

Aus dem
Zentrum der Kinderheilkunde
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main
Abteilung für Allgemeine Pädiatrie II
Leiter: Prof. Dr. med. D. Hofmann

**Hämosiderinbeladene Alveolarmakrophagen
in der bronchoalveolären Lavage
pädiatrischer Patienten**

INAUGURAL DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Bettina Weimer
aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main, 1998

Dekan: Prof. Dr. med. G. von Jagow
Referent: Prof. Dr. med. D. Hofmann
Koreferent: Prof. Dr. med. T. O.F. Wagner
Tag der mündlichen Prüfung: 30.04.1999

Inhaltsverzeichnis

<i>1 Einleitung</i>	3
<i>2 Hämosiderin in der bronchoalveolären-Lavage Flüssigkeit</i>	6
2.1 Eisenstoffwechsel	6
2.2 Eisengehalt der Alveolarmakrophagen	9
2.3 Die bronchoalveoläre Lavage (BAL)	11
2.3.1 Die BAL als therapeutisches und diagnostisches Verfahren	11
2.3.2 Die Rolle der bronchoalveolären Lavage in der Pädiatrie	12
2.3.3 Durchführung der bronchoalveolären Lavage (BAL)	15
2.3.4 Differentialdiagnostische Bedeutung des Hämosiderin - Scoring	18
<i>3 Pulmonale Hämorrhagie</i>	21
3.1 Syndrome pulmonaler Hämorrhagie	21
3.2 Idiopathische Lungenhämosiderose (IPH)	27
<i>4 Idiopathische Hämosiderose bei einem Kleinkind</i>	31
4.1 Kasuistik	31
4.2 Diskussion	37
<i>5 Studienplanung, Patienten und Methodik</i>	40
5.1 Patientenkollektiv	40
5.1.1 Lungengesunde Patienten	40
5.1.2 Patienten mit gastroösophagealer Refluxkrankheit (GÖR)	42
5.1.3 Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen anderer Genese	44
5.2 Studiendurchführung	44
5.2.1 Durchführung der bronchoalveolären Lavage (BAL)	44
5.2.2 Verarbeitung des Bronchialaspirats und Herstellung der Zytozentrifugenpräparate	45
5.2.3 Färbung der Zytozentrifugenpräparate mit der Berliner-Blau-Methode	47
5.3 Hämosiderin-Scoring	48
<i>6 Ergebnisse</i>	51
6.1 Ergebnisse des Hämosiderin-Scoring bei lungengesunden Kindern - Normwerterstellung-	51
6.2 Ergebnisse des Hämosiderin-Scoring bei Patienten mit einem gastroösophagealen Reflux (GÖR)	56
6.3 Ergebnisse des Hämosiderin-Scoring bei Kindern mit chronischen Lungenerkrankungen	62
6.4 Ergebnisse der Patientengruppen im Vergleich	65
<i>7 Diskussion</i>	73

<u>8 Zusammenfassungen</u>	81
8.1 Zusammenfassung	81
8.2 Summary	82
<u>9 Literaturverzeichnis</u>	84
<u>10 Anhang</u>	91
10.1 Tabellenverzeichnis	91
10.2 Abbildungsverzeichnis	92
10.3 Danksagung	92
10.4 Lebenslauf	93
10.5 Ehrenwörtliche Erklärung	94

1 Einleitung

Pulmonale Hämorrhagie ist ein wichtiges Symptom verschiedener pulmonaler und systemischer oft progredient verlaufender Grunderkrankungen.⁴⁹ Hervorzuheben sind an dieser Stelle die idiopathische Lungenhämosiderose sowie Krankheiten immunologischer Genese mit und ohne Nierenbeteiligung (z. B. rasch progressive Glomerulonephritis, Goodpasture Syndrom,⁴³ Systemischer Lupus Erythematoses⁵⁸). Die Hämorrhagie selbst kann im akuten Anfall zu lebensbedrohlichen Krisen führen, für die Langzeitprognose stehen jedoch die Organschädigungen an Lunge und Nieren im Vordergrund. Die wiederholten intrapulmonalen Blutungen führen über eine Fibrosierung der Lungen zu einer Beeinträchtigung des Gasaustausches und Hypertonie im kleinen Kreislauf. Klinisch zeigen sich Zyanose, Dyspnoe, Rechtsherzbelastung und schließlich pulmonale und kardiale Insuffizienz. Bei Nierenbeteiligung kann die Erkrankung zur Dialysepflichtigkeit führen.^{5, 16, 33, 34} Eine frühestmögliche Diagnosestellung ist von großer Wichtigkeit, um die Patienten einer adäquaten Therapie zuzuführen und die Organschäden, die für den Langzeitverlauf entscheidend sind, zu minimieren.³³ Diagnostisch wegweisend ist die Symptomtrias Hämoptysis, Dyspnoe und Eisenmangelanämie sowie eine radiologisch diffuse Verschattungen der Lunge. Beweisend für eine alveoläre Hämorrhagie ist der Nachweis von hämosiderinbeladenen Alveolarmakrophagen in einer Biopsie oder der bronchoalveolären-Lavage Flüssigkeit.^{33, 34} Auch andere Lungenerkrankungen, beispielsweise Entzündungen, können durch eine Zunahme der Kapillarpermeabilität beziehungsweise durch eine Verletzung der alveolokapillären Strukturen ebenfalls zum Übertritt von Blut in den Alveolarraum und somit zum Auftreten von

Hämosiderophagen führen.⁶³ Bei Erwachsenen sind schwach- bis mittelstarke alveoläre Blutungen in Assoziation mit verschiedenen pulmonalen Erkrankungen beschrieben (bakterielle Pneumonien, Pneumocystis carinii Pneumonie, Aspergillose,³⁰ Karzinome,⁴¹ diffuse interstitielle Lungenkrankheiten⁵⁶), die bislang jedoch über die Beurteilung hämosiderinbeladener Makrophagen alleine nicht differentialdiagnostisch zugeordnet werden können.⁵⁶ Es gilt abzugrenzen, ob die nachgewiesenen Hämosiderophagen Bestandteil einer Entzündungsreaktion, Ausdruck einer anderen pulmonalen Krankheit oder Nachweis einer alveolären Hämorrhagie sind.

Erkrankungen des respiratorischen Systems sind häufig mit einer gastroösophagealen Refluxkrankheit (GÖR) assoziiert.^{1, 8} Besonders im Falle eines "silenten" Refluxes ohne gastroenterologische Symptomatik (Erbrechen, Schmerzen) kann die Möglichkeit einer Refluxerkrankung als Ursache der pulmonalen Problematik leicht übersehen werden. Beobachtet wurde die Assoziation eines GÖR mit einer Vielzahl pulmonaler Erkrankungen und respiratorischen Symptomen wie Asthma, chronische Bronchitis, Bronchiektasen, und pulmonaler Fibrose.¹ Die Vermutung liegt nahe, daß die aggressive chemische Reizung der Lunge auf dem Boden eines GÖR durch die hervorgerufene massive Entzündungsreaktion mit einer pulmonalen Blutung einhergeht (siehe Kapitel 4, Fallbeispiel). Es wird diskutiert, ob die Höhe des Hämosideringehaltes der Alveolarmakrophagen als Folge der pulmonalen Relevanz eines GÖRs anzusehen ist und diesbezüglich Aussagekraft besitzt.

Da wir bei Kindern wesentlich weniger Hämosiderin in Alveolarmakrophagen nachweisen konnten als für Erwachsene beschrieben,^{20, 29} wurde untersucht, ob in der Pädiatrie einer Auswertung des Hämosideringehaltes eine größere differentialdiagnostische Bedeutung zukommt als in der internistischen Medizin. Es stellt sich die Frage, inwieweit chronische Lungenerkrankungen auf die Höhe des intramakrophagozytären Eisens meßbaren Einfluß nehmen und ab welcher Hämosiderinmenge von pulmonaler Hämorrhagie ausgegangen werden muß.

An unserem Institut wird im Rahmen der pulmonalen Routinediagnostik bei der Bronchoskopie eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) durchgeführt. Wir waren daher in der Lage, Alveolarmakrophagen von Kindern mit unterschiedlichen Lungenerkrankungen bezüglich des Hämosideringehaltes zu beurteilen.

Es wurde untersucht, ob sich chronische Lungenerkrankungen unterschiedlicher Genese und die chronische chemische Reizung der Lungen auf dem Boden einer gastroösophagealen Refluxkrankheit mittels einer Quantifizierung der Eisenlast sowohl untereinander als auch von der pulmonalen Hämorrhagie abgrenzen lassen. Mit Hilfe einer gesunden Kontrollgruppe wurden Normwerte für einen Hämosiderin-Score kindlicher Alveolarmakrophagen erstellt. Diese Kinder befanden sich zur Durchführung einer Elektivoperation in unserer Klinik. Während der Intubationsnarkose wurde eine bronchoalveoläre Lavage durchgeführt.

Zielsetzung

1. Erstellung eines Hämosiderin-Score und Ermittlung von Normwerten für Kinder
2. Bewertung des Hämosiderin-Score für die pädiatrische Differentialdiagnostik

2 Hämosiderin in der bronchoalveolären-Lavage Flüssigkeit

2.1 Eisenstoffwechsel

Der Eisengehalt des Gesamtorganismus wird durch Rückkopplungsmechanismen konstant gehalten, dies gilt insbesondere für den Eisengehalt des Blutplasmas. Im Plasma ist Eisen an Transferrin gebunden (= Siderophilin, ein β_1 -Globulin). Die Gesamtmenge des im Plasma an Transferrin gebundenen Eisens beträgt 3 mg (=Eisenbindungskapazität). Die Hauptmenge des Eisens befindet sich in den Erythrozyten: Erythrozyten enthalten je ml circa 1 mg Eisen. Die Steuerung der Eisenbilanz erfolgt ausschließlich durch die Eisenaufnahme aus der Nahrung, da die Eisenausscheidung mit 1-3 mg/d relativ konstant ist. In der Nahrung nehmen wir in der Regel 10-20 mg Eisen pro Tag auf, die Resorption der notwendigen 1-3 mg erfolgt im oberen Dünndarm. 25-30 mg Eisen werden täglich während der Erythrozytenreifung im Knochenmark in das Hämoglobin eingebaut. Dies entspricht der Eisenmenge, die täglich bei der physiologischen Mauserung der gealterten Erythrozyten frei wird und ins Blutplasma gelangt. Jeweils 1 mg wird über den Harn, den Schweiß und durch die Mauserung der Epithelien an inneren und äußeren Oberflächen ausgeschieden. Während der Menstruation verliert eine Frau circa 15-45 mg Eisen. 2 mg Eisen wandern täglich in die physiologischen Eisendepots, die mononukleären Phagozytensysteme der Milz, des Knochenmarkes und der Leber (von-Kupffersche-Sternzellen und Leberepithelzellen). Intrazellulär wird Eisen zuerst

an Ferritin gebunden, wozu die betreffende Zelle das Trägerprotein Apoferritin bereitstellt. Mit diesen Ferritinmolekülen werden intralysosomale Siderin granula aufgebaut (Siderosomen). Durch Abbau des Siderins kann das gespeicherte Eisen jederzeit mobilisiert und der Erythropoese zugeführt werden. Ferritin ist wasserlöslich und wird daher durch die üblichen Fixationsverfahren aus den histologischen oder zytologischen Schnitten herausgelöst.³²

Die zweite Speicherungsform ist das nicht wasserlösliche *Hämosiderin*, es besteht aus komplex gebundenem Ferritin-Eisen mit Eiweißpräzipitaten und läßt sich durch die Berliner - Blau - Reaktion nachweisen. Diese Ferritin- und Siderinbildung stellt einen Schutz der Zelle vor der Wirkung des freien Schwermetalls dar. Eine Zellschädigung durch übermäßige Siderinablagerung gibt es nicht, wird sie dennoch beobachtet, geht sie auf die Anwesenheit nicht sichtbarer, freier Eisenmoleküle zurück, die wegen einer relativ oder absolut unzureichenden Apoferritinsynthese nicht mehr gebunden werden können. Gewöhnlich enthalten Makrophagen nur Ferritin und erscheinen somit histochemisch eisenfrei. Fällt die Berliner - Blau - Reaktion positiv aus, liegt eine vermehrte Eisenspeicherung in Form von Hämosiderin vor.³² Einige Zellen enthalten auch unter normalen Bedingungen Hämosiderin, sie befinden sich im besonderen in Geweben, in denen ein hoher Turnover an Eisen stattfindet. Der phagozytäre Abbau der verbrauchten Erythrozyten in Makrophagen und retikuloendothelialen Zellen führt zum Hämosiderinaufbau. Als Folge des hohen Umsatzes an Eisen enthaltenden Enzymen und der Ferritinproduktion, finden sich kleine Hämosiderinmengen in Hepatozyten. In von-Kupfferschen-Sternzellen ist regelmäßig Hämosiderin nachweisbar. Im Falle einer

Eisenüberladung des Organismus kann die (FeOOH)-Komponente des Hämosiderins über Jahre in diesen Zellen gelagert werden, wie es im fortgeschrittenen Stadium der Hämochromatose zu finden ist.⁶³

Die *Hämochromatose* ist eine Eisenspeicherungskrankheit, die genetisch determiniert ist (autosomal-rezessiv, HLA-assoziiert) und eine erhöhte und unkontrollierte Eisenaufnahme bewirkt. Der Körper kann die Eisenausscheidung nicht flexibel steuern. Daher führt die vermehrte intestinale Resorption zu einer ständigen Erhöhung des Bluteisenspiegels auf das 20- bis 50-fache des Normalwertes und hauptsächlich zu einer Ablagerung in Hepatozyten. Wenn die primären Depots überfüllt sind, kann das überschüssige Eisen jedoch in nahezu allen Organen gespeichert werden. Neben der idiopathischen Hämochromatose kann diese Symptomatik ebenfalls durch eine Eisenüberflutung des Körpers hervorgerufen werden, wie es von chronisch transfusionsbedürftigen Erkrankungen oder hämolytischen Anämien bekannt ist. Hier sind vorwiegend die Sternzellen befallen.³ In diesen Fällen liegt ein Überschuß an Eisen im Blut vor,³ während bei der idiopathischen Hämosiderose der Plasmaeisenspiegel erniedrigt ist³³.

Eine Verminderung des zur Verfügung stehenden Eisens zieht eine *Eisenmangelanämie* nach sich. Hauptursache hierfür sind chronische Blutverluste, die sich - oft vom Patienten nicht bemerkt - über Monate und Jahre hinziehen können, bevor sie klinisch manifest werden. Als Folge eines solchen chronischen Blutverlustes wird die Erythropoese im Knochenmark zunächst angeregt, da die Reduktion des O₂-Partialdruckes im Nierenblut zu einer vermehrten

Erythropoetinbildung führt. Limitierend ist nicht die Intensität der Erythropoese, sondern die Menge des zur Verfügung stehenden Eisens. Erst wenn die Eisendepots zur Neige gehen, sinkt die Eisenkonzentration im Blutplasma, und es entwickelt sich eine meist mikrozytäre, hypochrome Anämie. Eine Eisenmangelanämie aufgrund verminderter Eisenresorption wird am häufigsten beim Malabsorptions-Syndrom beobachtet. Alle Krankheiten, die mit einer Atrophie der Dünndarmschleimhaut (beispielsweise die Zöliakie) einhergehen, führen zur hypochromen Anämie.³²

Der Verlust des verfügbaren Eisens mit Senkung der Eisenplasmakonzentration ist die Ursache der hypochromen Anämie bei der *idiopathischen Lungenhämosiderose*.³²

2.2 Eisengehalt der Alveolarmakrophagen

Alveolarmakrophagen üben eine Vielzahl wichtiger Funktionen aus wie Phagozytose, mikrobielle Aktivität und Mitwirkung an pulmonalen Immunreaktionen. Sie tragen Transferrin-Rezeptoren an ihrer Oberfläche und haben einen hohen Ferritingehalt. Die Makrophagen wandeln das mit den Erythrozyten aufgenommene Hämoglobin in Ferritin und Hämosiderin um.¹⁹ Das bedeutet, daß bei Gefäßläsionen oder einer Permeabilitätserhöhung bei Entzündungsreaktionen die in das Alveolarlumen übergetretenen Erythrozyten von den Makrophagen inkorporiert werden. Dort kann der Abbau der Erythrozyten anhand der Ferritin- beziehungsweise der Hämosiderinproduktion nachvollzogen werden.⁶³ Es läßt sich schlußfolgern, daß die Menge des intrazellulär nachgewiesenen Hämosiderins mit der Menge der

ausgetretenen Erythrozyten korreliert. Die gleiche Erythrozytenmenge könnte entweder einer akuten größeren Blutung oder einer kleineren chronischen Blutung entstammen.⁶³

Sherman et al. untersuchten die Clearance der Alveolarmakrophagen. Sie stellten fest, daß ca. 50 Stunden nach einer akuten Blutung hämosiderinbeladene Makrophagen im Bronchialaspirat nachzuweisen sind. In den ersten 24 Stunden nach einer intrapulmonalen Blutung ist bereits ein Großteil der Erythrozyten phagozytiert. Da die hämosiderinbeladenen Alveolarmakrophagen nur eine limitierte Zeitspanne im Alveolarraum verbleiben, ist eine einzige Episode pulmonaler Hämorrhagie nur schwer nachzuweisen. Große Mengen hämosiderinbeladener Makrophagen sprechen für eine persistierende Blutungsquelle oder sich häufig wiederholende Episoden pulmonaler Hämorrhagie.⁶⁸

Bei frischer Hämorrhagie ist zu beachten, daß sich innerhalb der ersten Stunden als einziger Hinweis auf eine alveoläre Blutung ein hoher Erythrozytenanteil in der BAL-Flüssigkeit befindet. In den ersten 48 Stunden lassen sich zusätzlich goldgelbe Einschlüsse, phagozytierte Erythrozytenfragmente, in den Makrophagen nachweisen. Frühestens nach 48 bis 72 Stunden sind hämosiderinbeladene Makrophagen zu finden.²⁰

Desweiteren muß die endogene von der exogenen Eisenbeladung durch eisenhaltige Stäube abgegrenzt werden: Bei der exogenen Siderose fehlen Erythrozytenfragmente,

statt dessen finden sich grobkonturierte pneumokoniotische Staubeinschlüsse, die sich in der Berliner-Blau-Reaktion positiv darstellen.²⁰

2.3 Die bronchoalveoläre Lavage (BAL)

2.3.1 Die BAL als therapeutisches und diagnostisches Verfahren

Die BAL ist ein Verfahren in der pulmonalen Routinediagnostik, mit deren Hilfe Material aus den peripheren Atemwegen und den Alveolen gewonnen werden kann. Die differentialzytologischen Veränderungen repräsentieren Veränderungen im Lungenparenchym,⁹ daher leistet ihre zelluläre Komponente einen wertvollen Beitrag zur Differentialdiagnostik und Aktivitätsbeurteilung interstitieller Lungenkrankheiten.²⁰ Obwohl die bronchoalveoläre Lavage ursprünglich zu therapeutischen Zwecken entwickelt wurde, ist der therapeutische Einsatz heute selten und beschränkt sich auf die alveoläre Proteinose.²¹

1963 wurde von Ramirez et al. die erste Gesamtlungen-Lavage unter Verwendung großer Mengen Spülflüssigkeit zur Therapie der alveolären Proteinose durchgeführt.⁵⁹ Daraufhin wurde diese Technik in dem Bestreben angewandt, die Lungenfunktion beeinträchtigendes Material aus den Alveolen und Bronchien zu entfernen. Dies ist bei alveolärer Proteinose, alveolärer Mikrolithiasis, akuter Silikose, sowie der Inhalation radioaktiver Substanzen oder anorganischen Staubes der Fall.²¹ Aber auch im Falle von Krankheiten, die mit der Produktion zähen Schleimes einhergehen, wie zystische Fibrose oder Asthma werden gelegentlich noch therapeutische Lungen-Lavagen durchgeführt. Bei Asthmapatienten und bei Patienten mit zystischer Fibrose

finden wesentlich kleinere Spülvolumina Anwendung als bei Patienten mit alveolärer Proteinose.²¹

Durchsetzen konnte sich die therapeutische BAL jedoch in erster Linie in der Behandlung der alveolären Proteinose, da bei anderen Lungenerkrankungen das Nutzen/Risiko-Verhältnis gegen einen routinemäßigen Einsatz spricht. Besonders Lungenspülungen bei Asthmapatienten erfordern anschließend häufig intensivmedizinische Überwachung.²¹

Seit ca. 20 Jahren wird die bronchoalveoläre Lavage in ihrer heute üblichen Form durchgeführt. Sie dient in erster Linie der klinischen Forschung als Methode zur Probengewinnung von bronchoalveolärem Lungensekret sowie zur Differentialdiagnostik und Aktivitätsbeurteilung interstitieller Lungenerkrankungen.⁶⁷ Die diagnostische bronchoalveoläre Lavage ist eine wenig invasive und für den erfahrenen Endoskopiker einfach durchzuführende Untersuchung. Daher findet sie insbesondere Anwendung beim Nachweis opportunistischer Infektionen bei Patienten mit Immunschwäche.^{20, 23, 48, 55} Als diagnostisches Verfahren bei thrombozytopenischen Patienten ist die BAL mit einem wesentlich geringeren Risiko behaftet als die alternative transbronchiale Biopsie.²³ Desweiteren findet die BAL Anwendung im Zusammenhang mit Schadstoffexpositionen im beruflichen Bereich²⁰.

