

## Aspetti istopatologici della broncopneumopatia cronica ostruttiva

Graziella TURATO, Renzo ZUIN, Simonetta BARALDO, Chiara BADIN,  
Bianca BEGHÉ e Marina SAETTA

*Divisione di Pneumologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale,  
Università degli Studi, Padova*

**Riassunto.** - La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è una sindrome infiammatoria cronica del polmone caratterizzata da una bronco-ostruzione poco reversibile. Più che una singola malattia è un insieme di patologie che comprende la bronchite cronica, l'enfisema polmonare e, talvolta, l'asma bronchiale. La broncopneumopatia cronica ostruttiva è inoltre una malattia progressiva, caratterizzata da ricorrenti riacutizzazioni. Il fumo di sigaretta, che è il principale fattore di rischio per lo sviluppo della sindrome, è in grado di indurre alterazioni istopatologiche che coinvolgono il parenchima polmonare, le vie aeree periferiche e le vie aeree centrali. Poiché il parenchima polmonare e le vie aeree periferiche sono i siti responsabili della riduzione di flusso e le vie aeree centrali sono il sito responsabile dei sintomi di bronchite cronica, alterazioni istopatologiche presenti in queste zone del polmone sono determinanti per lo sviluppo della broncopneumopatia cronica ostruttiva.

*Parole chiave:* infiammazione, fumo di sigaretta, bronchite cronica, enfisema.

**Summary** (*Pathology of chronic obstructive pulmonary disease*). - Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a chronic inflammatory disorder of the lung characterized by poorly reversible airflow limitation. It is not a unique disease entity but rather a complex of conditions which include emphysema, chronic bronchitis and, sometimes, asthma. Moreover, COPD is a progressive disease often associated with exacerbations. Cigarette smoking, which is the most important risk factor for the development of COPD, induces pathological changes involving lung parenchyma, peripheral airways and central airways. Since lung parenchyma and peripheral airways are the sites responsible for airflow limitation and central airways are the main site of mucus hypersecretion, pathological changes in these compartments may be relevant in the development of COPD.

*Key words:* inflammation, cigarette smoking, chronic bronchitis, emphysema.

### Introduzione

Nelle recenti linee guida GOLD (*Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*) la broncopneumopatia cronica ostruttiva viene definita come “una malattia caratterizzata da una riduzione di flusso aereo poco reversibile, progressiva ed associata ad una anomala risposta infiammatoria dei polmoni all’inalazione di agenti, particelle o gas, nocivi” [1] (Tab. 1). E’ importante sottolineare che per la prima volta nella storia delle definizioni di broncopneumopatia cronica ostruttiva, la riduzione di flusso (o bronco-ostruzione) poco reversibile viene associata alla presenza di alterazioni infiammatorie enfatizzando il concetto che la broncopneumopatia cronica ostruttiva è una malattia infiammatoria del polmone.

Anche se l’eziopatogenesi della broncopneumopatia cronica ostruttiva è ancora in gran parte sconosciuta,

studi epidemiologici hanno identificato numerosi fattori che, agendo individualmente o interagendo tra loro in modo sinergico, possono svolgere un ruolo patogenetico nella malattia. Il fattore di rischio più importante per lo sviluppo della broncopneumopatia cronica ostruttiva è il fumo di sigaretta, ritenuto responsabile della malattia nel 90% dei casi. Il fumo di sigaretta è in grado di indurre nel polmone un processo infiammatorio da cui prendono probabilmente origine molte delle alterazioni istopatologiche che concorrono allo sviluppo della broncopneumopatia cronica ostruttiva. Tuttavia, non tutti i fumatori sviluppano la malattia, facendo supporre che altri fattori, ambientali o genetici, possano conferire ad alcuni soggetti la suscettibilità al fumo. I principali fattori ambientali che possono avere un ruolo nella patogenesi della broncopneumopatia cronica ostruttiva sono l’inquinamento atmosferico, alcune esposizioni professionali e le

**Tabella 1.** - Definizioni di broncopneumopatia cronica ostruttiva, bronchite cronica ed enfisema polmonare

---

<p><i>Broncopneumopatia cronica ostruttiva</i> (definizione basata sulla funzionalità respiratoria)</p> <p>Malattia caratterizzata da una riduzione di flusso aereo poco reversibile, progressiva ed associata ad una anomala risposta infiammatoria dei polmoni all'inalazione di agenti, particelle o gas, nocivi</p>
<p><i>Bronchite cronica</i> (definizione basata sui sintomi clinici)</p> <p>Malattia caratterizzata dalla presenza dei sintomi di tosse ed espettorato cronici per almeno tre mesi all'anno e per almeno due anni consecutivi</p>
<p><i>Enfisema polmonare</i> (definizione basata sull'anatomia-patologica)</p> <p>Malattia caratterizzata da distruzione e allargamento degli spazi aerei distali al bronchiolo terminale, in assenza di fibrosi estesa</p>

---

infezioni respiratorie contratte in età pediatrica. Per quanto riguarda i fattori genetici, l'unica anomalia fino ad ora identificata, che ha un ruolo accertato nella patogenesi della broncopneumopatia cronica ostruttiva, è il deficit ereditario di  $\alpha_1$ -antitripsina.

