

# Göğüsün Allerjik Hastalıklarında Bronkoalveolar Lavajın (BAL) Yeri-II: Ekstrinsik Allerjik Alveolit ve BAL

Esra Kunt Uzaslan\*

\* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı

## ÖZET

Ekstrinsik allerjik alveolit bir çoğu organik olan çeşitli allerjenlere karşı immün yanıt sonucu ortaya çıkan bir interstisyel akciğer hastalığıdır. Bronkoskopi ve bronkoalveolar lavaj akciğerdeki inflamasyonun oluşumunu ve gerilemesini araştırmada uygun yöntemler olup EAA ve bir çok interstisyel akciğer hastalığının patofizyolojisinin aydınlatılmasını sağlamışlardır. BAL ekstrinsik allerjik alveolitli hastalardan araştırma amacı ile de alveol yüzeyinden hücrelerin ve çözünebilir komponentlerin alınabilmesini sağlamaktadır.

*Akciğer Arşivi: 2003; 4: 50-59*

**Anahtar kelimeler:** Allerji , EAA, BAL

## SUMMARY

### The Evaluation of BAL in Pulmonary Allergic Disorders II: Ekstrinsik Allerjik Alveolit and BAL

Ekstrinsik Allerjik Alveolit is an interstitial lung disease caused by an immune response to a variety of mostly organic inhaled antigens. Bronchoscopy and bronchoalveolar lavage are powerful means for investigating the development and resolution of lung inflammation and have produced enormous data and insights in the the pathophysiology of EAA and other interstitial lung disease . BAL also has permitted the recovery of alveolar space cells and soluble substances in the extracellular lining fluid that have been used as research specimens in patients with ekstrinsik allerjik alveolit.

*Archives of Pulmonary: 2003; 4: 50-59*

**Key words:** Allergy, EAA , BAL

## Giriş

Bronkoalveolar lavajı ilk kez 1974 yılında Reynolds ve Newball tarafından tanımlanmıştır. Bu tanımlamaya göre bronkoalveolar lavaj alt solunum yolu epitelyal yüzeyinden sellüler ve nonsellüler komponentlerin elde edilmesini sağlayan bir yöntem olup, daha büyük hava yollarının sekresyonlarının veya oraya verilen serum fizyolojinin aspirasyonu olan bronşiyal lavajdan daha farklı bir teknikte uygulanır (1-4). Bronkoalveolar lavaj, alveol boşluğunda bulunan inflamatuvar hücreler ve infeksiyöz ajanlardan örnek almak için geliştirilmiş bir metod olup, rutin fiberoptik bronkoskopi uygulaması esnasında terminal hava yolları ve alveol içerisindeki sıvı ve hücrelerin elde edilmesi için bronşiyal segment veya subsegment içine lavaj sıvısının verilip geri alınması ile yapılır (5-7). Geçtiğimiz 30 yıl içinde bronkoalveolar lavaj (BAL) akciğer hastalıklarının immunolojik ve moleküler düzeydeki araştırmalarında yaygın olarak kul-

lanılmıştır (8-10) BAL 1980'li yıllardan beri lokal ko-nak immunitesi, inflamasyon, fibrosiz gelişimi, akciğer infeksiyonun tanısı gibi bir çok akciğer hastalığının tanı ve tedavisinde incelenmesinde kullanıla gelmiştir. Akciğere açılan pencere olarak tanımlanan BAL az invaziv bir girişim olması nedeni ile de tanı ve araştırma amaçlı olarak günümüzde de yaygın olarak kullanılmaktadır (11) .

Bronkoalveolar lavaj tekniği incelendiğinde araştırmacıların genel hatları aynı olmakla birlikte bazı küçük farklılıklarla BAL uyguladıkları görülür. Topikal anestezi altında yapılan işlemin ana amacı terminal hava yolları ve alveol epitelyal yüzeyindeki hücre, ekstrasellüler protein ve lipidleri örneklemek olduğundan bronkoskobun ucu bronşiyal segment ve daha da iyisi subsegment içerisinde bronşu tam tı-kayana kadar ileri itilir (kama; wedge pozisyon). Bronş lümeninin tam tıkanmadığı olgularda optimal sıvı elde etmek mümkün olmayabilir. Wedge pozisyonunda bronkoskop ucunun ilerisinde kalan alveol yüzeyi, periferik hava yollarına göre 100 misli oranla daha büyük olduğundan bronşiyal ağacın 4.-5. dallanmalarına indirilen bronkoskoptan yapılan BAL'da akciğerin %1.5-3'ünden yani yaklaşık

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

1.000.000 alveolden örnek materyal alınmış olur (6,7).Bronkoalveolar lavaj genellikle orta lob veya lingula segmentlerinden yapılır, ancak hastalık belirli bir lokalizasyon gösteriyorsa, o lokalizasyona uygun segmentten yapılır. Çalışmalar sonunda orta lob ve linguladan yapılan BAL'ın diğer üst ve alt lobların segmentlerinden yapılan BAL'lara göre %20 daha fazla sıvı ve hücre içerdiği saptanmıştır.

BAL için genellikle 20 ile 50 milimetrik fraksiyonlar halinde toplam 100-300 ml kadar steril serum fizyolojik kullanılır. Günümüzde yapılan yaygın uygulama ise 20 ml'lik enjektörle 5 porsiyonda BAL yapılarak toplam 100 ml'lik sıvı ile çalışma şeklindedir. Normal kişilerde sıvının %50-60'ı geri alınmalıdır. Sıvı geri alındıktan sonra en hızlı şekilde uygun medium ve ısıda laboratuara 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 içeriğide analiz edilebilir. BAL özellikle bağışıklığı baskılanmış kişilerin akciğer enfeksiyonlarında etkenin saptanmasında, intertisyel akciğer hastalıklarının tanı ve izleminde, primer ve metastatik akciğer malignitelerinin araştırılmasında kullanılan zaman bu amaçlara yönelik diğer işlem basamaklarından geçirilir (6,7,10).

Bronkoskopi ve bronkoalveolar lavaj oldukça düşük riskli ve az invaziv tanısal yöntemlerdir. BAL uygulanan olgularda rastlanılan komplikasyonlar aşağıdaki gibidir: postbronkoskopi ateşi % 2.5-10, pnömonitis % 0.4, kanama % 0.7, bronkospazm % 0.7 oranında

görülebilmektedir. Lavaj için kullanılan sıvı arttıkça komplikasyon sıklığı da artar. Lavaj sonrası görülen ateş genellikle 24 saat içinde geriler ve ancak %4'ü antibiyotik tedavisi gerektirir. Lavaj yapılan segmentte 24 saat kadar süren radyolojik değişiklikler meydana gelebilir. Hipoksi, BAL'dan daha çok bronkoskopiye ait bir komplikasyondur. BAL'ın kontrendikasyonları hastanın koopere olamaması, zorlu vital kapasite 1.saniye değerinin 1 litreden düşük olması, orta derecede hava yolu obstrüksiyonu bulunması, hiperkapni, hipoksi, ciddi kardiyak aritmilerinin olması, 6 hafta içinde geçirilmiş bir miyokard infarktüsü, kanama diyatezi ve hemodinamik dengesizliğinin olmasıdır (5).

