MONITORIZACIÓN MEDIANTE EL LAVADO BRONCOALVEOLAR DEL RECHAZO CRONICO EN EL TRASPLANTE PULMONAR

R. Lama Martínez, R. Sánchez Simón Talero, L. Muñoz Cabrera, A. Salvatierra Velázquez.
Hospital Universitario Reina Sofia. Córdoba.

De acuerdo con el Registro Internacional de Trasplantes de corazón y pulmón, hasta febrero de 1996, se habían realizado unos 2.000 trasplantes cardiopulmonares, los cuales han ido descendiendo desde 1989, debido al incremento de los trasplantes pulmonares aislados, de los cuales se habían realizado unos 5.000[(1)]. La tasa de supervivencia anual es del 70% para el trasplante pediátrico y la tasa de supervivencia anual para el trasplante pulmonar y cardiopulmonar es alrededor del 60-70%.

En España se inició la actividad en 1990, habiéndose realizado 116 trasplantes de pulmón hasta diciembre de 1995, 20 de ellos en el Hospital Reina Sofía de Córdoba[(2)].

Las principales causas de morbimortalidad son la infección y el rechazo, que por otro lado se postulan como factores predisponentes al rechazo crónico[(3-4)]. Por lo tanto, la detección precoz y el tratamiento apropiado de las infecciones pulmonares y de los rechazos agudos puede ser esencial para reducir el numero de rechazos crónicos. Más de la mitad de las muertes del primer año son debidas a la bronquiolitis obliterante (B0), una manifestación de rechazo crónico caracterizada por una obstrucción progresiva al flujo aéreo.

Hasta ahora la BO es impredecible e indetectable en un estadio preclínico y generalmente el tratamiento es ineficaz. El mejor tratamiento es su prevención mediante un régimen óptimo de inmunosupresión, un seguimiento rutinario y un diagnóstico precoz y adecuado tratamiento del rechazo agudo y de las infecciones pulmonares. Pero para su prevención existen varios obstáculos: su patogénesis es desconocida, el régimen óptimo de inducción y mantenimiento de la inmunosupresión es desconocido y no existen métodos clínicamente útiles de monitorización de la eficacia del régimen inmunodepresor.

Los protocolos de seguimiento están cuestionados debido a que los cambios espirométricos pueden ser detectados tarde, la biopsia transbronquial tiene baja sensibilidad para el diagnóstico de rechazo crónico y la exposición a infecciones y otros estímulos antigénicos pueden modular el medio inmunológico y llegar a alterar la efectividad del régimen inmunodepresor.

El grupo de trabajo del rechazo pulmonar, de la Sociedad Internacional de Trasplantes de Corazón y Pulmón, ha reclasificado recientemente el rechazo pulmonar, desde el punto de vista histológico[(5)]. Parece que el daño al injerto puede afectar a la vasculatura y a la vía aérea en ambos rechazos, el agudo y el crónico.

El rechazo crónico, por definición, se manifiesta como BO (cicatrización fibrosa densa eosinofilica de los bronquiolos) y por esclerosis vascular acelerada afectando las arterias y las venas pulmonares.

Los infiltrados perivasculares e intersticiales no son específicos de rechazo y otras condiciones pueden simular daño reactivo del aloinjerto, como son: la neumonitis por citomegalovirus (CMV) y Pneumocistis carinii, la enfermedad linfoproliferativa, biopsias previas en el mismo sitio, enfermedad primaria recurrente (sarcoidosis) y daño de preservación. También, desde el punto de vista histológico, hay muchas causas de inflamación de la vía aérea que pueden producir obliteración completa de su luz. Algunas de estas causas son: la infección, la aspiración y el tejido de granulación. Por otra parte, la infección y el rechazo a menudo ocurren conjuntamente y pueden ser confundidas histológicamente. Además, la BO se manifiesta de forma parcheada, pudiendo coexistir con zonas de rechazo agudo (RA). Todo ello, hace que el diagnóstico de rechazo/infección sea complicado.

