

Göğüsün Allerjik Hastalıklarında Bronkoalveolar Lavajın (BAL) Yeri-1: Astım ve BAL

Esra Kunt Uzaslan*

* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı, Bursa

ÖZET

Astımda havayollarındaki inflamasyonun oluşumu ve gerilemesinin incelenmesinde önemli bir araştırma yöntemi olarak kullanılan BAL astımın patofizyoloji ve tedavisi hakkında geniş bir bilgi birikimi oluşmasını sağlamıştır. Astımlı hastalarda BAL ile havayolları ve alveol yüzeyinden elde edilen hücreler ve hücre dışı sıvıdaki çözünebilir maddeler araştırmalarda incelenmişlerdir. Dikkatle seçilmiş hastalarda BAL'ın güvenilir bir yöntem olduğu genel olarak kabul görmüştür.

Akciğer Arşivi: 2002; 3: 140-154.

Anahtar kelime: Allerji , Astım, BAL

SUMMARY

The Evaluation of BAL in Pulmonary Allergic Disorders: Asthma and BAL

Bronchoscopy and bronchoalveolar lavage are powerful means for investigating the development and resolution of airway inflammation and have produced enormous data and insights in the the pathophysiology of asthma and its treatment. BAL has permitted the recovery of airway-alveolar space cells and soluble substances in the extracellular lining fluid that have been used as research specimens in asthmatic patients. Safety of this procedure in carefully selected individuals are generally accepted.

Archives of Pulmonary: 2002; 3: 140-154.

Key word: Allergy, Asthma , BAL

Giriş

Geçtiğimiz 30 yıl içinde bronkoalveolar lavaj (BAL) akciğer hastalıklarının immunolojik ve moleküler düzeydeki araştırmalarında yaygın olarak kullanılmıştır (1-5). BAL 1980 'li yıllardan beri lokal konak immunitesi, inflamasyon, fibrosiz gelişimi, akciğer infeksiyonun tanısı gibi bir çok akciğer hastalığının tanı ve tedavisinin incelenmesinde kullanılanla gelmiştir. BAL yönteminin astım ve allerjik akciğer hastalıklarının immüno-patogenezinin değerlendirilmesinde kullanımı ile ilgili yayınlar, 1982 yıllarına kadar dayanmaktadır (5). Astım ve diğer allerjik inflamasyonların, immunopatolojisi, tanı izlem ve tedavisinde kullanılan BAL akciğerin inflamatuvar hücrelerinden ve akciğer epitel üstü sıvının içeriğinde yer alan çözünebilir komponentlerinden örneklemeyi sağlayan bir yöntemdir. BAL astımlı hastalarda hava-

yolu aşırı duyarlılığı ve inflamasyonunda rol oynayan hücrelerin profillerinin değerlendirilmesi, bu hücrelerin invitro kültür ortamında salgıladıkları mediatörlerin incelenmesini bazı tedavi modalitelerinin hastalığın inflamasyon markırlarına etkisinin analizini sağlamaktadır.

Teknik

Astımlı hastalarda BAL diğer akciğer hastalıklarında olduğu gibi genellikle lokal anestezi altında nazal veya oral yoldan fiberoptik bronkoskop (FOB) kullanılarak yapılır. FOB bir akciğerin subsegmentine kadar gönderilerek havayolu lumenini tam olarak kapatacak şekilde kama (wedge) pozisyonunda yerleştirilir. Bu pozisyonda segment bronşunun distalinde kalan hava yolu ile ilişkili yaklaşık bir milyon alveolden sellüler ve nonsellüler örnek almak mümkündür. Akciğerde lezyonun lokalize edilemediği veya akciğer filminde diffüz infiltrasyon bulunduğu diğer akciğer hastalıklarında olduğu gibi astımlı hastalarda BAL'ın yapıldığı lokali-

Yazışma Adresi: Dr. Esra Kunt Uzaslan
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları ve
Tüberküloz Anabilim Dalı, Görükle 16059 Bursa

zasyon, sağ akciğer orta lob, sol akciğer lingula segment ve subsegmentleridir.

BAL işlemi sırasında beş porsiyonda verilen 20 ml veya üç porsiyonda 60 ml sıvı kullanılabileceği gibi astımlı hastalarda bu sıvının hacmi daha düşük tutulabilir. Sıvı geri alındıktan sonra en hızlı şekilde uygun medium ve ısıda laboratuvara ulaştırılarak analizi yapılmalıdır. BAL sıvısında öncelikle total hücre sayımı, hücre canlılığının (viability) değerlendirilmesi, differansiyel hücre dağılımının belirlenmesini izleyen süreçte immunohistokimya veya flowcytometric analiz ile BAL sıvısı hücrelerinin, örneğin lenfositlerin tiplenmesi ve alt gruplarına ayrılması tamamlanır. Ayrıca BAL ile akciğerden elde edilen hücrelerin in vitro ortamda kültürü yapılabildiği gibi, BAL çözünebilir (soluble) komponentlerinin içeriği de analiz edilebilir. BAL, bağışıklığı baskılanmış hastaların akciğer enfeksiyonlarında etkenin saptanmasında, interstisyel akciğer hastalıklarının tanı ve izleminde, primer ve metastatik akciğer malignitelerinin araştırılmasında kullanıldığı zaman bu amaçlara yönelik diğer işlem basamaklarından geçirilir.

Akciğere açılan pencere olarak tanımlanan BAL az invaziv bir girişim olması nedeni ile de tanı ve araştırma amaçlı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Astımlılarda ilk BAL uygulamaları bronkospazmı olmayan stabil durumdaki hastalarda başlamış (5-10), daha sonraki çalışmalarda bu araştırma yönteminin dikkatli seçilmiş asemptomatik astımlılarda güvenle uygulanabileceği bildirilmiştir (5-15). Ardışık toplanan uluslararası sempozyumlar sonrasında astımlı hastalarda BAL'ın kullanım alanları; uygulanabileceği alanlar tanımlanmıştır (4,16,17). Bugün astımlı hastalarda major bir komplikasyon olmadan yapılmış BAL uygulamalarını incelediğimizde İngilizce literatürde 500' ün üzerinde emniyetle tamamlanmış araştırma görmekteyiz. Bu çalışmalar stabil astımlılarda allerjen veya mesleksi etkenle yapılan spesifik bronkoprovakasyon testi öncesi ve sonrası BAL uygulamalarını da içermektedir (2). Günümüzde kabul edilen genel görüş; uygun hastalar seçilerek uygulandığında BAL düşük morbiditesi, hiç olmayan mortalitesi ile emniyetli

ve güvenli bir yöntem olduğudur. Bronkoalveolar lavaj uygulaması yapılan astımlı hastalarda bildirilen yan etkilerin büyük bölümü işlemin tekniği ile ilgilidir. Diğer akciğer hastalıklarında yapılan BAL uygulamalarında olduğu gibi astımlılarda BAL sırasında öksürük, küçük kanamalar, işlemden birkaç saat sonra titreme ve ateş, 24 saat sonra akciğer grafisinde geçici alveolar infiltrasyonlar, solunum fonksiyon parametrelerinde geçici düşmeler (18), vital kapasite, zorlu vital kapasite 1. saniye volümünde düşme, arter oksijen basıncında azalma görülebilir (19,20). Bronkokonstriksiyonu olmayan olgularda BAL'ın havayolları duyarlılığını artırmadığını bildiren birçok çalışma olduğu gibi (12-15), astımlılarda nonspesifik bronşiyal hiperreaktiviteyi arttırdığını, bu artışın önceden havayolu aşırı duyarlılığı (HAD) ağır olan kişilerde, daha belirgin olduğunu bildiren bir çalışma da vardır (21). Astımlı hastalarda FOB, BAL ve bronş biyopsisi hastalığın immunopatogenezi hakkında en az riskle en çok bilginin elde edilmesini sağlayacak en önemli araştırma yöntemi olarak tanımlanırken, zorlu ekspirasyon 1. saniye volümü (forced expiratory volume 1. second, FEV₁) % 60' in altında ve birden çok semptomlu olgularda, ileri derecede hava yolu duyarlılığı olanlarda daha dikkatli uygulanması gerektiği vurgulanmaktadır (9,16,17,20).