La broncopneumopatia cronica ostruttiva non è una singola malattia, ma una sindrome eterogenea e complessa che comprende diverse patologie, quali la bronchite cronica, l'enfisema polmonare e talvolta l'asma bronchiale. Queste, pur essendo caratterizzate da diversi fattori di rischio e da diversi meccanismi patogenetici, ad un certo stadio della loro storia naturale vengono tutte accomunate dallo sviluppo di una riduzione di flusso poco reversibile che giustifica il loro inserimento nella broncopneumopatia cronica ostruttiva. In questo contesto, l'asma bronchiale merita una particolare considerazione. Infatti l'asma, come la broncopneumopatia cronica ostruttiva, è una malattia infiammatoria cronica del polmone caratterizzata dalla presenza di una bronco-ostruzione; tuttavia, mentre nella broncopneumopatia cronica ostruttiva la bronco-ostruzione è poco reversibile, nell'asma è generalmente reversibile spontaneamente o con l'utilizzo di farmaci broncodilatatori. Tuttavia in alcuni soggetti, soprattutto di età avanzata, l'asma si può manifestare con una bronco-ostruzione poco reversibile che rende questi pazienti indistinguibili dal punto di vista funzionale da quelli con broncopneumopatia cronica ostruttiva. In questi soggetti, la conoscenza delle caratteristiche istopatologiche rende possibile una diagnosi differenziale tra asma e broncopneumopatia cronica ostruttiva ed assicura un trattamento terapeutico adeguato.

L'enfisema polmonare e la bronchite cronica, che sono da tempo riconosciuti come i principali componenti della forma tipica di broncopneumopatia

cronica ostruttiva, in base alla loro definizione appaiono poco accomunabili. Infatti l'enfisema viene definito su base anatomico-patologica come distruzione e allargamento degli spazi aerei distali al bronchiolo terminale, in assenza di fibrosi estesa, mentre la bronchite cronica viene definita clinicamente sulla base della presenza dei sintomi di tosse ed espettorato cronici per almeno tre mesi all'anno e per almeno due anni consecutivi (Tab. 1). Mentre è noto che la distruzione parenchimale caratteristica dell'enfisema può contribuire alla riduzione di flusso riducendo la forza di retrazione elastica del polmone, la relazione tra sintomi di bronchite cronica e riduzione di flusso aereo non è ancora del tutto chiara. Nella maggior parte dei pazienti i sintomi di bronchite cronica precedono lo sviluppo della riduzione di flusso aereo mentre in altri ci può essere un'importante riduzione di flusso aereo in assenza di sintomi di bronchite cronica. Infine ci sono alcuni pazienti con tosse ed espettorato cronici che non sviluppano mai la riduzione di flusso aereo. In questo contesto è utile osservare che le linee guida GOLD, differenziandosi da linee guida precedenti, pur riconoscendo che l'enfisema e la bronchite cronica sono componenti importanti della broncopneumopatia cronica ostruttiva, non enfatizzano più le due entità come unici agenti causali della malattia.

La broncopneumopatia cronica ostruttiva è una malattia progressiva, caratterizzata da ricorrenti riacutizzazioni, che in alcuni pazienti può diventare estremamente grave e invalidante. Fino a poco tempo fa, l'unico fattore in grado di accelerare il declino della funzionalità respiratoria nei soggetti suscettibili era il persistere dell'abitudine al fumo di sigaretta. Recentemente è stato dimostrato che un altro fattore capace di accelerare il declino del volume espiratorio massimo in un secondo (VEMS) nei soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva è la frequenza delle riacutizzazioni [2]. Infatti nei pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva che hanno avuto numerose riacutizzazioni il declino annuo del VEMS è maggiore rispetto a quello osservato in pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva che hanno avuto poche riacutizzazioni. Alla luce di questa nuova osservazione le riacutizzazioni, che già avevano una notevole importanza clinica, assumono un ruolo determinante anche nella storia naturale della malattia. Nonostante questo, una definizione standardizzata delle riacutizzazioni di broncopneumopatia cronica ostruttiva non è ancora stata formulata e, a differenza di quanto è avvenuto per l'asma, esse non sono state incluse nella definizione di broncopneumopatia cronica ostruttiva.