Cuando se realiza por primera vez un alotrasplante se desarrolla una respuesta inmune del huésped frente a antígenos de histocompatibilidad HLA del donante, provocando una activación del sistema inmune y produciendo rechazo. Para evitar los fenómenos de rechazo es conveniente realizar el trasplante entre individuos compatibles en cuanto a los antígenos HLA. Sin embargo, esto no es posible en el trasplante pulmonar y entonces la pauta a seguir es inducir en el receptor un estado de inmunosupresión tal que evite la activación del sistema inmune y así el rechazo del órgano implantado.

Cuando se realiza un aloinjerto se inicia una respuesta especifíca de los linfocitos T contra los antígenos HLA extraños.

Los linfocitos T helper (CD4) reconocen los antígenos HLA clase II, llevando a la activación, diferenciación y proliferación de los mismos, y segregando unos factores solubles de diferenciación y crecimiento llamados citokinas. Las citokinas inducen mayor expresión de los antígenos HLA clase II, estimulan los linfocitos B para producir anticuerpos y ayudan a las células T a desarrollar funciones efectoras como la citotoxicidad. Los linfocitos T citotóxicos (CD8) del receptor reconocen las moléculas HLA clase I del donante y después de la diferenciación, bajo la influencia de las citokinas, pueden lisar directamente las células del parénquima y del endotelio del injerto[(6)].

La teoría patogénica generalmente más aceptada de la BO es que es una manifestación primaria del rechazo crónico en ese órgano[(7)]. Las características anatómicas de la BO sugieren que dos interdependientes, pero distintos procesos patológicos, están implicados. Por un lado, la inflamación y el daño de las estructuras de la via aérea, y de otro, una respuesta proliferativa por migración y replicación de las células mesenquimales entre las paredes y la luz bronquiolar llevando una obstrucción progresiva y fallo del injerto[(8)]. La mayoría de los autores actualmente está a favor de la hipótesis de que la BO es el resultado de un ataque mediado por el sistema inmune dirigido contra el epitelio bronquiolar o bronquial o su análogo, el endotelio vascular. El epitelio bronquial es abundante y se encuentra bien situado como diana. Está en contacto permanente con una amplia variedad de estímulos como virus, otros organismos mediombientales y material aspirado depositado por la respiración normal y con un amplio sistema inmune para responder a ese estímulo.

Ha sido postulado por Burke[(7)] y posteriormente por otros, que este medioambiente propicia una inflamación continua de la vía aérea, lo cual resulta en un aumento de la expresión de los antígenos HLA clase II del epitelio de la vía aérea del donante. El epitelio bronquial del donante podría ser fácilmente reconocido como extraño por las células del receptor y llegar a ser el primer blanco de las células T activadas, y producir citokinas y factores de crecimiento que pueden jugar un papel importante en la proliferación de células musculares lisas y fibroblastos asociados con la obliteración de los bronquiolos. La fibroproliferación observada en la BO resulta en parte de la migración de células mesenquimales, replicación y depósito de tejido conectivo; procesos que son regulados por factores de crecimiento polipeptídico. Trabajos de Hertz y cols. demuestran incremento del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) en el lavado broncoalveolar (BAL) de pacientes con BO después del trasplante pulmonar[(9)].

Estudios preliminares por el grupo de Pittsburg indican que los fibroblastos del aloinjerto son potentes estimuladores de una reacción linfocitaria lª y 2ª. Este hallazgo apoya la hipótesis de que los fibroblastos pueden prolongar la inflamación y el daño a través de la producción de citokinas (IL-6 y GM-CSF) que amplifican la respuesta inmune o bien directamente estimulan la alorreactividad de los linfocitos[(10)].

Estudios en animales y en humanos han sugerido que el aumento en la expresión de los antígenos HLA clase II en el epitelio bronquial ocurre en el rechazo del trasplante pulmonar. Romaniuk y cols. identifican la expresión de los antígenos HLA-II del epitelio bronquial en el rechazo de pulmones de ratas, pero no en pulmones normales[(11-12)]. Un estudio también evaluó los componentes del BAL, encontrado niveles elevados de las citokinas, factor de necrosis tumoral (TNF) e interferón (IFN)[(13)].

Pero una persistente y progresiva expresión de los antígenos HLA-II en el trasplante pulmonar humano, con el subsiguiente desarrollo de BO, no ha sido demostrado claramente.