BAL sıvısı alındıktan en kısa zamanda laboratuara ulaştırılmalıdır. Oda sıcaklığında 1 saat kadar bekletilen sıvılarda bakteri kontaminasyonu önlenmişse hücre vitalitesi çok azalmaz, değilse lavaj sıvısı buzdolabında veya buz içinde hücre vitalitesini koruyan tamponlu vasatlar içinde saklanmalıdır. BAL sırasında kullanılan tüm materyallerin mononükleer hücrelerin yapışmasını engellemek için silikonize cam, polietilen veya polibikarbonat özellikle olması çok önemlidir. BAL sıvısı müküsten arındırılmak amacıyla gazlı bezden süzülür, santrifüj edildikten sonra hücre parçalanmasını en aza indirmek üzere Ca<sup>++</sup> ve Mg<sup>++</sup> iyonları içermeyen bir vasat ile sulandırılıp ileri analiz veya invitro kültürler için kullanılabilir. Dengelenmiş tuzlu su solüsyonu ile sulandırılan BAL sıvısının bir kısmı Türk solüsyonu veya %3'lük asetik asitle muamele edilip hemositometrede (Neubauer kamerasında) hücreleri sayılır ve mililitredeki hücre sayısı bulunur. BAL sıvısının diğer bir kısmı Trypan mavisi ile işleme sokularak hücrelerin vitalite yüzdesi saptanır. Bir kez daha santrifüj edilen BAL sıvısı May Grünwald Giemsa (MGG) ile boyanarak differansiyel sitolojik değerlendirilmesi yapılır. Mililitredeki hücre

**Tablo I: Sigara İçmeyen Sağlıklı Olgularda Normal BAL Değerleri (6)**

Hücre Sayısı < 13x10 <sup>6</sup> (sigara içmeyenlerde)	Vitalite > % 85
<u>Differansiyel sitoloji</u>	<u>Lenfosit Alt Grupları :</u>
Alveoler makrofaj > %84	B-Lenfosit CD 20 : < %4
Lenfosit < %13	T-Lenfosit CD3: %63-83
Granülosit < % 3	T-Helper CD4: %40-70
Nötrofil < % 3	T-Supressor CD8 : %20-40
Eozinofil < % 0.5	CD4/CD8 : 1.1-3.5
Mast hücresi < % 0.5	Natural killer ( Leu7): % 2-14
Plazma hücresi < % 0	Aktif T lenfosit ( HLA-DR) < % 5
	OKT6 ( CD1) : < % 4
	IL - 2 receptor + Tac : < % 6

sayısı olarak ifade edilebilen total hücre sayısının günümüze kadar klinik anlamı ve değeri tartışmalıdır. Oysa differansiyel sitolojik değerlendirme ile hücrelerin oranlarının saptanmasının bazı hastalıklarda hem tanı hem de tedaviyi yönlendirmede değeri vardır. İmmunofloresans veya immunositokimya teknikleri kullanılarak başta lenfositler olmak üzere elde edilen hücreleri daha iyi belirlemek mümkün olur. Bu tür özel çalışmalar BAL'ın tanı değerini artırır (Tablo I).

### BAL Uygulanım Alanları

Bronkoalveoler lavaj bazı hastalıkların patogenezinin tanısının, klinik seyrinin, aktivitesinin belirlenmesinde yardımcı bir yöntemdir. Bu hastalıklar interstisyel-alveolar inflamatuvar hastalıklar (sarkoidoz, ekstrinsik allerjik alveolit, eozinofilik granüloma, idyopatik pulmoner fibrozis, skleroderma), infeksiyonlar (immün yetmezlikli hastalarda akciğer infiltrasyonlarında etken patojenin araştırılması ve alt solunum yolu infeksiyonlarında ajanın saptanması) ve diğerleri (ARDS ve oksijen toksisitesi, astma, kistik fibrozis, AIDS, pulmoner alveolar proteinozis, akciğer kanserleri, çevresel ve mesleki organik ve inorganik tozlara ve ilaçlara maruz kalımla oluşan akciğer hastalıkları)dir (12-21). Alveolit alt solunum yollarında immün efektör ve inflamatuvar hücrelerin sayısının artışı ifade eder. BAL uygulanması ile alveolitte hücrelerin tiplerinin belirlenmesi mümkün olabilmektedir. Bugün araştırmacıların ortak görüşü interstisyel akciğer hastalıklarının bir çoğunun inflamatuvar ve immün olaylar sonucunda oluştuğu ve ilk inflamatuvar reaksiyonun alveolit olduğu ve alveolitin de parankimal lezyonun derecesini ve patolojik olayın sonucunu belirlediği yö-

nündedir. İnterstisyel akciğer hastalıklarında alveolit, differansiyel sitolojik incelemelere dayanılarak üç grup halinde sınıflandırılır: Lenfositik alveolit, nötrofilik alveolit, ve eozinofilik alveolit. Sarkoidoz, ekstrinsik allerjik alveolit, kronik berilyozis, radyasyon pnömonisi, ilaç alveoliti, kollajenozlar, tüberküloz, AIDS, asbestozis gibi hastalıklarda lenfositik alveolit, idyopatik pulmoner fibrozis, kollajenozlar, pnömokonyozlar, bronkopulmoner infeksiyonlar, Wegener granülomatosisi, ARDS gibi hastalıklarda nötrofilik alveolit, eozinofilik pnömoni, Churg-Straus sendromu, allerjik bronkopulmoner aspergilloz, idyopatik pulmoner fibrozisde eozinofilik alveolit görülebilir.

### Ekstrinsik Allerjik Alveolit (EAA)

Ekstrinsik allerjik alveolit EAA (Hipersensitivite Pnömonitis, HP) eksojen kaynaklı antijenlerin inhalasyonunu izleyen süreçte duyarlı kişilerde oluşan immünolojik fenomenler sonucunda ortaya çıkan interstisyel akciğer hastalığıdır (22-24). Akciğerin havayollarında inflamasyona neden olan astımdan farklı olarak EAA 'de inflamasyon akciğerin distalinde interstisyel alanda olup gaz alış-veriş ünitelerini etkilemektedir (25,26). EAA önemli bir mesleki akciğer hastalığı olup, hastalıkla ilişkili bir çok antijen, protein ve düşük molekül ağırlıklı kimyasal maddeler tanımlanmıştır (27, 28).

Ekstrinsik allerjik alveolitin epidemiyolojisi her toplumda ve coğrafi bölgede farklılık göstermektedir. Bunun nedeni allerjenle temasın yoğunluğunda, sıklığında, süresinde ortaya çıkan farklılıklar olabilir. EAA'ın farklı tiplerinde, hastalık açısından riskli olan insan grupları ve bu riskin arttığı mevsimler farklılık

**Tablo II: Ekstrinsik Allerjik Alveolitte Zamana Göre İmmunolojik Reaksiyon ve BAL Bulguları (14).**

Zaman	İmmün Reaksiyon	BAL Bulguları	Histopatolojik Bulgular
4-48 saat	İmmünokompleks hastalığı	Nötrofil akımı	Vaskülit, ödem, nötrofil infiltrasyonu
12 saat- bir kaç gün	Hücrel immunitenin etkisinde, antikor oluşumu inhibe edilir, sitotoksik etkiler.	Lenfositler CD8+T Lenfosit NK hücre Plazma hücresi	Mononükleer infiltratlar lenfosit, plazma hücresi, köpüksü sitoplazmalı makrofaj.
Birkaç hafta- ay sonra	Hücrel immunitenin etkisinde, gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonu.	Lenfositler artar CD4 + T Lenfosit NK hücre	Mononükleer infiltratlar ve granüloma
Aylar ve yıllar sonra	Alveoler duvarda immünolojik olarak devam eden hasar ve fibroblast oluşumu	Lenfositler artar CD8+ (T Lenfositler artar) Nötrofiller artar	Fibrozis, Terminal dönem akciğer hastalığı