2.3.2 Die Rolle der bronchoalveolären Lavage in der Pädiatrie

Die bronchoalveoläre Lavage konnte sich in den letzten Jahren als Verfahren zur Diagnostik und Verlaufskontrolle bei bronchopulmonalen Erkrankungen wie der

Sarkoidose, der allergischen Alveolitis, der Lungenfibrose, der Asbestose und der Silikose etablieren. Für das Kindesalter spielen die genannten Erkrankungen keine große Rolle, so daß die diagnostische BAL erst verzögert zum Einsatz kam.³⁶ Das Hauptindikationsgebiet der BAL bei Kindern besteht in der Diagnose von pulmonalen Infektionen. Insbesondere bei therapieresistenten Pneumonien immunsupprimierter Patienten kann mit Hilfe der BAL der Erreger identifiziert, kultiviert und gezielt antibiotisch behandelt werden.^{10, 26, 51, 71} Bei 62% der HIV-infizierten Kinder mit akuten bronchopulmonalen Symptomen konnte eine *Pneumocystis carinii* Pneumonie nachgewiesen werden.¹⁰ Andere HIV-positive Kinder zeigten pulmonale *Candida albicans* und *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen.^{10, 26} Da im Falle einer HIV-Infektion eine große Zahl pathogener Keime als Ursache pulmonaler Erkrankungen in Frage kommt, stellt eine akute pulmonale Symptomatik bei HIV-infizierten Kindern eine sehr wichtige Indikation zur bronchoalveolären Lavage in der Pädiatrie dar.⁷¹ Die mikrobiologische oder virologische Diagnosesicherung ist besonders wichtig, da die in Frage kommenden opportunistischen Infektionen radiologisch ähnliche Erscheinungsbilder aufweisen.¹⁰

Der Stellenwert der BAL bei der Infektionsdiagnostik immunkompetenter Kinder ist weniger eindeutig. Die Beurteilung identifizierter Keime muß zumindest halbquantitativ erfolgen, da die häufigsten Pneumonie-Erreger Pneumokokken, *Haemophilus influenzae* und *Staphylokokkus aureus* ebenfalls durch Kontamination des Bronchoskops im Nasen- Rachen- Raum in die bronchoalveoläre Flüssigkeit gelangen können.²⁶ Es existieren jedoch bereits Studien, die anhand der

Koloniezahlen nasopharyngeale Kontaminationen von pulmonalen Infektionen unterscheiden.^{44, 70} Indiziert ist die BAL möglicherweise bei therapieresistenter Pneumonie immunkompetenter Kinder zur Erregeridentifikation und -kultivierung.²⁷ Bei schwerer Bronchiolitis wird die BAL zur Erregerdiagnostik genutzt. Ferner wird die BAL zur Erregeridentifikation bei akuter Pneumonie eingesetzt.³⁷ Bei zystischer Fibrose scheint eine Entzündung des Respirationstraktes der erste Hinweis einer pulmonalen Manifestation der Erkrankung zu sein. Eine Verlaufskontrolle mittels BAL wird von einigen Untersuchern als eine gute Möglichkeit angesehen, das Ansprechen einer Therapie bei Kindern mit dieser Erkrankung zu verfolgen und zu beurteilen.⁶

Die BAL ist bei Kindern jeden Alters gut verträglich.³⁶ Das Nebenwirkungsrisiko der BAL ist gering, allerdings muß bedacht werden, daß für die Durchführung einer BAL im Kindesalter eine Vollnarkose beziehungsweise eine tiefe Sedierung notwendig ist, die ihrerseits mit Risiken und Belastungen für die Kinder behaftet ist. Eine bronchoalveoläre Lavage kann bei allen Kindern durchgeführt werden, bei denen eine Indikation für einen bronchoskopischen Eingriff vorliegt, da die BAL das Risiko des durchzuführenden bronchologischen Eingriffs nicht erhöht.^{35, 36} Als Nebenwirkungen sind Fieber⁶⁰ und in Einzelfällen Atelektasenbildung³⁶ (siehe unten: "Komplikationen") zu beobachten. Die Erscheinungen bilden sich jedoch innerhalb kurzer Zeit zurück und sind nicht auf die Lavage zurückzuführen, sondern eine Reaktionen auf den bronchologischen Eingriff.³⁶ Die Schwierigkeit bei Kindern besteht darin, genügend Material für die Untersuchung von zellulären und humoralen

Faktoren zu gewinnen, da die Spülmenge um so geringer sein muß, je jünger das Kind ist.³⁵ Allgemein akzeptiert ist heute eine an das Lungenvolumen adaptierte Spülmenge von 3x1 ml/kg KG.

2.3.3 Durchführung der bronchoalveolären Lavage (BAL)

Indikationen

Grundsätzlich ist die Indikation zur BAL bei allen unklaren interstitiellen Lungenveränderungen gegeben, auch bei potentiell infektiöser oder maligner Genese. Bei ätiologisch bereits geklärter interstitieller Lungenerkrankung kann die BAL zur Aktivitätsbeurteilung, als Entscheidungskriterium einer Therapiebedürftigkeit und zur Therapiekontrolle herangezogen werden. Das diagnostische Spektrum der BAL findet seine Ergänzung in der transbronchialen Lungenbiopsie. Daher kann diese bei ätiologisch noch ungeklärten Krankheitsprozessen nach Durchführung der BAL während der gleichen Bronchoskopie noch angeschlossen werden. Die BAL kann im Gegensatz zur transbronchialen Biopsie auch bei schwerkranken Patienten, bei beatmeten Patienten und bei Patienten mit Gerinnungsstörungen ohne wesentlich erhöhtes Risiko durchgeführt werden.²⁰

Risikofaktoren

Als minimale Risikoabschätzung sind Lungenfunktion, Blutgase, Blutbild, sowie Blutgerinnungsparameter zu untersuchen. Folgende Risikofaktoren für das Auftreten von Nebenwirkungen sind beschrieben:²⁰

1. Bronchiale Hyperreagibilität

2. Ausgedehnte Lungeninfiltrate
3. Sauerstoffsättigung < 90%
4. FEV₁ < 60% des Sollwertes oder <11
5. Pa O₂ < 60 mm Hg
6. Gerinnungsstörungen
7. Herzvitien

Komplikationen

Spezielle Vorsicht ist bei Patienten mit obstruktiven Lungenerkrankungen geboten. Letale Komplikationen sind jedoch bisher in direktem Zusammenhang mit einer BAL nicht bekannt. Als Nebenwirkung kann innerhalb von 24 Stunden Fieber auftreten. Radiologisch werden passagere segmentale Verschattungen beobachtet, die nicht als Pneumonie fehlinterpretiert werden dürfen und sich meist nach 24 Stunden wieder zurückbilden. Bei hyperreaktiven Patienten können Bronchospasmen auftreten, nach der Lavage können noch Pfeif- und Rasselgeräusche festgestellt werden. Bei Patienten mit normaler Reaktivität sind diese Nebenwirkungen sehr selten.⁶⁷

Bronchoskopisches Vorgehen

In der Regel wird die BAL mittels eines Fieberbronchoskopes bei Erwachsenen in Lokalanästhesie durchgeführt. In der Pädiatrie ist eine Vollnarkose notwendig, wenn mit starrem Instrumentarium gearbeitet wird. Eine Prämedikation ist ohne Einfluß auf den Gewinn von Zellen oder Flüssigkeit.

Das Husten des Patienten sollte während der Untersuchung unterdrückt werden, da dies zu Flüssigkeitsverlusten und zur Verunreinigung der Lavage-Flüssigkeit durch Blut führen kann. Auf eine ausreichende Lokalanästhesie ist daher zu achten. Überflüssige Mengen an Lokalanästhetika sollten jedoch vollständig abgesaugt werden, da Lokalanästhetika den Gewinn an Zellen, die Zellaktivität, den Nachweis von Bakterien sowie einige Makrophagenfunktionen beeinflussen können.⁶⁷

Aus anatomischen und technischen Gründen ist die BAL im Mittellappen oder alternativ in der Lingula am leichtesten möglich, der Gewinn an Zellen und Flüssigkeit ist dort am größten. Aus diesen Gründen sollte die BAL bei generalisiertem Befund im Mittellappen, bei lokalem Befund jedoch im betroffenen Segment durchgeführt werden. Das Bronchoskop wird soweit in die Peripherie vorgeschoben, bis die Instrumentenspitze den Bronchialbaum abdichtet ("wedge-Position"). Es werden verschiedene Volumina einer isotonischen NaCl-Lösung durch das sich in "wedge" - Position befindliche Bronchoskop in ein oder mehrere Lungensegmente eingebracht und sofort oder nach kurzer Zeit aspiriert. Wesentlich ist, daß die Aspiration vorsichtig und atraumatisch erfolgt (Vermeidung eines Bronchialkollapses). Der Flüssigkeitsrückgewinn beträgt durchschnittlich 40-50% beim Fieberbronchoskop und 30-40% bei Katheterlavage mit starrem Bronchoskop. Die BAL- Flüssigkeit wird in Polyethylengefäßen gesammelt und weiterverarbeitet.^{20,}

2.3.4 Differentialdiagnostische Bedeutung des Hämosiderin - Scoring

Der alveolären Hämorrhagie liegt eine diffuse Schädigung der alveolokapillären Strukturen zugrunde, welche den Übertritt von Blut aus kleinen Lungengefäßen in die Alveolen ermöglicht. Die Folge ist die Aufnahme und Speicherung der Erythrozytenabbauprodukte in den Alveolarmakrophagen. Physiko-chemische Untersuchungen ergaben in Fällen von Lungenhämosiderose unterschiedlicher Genese einen 80fach erhöhten Gesamtorganeisengehalt, der zu 89% aus unlöslichem Eisen (Hämosiderin) bestand.¹⁵ Die Diagnose "alveoläre Hämorrhagie" kann leicht mittels lichtmikroskopischer Auswertung der BAL-Flüssigkeit qualitativ gestellt und mit Hilfe des Hämosiderin-Scoring quantifiziert werden. Der Hämosiderin-Score bezieht sich auf eine feste Zellzahl und setzt sich aus der Anzahl der hämosiderinbeladenen Makrophagen sowie deren individueller Eisenlast zusammen. Im Gegensatz zur prozentualen Bestimmung der hämosiderinbeladenen Alveolarmakrophagen in der BAL - Flüssigkeit ermöglicht das Hämosiderin - Scoring nicht nur eine qualitative, sondern eine semiquantitative Beurteilung des Eisengehalts. Die BAL ist bei Verdacht auf alveoläre Hämorrhagie die diagnostische Methode der Wahl, da sie selbst bei Thrombozytenzahlen bis 20.000/ μ l anwendbar ist. Beweisend für die alveoläre Genese der Blutung ist nach Ausschluß einer Blutaspiration der Nachweis von Hämosiderophagen. Fehlen Hämosiderophagen bei zahlreich nachweisbaren Erythrozyten, kann es sich entweder um das Frühstadium einer alveolären Hämorrhagie (weniger als 48 Stunden) oder um eine Verletzung mit dem Bronchoskop handeln.²⁰

Differentialdiagnostisch kann dem Hämosiderin - Score Erwachsener, bei mittelschwerer Ausprägung, bislang keine große Bedeutung beigemessen werden, da erhöhte Werte nicht mit speziellen pulmonalen Erkrankungen korrelieren.^{30, 56} Leicht bis mittelschwer erhöhte Scores (>20% hämosiderinbeladene Makrophagen in der BAL-Zytologie) werden bei einer Vielzahl pulmonaler sowie systemischer Erkrankungen gefunden.^{29, 48, 49, 56, 66} Sehr hohe Scores (> 90% Siderophagen) weisen auf eine starke Blutung, eine primäre oder sekundäre Lungenhämosiderose hin.²⁰

Golde et al. erstellten 1975 einen Hämosiderin - Score für Erwachsene und ermittelten deutlich erhöhte Werte bei an Leukämie erkrankten Patienten.²⁹ Grebski et al. untersuchten 1992 die diagnostische Bedeutung hämosiderinbeladener Alveolarmakrophagen prospektiv an 101 Patienten. Die höchsten Scores fanden sich bei aktiver pulmonaler Hämorrhagie sowie bei Patienten nach Herztransplantationen. Ferner konnten bei der *Pneumocystis carinii* Pneumonie und bei invasiver Aspergillose höhere Scores als bei bakteriellen Infektionen nachgewiesen werden.³⁰ Corhay et al. fanden einen signifikanten Anstieg des intramakrophagozytären Eisens bei Rauchern sowie bei beruflich exponierten Personen (Stahlarbeiter, Kohleofenarbeiter).¹⁹ Perez-Arellano et al. beschrieben einen unspezifischen Anstieg des Hämosiderin-Score bei interstitiellen Lungenerkrankungen, der jedoch nicht mit einer bestimmten Erkrankung korrespondierte. Einbezogen wurden in diese Studie Patienten mit Sarkoidose, pulmonaler Fibrose und mit neoplastischen Lungeninfiltraten.⁵⁶ Okkulte alveoläre Hämorrhagie wurde häufig im Zusammenhang mit Immunsuppression und Thrombozytopenien, sowie bei Patienten mit Leukämie

beschrieben.^{23, 29, 45, 56} In 75% der Fälle dieses Patientenkollektivs wurden als Ursache ungeklärter pulmonaler Infiltrate und Beschwerden okkulte Blutungen festgestellt.^{23, 49}

3 Pulmonale Hämorrhagie

3.1 Syndrome pulmonaler Hämorrhagie

Eine diffuse alveoläre Hämorrhagie kann Ausdruck verschiedener immunologischer und idiopathischer Krankheitsbilder sein. Der fundamentale Vorgang, der diesen Syndromen gemein ist, ist eine diffuse Blutung in die azinären Lungenabschnitte. Da die pulmonale Symptomatik unspezifisch für die Krankheitsbilder ist, ist die Diagnose stark von der Evaluation und Untersuchung der extrapulmonalen Erkrankung abhängig. Die Syndrome der alveolären Hämorrhagie können aufgrund der Ähnlichkeit der radiologischen Befunde leicht als Pneumonien oder Lungenödeme fehldiagnostiziert werden, was wegen der progredienten Krankheitsverläufe und der irreparablen Organschädigungen fatale Konsequenzen hat.^{33, 49}

Eine der häufigsten Ursachen pulmonaler Hämorrhagie ist die Basalmembranantikörper- Krankheit. Das Eponym Goodpasture Syndrom bezog sich ursprünglich auf die klinische Assoziation alveolärer Hämorrhagie und Glomerulonephritis ohne Rücksicht auf die Pathogenese, wird allerdings heute gebräuchlicherweise für die ANCA-assoziierte Form verwendet.³³ Dem Vorliegen Antineutrophiler-Cytopalsmatischer-Antikörper (ANCA) kommt eine prognostische Bedeutung zu. Je höher der ANCA-Titer ist, desto ungünstiger ist die Langzeitprognose.¹² Der Antibasalmembran-Antikörper bindet spezifisch an das

Basalmembran-Antigen von Alveolen, Glomerula, Nierentuben und Plexus Choroideus. 80% der Patienten haben alveoläre Hämorrhagie und Glomerulonephritis, fast alle restlichen leiden nur unter Glomerulonephritis. Eine isolierte alveoläre Hämorrhagie ist sehr selten.³³ Der Verlauf der unbehandelten pulmonalen Hämorrhagie ist nicht vorhersagbar. Neben Spontanremissionen kommen progressive und schnelle letale Verläufe vor. Immunhistochemische Untersuchungen ergeben beim Goodpasture Syndrom im typischen Fall den Nachweis von IgG und C₃ in linearer Bindung an Basalmembranen. Initial kann die Lungenhämosiderose den glomerulären Veränderungen vorausgehen, die Differentialdiagnose zur idiopathischen Lungenhämosiderose (IPH) ist dann nahezu unmöglich. Im Gegensatz zur IPH wird in diesem Fall histologisch eine nekrotisierende Alveolitis mit degenerativen Veränderungen der alveolären Basalmembran gefunden, vereinzelt eine Arteriitis. Hämosiderose und Alveolarproliferation stehen nicht im Vordergrund. Die Letalität ist infolge der Niereninsuffizienz hoch.³³ Ein gleich gearteter klinischer und histologischer Krankheitsprozeß kann sich auch nach Immunkomplexbindungen, alternativer Komplementaktivierung sowie ohne sichtbare Beteiligung des Immunsystems ausbilden. Er kommt bei schweren Verlaufsformen der Schönlein-Henoch-Nephritis, des systemischen Lupus erythematodes (SLE)^{40, 58} und bei der Wegnerschen Granulomatose³³ vor. Ramirez et al. berichtet über vier Kinder mit SLE und pulmonaler Beteiligung. Die pulmonale Hämorrhagie kann lange vor Manifestation des SLE auftreten und das klinische Bild einer IPH bieten.⁵⁸ Pulmonale Hämorrhagien sind in Assoziation mit Kuhmilchunverträglichkeit¹³ sowie Gluten- und Gliadinantikörpern^{14, 72} beschrieben.

Tabelle 1: Differentialdiagnosen der pulmonalen Hämorrhagie^{20, 22, 46}

I. Idiopathische Lungenhämosiderose

II. Sekundäre Lungenhämosiderose kardiovaskulärer Ursache

Herzvitien mit pulmonaler Stauung

Pulmonale Fehlbildungen

Pulmonale Hypertension

Pulmonale Lymphangiomatose

Vaskuläre Fisteln, Verschlüsse, Fehlbildungen

III. Lungenhämosiderose und Glomerulonephritis

Antibasalmembranantikörper Krankheit (ABMA)

Lungenhämosiderose und Glomerulonephritis ohne ABMA

Immunkomplex induzierte Lungenhämosiderose

IV. Pulmonale Hämorrhagie assoziiert mit systemischen Vaskulitiden und Kollagenosen

Systemischer Lupus erythematodes (SLE)

Wegnersche Granulomatose

Idiopathische thrombozytopenische Purpura

V. Pulmonale Hämorrhagie assoziiert mit anderen Erkrankungen

Koagulopathien

Maligne Erkrankungen (Leukämie, Kaposi Sarkom)

VI. Exogen ausgelöste pulmonale Hämorrhagie

Medikamenteninduziert (D-Penicillamin, Amphotericin-B, Chemotherapeutika)

Lymphangiographie

Die Diagnose der idiopathischen Lungenhämosiderose erfolgt nach festgestellter alveolärer Hämorrhagie durch Ausschluß der in Betracht kommenden Differentialdiagnosen.

Sekundäre Lungenhämosiderose

Eine sekundäre Lungenhämosiderose wird kardiologisch abgeklärt (EKG, Röntgen des Thorax, eventuell Farbdoppleruntersuchung des Herzens). Eine Bronchoskopie ist im Rahmen der pulmonalen Symptomatik und zur Diagnose der Hämorrhagie angezeigt, hierbei kann eine pulmonale Fehlbildung ausgeschlossen oder bewiesen werden.

Lungenhämosiderose und Glomerulonephritis

In der Regel handelt es sich in diesem Zusammenhang um die rasch progressiv verlaufende Glomerulonephritis.^{5,11} Als Orientierung über die Nierenfunktion sollte im Urin die Bestimmung von Eiweiß, Zellausscheidung (Erythrozyten, Leukozyten, Epithelzellen), Zylindern und Keimen erfolgen. Als weitere Untersuchungen dienen die Analyse von Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, Elektrolyte, Gesamteiweiß und Elektrophorese im Serum, Blutgasanalyse sowie die Kreatininclearance im 24-Stunden Sammelurin.³⁸ Auch ohne pathologische Befunde sollte im Hinblick auf eine bislang stumme Nierenbeteiligung eine immunologische Untersuchung stattfinden, da in seltenen Fällen die pulmonale Symptomatik der renalen

vorausgehen kann.³³ Serologie: Antibasalmembran-Antikörper (Goodpasture Syndrom), zirkulierende Immunkomplexe (parainfektiose Nephritiden), Anti-Neutrophilen-Zytoplasma-Antikörper (c-ANCA, p-ANCA, idiopathische Form der rasch progressiven Glomerulonephritis)³⁸, Nierenbiopsie: Immunkomplexe, subepitheliale Bindung von IgG und C3.^{33, 38}

Systemische Vaskulitiden und Kollagenosen

Unter dem Oberbegriff "*systemische Vaskulitiden*" (SV) werden Krankheitsbilder zusammengefaßt, die durch Entzündungsprozesse in den Gefäßwänden charakterisiert sind. Da der Spontanverlauf vieler SV oftmals in kurzer Zeit zum Tode oder zu schweren Organfunktionsstörungen führt (z.B. Niereninsuffizienz), ist eine frühzeitige Diagnostik, eine engmaschige Überwachung sowie gegebenenfalls eine aggressive Therapie mit Glukokortikoiden und Immunsuppressiva durchzuführen.³¹

Bei der *Wegnerschen Granulomatose* handelt es sich um eine nekrotisierende Entzündung im Bereich des Respirationstraktes. Diagnostik: Auf dem Röntgenbild des Thorax sind Rundherde, Pseudokavernen sowie diffuse Verschattungen zu sehen. Eine bioptische Diagnosesicherung ist notwendig. Immunpathogenetisch sind antizytoplasmatische-Antikörper (ACPA) von Bedeutung.³¹

Mit dem Sammelbegriff "*Kollagenosen*" wird eine Gruppe von Erkrankungen zusammengefaßt, die als Systemerkrankungen klinische Überlappungsphänomene zeigen, immunologisch überwiegend nicht-organspezifische Autoantikörper bieten

und morphologisch im Gewebe neben einer Vaskulopathie fibrinoide Nekrosen zeigen.³¹

Der *systemische Lupus Erythematoses (SLE)* ist eine schubweise verlaufende, chronisch-entzündliche Erkrankung des Gefäß-Bindegewebsapparates. Er entsteht auf dem Boden einer genetischen Prädisposition über verschiedene Immunmechanismen (Autoimmunreaktionen, Immunkomplexreaktionen) und kann durch exogene Faktoren ausgelöst werden (UV-Licht, hormonelle Umstellung). Die Diagnostik stützt sich neben den organspezifischen Befunden im wesentlichen auf immunologische Parameter. Der wichtigste Befund für die Primärdiagnostik sowie für die spätere Aktivitätsbeurteilung ist der Nachweis antinukleärer-Antikörper (ANA). Während die ANA keine hohe Spezifität zu SLE erkennen lassen, besitzen zum Beispiel anti-ds-DNA-Antikörper und Sm-Antigen eine sehr hohe Spezifität. Die mäßig hohe Sensitivität schränkt jedoch ihre diagnostische Bedeutung ein. Richtungsweisend und für die Ausschlußdiagnostik von Bedeutung ist das Vorhandensein antinukleärer-Antikörper.³¹

Bei der *idiopathischen thrombozytopenischen Purpura* werden Autoantikörper gegen Thrombozyten gebildet.²⁸ Labordiagnostisch wegweisend ist die Thrombozytopenie.

Koagulopathien werden durch Bestimmung der Gerinnungsfaktoren ausgeschlossen.

Zur groben Übersicht des hämatologischen Status ist ein Differentialblutbild ausreichend. Bei Verdacht auf eine Knochenmarksschädigung beziehungsweise eine *Leukämie* ist eine adäquate Diagnosesicherung erforderlich.

Exogen ausgelöste pulmonale Hämorrhagien können am ehesten anamnestisch abgeklärt werden.