La mayoría de datos apoyando la hipótesis inmunológica del BO vienen del programa de trasplantes de Pittsburg. Publican una serie de trabajos demostrando actividad donoespecífica de las células del BAL, en los pacientes con RA y BO, mediante el test de los linfocitos primarios[14-15-16].

En autopsias de pacientes con trasplante cardiopulmonar e histología demostrada de BO, se ha demostrado la presencia de linfocitos T leu 7 intraepiteliales en el pulmón pero no en la tráquea nativa[17].

Otras células activas del sistema inmune están también probablemente implicadas en el desarrollo de rechazo crónico (RC). El grupo de Pittsburg ha demostrado en necropsias de pacientes con BO un aumento en la incidencia de células dendríticas, localizadas en el epitelio bronquial y bronquiolar, especialmente en pacientes fallecidos de BO[18].

Se han barajado una serie de factores predisponentes de la BO. Dos de los factores, más probablemente implicados son el RA y la infección pulmonar, sobre todo la infección por citomegalovirus (CMV). Los RA recurrentes o persistentes y los RA severos predisponen al desarrollo de BO[3-4-19].

Aunque un test no invasivo sería ideal, la broncofibroscopia (BF) con el BAL y la biopsia transbronquial, han jugado un papel importante en el tratamiento de los pacientes con trasplante pulmonar[20].

No hay actualmente un procedimiento menos invasivo para el diagnóstico de rechazo, identificar infecciones especificas o documentar rechazo e infecciones coexistentes. Siguiendo a lo establecido en el trasplante cardíaco, muchos programas de trasplante pulmonar instituyeron la BF bajo tres indicaciones: por indicación clínica, como rutina para la detección de rechazos e infecciones subclínicas y como seguimiento del tratamiento aplicado. A pesar de la utilidad de la BF en los pacientes sintomáticos, su papel en los asintomáticos parece menos claro. En la mayoría de los centros, la BF de rutina ha revelado una inquietante incidencia de RA y de infecciones subclínicas. Aunque el RA asintomático se encuentra frecuentemente en la biopsia de rutina (35-65%), éste es predominantemente grado I ó II. La resolución espontánea puede ocurrir. En la serie de Stanford la resolución espontánea ocurrió en el 53% y en la serie de Toronto en el 43%. Sin embargo el riesgo de progresión a rechazo más severo parece ser bajo, y existe una alta incidencia de histología similar después del tratamiento[21-22]. Aunque el verdadero impacto de estos hallazgos es desconocido, la detección y el tratamiento precoz del RA e infección, podría representar nuestra mejor oportunidad para mejorar los resultados a largo plazo. Sin embargo, aún no está claro si las BF de rutina actualmente mejoran los resultados. Las broncoscopias de rutina están siendo utilizadas en la mayoría de centros, pero su práctica no es uniforme y se están eliminado después del primer año postrasplante en los pacientes de bajo riesgo.

Hasta ahora el diagnóstico de rechazo se hace mediante el examen de la biopsia transbronquial (BTB). La sensibilidad y especificidad de la BTB para detectar el RA son altas. Sin embargo, la sensibilidad de la BTB para el diagnóstico de BO es baja, y varía de unos centros a otros. Este método, aunque moderadamente invasivo, tiene limitaciones como BTB de rutina: su sensibilidad depende del numero de biopsias, las infecciones por Pneumocistis carinii, citomegalovirus y herpes muestran infiltrados perivasculares similares a los vistos en el rechazo. Por ello, se trata de encontrar otros métodos menos cruentos y más eficaces que nos permitan el diagnóstico precoz del rechazo e infección.

El análisis del BAL está cobrando auge como método para la detección de rechazo y distinguir entre rechazo e infección, mediante la determinación de rnarcadores[23]. El contaje diferencial de las células BAL, los análisis fenotípicos por citometría de flujo, el análisis funcional como el test de los linfocitos primado y la determinación de

marcadores solubles como las citokinas en el BAL; así como el diagnóstico directo de agentes infecciosos, han sido y están siendo aplicados para la detección de rechazo e infección, basados en el BAL.

En el período postoperatorio inmediato pueden ocurrir frecuentemente atelectasias, neumonías, daño de isquemiareperfusion, siendo la clínica y la radiografía de tórax similares al RA.