Astımlı Hastalarda BAL Bulguları

Bronkoalveolar lavaj ile elde edilen akciğer immunoeffektör hücrelerinin, mediatörlerin, enzimlerin ve proteinlerin analizi astımın patogenezinin aydınlanmasında son 20 yıla ışık tutmuştur (5-16,17,20). Hava yollarındaki inflamasyon astımın en önemli patolojik bulgularından biridir. BAL ve mukozal biyopsiler astımda havayollarındaki inflamasyonun patogenezinin anlaşılmasında önemli rol oynamıştır. Astımın tipine ve klinik bulgularına göre BAL'dan elde edilen veriler farklılıklar göstermekle birlikte tanısız ve özgün değildir. Astımlılarda BAL'da en sıklıkla saptanan bulgu; hafif astımlılarda bile görülebilen eozinofil sayısında artıştır. Astımlılarda BAL sitokin profili

değerlendirildiğinde T helper 2- hücre fenotipinin kemokinlerinin; interleukin (IL)-4 ve IL-5 arttığı görülür. Hafif, stabil astımlılarda BAL sıvısında eozinofil, nötrofil, lenfosit sayısı artmış, makrofaj ve lenfositler aktiflenmiştir (5-9, 22-28). Atopik ve nonatopik astımlılarda BAL'dan elde edilen hücrelerin dağılımında farklılık bulunmamıştır (8). Astımlı hastaların BAL sıvılarından elde edilen alveolar makrofajların (A.M) canlılığının ve fonksiyonel aktivitesinin azaldığı ve bu bulgunun süregen eozinofili ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (5). Havayolları aşırı duyarlılığı gösteren FEV₁'de, başlangıca göre % 20'lik düşüğe neden olan metakolin konsantrasyonu ile (PC 20) ile BAL'dan elde edilen inflamatuvar ve epitel hücrelerinin dağılımında negatif ilişki saptanmıştır (9,22-24). Allerjik astımlı ve allerjik rinitli hastaların BAL sıvısı histamin düzeyleri ve mast hücre sayıları normal sağlıklı kişilerinkinden yüksektir. Yüksek BAL histamin seviyesine sahip allerjik astımlılar daha düşük BAL histamin düzeyine sahip allerjik astımlılardan daha düşük dozlarda metakolin ile FEV₁ değerleri %20'nin altına düşebilmektedir. Semptomları olmayan astımlı hastalarda BAL sıvısında spesifik IgE, albumin, histamin, prostaglandin, lökotrien ve lipoksin, kallikrein, anjiyotensin konvertin enzim, kinin, trombosit aktive edici faktörün (Platelet activating factor, PAF) arttığı (22,23,29-39) ve bazı inflamasyon markırlarının bronşiyal aşırı duyarlılığın derecesi ile korelasyon gösterdiği gözlenmiştir (22,23,30). BAL sıvısı arilsulfatazin aktivitesi ve histamin konsantrasyonu atopik astımlılarda nonatopiklerden daha yüksektir. Atopiklerde arilsulfataz aktivitesi ile eozinofil sayısı arasında korelasyon bulunmuş, arilsulfatazin IgE'ye bağlı allerjik reaksiyonda yer aldığını düşünülmüştür (38).

Astımlı hastalarda allerjene verilen yanıtta önemli rol oynayan ve BAL ile elde edilen mast hücrelerinin özellikleri incelendiğinde; immunolojik uyardan sonra histamin ve arişidonik asitten önceden veya yeni sentezlenmiş metabolitler salgıladıkları ve antiastmatik ilaçlarla bu fonksiyonların baskılabildiğini, hafif astımlı olguların semptomsuz olduğu dönemlerde bile BAL sıvısında var oldukları

görülmüştür (7-9,39-42). BAL ile elde edilen akciğer mast hücreleri anti-human IgE ile uyarıldığında histamin ve yeni yapılmış prostaglandin D2 ve lökotrien C4 mediatörleri salgılamaktadır (41). Hafif astımlı hastaların BAL sıvılarında dahi histamin ve prostaglandinlerin seviyeleri yüksek bulunmuş ve hastalığın hafif formlarında bile hava yollarında inflamasyonun devam ettiği ileri sürülmüştür (29). Histaminin BAL seviyesinin astımlılarda sağlıklı kişilerden yüksek olduğunu ve havayolu aşırı duyarlılığının şiddeti ile BAL histamin seviyesinin ilişkili olduğu gösteren çalışmalar olduğu gibi (30), bu ilişkinin saptanamadığı, histamin düzeyi ile BAL sıvısı mast hücre ve bazofil sayısının ilişkilendirilemediği çalışmalarda vardır (31). Astımlı hastaların BAL, bronş lavajı (BL) ve serum IgE seviyeleri karşılaştırıldığında serum IgE ile BAL IgE düzeyi arasında korelasyonun var olduğu, bu ilişkinin bronş lavajı ve serum arasında görülmediği saptanmıştır. Özellikle nokturnal semptomları olan astımlı hastalarda geceleyin inflamasyonun daha ağırlaştığı görülmüştür (43).

Aktive eden bir uyarıya karşı inflamatuvar hücrelerin mediatör salarak yanıt vermesi releasibility olarak tanımlanmaktadır. Sağlıklı kişilerle karşılaştırıldığında astımlı hastaların BAL ile akciğerlerinden elde edilen mast ve bazofil hücrelerinden invitro ortamda histamin salınımının (44), alveolar makrofajlarından çeşitli inflamatuvar mediatörlerin (31,45,46) salınımının arttığı gösterilmiştir. BAL ile astımın immunopatogenezi üzerine elde edilen bu veriler astımlı hastanın havayollarında inflamasyonun ve alveolakapiller permabilitenin arttığını ve hastanın semptomsuz olduğu dönemde bile devam ettiğini, inflamasyon markırlarının havayolları aşırı duyarlılığı ile korele olduğunu göstermiştir (47). Astımlılarda havayollarının yapısında bulunan doğal hücrelerle inflamatuvar hücreler arasındaki etkileşim mediatörlerin salınımına, inflamasyonun süregenliğine patofizyolojik değişikliklerin oluşmasına ve havayolu aşırı duyarlılığının gelişimine neden olmakta, inflamatuvar uyanlar salgılanınca veya astım akut atakları sırasında HAD artmaktadır. Hafif astımlılarda inflamatuvar hücrelerde

ve aktivasyonlarında artışla birlikte özellikle inflamasyonun ağırlaştığı dönemlerde, nokturnal astımlılarda BAL eozinofil sayısında artış ve allerjenle yapılan provakasyondan sonra BAL bazofil ve lenfositlerinde de artış gözlenirken, mast hücre, eozinofil sayısı, eozinofilik katyonik protein (ECP) düzeyi ile metakolin PC20 ve FEV1 değişiklikleri arasında korelasyon saptanmıştır (48). Hafif ve orta persistan atopik ve non atopik astımlılarda BAL histamin seviyesindeki artış havayolları eozinofilik infiltrasyonu ile ilişkili bulunmuştur (49). Astımın tiplerine göre BAL bulguları değerlendirildiğinde, hafif intermitandan ağır persistan astıma kadar bütün astım formlarında havayolu inflamasyonu bulguları histamin ve prostaglandinlerin seviyeleri ve ECP düzeyi artışı gözlenirken bazı spesifik markırlar bazı astım tiplerinde daha yüksek bulunabilmektedir, örneğin BAL hiyaluronik asit düzeyi persistan astımlılarda daha yüksek saptanmıştır (50, 51). Öksürük variant astımlıların (ÖVA) BAL bulguları klasik astıma benzer olup, doku eozinofili ve serum ECP düzeyi artmış olarak bulunmuştur (52). Hafif astımlı hastaların BAL sıvılarında ve hastalığın hafif formlarında bile hava yollarında inflamasyonun devam ettiği ileri sürülmüş bu hastalarda havayolu epiteli dökülmüş, intraepitelyal ve submukozal hücreler artmış, submukozada artan hücre sayısının bazal membran kalınlaşması ile korele olduğu görülmüştür. Atopik astımda bronş mukozası inflamasyonu eozinofil, mast hücre ve lenfosit artışı ile birlikte T lenfosit aktivasyonu ve özellikle IL-4 ve IL-5, IFN-gamma sitokin salınımı mevcuttur (51). Astımlı hastaların BAL sıvılarında eozinofil ve mast hücre sayısı artışının bronş aşırı duyarlılığı ile ilişkili olduğunu astımda oluşan patofizyolojik değişikliklerin havayolu aşırı duyarlılığının de-recisini etkilediği düşünülmektedir.

Astımlılarda Allerjen İle Provokasyon Sonrası BAL Bulguları

Atopik astımlılarda allerjenle karşılaşmayı izleyen dönemde bronkoalveolar lavaj hücre profili, pro-

tein içeriği ve hücrelerden mediatör salınımında farklılaşmalar gözlenmiştir (53-61). Allerjenle temastan sonra atopik astımlı veya sadece atopik kişilerde akciğerde mast hücre aktivasyonu oluşurken, BAL triptaz seviyesi yükselmektedir. Elektron mikroskopi ile yapılan incelemede allerjen uyarımından sonra BAL ile akciğerden elde edilen hücrelerden eozinofil ve mast hücrelerinin degranüle olduğu görülmüştür (57,58). Spesifik bir allerjene maruz kalım sonrası bronş mukozal permeabilitesinin artışı, ödemle birlikte proteinin büyük miktarlarda bronş mukozasına göçüne neden olmaktadır.(47,59). Endobronşiyal maruz kalımı izleyen dönemde BAL'da önce düşük molekül ağırlıklı proteinlerin daha sonra seçicilik göstermeden diğer proteinlerin de arttığı gösterilmiştir (54,62). Astımlı hastalarda allerjenle yapılan bronkoprovakasyonu izleyen ilk 4 saat içinde BAL nötrofil, eozinofil ve lenfosit oranlarının arttığı, dual reaksiyon veren astımlılarda 24 saat sonra bile eozinofillerin hala yükselmeye devam ettiği gösterilmiştir (54-58). Erken ve geç astmatik reaksiyon gösterdiği bilinen astımlılarda allerjenle yapılan bronkoprovakasyondan 6-7 saat sonra BAL sıvısında eozinofillerin oranı, 48 saat sonra nötrofil, eozinofil ve T helper hücrelerin oranlarının artmakta, 96 saat sonra nötrofil sayısı normale dönerken eozinofil ve T helper hücre oranındaki yükselmenin devam etmektedir (49). Geç astmatik reaksiyon göstermediği ve sadece erken astmatik reaksiyon verdiği bilinen olgularda ise allerjen inhalasyonundan sonra T-supresör hücre sayısı artmaktadır (60). BAL'dan elde edilen alveolar makrofajlarda da astmatik reaksiyonlar sırasında farklılıklar gözlenmiştir. Alveolar makrofajların sayısı allerjene maruziyetten hemen sonra artmış ve 48 saat sonra bu artış daha da belirginleşmiştir (58). Normal kişilere göre astımlı hastaların uyarılmış alveolar makrofajları tromboksan B2 (TxB2), lökotrien B4 (LTB4) ve 5-Hidroksieikosatetraenoik asit (5-HETE)'yi daha yüksek oranlarda salgılamaktadır (61). Atopik astımlılarda antijen provokasyondan sonra BAL histamin artışı görülmekte ve bu artış non-atopik astımlılara göre daha belirgin izlenmektedir. Ay-

rica atopik astımlılarda BAL'da histamin ile birlikte LTC4 de artmaktadır (63). Allerjenle karşılaşmadan sonra BAL eozinofil, ECP, allerjene spesifik IgE, inflamatuvar sitokinlerden IL-12, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), IL-10 mRNA ve makrofaj inflamatuvar protein -1, IL-5 artmaktadır (64-70). Allerjik astımda allerjenle karşılaşmadan sonra BAL eozinofil hücre oranında, ECP düzeyinde ve IL-5 düzeyinde birbirine paralel artış gözlenmektedir (71-74). İnhaler steroid (budezonit) tedavisi, allerjen ile karşılaşmanın neden olduğu eozinofil artışını baskılayabilmekte ve BAL hücrelerinden IL-5 ve IFN-gamma salınımını azalmaktadır (75) .