3.2 Idiopathische Lungenhämosiderose (IPH)

Die idiopathische Lungenhämosiderose wurde erstmals 1865 von Virchow als braune Lungeninduration beschrieben. 1931 wurden von Ceelen Autopsieberichte zweier Kinder mit Lungenhämosiderose veröffentlicht. Das klinische Bild in Verbindung radiologischer und pathologischer Befunde wurde 1944 von Waldenström beschrieben.⁵⁰

Die IPH ist eine seltene Erkrankung unklarer Genese. Eine genetische Prädisposition wird diskutiert.⁷ Die Diagnose der IPH erfolgt durch Ausschluß der möglichen primären Ursachen einer pulmonaler Hämorrhagie (siehe oben "Differentialdiagnosen der pulmonalen Hämorrhagie").⁶⁹ Epidemiologische Zusammenhänge und Umwelteinflüsse lösen möglicherweise bei prädisponierten Personen eine idiopathische Lungenhämosiderose aus.¹⁷ Sie betrifft vorwiegend das Kindes- und Jugendalter, es sind jedoch auch Fälle von IPH im Erwachsenenalter beschrieben.^{14, 52} Klinisch steht die Symptomtrias Eisenmangelanämie, Hämoptysis und röntgenologisch sichtbare diffuse Verschattung der Lunge im Vordergrund.⁶² Gemeinsam sind allen Formen der Lungenhämosiderose interstitielle

Eisenablagerungen und rezidivierende intraalveoläre Blutungen. Diese werden von anfallsartigen Attacken mit Husten, Giemen, Dyspnoe sowie Hämatoptoe begleitet. Durch den in der Regel rezidivierenden oder chronischen Verlauf findet sich nach einiger Zeit eine hypochrome mikrozytäre Eisenmangelanämie mit erniedrigtem Serumeisen. Bilirubin, Urobilinogen und Retikulozytenzahl (permanente Regeneration) können erhöht sein. Bei dieser Befundkonstellation muß differentialdiagnostisch eine hämolytische Anämie in Betracht gezogen werden. Die BSG ist meist normal. Das Röntgenbild kann dem einer Pneumonie entsprechen. Im fortgeschrittenem Stadium zeigt die Thoraxaufnahme im Intervall mikronoduläre, milliäre Veränderungen, die schmetterlingsförmig perihilär angeordnet sind. Die Lungenfunktionsveränderungen entsprechen denen einer restriktiven Ventilationsstörung mit verminderten Lungenvolumina, verminderter Compliance und verminderter CO-Diffusion. Während des Schubes ist die Diagnose bei charakteristischer Symptomatik leicht zu stellen, im Intervall jedoch um so schwerer, da die Symptome völlig fehlen können. In diesem Fall sind unter Umständen Siderophagen in der BAL-Flüssigkeit oder der Biopsie der einzige Hinweis auf diese Erkrankung.³³ Die Prognose ist ernst, da die Krankheit progredient verläuft und akute Schübe einen letalen Ausgang nehmen können. Während eines akuten Schubes steht die Dyspnoe im Vordergrund der klinischen Symptomatik. Im weiteren Verlauf der Erkrankung, insbesondere bei bestehender Fibrosierung, wird zunehmend eine Zyanose beobachtet. Charakteristisch ist die im akuten Schub ausgeprägte hypochrome Anämie, die im Intervall in leichter Ausprägung bestehen bleiben kann oder sich völlig normalisiert. Die Eisenmangelanämie kann der pulmonalen

Symptomatik vorausgehen oder auf diese folgen. Leber und Milz sind im Intervall meist nicht vergrößert, können aber während des akuten Schubes anschwellen.³³

Makroskopisch erscheint die Lunge braun und induriert, die Veränderungen können diffus oder multilokulär sein. Histologisch und über Bronchialaspirat werden Siderophagen nachgewiesen, die Epithelien sind hyperplastisch und zum Teil desquamiert. Die Alveolarkapillaren können ektatisch sein, sind aber in der Regel nicht rupturiert. Die elastischen Fasern sind degeneriert-fragmentiert, im fortgeschrittenen Stadium entwickelt sich eine interstitielle Fibrosierung der Lunge.³³

Die mikroskopischen Veränderungen der Lunge sind unspezifisch und lassen nur den Schluß der pulmonalen Hämorrhagie, nicht jedoch die Diagnose IPH zu.⁴²

Die Therapie der Lungenhämosiderose ist symptomatisch: Transfusionen bei ausgeprägter Anämie, Sauerstoffinsufflation und im akuten Schub antibiotische Therapie zum Schutz vor Superinfektionen.²⁵ Kortikosteroide werden im akuten Schub hochdosiert eingesetzt (2-4 mg/kg KG Prednison), im Intervall wird eine niedrige Basaltherapie mit 0,1 mg /kg KG Prednison empfohlen.⁶⁵ Zwar wird durch die Steroide möglicherweise die Entwicklung einer Lungenfibrose verzögert,³³ jedoch konnte eine günstige Auswirkung der herkömmlichen Therapie mit Kortikosteroiden und Azathioprin auf Schubfrequenz und Langzeitprognose bisher nicht eindeutig belegt werden.^{2, 18} Die Behandlung mit Immunsuppressiva (Azathioprin, Cyclophosphamid) wird unterschiedlich bewertet und sollte nur bei Hinweisen auf immunologische Phänomene eingesetzt werden. Entscheidend für den Langzeitverlauf ist die Remobilisierung des abgelagerten Eisens, denn nur so kann

die letale Lungenfibrose verzögert oder gar verhindert werden. Die Behandlung mit Desferoxamin scheint gute Erfolge bezüglich einer langfristigen Prognose zu erbringen. Der Verlauf dieser Erkrankung ist sehr variabel, typisch sind die schubweisen intrapulmonalen Blutungen, die meist 3 - 10 Tage andauern. Die symptomfreien beziehungsweise symptomarmen Intervalle können von unterschiedlicher Dauer sein. Akute Schübe werden durch verschiedene allgemeine oder in den Lungen lokalisierte infektiöse Erkrankungen ausgelöst (Keuchhusten, Varizellen, Masern, Virusinfektionen). Der klinische Zustand im Intervall hängt vom Ausmaß der langsam fortschreitenden Fibrosierung der Lunge ab. Im Finalstadium kommt es zur pulmonalen Hypertension mit Rechtsherzbelastung und schließlich zur Rechtsherzinsuffizienz. Die fatale Dekompensation tritt häufig im Zusammenhang mit einem erneuten Schub auf. Die Überlebenszeiten sind unterschiedlich, man rechnet im Durchschnitt mit einer Mortalität von 50% innerhalb der ersten fünf Jahre.³³

4 Idiopathische Häm siderose bei einem Kleinkind

4.1 Kasuistik

Anamnese: Der portugiesische Junge, der als erstes Kind gesunder Eltern wegen drohender kindlicher Asphyxie in der 34. Schwangerschaftswoche per Sectio entbunden wurde, zeigte eine ausgeprägte Dystrophie. Es lag eine Gastroschisis vor, die am selben Tag mit einer Bauchdeckenplastik versorgt wurde. Das Kind konnte sofort postoperativ extubiert werden. Apgar Index: 4/8/9, Geburtsgewicht: 1400g. Ab der 11. Lebenswoche traten wiederholt anämische Krisen mit Hämoglobin (Hb) - Werten bis zu 5,4 g/dl auf. Es zeigte sich jeweils das Bild einer hypochromen, mikrozytären Eisenmangelanämie. Das Kind wurde mit Erythrozytenkonzentraten behandelt.

Folgende Erkrankungen wurden ausgeschlossen: Gerinnungsstörungen, Hämoglobinopathien, Vitamin B12- und Folsäuremangel, Blutverluste über den Darm, HIV-Infektion, Erkrankungen des Knochenmarks, Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel, pulmonale Infektionen mit pneumotropen Viren, Chlamydien, Adenoviren, RSV und CMV.

Die Nachweise von antinukleären- (ANA), antimitochondrialen- (AMA), antizytoplasmatischen- (ACPA), antineutrophilenzytoplasmatischen- (ANCA), Centromer- und IgA-Gliadin Antikörpern waren negativ. Es wurden Antikörper gegen glatte Muskelzellen (ASMA) gefunden. Im EAST (enzyme-allergosorbent-test)

wurde auf Antikörper gegen Milcheiweiß, α -Lactalbumin, β -Lactalbumin, Kasein und Schimmelkäse untersucht. Eine Sensibilisierung lag nicht vor.

Klinischer Untersuchungsbefund bei Aufnahme: Der 20 Monate alte Junge zeigte bei reduziertem Allgemeinzustand ein blaß - gelbliches Hautkolorit, über den Lungen waren feuchte Rasselgeräusche zu hören, das Abdomen war palpatorisch und sonographisch unauffällig. EKG und Echokardiographie zeigten altersentsprechende Normalbefunde.

Laborchemische Befunde: Hb 6,7 g/dl, HK 22,1%, MCH 23,9 pg, Erythrozyten 2,8 M/ μ l, Retikulozyten 77%, Leukozyten 10.300/ μ l, Thrombozyten 410.000/ μ l. Die Werte für Elektrolyte, LDH, AP, Kreatinin, Glukose, Gesamteiweiß, Haptoglobin, Transaminasen, Eisen, Ferritin, Transferrin und Gerinnungsparameter, CRP, Cholesterin, Triglyceride, C3-Komplement, Glucose-6-Phosphatdehydrogenase und Angiotensin converting Enzym (ACE) lagen im Normbereich.

Thoraxübersicht a.p.: Der Röntgenbefund der Lunge war vereinbar mit einer pulmonalen Häm siderose. Es fand sich ein Lobus venae azygos, keine Mediastinalverbreiterung und keine Hilusverdichtung. Über beiden Lungen sah man homogen verteilt eine alveoläre Verschattung neben feinen interstitiellen Strukturvermehrungen.

Computertomographie: In beiden Lungen fanden sich milchglasartige alveoläre Verschattungen, homogen vom Zentrum bis in die Lungenperipherie verteilt. Der Befund war auf der Dorsalseite vermehrt vorhanden, sämtliche Lungenlappen waren beteiligt. Dieser Befund wies ebenso wie die Thoraxübersicht auf eine pulmonale Häm siderose hin.

Bronchoskopie: Die mit starrem Instrumentarium durchgeführte Bronchoskopie ergab bei regelrechter Anatomie eine massive Verschleimung, die im gesamten Bronchialsystem beobachtet wurde. Ein Schleimhautödem wurde ebenfalls generalisiert gefunden. Im gesamten Bronchialsystem war keine Blutungsquelle sichtbar, doch bestand eine deutliche Blutungsneigung auf dem Hintergrund einer akuten Entzündung. Fisteln und Fehlbildungen konnten sicher ausgeschlossen werden. Hinweise auf eine Fremdkörperaspiration fanden sich keine.

Bronchoalveoläre Lavage (BAL): In der bronchoalveolären Lavage ließ sich eine ausgeprägte Eisenbelastung der Alveolarmakrophagen erkennen. Darüberhinaus wurden bei 80% aller Alveolarmakrophagen Fetteinschlüsse gefunden, wobei häufig eine Maximalbeladung mit Fett zu beobachten war. Die Fettbeladung der Alveolarmakrophagen deutet auf eine chronische Aspirationsproblematik hin.⁵³ Die mikrobiologische Untersuchung der BAL führte zum Nachweis von Streptokokkus pneumoniae und Hämophilus influenzae.

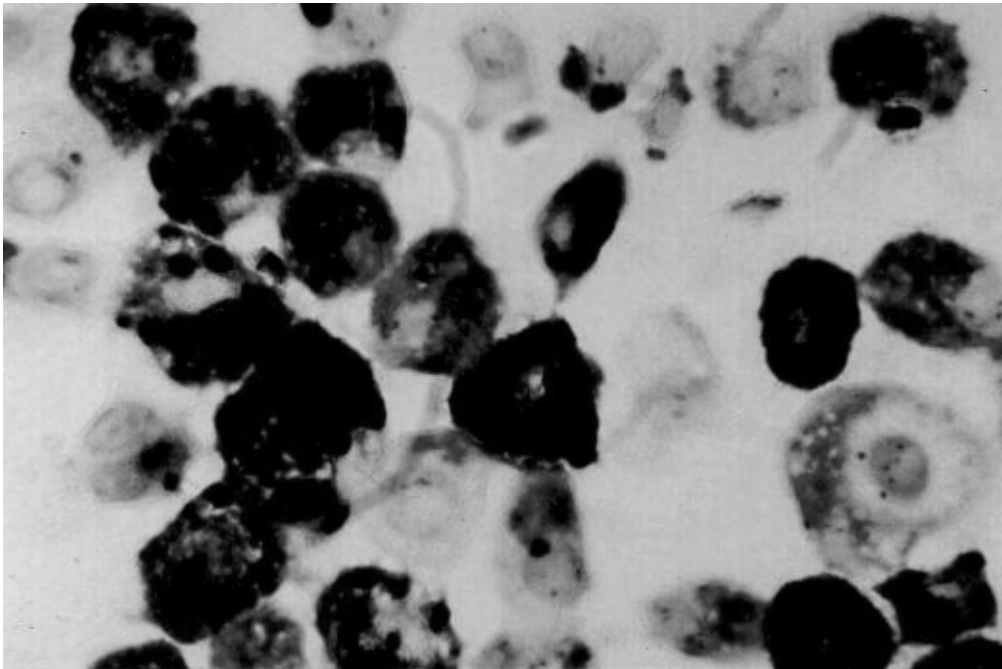


Abbildung 1: Mikroskopisches Bild bei IPH

Mikroskopisches Bild des Bronchialaspirats, gefärbt nach der Berliner-Blau-Methode: Ausgeprägte Hämosiderinbeladung der Alveolarmakrophagen

Ösophagoskopie: Die Ösophagoskopie zeigte bei normaler Ösophagusperistaltik und Cardiafunktion im gesamten Ösophagus bereits visuell erkennbare Entzündungszeichen (Ösophagitis Grad I nach Savary und Miller), der Magen stellte sich unauffällig dar. Die im Bereich des distalen und proximalen Ösophagus entnommenen Biopsien zeigten eine floride chronische Entzündung mit reaktiver Epithelhyperplasie, wobei der Befund im proximalen Ösophagus stärker ausgeprägt war als distal. Eine Zylinderepithelmetaplasie im Sinne eines Barrett-Ösophagus lag nicht vor.

Obere Magen-Darm-Passage (MDP): Die obere MDP zeigte neben einer axialen Hiatushernie einen regelrechten Schluckakt sowie eine regelrechte Entleerung des Magens. Hinweise für eine Schluckstörung wurden nicht gefunden - ein gastroösophagealer Reflux kam hier nicht zur Darstellung.

Dreipunkt-pH-Metrie: Bei neun Stunden Registrierzeit in der Dreipunkt-pH-Metrie fand sich ein hochpathologisches Ergebnis mit 41 Refluxen am proximalen Meßpunkt, der in Claviculahöhe positioniert war. 5 Refluxe dauerten länger als 5 Minuten, der längste Reflux wurde mit 24 Minuten registriert. Es lag eine Gesamtsäurekontaktzeit (Fraction - Time) von 24,1% vor. Ähnliche Ergebnisse wurden im distalen Ösophagus erhalten. Hier wurden 44 Refluxe gemessen, wobei eine Gesamtsäurekontaktzeit von 28,7% registriert wurde. Der dritte Meßpunkt befand sich im Magen. Sowohl die Ergebnisse des distalen Meßpunktes (Meßpunkt der gastroenterologischen Einpunkt-pH-Metrie), als auch des proximalen („pulmonaler“ Meßpunkt) sind hochpathologisch.

Therapie: Es wurde eine Steroidtherapie mit 3 mg/kg Körpergewicht Prednison (15 mg/die Decortin®) begonnen. Wegen der Refluxproblematik wurde additiv mit Omeprazol (Antra®) und Cisaprid (Propulsin®) therapiert. Vor dem Hintergrund der lebensbedrohlichen Blutungsproblematik wurde die Entscheidung zu einer operativen Intervention getroffen und eine retroösophageale Hiatusplastik mit Ösophagogastropexie nach THAL durchgeführt. Postoperativ wurde Prednison langsam bis auf eine Erhaltungsdosis von 2 mg/die reduziert.

Verlauf: Unter Beibehaltung einer Kortison-Dauertherapie war das Kind sieben Monate beschwerdefrei. Nach sieben Monaten wurde der Patient erneut mit einer Anämie bei einem Hb - Wert von 6,1 g/dl stationär aufgenommen. Es zeigte sich ein akuter Schub mit pulmonalen Einblutungen auf dem Boden eines Infektes der oberen Luftwege. Nach Transfusion eines Erythrozytenkonzentrates besserte sich der Allgemeinzustand des Patienten, der Hb stieg auf 10,4 g/dl. Prednison wurde als Stoßtherapie temporär erhöht und die Dauertherapie danach mit einer erhöhten Erhaltungsdosis fortgeführt. (Decortin® 5 mg/die). Der Patient ist nun seit acht Monaten völlig beschwerdefrei, die Steroidtherapie konnte reduziert und schließlich ganz beendet werden. Der Verlauf ist schematisch in Abbildung 2 dargestellt.

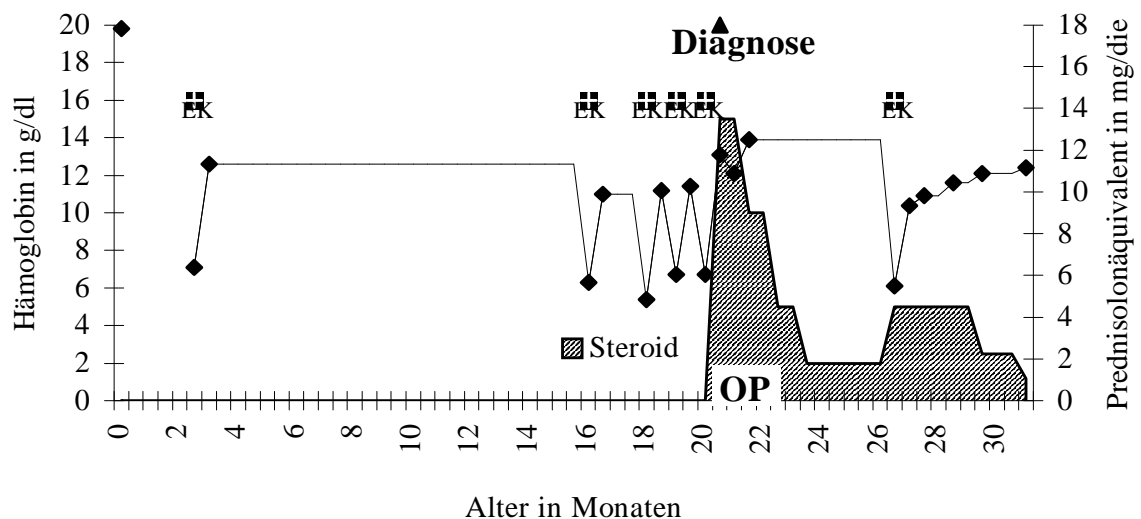


Abbildung 2: Krankheitsverlauf

Schematisch dargestellter Krankheitsverlauf: Als stellvertretenden Verlaufsparemeter wurde der Hämoglobin Wert (Hb) des Serums herangezogen. Steroid: Prednison, EK: Erythrozytenkonzentrat, OP: retroösophageale Hiatusplastik mit Ösophagogastropexie nach THAL.

4.2 Diskussion

Als Hauptbefund des Kindes zeigte sich eine hypochrome Eisenmangelanämie. Eine Knochenmarksschädigung wurde durch Punktion, eine Hämoglobinopathie durch Elektrophorese ausgeschlossen. Die zytologische Untersuchung der BAL-Flüssigkeit bewies aufgrund einer ausgeprägten Hämosiderinbelastung der Alveolarmakrophagen eine pulmonale Hämorrhagie, ein Blutverlust über die Lunge als Ursache der Anämie konnte als gesichert erachtet werden. Es bestand demnach eine pulmonale Hämosiderose, die hinsichtlich ihrer Ätiologie abzuklären war. Die in Frage kommenden Differentialdiagnosen sind in Tabelle 1 aufgelistet. Da eine immunologische Genese der Lungenhämosiderose in Betracht kam, wurde eine Rheumaserologie durchgeführt. Die Nachweise von ANA, Centromer-Antikörper, AMA, APCA, und ANCA waren negativ. Es wurden Antikörper gegen glatte Muskelzellen (ASMA) gefunden, die im Rahmen einer Hepatitis autoimmuner Genese auftreten. Da eine Hepatitis ausgeschlossen werden konnte, wurde der Befund als unspezifisch eingestuft. Auch in Zusammenhang mit der Zöliakie ist eine entsprechende pulmonale Symptomatik beschrieben worden.^{14, 72} IgA-Gliadin Antikörper konnten nicht nachgewiesen werden, Symptome einer Zöliakie lagen nicht vor und auch anamnestisch fanden sich diesbezüglich keine Hinweise. Die Lungenhämosiderose kommt in Assoziation mit Glomerulonephritiden immunologischer und nicht-immunologischer Genese vor.^{12, 25, 43} Die Ausscheidung tubulärer Leitenzyme und die Bestimmung des Protein-Ausscheidungsmusters im Urin ergaben insgesamt Normalbefunde, so daß eine manifeste Nierenbeteiligung der Erkrankung ausgeschlossen werden konnte. Vaskulitiden, Kollagenosen,

systemischer Lupus erythematoses, Wegnersche Granulomatose und idiopathische thrombozytopenische Purpura lagen bei diesem Patienten nicht vor. Alveoläre Hämorrhagien können bei Koagulopathien unterschiedlicher Genese auftreten.³⁰ Die Gerinnungsparameter lagen wiederholt im Normbereich, so daß auch dies differentialdiagnostisch nicht mehr in Betracht kam. Maligne Prozesse im Sinne einer Leukämie, die mit klinisch okkulten Lungenblutungen einhergehen können,²⁹ wurden durch eine Knochenmarkspunktion ausgeschlossen. Eine medikamenteninduzierte Häm siderose konnte anamnestisch ausgeschlossen werden.

Es sind idiopathische, primäre und sekundäre Formen der Lungenhäm siderose beschrieben. Eine sekundäre Lungenhäm siderose auf dem Boden einer kardialen Erkrankung oder einer pulmonalen Fehlbildung konnte aufgrund der kardiologisch und bronchoskopisch erhobenen Befunde ausgeschlossen werden.

Das bei dem Kind vorliegende Krankheitsbild mit diffuser chronisch-pulmonaler Blutungssymptomatik konnte nicht auf eine der bekannten Ursachen für pulmonale Häm siderose zurückgeführt werden. Eine exorbitant hohe Anzahl fettbeladener Makrophagen in der bronchoalveolären Lavage hat den Verdacht eines Zusammenhangs der rezidivierenden alveolären Blutungen und einer chronischen Aspirationsproblematik begründet. Sowohl in der Dreipunkt-pH-Metrie als auch in den ösophagealen Biopsien wurden entsprechend hinweisende Befunde erhoben. Es scheint durchaus möglich, daß die durch chronische Aspiration ausgelöste schwere bronchiale Entzündung eine chronische - durch Gefäßarrosion auch akute - Blutung

induzieren kann. Eine durch die pulmonale Erkrankung ausgelöste sekundäre pathologische Refluxaktivität erscheint unwahrscheinlich, da das Kind keine Probleme hatte, die als ursächlich für die Entstehung eines sekundären Refluxes angesehen werden könnten (zum Beispiel starker Husten).

Es muß in Erwägung gezogen werden, daß die Gastroschisis-Operation an der Entstehung der pathologischen gastroösophagealen Refluxaktivität durch postoperative Erhöhung des intraabdominellen Druckes ursächlich beteiligt sein könnte.