Varios autores propusieron el uso del BAL para diferenciarlos del RA, mediante el análisis morfológico de las células del BAL en animales de experimentación[24-25]. Los hallazgos de estos experimentos no pudieron diferenciar cualquiera de estas patologías en el postoperatorio inmediato. Sin embargo, más tarde parece existir un aumento significativo de los linfocitos en la mayoría de los casos de RA.

La presencia de más de una entidad patológica en el postoperatorio inmediato hace que el análisis morfológico de las células del BAL sea de poco valor para diferenciar el RA de otros daños.

Otro medio de explorar el proceso inmunológico ha sido estudiar los subtipos de linfocitos T, durante el RA, mediante el uso de anticuerpos monoclonales.

El grupo de Pittsburg encuentra en receptores humanos de trasplante pulmonar, que durante el RA, hay un aumento de macrófagos, linfocitos CD8 y neutrófilos. Durante la infección por Pneumocistis y citomegalovirus, ambos linfocitos CD4 y CD8 están aumentados. También notaron que un aumento en la relación CD8/CD4 y un test de linfocitos primados positivo en las células del BAL puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de RC a largo plazo[26-27-28]. Sugieren que estas variables pueden ser útiles en la monitorización de la efectividad de la terapia inmunosupresora. Trabajos posteriores han confirmado esto y recientemente el grupo de Stanford encuentra en ausencia de infección, un aumento en la relación CD8/CD4 del BAL asociado con RA y BO, comparado con el grupo de no evidencia de rechazo[29]. Por lo tanto, esta técnica parece tener un potencial tremendo en el seguimiento de estos pacientes.

El ensayo de citotoxicidad mediada por células lectindependientes mide la citotoxicidad total de las células T: estudios de experimentación animal encuentran una fuerte correlación entre citotoxicidad de las células T del BAL y la severidad del rechazo. Además observaron que los cambios en la citotoxicidad de las células del BAL fueron notados en la fase inicial del rechazo pulmonar. Linfocitos T citotóxicos donoespecíficos son detectados 24-48 horas después de la detección de citotoxicidad mediada por células lectin-dependientes durante el rechazo[30]. Por tanto, el seguimiento de ambos test en las células del BAL puede ser esencial para la detección temprana de un RA inminente.

El test de proliferación espontánea cuantifica el grado de interacción alogénica entre las células inmunocompetentes del donante y receptor.

El test de linfocitos primados cuantifica la alorreactividad de los linfocitos infiltrantes hacia las células antigénicas del donante.

Los ensayos de la respuesta a la IL-2, indican la presencia de linfocitos T activados en el BAL.

La linfolisis mediada celularmente o test de citotoxicidad donoespecífica detecta los linfocitos T citotóxicos denoespecíficos en las células del BAL.

El grupo de Pittsburg ha encontrado que la presencia del test de linfocitos primados positivo en el BAL, de pacientes estables con BTB negativa, identifica muchos pacientes que posteriormente desarrollaron BO; teniendo una sensibilidad del 83% y una especificidad del 91% en detectar BO[16]. También describen una asociación entre infección por CMV y un aumento de la alorreactividad dorioespecífica de los linfocitos del BAL y un alto riesgo de BO.

El líquido del BAL también ha sido analizado de sustancias o marcadores solubles del rechazo o infección. El aumento de los niveles de tromboxano B2 en el BAL ha sido correlacionado con rechazo[31].

Sustancias vasoactivas tales como la enzima convertidora de la angiotensina y la endotelina también están siendo estudiadas. Trabajos de Shennib muestran que la elevación de los niveles de endotelina-1 en el BAL, pueden jugar un papel importante en distinguir el daño isquemiareperfusión en el postrasplante inmediato[32].

Por último, están siendo estudiadas multitud de citokinas en el BAL. La determinación en el BAL de la IL-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF-α)[33], el receptor de la IL-2 (IL-2R)[34] están siendo utilizados para la detección de rechazo o infección del aloinjerto. El factor transformador del crecimiento (TGF-B2) es una citokina segregada por macrófagos alveolares y envuelta en la fibrosis pulmonar. En trabajos aún no publicados parece ser que es segregada en aumento en el RC antes de su detección.