gösterir. Nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte EAA'nın bütün tiplerinin sigara içmeyen kişilerde daha sık görüldüğü saptanmıştır (22,24). Çevrede bulunan bir çok antijen EAA'nın değişik tiplerinin ortaya çıkmasına neden olabilir. Klinik bulgular her olguda farklı olacağı gibi, etken antijene maruz kalım miktarına ve sıklığına göre değişebilir. Tanı, klinik bulgulara, akciğer radyografisine, kandaki presipitan antikörlere, SFT ve antijenden uzak kalınca semptomların kaybolmasına göre konabilir. Hastalık klinik olarak akut, subakut ve kronik formlarda ortaya çıkabilir. Ekstrinsik allerjik alveolitli olgularda saptanan bir çok immunolojik bulgular hastalığın patogenezinde immun reaksiyonların önemli bir rol oynadığını düşündürmüştür. Olguların serumlarında saptanan antikörlere ve semptomların allerjenle temastan belli bir süre sonra (2-9 saat) ortaya çıkması öncelikle immun-kompleks hastalığını düşündürdüysede, allerjenle temas eden ancak hastalık geliştirmeyen olguların serumlarında da antikörlerin saptanması, serum antikörlere ile solunum fonksiyon testlerindeki bulgular arasında korelasyon olmaması, akut temas sırasında komplemanın seviyesinde azalma olmaması, patolojik bulgular ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar EAA gelişiminde hücrel immunitenin de önemli rol oynadığını göstermiştir (22). EAA'ye neden olan bir çok ajan, akciğerde antijenin uzun süre kalabilmesini sağlayacak bir yapıya sahiptir ve mediatörlerle, kompleman ve antikörlere ve hücrelerle karşılıklı etkileşerek akciğerde inflamasyonu başlatabilmektedir. Bu etken ajanlar polimorfonüveli lökositlerden ve makrofajlardan reaktif oksijen birleşikleri, proteolitik enzimler, araziidonik asit metabolizma ürünleri olan lökotrienler ve prostaglandinler gibi inflamatuvar maddelerin salınımına neden olurlar. Yine bu etken ajanlar makrofajlardan IL-6, TNF $\alpha$ , IL-1, lenfositlerden lenfokinlerin (IL-2, interferon- $\gamma$  ve B-hücre büyüme faktörlerinin) yapımına ve salınımına neden olurlar. Bu faktörlerin etkisi ile akciğerde oluşan hasar, inhale edilen antijenle temasın devamını sağlarken kişinin duyarlılığı artar, takibinde akciğer hasarı oluşur ve inflamasyonla sonuçlanır. Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar da EAA patogenezinde hücrel immunitenin özellikle TH-1 tipde immunolojik reaksiyonun rol aldığı gösterilmiştir (29,30). EAA'nın immunopatolojik bulgusu granüloma oluşumudur. Organik tozlara veya aktif kimyasal antijene karşı oluşan T hücrenin rol oynadığı geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonu granüloma oluşumundan sorumludur. Dolaşımda bulunan daha önceki karşılaşmalarla duyarlanılmış, antijene reaktif memory CD4+ T

hücreler, akciğere göçerler. T hücre antijene yanıt olarak Th0, Th1 veya Th2 dönüşür. Th1 hücre IL-2 ve IFN-gamma üretir. IFN-gamma alveolar makrofajların TNF ve IL-1 yaparak salgılamasını yönlendirir. TNF ve IL-1 tarafından aktiflenen alveolar makrofajlar MAF, MCF ve MIF gibi biyolojik aktif mediatörler salgırlar. Bu monokinler genç alveolar makrofajları aktifleyip lezyona çekerek olgunlaşmalarını ve epitelioid histiositler ve multinukleuslu dev hücreler içeren granülomun oluşumunu sağlar. EAA'da yoğun olarak bulunan CD8+ T hücreler salgıladıkları sitokinler ile granüloma oluşumunu yönlendirirler (31). EAA'de patolojik bulgular hastalığın evresine göre değişkenlik gösterir. Akut, kronik, fibrotik son dönem akciğerinde saptanan görüntü tamamen farklıdır. Akut dönemde akciğer kırmızımsı, gri konsolide bir görünümdeyken, kronik fibrotik dönemde katı, lastiksi bir görünüm alır. Patolojik değişiklikler karakteristik olarak akciğerlerde sentrilobuler bölgelerde izlenir. Bronşiol duvarlarında yoğun bir inflamatuvar reaksiyon vardır ve nadir olarak alveol duvarı da bu reaksiyona katılır. Akut dönemin bir diğer karakteristik bulgusu özellikle asinusların merkezi kesimlerine lokalize olan, dev hücreler içeren ve kazeifikasyon göstermeyen sarkoid tipli granülomlardır. Granülom yapısının içinde veya dışında bulunan dev hücreler Langhans veya yabancı cisim tipindedirler. EAA'de granülomlar bronşlara yakın veya subplevral yerleşimli değildir ve gruplar halinde bulunmazlar. Tersine genellikle tek tek ve bronşiyollere yakındırlar. Akut atak geçtikten bir ay sonra yapılan bir akciğer biyopsisinde granülomların tamamen kaybolduğu görülebilir. Alveol duvarları tipik olarak ödem ve histiosit, plazma hücresi, lenfosit ve monositlerin oluşturduğu infiltrasyonla kalınlaşmıştır. Alveolar makrofajların sayısı artmış ve sitoplazması köpüksü bir görünüm almıştır. Çok ağır akut olgularda alveolar makrofajların alveol içi agregasyonu ile alveolar ödem oluşur. Sıklıkla bronşiolitis ve % 25-50 olguda bronşiolitis obliterans ortaya çıkabilir. Görülebilecek bir diğer patoloji de organize pnömonidir ve olguların % 15-25'inde EAA ile birlikte bronşiolitis obliterans organize pnömoni (BOOP) gelişir ve BOOP'un nedeni hipersensitivite pnömonitisi olabilir. Akut formda da alveol duvarlarında fibrin yapısı görülebilir, kollajen doku artışı ve fibrozis kronik hastalığın önemli bir bulgusudur. Kronik olguların patolojik değerlendirilmesinde akciğerlerde özellikle üst zonlarda irregüler fibrozis ve bal peteği akciğer saptanır. Mikroskobik olarak ise bronşiyollerde ve küçük bronşlarda fokal fibrozis izlenir. Alveolar septalar kollajen do-

ku ile kalınlaşırken alveol yapısı tamamen bozulmuş olabilir. Damar yapısında ise pulmoner hipertansiyona özgü patolojik değişiklikler ortaya çıkarken sağ ventrikül hipertrofisi gelişebilir. Kronik olgularda peribronşiyal fibrozisin yaygınlaşması hava yolu obstrüksiyonuna neden olur. EAA'de ortaya çıkan spesifik histolojik değişiklikler ayıncı tanıda yardımcı olabilir. Fakat antijenle temas kesildikten sonra respiratuar bronşiolitin ve granülomaların ortadan kaybolması ve sadece interstisyel inflamasyonla birlikte fibrozisin kalması histolojinin tanıya katkısını azaltabilir.

Hastanın klinik bulguları, maruz kaldığı organik antijenin konsantrasyonuna, temas süresine, maruziyet sıklığına, partikül boyutuna, antijenin çözünürlüğüne, solunum sistemi savunma mekanizmalarının etkinliğine, işin yapılış şekline göre değişebilir (32).

Akut ekstrinsik allerjik alveolitde antijene maruz kalımdan 2-9 saat sonra nefes darlığı, non-produktif öksürük, miyalji, titreme, terleme, halsizlik, baş ağrısı ve kırıklık hali ortaya çıkar (1). Semptomlar başladıktan 6-24 saat içinde tipik bir pik yaptıktan sonra tedavi uygulanmaksızın 1-3 gün içinde kaybolurlar. Hastada ateş, taşipne, taşikardi, siyanoz saptanabilir ve fizik muayenede oskültasyonda her iki akciğer bazalinde inspiyum orta ve sonunda raller duyulabilir. Akut fazda periferik kanda lökositoz ve nötrofili ve lenfopeni saptanırken bronkoalveolar lavajda (BAL) nötrofili saptanır. Kronik EAA'de antijene maruz kalmaya devam eden hastada progressif ve giderek ağırlaşan dispne, non-produktif öksürük, kilo kaybı, anoreksi ortaya çıkabilir ve semptomlar aylarca sürebilir. Ateşi olmayan bazı olgularda taşipne ortaya çıkarken fizik muayenede de oskültasyonda akciğer bazallerinde raller duyulabilir. Çomak parmak nadiren de olsa saptanır.