Allerjik astımlı hastalarda allerjenle karşılaşmayı izleyen dönemde T-hücresinin oynadığı rolü daha ayrıntılı inceleyen araştırmalarda , BAL'da allerjene spesifik T lenfositlerin arttığı görülmüştür. Ev tozu akarı D. Pteronyssinus'a duyarlı astımlılarda allerjenle karşılaşmadan sonra bronş lumeninde spesifik T lenfositlerin varlığı, yabancı ot (ragweed) allerjeni ile karşılaşmadan sonra BAL CD4+ ve CD8+ T hücre sayısında artma saptanmıştır (76,77). Allerjik astımlılarda allerjenle karşılaşmadan sonra T hücrelerden özellikle CD8+ T hücre alt grubunun arttığı, polen mevsiminde T hücre aktivasyonundaki artışa bağlı olarak BAL hücrelerinde IL-2 reseptör ekspresyonunun arttığı, allerjenle karşılaştığında degranülasyon olan metakromatik hücrelerin sayısının BAL'da azaldığı gösterilmiştir (78-80). Atopik astımlılarda allerjenle karşılaşmadan sonra BAL'da en erken bulunan lenfokemotaktik faktör IL-16 dır. IL-16, CD4+ T hücre ve eozinofil aktivasyonunda rol oynamakta, BAL düzeyi allerjenle karşılaşmadan sonra erken yükselirken , 6 saat sonra bile yüksek kalmaktadır (81, 82).

Geç astmatik yanıtta BAL'da eozinofil göçü ve degranülasyonu, allerjene spesifik IgA ve IgE antikor seviyesi ile ECP arası ilişki olduğu , astımda spontan veya uyarı ile histamin salan metakromatik hücrenin fonksiyonlarında allerjenle karşılaşmadan 4 saat sonra farklılık olduğu görülmüştür (83-85). Allerjik astımlılarda havayollarında lokal

olarak uygulanan (segmenter provakasyon) allerjenle karşılaşmadan 18 saat sonra BAL IL-13 düzeyi, eozinofil sayısı kuvvetli korelasyon göstermiş, IL-13'ün geç astmatik yanıtta, IL-4 ile birlikte eozinofille ilgili inflamasyonun patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmüştür (86). Allerjenle segmenter provakasyon sırasında verilen antijen dozuna bağlı BAL histamin düzeyi artmaktadır (87). T hücre fonksiyonları hava yolu inflamasyonunun başlangıç ve süregenliğinde önemli rol oynamaktadır .Geç reaksiyon veren allerjik astımlılarda BAL bulgularının araştırıldığı çalışmalarda, geç reaksiyon döneminde CD8+T hücrelerin eozinofil artışını IFN- gamma salgılayarak inhibe ettiği gösterilmiştir (88). Duyarlı astımlılarda allerjenle karşılaştıktan 6 saat sonra T hücre yanıtı değerlendirildiğinde, beta 2 integrin lymphocyte functional antigen-1 (LFA-1) ekspresyon eden T hücrede ve ICAM-1 düşme gözlenmektedir (89). IL-10 veya sitokin sentez inhibitör faktörün astımlıların BAL sıvısında düzeyi düşük bulunmuştur. Ancak geç astmatik yanıtta BAL'da IL-10 artmaktadır. Sonradan ortaya çıkan bu artış, IL-10'un geç astmatik yanıtın düzeltilmesine katkıda bulunduğunu düşündürmüştür (90). Astımlılarda allerjenle karşılaşmadan 18 saat sonra CD14 ekspresyonu (91) ve eozinofillerin bir aktivasyon markırı olarak kabul edilen CD69 ekspresyonu artmakta ve GM-CSF konsantrasyonu yükselmektedir (92).

Antijenin neden olduğu havayolu inflamasyonunda lokal fibronektin yapımı artmaktadır. Segmenter provakasyondan 48 saat sonra BAL fibronektin düzeyinde 5 kat yükselme görülmüştür (93) . Hava yolu yeniden yapılanmasında (remodelling) rol oynayan moleküllerden biri olan basic fibroblast growth factor (bFGF)'ün BAL düzeyi atopik astımlılarda sağlıklı kontrollerden daha yüksektir. Segmental allerjen provakasyonundan sonra atopik astımlılarda provakasyon yapılan segmentteki bFGF düzeyi 5 kat artmış bulunmuştur (94). Atopik astımlılarda BAL eotaksin seviyesi, normal nonatopik kontrollere göre allerjen provakasyonu öncesi bile yüksektir, ancak allerjenle karşılaşmadan sonra bu düzey daha da artmakta ve BAL eozinofil sayısında

artış ile eotaksin yüksek seviyesi ilişki göstermektedir (95). Hafif astımlılarda tekrarlayan allerjenle karşılaşmalardan sonra BAL mast hücre sayısı artarken, mast hücrelerinin büyümesini ve survisini sağlayan nerve growth factor (NGF)'ün seviyesi yükselmektedir (96). Astımın nadir görülen bir formu olan aspirin duyarlı astımlılarda lizin aspirin inhalasyonu akciğerde lökotrien üretimini, IL-5 anlamlı artırırken, bu durum aspirin duyarlılığı olmayan (aspirin toleran) astımlılarda gözlenmemektedir. Aspirin duyarlı veya toleran astımlılarda aspirin provakasyonundan sonra PGE2 and thromboxane B2 (TXB2) düşmekte, ancak PGD2, PGF2-alpha'nın toleran astımlılarda düştüğü görülmektedir (97).

Allerjenle yapılan lokal endobronşiyal provakasyon sonrası yapılan BAL astımda allerjik inflamasyonun rolünü araştırmak amacı ile yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak bu işlemde sonra SFT ve HAD 'da 72 saat sonra bile devam eden değişiklikler olurken, olguların yaklaşık 1/3'ünde yaygın hisli solunum duyulmaktadır. Endobronşiyal allerjen provokasyonundan sonra yapılan BAL hava yolları fizyolojisini etkilese bile hafif ve orta astımlılarda genellikle iyi tolere edilebilen bir araştırma yöntemidir (98).

Astımda BAL'da Bulunan Ekstrasellüler Moleküller

BAL ile bronş ve alveol epitelinin üzerini döşeyen epitel üstü sıvının içerdiği ekstra sellüler molekülleri örneklemek ve tanımlayabilmek bütün akciğer hastalıklarının patogeneze yeni bakış açıları getirmiştir. Astımlılarda uyarıcı veya allerjenle karşılaşmayı izleyen süreçte bu sıvının içeriğinde olan değişiklikler bir çok araştırmaya konu olmuştur (31,49,99-102). Örneğin lokal olarak verilen allerjenle karşılaşmayı izleyen dönemde mast hücrelerden histamin ve prostaglandin D2 salındığı gösterilmiştir (99). Allerjenle yapılan provakasyondan 9 dakika sonra BAL sıvısı PGD2 ve 15- HETE konsantrasyonlarında artış gözlenirken , 5HETE, LTB4, LTC4, LTD4 ,LTE4 konsantrasyonlarında normallere göre değişiklik