El ácido hialurónico es un producto de los fibroblastos activos y posiblemente un indicador de la proliferación fibroblástica. Los niveles de ácido hialurónico en el BAL de pacientes con RA moderado o severo y con daño alveolar difuso fueron significativarnente mayores que en los pacientes con infección, rechazo leve o estables[35].

Trabajos de Hertz y cols. demuestran incremento del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) en el BAL de pacientes con BO después del trasplante pulmonar[36].

El BAL es ahora considerado el procedimiento diagnóstico de elección en los pacientes inmunodeprimidos con infiltrados pulmonares. Es particularmente sensible en el diagnóstico de patógenos oportunistas[37]. El uso del BAL para el diagnóstico de infecciones por bacterias ha generado una controversia considerable. Una importante limitación del BAL es distinguir entre colonización y enfermedad invasiva, particularmente cuando se detectan CMV y Aspergillus. En el trasplante pulmonar la detección de CMV en el BAL estaba asociada con neumonitis por CMV detectada en la BTB, en el 23% de los casos. Aunque la incidencia de positividad de la BTB fue alta, la positividad del BAL sola no sugiere neumonitis por CMV[38]. Estudios recientes sugieren que el hallazgo de hifas de Aspergillus en el BAL es altamente predictivo de aspergilosis invasiva pulmonar[39].

Por ultimo, la cuestión sería si se debe o no hacer la broncoscopia de rutina en los pacientes asintomáticos, con qué frecuencia y si ello tiene o no impacto en el tratamiento de estos pacientes. Para ello hay que tener en cuenta las limitaciones de la broncoscopia como método rutinario, que incluyen las complicaciones y el coste. Dado que los beneficios de la broncoscopia de rutina no han sido probados, incluso una complicación leve podría ser considerada inaceptable en pacientes asintomáticos. Un programa intenso de rutina requiere medios: staff, equipos, tiempo, y como el número de trasplantes continúa aumentado, las demandas llegarían a ser gravosas. La frecuencia de las broncoscopias deberían reflejar intereses clínicos y unas expectativas razonables de cambios en el tratamiento.

El uso de las broncoscopias de rutina no puede estar justificado después de los tres meses por comparaciones de riesgo/beneficio o costelbeneficio. Deberían ser instituidas en pacientes de alto riesgo. Estos incluyen pacientes con una reciente historia de rechazo (en los últimos tres meses, de infección pulmonar o RA grado III o mayor en los tres primeros meses. Y por último, no hay evidencia todavía de que centros con protocolos de broncoscopia de rutina hayan mejorado la supervivencia o bajado la prevalencia de BO, comparado con centros sin esta rutina. Por supuesto, los datos son aún muy limitados y el período de seguimiento corto.

Como conclusiones podemos afirmar que:

1. La BO es la mayor causa de morbimortalidad tardía después del trasplante pulmonar.
2. Existen evidencias que sugieren que la BO es una consecuencia del RC dirigido a la vía aérea.
3. La lesión patognomónica del RC es la BO.
4. La sensibilidad de la BTB es relativamente baja.
5. Son factores de riesgo predisponentes a RC, los episodios de RA y la neumonía por CMV.

6. El diagnóstico precoz y el tratamiento adecuado del RA o infección pueden mejorar los resultados a largo plazo.
7. El BAL y la BTB pueden esencialmente eliminar o diagnosticar infecciones oportunistas.
8. El análisis del BAL está cobrando auge como método de examen para la distinción entre infección y rechazo. El BAL no puede todavía predecir con seguridad los hallazgos de la BTB.
9. Estos métodos de análisis del BAL tienen todavía que ser aplicados a mayor número de pacientes con resultados más convincentes.
10. El BAL es particularmente útil en el diagnóstico de patógenos oportunistas.
11. Las limitaciones de la broncoscopia como método de seguimiento o de monitorización incluyen sus complicaciones y su coste.

BIBLIOGRAFíA

1. Hosenpud JD, Novick RJ, Bennett LE, et al. Registry of the Intemational Society for Heart and Lung Trasplantation: Thirteenth officila Report-1996. J Heart Lung Transplant 1996; 15: 655 - 74.