Subakut ekstrinsik allerjik alveolitde ise hasta tekrarlayan genel kırıklık, öksürük, nefes darlığı, hışıltılı solunum, larenjit ve diğer bazı nonspesifik semptomlardan yakındır. Bu olguların semptomları antijenle temas kesildikten sonra birdenbire ortadan kalkar. Subakut formun, oldukça düşük dozda antijenle sürekli temas eden olgularda ortaya çıktığı bildirilmiştir.

EAA'de hastanın klinik tablosundaki farklılıkların (akut, subakut ve kronik formların) nedeni bilinmemektedir. Ancak organik antijenle temasın yoğunluğu ve süresi klinik bulguların farklılığına yol açabilir. Yani düşük yoğunlukta bir antijenle uzun süreli temas kronik EAA'e neden olurken, yüksek yoğunlukta bir antijenle kısa süreli temas akut EAA'e neden olabilir. Tanı amacıyla kullanılan noninvazif yöntemlerin biri solunum fonksiyon testleridir. Tipik akut olgularda, SFT'de akciğer volümlerinde, diffüzyon kapasitesin-

de, arter kanındaki parsiyel oksijen basıncında azalma saptanır. Genelde restriktif tipte solunum fonksiyon bozukluğu mevcuttur. Akciğer volümlerinde diffüzyon kapasitesinde düşme ile birlikte akım hızları normal veya artmış olarak bulunur. Bronşiolitis veya amfizeme bağlı olarak hafif obstrüktif tipte solunum fonksiyon bozukluğu görülebilir. Arteriyel hipoksemi ve hiperkapni ile birlikte egzersizde ve eforada A-a oksijen gradyentinde artış vardır.

Provokasyon testleri sadece EAA tanısının konulmadığı, şüphede kalındığı durumlarda uygulanmalıdır. Bu nedenle ancak klinik bulguların hastalığı düşündürdüğü, ancak serumda presipitan antikorların gösterilemediği durumlarda kullanılabilir. Bu testte olgunun hastalığa neden olduğu düşünülen ortamda bir süre tutularak etken ajanlara maruz kalması sağlanır ve hastanın vücut ısısında, periferik kan beyaz küre sayısında, akciğer volümlerinde, diffüzyon kapasitesinde olan değişiklikler izlenir. Diğer bir yöntemde, hastadan EAA'e neden olduğu şüphelenilen ajana laboratuara getirmesi istenir ve olgunun etken ajana maruziyeti laboratuvar ortamında sağlanır. Üçüncü bir yöntemse hastalığa neden olduğu düşünülen çözünür durumdaki antijenlerden ekstrat hazırlanarak, hastanın nebulizasyonla bu ekstraktı inhale etmesidir. Bu durumda ekstraktın yoğunluğuna ve hastanın temas edeceği süreye hastanın anamnezine göre karar verilir. Genelde öncelikle hafif bir maruziyetin değerlendirilmesi yapıldıktan sonra eğer hiç bir reaksiyon alınmazsa temasın süresi ve yoğunluğu arttırılmalıdır. Bu provokasyon testlerinde beklenen tipik yanıt ateş, nefes darlığı, akciğer bazallerinde ince raller, egzersizde dakika ventilasyonunda, vital kapasite ve diffüzyon kapasitesinde düşmedir. Provokasyon testlerinin özgüllüğü % 95 olup duyarlılığı, % 45-85 arasında değişmektedir.

Önemli tanısal bulgulardan biri de EAA'e neden olan antijene karşı oluşmuş olan antikorların (IgG, IgM ve IgA) serum veya BAL sıvısında gösterilmesidir (33). Bu amaçla ELISA, indirekt immunfloresan, kompleman fiksasyon, latex aglütinasyon, immuno-elektroforez, radyoimmunoassay yöntemleri kullanılabilir. Antikoru saptanması antijenle temasın olduğunu ve duyarlılık geliştiğini gösterirken, hastalığın varlığını kanıtlamaz. Bu nedenle olgunun test sonuçlarını anamnez ve klinik bulguları ile beraber değerlendirmek gereklidir. Serumda antikorların saptanması antijene maruz kalma yoğunluğu veya süresi ile direkt bağlantılı değildir, ayrıca kronik EAA'li olgularda bile maruziyet kesildikten sonra serum antikor seviyeleri azalabilir.



### Ekstrinsik Allerjik Alveolit ve BAL

Bronkoalveolar lavaj EAA'de hastalığın immun patogenezinin araştırılması ve tanısı amacıyla kullanılan bir yöntemdir (34). BAL, EAA 'in sarkoidoz, IPF ve diğer interstisyel akciğer hastalıklarından ayırıcı tanısında kullanılır (35). EAA'de BAL bulguları hastalığın evresine ve antijenle karşılaşılma süresi ile ilgili farklılıklar gösterir (Tablo II). EAA'lı olgularda antijene maruz kalımdan sonra geçen ilk 48 saat içinde BAL sıvısında nötrofillerin oranında artış saptanır, maruziyetten bir hafta sonra ise nötrofillerin oranı düşerken, total hücre sayısında yaklaşık beş kat artış gözlenirken diferansiyel sitolojik incelemede lenfositlerin oranında, özellikle T lenfositlerin CD8 grubunda artış saptanır (36, 37). Hastalığın başlangıcında yüksek olan nötrofiller bir hafta içinde normale döner, başlangıç fazında sayısı birden artan mast hücrelerinin normale dönüşü birkaç ayı bulabilir. Güvercin besleyen EAA'lı olgularda allerjen inhalasyonu ile yapılan provakasyonu izleyen dönemde BAL sıvısı total hücre, lenfosit ve nötrofillerinde artış ile birlikte alveolit bulguları oluşmuştur (38,39). BAL da mast hücre ve lenfositlerdeki artış doku düzeyindeki inflamasyonla korale olup hastalığın akut ve aktif formunu yansıtır (40). EAA'lı hastaların BAL sıvısının supernatandında saptanan yüksek histamin düzeyleri mast hücrelerinin aktif olduğunu düşündürmüştür (41). Normal sağlıklı kişilerin BAL sıvısında bulunmayan plazma hücrelerinin interstisyel akciğer hastalıklarında ve alveoliti olgularda artmış olup, plazma hücresi ile BAL immunglobulin düzeyi arasında korelasyon vardır. Duyarlı kişilerde antijenle karşılaşmayı izleyen dönemde BAL plazma hücresi artmaktadır (42). EAA'lı olgularda BAL da saptanan plazma hücresi yoğunluğu alveolitin ağırlığı ile koreledir ve BAL plazma hücresi sayısı ile immunglobulin düzeyi arasında ilişki vardır (43). Hastalığın subakut formlarında plazma hücrelerinde (% 0.1-2) artış gözlemlenmiştir (44).