Der bisher relativ gute Verlauf der Erkrankung - das Kind ist nach einer Operation (Hiatusplastik) und einer kurzen Behandlung mit Steroiden nunmehr ohne Therapie seit Monaten beschwerdefrei - spricht tendenziell für eine Kokausalität der Refluxerkrankung. In der medizinischen Literatur wurden Zusammenhänge zwischen der chronischen Aspiration und einer chronischen pulmonalen Blutungsneigung bisher nicht erwähnt.

5 Studienplanung, Patienten und Methodik

5.1 Patientenkollektiv

5.1.1 Lungengesunde Patienten

Es haben 20 lungengesunde Patienten im Alter von 1 bis 14,74 Jahren (Mittel: 6,25 Jahre), die im Rahmen eines Elektiveingriffes in unserer Klinik operiert wurden, an dieser Studie teilgenommen.

Die Ergebnisse dieser Gruppe wurden zur Erstellung von Normwerten genutzt, da noch keine Normwerte für die Hämosiderinbeladung der Alveolarmakrophagen im Kindesalter vorlagen. Vor der Durchführung der BAL wurde - in Übereinstimmung mit der Ethikkommission der Universität Frankfurt/Main - von den Eltern bzw. Erziehungsberechtigten ein Einverständnis eingeholt und schriftlich dokumentiert.

Patienten, die aus Hals-Nasen-Ohren - ärztlichen Gründen operiert wurden, haben wir wegen der möglichen pulmonalen Beteiligung von der Studie ausgeschlossen.

Die Indikationen für die Operation sind in Tabelle 2 dargestellt.

Bei diesen 20 Kindern wurde während der Intubationsnarkose durch den Tubus eine Lavage durchgeführt und in der unter 5.2.2 beschriebenen Weise verarbeitet. Anschließend wurde mit Hilfe des Hämosiderin-Scoring die Eisenlast der Alveolarmakrophagen semiquantitativ bestimmt.

Tabelle 2: Indikationen zur Elektivoperation bei lungengesunden Kindern**(n=20)**

Indikation	Anzahl der Kinder
Retentio Testis	3 / 20
Gangliom	1 / 20
Myozele	1 / 20
Varikozele	1 / 20
Herniotomie	2 / 20
Rektumpolyp	1 / 20
Verbrühung	1 / 20
Zirkumzision	1 / 20
Syndaktilie	1 / 20
Halszyste	1 / 20
Hydrozele	1 / 20
Halstfistel	1 / 20
Bauchwandlipom	1 / 20
Osteomyelitis/Sequesterextirpation	1 / 20
Bauchwandplastik	1 / 20
Hypospadie	1 / 20
Metallentfernung	1 / 20

Bei allen Patienten ergab die Messung des CRP einen Wert $< 0,5$ mg/dl. Das Blutbild sowie das Differentialblutbild waren normal. Auch konnten in der mikrobiologischen Untersuchung der BAL weder Bakterien noch Viren nachgewiesen werden (Antigennachweis für RSV, Adenoviren, Influenza, Parainfluenza, Mycoplasmen und Chlamydien war negativ; die Bakterienkultur war ebenfalls negativ). Chronische Erkrankungen wurden durch die Anamnese

ausgeschlossen. Ein immunologisches Screening mit Bestimmung von IgG, IgM, IgA, IgE, IgG - Subklassen, C3-Komplement und Lymphozyten - Oberflächenmarker hat keine Hinweise für das Vorliegen immunologischer Erkrankungen ergeben.

5.1.2 Patienten mit gastroösophagealer Refluxkrankheit (GÖR)

35 Kinder im Alter von 0,62 bis 11,78 Jahren (Mittel: 3,16 Jahre) mit bronchopulmonaler Symptomatik nahmen an der Studie teil. Das klinische Spektrum reichte von rezidivierenden Bronchitiden und Pneumonien über intrinsisches Asthma bis hin zu rezidivierenden Apnoen.

Die Indikationen dieser Kinder zur Bronchoskopie sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Bronchoskopieindikationen der GÖR-Patienten

Indikation	Anzahl der Kinder
rez. Bronchitiden	23 / 35
davon mit Obstruktionen	22 / 23
rez. Pneumonien	9 / 35
intr. Asthma	2 / 35
rez. Apnoen	1 / 35

Die Diagnose einer pulmonal relevanten GÖR - Krankheit wurde durch Bronchoskopie und BAL, 24 Stunden 2-Punkt-pH-Metrie, oberer Magen-Darm-

Passage, Ösophagogastroskopie und ösophagealer Biopsie gesichert. Das Bronchialaspirat wurde auf lipidbeladene Alveolarmakrophagen als Hinweis auf eine Aspiration von Mageninhalt untersucht. Die Bronchoskopie wurde zur Durchführung einer BAL mit anschließendem Hämosiderin-Scoring genutzt. In Tabelle 4 sind die Erkrankungen nach Abschluß der Diagnostik der an GÖR erkrankten Kinder dargestellt.

Tabelle 4: Pulmonale Erkrankungen der Kinder mit GÖR

Erkrankung	Anzahl der Kinder
intrinsisches Asthma	23 / 35
rezidivierende Pneumonien	6 / 35
Fehlbildung der Atmungsorgane	3 / 35
Tracheomalazie	1 / 35
Bronchiektasie	1 / 35
rezidivierenden Bronchitiden	1 / 35

Ausgeschlossen wurde bei allen Patienten eine Mukoviszidose durch Pilocarpin - Iontophorese, eine primäre ciliäre Dyskinesie durch direkte Cilienfrequenzmessung, ein $\alpha 1$ - Antitrypsinmangel sowie allergologische (IgE, RAST, PRICK) und immunologische Erkrankungen (IgG, IgM, IgA; IgG1-4, Impfantikörper, Lymphozytensubpopulationen, C₃-Komplement).

5.1.3 Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen anderer Genese

Neun Kinder im Alter von 0,42 bis 20,08 Jahren (Mittel: 4,47 Jahre) mit chronischen Lungenerkrankungen wurden in die Studie eingeschlossen. Die Indikationen für die Bronchoskopie und die Diagnosen sind in Tabelle 5 dargestellt

Tabelle 5: Bronchoskopieindikationen der Kinder mit chronischen pulmonalen Erkrankungen

Diagnosen	Anzahl der Kinder
Fehlbildungen der Atmungsorgane (Stenosen, Ösophagusatresien etc.)	6 / 9
Immundefekte (Louis-Barr-Syndrom, humoraler Immundefekt)	2 / 9
Tracheo-Bronchomalazie	1 / 9

5.2 Studiendurchführung

5.2.1 Durchführung der bronchoalveolären Lavage (BAL)

Bei den untersuchten Kindern mit bronchopulmonaler Symptomatik wurde die starre Bronchoskopie in Narkose durchgeführt. Nach Einführen des starren Bronchoskops wurde ein Katheter in "wedge" - Position gebracht, d.h. er befand sich lumenverschließend meist im Ostium des Unterlappens oder eines seiner Segmente.

Zur Lavagierung wurden, je nach Größe des Kindes, sterile Absaugkatheter (Firma UNO) mit unterschiedlichen Durchmessern (CH 08, CH 10, CH 12) verwendet.

Über den Katheter wurde jeweils drei mal mit 1 ml/kg KG körperwarmer NaCl-Lösung 0,9% gespült und mit Hilfe einer Vakuumpumpe abgesaugt. Um eine optimale Recovery zu erzielen, wurde nach vorheriger Hyperventilation während der Lavagierung nicht beatmet. Das aspirierte Material wurde in dafür geeigneten Röhrchen (Tracheal Saugsatz mit Auffangbehälter, Firma UNO) getrennt nach Fraktionen aufgefangen.

Die intraoperativ durchgeführte Lavage bei lungengesunden Kindern erfolgte prinzipiell nach der gleichen Methode, jedoch mit dem Unterschied, daß der Katheter durch den Trachealtubus in "wedge" - Position gebracht wurde.

5.2.2 Verarbeitung des Bronchialaspirats und Herstellung der

Zytozentrifugenpräparate

Die Verarbeitung der drei Fraktionen erfolgte getrennt und unmittelbar im Anschluß an die Lavage. Im Prinzip wurden die drei Fraktionen in gleicher Weise aufgearbeitet, wobei jedoch aus der I. und II. Fraktion vor der eigentlichen Verarbeitung 0,5 ml Lavagematerial steril entnommen wurden. Das Material aus der I. Fraktion wurde zur virologischen Untersuchung benutzt und auf pneumotrope Erreger (Parainfluenza 1, 2, 3; RSV, Adenoviren und Chlamydien) untersucht. Das Material der II. Fraktion wurde zur bakteriologischen Diagnostik (Bakterien und Pilze) verwendet.

Im Anschluß daran wurden alle drei Fraktionen einzeln durch zwei Lagen Faltkompressen (6 x 6 cm, 16 fach, HGV) filtriert und in 15 ml Röhrchen (Sarstedt) aufgefangen und die exakte Zellzahl/ml ermittelt. Zur Bestimmung der Zellzahl wurde eine Bürker-Kammer (Tiefe 0,1 mm, $0,0025 \text{ mm}^2$) verwendet. Ein geschliffenes Deckgläschen wurde vom Rand her so fest über die Kammer geschoben, daß Newtonsche Farbringe zu sehen waren. Danach wurden jeweils 0,5 ml von jeder Fraktion abgenommen und im Verhältnis 1:10 verdünnt. Die zur Zählung benötigte Menge wurde mittels einer Pipette (Eppendorf) in die Kammer eingebracht. Nach erfolgter Sedimentation der Zellen wurden die vier äußeren Quadrate der Bürker-Kammer mäanderförmig im Lichtmikroskop ausgezählt, wobei nur die Leukozyten, nicht die Erythrozyten Beachtung fanden. Die Berechnung der Zellzahl in 1 mm^3 Lavage erfolgte nach der Formel:

$$\frac{\text{Gesamtzahl der gezählten Zellen}}{\text{Ausgezählte Fläche x Kammerhöhe x Verdünnung}}$$

Die verbliebene Menge an Lavagematerial wurde 10 Min bei 1200 UpM zentrifugiert (Megafuge 1.0, Heraeus Sepatech). Das Zellpellet und der Überstand wurden getrennt verarbeitet. Zunächst wurde der Überstand à 500 µl in 1,5 ml Reaktionsgefäße (Typ 3810, Eppendorf) pipettiert und anschließend bei -80°C eingefroren. Dieser Überstand konnte somit für weitere Analysen verwendet werden. Das Zellpellet wurde mit physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert und auf 250.000 Zellen/ml ($50.000/0,2\text{ml} = 1$ Zytozentrifugenpräparat) aufgefüllt. Die Herstellung der

Zytozentrifugenpräparate erfolgte aus 0,2 ml der Probe, indem ein beschrifteter Objektträger zusammen mit einer Filterkarte (Filtercards, Shandon) und einer Probenkammer (Cytofunnel, Shandon) in eine Objektträgerklemme (Cytoclip, Shandon) eingespannt wurde. Mit diesen so hergestellten Einsätzen wurde die Zytozentrifuge (Cytospin 3, Shandon) bestückt. Zunächst wurde die Suspension mit Hilfe eines Schüttlers (Heidolph REAX 2000) gut durchgemischt. Anschließend wurde sie in 0,2 ml - Portionen in die Probenkammern pipettiert und 10 Minuten bei 1000 UpM zentrifugiert. Die Objektträger wurden luftgetrocknet, ungefärbt in Plastikhüllen eingeschweißt (WECO-MATIC) bzw. für spezielle Untersuchungen weitergeleitet.

5.2.3 Färbung der Zytozentrifugenpräparate mit der Berliner-Blau-Methode

Die Zytozentrifugenpräparate wurden nach dem Färbeprotokoll eisengefärbt. Durch diese Färbung stellt sich Hämosiderin blau dar und läßt sich gut von den rosa gegengefärbten Zellen und Zellbestandteilen unterscheiden, so daß die mikroskopische Beurteilung der Hämosiderinbeladung der Alveolarmakrophagen ohne Schwierigkeiten möglich war.

Eisenfärbung (Berliner-Blau-Reaktion)

1. Kurzes Spülen, zuerst mit Xylol, dann mit Aqua dest.
2. Präparate 20 - 30 Minuten mit "Eisenlösung" färben, zur Herstellung der Lösung wird Kaliumferrocyanid und KCL zu gleichen Teilen gemischt.
3. Erneutes Spülen mit Aqua dest.
4. Präparate anschließend 10 - 20 Minuten mit Kernechtrot gegenfärben.
5. Spülen mit Aqua dest.

Anschließend werden die Objektträger kurz in Xylol - Ersatz eingetaucht und mit einem Tropfen Eukitt^R eingedeckelt, die Präparate sind so unbegrenzt haltbar.

5.3 Hämosiderin-Scoring

Ziel des Scoring war es, nicht nur eine qualitative, sondern auch eine quantitative Aussage über die Eisenbelastung der Alveolarmakrophagen in der pädiatrischen BAL zu machen. Während durch prozentuale Angaben der hämosiderinbeladenen Makrophagen nur bedingt quantitative Aussagen über die Menge des tatsächlich phagozytierten Eisens möglich sind, berücksichtigt der Hämosiderin-Score die Eisenbeladung der einzelnen Zellen als auch deren Gesamtzahl. Von jedem Patienten wurde ein Objektträger à 50.000 Zellen ausgewertet. Die Hämosiderinbeladung wurde lichtmikroskopisch untersucht (Mikroskop: Carl Zeiss; Objektive: Carl Zeiss, Planapo 40). Zur Bewertung wurde ein Score erstellt, der folgende Zelleinteilung zur Grundlage hat:

Tabelle 6: Typisierung der Alveolarmakrophagen

Typ0	kein Hämosiderin nachweisbar	0 Punkte
Typ1	etwas cytoplasmatisch gelöstes Hämosiderin nachweisbar	1 Punkt
Typ2	viel cytoplasmatisch gelöstes Hämosiderin nachweisbar	2 Punkte
Typ3	gesamtes Cytoplasma blaßblau verfärbt	3 Punkte
Typ4	wenig scholliges Eisen nachweisbar (dunkelblau)	4 Punkte
Typ5	mehr als fünf Eisenschollen nachweisbar	5 Punkte

Pro Patient wurden die Punkte addiert, das Ergebnis ist ein "Rohscore", der sich auf die gesamte Zellmenge von 50.000 Zellen bezog. Aus der Differentialzytologie ergab sich der individuelle Makrophagenanteil jedes Patienten. Dies ermöglichte es uns, den Score auf eine einheitliche Makrophagen-Zellzahl zu normieren. Unsere Ergebnisse beziehen sich einheitlich auf 100.000 Alveolarmakrophagen, bei unserem Score können demnach Werte von 0 bis maximal 500.000 auftreten.

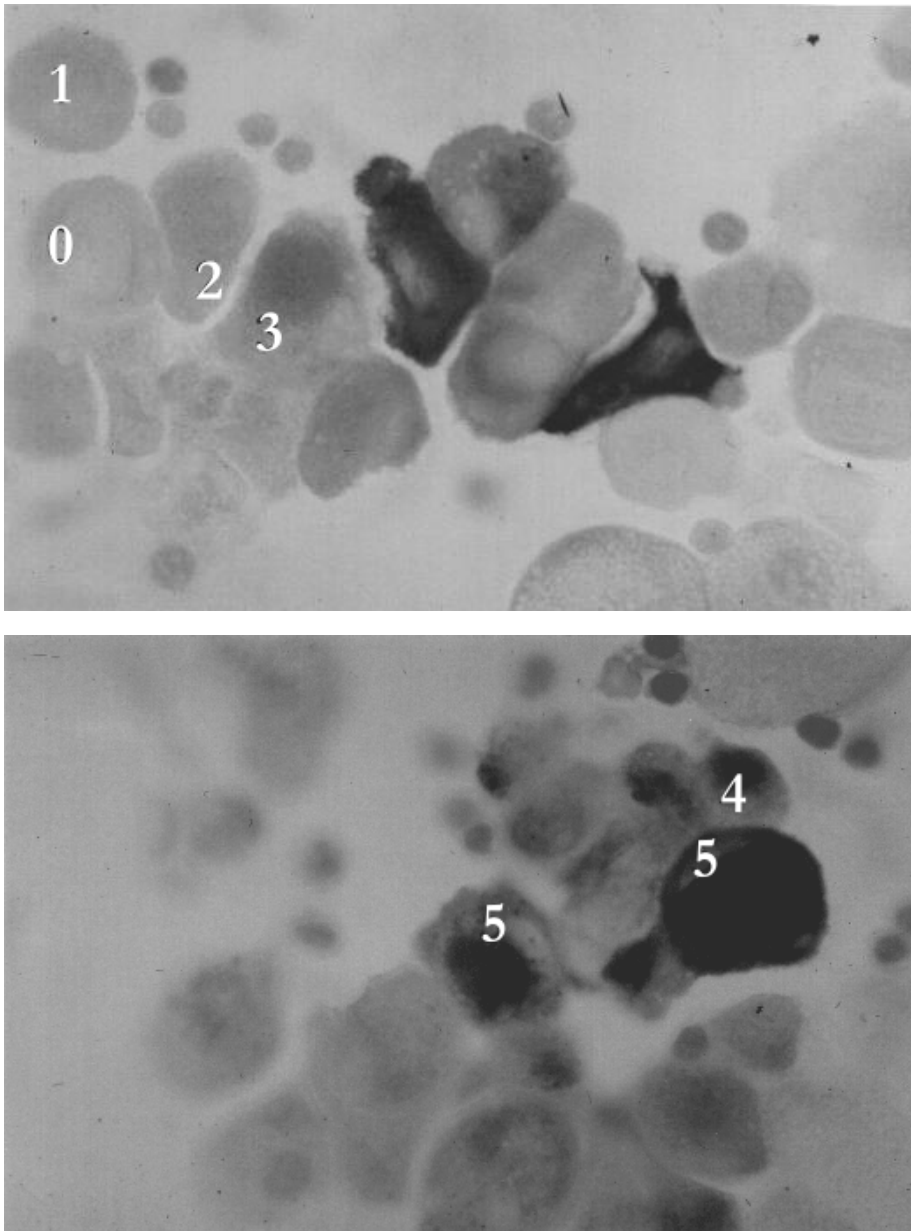


Abbildung 3: Mikroskopisches Bild der Alveolarmakrophagen (Typ 1 - 5)

Unterschiedliche Hämosiderinbeladung der Alveolarmakrophagen (Färbung nach der Berliner-Blau-Reaktion): Typ-1-, Typ-2-, Typ-3-, Typ-4- und Typ-5-Zellen, durch Pfeile und Nummern gekennzeichnet. Jede der ausgewerteten Zellen wurde einem der Zelltypen zugeordnet und mit der entsprechenden Punktzahl bewertet. Die Punkte wurden addiert und mit Hilfe der differentialzytologischen Auswertung auf ein einheitliches Maß von 100.000 Makrophagen bezogen.

6 Ergebnisse

6.1 Ergebnisse des Hämosiderin-Scoring bei lungengesunden Kindern - Normwarterstellung-

Es wurden 20 lungengesunde Kinder im Rahmen eines Elektiveingriffes lavagiert und das gewonnene Material im Hinblick auf hämosiderinbeladene Makrophagen untersucht. Mit Hilfe dieser Kontrollgruppe wurden Normwerte erstellt.

Pro Patient wurde ein Präparat à 50.000 Zellen ausgewertet. Die absolute Anzahl der Makrophagen beträgt im Mittel bei dieser Gruppe je Präparat $41.228 \pm \text{SD } 11.152$ ($82,46\% \pm \text{SD } 22,30\%$). Um der geringen Eisenlast kindlicher Alveolarmakrophagen Rechnung zu tragen, bezieht sich der Score zur besseren Übersichtlichkeit auf 100.000 Makrophagen.

Als Grenzen des Normbereiches wurde der Mittelwert der Scores \pm der einfachen Standardabweichung definiert. Es resultiert ein Mittelwert von $57,36 \pm \text{SD } 71,78$ ein Normbereich von 0 bis 129. Der Median liegt bei 37,4.

19 von 20 Kinder (95%) zeigen Werte, die sich innerhalb des Normbereiches bewegen. Bei einem Kind beträgt der Hämosiderin-Score 338. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4 dargestellt.

Lungengesunde (n=20)

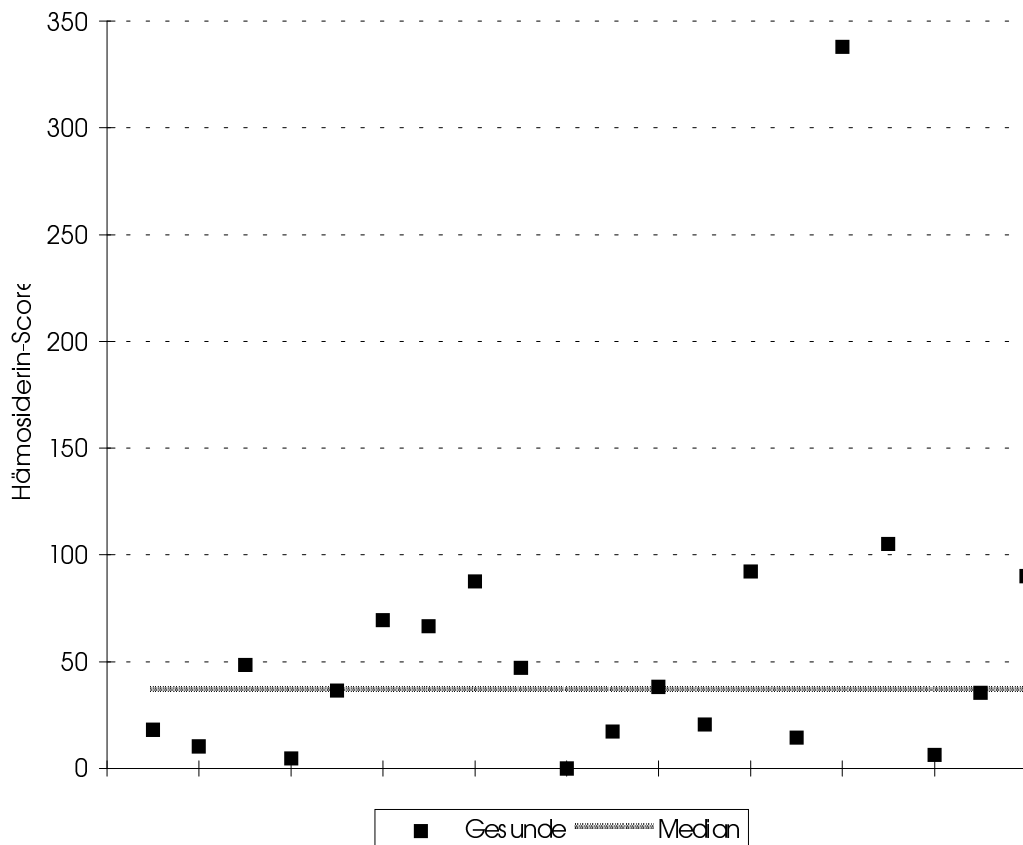


Abbildung 4: Lungengesunde

Hämosiderin - Scoring bei lungengesunden Kindern (n=20). Die Ergebnisse beziehen sich auf 100.000 Zellen. Jeder Punkt der Graphik repräsentiert den Score eines Patienten, der Median ist markiert.

