Če pri takšni citološki sliki, ki jo največkrat ocenimo kot normalno, razmerje med posameznimi vrstami celic prikažemo v absolutnih vrednostih, se izkaže, da delež nekaterih vrst celic zelo presega normalne vrednosti. To velja zlasti za alveolarne makrofage, ki jim zaradi sekretorne dejavnosti pripisujejo pomembno vlogo pri boleznemskem razvoju. Pri povečanem deležu alveolarnih makrofagov v BAI je opravičljivo govoriti o makrofagnem alveolitisu.

Kadar sta diferencialna slika in koncentracija celic v mejah normalnih vrednosti, tako po naših kriterijih kakor tudi po podatkih v literaturi, označimo citološko sliko kot normalno (17). Največ vzorcev z normalno citološko sliko BAI smo pri naših bolnikih ugotovili pri bolnikih z azbestozo. Pri EABA vzorcev z normalno citološko sliko ni bilo.

V povezavi s citološko sliko je pri laboratorijski obdelavi BAI pomembno tudi določanje subpopulacij oziroma fenotipizacija limfocitov. Številni avtorji ugotavljajo, da je določanje razmerja med CD4 in CD8 limfociti T pomemben diagnostični parameter, s katerim dokaj zanesljivo ločimo sarkoidozo od drugih IPB (10, 18, 19). Ocenjujejo, da ima zvišano CD4/CD8 razmerje pri bolnikih s tipično klinično in radiološko sliko sarkoidoze 50% senzitivnost in več kot 90% specifičnost. Naši rezultati se ujemajo z navedenimi podatki. Nekateri avtorji navajajo razmeroma nizke vrednosti razmerja CD4/CD8 pri sarkoidozi (11). Pri vrednotenju razmerja CD4/CD8 je treba upoštevati, da so vrednosti lahko v posamičnih primerih zvečane tudi pri drugih IPB in da je pri delu bolnikov s sarkoidozo razmerje lahko v mejah normalnih vrednosti ali celo znižano.

Zaključki

Na osnovi podatkov naše raziskave sklepamo, da je določanje deleža dobljenega vzorca BAI glede na instilirani volumen tekočine in odstotka viabilnih celic pri rutinski citološki obdelavi BAI indikator kakovosti vzorca. Pomen različne koncentracije celic je premalo razjasnjen. Ni namreč jasno, v kolikšni meri število celic v BAI odraža dogajanje v pljučih in v kolikšni

meri je posledica drugih dejavnikov (razredčitveni faktor). Pomembno je, da vzorcev z normalno koncentracijo celic in patološko diferencialno sliko in vzorcev z zvečano koncentracijo celic in normalno citološko sliko ne uvrščamo med normalne.

Citološka slika BAI je najbolj značilna pri sarkoidozi. CD4 limfocitni alveolitis z zvišanim razmerjem CD4/CD8 je prisoten pri večini bolnikov s sarkoidozo. V manjšem številu vzorcev je razen odstotka limfocitov povečan tudi odstotek nevtrofilcev ali eozinofilcev. Prav tako v manjšem številu vzorcev je alveolitis nevtrofilnega, eozinofilnega ali makrofagnega tipa ali pa je citološka slika normalna. Pri EABA je citološka slika manj značilna. Alveolitis limfocitnega tipa z znižanim razmerjem CD4/CD8 je prisoten v več kot polovici vzorcev. Pogosteje kot pri sarkoidozi je razen odstotka limfocitov povečan tudi odstotek nevtrofilcev in/ali eozinofilcev. Pogostejši kot pri sarkoidozi so tudi alveolitisi nevtrofilnega ali eozinofilnega tipa; pri tem pa odstotki granulocitov niso visoki. Za citološko sliko BAI pri azbestozi je značilno, da je pogosto izražen makrofagni tip alveolitisa. Pri IIP je citološka slika še manj značilna. Pogostejši kot pri sarkoidozi in EABA so granulocitni in makrofagni alveolitisi.

Literatura

1. Costabel U, Guzman J. Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2001; 7: 255–61.
2. American Thoracic Society. Clinical role of bronchoalveolar lavage in adults with pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 481–6.
3. European Society of Pneumology task group on BAL. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). *Eur Respir J* 1989; 2: 561–85.
4. Merchant RK, Schwartz DA, Helmers RA, Dayton SC, Hunninghake GW. Bronchoalveolar lavage cellularity. The distribution in normal volunteers. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 448–53.
5. Drent M, Mulder PGH, Wagenaar SS, Hoogsteden H, Valzen-Blad H, Bosch JMM. Differences in BAL fluid variables in interstitial lung diseases evaluated by discriminant analysis. *Eur Respir J* 1993; 6: 803–10.
6. Mermolaja M, Rott T, Debeljak A. Cytology of bronchoalveolar lavage in some rare pulmonary disorders: pulmonary alveolar proteinosis and amiodarone pulmonary toxicity. *Cytopathology* 1994; 5: 9–16.
7. Hunninghake GW, Kawanami O, Ferrans VJ, Young RC, Roberts WC, Crystal RG. Characterisation of the inflammatory and immune effector cells in lung parenchyma of patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123: 407–12.
8. Garcia-Garcia JM, Hernandez JR, Martinez-Muniz MA et al. Airways reactivity, atopy and bronchoalveolar lavage in male smokers with airflow obstruction. *Respiration* 1996; 63: 199–204.
9. Poulter LW, Rossi GA, Bjermer L et al. The value of bronchoalveolar lavage in the diagnosis and prognosis of sarcoidosis. *Eur Respir J* 1992; 8: 75–82.
10. Winterbauer RH, Lammert J, Selland M, Rae W, Corley D, Springmeyer SC. Bronchoalveolar lavage cell populations in the diagnosis of sarcoidosis. *Chest* 1993; 104: 352–61.
11. Kantrow SP, Meyer KC, Kidd P, Raghu G. The CD4/CD8 ratio in BAL fluid is highly variable in sarcoidosis. *Eur Respir J* 1997; 10: 2716–21.
12. Nagai S, Izumi T. Bronchoalveolar lavage still useful in diagnosing sarcoidosis? *Clinics in Chest Medicine* 1997; 18: 787–97.
13. Drent M, Jacobs JA, Costabel U, Wouters EFM, Mulder PGH. Computer program supporting the diagnostic accuracy of cellular BALF analysis: a new release. *Respiratory Medicine* 2001; 95: 781–6.
14. Cobben NAM, Jacobs JA, Dieijen-Visser van MP, Mulder PGH, Wouters EFM, Drent M. Diagnostic value of BALF cellular profile and enzymes in infectious pulmonary disorders. *Eur Respir J* 1999; 14: 496–502.
15. Drent M, Jacobs JA, de Vries J, Lamers RJS, Liem HI, Wouters EFM. Does the cellular bronchoalveolar lavage fluid profile reflect the severity of sarcoidosis? *Eur Respir J* 1999; 13: 1338–44.
16. Baughman RP, Drent M. Role of bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Clin Chest Med* 2001; 22: 331–41.
17. The BAL cooperative group steering committee. Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis and selected comparison groups. *Amer Rev Respir Dis* 1990; 141: 69–202.
18. Costabel U, Zaiss AW, Guzman J. Sensitivity and specificity in BAL findings in sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1992; 9: Suppl 1: 211–4.
19. Thomeer M, Demedts M. Predictive value of CD4/CD8 ratio in bronchoalveolar lavage in the diagnosis of sarcoidosis (abstract). *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1997; 14: Suppl 1: 36–6.