### Lenfositler

Başlangıcı takiben 12 saat ile bir kaç gün CD8 lenfositlerdeki artış, B lenfositleri ve plazma hücresi oluşumunu aktifler ve CD4/CD8 oranında düşme olur. Antijene maruz kalımdan haftalar ve aylar sonra CD4+T lenfositlerde hafif bir artış olabilir (45,46). EAA de BAL da elde edilen lenfositlerin fenotipi genellikle CD8+ hücreler olup Th1 profilinde sitokinler salgıladığı (47) bildirilmekle birlikte, bu fenotipin EAA tipine göre değiştiği ve hastanın duyarlı olduğu

antijen, sigara içme durumu ve hastalığın evresinden de etkilenebildiği bulunmuştur (48). Klinik düzelme sağlansa bile BAL'da, T lenfositlerin CD8 grubu yüksek kalmaya devam eder, yani BAL'da CD8 yüksekliği hastalığın aktivite kriteri olmadığı gibi kötü prognozu da göstermez. Akut başlangıçlı olgularda CD8+ hücrelerin yoğunluk gösterdiği fibrosize dönüşmeyen bir alveolit izlenirken sinsi başlangıçlı hastalarda CD4+ hücrelerin arttığı ve fibrosize dönüşebilen bir alveolit görülmüş ve yüksek CD8+ T hücre oranının pulmoner fibrosizden koruyucu olabileceği düşünülmüştür (49). Akciğerde CD8+ ve CD4+ T lenfositlerin arttığı inflamatuvar bir lenfositik alveolite neden olan EAA 'de lenfositler özellikle IFN-gamma üreten tipde T hücre olup (50), periferik kan ile karşılaştırıldığında BAL da yüksek affiniteli IL-12R de artma saptanmıştır (51). Akciğerde naive T hücre toplanmasından sorumlu olan dendritik hücre kaynaklı (DC)-kemokin (CK1)/CCL18, ekspresyonu EAA'lı olgularda artmış bulunmuştur. Hastaların BAL sıvısındaki lenfosit sayısı ile dokudaki CCL18 arasında direkt ilişki bulunmuştur (52). EAA'lı olgularda akciğerde CD8+T hücre artışı ile birlikte human T-cell receptor (TCR) variable (V) kullanımında artış saptanmış (53,54) ve hastanın kliniğindeki düzelme ile birlikte bu durumda düzeldiği gözlenmiştir (55). EAA'lı olgularda CD8+T hücrenin TNF-receptor type 2 (CD120b) yoğun olarak taşıdığı saptanmış ve bu T-hücre sub gruplarının immune regülatuar mekanizmada rol oynadığı düşünülmüştür (56).

EAA de BAL'da elde edilen lenfositler IL-2R, VLA-1 ve HLA-DR eksprese eder ve bu hücrelerde CD3+,CD8+,CD16-,CD56+ fenotipindedirler (57). EAA'lı hastalarda BAL'da monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalarda Lenfositlerin CD3+/CD8+/CD56+/CD57+/CD16- fenotip sergilediği ve bu fenotipin şimdiye kadar hiç bir hastalık grubunda saptanmadığı ortaya konmuştur. EAA'lı olguların BAL sıvısında HLA-DR+ T lenfosit, VLA-1+T lenfosit ve  $\alpha/\delta$ +T hücrelerin sayısının arttığı da gözlenmiştir. BAL'da EAA'in akut fazında mast hücrelerinin sayısının arttığı, iyileşme ile birlikte birkaç ay içinde bu sayının normale döndüğü, subakut fazda plazma hücrelerinin sayısında da artış olabileceği bildirilmiştir.

### Alveolar Makrofaj

EAA'lı olgularda alveolar makrofajın sayısı artmıştır. Bu artış bazı araştırmacılara periferik kan mononükleer hücrelerinin alveole göç ettiğini düşündürmüştür (58). EAA olguların alveolar makrofajlarının kö-

püksü sitoplazmalı olduğu görülmüştür. Bu hastaların BAL sıvılarında total fosfolipid ve sfingomiyelin düzeyi artmıştır. Hastaların BAL kolesterol ve kolesterol/total fosfolipid oranı sağlıklı kontrollerin oranının üst sınırının da üstündedir. EAA hastalarının BAL sıvılarındaki kolesterol seviyeleri, lenfosit sayıları ile köpüksü sitoplazmalı alveolar makrofaj sayısı doğru orantılı olup alveolar makrofajların içlerine aldıkları kolesterolün bu hücrelerin antijen sunma özelliklerini arttırdığı gözlenmiş ve bu durum akciğerdeki inflamatuvar reaksiyonların lokal lipid ortamdan etkilebileceğini düşündürmüştür (59). EAA de saptanan yüksek lenfosit oranı BAL kolesterol ve nötral lipid yüklü köpüksü sitoplazmalı alveolar makrofajlarla koreledir. Bu alveolar makrofajlarda MHC class II antijeni (özellikle HLA-DQ) ekspresyonu artmıştır. Kolesterol mononükleer fagositlerin antijen sunma yeteneklerini HLA-D bölgesi ürünlerini etkileyerek arttırmaktadır (60). EAA'lı olgularda antijenle karşılaşmayı izleyen dönemde alveolar makrofajların nötrofiller için güçlü bir kemoattractan olan IL-8 artmıştır (61). EAA'lı olguların alveolar makrofajlarının proinflamatuvar sitokin olan macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1 alpha) ve IL-8 daha fazla sekrete ettiği bulunmuştur (62). EAA'lı olgularda BAL'da alveolar makrofajlardan salınan IL-1 ve tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) düzeyi artmış ve natural killer (NK) cell aktivitesi yüksek bulunmuştur (63).

EAA olgularda CD11a ve CD11c ekspresyon eden alveolar makrofaj sayısı ve oranı artmış (64) ve BAL da CD14+ hücre oranında artmış olarak bulunmuştur (65). EAA'lı olguların serumlarında çözünebilir IL-2 reseptör (ssIL-2R) düzeyi artmış olarak bulunurken allerjiden kaçınılınca BAL'da IL-2R+ alveolar makrofajların oranının ve ssIL-2R azalması EAA'da alveolar makrofajların artmış ssIL-2R'ın kaynağı olduğunu düşündürmüştür (66). Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında EAA'lı olguların alveolar makrofajlarında ICAM-1 expression artmış olarak bulunmuştur. Antijenle karşılaşma hastaların AM'dan ICAM-1 ekspresyonunu arttırırken, aynı zamanda ICAM-1'in serum düzeyide artmaktadır (67,68).

Alveolar makrofajların içeriğini oluşturan hidriolitik enzimlerin [acid phosphatase, beta-glucuronidase, beta-D-N-acetyl glucosaminidase (beta-D-NAGA), lysozyme and angiotensin-converting enzyme (ACE)] interstisyel akciğer hastalıklarının gelişiminde rol oynadığı ve EAA'da alveolar makrofajlardan bu lizozomal enzimlerin salınımının pulmoner lezyonların gelişiminde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (69).

## Reaktif Oksijen Radikalleri

Konak savunma mekanizmasının bir parçası olarak fagositik hücreler reaktif oksijen radikalleri üretirler. Reaktif oksijen radikallerinin (ROR) akciğer hasarının bir göstergesi olarak interstisyel akciğer hastalıklarında hava yollarında bulunduğu ve inflamasyona katkı sağladığı gösterilmiştir. EAA'lı hastalarda ROR' nin metabolizması sağlıklı kişilere göre artmıştır. EAA'lı hastalarda alveolar makrofajların ROR metabolizması artmıştır (70). Ayrıca uyarılmış alveolar makrofajlardan superoksit anyon salınımı çevresel akciğer hastalıkları ve EAA'da artmış olarak bulunmuş (71), granülatöz akciğer hastalıklarından sarkoidoz ve EAA'da alveolar makrofaj ve granülom dokusunda manganese superoxide dismutase (MnSOD) ekspresyonu arttığı saptanmıştır (72).