Wie aus der Graphik ersichtlich, bewegt sich der Großteil der Werte im Bereich zwischen 0 und 100, es ist nur ein Wert zu verzeichnen, der erheblich von den restlichen abweicht.

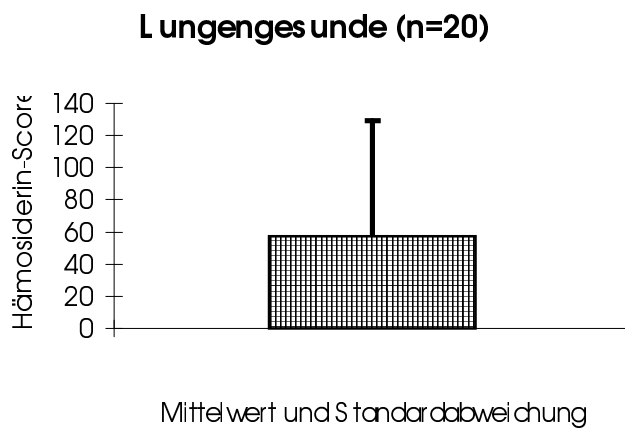


Abbildung 5: Lungengesunde, Median und Standardabweichung

Hämoglobin-Scoring bei lungengesunden Kindern (n=20). Dargestellt ist Mittelwert und Standardabweichung dieser Gruppe.

In Abbildung 6 ist die Anzahl der lungengesunden Patienten verteilt auf drei Score-Bereiche dargestellt. 13/20 Patienten weisen einen Hämoglobin-Score zwischen 0 und 50 auf, bei 5/20 bewegen sich die ermittelten Werte zwischen 50 und 100 und bei 2/20 Patienten findet sich ein Hämoglobin-Score >100.

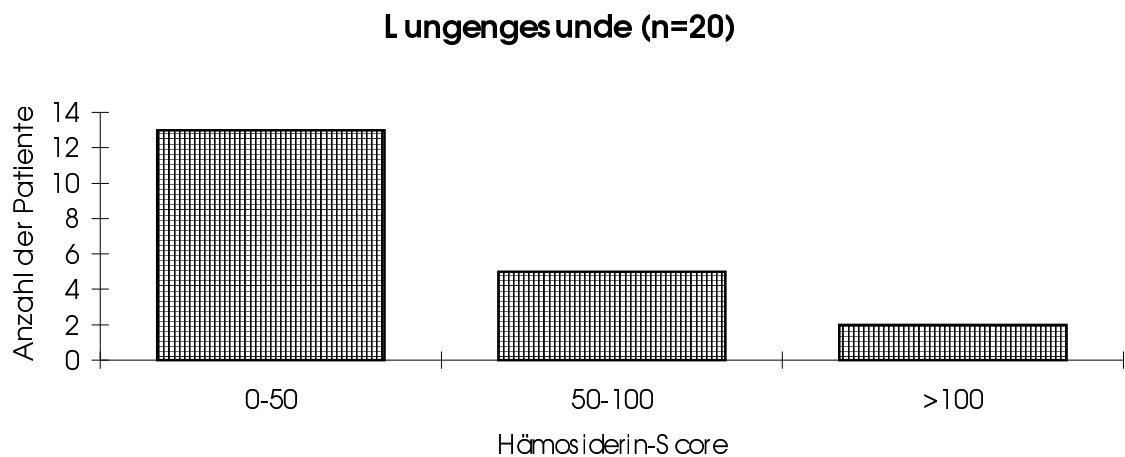


Abbildung 6: Lungengesunde, Verteilung

Hämosiderin-Scoring bei lungengesunden Kindern (n=20). Dargestellt ist die Verteilung der Patienten hinsichtlich des Score.

Wie oben beschrieben, erhielten die Makrophagen in Abhängigkeit von ihrer Eisenlast eine Bewertung von 0 bis 5 Punkten. Auf diese Weise geht die Intensität der Hämosiderinbeladung pro Zelle in die Berechnung des Score mit ein. Da dementsprechend die Ergebnisse von der Anzahl der den Typen 0 bis 5 zugeordneten Zellen abhängig sind, wurde untersucht, ob sich Unterschiede im Verteilungsmuster der einzelnen Zelltypen zeigen. Auch diese Größen beziehen sich auf 100.000 Makrophagen, um einen einheitlichen Bezugspunkt zu erhalten.

Die Zelltypenverteilung bei lungengesunden Kindern ist in Abbildung 7 dargestellt. Die mittlere Anzahl der Typ-1-Zellen beträgt $13,4 \pm \text{SD } 13,2$, die der Typ-2-Zellen $8,21 \pm \text{SD } 15,4$. Der Mittelwert für Typ-3-Zellen beträgt $1,6 \pm \text{SD } 6,06$, der der Typ-4-Zellen $1,68 \pm \text{SD } 2,19$, während Typ-5-Zellen in unserer Kontrollgruppe nicht

vorkommen. Die Typ-0-Zellen wurden bei der Besprechung der Ergebnisse vernachlässigt, da die Anzahl der Typ-0-Zellen definitionsgemäß mit Null multipliziert würde und somit keinen Einfluß auf die Berechnung des hätte.

Am stärksten vertreten sind die Makrophagen mit wenig gespeichertem Hämosiderin. Mit zunehmender Eisenlast nimmt ihre Häufigkeit ab. Eine Ausnahme bildete das Verhältnis zwischen Typ-3 - und Typ-4-Zellen, da letztere leicht die Typ-3-Zellen überwiegen.

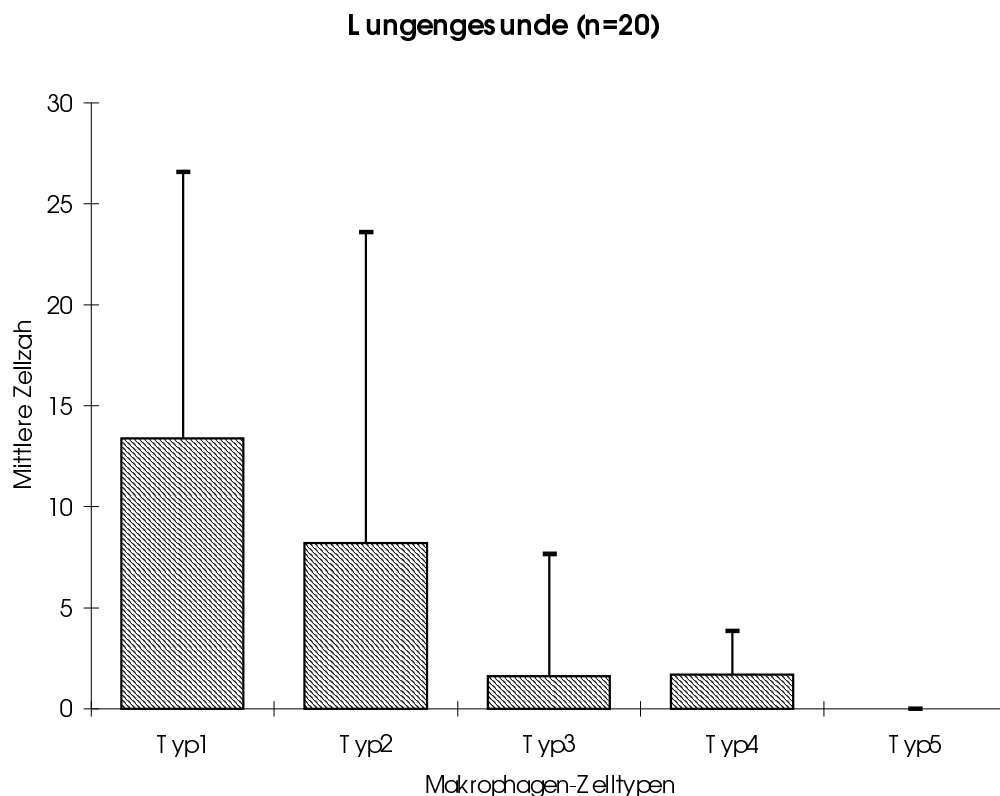


Abbildung 7: Lungengesunde, Makrophagentypisierung

Hämosiderin - Scoring: Zelltypenverteilung bei lungengesunden Kindern (n=20). Die absoluten Zahlen wurden auf einen Bezugspunkt von 100.000 Zellen umgerechnet, dargestellt ist die mittlere Anzahl der einzelnen Makrophagen-Zelltypen in den Präparaten plus Standardabweichung.

6.2 Ergebnisse des Hämosiderin-Scoring bei Patienten mit einem gastroösophagealen Reflux (GÖR)

Bei 35 Kindern mit Verdacht auf GÖR war neben einer pH-Metrie und einer oberen Magen-Darm-Passage auch eine Bronchoskopie indiziert, die zur Durchführung einer BAL mit anschließendem Hämosiderin-Scoring genutzt wurde.

Die Ergebnisse sollten dazu dienen, Unterschiede zur Kontrollgruppe aufzudecken, um die Bedeutung des Hämosiderin-Score für die Diagnostik des GÖR und dessen pulmonaler Relevanz zu beurteilen.

Auch bei dieser Gruppe wurden wieder 50.000 Zellen ausgewertet. Der Anteil der Alveolarmakrophagen beträgt durchschnittlich $70,01\% \pm 22,95\%$, was im Mittel einer absoluten Zellanzahl von $35.003 \pm SD 11.474$ entspricht. Der Score und die Anzahl der einzelnen Zelltypen beziehen sich einheitlich auf 100.000 Alveolarmakrophagen.

Abbildung 8 zeigt die Ergebnisse des Hämosiderin-Scoring. Wie zu erkennen bewegen sich auch bei dieser Gruppe die Scores hauptsächlich im Bereich von 0 bis 100. Die Werte von 31 Patienten liegen im Normbereich (88,57%), nur bei vier Patienten wird der definierte Normbereich durch Scores > 130 überschritten. Die Werte betragen im einzelnen 144, 205, 309 und 184. Der Mittelwert liegt für diese Patientengruppe bei $49,06 \pm SD 68,70$, der Median beträgt 17,5.

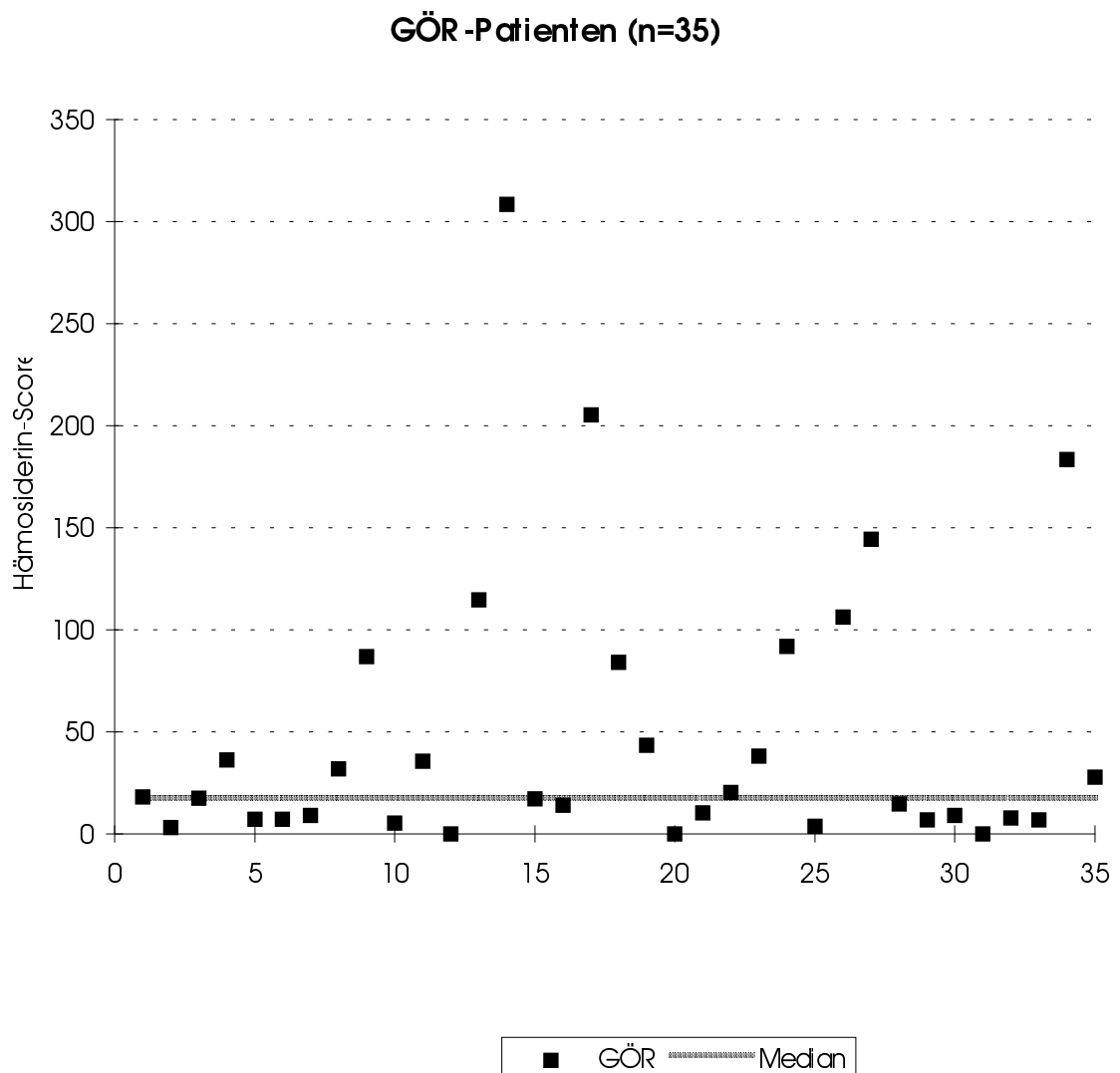


Abbildung 8: GÖR-Patienten

Hämosiderin-Scoring bei Kindern mit pulmonaler Symptomatik bei chronischer Aspiration auf dem Boden eines gastroösophagealen Refluxes (n=35). Der Score bezieht sich auf 100.000 Alveolarmakrophagen, jeder Punkt repräsentiert den Score eines Patienten, der Median ist markiert.

Abbildung 9 zeigt wie sich die Patienten dieser Gruppe auf verschiedene Score Bereiche verteilen. Wie zu erkennen findet man bei 26/35 Patienten Werte zwischen 0-50, bei 3/35 Werte von 50-100. Bei 6/35 Patienten ist der ermittelte Hämosiderin-

Score > 100. Bei den sechs Patienten mit einem Score > 100 handelt es sich um drei Fälle mit rezidivierenden obstruktiven Bronchitiden und um drei Fälle mit rezidivierenden Pneumonien.

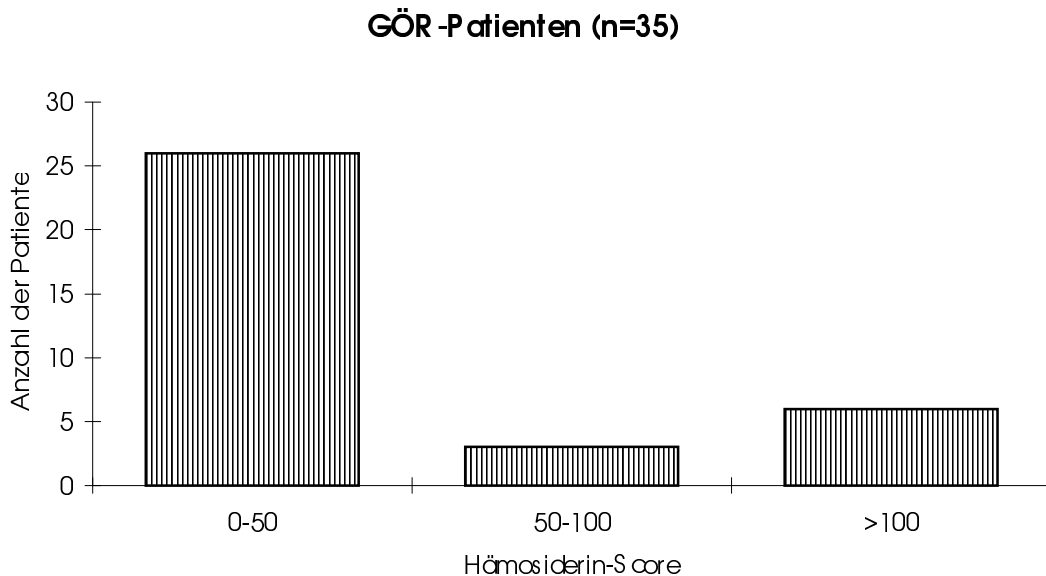


Abbildung 9: GÖR-Patienten, Verteilung

Hämosiderin-Scoring bei Patienten mit pulmonaler Symptomatik bei chronischer Aspiration auf dem Boden einer gastroösophagealen Refluxkrankheit (n=35). Dargestellt ist die Verteilung der Patienten hinsichtlich des Score.

Die Indikationen für eine BAL bei Kindern mit Verdacht auf GÖR sind in Tabelle 7 aufgelistet. In 62,86% der Fälle handelt es sich um rezidivierende obstruktive Bronchitiden, in 25,71% der Fälle um rezidivierende Pneumonien. Der restliche Anteil setzt sich aus intrinsischem Asthma, rezidivierenden Apnoen und rezidivierenden Bronchitiden zusammen. Es wurden Untergruppen gemäß der Symptomatik gebildet und ausgewertet. Die Mittelwerte, die dazugehörigen

Standardabweichungen und der entsprechende Median sind ebenfalls in Tabelle 7 beschrieben. In keinem Fall liegt der Mittelwert außerhalb des Normwertbereiches. Dies ist in Abbildung 10 graphisch dargestellt.

Unter den rezidivierenden Pneumonien befinden sich zwei Werte oberhalb des als normal definierten Rahmens, sie betragen 308 und 183. Ebenso finden sich unter den rezidivierenden obstruktiven Bronchitiden folgende erhöhte Werte: 144 und 205.

Tabelle 7: Indikationen für die BAL bei GÖR-Patienten

Indikationen für die bronchoalveoläre Lavage bei Kindern mit GÖR
Mittlerer Score, Median und Standardabweichung sind jeweils angegeben.

Indikation	rez. obstruktive Bronchitiden	rez. Pneumonien	intrinsisches Asthma	rez. Apnoen	rez. Bronchitiden
Kinder mit GÖR (n=35)	22	9	2	1	1
mittlerer Score	42,14	78,13	17,75	17,5	7,23
Median	17,62	20,39	17,75		
Standardabweichung	50,97	99,65	17,75		

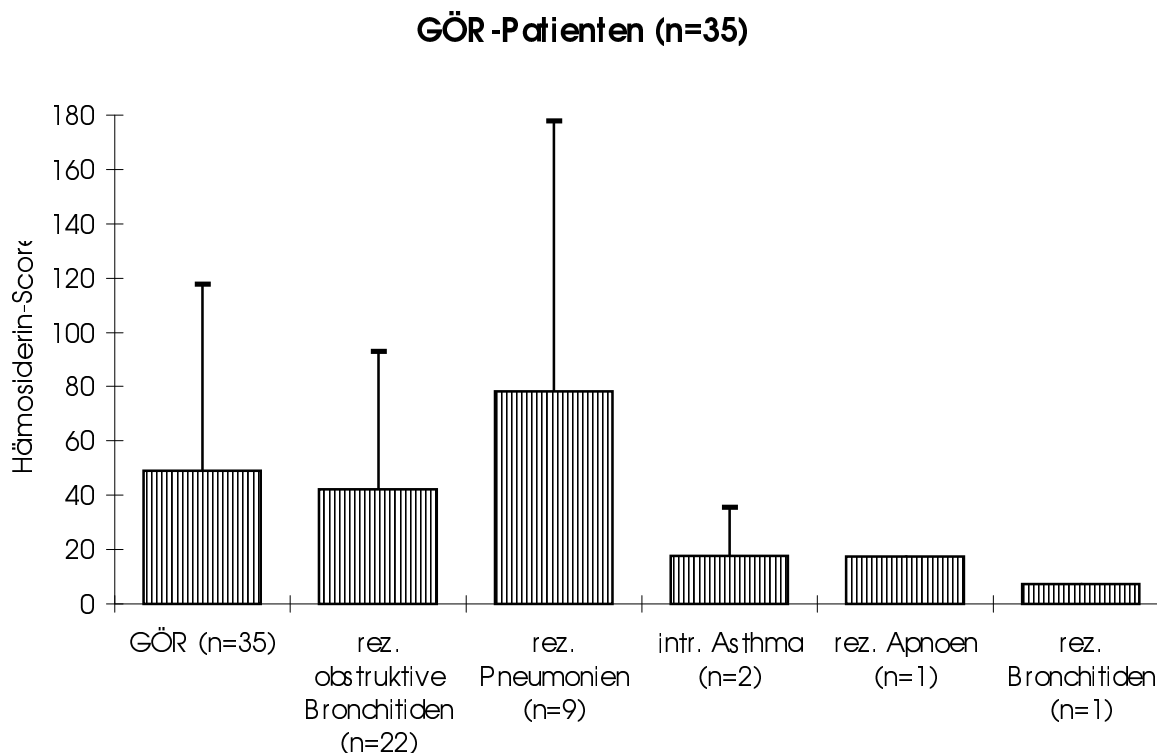


Abbildung 10: GÖR-Patienten, Symptomatik

Hämosiderin-Scoring bei Patienten mit pulmonaler Symptomatik bei chronischer Aspiration auf dem Boden einer gastroösophagealen Refluxkrankheit (n=35). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen je BAL-Indikation, sowie für die gesamte Patientengruppe.

Auch bei dieser Gruppe wurde eine Zelltypendifferenzierung durchgeführt, deren Ergebnis in Abbildung 11 zu sehen ist. Grundsätzlich läßt sich sagen, daß Zelltypen, die wenig Hämosiderin gespeichert haben stärker vertreten sind, als Zellen mit hoher Hämosiderinbeladung. Jedoch ist Zelltyp-2 geringfügig häufiger anzutreffen, als Zelltyp-1. Konkret lauten die Ergebnisse wie folgt: Der Mittelwert für Typ-1-Zellen beträgt $7,92 \pm \text{SD } 8,3$, der für Typ-2-Zellen beträgt $11 \pm \text{SD } 20,4$, die mittlere Anzahl der Typ-3-Zellen ist $3,38 \pm \text{SD } 8,82$, die der Typ-4-Zellen $0,92 \pm \text{SD } 1,73$ und für Typ-5-Zellen belaufen sich die Ergebnisse im Mittel auf $0,9 \pm \text{SD } 2,76$.