görülmemiştir (99). Kemokinler ve sitokinler inflamatuvar hücre kemotaksisini indüklerler. BAL sıvısında kemokin seviyesinin araştırıldığı çalışmalarda astımlıların BAL sıvısında messenger ribonucleic acids (mRNAs), monocyte chemoattractant protein (MCP), MCP-1, MCP-3, RANTES, MIP-1 alfa ve IL-8'in arttığı saptanmıştır (100). Kemokinler; kemotaktik sitokinler astımda allerjik inflamasyonda rol alan lökositleri etkilemektedirler. Monocyte chemoattractant protein (MCP)-4; monosit, eozinofil, T lenfosit ve bazofil üzerinde etkili olmaktadır. Atopik astımlılarda BAL MCP-4 protein düzeyi yüksek bulunmuş ve bu kemokinin eozinofil fonksiyonlarını etkilediği düşünülmüştür (101). Kronik inflamasyon ve angiogenezde rol alan ve çok fonksiyonlu bir sitokin olan Vascular permeability/vascular endothelial growth factor (VEGF) düzeyinin astımın ağırlığı ile ters ilişkili olarak BAL'da yükseldiği görülmüştür (102). Allerjen ile karşılaşma öncesi ve sonrası astımda sitokin ekspresyonu incelendiğinde astımlıların T hücreleri IL-13, IFN-gamma salgıladığı allerjenle karşılaşmadan sonra T- helper 2 hücre sitokin profilinin ortaya çıktığı görülmüştür (103). Allerjenle yapılan provakasyonu takiben BAL sıvısı ECP içeriğinde (49) yükselirken dual yanıt veren olgularda ECP seviyesi en yüksek bulunmuştur. Atopik olguların AM'ları spontan olarak veya uyarıcılarla karşılaşınca artan miktarlarda PAF salgılayabildiği, IgE ile yapılan uyarılmadan sonra BAL alveolar makrofajlarının IL-1 salgıladığı, IgE'den bağımsız bir uyarıda ise AM'den IL-1 inhibitör faktör salgılandığı gözlenmiştir (104). Semptomlu veya semptomsuz astımlı olgularda BAL sıvısı histamin, major basic protein (MBP) konsantrasyonlarında artış ve eozinofil içeriğinde yükselme görülmüş (35), eozinofildeki artış ile MBP konsantrasyonu arasında korelasyon gözlenmiştir. Hiperosmalar bir uyarıcıya lokal maruz kalmayı takiben mediatörler salınmakta ve BAL histamin, PGD2, PGF 2 alfa düzeyinin artmaktadır (24). Persistan astımda hava yolu inflamasyonu ve doku hasarında Matrix metalloproteinases (MMPs) ve doku inhibitor metalloproteinase-1

(TIMP-1) rol oynamakta, extracellular matrix (ECM) protein depolanması olmaktadır. Allerjen karşılaşmadan sonra yapılan BAL'da MMP-9 ve TIMP-1 arttığı ve BAL nötrofil sayısı değişikliği ile bu artışın korale olduğu görülmüştür (105). Persistan semptomlu astımlılarda BAL reaktif oksijen radikallerinin (RAD) seviyesi düşmüş ve RAD'ın astımın inflamasyon ve ağırlık markırı olabileceği ileri sürülmüştür (106).

Astımın Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve BAL

Bronkoalveolar lavaj astımın immunopatogenezinin aydınlatılmasında güvenilir bir araştırma yöntemi olarak kullanılmasının yanısıra, astım ilaçlarının hastalığın immunopatogenezinde yaptığı değişikliklerin izlenmesinde önemli rol oynamıştır (107,108). Astımlılarda havayolu inflamasyonuna ve yeniden yapılanmaya (remodelling) uygulanan tedavinin etkisini araştırılan çalışmalarda da BAL bir araştırma yöntemi olarak kullanılmıştır.

Sistemik ve inhaler steroidlerin astımlı hastalarda etkinliğini değerlendiren çalışmalar olduğu gibi steroid tedavisine rağmen semptomları düzelmeyen hastalarda steroid rezistansının mekanizmasını incelenmesinde de BAL bulgularından yararlanılmıştır. Astımlı hastaların bir bölümünde düzenli yüksek doz inhaler veya oral steroid tedavisine rağmen persistan semptomları olabilmektedir. Bu hastalarda BAL CD25 ve HLA-DR ekspresyonu persistan semptomu olmayan astımlılardan daha yüksek bulunmuş, yüksek doz inhaler veya oral steroid tedavisine rağmen persistan semptomlu astımlılarda havayollarında sürekli T-lenfosit aktivasyonu olduğu düşünülmüştür (109). Astımda havayolu inflamasyonu, fizyolojisi ve yeniden yapılanmasına inhaler kortikosteroidlerin (I.C.S) etkisi gösterilmesi ile ICS nin tedaviye erken eklenmesi ve uzun süreli kullanımı önerilmiştir (110). İnhalasyon steroidleri ile tedaviden sonra BAL sıvısı bulguları biyopsi eozinofil ve PC20 metakolin dozundaki değişiklikler ilişkilidir (111). Astımda inhalasyon steroidleri ile yapılan tedavi sonrası hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynayan plazma protein eksudasyonu

BAL'da azalırken eozinofil sayısı düşmüştür (112). Oral kortikosteroidlerin astımın tedavisindeki yerini araştıran bir çalışmada tedavi sonrası, öncesine göre BAL albumin konsantrasyonunda, epitel hücre sayısında, T hücre aktivasyonunda anlamlı değişiklik gözlenmezken, submukozal eozinofil ve mast hücre sayısında azalma izlenmiştir (113). Sistemik steroidlerden deksametazon BAL hücrelerinden mRNA ekspresyonu ile IL-4 ve IL-5 inhibe etmektedir (114). Metilprednizolonun mononükleer hücrelerden LTB4 sentezini azalttığı bilinmekle birlikte BAL LTB4 seviyesine veya sentezine etkisiz olduğu saptanmıştır (115). Glikokortikosteroidlere duyarsız astımlılarda BAL'da GCR beta-immunoreaktif hücre artmış, GCR-beta ekspresyonu, glikokortikosteroid duyarsız astımlıların BAL ile elde edilen havayolları T hücresinde artığı görülmüştür (116). Astımda olduğu gibi öksürük variant astımda (ÖVA), BAL ve doku eozinofil ve serum ECP düzeyleri anlamlı artmış, bu nedenle ÖVA'da da antiinflamatuvar tedavi gerekliliği vurgulanmıştır (117).

Beta agonistlerin astımın immunopatogenezinde yaptığı değişikliklerde BAL ile incelenmiştir. Uzun etkili beta-2 agonist salmeterolün hastaların semptomları, BAL sıvısı hücre sayısı, hücre dağılımı, ECP, Charcot-Leyden kristal proteini, LTB4 ve tromboksana etkisi incelendiği bir çalışmada, salmeterol tedavisinin havayolları inflamasyon markırlarını etkilememekle birlikte, nokturnal semptomları olan astımlılarda semptomlarda düzelmeye sağladığı görülmüştür (118). Salmeterol tedavisi ile BAL hücre dağılımı, mediatör düzeyi, T-hücre sayısı ve aktivasyonunda BAL ve bronş biyopsisinde mast hücre, lenfosit, makrofaj sayısında değişiklik saptanmamıştır (119,120). Düzenli formoterol tedavisinin BAL mast hücre sayısına ve eozinofil mediatörlerine etkisinin budesonid ve plasebodan farklı olmadığı, tedavi ile submukozal mast ve eozinofil hücrelerinin azaldığı aktive T hücrelerin etkilenmediği saptanmıştır (121).

Teofilinlerin astım immunopatogenezinde etkinliği BAL çalışmaları ile değerlendirilmiştir. Düşük doz teofilinlerin antiinflamatuvar ve immunomodulatör etkileri tartışılmaktadır. Hafif astımlı-

larda teofilinlerin anti-inflamatuvar sitokin IL10'un yapımını artırıp AM'den proinflamatuvar sitokin yapımını inhibe edip etmediğini araştıran bir çalışmada teofilinlerin antiinflamatuvar etkisi olduğu fakat bunun IL10 artırarak veya GM-CSF veya TNF-alfa yapımını inhibe ederek olmadığı, ancak ilacı alan hastalarda BAL eozinofil sayısının düştüğü gözlenmiştir (122). Düşük doz teofilinlerin astımda antiinflamatuvar etkisi havayollarındaki eozinofil sayısında düşme ile gösterilmiş, düşük doz teofilinler ekspire edilen havadaki nitrik oksiti (NO), solunum fonksiyon parametrelerini ve bronş aşırı duyarlılığını etkilemediği gösterilmiştir (123). Teofilinler allerjenin neden olduğu geç astmatik yanıtı baskılayarak antiinflamatuvar ve immunmodulatör etki göstermektedirler. Teofilin tedavisini takiben BAL lenfosit sayısında anlamlı azalma görülmektedir .BAL CD3+ T- lenfositler (CD4+ ve CD8+)'de azalma vardır ve BAL CD4+ T- hücreden; HLA-DR ve very late activation antigen-1 (VLA-1) ve human leucocyte antigen-DR (HLA-DR) ekspresyonu azalmaktadır (124).

Diğer astım ilaçlarından, lökotrien reseptör antagonistlerinden (LTRA) örneğin zafirlukastın segmental allerjen provakasyonundan sonra oluşan geç astmatik reaksiyondaki inflamatuvar yanıtı bazofil hücre birikimini, mediatör salınımını ve hücrelerin aktivasyonunu baskılayarak engellediği gösterilmiştir (125). Allerjenin neden olduğu geç astmatik reaksiyonda eozinofil ve bazofilinlerin artışı ile birlikte eozinofilleri aktifleyen sitokin ve kemokinlerin rol oynadığı bilinmektedir. Siklosporin A (SsA)'nın geç astmatik reaksiyonu inhibe etme mekanizmasının allerjenin neden olduğu BAL mRNA+ hücrelerde IL-5, GM-CSF inhibe etmesine bağlı olduğu, SsA'nın eozinofilleri aktifleyen sitokin ve kemokinleri inhibe ettiği, eozinofil birikimini engellediği bulunmuştur (126) .