## Surfaktan

Surfaktan protein A (SP-A) alveoler yüzeyi örten sıvının komponentlerinden biri olmakla birlikte, immünaktif hücreleri etkileme ve alveolar makrofajların bakterisidal kapasitesini artırma özelliğide vardır. EAA'lı hastaların alveolar makrofajlarının sitoplazmalarında Surfaktan protein A (SP-A) düzeyi artmış olarak bulunmuş (73), çiftçi akciğeri hastalığı gelişmiş olan olgularda BAL surfaktan protein A (SP-A) düzeyi semptomuz çiftçilerden ve sağlıklı kontrollerden yüksek saptanmıştır (74). Surfaktan komponentlerinin alveolar makrofaj fonksiyonlarını etkilediği ve lenfositik hastalıklarda surfaktanın yapısındaki özellikle LA fraksiyonundaki değişikliklerin AM'ların suppressif aktivitesinde ki azalmadan sorumlu olduğu düşünülmektedir (75).

## Diğer Markırlar

EAA gelişmiş olan çiftçilerde hastalığın semptomlu olduğu dönemlerde restriktif tipde solunum fonksiyon bozukluğu saptanmıştır. Sağlıklı kontrol olgularına göre semptomatik ve asemptomatik çiftçi akciğeri hastalarında BAL total hücre lenfosit ve nötrofil sayısı artmış, albumin, fibronektin, ve angiotensin konverting enzim düzeyleri yükselmiştir. Asemptomatik olgularda BAL hiyaluranik asit (hyaluronan) ve procollagen 3 N-terminal peptid seviyeleri normalden bu düzeyler semptomlu olgularda anlamlı oranda artmıştır. Hastaların semptomları olmadığı dönemde bile inflamasyonu devam etmektedir. Akut alveolit olduğu dönemde hastaların semptomları artmaktadır.

Semptomları olduğu dönemde solunum fonksiyonlarında kötüleşme daha belirgin, BAL hyaluronik asit ve procollagen 3 N-terminal peptid düzeyleri daha yüksektir (76). Çiftçi akciğeri gelişmiş olan ve 6 yıl izlenen EAA olgularının BAL sıvısında ölçülen fibrosiz markırlarının (hyaluronic acid, Type III procollagen, fibronectin, and fibroblast growth factors) hastanın prognozunu belirlemeye yeterli olmadığı görülmüştür (77). EAA'lı olgularda BAL'da fibroblasttan kaynaklanan collagen metabolite procollagen-III-peptid (PCP-III) düzeyi yükselmiştir (78). EAA'da interstisyel inflamasyona eşlik eden ekstrasellüler matriks hasarı mevcuttur. Vitronectin plazma ve ekstrasellüler matriks yapısında bulunan adhesiv bir glikoprotein olup fibri-nektin ile birlikte EAA'lı olguların BAL sıvılarında düzeyi yükselmiştir (79). Adezyon moleküllerinden L-selectin ve E-selectin düzeylerinin BAL sıvısında arttığı saptanmıştır (80).

BAL sıvısında IgG, IgM ve albumin konsantrasyonları ve histamin, triptaz seviyeleri de artmış olarak saptanmıştır (24). EAA'lı olgularda antijen provakasyonunu izleyen erken dönemde BAL sıvısında hücre sayıları ve nötrofil, eozinofil ve mast hücre oranları artmaktadır. Antijen maruziyetinden 2-7 gün sonra ise lenfosit, plazma hücresi ve mast hücre sayısındaki artışı, immunoglobulin M, G ve A (IgM, IgG ve IgA) artışı izlemektedir. Antijen maruziyetinden 8-30 gün sonra ise lenfositler yüksek kalırken BAL'ın içeriği normale dönmektedir (81).

Organik olan çeşitli allerjenlere karşı immun yanıt sonucu ortaya çıkan bir interstisyel akciğer hastalığı olan ekstrinsik allerjik alveolitde, bronkoalveolar lavaj akciğerdeki inflamasyonun oluşumunu ve gerilemesini araştırmada uygun yöntemdir. Ekstrinsik allerjik alveolitli hastalarda hastalığın immunopatogenezini incelemek amacıyla BAL ile alveol yüzeyinden hücreler ve çözünebilir komponentler elde edilebilmektedir. (BAL) astım ve EAA gibi bir çok göğüsün allerjik hastalıklarının patofizyolojisinin aydınlatılmasını sağlamıştır.

## Kaynaklar

1. Stanley MW, Stanley MJH, Iber C: Bronchoalveolar Lavage. New York: Iagku- Shoin Medical Publisher, 1991, 1-218.
2. Crystal RG, Reynolds HY, Kalica AR: Bronchoalveolar lavage; special report. Chest 1986; 90(1):122-131.
3. Reynolds HY: Bronchoalveolar lavage has extended the usefulness of bronchoscopy. Eur Resp Rev 1992; 2(8):48-53.
4. Reynolds HY: Bronchoalveolar lavage. Am Rev Respir Dis 1987; 135:250-63.
5. Klech H, Pohl W, Hutter C: Safety and side effects of BAL. Eur Resp Rev 1992; 2(8):54-7.
6. Costabel U: Atlas der bronchoalveolären Lavage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1994. 1-97.
7. Costabel U: Methode und technik der bronchoalveolären lavage. Prax Klin Pneumol 1988; 42:218-21.
8. Reynolds HY: Use of bronchoalveolar lavage in humans—past necessity and future imperative Lung 2000;178(5):271-93.
9. Kunt Uzaslan A.E, Özyardımcı N, Gözü R.O, Ege E, Gürdal Yüksel E, Karadağ M, Yarkın T. Bronkoalveolar lavaj yönteminin akciğer hastalıklarının tanısında yeri Tüberküloz ve Toraks 1995; 43 (3): 165-71.
10. Uzaslan E. Bronkoalveolar Lavaj. Ed. Özyardımcı N. Nonspesifik Göğüs Hastalıkları. Cilt 1. Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, 1999, 196-230.
11. James DG, Rizzato G, Sharma OP. Bronchopulmonary lavage (BAL). A window of the lungs. : Sarcoidosis 1992 Mar;9(1):3-14.
12. Drent M, Velzen-Blad H, Diamant M, Hoogsteden HC, Bosch JMM: Relationship between presentation of sarcoidosis and T lymphocyte profile: a study in bronchoalveolar lavage fluid. Chest 1993; 104:795-800.
13. Poulter LW, Rossi GA, Bjermer L, Costabel U, Haslam PL, Olivier D, Trentin L: The value of bronchoalveolar lavage in the diagnosis and prognosis of sarcoidosis. Eur Resp Rev 1992; 2(8):75-82.
14. Semenzato G, Bjermer L, Costabel U, Haslam PL, Olivieri D, Trentin L: Clinical role BAL in extrinsic allergic alveolitis. Eur Resp Rev 1992; 2(8):69-74.
15. Turner-Warwick MT, Haslam P: The value of serial BAL in assessing the clinical progress of patients with CFA. Am Rev Respir Dis 1987; 135:26-34.
16. Haslam PL, Bauer W, Rose V, Eckett H, Olivieri D, Poulter LW, Rossi GA, Teschler H: The clinical role of BAL in idiopathic pulmonary fibrosis. Eur Resp Rev 1992; 2(8):58-63.
17. Costabel U, Donner CF, Haslam PL, Rizzato G, Teschler H, Velluti G, Wallaert B: Clinical role of BAL in occupational lung diseases due to mineral dust exposure. Eur Resp Rev 1992; 2(8):89-96.
18. Goldstein RA, Rohatgi PK, Bergofsky EH, Block ER: The clinical role of BAL in adults with pulmonary diseases. Am Rev Respir Dis 1990; 142: 481-6.
19. Israel -Biet D, Danel C, Costabel U, Rossi GA, Wallaert B: The clinical role of BAL in drug induced pneumonitis. Eur Resp Rev 1992; 2(8): 97-9.
20. Danel C, Israel-Biet D, Costabel U, Wallaert B, Kleck H: The clinical role of BAL in rare pulmonary diseases. Eur Resp Rev 1992; 2(8): 83-7.
21. Bjermer L, Rust M, Heurlin N, Rennard S, Klecho H: The clinical use of bronchoalveolar lavage in patients with pulmonary infections. Eur Resp Rev 1992; 2(8):106-13.
22. Schuyler M: Hypersensitivity Pneumonitis. In. Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. Fishman AP (ed.), 3th edition, New York: McGraw-Hill 1998, 1085-97.
23. Salvaggio JE: Extrinsic allergic alveolitis (hypersensitivity pneumonitis): past, present and future. Clin Expir Allergy 1997; 27(Suppl 1): 18-25.
24. Murphy DMF, Morgan WKC, Seaton A: Hypersensitivity Pneumonitis. In. Occupational Lung Diseases. Morgan