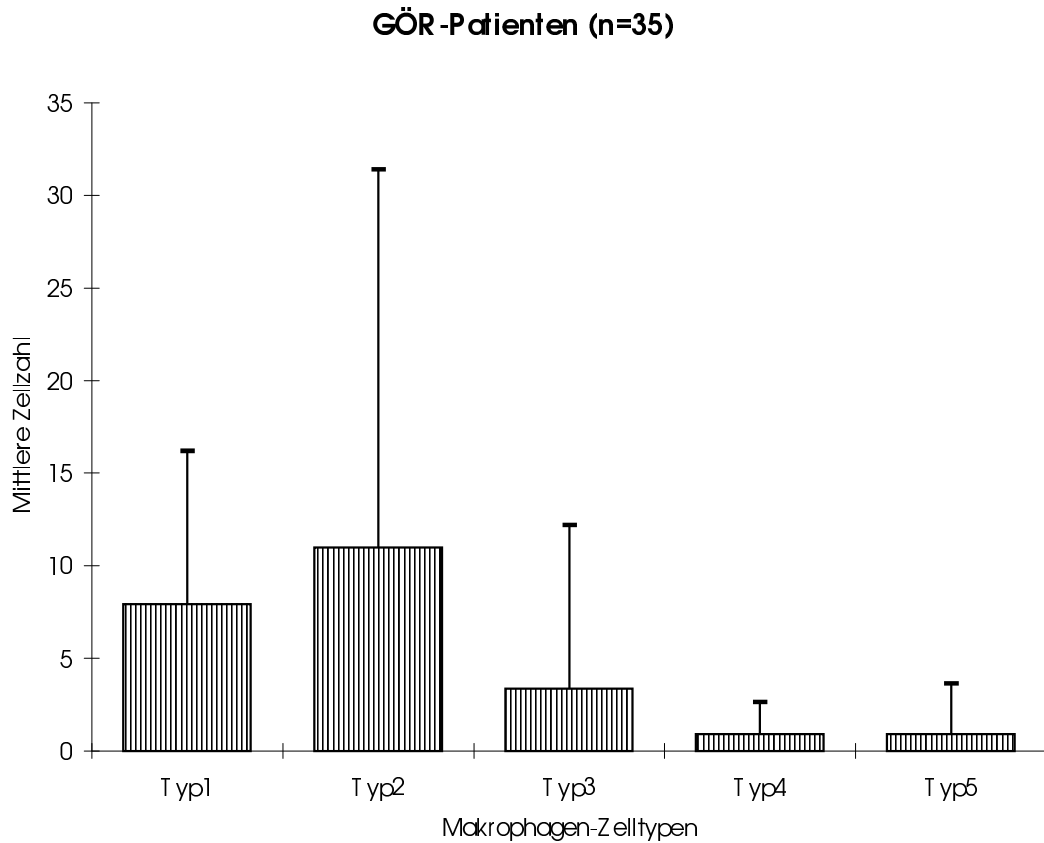


Abbildung 11: GÖR-Patienten, Makrophagentypisierung

Hämosiderin-Scoring bei Patienten mit pulmonaler Symptomatik bei chronischer Aspiration auf dem Boden einer gastroösophagealen Refluxkrankheit (n=35). Die absoluten Zahlen sind auf einen Bezugspunkt von 100.000 Zellen umgerechnet, dargestellt ist die mittlere Anzahl der einzelnen Makrophagen-Zelltypen in den Präparaten plus Standardabweichung.

6.3 Ergebnisse des Hämosiderin-Scoring bei Kindern mit chronischen

Lungenerkrankungen

Im Rahmen eines Klinikaufenthaltes wurde bei neun Kindern mit chronischen Lungenerkrankungen (überwiegend handelte es sich um rezidivierende Pneumonien) eine Bronchoskopie durchgeführt, die unter anderem dazu diente, mit Hilfe der BAL den Erreger zu identifizieren, um gezielt therapeutisch intervenieren zu können. Desweiteren wurde die BAL dazu genutzt, die Alveolarmakrophagen hinsichtlich des Hämosideringehaltes zu untersuchen.

Es wurde pro Patient je ein Präparat à 50.000 Zellen ausgewertet. Der durchschnittliche Makrophagenanteil beträgt $69,25\% \pm SD 26,82\%$, was einer absoluten Zellanzahl von durchschnittlich 34.624 ± 13.411 entspricht. Alle ermittelten Werte beziehen sich auf eine Gesamtanzahl an Makrophagen von 100.000 Zellen. Die Ergebnisse des Hämosiderin-Scoring bei chronisch lungenkranken Kindern sind in Abbildung 12 dargestellt.

Wieder bewegen sich die Werte in erster Linie im Bereich zwischen 0 und 100. Der mittlere Score beträgt für diese Gruppe $53,40 \pm SD 81,48$, der Median beträgt 27,06. 88,89% der Gruppe weisen einen Normalbefund auf, nur ein Patient, mit rezidivierenden Pneumonien aufgrund einer ausgeprägten Tracheomalazie, überschreitet die Grenzen des Normbereiches mit einem Score von 273.

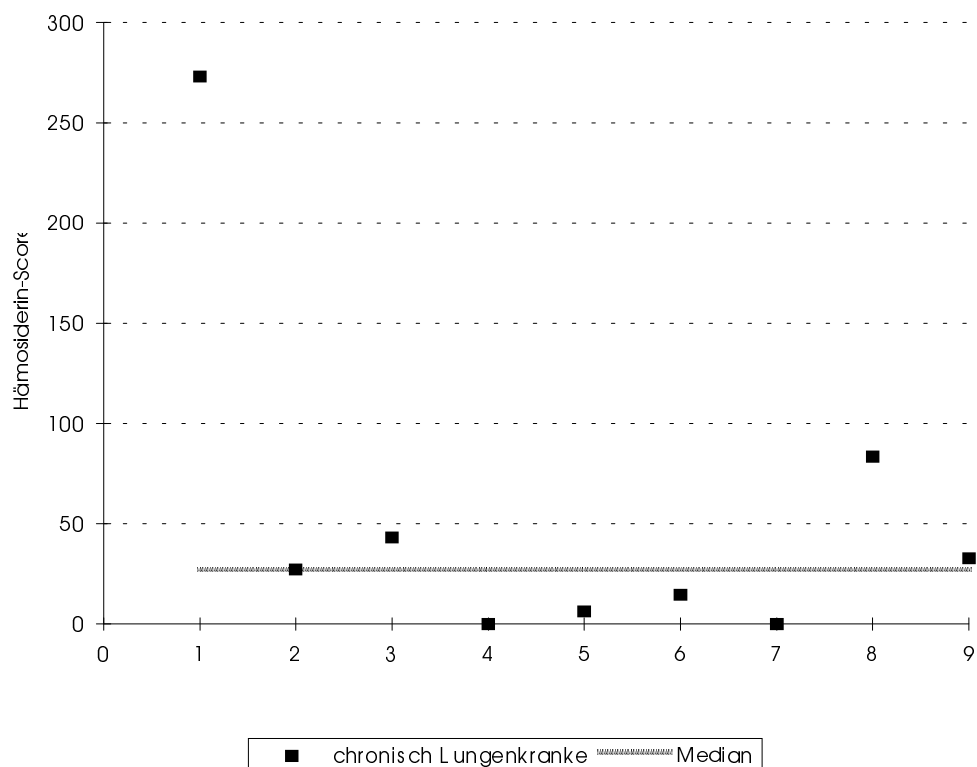
Tabelle 8 zeigt die Indikationen für eine BAL in dieser Gruppe.

Tabelle 8: Indikationen für die BAL bei chron. Lungenkranken

Indikationen für die Bronchoskopie bei chronisch lungenkranken Kindern

Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung der Hämosiderin-Scores.

Indikationen	rez. Pneumonien	intrinsic Asthma	rez. obstruktive Bronchitiden	Stridor
Kinder mit chron. pulmonalen Erkrankungen	6	1	1	1
Mittlerer Score	43,35	0	27,16	0
Median	37,76			
Standardabweichung	53,16			

Chronisch Lungenkranke (n=9)**Abbildung 12: chron. Lungenkranke**

Hämosiderin-Scoring bei Patienten mit chronisch pulmonalen Erkrankungen (n=9). Die Ergebnisse beziehen sich auf 100.000 Alveolarmakrophagen. Jeder Punkt der Graphik repräsentiert den Score eines Patienten, der Median ist markiert. In Abbildung 13 ist die Anzahl der chronisch lungenkranken Kinder verteilt auf drei Score - Bereiche dargestellt. 7/9 weisen einen Hämosiderin-Score zwischen 0 und 50 auf, bei jeweils 1/9 (je rez. Pneumonien) findet sich ein Hämosiderin-Score zwischen 50 und 100 beziehungsweise >100.

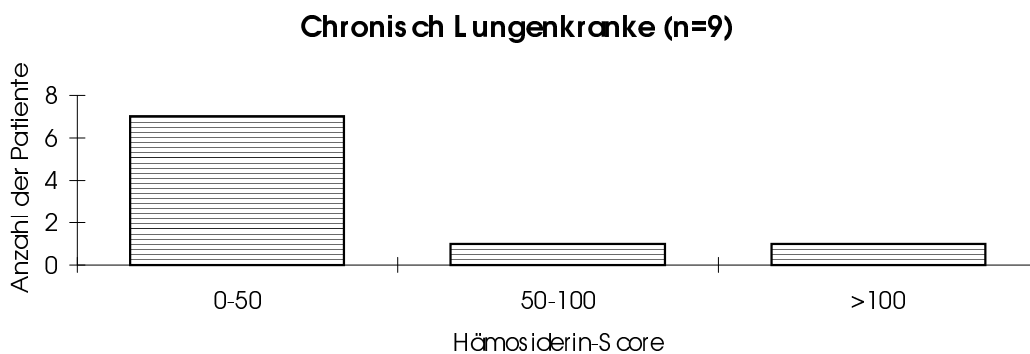


Abbildung 13: chron. Lungenkranke, Verteilung

Hämosiderin-Scoring bei chronisch lungenkranken Patienten (n=9). Dargestellt ist die Verteilung der Patienten hinsichtlich des Score.

Bei dieser Gruppe wurde ebenfalls eine Zelltypendifferenzierung durchgeführt und in Abbildung 14 deren Verteilung dargestellt. Die Graphik zeigt eine Abnahme der mittleren Zellanzahl bei zunehmender Hämosiderinlast der Makrophagen. Im konkreten Fall verteilen sich die Ergebnisse wie folgt: Für Typ-1-Zellen beträgt die durchschnittliche Anzahl $5,18 \pm SD 4,84$, für Typ-2-Zellen $4,88 \pm SD 7,39$. Die mittlere Zellanzahl liegt für Typ-3-Zellen bei $2,96 \pm SD 5,87$, die für Typ-4-Zellen bei $1,87 \pm SD 3,83$ und die für Typ-5-Zellen bei $1,31 \pm SD 3,71$.

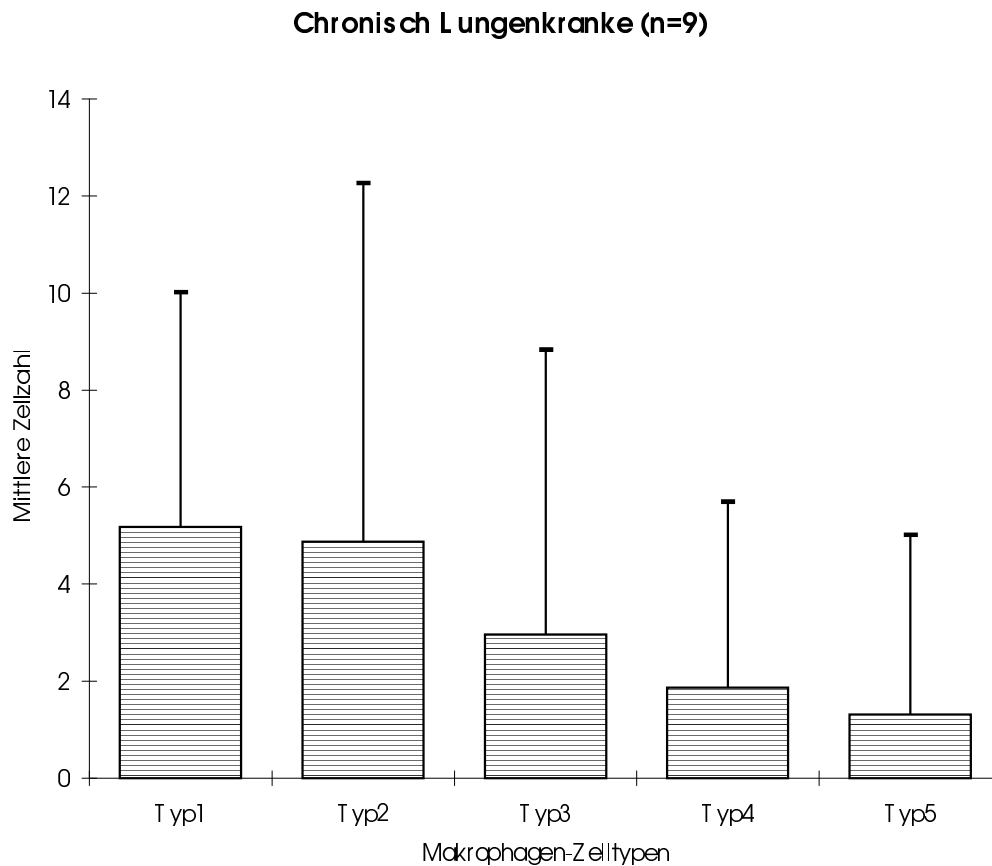


Abbildung 14: chron. Lungenkranke, Makrophagentypisierung

Hämosiderin-Scoring bei Kindern mit chronisch pulmonalen Erkrankungen (n=9). Die absoluten Zahlen wurden auf einen einheitlichen Bezugspunkt von 100.000 Zellen umgerechnet, dargestellt ist die mittlere Anzahl der Makrophagen-Zelltypen in den Präparaten plus Standardabweichungen.

6.4 Ergebnisse der Patientengruppen im Vergleich

Eines der Ziele dieser Studie war, eventuelle Unterschiede des Score im Zusammenhang mit den Patientengruppen aufzudecken, um zu untersuchen, ob okkulten Blutungen differentialdiagnostische Bedeutung zukommt. Bezüglich des GÖR erhofften wir im Hämosiderin-Score eine weitere Möglichkeit zur Beurteilung seiner pulmonalen Relevanz zu finden.

Andererseits sollten die Ergebnisse verschiedener chronischer Lungenerkrankungen beziehungsweise chronischer Reizzustände der Lungen auf dem Boden eines GÖR mit den Ergebnissen bei idiopathischer Lungenhämosiderose (IPH) verglichen werden.

In Tabelle 9 und in Abbildung 15 ist der Vergleich der bisher beschriebenen Ergebnisse des Hämosiderin-Scoring dargestellt. Zu sehen sind die einzelnen Scores der Patienten nach Patientengruppen aufgeteilt, der Median ist jeweils eingezeichnet. Wie die vergleichende Betrachtung der Ergebnisse zeigt, unterscheiden sich die Hämosiderin-Scores der Patientengruppen weder signifikant untereinander, noch von denen der Kontrollgruppe. Zum Vergleich sind die mittleren Scores der drei Gruppen in folgender Tabelle einander gegenübergestellt:

Tabelle 9: Mittlere Scores der Patientengruppen im Vergleich

Patienten Gruppen	Gesunde	GÖR-Gruppe	chron. Lungenkranke
Mittlerer Score	57,36	49,06	53,4
Median	37,4	17,5	27,06
Standardabweichung	71,78	68,7	81,48

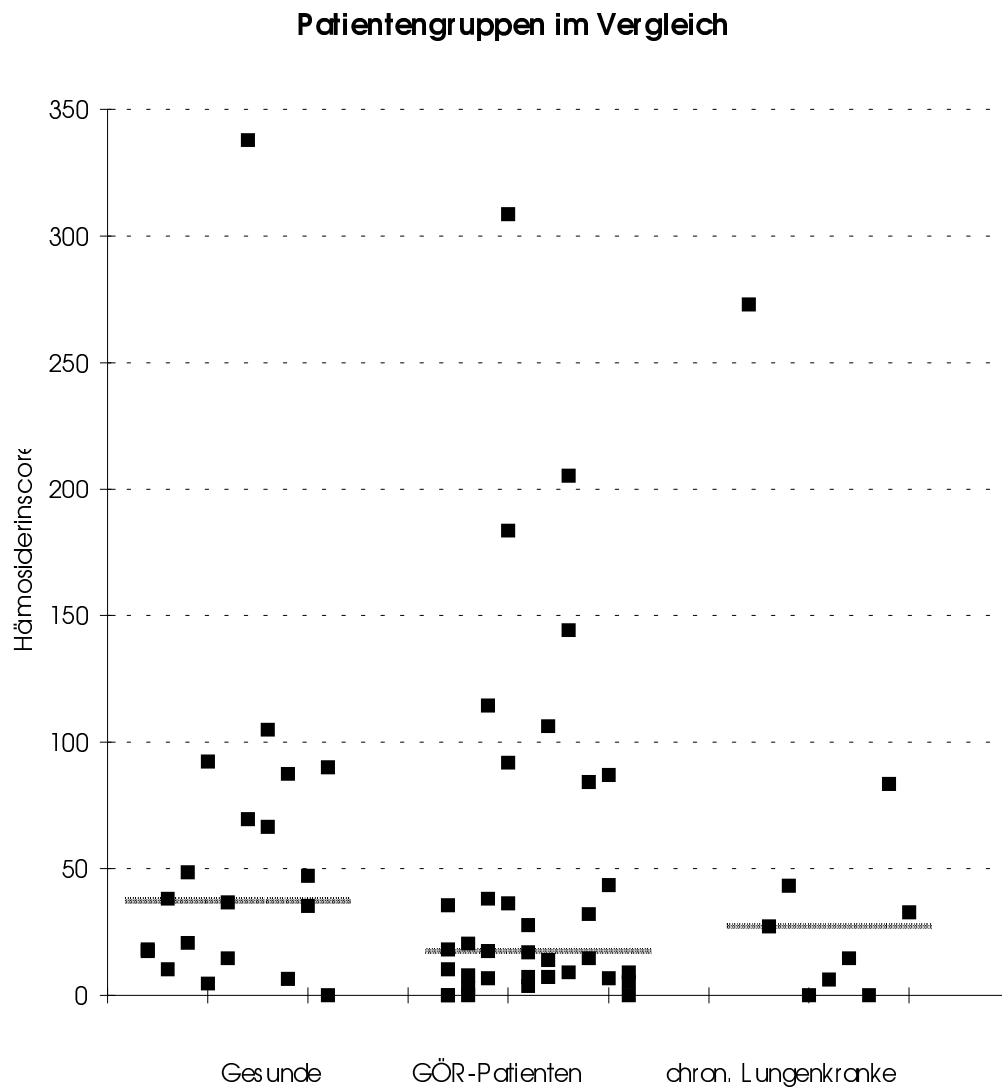


Abbildung 15: Patientengruppen im Vergleich

Hämosiderin-Scoring im Vergleich: Jeder Punkt der Graphik repräsentiert den Score eines Patienten, die Ergebnisse sind nach Patientengruppen geordnet, der jeweilige Median ist markiert.

Abbildung 16 verdeutlicht, daß sich in allen drei Gruppen die Patienten Scores hauptsächlich auf die Score Bereiche von 0 - 50 verteilen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ist aus der Abbildung nicht zu ersehen.

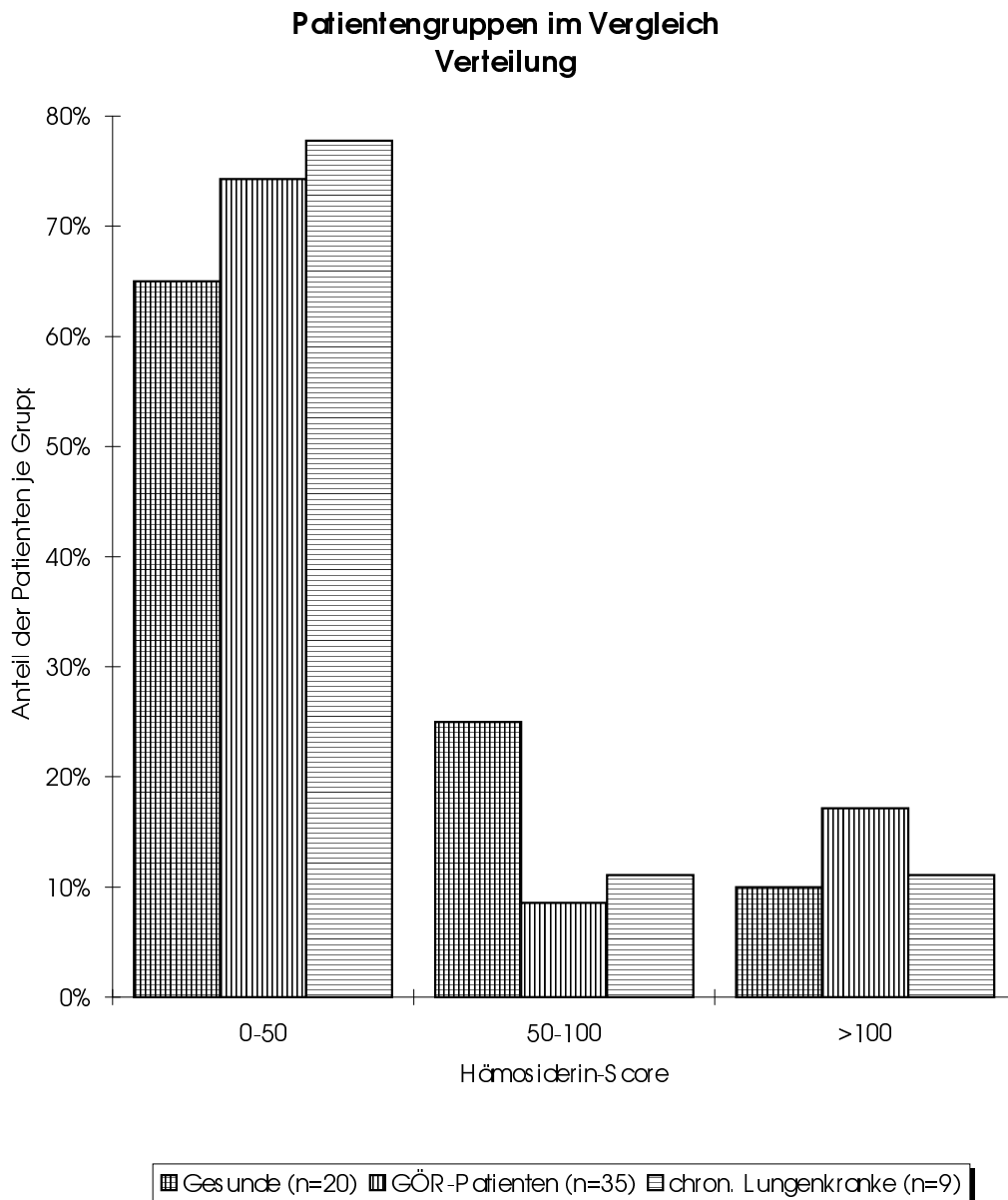


Abbildung 16: Patientengruppen im Vergleich, Verteilung

Hämoglobin - Scoring im Gruppenvergleich. Dargestellt ist die prozentuale Verteilung der Patienten der einzelnen Gruppen bezüglich des Score.