2. Organización Nacional de Trasplantes (0.N.T). Actividad trasplantes 1995.

3. Yousem SA, Dauber JA, Keenan R, et al. Does histologic acute rejection in lung allografts predicts the development of bronchiolitis obliterans? Transplantation 1991; 52: 306-9.

4. Keenan RJ, Lega ME, Dummer JS, et al. Cytomegalovirus serologic status and postoperative infection correlated with risk of developing chronic rejection after pulmonary transplantation. Transplantation 1991; 51: 433-8.

5. Yousem SA, Berry GJ, Cagle PT, et al. Revision of the 1990 Working Formulation for the elassification of pulmonary allograft rejection: Lung Rejection Study Group. J Heart Lung Transplant 1996,15: 1-5.

6. Krensky AM, Weis A, Crabtree G, Davis MM, Parham P. T-Lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection. N Engl J Med 1990; 322 (8): 510-5.

7. Burke MB, Glauville AR, Theodore J, Robin DE. Lung Inmunogenicity, rejection and obliterative bronchiolitis. Chest 1987; 92: 547-9.

8. Hertz MI. Pathogenesis of fibroproliferation in chronic rejection after lung transplantation. Abstract of 2nd International Congress on Lung transplatation. Paris September 1996; 15-6.

9. Hertz MI, Henke CA, Nakhleh RE, et al. Obliterative bronchiolitis after lung transplantation: a fibroproliferative disorder associated with platelet-derived growth factor. Proc Natl Acad Sei USA 1992; 89: 10335-89.

10. Dauber JH, Fabissiak JP, Zeevi A, Paradis IL, Yousem SA, Griffith BR Pathology of chronic rejection and the role of the allograft fibroblast in the pathogenesis. Abstract of Ist International Congress of lung transplantation. September 1994. Paris.

11. Romaniuk A, Prop J, Petersen AH, et al. Expression of class II major histocompatibility complex antigens by bronchial epithelium in rat lung allograft. Transplantation 1987; 44: 209-14.

12. Romaniuk A, Prop J, Petersen AH, et al. Expression of class II major histocompatibility complex antigens by bronchial epithelium in rat lung allograft. Transplantation 1987; 44: 209-14.

13. Chang SG, Hsu HK, Perng RP, et al. Increased expression of MHC class II antigens in rejecting canine lung allograft. Transplantation 1990; 49: 1158-63.

14.- Zeevi A, Rabinowich H. Yousem SA, et al. Presence of donor specific alloreactivity in histologically normal lung allograft is predictive of subsequent bronchiolitis obliterans. Transplant Proc 1991; 23: 1128-9.

15. Zeevi A, Rabinowich H, Paradis I, et al. Lymphocyte activation in bronchoalveolar lavage from heart-lung transplant recipients. Transplant Proc 1988; XX: 189-92.

16. Griffith BP, Paradis IL, Zeevi A, et al. Inmunologically mediated disease of the airways after pulmonary transplantation. Ann Surg 1988; 208: 371-8.

17. Hurban RH, Beschomer WE, Baumgartner WA, et al. Diagnosis of lung allograft rejection by bronchial intraepithelial leu-7 positive lymphocytes. J Thorac Cardiovasc Surg 1988; 96: 939-46.

18. Yousem SA, Ray L, Paradis IL, et al. Potential role of dendritic cells in bronchiolitis obliterans in heart-lung transplantation. Ann Thorac Surg 1990; 49: 424-8.

19. Clelland C, Higenbottam T, Otulana B, et al. Histologic prognostic indicators for the lung allografts of heart-lung transplants. J Heart Transplant 1990; 9: 177-86.

20. Trulock EP, Ettinger NA, Brunt EA, Pasque MK, Kaiser LR, Cooper JD. The role of transbronchial lung biopsy in the treatment of lung transplant recipients: an analysis of 200 consecutive procedures. Chest 1992; 102: 1049-54.

21. Trulock EP. Is surveillance bronchoscopy indicated in lung transplant recipients? Pro surveillance. Journal of Bronchology 1995; 2: 69-73.

22. Stilwell PC, Mehta AC, Anoliga AC. Is surveillance bronchoscopy indicated in lung transplant recipients? with surveillance. Journal of Bronchology 1995; 2: 74-6.