In sintesi, la broncopneumopatia cronica ostruttiva è una malattia infiammatoria cronica del polmone, dovuta al fumo di sigaretta e caratterizzata da una bronco-ostruzione poco reversibile. In questo articolo

esamineremo le alterazioni istopatologiche presenti nei polmoni dei fumatori sottolineando i possibili meccanismi responsabili dello sviluppo della riduzione di flusso aereo in tali soggetti. In particolare, vedremo il processo infiammatorio presente in soggetti fumatori con funzionalità respiratoria ancora normale e quello caratteristico dei soggetti che hanno sviluppato la broncopneumopatia cronica ostruttiva. Poiché questa malattia è progressiva e caratterizzata da ricorrenti riacutizzazioni, vedremo il quadro istopatologico presente quando la broncopneumopatia cronica ostruttiva diventa grave e quello che caratterizza le riacutizzazioni. Per valutare l'eventuale reversibilità delle lesioni istopatologiche presenti nella broncopneumopatia cronica ostruttiva vedremo poi l'effetto della cessazione del fumo e del trattamento con farmaci antinfiammatori; infine descriveremo il quadro istopatologico della broncopneumopatia cronica ostruttiva insorta in soggetti con storia clinica di asma bronchiale.

#### **Aspetti istopatologici nei fumatori con funzionalità respiratoria normale**

Nel 1974 il gruppo di Niewoehner ha dimostrato che alterazioni istopatologiche delle vie aeree periferiche sono già presenti nei polmoni di giovani fumatori che non hanno ancora sviluppato la broncopneumopatia cronica ostruttiva e che quindi hanno ancora una funzionalità respiratoria normale. Questi autori, esaminando i polmoni di giovani fumatori con funzionalità respiratoria normale deceduti accidentalmente, hanno dimostrato che il fumo di sigaretta induce un processo infiammatorio caratterizzato da infiltrazione di cellule mononucleate nella parete delle vie aeree periferiche e da aggregati di macrofagi nei bronchioli respiratori [3]. Poiché in questi giovani fumatori la risposta infiammatoria non era associata né a fibrosi né a distruzione parenchimale, gli autori hanno ipotizzato che potesse essere ancora reversibile [3]. Nel 1978 Cosio *et al.*, con un metodo semiquantitativo, hanno esaminato le vie aeree periferiche di un gruppo di fumatori ed hanno osservato che in questi soggetti non solo era presente un processo infiammatorio, ma che questo processo infiammatorio era associato ad alterazioni strutturali delle vie aeree periferiche che comprendevano ipertrofia del muscolo liscio e fibrosi [4].

Studi più recenti hanno confermato che il fumo di sigaretta di per sé è in grado di favorire una risposta infiammatoria. Il fumo infatti riduce il tempo di transito dei neutrofili attraverso il midollo osseo, causa leucocitosi e aumenta la proporzione di linfociti T CD8 sia nel sangue che nel lavaggio broncoalveolare. Come proposto da Manuel Cosio, il processo infiammatorio

innescato nelle vie aeree dal fumo di sigaretta rappresenterebbe una risposta non specifica ad uno stimolo dannoso. E' possibile che nei fumatori suscettibili, per motivi non ancora conosciuti, questa risposta infiammatoria non specifica possa accentuarsi e affiancarsi allo sviluppo di alterazioni strutturali delle vie aeree (e del parenchima) causando lo sviluppo e la progressione della broncopneumopatia cronica ostruttiva. Al contrario, nei fumatori non suscettibili, il processo infiammatorio non specifico potrebbe persistere nel polmone senza che si sviluppino né alterazioni strutturali né broncopneumopatia cronica ostruttiva [5].

#### **Aspetti istopatologici nei fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva**

La riduzione di flusso aereo poco reversibile che caratterizza la broncopneumopatia cronica ostruttiva è la conseguenza funzionale di alterazioni istopatologiche presenti nel polmone. Poiché i principali fattori che determinano il flusso aereo sono la pressione di spinta che lo genera e le resistenze che vi si oppongono, una riduzione di flusso può essere determinata o da una diminuzione della pressione di spinta o da un aumento delle resistenze [6]. La diminuzione della pressione di spinta è data principalmente dalla distruzione parenchimale caratteristica dell'enfisema, mentre l'aumento delle resistenze è dovuto soprattutto all'infiammazione delle vie aeree periferiche che, aumentando lo spessore della parete bronchiale, genera un restringimento del lume. Quindi, la riduzione di flusso aereo nei soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva è dovuta ad alterazioni istopatologiche che coinvolgono sia il parenchima polmonare che le vie aeree periferiche. Nella broncopneumopatia cronica ostruttiva, alterazioni istopatologiche sono presenti anche nelle vie aeree centrali ritenute il sito responsabile della iperproduzione di muco e quindi dei sintomi di bronchite cronica.