- WKC, Seaton A (eds.), 3th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1995; 525-65.
25. McSharry C, Anderson K, Bourke SJ, Boyd G. Takes your breath away—the immunology of allergic alveolitis. *Clin Exp Immunol* 2002 Apr;128(1):3-9.
  26. Cormier Y, Israel-Assayag E. The role of viruses in the pathogenesis of hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Pulm Med* 2000 Sep;6(5):420-3.
  27. Grammer LC. Occupational allergic alveolitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999 Dec;83(6 Pt 2):602-6.
  28. Sharma OP, Fujimura N. Hypersensitivity pneumonitis: a noninfectious granulomatosis. *Semin Respir Infect* 1995 Jun;10(2):96-106.
  29. Schuyler M, Gott K, Edwards B, Nikula KJ: Experimental hypersensitivity pneumonitis: Effect of Thy 1.2+ and CD 8+ cell depletion. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:1834-42.
  30. Schuyler M, Gott K, Haley P: Experimental murine hypersensitivity pneumonitis. *Cell Immunol* 1991; 136:303-17.
  31. Suga M, Yamasaki H, Nakagawa K, Kohrogi H, Ando M. Mechanisms accounting for granulomatous responses in hypersensitivity pneumonitis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1997 Sep;14(2):131-8.
  32. Rose C, King TB. Controversies in hypersensitivity pneumonitis (editorial). *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:1-2.
  33. Yoshizawa Y, Miyashita Y, Inoue T, Sumi Y, Miyazaki Y, Sato T, Ohtsuka M. Sequential evaluation of clinical and immunological findings in hypersensitivity pneumonitis: serial subclass distribution of antibodies. *Clin Immunol Immunopathol* 1994 Dec;73(3):330-7.
  34. Semenzato G, Bjermer L, Costabel U, Haslam PL, Olivieri D. Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): extrinsic allergic alveolitis. *Eur Respir J* 1990 Sep;3(8):945-6, 961-9.
  35. Drent M, Mulder PG, Wagenaar SS, Hoogsteden HC, van Velzen-Blad H, van den Bosch JM. Differences in BAL fluid variables in interstitial lung diseases evaluated by discriminant analysis. *Eur Respir J* 1993 Jun;6(6):803-10.
  36. Drent M, Mulder PG, Wagenaar SS, Hoogsteden HC, van Velzen-Blad H, van den Bosch JM. Differences in BAL fluid variables in interstitial lung diseases evaluated by discriminant analysis. *Eur Respir J* 1993 Jun;6(6):803-10.
  37. Milanowski J, Dutkiewicz J, Potoczna H, Kuś & acute; L, Urbanowicz B. Allergic alveolitis among agricultural workers in eastern Poland: a study of twenty cases. *Ann Agric Environ Med* 1998 Jun 30;5(1):31-43.
  38. Reynolds SP, Jones KP, Edwards JH, Davies BH. Inhalation challenge in pigeon breeder's disease: BAL fluid changes after 6 hours. *Eur Respir J* 1993 Apr;6(4):467-76.
  39. Ohtani Y, Kojima K, Sumi Y, Sawada M, Inase N, Miyake S, Yoshizawa Y. Inhalation provocation tests in chronic bird fancier's lung. *Chest* 2000 Nov;118(5):1382-9.
  40. Pesci A, Bertorelli G, Olivieri D. Mast cells in bronchoalveolar lavage fluid and in transbronchial biopsy specimens of patients with farmer's lung disease. *Chest* 1991 Nov;100(5):1197-202.
  41. Miadonna A, Pesci A, Tedeschi A, Bertorelli G, Arquati M, Olivieri D. Mast cell and histamine involvement in farmer's lung disease. *Chest* 1994 Apr;105(4): 1184-9.
  42. Drent M, Wagenaar S, van Velzen-Blad H, Mulder PG, Hoogsteden HC, van den Bosch JM. Relationship between plasma cell levels and profile of bronchoalveolar lavage fluid in patients with subacute extrinsic allergic alveolitis. *Thorax* 1993 Aug;48(8):835-9.
  43. Drent M, Wagenaar S, van Velzen-Blad H, Mulder PG, Hoogsteden HC, van den Bosch JM. Relationship between plasma cell levels and profile of bronchoalveolar lavage fluid in patients with subacute extrinsic allergic alveolitis. *Thorax* 1993 Aug;48(8):835-9.
  44. Drent M, van Velzen-Blad H, Diamant M, Wagenaar SS, Donckerwolck-Bogaert M, van den Bosch JM. Differential diagnostic value of plasma cells in bronchoalveolar lavage fluid. *Chest* 1993 Jun;103(6):1720-4.
  45. Salvaggio JE. Immune reactions in allergic alveolitis. *Eur Respir J Suppl* 1991 Apr;13:47-59.
  46. Satake N, Nagai S, Kawatani A, Kaneshima H, Tanaka S, Takeuchi M, Izumi T. Density of phenotypic markers on BAL T-lymphocytes in hypersensitivity pneumonitis, pulmonary sarcoidosis and bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia. *Eur Respir J* 1993 Apr;6(4):477-82.
  47. Costabel U, Guzman J. Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2001 Sep;7(5):255-61.
  48. Ando M, Konishi K, Yoneda R, Tamura M. Difference in the phenotypes of bronchoalveolar lavage lymphocytes in patients with summer-type hypersensitivity pneumonitis, farmer's lung, ventilation pneumonitis, and bird fancier's lung: report of a nationwide epidemiologic study in Japan. *J Allergy Clin Immunol* 1991 May;87(5):1002-9.
  49. Murayama J, Yoshizawa Y, Ohtsuka M, Hasegawa S. Lung fibrosis in hypersensitivity pneumonitis. Association with CD4+ but not CD8+ cell dominant alveolitis and insidious onset. *Chest* 1993 Jul;104(1):38-43.
  50. Gudmundsson G, Hunninghake GW. Interferon-gamma is necessary for the expression of hypersensitivity pneumonitis. *J Clin Invest* 1997 May 15;99(10):2386-90.
  51. Yamasaki H, Ando M, Brazer W, Center DM, Cruikshank WW. Polarized type 1 cytokine profile in bronchoalveolar lavage T cells of patients with hypersensitivity pneumonitis. *J Immunol* 1999 Sep 15;163(6): 3516-23.
  52. Pardo A, Smith KM, Abrams J, Coffman R, Bustos M, McClanahan TK, Grein J, Murphy EE, Zlotnik A, Selman M. CCL18/DC-CK-1/PARC up-regulation in hypersensitivity pneumonitis. *J Leukoc Biol* 2001 Oct;70(4):610-6.
  53. Murayama J, Yoshizawa Y, Sato T, Ishikawa H, Ohtsuka M, Inoue T, Toyoda H. A compartmentalized bias for T-cell receptor V beta usage in summer-type hypersensitivity pneumonitis. *Int Arch Allergy Immunol* 1995 Aug;107(4):581-6.
  54. Shigematsu M, Nagai S, Nishimura K, Izumi T, Eklund AG, Grunewald J. Summer-type hypersensitivity pneumonitis. T-cell receptor V gene usage in BALF T-cells from 3 cases in one family. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1998 Sep;15(2):173-7.
  55. Wahlstrom J, Berlin M, Lundgren R, Olerup O, Wigzell H, Eklund A, Grunewald J. Lung and blood T-cell receptor repertoire in extrinsic allergic alveolitis. *Eur Respir J* 1997 Apr;10(4):772-9.