İndüklenmiş Balgam ve BAL

İndüklenmiş balgam (İB) hava yollarından örnek almayı sağlayan hava yolu obstruksiyonunun ağırlığı farklı olan bir çok hastaya uygulanabilen bir non-invaziv yöntemdir. Astımda antiinflama-

tuvar ilaçların etkinliğinin değerlendirilmesinde İB, BAL'a alternatif noninvaziv bir yöntem olarak kullanılmıştır (127). İndüklenmiş balgam ile BAL ve bronş lavajının içeriğinin karşılaştırıldığı çalışmalarda İB'nin BAL ve bronş lavajına (BL) göre daha yüksek oranda nötrofil ve eozinofil, daha düşük oranda lenfosit ve makrofaj içerdiği ve İB'nin büyük hava yollarından örneklemeyi sağladığı ileri sürüldüğü gibi (128), İB ile elde edilen eozinofil oranının BAL ve BL daha düşük oranda, ancak bronş biyopsisi ile korele olduğunu, bu nedenle İB'nin astımda inflamasyonun varlığının ve ağırlığının değerlendirilmesinde kullanılabilir olduğunu gösteren bir çalışma da vardır (129).

Çocuklarda Bronkoalveolar Lavaj Uygulamaları

Fiberoptik bronkoskopi ve BAL çocuklarda da tanı ve tedavi amacı ile başarı ile kullanılmaktadır. Pediatrik hastalıklardan özellikle kronik öksürük, hışıltılı solunum, kistik fibrozis veya astım BAL indikasyonu konulabilen klinik tablolardır (130). Asemptomatik oldukları dönemde bile astımlı atopik çocuklarda eozinofil ve mast hücre sayısında artış olduğu, ancak bu durumun viral infeksiyonu nedeni ile hışıltılı solunumu olan veya sadece atopik hastalarda gözlenmediği saptanmıştır (131). Astımlı çocuklarda, kontrol grubu olgulara göre BAL'da total hücre sayıları, eozinofil, nötrofil, ECP ve MPO yüksektir . Hafif ve orta persistan astımlılarda intermitan astımlılara göre MPO seviyeleri ve nötrofil sayıları ve ECP değerleri daha yüksektir (132,133). Astımlı çocuklar hışıltılı solunumlu çocuklarla karşılaştırıldığında lenfosit subgrup analizinde CD8 hücre oranı daha yüksek, CD4/CD8 oranı düşük bulunmuş, BAL bulgularının benzer olmadığı saptanmıştır (134). Ekspire edilen havadaki nitrik oksit astımlılarda havayolu inflamasyonunun bir markıdır. Çocuklarda yapılan bir çalışmada BAL sıvısındaki eozinofil ile ekspire edilen havadaki nitrik oksit düzeyi arasında korelasyon saptanmıştır (135). BAL ECP konsantrasyonunun astımlı çocuklarda normal sağlıklı çocuklardan ve astımlı atopiklerde

astımlı olmayan atopiklerden daha yüksek olduğu, hisiltılı solunumu olan çocuklarda BAL histamin konsantrasyonu yükseldiği gösterilmiştir (136). Persistent hisiltılı olan çocukların havayollarında inflamasyonun devam ettiği BAL bulguları ile saptanmıştır (137). Hisiltılı solunumlu çocuklarda BAL ve serum eozinofil ve ECP düzeyleri arasında korelasyon vardır ve hisiltılı solunumlu çocuklarda serum ECP ve kan eozinofil sayısının hava yollarındaki eozinofilik inflamasyonu varlığını yansıttığı düşünülmektedir (138).

Sonuç

Hava yollarındaki inflamasyon astımın en önemli patolojik bulgularından biridir. Bronkoalveolar lavaj astımda havayollarında ki inflamasyonun patogenezinin anlaşılmasında önemli rol oynamıştır. Astımlılarda BAL'da en sıklıkla saptanan bulgular; hafif astımlılarda bile izlenebilen havayollarındaki eozinofil sayısında artıştır. Astımlılarda BAL sitokin profili değerlendirildiğinde T helper 2 hücre fenotipinin kemokinlerinin; IL-4 ve IL-5'in arttığı görülür. Son 20 yılda astımlı hastalarda BAL ile yapılan araştırma ve uygulamalar değerlendirildiğinde yöntemin hastalığın tanı, derecelendirme ve izlenmesinde yeri olmadığını ancak hastalığın immunopatogenezinin değerlendirilmesinde araştırmacılara için akciğere açılan bir pencere olduğu görülmektedir. BAL işleminin hafif stabil astımlı hastalarda emniyetle yapılabildiği bronkoprovakasyondan önce ve sonra yapılan BAL'ın ek bir risk taşımadığı görülmüştür. Bu nedenle önümüzdeki yıllarda da astımın patogenezinin moleküler düzeyde araştırılması için uygun bir yöntem olan BAL'dan edinebileceğimiz bir çok bilgi olacaktır.

Kaynaklar

1. Reynolds HY. Use of bronchoalveolar lavage in humans—past necessity and future imperative. *Lung* 2000;178(5):271-93.
2. Fabbri LM, De Rose V, Godard P, Boschetto P, Rossi GA. Guidelines and recommendation for the clinical use of bronchoalveolar lavage in asthma. *Eur Respir Rev* 1992;2:114-20.
3. Kunt Uzaslan AE, Özyardımcı N, Gözü R.O, Ege E, Gürdal Yüksel E, Karadağ M, Yarkin T. Bronkoalveolar lavaj yönteminin akciğer hastalıklarının tanısında yeri *Tüberküloz ve Toraks* 1995; 43 (3): 165-71.
4. Workshop Summary and Guidelines—Investigative use of bronchoscopy, lavage and bronchial biopsies in asthma and other airways diseases. *Am Rev Resp Dis, J Allergy Clin Immunol, Chest, and Eur Resp J*.
5. Godard P, Chaintreuil J, Damon M, et.al. Functional assesment of alveolar macrophages; comparison of cells from asthmatics and normal subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70 :88-93.
6. Tonnel AB, Gosset P, Joseph M, Fourier G, Capron A, Stimulation of alveolar macrophages in asthmatic patients after local bronchoprovocation. *Lancet* 1983; i:1406-9.
7. Tomioka M, Ida S, Shindoh Y, Ishihara T, Takishima T. Mast cells in bronchoalveolar lumen of patients with bronchial asthma. *Am Rev Respir Dis* 1984 ;129:1000-5.
8. Flint KC, Leung KBP, H udspith BN, Brostoff J, Johnson NM. Bronchoalveolar mast cells in intrinsic asthma. *Clin Sci* 1986 ;70 (suppl) 46.
9. Kirby GJ, Hargreave FE, Gleich GJ, O'Byrne PM. Bronchoalveolar cell profiles of asthmatics and nonasthmatics subjects. *Am Rev Respir Dis* 1987 ; 136 : 379-83.
10. Djukanovic R, Wilson JW, Lai CK, Holgate ST, Howarth PH. The safety aspects of fiberoptic bronchoscopy, bronchoalveolar lavage, and endobronchial biopsy in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991;143(4 Pt 1):772-7.
11. Zehr BB, Casale TB, Wood D, Floerchinger C, Richerson HB, Hunninghake GW. Use of segmental airway lavage to obtain relevant mediators from the lungs of asthmatic and control subjects. *Chest* 1989; 95(5):1059-63.
12. Jarjour NN, Calhoun WJ. Bronchoalveolar lavage in stable asthmatics does not cause pulmonary inflammation. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142(1):100-3.
13. Gianiorio P, Bonavia M, Crimi E, Lantero S, Crimi P, Rossi GA, Brusasco V. Bronchial responsiveness is not increased by bronchoalveolar and bronchial lavage performed after allergen challenge. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143(1):105-8.
14. Kirby JG, O'Byrne PM, Hargreave FE. Bronchoalveolar lavage does not alter airway responsiveness in asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135(3):554-6.
15. Rankin JA, Snyder PE, Schachter EN, Matthay