#### *Parenchima polmonare*

La principale alterazione istopatologica presente nel parenchima polmonare di soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva è la distruzione dei setti alveolari che caratterizza l'enfisema. L'enfisema viene infatti definito come distruzione e allargamento degli spazi aerei distali al bronchiolo terminale, in assenza di fibrosi estesa [7]. Quest'ultima affermazione (l'assenza di fibrosi) è in realtà controversa poiché alcuni studi hanno invece dimostrato che l'enfisema può essere associato ad un aumento di collagene e quindi alla presenza di fibrosi [8].

Nei fumatori sono stati descritti due tipi di enfisema che differiscono tra loro per la regione dell'acino interessata dalla distruzione: l'enfisema centroacinare (o centrolobulare) è caratterizzato da aree di distruzione localizzate intorno ai bronchioli terminali nella zona centrale dell'acino e circondate da aree di parenchima normale, mentre l'enfisema panacinare (o panlobulare) è caratterizzato dalla distruzione omogenea di tutto l'acino [9] (Tab. 2). Sebbene i due tipi di enfisema spesso coesistano nei fumatori, l'enfisema centroacinare è la forma più comunemente riscontrata. L'enfisema panacinare è spesso associato a deficit di  $\alpha_1$ -antitripsina, è caratteristico dei soggetti che sviluppano enfisema in età relativamente giovane e viene aggravato dall'abitudine al fumo. Le due principali forme di enfisema presentano distinte caratteristiche funzionali e un diverso coinvolgimento delle vie aeree periferiche [9]; infatti la perdita di forza di retrazione elastica è più marcata nell'enfisema panacinare rispetto al centroacinare, mentre le alterazioni infiammatorie delle vie aeree periferiche sono più evidenti nell'enfisema centroacinare rispetto al panacinare. Quindi la riduzione di flusso aereo che caratterizza entrambi i tipi di enfisema, potrebbe avere meccanismi fisiopatologici diversi: nell'enfisema centroacinare probabilmente prevale l'aumento delle resistenze determinato dall'infiammazione delle vie aeree periferiche, mentre nell'enfisema panacinare potrebbe prevalere la perdita di forza di retrazione elastica determinata dalla distruzione parenchimale. Questa ipotesi è rafforzata dal fatto che, nei fumatori con enfisema centroacinare la riduzione di flusso aereo è correlata al grado di infiammazione delle vie aeree e non alla perdita del richiamo elastico del polmone; al contrario nei fumatori con enfisema panacinare, la

riduzione di flusso aereo è correlata alla perdita di forza di retrazione elastica del polmone ma non al grado di infiammazione delle vie aeree [9].

Nell'enfisema, il processo di distruzione parenchimale, può essere messo in evidenza già nelle fasi precoci della malattia, quando le lesioni non sono ancora evidenti macroscopicamente [10]. Il significato funzionale di queste alterazioni precoci è dimostrato dalla sua correlazione con il grado di riduzione di flusso e con la perdita di forza di retrazione elastica del polmone [10]. Nei soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva, il processo di distruzione è associato alla presenza di una risposta infiammatoria nei setti alveolari costituita prevalentemente da linfociti T CD8. La correlazione osservata tra numero di linfociti T CD8 nei setti alveolari e grado di bronco-ostruzione sostiene l'ipotesi che queste cellule possano giocare un ruolo nello sviluppo di riduzione di flusso aereo nei fumatori [11].

Uno dei meccanismi patogenetici dell'enfisema polmonare è lo squilibrio del sistema proteasi/antiproteasi. Le proteasi, come l'elastasi, sono enzimi proteolitici capaci di degradare le componenti del tessuto connettivo polmonare, in particolare l'elastina. L'attività delle proteasi è antagonizzata dalle antiproteasi ed in particolare dell' $\alpha_1$ -antitripsina, uno dei principali inibitori specifici, che con la sua azione protegge i polmoni dall'attività di queste sostanze. L'ipotesi di uno squilibrio del sistema proteasi/antiproteasi è nata dall'osservazione che in alcuni soggetti la presenza di enfisema è associata ad un deficit dell' $\alpha_1$ -antitripsina; tuttavia studi epidemiologici hanno dimostrato che tale deficit è presente in meno dell'1% dei pazienti con enfisema polmonare. E' chiaro che altri fattori, presumibilmente legati al fumo di sigaretta, sono responsabili dello squilibrio del sistema proteasi/antiproteasi nella maggior parte dei pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva; infatti il fumo di sigaretta causa il richiamo e l'attivazione di cellule infiammatorie, in particolare macrofagi e neutrofili, che secernono proteasi quali l'elastasi neutrofila e le metalloproteasi di matrice capaci di degradare il tessuto polmonare.