Ebenso wie bei der Bewertung der einzelnen Gruppen wurde die Verteilung der Zelltypen miteinander verglichen, da sich wie bereits erwähnt der Score aus der

Anzahl der den Zelltypen 0 bis 5 zugeordneten Zellen herleitet. Dies ist in Abbildung 17 dargestellt.

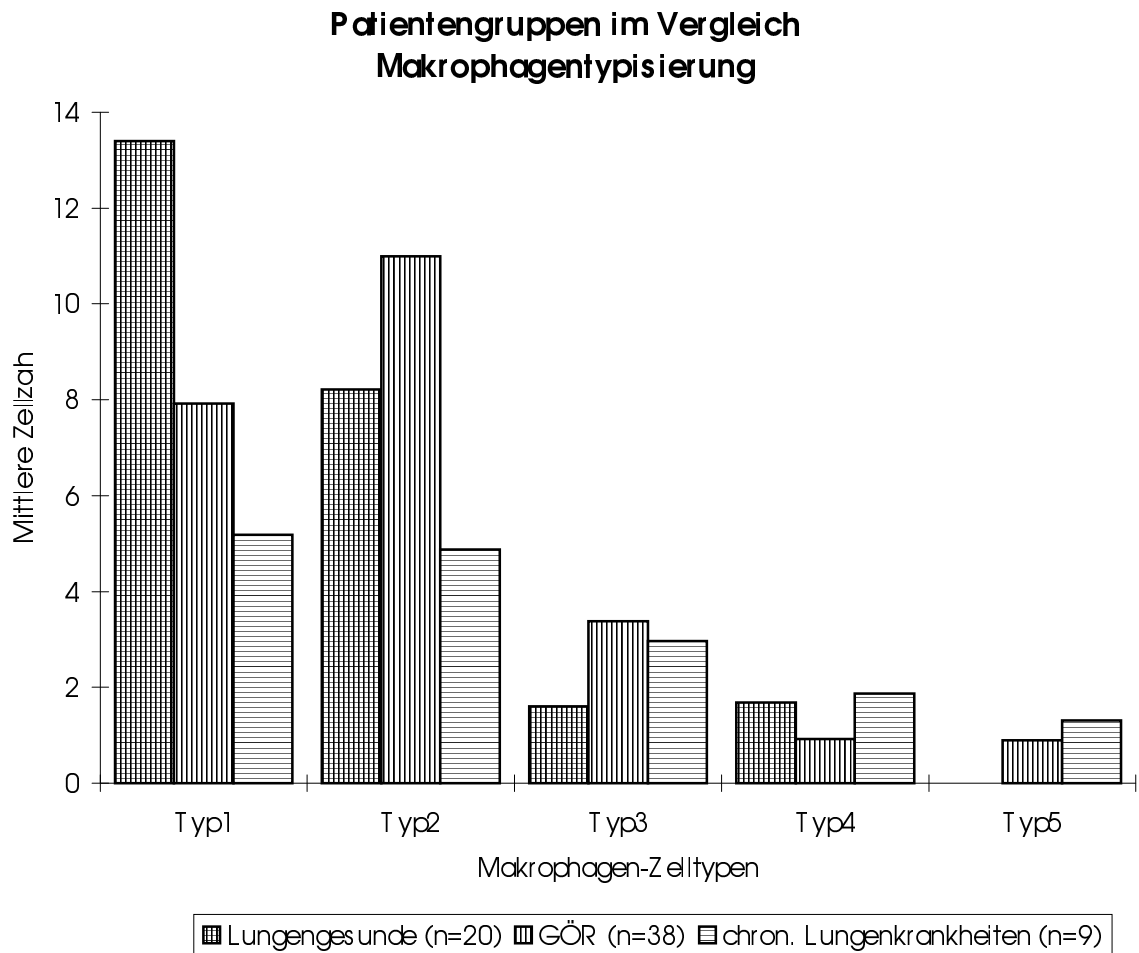


Abbildung 17: Patientengruppen im Vergleich, Makrophagentypisierung

Hämosiderin-Scoring: Zelltypenverteilung im Vergleich. Die absoluten Zahlen wurden auf einen einheitlichen Bezugspunkt von 100.000 Zellen umgerechnet, dargestellt ist die mittlere Anzahl der Makrophagen-Zelltypen in den Präparaten im Gruppenvergleich.

Zur Bewertung dieser Studie wurde der U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney⁶⁴ zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben angewandt.

Tabelle 10: U-Test

U-Test: Ein signifikantes Testergebnis läge vor, wenn die ermittelte Prüfgröße U kleiner / gleich einem kritischen Wert V wäre.

<i>U-Test</i>		
Vergleich	Prüfgröße U	kritischer V-Wert
Kontrollgruppe/ GÖR	281,5	237
Kontrollgruppe/ chron. Lungenkranke	68	48
GÖR/ chron. Lungenkranke	151	78

Desweiteren wurden die Ergebnisse mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Test mit multiplen Vergleichen nach Dunn^{24, 39, 47} überprüft. Ein signifikantes Ergebnis läge vor, wenn die ermittelte Größe p kleiner/ gleich 0,05 wäre. Die ermittelte Größe p liegt bei 0.42.

Keiner dieser Tests konnte einen signifikanten Unterschied aufzeigen. Demnach unterscheiden sich die Scores unserer Patientengruppen nicht signifikant von denen lungengesunder Kinder. Es besteht keine Assoziation zwischen chronischer pulmonaler Symptomatik unterschiedlicher Genese im Kindesalter und einem Anstieg des Hämosiderin-Score. Eine Altersabhängigkeit des Hämosiderin-Score wurde mit Hilfe des Rangkorrelationskoeffizienten r nach Spearman überprüft.

Tabelle 11: Spearman Rangkorrelationskoeffizient

Bei Werten um Null spielt die postulierte Abhängigkeit keine Rolle.

<i>Spearman Rangkorrelationskoeffizient</i>	
Hämosiderin-Score in Abhängigkeit des Alters	
	Korrelationskoeffizient
Lungengesunde	0,26
GÖR-Patienten	0,03
Chron. Lungenkranke	-0,19

Die ermittelten Werte widerlegen eine Abhängigkeit zwischen Alter und Hämosiderin-Score. Der Hämosiderin-Score ist demnach bei Kindern unabhängig vom Individualalter.

Wie aus den Ergebnissen ersichtlich, findet sich bei gesunden Kindern sowie bei chronisch Lungenkranken nur sehr diskret Hämosiderin in deren Alveolarmakrophagen. Die Eisenbelastung der Zellen in der bronchoalveolären Lavage beträgt für alle drei Gruppen 0-0,3% und liegt hiermit deutlich unter den für gesunde Erwachsene beschriebenen Normwerten. Bei Erwachsenen sind bis zu 20% eisenbeladene Zellen in der bronchoalveolären Lavage-Flüssigkeit noch nicht als pathologisch anzusehen^{20, 29} (siehe "Diskussion").

Hinsichtlich des Hämosiderin-Score lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen gesunden Kindern und unseren Patientengruppen feststellen. Die Ergebnisse zeigen, daß im Zusammenhang mit den von uns untersuchten

Erkrankungen dem Hämosiderin-Score keine differentialdiagnostische Bedeutung beizumessen ist. Bei gesunden, bei chronisch lungenkranken und bei Kindern mit GÖR sind nur in sehr geringem Ausmaß hämosiderinbeladene Alveolarmakrophagen zu finden. Dies bedeutet, daß selbst leicht vermehrtes Hämosiderin in kindlichen Alveolarmakrophagen nicht durch eine der häufigen, hier berücksichtigten chronischen pulmonalen Erkrankungen zu erklären ist und unbedingt weiterer differentialdiagnostischer Abklärung bedarf. (siehe Kap.3.1)

7 Diskussion

Es existieren verschiedene Studien über das Vorkommen von Hämosiderin in der bronchoalveolären Lavage Flüssigkeit Erwachsener,^{21, 23, 29, 45, 56} jedoch gibt es keine Norm- und Vergleichswerte für Kinder.

David W. Golde et al. entwickelten einen Hämosiderin-Score für Erwachsene. Dieser Score bewertet die Alveolarmakrophagen mit 0 bis 4 Punkten und bezieht sich auf insgesamt 100 Zellen. Die Punkte werden addiert, so daß ein individueller Score zwischen 0 und 400 resultiert.^{20, 29} Golde fand bei gesunden Erwachsenen Werte zwischen 0 und 20 (max. 20% Eisenbeladung), Werte über 50 sind als pathologisch einzustufen, ab einem Score von 100 kann man von mittelschwerer Hämorrhagie sprechen, ab 300 von schwerer Hämorrhagie. Andere Autoren finden in gesunden Individuen bis zu 3% beziehungsweise bis zu 20% hämosiderinbeladene Makrophagen in der bronchoalveolären Lavage-Flüssigkeit.⁵⁶ Bei Erwachsenen befinden sich demnach die Normwerte für die Hämosiderinlast der Alveolarmakrophagen in der BAL-Flüssigkeit in Abhängigkeit vom Autor im Bereich von 0 bis 3% beziehungsweise von 0 bis 20%.^{20, 29, 56}

Da bisher keine Normwerte für den Hämosideringehalt kindlicher Alveolarmakrophagen vorlagen, war das erste Ziel die Erstellung von Normwerten für pädiatrische Patienten unter Berücksichtigung einer gesunden Kontrollgruppe. Bei

Kindern wurde wesentlich weniger Eisen gefunden im Vergleich zu oben beschriebenen Studien. Bei Gesunden und bei unseren Patientengruppen fanden sich bis zu drei Promille hämosiderinbeladene Zellen. Aus diesem Grund wurde ein neuer Score erstellt, der der geringeren Eisenbelastung der Kinder Rechnung trägt. Der Normbereich erstreckt sich in etwa von 0 bis 1 Promille (Score 0-130 bezogen auf 100.000 Zellen).

Unsere Patientengruppen setzten sich aus chronisch lungenkranken Kindern und aus Kindern mit pulmonaler Syptomatik bei GÖR zusammen. Es wurde untersucht, ob sich mit Hilfe des Hämosiderin-Score die pulmonale Manifestation einer gastroösophagealen Refluxkrankheit differentialdiagnostisch gegenüber anderen chronischen Lungenerkrankungen abgrenzen und die pulmonale Relevanz objektivieren ließe. Zu diesem Zweck mußten wir die GÖR-Patienten mit chronisch lungenkranken Kindern vergleichen, die klinisch eine ähnliche Symptomatik boten (rezidivierende Pneumonien, intrinsisches Asthma, rezidivierende obstruktive Bronchitiden). Die höchsten Werte erwarteten wir bei GÖR-Patienten, da in beiden Fällen chronische Entzündungen bzw. Erkrankungen der Lungen vorliegen, bei der GÖR-Gruppe jedoch noch die Salzsäure als chemische Noxe hinzukommt.

Wir wollten zeigen, inwieweit bei diesen Kindern mit okkulten Blutungen zu rechnen ist. Ferner interessierte uns wie ein Hämosiderin-Score differentialdiagnostisch zu bewerten ist und ob er Aussagekraft besitzt hinsichtlich der pulmonalen Relevanz dieser Erkrankungen.

Da Hämosiderin-Scores oder pulmonale Hämorrhagien bisher nur in Verbindung mit Krankheiten beschrieben wurden (Immunsuppression,^{23,45} Malignome und Leukämie,^{29, 56} immunologische Erkrankungen,^{49, 57, 72} Infektionen³⁰), die unserer Patientenauswahl nicht entsprechen, ist ein Vergleich mit der Literatur nur begrenzt möglich. Hinzu kommt, daß es sich bei den oben erwähnten Studien ausschließlich um erwachsene Patienten handelt. Vergleichbar sind die in dieser Studie ermittelten Normwerte für pädiatrische Patienten mit den in der Literatur angegebenen Normwerten für gesunde Erwachsene.^{20, 29}

Wir fanden bei gesunden Kindern wesentlich weniger Hämosiderin als in der Literatur für gesunde Erwachsene beschrieben wurde.^{20, 29} Die Scores liegen zwischen 0 und 340 bezogen auf 100.000 Zellen, der Mittelwert liegt bei 60, was einer prozentualen Hämosiderinbelastung von höchstens 0,06 % entspricht. Golde et al. und andere fanden bei Kontrollgruppen gesunder Erwachsener in verschiedenen Studien Golde-Scores von 0 bis 25,^{20,23,56} was bis zu 0-20% hämosiderinbeladenen Alveolarmakrophagen entspricht. Die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen Kindern und Erwachsenen machen eine Zunahme der Eisenlast mit dem Lebensalter sehr wahrscheinlich. Dies konnte jedoch durch unsere Ergebnisse nicht bestätigt werden. Es zeigt sich kein Anstieg des Scores in Korrelation zum Lebensalter. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß die Altersverteilung unserer Patientengruppen inhomogen ist und sich das Alter der Kinder auf überwiegend unter zehn Jahre beläuft (Mittel. 6,25 Jahre).

Die Ergebnisse der Patienten mit einem gastroösophagealen Reflux unterscheiden sich nicht signifikant von den Ergebnissen der Kontrollgruppe. Der durchschnittliche Score liegt bei 49, entsprechend einer prozentualen Eisenbelastung von höchstens 0,05%, somit liegt er etwas unter dem durchschnittlichen Score der Kontrollgruppe (Score: 57).

Die Ergebnisse bei chronisch lungenkranken Kindern weisen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe oder zur GÖR-Gruppe auf. Der durchschnittliche Hämosiderin-Score liegt bei 53, die prozentuale Eisenlast ebenfalls bei 0,05%.

Es stellt sich die Frage, warum in kindlichen Lungen weniger Hämosiderin vorhanden ist. Die Schleimhäute der Atemwege zeigen eine stärkere Reaktion auf Infektionen und andere Reizfaktoren.⁶¹ Aus diesem Grund wäre eine erhöhte Hämosiderinlast als Korrelat für eine ausgeprägtere Entzündung im Vergleich zu Erwachsenen zu vermuten. Ebenso wäre bei gesunden Kindern als Pendant der physiologischen Hyperreagibilität⁶¹ mehr oder zumindest ebensoviel Hämosiderin zu erwarten als bei gesunden Erwachsenen. Ein Ansammeln des Hämosiderins über viele Lebensjahre erscheint aufgrund der raschen Clearance von Hämosiderophagen in der Lunge⁶⁸ unwahrscheinlich, ist jedoch in Anbetracht der langen Verweildauer dieses Pigments im Körper³ nicht auszuschließen (siehe Kap. 2.1, Eisenstoffwechsel). Es ist anzunehmen, daß bei gesunden Erwachsenen bereits degenerative Erkrankungen und Fibrosierungen der Lunge mit zu berücksichtigen sind, womit bei Kindern nicht zu

rechnen ist. Desweiteren ist davon auszugehen, daß in einer gesunden Erwachsenenpopulation Raucher enthalten sind. Olakamni et al. konnten nachweisen, daß in der bronchoalveolären Lavage-Flüssigkeit von Rauchern mehr Eisen in den Alveolarmakrophagen zu finden ist als bei Nichtrauchern.⁵⁴ Grebski et al. fanden in den Alveolarmakrophagen von Rauchern durchschnittlich doppelt soviel Hämosiderin verglichen mit Nichtrauchern. Die Durchschnittswerte bewegen sich jedoch im Normbereich bis zu einem "Golde-Score" von 25 für Raucher (bis zu 25% hämosiderinbeladene Makrophagen).³⁰ Der Anteil der Raucher unter den Erwachsenen und die bereits bestehenden, noch unerkannten Erkrankungen könnten demnach dazu beitragen, daß höhere Normwerte für diese Population erstellt wurden als wir bei pädiatrischen Patienten ermittelten. Es muß an dieser Stelle angemerkt werden, daß die Normwerte und der Score, die hier zum Vergleich herangezogen werden, von einer Arbeitsgruppe in den siebziger Jahren in den U.S.A. erstellt wurden (Golde et al., School of Medicine, Los Angeles, Kalifornien). Es ist nicht auszuschließen, daß epidemiologische, temporäre sowie Unterschiede des Verfahrens ebenfalls eine Rolle spielen. Cassimos et al. hat 1983 jahreszeitliche und geographische Schwankungen im Auftreten von idiopathischer Hämosiderose beobachtet.¹⁷ So ist anzunehmen, daß Umwelteinflüsse eine IPH bei prädisponierten Personen auslösen können. Ebenso können wir davon ausgehen, daß diese Umwelteinflüsse auch eine unauffällige Eisenbelastung der Lunge beeinflussen und hierdurch unterschiedliche Normwerte entstehen können.

Aufgrund der Unterschiede zu Erwachsenen erhofften wir eine größere differentialdiagnostische Aussagekraft des Hämosiderin-Score nachweisen zu können. Bei Erwachsenen spricht eine starke Eisenbeladung für starke pulmonale Hämorrhagie, die hinsichtlich ihrer Ursachen abzuklären ist.²⁰ Mittelschwere Eisenbelastung findet man bei einer Vielzahl pulmonaler Erkrankungen als unspezifisches Begleitsymptom, dem bisher keine differentialdiagnostische Bedeutung zuzuordnen war.⁵⁶ Bei chronischen Erkrankungen im Kindesalter ließ sich keine Erhöhung des Hämosiderin-Score feststellen. Weder fanden wir Unterschiede zwischen den Patientengruppen, noch fanden wir signifikante Unterschiede zwischen chronisch Kranken und Gesunden.

Es ist anzunehmen, daß akute Entzündungen auch im Kindesalter eine deutliche Erhöhung des Score nach sich ziehen. Bei zwei Patienten fanden wir eine ausgeprägte Eisenbelastung (5-10% hämosiderinbeladene Makrophagen). Diese Patienten gehörten keiner unserer Patientengruppen an, es handelt sich um jeweils einen Fall von Pertussis und einen Fall von akuter Pneumonie. Dies bedeutet, daß im Falle akuter Erkrankungen auch bei Kindern ein deutlicher Anstieg des intramakrophagozytären Hämosiderins zu erwarten ist. Dies ist auch mit Grebksis Ergebnissen zu vereinbaren, der bei verschiedenen pulmonalen Infektionen mehr Hämosiderin nachweisen konnte als bei seiner Kontrollgruppe.³⁰ Er nutzte den von Golde erstellten Score als Grundlage für seine Studie. Unter den Gruppen mit pulmonalen Infektionen variierten die durchschnittlichen "Golde-Scores" von 13,5 (mykobakterielle Infektionen) bis zu 33 (Pneumocystis carinii Pneumonie).

In der unter 4. beschriebenen Kasuistik wird von einem Kleinkind mit pulmonaler Hämorrhagie bei GÖR berichtet. Der Krankheitsverlauf läßt die Vermutung eines kausalen Zusammenhangs zu. Es scheint in diesem Fall der GÖR am Entstehen der pulmonalen Hämorrhagie ursächlich oder zumindest krankheitsunterstützend beteiligt zu sein. In Anbetracht dieses Falles verwundert es, daß die GÖR-Patienten in unserer Studie keine erhöhten Hämosiderin-Scores aufwiesen.

Schlußfolgerung

Da wir zeigen konnten, daß bei chronischen Erkrankungen unterschiedlicher Genese im Kindesalter keine Vermehrung des Hämosiderins in Alveolarmakrophagen nachzuweisen ist, stellt ein erhöhter Score einen ernstzunehmenden Befund dar. Bereits mäßig vermehrtem Hämosiderin ist differentialdiagnostisch nachzugehen, da es sich nicht um die Begleiterscheinung einer der in unserer Studie untersuchten chronischen Krankheiten handelt.

Bei massiven Hämosiderinvorkommen ist auch bei Kindern der Nachweis einer pulmonalen Hämorrhagie erbracht, die hinsichtlich einer IPH und der in Frage kommenden Differentialdiagnosen (siehe 3.1) abzuklären ist. Bei leichter bis mäßiger Erhöhung des Hämosiderin-Score ist zu bedenken, daß die mit pulmonaler Hämorrhagie einhergehenden Erkrankungen größtenteils schubweise verlaufen. Es besteht die Möglichkeit, daß es sich um das Stadium zwischen zwei Schüben handelt, man sollte daher diagnostisch ebenso verfahren wie bei eindeutiger pulmonaler Hämorrhagie. Ferner ist ein maligner Prozeß im Sinne einer Leukämie in Betracht zu

ziehen, da bei leukämiekranken Patienten vermehrt okkulte pulmonale Hämorrhagien beobachtet wurden.²⁹ Eine Assoziation zwischen pulmonaler Hämorrhagie und Zöliakie wurde beschrieben,^{4, 14, 72} daher ist auch dies differentialdiagnostisch zu berücksichtigen. Desweiteren sollte man das Kind einer kardiologischen Untersuchung zuführen.^{20, 22}

Als häufigste Erklärung eines erhöhten Score in der Pädiatrie wird jedoch eine akute Entzündung der Atemwege zu finden sein.

Als Ergebnis dieser Studie wird festgehalten, daß im Kindesalter bei chronischen Lungenerkrankungen sowie bei GÖR Hämosiderin nur im Promillebereich in Alveolarmakrophagen vorhanden ist. Die chronischen Erkrankungen, die von uns berücksichtigt wurden, stellen mit Ausnahme der allergischen Lungenerkrankungen einen Querschnitt der häufig vorkommenden Erkrankungen in der pädiatrischen Praxis dar.

Einem auch nur mäßigem Anstieg des Hämosiderin-Score ist unbedingt Beachtung zu schenken, da es sich um ein Frühsymptom einer schwerwiegenden Systemerkrankung handeln kann.

8 Zusammenfassungen

8.1 Zusammenfassung

Idiopathische pulmonale Hämosiderose (IPH) ist eine seltene Erkrankung unklarer Ätiologie, die hauptsächlich Kinder und Jugendliche betrifft. Pulmonale Hämorrhagie ist in Assoziation mit diversen respiratorischen und systemischen Krankheiten beschrieben (Systemischer Lupus Erythematoses, Goodpasture Syndrom). Eine frühe Diagnose der pulmonalen Hämorrhagie ist von großer Bedeutung, da die in Frage kommenden Erkrankungen progrediente und letale Verläufe nehmen können. Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) ist die Methode der Wahl, um hämosiderinbeladene Makrophagen nachzuweisen und mögliche Ursachen zu diagnostizieren (Infektionen, maligne Prozesse).