23. Shennib H, Nguyen D. Bronchoalveoloar lavage in lung transplantation. Ann Thorac Surg 1991; 51: 335-40.

24. Whitelaw MW, Gigli P, Pepper JR. Bronchoalveolar lavage in lung transplantation. Thorac Cardiovasc Surg 1975; 69: 510-20.

25. Prop J, Waggenaer-Hilber JPA, Petersen AH, Wildevuur CRI---1. Characteristies of cells lavages from rejecting lung allografts in rats. Transplant Proc 1988; 20: 217-9.

26. Zeevi A, Rabinowich H, Paradis IL, et al. Lymphocytes activation in bronchoalveolar lavages from heart lung transplant recipients. Transplant Proc 1988; 20: 189-92.

27. Paradis IL, Zeevi A, Duquesnoy R, et al. Inmunologice risk factors for human chronic lung rejection. (Abstract) Am Rev Respir Dis 1988; 138-46.

28. Paradis IL, Zeevi A, Duquesnoy R, et al. Inmunologic aspects of chronic lung rejection in humans. Transplant Proc 1988; 20 (Suppl): 812-4.

29. Whitehead BF, Stoehr C, Finkle C, Patterson G, Theodore J, Clayberger C, Starnes VA. Analysis of BAL from human lung transplant recipients by flow cytometry. Respir Med 1995, Jan 89 **(1)** 27-34.

30. Emeson EE, Novin AJ, Veith Fl. Lectin dependent cell mediated cytotoxicity. A new and simple method to quantitatite cytotoxic T cell activity in dogs. Transplantation 1982; 33: 365-9.

31. Santillan-Doherty P, Odor-Morales A, Jasso R, et al. Thromboxane B2 and lung transplantation: correlation of rejection with levels detected in bronchoalveolar lavage. Transplant Proe 1989; 21: 3650-2.

32. Shennib H, Serrick C, Salen D, Adournie R, Stewart DJ, Giaid A. Alterations in bronchoalveolar lavage and plasma endothelin-1 levels early after lung transplantation. Transplantation 1995. Apr 15; 95 **(7)**: 994-8.

33. Magnan A, Mege JL, Raynaud M, Thomas P, Capo C, Garbe L, Meric B, Badier M, et cil. Monitoring of alveolar macrophage production of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in lung transplant recipients. Am J Respir Crit Care Med 1994 Sept 150 **(3)**: 684-9.

34. Ross DY, Yeh AY, Nathan SI), Toyoda M, Galera 0, Marchevsky A, et al. Differential soluble interleukin-2R levels in bilateral bronchoalveolar lavage after single lung transplantation. J Heart Lung Transplant 1994; Nov-Dec 13 **(6)**: 9729.

35. Rao PN, Zeevi A, Snyder J, Spichty K, Habrat T, Warty V, Dauber J, Paradis I, et al. Monitoring of acute lung rejection and infection by bronchoalveolar lavage and plasma levels of hyaluronic acid in clinical lung transplantation. J Heart Lung Transplant 1994 Nov-Dec 13 **(6)**: 958-62.

36. Hertz MI, Henke CA, Nakhleh KE, Harmon KR, Marinelli WA, Fox JM, Kubo SH, Shumway SJ, et al. Obliterative bronchiolitis after lung transplantation: a fibroproliférative disorder associated with platelet-derived growth factor. Proc Natl Acad Sei USA 1992 Nov 1; 89 **(21)**: 10385-9.

37. Stover DE, Zaman MB, Hejdu SI, Lange M, Gold J, et al. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates in the inmunosuppressed host. Ann Intem Med 1984; 101: 1-7.

38. Ettinger NA, Bailey TC, Trulock EP, Storch GA, Anderson D, Raab S, Spitznagel EL, Cooper JD. Cytornegalovirus pneumonitis: impact folowing isolated lung transplantation. Am Rev Respir Dis 1993; 147: 1017-23.

39. Levy H, Horak DA, Tegtmeier BR, Yokota SB, Forman SL The value of bronchoalveolar lavage and bronchial washings in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. Respir Med 1992; 86: 243-8.