Nonostante l'ipotesi dello squilibrio proteasi/antiproteasi sia la più accreditata, la patogenesi della distruzione del parenchima polmonare nell'uomo rimane ancora controversa. Mentre sono numerosi gli studi che hanno esaminato i meccanismi attraverso i quali il processo infiammatorio porta alla distruzione parenchimale in modelli animali, mancano dati convincenti su tali meccanismi nell'uomo. Vi sono infatti malattie infiammatorie del polmone, come la polmonite ed il distress respiratorio acuto dell'adulto, caratterizzate da un'importante neutrofilia (quindi elevato carico di proteasi) che non sviluppano in realtà enfisema. Questa osservazione mette in discussione la

**Tabella 2.** - Principali alterazioni istopatologiche nella broncopneumopatia cronica ostruttiva

*Parenchima polmonare*

Distruzione delle pareti alveolari localizzate intorno ai bronchioli terminali, nella zona centrale dell'acino (enfisema centrolobulare)

Distruzione omogenea di tutto l'acino (enfisema panlobulare)

*Vie aeree periferiche*

Infiltrazione di linfociti T CD8

Ipertrofia del muscolo liscio

Fibrosi della parete

Distruzione degli attacchi alveolari

Iperplasia delle cellule calciformi mucipare

*Vie aeree centrali*

Infiltrazione di macrofagi e linfociti T CD8

validità dello squilibrio proteasi/antiproteasi come unico meccanismo responsabile di questa malattia nell'uomo.

#### *Vie aeree periferiche*

Nella broncopneumopatia cronica ostruttiva, come nell'asma bronchiale, le vie aeree sono caratterizzate dalla presenza di un processo infiammatorio che potrebbe a sua volta essere responsabile di un rimodellamento strutturale delle vie aeree stesse. Questa interessante ipotesi è tuttora oggetto di dibattito. Rimane infatti ancora da chiarire se le alterazioni strutturali delle vie aeree siano una conseguenza del processo infiammatorio o rappresentino un processo parallelo ma indipendente.

Le principali alterazioni istopatologiche presenti nelle vie aeree periferiche di soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva sono: l'infiammazione, l'ipertrofia del muscolo liscio, la fibrosi, la distruzione degli attacchi alveolari e l'iperplasia delle cellule calciformi mucipare (Tab. 2). Anche se i meccanismi attraverso i quali queste alterazioni istopatologiche possono contribuire alla riduzione di flusso aereo non sono del tutto noti, vi sono numerose ipotesi. L'infiammazione, l'ipertrofia del muscolo liscio e la fibrosi possono contribuire allo sviluppo della broncoostruzione attraverso l'aumento dello spessore della parete bronchiolare, che a sua volta causa un restringimento del lume e quindi un aumento delle resistenze. La correlazione, osservata nei fumatori, tra aumento dello spessore del muscolo liscio e grado di broncoostruzione rafforza questa ipotesi e suggerisce che il "rimodellamento" strutturale delle vie aeree periferiche possa giocare un ruolo importante nello sviluppo della riduzione di flusso in questi soggetti [12].

L'infiammazione presente nelle vie aeree periferiche può favorire la broncoostruzione non solo attraverso l'aumento dello spessore della parete, ma anche tramite altri processi come la distruzione degli attacchi alveolari, ovvero di quelle pareti alveolari, che ancorandosi alle vie aeree, contribuiscono a mantenerle aperte [13]. E' stato infatti dimostrato che nei fumatori il grado di distruzione degli attacchi alveolari è maggiore rispetto ai non fumatori ed è positivamente correlato al grado di infiammazione delle vie aeree periferiche [13]. E' possibile che l'azione litica di mediatori prodotti dalle cellule infiammatorie che infiltrano la parete bronchiolare indebolisca il tessuto alveolare facilitandone la rottura, in particolare nel punto di attacco fra parete alveolare e parete bronchiolare, dove probabilmente lo stress meccanico è massimo. L'importanza della distruzione degli attacchi alveolari come meccanismo responsabile della riduzione al flusso aereo è avvalorata dal fatto che nei fumatori il grado di distruzione degli attacchi

alveolari è correlato non solo con l'infiammazione delle vie aeree periferiche, ma anche con la perdita di forza di retrazione elastica del polmone [13] e con il grado di broncoostruzione [14].