- RA. Bronchoalveolar lavage. Its safety in subjects with mild asthma. *Chest* 1984; 85(6):723-8.
16. Bernstein EL, Boushey HA, Cherniac RM, et. el. Summary and recommendations of a workshop on the investigative use of fiberoptic bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in asthmatics. *Am Rev Resp Dis* 1985; 132: 180-2.
 17. National Institutes of Health workshop summary *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76(2 Pt 1): 145-7.
 18. Klech H, Pohl W, Hutter C. Safety and side-effects of bronchoalveolar lavage. *Eur Respir Rev* 1992, 2:8 54-7.
 19. Kunt Uzaslan E, Özyardımcı N, Gürdal Yüksel E, Karadağ M, Gözü RO, Ege E. Sklerodermalı olgularda bronkoalveolar lavajın solunum fonksiyon testlerine etkisi. *Bursa Devlet Hast Bült* 1998; 14 (2): 143-6.
 20. Klech H, Pohl W. Technical recommendation and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL) European Working Party Report. *Eur Respir J* 1989; 95: 1059-63.
 21. Kelly C, Hendrick D, Walters H. The effect of bronchoalveolar lavage on bronchial responsiveness in patients with airflow obstruction. *Chest* 1988; 93(2):325-8.
 22. Kelly C, Ward C, Stenton CS, Bird G, Hendrick DJ, Walters EH. Number and activity of inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid in asthma and their relation to airway responsiveness. *Thorax* 1988; 43: 684-92.
 23. Kelly C, Stenton CS, Ward C, Bird G, Hendrick DJ, Walters EH. Lymphocyte subsets in bronchoalveolar lavage fluid obtained from stable asthmatics and their correlation with bronchial responsiveness. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 169-75.
 24. Wadlaw AJ, Dunette S, Gleich GJ, Collins JV, Kay AB. Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in mild asthma: relationship to bronchial hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1988;137: 62-8.
 25. Rankin JA. The contribution of alveolar macrophages to hyperreactive airway diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 1989;83:722-9.
 26. Ward C, Kelly CA, Stenton SC, Duddridge M, Hendrick DJ, Walters EH. The relative contribution of bronchoalveolar macrophages and neutrophils to lucigenin and luminol-amplified chemiluminescence. *Eur Respir J* 1990; 3:1008-14.
 27. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, et. al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Eng Med J* 1990;323:1033-9.
 28. Foresi A, Bertorelli G, Pesci A, Chetta A, Olivieri D. Inflammatory markers in bronchoalveolar lavage and in bronchial biopsy in asthma during remission. *Chest* 1990; 98(3):528-35.
 29. Crimi E, Scordamaglia A, Crimi P, Zupo S, Barrocci S. Total and specific IgE in serum, bronchial lavage and bronchoalveolar lavage of asthmatic patients. *Allergy* 1983; 38(8): 553-9.
 30. Casale TB, Wood D, Richerson HB, Trapp S, Metzger WJ, Zavala D, Hunninghake GW. Elevated bronchoalveolar lavage fluid histamine levels in allergic asthmatics are associated with methacholine bronchial hyperresponsiveness. *J Clin Invest* 1987; 79(4):1197-203.
 31. Rankin JA, Kaliner M, Reynolds HY. Histamine levels in bronchoalveolar lavage from patients with asthma, sarcoidosis, and idiopathic pulmonary fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79(2): 371-7.
 32. Lam S, Chan H, Le Riche JC, Chan-Yeung M, Salaru H. Release of leukotrienes in patients with bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81:711-7.
 33. Wadlaw AJ, Hay H, Cromwell O, Collins JV, Kay AB. Leukotrienes LTC4 and B4 in bronchoalveolar lavage in bronchial asthma and other respiratory diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:19-26.
 34. Liu MC, Bleecker ER, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Niv Y, McLemore TL, Permutt S, Proud D, Hubbard WC. Evidence for elevated levels of histamine, prostaglandin D2, and other bronchoconstricting prostaglandins in the airways of subjects with mild asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;142(1): 126-32.
 35. Lee TH, Crea AE, Gant V, Spur BW, et. al. Evidence for elevated levels of histamine, prostaglandins D2 and other bronchoconstricting prostaglandins in the airway of subjects with mild asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 1453-8.
 36. Stennon SC, Court EN, Kingston WP, Goadby P, Kelly CA, Duddridge M, Ward C, Hendrick DJ, Walters EH. Platelet activating factor in bronchoalveolar lavage fluid from asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1990; 3: 408-13.
 37. Plusa T, Chcialowski A, Piechota W, Pirozynski M. Activity of angiotensin I converting enzyme in sarcoidosis, atopic bronchial asthma and acute bronchitis. *Allergol Immunopathol* 1990; 18(4):217-21.
 38. Tanizaki Y, Sudo M, Kitani H, Araki H, Oki K, Tsuji M, Takahashi K, Kimura I. Eosinophilic leukocytes and arylsulfatase activity in bronchoalveolar lavage fluid of patients with bronchial asthma. *Acta Med Okayama* 1988 Aug;42(4): 227-30.

39. Christiansen SC, Proud D, Cochrane CG. Detection of tissue kallikrein in the bronchoalveolar lavage fluid of asthmatic subjects. *J Clin Invest* 1987; 79(1):188-97.
40. Pearce FL, Flint KC, Leung KB, Hudspith BN, Seager K, Hammond MD, Brostoff J, Geraint-James D, Johnson NM. Some studies on human pulmonary mast cells obtained by bronchoalveolar lavage and by enzymic dissociation of whole lung tissue. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987;82(3-4):507-12.
41. Leung KB, Flint KC, Brostoff J, Hudspith BN, Johnson NM, Pearce FL. Some properties of mast cells obtained by human bronchoalveolar lavage. *Agents Actions* 1986; 18(1-2): 110-2.
42. Pearce FL. Some further properties of human pulmonary mast cells recovered by bronchoalveolar lavage and enzymic dispersion of lung tissue. *Agents Actions* 1987; 20 (3-4): 213-5.
43. Martin RJ, Cicuttu LC, Smith HR, Ballard RD, Szefer SJ. Airways inflammation in nocturnal asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143:351-7.
44. Casolaro V, Galeone D, Giacummo A, et al. Human basophil / mast cell releasability. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 1375-82.
45. Tonnel AB, Joseph M, Capron A. Alveolar macrophage and allergic asthma. In: *Allergy and inflammation*. A.B. Kay ed. Academic Press, New York, 1987: 139-50.
46. Michel FB, Godard P, Bousquet J. Usefulness of bronchoalveolar lavage in asthmatics. The right clinical practice. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 88(1-2):101-7.
47. Van de Graf EA, Out TA, Roos CM, Jansen HM. Respiratory membrane permeability and bronchial hyperreactivity in patients with stable asthma. Effects of therapy with inhaled steroids. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 362-8.
48. Wenzel SE. Abnormalities of cell and mediator levels in bronchoalveolar lavage fluid of patients with mild asthma. *J Allergy Clin. Immunol* 1996; 98 (5 Pt 2):17-21.
49. Louis R, Van Tulder L, Poncelet M, Corhay JL, Mendez P, Radermecker M. Correlation between bronchoalveolar lavage (BAL) fluid cell lysate histamine content and BAL fluid eosinophil count in atopic and nonatopic asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 112(3):309-12.
50. Vignola AM, Chanez P, Campbell AM, Souques F, Lebel B, Enander I, Bousquet J. Airway inflammation in mild intermittent and in persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(2):403-9.
51. Krug N, Madden J, Redington AE, Lackie P, Djukanovic R, Schauer U, Holgate ST, Frew AJ, Howarth PH. T-cell cytokine profile evaluated at the single cell level in BAL and blood in allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14(4):319-26.
52. Niimi A, Amitani R, Suzuki K, Tanaka E, Murayama T, Kuze F. Eosinophilic inflammation in cough variant asthma. *Eur Respir J* 1998; 11(5):1064-9.
53. Metzger WJ, Nugent K, Richerson HB, Moseley P, Lakin R, Zavala D, Hunninghake GW. Methods for bronchoalveolar lavage in asthmatic patients following bronchoprovocation and local antigen challenge. *Chest* 1985; 87(1 Suppl):16S-19S.
54. De Monchy GR, Kauffman HF, Venge P, et al. Bronchoalveolar eosinophilia following allergen induced delayed asthmatic reactions. *Am. Rev Respir Dis* 1985;131:373-6.
55. Diaz P, Gonzales C, Galleguillos F, Ancic P, Kay AB. Eosinophils and macrophages in bronchial mucus and bronchoalveolar lavage during allergen induced late phase asthmatic reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 77: 244-9.
56. Brusasco V, Crimi E, Gianiorio P, Lantero S, Rossi GA. Allergen-induced increase in airway responsiveness and inflammation in mild asthma. *J Appl Physiol* 1990; 69(6):2209-14.
57. Metzger WJ, Richerson HB, Worden K, Monick M, Hunninghake GW. Bronchoalveolar lavage of allergic asthmatic patients following allergen bronchoprovocation. *Chest* 1986; 89: 477-83.
58. Metzger WJ, Zavala D, Richerson HB, et al. Local allergen challenge and bronchoalveolar lavage of allergic asthmatic lung. *Am. Rev. Respir Dis* 1987 135:433-40.
59. Fick RB Jr, Metzger WJ, Richerson HB, Zavala DC, Moseley PL, Schoderbek WE, Hunninghake GW. Increased bronchovascular permeability after allergen exposure in sensitive asthmatics. *J Appl Physiol* 1987; 63(3):1147-55.
60. Gonzalez MC, Diaz P, Galleguillos FR, Ancic P, Cromwell O, Kay AB. Allergen-induced recruitment of bronchoalveolar helper (OKT4) and suppressor (OKT8) T-cells in asthma. Relative increases in OKT8 cells in single early responders compared with those in late-phase responders. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136(3):600-4.
61. Sheth K, Lemanske RF. The early and late asthmatic response to allergen (ed): Busse WW, Holgate ST. *Asthma and rhinitis*. Blackwell Science Ltd, Oxford, U.K. 1995: pp:946-60