56. Agostini C, Zambello R, Sancetta R, Cerutti A, Milani A, Tassinari C, Facco M, Cipriani A, Trentin L, Semenzato G. Expression of tumor necrosis factor-receptor superfamily members by lung T lymphocytes in interstitial lung disease. : *Am J Respir Crit Care Med* 1996 Apr;153(4 Pt 1):1359-67.
57. Trentin L, Migone N, Zambello R, di Celle PF, Aina F, Ferruglio C, Bulian P, Masciarelli M, Agostini C, Cipriani A, et al. mechanisms accounting for lymphocytic alveolitis in hypersensitivity pneumonitis. *J Immunol* 1990 Oct 1;145(7):2147-54.
58. Hoogsteden HC, van Hal PT, Wijkhuijs JM, Hop W, Hilvering C. Differences in expression of monocyte/macrophage surface antigens in peripheral blood and bronchoalveolar lavage cells in interstitial lung diseases. *Lung* 1993;171(3):149-60.
59. Hughes DA, Haslam PL. Effect of smoking on the lipid composition of lung lining fluid and relationship between immunostimulatory lipids, inflammatory cells and foamy macrophages in extrinsic allergic alveolitis. *Eur Respir J* 1990 Nov;3(10):1128-39.
60. Hughes DA, Townsend PJ, Haslam PL. Enhancement of the antigen-presenting function of monocytes by cholesterol: possible relevance to inflammatory mechanisms in extrinsic allergic alveolitis and atherosclerosis. *Clin Exp Immunol* 1992 Feb;87(2):279-86.
61. Gudmundsson G, Hunninghake GW. Respiratory epithelial cells release interleukin-8 in response to a thermophilic bacteria that causes hypersensitivity pneumonitis. *Exp Lung Res* 1999 Apr-May;25(3):217-28.
62. Denis M. Proinflammatory cytokines in hypersensitivity pneumonitis. : *Am J Respir Crit Care Med* 1995 Jan;151(1):164-9.
63. Denis M, Bedard M, Laviolette M, Cormier Y. A study of monokine release and natural killer activity in the bronchoalveolar lavage of subjects with farmer's lung. *Am Rev Respir Dis* 1993 Apr;147(4):934-9.
64. Hoogsteden HC, van Hal PT, Wijkhuijs JM, Hop W, Hilvering C. Expression of the CD11/CD18 cell surface adhesion glycoprotein family and MHC class II antigen on blood monocytes and alveolar macrophages in interstitial lung diseases. : *Lung* 1992;170(4):221-33.
65. Pforte A, Schiessler A, Gais P, Beer B, Strobel M, Ehlers M, Schutt C, Ziegler-Heitbrock HW. Increased expression of the monocyte differentiation antigen CD14 in extrinsic allergic alveolitis. *Monaldi Arch Chest Dis* 1993 Dec;48(6):607-12.
66. Pforte A, Brunner A, Gais P, Strobel M, Burger G, Breyer G, Haussinger K, Ziegler-Heitbrock L. Increased levels of soluble serum interleukin-2 receptor in extrinsic allergic alveolitis correlate with interleukin-2 receptor expression on alveolar macrophages. : *J Allergy Clin Immunol* 1994 Dec;94(6 Pt 1):1057-64.
67. Pforte A, Schiessler A, Gais P, von Kress S, Beer B, Riethmüller G, Ziegler-Heitbrock HW. Expression of the adhesion molecule ICAM-1 on alveolar macrophages and in serum in extrinsic allergic alveolitis. *Respiration* 1993;60(4):221-6.
68. Shijubo N, Imai K, Shigehara K, Hirasawa M, Tsujisaki M, Hinoda Y, Abe S. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in sera and bronchoalveolar lavage (BAL) fluids of extrinsic allergic alveolitis. *Clin Exp Immunol* 1995 Oct;102(1):91-7.
69. Perez-Arellano JL, Barrios MN, Martin T, Sanchez ML, Jimenez A, Gonzalez-Buitrago JM. Hydrolytic enzyme of the alveolar macrophage in diffuse pulmonary interstitial disease. *Respir Med* 1996 Mar;90(3):159-66.
70. Calhoun WJ. Enhanced reactive oxygen species metabolism of air space cells in hypersensitivity pneumonitis. *J Lab Clin Med* 1991 Jun;117(6):443-52.
71. Sherson D, Nielsen H, Frederiksen J, Milman N, Struve-Christensen E, Petersen BN. Superoxide anion release from blood monocytes and alveolar macrophages in patients with diffuse lung fibrosis. *APMIS* 1992 May;100(5):408-14.
72. Lakari E, Paakko P, Kinnula VL. Manganese superoxide dismutase, but not CuZn superoxide dismutase, is highly expressed in the granulomas of pulmonary sarcoidosis and extrinsic allergic alveolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 Aug;158(2):589-96.
73. Guzman J, Wang YM, Kalaycioglu O, Schoenfeld B, Hamm H, Bartsch W, Costabel U. Increased surfactant protein A content in human alveolar macrophages in hypersensitivity pneumonitis. : *Acta Cytol* 1992 Sep-Oct;36(5):668-73.
74. Cormier Y, Israel-Assayag E, Desmeules M, Lesur O. Effect of contact avoidance or treatment with oral prednisolone on bronchoalveolar lavage surfactant protein A levels in subjects with farmer's lung. *Thorax* 1996 Dec;51(12):1210-5.
75. Israel-Assayag E, Cormier Y. Surfactant modifies the lymphoproliferative activity of macrophages in hypersensitivity pneumonitis. : *Am J Physiol* 1997 Dec;273(6 Pt 1):L1258-64.
76. Larsson K, Eklund A, Malmberg P, Bjerner L, Lundgren R, Belin L. Hyaluronic acid (hyaluronan) in BAL fluid distinguishes farmers with allergic alveolitis from farmers with asymptomatic alveolitis. *Chest* 1992 Jan;101(1):109-14.
77. Lalancette M, Carrier G, Laviolette M, Ferland S, Rodrigue J, Begin R, Cantin A, Cormier Y. Farmer's lung. Long-term outcome and lack of predictive value of bronchoalveolar lavage fibrosing factors. : *Am Rev Respir Dis* 1993 Jul;148(1):216-21.
78. Teschler H, Thompson AB, Pohl WR, Konietzko N, Rennard SI, Costabel U. Bronchoalveolar lavage procollagen-III-peptide in recent onset hypersensitivity pneumonitis: correlation with extracellular matrix components. : *Eur Respir J* 1993 May;6(5):709-14.
79. Teschler H, Pohl WR, Thompson AB, Konietzko N, Mosher DF, Costabel U, Rennard SI. Elevated levels of bronchoalveolar lavage vitronectin in hypersensitivity pneumonitis. : *Am Rev Respir Dis* 1993 Feb;147(2):332-7.
80. Navarro C, Mendoza F, Barrera L, Segura-Valdez L, Gaxiola M, Paramo I, Selman M. Up-regulation of L-selectin and E-selectin in hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 2002 Feb;121(2):354-60.
81. Drent M, van Velzen-Blad H, Diamant M, Wagenaar SS, Hoogsteden HC, van den Bosch JM. Bronchoalveolar lavage in extrinsic allergic alveolitis: effect of time elapsed since antigen exposure. *Eur Respir J* 1993 Oct;6(9):1276-81.