E' solo nell'ultimo decennio che si è pervenuti ad una precisa quantificazione e caratterizzazione della risposta infiammatoria presente nelle vie aeree periferiche di soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva e da questa analisi è emerso che la cellula principalmente coinvolta è il linfocita T CD8 [12]. E' importante osservare che un aumento di questi linfociti è stato riportato anche nelle vie aeree centrali [15], nel parenchima polmonare, nelle arterie polmonari [11] e nei linfonodi di soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva [16], avvalorando l'ipotesi che un processo infiammatorio omogeneo (caratterizzato dalla prevalenza dello stesso tipo cellulare) coinvolga l'intero albero tracheobronchiale. In ognuna di queste zone del polmone i linfociti T CD8, non solo sono aumentati di numero, ma sono anche correlati al grado di broncoostruzione, facendo supporre che essi abbiano un ruolo estremamente importante nella patogenesi della malattia [11, 15, 16].

Uno dei paradigmi dell'immunologia è che la natura di una risposta immunologica ad uno stimolo antigenico sia determinata dal tipo di citochine prodotte dai linfociti T attivati e dal tipo di recettore per le chemochine che possono esprimere. I linfociti T di tipo 1 producono citochine come l'interferone- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), che ha un ruolo cruciale nell'attivazione dei macrofagi e nella risposta alle infezioni virali e batteriche, mentre i linfociti T di tipo 2 producono citochine come l'interleuchina (IL)-4 e l'IL-5, coinvolte nella risposta IgE-mediata e nell'eosinofilia caratteristiche delle malattie allergiche. I linfociti T di tipo 1 e quelli di tipo 2 non solo producono citochine diverse, ma esprimono anche recettori per le chemochine diversi. Il recettore CXCR3 viene infatti selettivamente espresso sui linfociti T di tipo 1 e può essere considerato un marcatore della risposta infiammatoria di tipo 1. Di recente è stato dimostrato che, nelle vie aeree periferiche di soggetti fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva, vi è una aumentata espressione del recettore CXCR3 e che questo recettore viene espresso da linfociti T CD8 IFN- $\gamma$  positivi [17]. Questi risultati fanno ipotizzare che nella broncopneumopatia cronica ostruttiva, la risposta infiammatoria sia di tipo 1, a differenza di quanto avviene nell'asma bronchiale, dove è stata invece dimostrata la presenza di una risposta infiammatoria di tipo 2.

Il ruolo svolto dall'infiammazione nella patogenesi della broncopneumopatia cronica ostruttiva dipende non solo dal tipo di cellula presente e dalle citochine che essa produce, ma anche dalla distribuzione del processo infiammatorio nei differenti compartimenti

della parete bronchiolare (sottomucosa e avventizia). Una variazione della distribuzione dell'infiltrato infiammatorio nei diversi compartimenti della parete bronchiolare può infatti causare una variazione della concentrazione dei mediatori infiammatori rilasciati e la formazione di gradienti locali che possono influenzare la risposta infiammatoria stessa. E' stato osservato che nei fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva (e non nei fumatori con funzionalità respiratoria normale o nei non fumatori) la densità di cellule infiammatorie è maggiore nella sottomucosa (compresa tra la membrana basale e il muscolo liscio) rispetto all'avventizia (compresa tra muscolo liscio e parenchima) e che in questi pazienti la densità di cellule infiammatorie nella sottomucosa è positivamente correlata al grado di bronco-ostruzione [18]. Questi risultati suggeriscono che un'inflammatione localizzata prevalentemente nella sottomucosa sia una caratteristica peculiare della broncopneumopatia cronica ostruttiva in grado di favorire la riduzione di flusso aereo attraverso un aumento dello spessore della sottomucosa stessa che, amplificando l'effetto della contrazione del muscolo liscio, favorirebbe la riduzione del calibro delle vie aeree.

Nella broncopneumopatia cronica ostruttiva è stato osservato anche un aumento del numero di cellule caliciformi mucipare che può contribuire all'aumento delle resistenze e quindi alla riduzione di flusso aereo [18]. Le cellule caliciformi mucipare potrebbero infatti sostituire le cellule di Clara causando un aumento della produzione di muco e riducendo la produzione di surfattante bronchiolare (con conseguente aumento della tensione superficiale), favorendo così l'ostruzione delle vie aeree. Di particolare rilievo è il fatto che, nell'epitelio delle vie aeree periferiche dei fumatori, l'iperplasia delle cellule caliciformi mucipare sia associata ad un aumento del numero dei neutrofili [18]. E' stato dimostrato che, *in vitro*, l'elastasi dei neutrofili è in grado di esercitare un'energica azione secretogoga su cellule ghiandolari, ed è quindi possibile che la presenza di tali cellule nell'epitelio sia rilevante ai fini dell'attivazione della funzione secretoria delle cellule caliciformi mucipare.

#### *Vie aeree centrali*

Nelle vie aeree centrali lo sviluppo della bronco-ostruzione è associato a un aumento della infiltrazione di macrofagi e di linfociti T nella parete [19]. Esaminando le sottopopolazioni linfocitarie è stato osservato che, anche nelle vie aeree centrali, sono i linfociti T CD8 che aumentano e che il loro aumento è associato al grado di bronco-ostruzione [15]. Nella maggioranza dei fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva, a differenza di quanto osservato nell'asma bronchiale, non è presente né eosinofilia né ispessimento della membrana basale sottoepiteliale.