Studie: Es wurden 64 bronchoalveoläre Lavagen hinsichtlich des Hämosideringehaltes ausgewertet und bezüglich einer möglichen differentialdiagnostischen Bedeutung in der Pädiatrie untersucht. Da in unserer Kontrollgruppe wesentlich weniger Hämosiderin nachweisbar war als bisher beschrieben, wurde ein neuer Hämosiderin-Score für pädiatrische Patienten erstellt.

Ergebnisse: Weder bei Patienten mit pulmonaler Symptomatik auf dem Boden eines gastroösophagealen Refluxes, noch bei Patienten mit chronischen Lungenkrankheiten anderer Genese wurden erhöhte Hämosiderin-Werte festgestellt.

Schlußfolgerung: Da bei Kindern erhöhte Hämosiderin-Score in Assoziation mit chronischen pulmonalen Erkrankungen nicht gefunden wurden, sind auch nur leicht erhöhte Hämosiderin-Scores als möglicher Hinweis auf eine ernste Systemerkrankung anzusehen.

Fallbeispiel: Über ein Kleinkind mit idiopathischer pulmonaler Hämosiderose bei einer gastroösophagealen Refluxerkrankung wird berichtet.

8.2 Summary

Idiopathic pulmonary hemosiderosis (IPH) is a rare disease of unknown aetiology, mainly affecting children and adolescents. Pulmonary haemorrhage (PH) may occur in association with several respiratory or systemic diseases (Systemic Lupus Erythematosus, Goodpasture`s Syndrome). A delay in diagnosing pulmonary haemorrhage (PH) can lead to fatal renal or pulmonary complications, therefore a rapid diagnosis is important. BAL appears to be the method of choice to detect hemosiderin-laden macrophages and to eliminate other underlying diseases such as infections or malignancies.

Study: 64 bronchoalveolar lavages were performed in order to investigate the diagnostic value of hemosiderin-laden macrophages in children. In our control-group very little hemosiderin was found compared to literature, therefore a new hemosiderin-score for paediatric patients was established.

Results: No elevated hemosiderin-levels were found, neither in children with pulmonary symptoms based on gastroesophageal reflux nor in children with other chronic respiratory diseases. Less hemosiderin was found in healthy children compared to publications about adults.

Conclusions: Since elevated hemosiderin-scores in paediatric BAL-fluid are uncommon in association with chronic respiratory illness, even a slight increase of hemosiderin may be the first sign of a severe systemic disease.

Case report: A child with idiopathic pulmonary hemosiderosis and gastroesophageal reflux is reported.

9 Literaturverzeichnis

1. Allen, J.L., Wohl, M.E.: Pulmonary function in older children and young adults with gastroesophageal reflux
Clin Pediatr 25 (1986): 541-546

2. Allue, X., Wise, M.B., Beaudry, P.H.: Pulmonary function studies in idiopathic pulmonary hemosiderosis in children
Am Rev Respir Dis 107 (1973): 410-415

3. Altmann, H.-W., Klinge, O.: Leber
In: Grundmann, E. (Hrsg.): Spezielle Pathologie - Lehrbuch
Urban & Schwarzenberg, 7. Auflage (1986): 256, 304

4. Bailey, P., Groden, B.M.: Idiopathic pulmonary haemosiderosis: report of two cases and review of literature
Postgrad Med J 55 (1979): 266-272

5. Baldamus, C.A., Pollok, M.: Glomeruläre Nierenerkrankungen
In: Classen/ Diehl/ Kochsiek (Hrsg.): Innere Medizin
Urban & Schwarzenberg, 3. Auflage (1994): 1310ff

6. Balough, K., McCubbin, M., Weinberger, M., Smits, W., Ahrens, R.: The relationship between infection and inflammation in the early stages of lung disease from cystic fibrosis
Pediatric Pulmology 20 (1995): 63-70

7. Beckerman, R.C., Taussig, L.M., Pinna, J.L.: Familial idiopathic pulmonary hemosiderosis
Am J Dis Child 133 (1979): 609-611

8. Benhamou, P.H., Vannerom, P.Y., Kalach, N., Dupont, C.: Diagnostic procedures of GER in childhood
Pediatr Pulmol-Suppl. 11 (1995): 116-117

9. Bergmann, K.-Ch., Kramer, H., Wiesner, B.: Die bronchoalveoläre Spülflüssigkeit - ein neues Untersuchungsmaterial in der Pulmologie
Z Erkrank Atm-Org 157 (1981): 34-40

10. Birriel, J.A., Adams, J.A., Saldana, M.A., Mavunda, K., Goldfinger, S., Vernon, D., Holzmann, B., McKey, R.M.: Role of flexible bronchoscopy in the diagnosis of pediatric acquired immunodeficiency syndrome-related pulmonary disease
Pediatrics 87 (1991): 897-899

11. Bläker, F.: Erkrankungen der Nieren, der ableitenden Harnwege und der äußeren Geschlechtsorgane
In: von Harnack (Hrsg.): Kinderheilkunde
Springer-Lehrbuch, 9. Auflage (1994): 409ff
12. Blanco, A., Solis, P., Gomez, S., Valbuena, C., Telleria, J.J.: Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in idiopathic pulmonary hemosiderosis
Pediatr Allerg Immunol 5 (1994):235-239
13. Boat, T.F., Polmar, S.H., Whitman, V., Kleinerman, J.I., Stern, R.C., Doershuk, C.F.: Hyperreactivity to cow milk in young children with pulmonary hemosiderosis and cor pulmonale secondary to nasopharyngeal obstruction
J Pediatr 87 (1975): 23-29
14. Bouros, D., Panagou, P., Rokkas, T., Siafakas, N.M.: Bronchoalveolar lavage findings in a young adult with idiopathic pulmonary haemosiderosis and coeliac disease
Eur Respir J 7 (1994): 1009-1012
15. Bungert, H.-J., Leonhardt, H., Macha, H.-N.: Physiko-chemische Untersuchungen des Ferritins und des Proteinspektrums bei einem Fall von Lungenhämosiderose mit Glomerulonephritis (Goodpasture-Syndrom)
Klin Wschr 49 (1971): 1257-1264
16. Buschman, D.L., Ballard, R.: Progressive massive fibrosis associated with idiopathic pulmonary hemosiderosis
Chest 104 (1993): 293-295
17. Cassimos, C.D., Chryssanthopoulos, C., Panagiotidou, C.: Epidemiologic observations in idiopathic pulmonary hemosiderosis
J Pediatr 102 (1983): 698-702
18. Chryssanthopoulos, C., Cassimos, C.D., Panagiotidou, C.: Prognostic criteria in idiopathic pulmonary hemosiderosis in children
Eur J Pediatr 140 (1983):123-125
19. Corhay, J.L., Weber, G., Bury, Th., Mariz, S., Roelandts, I., Radermecker, M.F.: Iron content in human alveolar macrophages
Eur Respir J 5 (1992): 804-809
20. Deutsche Gesellschaft für Pneumologie
Costabel, U., Barth, J., Behr, J., Buhl, R., Kamzow, G., Klech, H., König, G., Kroegel, C., Magnussen, H., Müller-Quernheim, J., Petermann, W., Pohl, W., Rust, M., Schaberg, T., Schmidt, M., Stepling, H., Teschler, H., Wagner, T.O.F., Worth, H.: Empfehlungen zur diagnostischen bronchoalveolären Lavage
Pneumologie 47 (1993): 607-619

21. Danel, C., Israel-Biet, D., Costabel, U., Fabbri, L.M., Klech, H.: Therapeutic applications of BAL.
In: Klech, H., Hutter, C.: Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): Report of the european society of pneumology task group on BAL. *Eur Respir J* 3 (1990): 960-961

22. Danel, C., Israel-Biet, D., Costabel, D., Rossi, G.A., Wallaert, B.: The clinical role of BAL in pulmonary haemorrhages.
In: Klech, H., Hutter, C.: Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): Report of the european society of pneumology task group on BAL. *Eur Respir J* 3 (1990): 951-952

23. Drew, W.L., Finley, Th.N., Golde, D.W.: Diagnostic lavage in occult pulmonary hemorrhage in thrombocytopenic immunocompromised patients.
Am Rev Resp Dis 116 (1977): 215-221

24. Dunn, O.J.: Multiple comparisons using rank sums.
Technometrics 6 (1964): 241-252

25. van der Ent, C.K., Walenkamp, M.J., Donckerwolcke, R.A.M.G., van der Laag, J., van Diemen-Steenvoorde, R.: Case report - Pulmonary hemosiderosis and immune complex glomerulonephritis.
Clin Nephrol 43 (1995): 339-341

26. Frankel, L.R., Smith, D.W., Lewiston, N.J.: Bronchoalveolar lavage for diagnosis of pneumonia in the immunocompromised child.
Pediatrics 81 (1988): 785-788

27. Garcia Rio, F., Alvarez-Sala, R., Caballero, P., Prados, C., Pino, J.M., Villamor, J.: Six cases of alveolar proteinosis: presentations of unusual associations.
Monaldi Arch Chest Dis 50 (1995): 12-15

28. Gause, A., Pfreundschuh, M.: Immunologie
In: Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K. (Hrsg.): *Innere Medizin*
Urban & Schwarzenberg, 3. Auflage (1994): 445ff

29. Golde, D.W., Drew, W.L., Klein, H.Z., Finley, Th.N., Cline, M.J.: Occult pulmonary haemorrhage in leukaemia
Brit Med J 2 (1975): 166-168

30. Grebski, E., Hess, Th., Hold, G., Speich, R., Russi, E.:
Diagnostic value of hemosiderin-containing makrophages in bronchoalveolar lavage
Chest 102 (1992): 1794-1799

31. Gross, W.L., Maerker-Alzer, G.: Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises
In: Classen, Diehl, Kochsiek, (Hrsg.): Innere Medizin
Urban & Schwarzenberg, 3. Auflage (1994): 488ff

32. Grundmann, E.: Blut, Knochenmark und lymphatisches Gewebe
In: Grundmann (Hrsg.): Spezielle Pathologie
Urban & Schwarzenberg, 7. Auflage (1986): 64ff

33. von der Hardt, H.: Die idiopathische Lungenhämosiderose
In: Fenner, von der Hardt: Pädiatrische Pneumologie
Springer Verlag (1975): 532ff

34. von der Hardt, H.: Erkrankungen von Bronchien, Lungen, Pleura und Mediastinum
In: Keller, Wiskott (Hrsg.): Lehrbuch der Kinderheilkunde
Georg Thieme Verlag, 5. Auflage (1984): 24.33

35. Hein, J., Martens, E., Bauer, I., Dörfling, P., Brock, J., Gülzow, H.-U., Breuel, K., Rudolph, I.: Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) - eine diagnostische Methode bei chronischen unspezifischen bronchopulmonalen Erkrankungen im Kindesalter?
2. Teil: Untersuchungen der zellulären und humoralen Parameter der BAL-Spülflüssigkeit
Z Erkrank Atm Org 176 (1991): 7-20

36. Hein, J., Martens, E., Gülzow, H.-U., Breuel, K., Rudolph, I., Erfurth, F.: Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) - eine diagnostische Methode bei chronischen unspezifischen bronchopulmonalen Erkrankungen im Kindesalter?
1. Teil: Durchführung und Verträglichkeit
Z Erkrank Atm Org 170 (1988): 127-131

37. Henderson, A.J.W.: Bronchoalveolar lavage
Arch Dis Child 70 (1994): 167-169

38. Hörl, W.: Basisuntersuchungen
In: Classen, Diehl, Kochsiek (Hrsg.): Innere Medizin, Nierenerkrankungen
Urban & Schwarzenberg, 3. Auflage (1994):1303ff

39. Holm, S.: A simple sequentially rejective multiple test procedure
Scand J Stat 6 (1979): 65-70

40. Hsu, B.Y., Edwards III, D.K., Trambert, M.A.: Pulmonary hemorrhage complicating systemic Lupus Erythematosus: Role of MR imaging in diagnosis
A J R 158 (1992): 519-520

41. Huges-Davies, L., Kocjan, G., Spittle, M.F., Miller, R.F.: Occult alveolar haemorrhage in bronchopulmonary Kaposi`s sarcoma
J Clin Pathol 45 (1992): 536-537

42. Irwin, R.S., Cottrell, Th.S., Hsu, K.C., Griswold, W.R., Thomas III, H.M.: Idiopathic pulmonary hemosiderosis: An electron microscopic and immunofluorescent study
Chest 65 (1974): 41-45

43. Jones, C.L., Shields, M., Eddy, A.A., Baumal, R., O`Neill, M., Geary, D.F.: Case reports - Pulmonary hemorrhage and necrotizing glomerulonephritis without glomerular immune deposits: Report of two cases
Am J Kidney Dis 18 (1991): 257-263

44. Kahn, F.W., Jones, J.M.: Diagnosing bacterial respiratory infection by bronchoalveolar lavage
J Infect Dis 155 (1987): 862-869

45. Kahn, F.W., Jones, J.M., Douglas, M.: Diagnosis of pulmonary hemorrhage in the immunocompromised host
Am Rev Respir Dis 136 (1987): 155-160

46. Khalil, A.M., Carette, M.F., Cadranel, J.L., Mayaud, Ch.M., Akoun, G.M., Bigot, J.M.: Magnetic resonance imaging findings in pulmonary Kaposi`s sarcoma: A series of 10 cases
Eur Respir J 7 (1994): 1285-1289

47. Kruskal, W.H., Wallis, W..A.: Use of ranks in one-criterion variance analysis
J Amer Stat Ass 47 (1952): 583-621 & 48 (1953): 907-911

48. de Lassece, A., Fleury-Feith, J., Escudier, E., Beaune, J., Bernaudin, J.-F., Cordonnier, C.: Alveolar Hemorrhage - Diagnostic criteria and results in 194 immunocompromised hosts
Am J Respir Crit Care Med 151 (1995): 157-163

49. Leatherman, J.W., Davies, S.F., Hoidal, J.R.: Alveolar hemorrhage syndromes: Diffuse microvascular lung hemorrhage in immune and idiopathic disorders
Medicine 63 (1984): 343-361

50. Matsaniotis, N., Karpouzas, J., Apostolopoulou, E., Messaritakis, J.: Idiopathic pulmonary haemosiderosis in children
Arch Dis Child 43 (1968): 307-309

51. McWhinney, P.H., Kibbler, C.C., Hamon, M.D., Smith, O.P., Gandhi, L., Berger, L.A., Walesby, R.K., Hoffbrand, A.V., Prentice, H.G.: Progress in the diagnosis and management of aspergillosis in bone marrow transplantation: 13 years` experience
Clin Infect Dis 17 (1993): 397-404
52. Morgan, P.G.M., Turner-Warwick, M.: Pulmonary haemosiderosis and pulmonary haemorrhage
Brit J Dis Chest 75 (1981): 225-242
53. Nussbaum, E., Maggi, J.C., Mathis, R., Galant, S.P.: Association of lipid-laden alveolar macrophages and gastroesophageal reflux in children
J Pediatr 110 (1987): 190-194
54. Olakanmi, O., McGowan, S.E., Hayek, M.B., Britigan, B.E.: Iron sequestration by macrophages decreases the potential for extracellular hydroxyl radical formation
J Clin Invest 91 (1993): 889-899
55. Pattishall E.N., Noyes B.E., Orenstein, D.M.: Use of bronchoalveolar lavage in immunocompromised children with pneumonia
Pediatr Pulmol 5 (1988): 1-5
56. Perez-Arellano, J.L., Losa Garcia, J.-E., Garcia Macias, M.C., Gomez Gomez, F., Jimenez Lopez, A., De Castro, S.: Hemosiderin-laden macrophages in bronchoalveolar lavage fluid
Acta Cytol 36 (1992): 26-30
57. Rafferty, L.R., Cook, M.K.: Idiopathic pulmonary haemosiderosis with autoimmune haemolytic anaemia
Brit J Dis Chest 78 (1984): 282-285
58. Ramirez, R.E., Glasier, Ch., Kirks, D., Shackelford, G.D., Locey, M.: Pulmonary hemorrhage associated with systemic Lupus Erythematosus in children
Radiology 152 (1984): 409-412
59. Ramirez-R., J., Schultz, R.B., Dutton, R.: Pulmonary alveolar proteinosis
Arch Intern Med 112 (1963): 419-431
60. Ratjen, F., Bredendiek, M., Brendel, M., Meltzer, J., Costabel, U.: Differential cytology of bronchoalveolar lavage fluid in normal children
Eur Respir J 7 (1994): 1865-1870
61. Reinhardt, D.: Erkrankungen der Atmungsorgane
In: von Harnack (Hrsg.): *Kinderheilkunde*
Springer-Lehrbuch, 9. Auflage (1994): 335ff

62. Reinhardt, D.: Lungenhämosiderose
In: Schulte, Spranger: Lehrbuch der Kinderheilkunde
Gustav Fischer Verlag, 27.Auflage (1993): 659ff
63. Richter, G.W.: The Iron-Loaded Cell - The Cytopathology of Iron Storage.
Am J Pathol 91 (1978): 362-396
64. Sachs, L.: Angewandte Statistik
Springer Verlag, 7. Auflage (1991):393ff, 510ff
65. Saha, V., Ravikumar, E., Khanduri, U., Date, A., Ponnaiya, J., Raghupathy, P.:
Long-term prednisolone therapy in children with idiopathic pulmonary hemosiderosis
Pediatr Hemat Oncol 10 (1993): 89-91
66. Schnabel, A., Richter, C., Gross, W.L.: Subclinical alveolar hemorrhage in
pulmonary vasculitides
5th international conference
Broncho-Alveolar Lavage (Dublin, 29th June - 1st July 1995)
Final Programme & Abstracts: S35
67. Schweinfurth, H. (Hrsg.): Bronchoalveoläre Lavage
Dusti-Verlag, München (1990)
68. Sherman, J.M., Winnie, G., Thomassen, M.J., Abdul-Karim, F.W., Boat, Th.F.:
Time course of hemosiderin production and clearance by human pulmonary
macrophages
Chest 86 (1984): 409-411
69. Thomas III, H.M., Irwin, R.S.: Classification of diffuse intrapulmonary
hemorrhage
Chest, 68 (1975): 483-484
70. Thorpe, J.E., Baughman, R.P, Frame, P.T.: Bronchoalveolar lavage for
diagnosing acute bacterial pneumonia
J Infect Dis 155 (1987): 855-861
71. Winthrop, A.L., Waddell, Th., Superina, R.A.: The diagnosis of pneumonia in
the immunocompromised child: Use of bronchoalveolar lavage
J Pediatr Surg 25 (1990): 878-880
72. Wright, P.H., Menzies, I.S., Pounder, R.E., Keeling, A.O.P.W.N.: Adult
idiopathic pulmonary haemosiderosis and coeliac disease
Quart J Med 197 (1981): 95-102

10 Anhang

10.1 Tabellenverzeichnis

<u>Tabelle 1:</u> <i>Differentialdiagnosen der pulmonalen Hämorrhagie</i> ^{20, 22, 46} _____	23
<u>Tabelle 2:</u> <i>Indikationen zur Elektivoperation bei lungengesunden Kindern</i> _____	41
<u>Tabelle 3:</u> <i>Bronchoskopieindikationen der GÖR-Patienten</i> _____	42
<u>Tabelle 4:</u> <i>Pulmonale Erkrankungen der Kinder mit GÖR</i> _____	43
<u>Tabelle 5:</u> <i>Bronchoskopieindikationen der Kinder mit chronischen pulmonalen Erkrankungen</i> _____	44
<u>Tabelle 6:</u> <i>Typisierung der Alveolarmakrophagen</i> _____	48
<u>Tabelle 7:</u> <i>Indikationen für die BAL bei GÖR-Patienten</i> _____	59
<u>Tabelle 8:</u> <i>Indikationen für die BAL bei chron. Lungenkranken</i> _____	63
<u>Tabelle 9:</u> <i>Mittlere Scores der Patientengruppen im Vergleich</i> _____	66
<u>Tabelle 10:</u> <i>U-Test</i> _____	70
<u>Tabelle 11:</u> <i>Spearman Rangkorrelationskoeffizient</i> _____	71

10.2 Abbildungsverzeichnis

<u>Abbildung 1:</u> <i>Mikroskopisches Bild bei IPH</i> _____	34
<u>Abbildung 2:</u> <i>Krankheitsverlauf</i> _____	36
<u>Abbildung 3:</u> <i>Mikroskopisches Bild der Alveolarmakrophagen (Typ 1 - 5)</i> _____	50
<u>Abbildung 4:</u> <i>Lungengesunde</i> _____	52
<u>Abbildung 5:</u> <i>Lungengesunde, Median und Standardabweichung</i> _____	53
<u>Abbildung 6:</u> <i>Lungengesunde, Verteilung</i> _____	54
<u>Abbildung 7:</u> <i>Lungengesunde, Makrophagentypisierung</i> _____	55
<u>Abbildung 8:</u> <i>GÖR-Patienten</i> _____	57
<u>Abbildung 9:</u> <i>GÖR-Patienten, Verteilung</i> _____	58
<u>Abbildung 10:</u> <i>GÖR-Patienten, Symptomatik</i> _____	60
<u>Abbildung 11:</u> <i>GÖR-Patienten, Makrophagentypisierung</i> _____	61
<u>Abbildung 12:</u> <i>chron. Lungenkranke</i> _____	63
<u>Abbildung 13:</u> <i>chron. Lungenkranke, Verteilung</i> _____	64
<u>Abbildung 14:</u> <i>chron. Lungenkranke, Makrophagentypisierung</i> _____	65
<u>Abbildung 15:</u> <i>Patientengruppen im Vergleich</i> _____	67
<u>Abbildung 16:</u> <i>Patientengruppen im Vergleich, Verteilung</i> _____	68
<u>Abbildung 17:</u> <i>Patientengruppen im Vergleich, Makrophagentypisierung</i> _____	69

10.3 Danksagung

Herzlich danke ich Herrn Prof. Dr. med. D. Hofmann für die Überlassung des Themas sowie Herrn Dr. med. P. Ahrens für seine freundliche Beratung und Unterstützung bei der Fertigstellung und Durchführung meiner Dissertation

Auch Frau Dr. med. C. Noll und Frau Kraft möchte ich für die freundliche Unterstützung während der praktischen Durchführung der Studie danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Christina Schneider und Patricia Stengel für die gelduldige Durchsicht meiner Arbeit, sowie meinen Eltern, Daniela Hable, Wolfgang Repp, Eric Ehse für den moralischen Beistand und die Hilfe bei computertechnischen Problemen.

10.4 Lebenslauf

10.5 Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe - Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

Hämosiderinbeladene Alveolarmakrophagen

in der bronchoalveolären Lavage

pädiatrischer Patienten

im Zentrum der Kinderheilkunde

der Johann Wolfgang Goethe - Universität Frankfurt am Main

Abteilung für Pädiatrie II

unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. D. Hofmann,

mit Unterstützung durch Herrn Dr. med. P. Ahrens

ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe an keiner in- und ausländischen medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Diese Arbeit wird in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht: Zeitschrift

Pneumologie.

Frankfurt am Main, 1998 Bettina Weimer