62. Nocker RE, van der Zee JS, Weller FR, van Overveld FJ, Jansen HM, Out TA. Segmental allergen challenge induces plasma protein leakage into the airways of asthmatic subjects at 4 hours but not at 5 minutes after challenge. *J Lab Clin Med* 1999; 134(1):74-82.
63. Mitsunobu F, Mifune T, Hosaki Y, Ashida K, Yokota S, Tsugeno H, Tanizaki Y. Different roles of histamine and leukotriene C4 in the airways between patients with atopic and nonatopic asthma. *J Asthma* 1998; 35(4):367-72.
64. Thomassen MJ, Raychaudhuri B, Dweik RA, Farver C, Buhrow L, Malur A, Connors MJ, Drazba J, Hammel J, Erzurum SC, Kavuru. Nitric oxide regulation of asthmatic airway inflammation with segmental allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104(6): 1174-82.
65. Nutku E, Gounni AS, Olivenstein R, Hamid Q. Evidence for expression of eosinophil-associated IL-12 messenger RNA and immunoreactivity in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000 Aug; 106(2):288-92.
66. Wilson DR, Merrett TG, Varga EM, Smurthwaite L, Gould HJ, Kemp M, Hooper J, Till SJ, Durham SR. Increases in allergen-specific IgE in BAL after segmental allergen challenge in atopic asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 1; 165(1):22-6.
67. Oddera S, Silvestri M, Penna R, Galeazzi G, Crimi E, Rossi GA. Airway eosinophilic inflammation and bronchial hyperresponsiveness after allergen inhalation challenge in asthma. *Lung* 1998; 176(4):237-47.
68. Lee YC, Cheon KT, Rhee YK. Changes of soluble ICAM-1 levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid from patients with atopic bronchial asthma after allergen challenge. *J Asthma* 1997; 34(5):405-12.
69. Colavita AM, Hastie AT, Musani AI, Pascual RM, Reinach AJ, Lustine HT, Galati SA, Zangrilli JG, Fish JE, Peters SP. Kinetics of IL-10 production after segmental antigen challenge of atopic asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2000 ; 106(5):880-6.
70. Robinson DS, Tsicopoulos A, Meng Q, Durham S, Kay AB, Hamid Q. Increased interleukin-10 messenger RNA expression in atopic allergy and asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14(2):113-7
- 71- Teran LM, Carroll MP, Shute JK, Holgate ST. Interleukin 5 release into asthmatic airways 4 and 24 hours after endobronchial allergen challenge: its relationship with eosinophil recruitment. *Cytokine* 1999; 11(7):518-22.
72. Tang C, Rolland JM, Ward C, Quan B, Walters EH. Allergen-induced airway reactions in atopic asthmatics correlate with allergen-specific IL-5 response by BAL cells. *Respirology* 1997; 2(1):45-55.
73. Shi H, Qin S, Huang G, Chen Y, Xiao C, Xu H, Liang G, Xie Z, Qin X, Wu J, Li G, Zhang C. Infiltration of eosinophils into the asthmatic airways caused by interleukin 5. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997 ; 16(3):220-6.
74. Till SJ, Durham SR, Rajakulasingam K, Humbert M, Huston D, Dickason R, Kay AB, Corrigan CJ. Allergen-induced proliferation and interleukin-5 production by bronchoalveolar lavage and blood T cells after segmental allergen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(2):404-11.
75. Kelly EA, Busse WW, Jarjour NN. Inhaled budesonide decreases airway inflammatory response to allergen. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(3 Pt 1):883-90.
76. Till SJ, Durham SR, Rajakulasingam K, Humbert M, Huston D, Dickason R, Kay AB, Corrigan CJ. Allergen-induced proliferation and interleukin-5 production by bronchoalveolar lavage and blood T cells after segmental allergen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(2):404-11.
77. Yurovsky VV, Weersink EJ, Meltzer SS, Moore WC, Postma DS, Bleeker ER, White B. T-Cell repertoire in the blood and lungs of atopic asthmatics before and after ragweed challenge *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998 ; 18(3):370-83 .
78. Wahlstrom J, Dahlen B, Ihre E, Wigzell H, Grunewald J, Eklund A. Selective CD8+ T cells accumulate in the lungs of patients with allergic asthma after allergen bronchoprovocation. *Clin Exp Immunol* 1998; 112(1):1-9.
79. Djukanovic R, Feather I, Gratziau C, Walls A, Peroni D, Bradding P, Judd M, Howarth PH, Holgate ST. Effect of natural allergen exposure during the grass pollen season on airway inflammatory cells and asthma symptoms. *Thorax* 1996 ; 51(6):575-81.
80. Olsson N, Rak S, Nilsson G. Demonstration of mast cell chemotactic activity in bronchoalveolar lavage fluid collected from asthmatic patients before and during pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105(3):455-61.
81. Mashikian MV, Tarpay RE, Saukkonen JJ, Lim KG, Fine GD, Cruikshank WW, Center DM. Identification of IL-16 as the lymphocyte chemotactic ac-

- tivity in the bronchoalveolar lavage fluid of histamine-challenged asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101(6 Pt 1):786-92.
82. Krug N, Cruikshank WW, Tschernig T, Erpenbeck VJ, Balke K, Hohlfeld JM, Center DM, Fabel H. Interleukin 16 and T-cell chemoattractant activity in bronchoalveolar lavage 24 hours after allergen challenge in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(1):105-11.
 83. Peebles RS Jr, Liu MC, Adkinson NF Jr, Lichtenstein LM, Hamilton RG. Ragweed-specific antibodies in bronchoalveolar lavage fluids and serum before and after segmental lung challenge: IgE and IgA associated with eosinophil degranulation. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101(2 Pt 1):265-73.
 84. Heaney LG, Cross LJ, Ennis M. Histamine release from bronchoalveolar lavage cells from asthmatic subjects after allergen challenge and relationship to the late asthmatic response. *Clin Exp Allergy* 1998; 28(2):196-204.
 85. Silvestri M, Oddera S, Sacco O, Balbo A, Crimi E, Rossi GA. Bronchial and bronchoalveolar inflammation in single early and dual responders after allergen inhalation challenge. *Lung* 1997;175(4):277-85.
 86. Kroegel C, Julius P, Matthys H, Virchow JC Jr, Luttmann W. Endobronchial secretion of interleukin-13 following local allergen challenge in atopic asthma: relationship to interleukin-4 and eosinophil counts. *Eur Respir J* 1996; 9(5):899-904.
 87. Jarjour NN, Calhoun WJ, Kelly EA, Gleich GJ, Schwartz LB, Busse WW. The immediate and late allergic response to segmental bronchopulmonary provocation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 ;155(5):1515-21.
 88. Suzuki M, Maghni K, Molet S, Shimbara A, Hamid QA, Martin JG. IFN-gamma secretion by CD8T cells inhibits allergen-induced airway eosinophilia but not late airway responses. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109(5): 803-9.
 89. Gratiou C, Carroll M, Montefort S, Teran L, Howarth PH, Holgate ST. Inflammatory and T-cell profile of asthmatic airways 6 hours after local allergen provocation. *Am J Respir Crit Care Med* 1996 ;153(2):515-20.
 90. Borish L, Aarons A, Rumblyrt J, Cvietusa P, Negri J, Wenzel S. Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996 ;97(6): 1288-96.
 91. Virchow JC Jr, Julius P, Matthys H, Kroegel C, Luttmann W. CD14 expression and soluble CD14 after segmental allergen provocation in atopic asthma. *Eur Respir J* 1998; 11(2):317-23.
 92. Julius P, Luttmann W, Knoechel B, Kroegel C, Matthys H, Virchow JC Jr. CD69 surface expression on human lung eosinophils after segmental allergen provocation. *Eur Respir J* 1999; 13(6):1253-8.
 93. Meerschaert J, Kelly EA, Mosher DF, Busse WW, Jarjour NN. Segmental antigen challenge increases fibronectin in bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(2):619-25.
 94. Redington AE, Roche WR, Madden J, Frew AJ, Djukanovic R, Holgate ST, Howarth PH. Basic fibroblast growth factor in asthma: measurement in bronchoalveolar lavage fluid basally and following allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2001 ;107(2):384-7.
 95. Lilly CM, Nakamura H, Belostotsky OI, Haley KJ, Garcia-Zepeda EA, Luster AD, Israel E. Eotaxin expression after segmental allergen challenge in subjects with atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(7):1669-75.
 96. Kassel O, de Blay F, Duvernelle C, Olgart C, Israel-Biet D, Krieger P, Moreau L, Muller C, Pauli G, Frossard N. Local increase in the number of mast cells and expression of nerve growth factor in the bronchus of asthmatic patients after repeated inhalation of allergen at low-dose. *Clin Exp Allergy* 2001; 31(9):1432-40.
 97. Szczeklik A, Sladek K, Dworski R, Nizankowska E, Soja J, Sheller J, Oates J. Bronchial aspirin challenge causes specific eicosanoid response in aspirin-sensitive asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154(6 Pt 1):1608-14.
 98. Howarth PH, Holgate ST, Frew AJ, Carroll MP. Safety aspects of local endobronchial allergen challenge in asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153 (4 Pt 1): 1391-7.
 99. Murray JJ, Tonnel AB, Brash AR, et al. Release of prostaglandin D2 into human airways during acute allergen challenge. *N Eng J Med* 1986; 315: 800-4.
 100. Wenzel SE, Larsen GL, Johnston K, Voelkel NF, Wescot YJ. Elevated levels of leukotriene C4 in bronchoalveolar lavage fluid from atopic asthmatics after endobronchial allergen challenge. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 112-9.
 101. Miadonna A, Tedeschi A, Brasca C, Folco G, Sala A, Murphy RJ. Mediator release after endobronchial antigen challenge in patients with respiratory allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1990 ; 85: 906-13.
 102. Gosset Ph, Lassalle Ph, Tonnel AB, et al. Pro-