Mentre la parete delle vie aeree dei fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva è infiltrata da macrofagi e linfociti T CD8, nel lume prevalgono i neutrofili. Il meccanismo responsabile dell'accumulo di neutrofili nel lume non è completamente noto, è però plausibile che sia dovuto ad uno squilibrio tra citochine pro- ed anti-infiammatorie [6]. Infatti, nei fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva, è stata osservata una riduzione dell'interleuchina (IL)-10 (citochina che inibisce la risposta infiammatoria), un aumento di IL-8 (citochina con azione chemiotattica sui neutrofili) e di *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) (citochina che stimola l'espressione delle molecole di adesione). L'osservazione di una aumentata espressione delle molecole di adesione E-selettina e *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) sia sui vasi della zona sottoepiteliale che sull'epitelio bronchiale dei fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva [20] fa supporre che i neutrofili reclutati dai vasi del circolo bronchiale migrino verso il lume attraversando la zona sottoepiteliale e l'epitelio.

I neutrofili sono aumentati anche nelle ghiandole bronchiali dei fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva [21]. Poiché, come abbiamo detto prima, l'elastasi dei neutrofili ha un'importante azione secretogoga, questa particolare localizzazione della neutrofilia nelle ghiandole bronchiali potrebbe avere un ruolo cruciale nell'attivazione della loro funzione secretoria e quindi nell'induzione dell'iperproduzione di muco che caratterizza la bronchite cronica.

Il ruolo dei sintomi di bronchite cronica nello sviluppo della bronco-ostruzione è tuttora controverso [22-24]. Tradizionalmente la presenza di sintomi di bronchite cronica veniva ritenuta poco rilevante nello sviluppo della riduzione di flusso aereo [22]. L'osservazione che l'ipersecrezione di muco era associata ad un eccessivo declino della funzionalità respiratoria in una popolazione di soggetti che avevano già sviluppato bronco-ostruzione cronica, aveva fatto ipotizzare che i sintomi di bronchite cronica potessero invece avere un ruolo nello sviluppo della riduzione di flusso aereo [23]. Tuttavia questa ipotesi è stata ridiscussa alla luce dei risultati di uno studio recente focalizzato su soggetti con sintomi di bronchite cronica ma funzionalità respiratoria ancora normale [24], classificati secondo le linee guida GOLD come broncopneumopatia cronica ostruttiva allo "stadio 0" [1]. Questo studio ha dimostrato che in pazienti allo "stadio 0" la presenza di sintomi di bronchite cronica non è prognostica di un futuro sviluppo di riduzione di flusso aereo. Questi risultati fanno ipotizzare che i sintomi di bronchite cronica contribuiscono alla progressione ma non all'insorgenza della broncopneumopatia cronica ostruttiva.

### **Aspetti istopatologici nei fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva grave**

La broncopneumopatia cronica ostruttiva è caratterizzata da un progressivo peggioramento della bronco-ostruzione, che in alcuni pazienti può diventare estremamente grave e invalidante. Lo studio dei pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva grave è particolarmente importante perché la caratterizzazione del quadro istopatologico presente nei loro polmoni può contribuire a chiarire il motivo per cui solo in alcuni fumatori si assiste ad una progressione della malattia fino a raggiungere uno stadio invalidante. È interessante notare che la broncopneumopatia cronica ostruttiva grave ha un impatto socio-economico rilevante dovuto al fatto che, sebbene i pazienti con malattia grave rappresentino soltanto una piccola percentuale dei fumatori, essi richiedono interventi medico-assistenziali importanti e costosi.

L'analisi di prelievi di polmone ottenuti da pazienti sottoposti ad intervento chirurgico di riduzione dei volumi polmonari o da pazienti sottoposti a trapianto polmonare per enfisema offre l'opportunità unica di esaminare le caratteristiche istopatologiche di pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva grave e di correlare i parametri istopatologici con quelli clinico-funzionali.