- duction of interleukin 1 inhibitory factors by human alveolar macrophages from normal and allergic asthmatic patients. *Am. Rev Respir Dis* 1988; 138: 40-6.
100. Alam R, York J, Boyars M, Stafford S, Grant JA, Lee J, Forsythe P, Sim T, Ida N. Increased MCP-1, RANTES, and MIP-1 α in bronchoalveolar lavage fluid of allergic asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153 (4 Pt 1):1398-404.
 101. Lamkhioed B, Garcia-Zepeda EA, Abi-Younes S, Nakamura H, Jedrkiewicz S, Wagner L, Renzi PM, Allakhverdi Z, Lilly C, Hamid Q, Luster AD. Monocyte chemoattractant protein (MCP)-4 expression in the airways of patients with asthma. Induction in epithelial cells and mononuclear cells by proinflammatory cytokines. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(2 Pt 1):723-32.
 102. Demoly P, Maly FE, Mautino G, Grad S, Gougat C, Sahla H, Godard P, Bousquet J. VEGF levels in asthmatic airways do not correlate with plasma extravasation. *Clin Exp Allergy* 1999; 29(10):1390-4.
 103. Bodey KJ, Semper AE, Redington AE, Madden J, Teran LM, Holgate ST, Frew AJ. Cytokine profiles of BAL T cells and T-cell clones obtained from human asthmatic airways after local allergen challenge. *Allergy* 1999; 54(10): 1083-93.
 104. Gosset Ph, Lassalle Ph, Tonnel AB, et. al. Production of interleukin 1 inhibitory factors by human alveolar macrophages from normal and allergic asthmatic patients. *Am. Rev Respir Dis* 1988: 138: 40-6.
 105. Kelly EA, Busse WW, Jarjour NN. Increased matrix metalloproteinase-9 in the airway after allergen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(3 Pt 1):1157-61.
 106. Smith LJ, Shamsuddin M, Sporn PH, Denenberg M, Anderson J. Reduced superoxide dismutase in lung cells of patients with asthma. *Free Radic Biol Med* 1997;22(7):1301-7.
 107. Djukanovic R. Bronchoscopy as a research tool for the study of asthma pathogenesis and effects of antiasthma drugs. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98(5 Pt 2):S41-5.
 108. Bertorelli G, Bocchino V, Zhuo X, Chetta A, Del Donno M, Foresi A, Testi R, Olivieri D. Heat shock protein 70 upregulation is related to HLA-DR expression in bronchial asthma. Effects of inhaled glucocorticoids. *Clin Exp Allergy* 1998; 28(5):551-60.
 109. Redington AE, Wilson JW, Walls AF, Madden J, Djukanovic R, Holgate ST, Howarth PH. Persistent airway T-lymphocyte activation in chronic corticosteroid-treated symptomatic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000;85 (6 Pt 1):501-7.
 110. Ward C, Pais M, Bish R, Reid D, Feltis B, Johns D, Walters EH. Airway inflammation, basement membrane thickening and bronchial hyperresponsiveness in asthma. *Thorax* 2002; 57(4):309-16.
 111. Lim S, Jatakanon A, John M, Gilbey T, O'connor BJ, Chung KF, Barnes PJ. Effect of inhaled budesonide on lung function and airway inflammation. Assessment by various inflammatory markers in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159(1):22-30.
 112. Nocker RE, Weller FR, Out TA, de Riemer MJ, Jansen HM, van der Zee JS. A double-blind study on the effect of inhaled corticosteroids on plasma protein exudation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159 (5 Pt 1): 1499-505.
 113. Djukanovic R, Homeyard S, Gratziou C, Madden J, Walls A, Montefort S, Peroni D, Polosa R, Holgate S, Howarth P. The effect of treatment with oral corticosteroids on asthma symptoms and airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155(3):826-32.
 114. Krouwels FH, van der Heijden JF, Lutter R, van Neerven RJ, Jansen HM, Out TA. Glucocorticosteroids affect functions of airway- and blood-derived human T-cell clones, favoring the Th1 profile through two mechanisms. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;14(4): 388-97.
 115. Hood PP, Cotter TP, Costello JF, Sampson AP. Effect of intravenous corticosteroid on ex vivo leukotriene generation by blood leukocytes of normal and asthmatic patients. *Thorax* 1999; 54(12):1075-82.
 116. Hamid QA, Wenzel SE, Hauk PJ, Tsicopoulos A, Wallaert B, Lafitte JJ, Chrousos GP, Szeffler SJ, Leung DY. Increased glucocorticoid receptor beta in airway cells of glucocorticoid-insensitive asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 May;159(5 Pt 1):1600-4.
 117. Kraft M, Hamid Q, Chrousos GP, Martin RJ, Leung DY. Decreased steroid responsiveness at night in nocturnal asthma. Is the macrophage responsible? *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(5):1219-25.
 118. Kraft M, Wenzel SE, Bettinger CM, Martin RJ. The effect of salmeterol on nocturnal symptoms, airway function, and inflammation in asthma. *Chest* 1997; 111(5): 1249-54.
 119. Roberts JA, Bradding P, Britten KM, Walls AF, Wilson S, Gratziou C, Holgate ST, Howarth

- PH. The long-acting beta2-agonist salmeterol xinafoate: effects on airway inflammation in asthma. *Eur Respir J* 1999;14(2):275-9.
120. Li X, Ward C, Thien F, Bish R, Bamford T, Bao X, Bailey M, Wilson JW, Haydn Walters E. An anti-inflammatory effect of salmeterol, a long-acting beta(2) agonist, assessed in airway biopsies and bronchoalveolar lavage in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160 (5 Pt 1): 1493-9.
 121. Wallin A, Sandstrom T, Soderberg M, Howarth P, Lundback B, Della-Cioppa G, Wilson S, Judd M, Djukanovic R, Holgate S, Lindberg A, Larsen L, Melander B. The effects of regular inhaled formoterol, budesonide, and placebo on mucosal inflammation and clinical indices in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(1):79-86.
 122. Oliver B, Tomita K, Keller A, Caramori G, Adcock I, Chung KF, Barnes PJ, Lim S. Low-dose theophylline does not exert its anti-inflammatory effects in mild asthma through upregulation of interleukin-10 in alveolar macrophages. *Allergy* 2001;56(11):1087-90.
 123. Lim S, Tomita K, Carramori G, Jatakanon A, Oliver B, Keller A, Adcock I, Chung KF, Barnes PJ. Low-dose theophylline reduces eosinophilic inflammation but not exhaled nitric oxide in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 15;164(2):273-6.
 124. Jaffar ZH, Sullivan P, Page C, Costello J. Low-dose theophylline modulates T-lymphocyte activation in allergen-challenged asthmatics. *Eur Respir J* 1996; 9(3):456-62.
 125. Calhoun WJ, Lavins BJ, Minkwitz MC, Evans R, Gleich GJ, Cohn J. Effect of zafirlukast (Accolate) on cellular mediators of inflammation: bronchoalveolar lavage fluid findings after segmental antigen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 ;157(5 Pt 1):1381-9.
 126. Khan LN, Kon OM, Macfarlane AJ, Meng Q, Ying S, Barnes NC, Kay AB. Attenuation of the allergen-induced late asthmatic reaction by cyclosporin A is associated with inhibition of bronchial eosinophils, interleukin-5, granulocyte macrophage colony-stimulating factor, and eotaxin. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(4 Pt 1):1377-82.
 127. Nocker RE, Out TA, Weller FR, de Riemer MJ, Jansen HM, van der Zee JS. Induced sputum and bronchoalveolar lavage as tools for evaluating the effects of inhaled corticosteroids in patients with asthma. *J Lab Clin Med* 2000; 136(1):39-49.
 128. Keatings VM, Evans DJ, O'Connor BJ, Barnes PJ. Cellular profiles in asthmatic airways: a comparison of induced sputum, bronchial washings, and bronchoalveolar lavage fluid. *Thorax* 1997 ;52(4):372-4.
 129. Grootendorst DC, Sont JK, Willems LN, Kluij-Nelemans JC, Van Krieken JH, Veselic-Charvat M, Sterk PJ. Comparison of inflammatory cell counts in asthma: induced sputum vs bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies. *Clin Exp Allergy* 1997;27;(7): 769-79.
 130. Nicolai T. Pediatric bronchoscopy. *Pediatr Pulmonol* 2001;31(2):150-64.
 131. Stevenson EC, Turner G, Heaney LG, Schock BC, Taylor R, Gallagher T, Ennis M, Shields MD. Bronchoalveolar lavage findings suggest two different forms of childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 1997; 27(9):1027-35.
 132. Barbato A, Panizzolo C, Gheno M, Sainati L, Favero E, Faggian D, Giusti F, Pesscolderungg L, La Rosa . Bronchoalveolar lavage in asthmatic children: evidence of neutrophil activation in mild-to-moderate persistent asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2001; 12(2):73-7.
 133. Kim CK, Chung CY, Choi SJ, Kim DK, Park Y, Koh YY. Bronchoalveolar lavage cellular composition in acute asthma and acute bronchiolitis. *J Pediatr* 2000; 137(4):517-22.
 134. Marguet C, Jouen-Boedes F, Dean TP, Warner JO. Bronchoalveolar cell profiles in children with asthma, infantile wheeze, chronic cough, or cystic fibrosis. : *Am J Respir Crit Care Med* 1999 ;159(5 Pt 1):1533-40.
 135. Warke TJ, Fitch PS, Brown V, Taylor R, Lyons JD, Ennis M, Shields MD. Exhaled nitric oxide correlates with airway eosinophils in childhood asthma. *Thorax* 2002; 57(5):383-7.
 136. Ennis M, Turner G, Schock BC, Stevenson EC, Brown V, Fitch PS, Heaney LG, Taylor R, Shields MD. Inflammatory mediators in bronchoalveolar lavage samples from children with and without asthma. *Clin Exp Allergy* 1999; 29(3):362-6.
 137. Krawiec ME, Westcott JY, Chu HW, Balzar S, Trudeau JB, Schwartz LB, Wenzel SE. Persistent wheezing in very young children is associated with lower respiratory inflammation.: *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163 (6): 1338-43.
 138. Shields MD, Brown V, Stevenson EC, Fitch PS, Schock BC, Turner G, Taylor R. Serum eosinophilic cationic protein and blood eosinophil counts for the prediction of the presence of airways inflammation in children with wheezing. *Clin Exp Allergy* 1999;2 9(10):1382-9.