Retamales *et al.*, che per primi hanno esaminato prelievi chirurgici ottenuti da pazienti sottoposti a intervento chirurgico di riduzione dei volumi polmonari per enfisema, hanno dimostrato che nell'enfisema grave vi è un'amplificazione del processo infiammatorio indotto dal fumo di sigaretta, e che questo processo coinvolge le pareti alveolari e gli spazi alveolari [25]. Un nostro studio recentemente ha esteso queste osservazioni dimostrando che, quando la broncopneumopatia cronica ostruttiva diventa grave, l'amplificazione della risposta infiammatoria coinvolge anche le vie aeree periferiche [26]. Nelle vie aeree periferiche di soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva grave è presente infatti un numero di leucociti totali (CD45+) più che raddoppiato rispetto a quello presente in soggetti fumatori di controllo, e l'infiltrazione di leucociti è inoltre correlata con la riduzione di flusso aereo, con il grado di iperinflazione, con la riduzione della diffusione del CO e con il grado di enfisema. Questi risultati fanno supporre che la risposta infiammatoria osservata nei soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva grave possa avere un ruolo nella progressione clinica della malattia. La quantificazione delle diverse cellule infiammatorie ha fatto rilevare che, nelle vie aeree periferiche, l'amplificazione della risposta infiammatoria era dovuta ad un aumento di linfociti T CD8+ e CD4+ nella parete e ad un aumento di macrofagi nell'epitelio [26]. Al contrario, nel parenchima polmonare, l'amplificazione della

risposta infiammatoria era dovuta ad un aumento di tutte le cellule infiammatorie, compresi i neutrofili [25]. Il ruolo svolto da queste ultime cellule nella gravità della broncopneumopatia cronica ostruttiva merita una particolare considerazione. Infatti un aumento di neutrofili correlato al grado di riduzione di flusso aereo è stato osservato anche nella parete delle vie aeree centrali di pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva grave [27]. Infine un'associazione tra presenza di neutrofilia e gravità della malattia è stata riportata anche nell'asma bronchiale e in particolare nell'asma grave steroide-dipendente [28]. Il ruolo svolto dal neutrofilo nella progressione delle due malattie non è tuttavia ancora chiaro, in particolare non è noto se il neutrofilo provochi un peggioramento dell'asma e della broncopneumopatia cronica ostruttiva, o se rappresenti solamente un indicatore della loro gravità.

Gli studi anatomico-funzionali autoptici focalizzati su soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva grave (che avessero eseguito le prove di funzionalità respiratoria quando erano in vita) sono sorprendentemente pochi e quasi sempre eseguiti su un piccolo numero di soggetti. Lo studio di correlazioni anatomico-funzionali più ampio è quello del gruppo di Nagai [29], che ha dimostrato che nei polmoni della maggior parte dei soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva erano presenti contemporaneamente sia distruzione parenchimale che infiammazione delle vie aeree periferiche. Sebbene il contributo relativo di ciascuna di queste due condizioni allo sviluppo della riduzione di flusso fosse difficile da stabilire, gli autori hanno concluso che l'enfisema svolgeva un ruolo dominante. Infatti quando le correlazioni venivano eseguite su tutti i soggetti dello studio (soggetti con enfisema grave, moderato e lieve) la riduzione di flusso aereo correlava con la distruzione parenchimale ma non con l'infiammazione delle vie aeree periferiche. Tuttavia, quando venivano considerati solo i soggetti con enfisema di grado lieve, il grado di riduzione di flusso correlava con l'infiammazione delle vie aeree periferiche. Secondo l'interpretazione di Snider [30] questi dati fanno supporre che, quando l'enfisema è di grado moderato o grave, la perdita di forza di retrazione elastica del polmone sovrasta e maschera l'effetto dell'infiammazione delle vie aeree periferiche sulla riduzione di flusso aereo. Al contrario, quando l'enfisema è di grado lieve, il contributo dell'infiammazione delle vie aeree periferiche alla riduzione di flusso aereo diventa evidente.

### **Aspetti istopatologici nelle riacutizzazioni di broncopneumopatia cronica ostruttiva**

Come abbiamo visto precedentemente uno dei fattori in grado di accelerare il declino annuo del VEMS nei soggetti con broncopneumopatia cronica

ostruttiva e quindi di svolgere un ruolo nella progressione della malattia, è la frequenza delle riacutizzazioni [2]. Sebbene una definizione standardizzata di riacutizzazioni di broncopneumopatia cronica ostruttiva non sia stata ancora formulata, una riacutizzazione lieve di broncopneumopatia cronica ostruttiva può essere definita clinicamente come un peggioramento dei sintomi di dispnea, tosse ed espettorato tale da far ricorrere il paziente alle cure mediche, mentre una riacutizzazione può essere considerata grave quando è associata ad insufficienza respiratoria acuta [31]. E' importante sottolineare che non tutte le riacutizzazioni sono caratterizzate da una riduzione marcata della funzionalità respiratoria.

I fattori eziologici delle riacutizzazioni di broncopneumopatia cronica ostruttiva non sono ancora del tutto noti, tuttavia appare sempre più evidente il coinvolgimento di infezioni, sia batteriche che virali [32-36]. I meccanismi attraverso i quali queste infezioni possono causare le riacutizzazioni della broncopneumopatia cronica ostruttiva sono poco conosciuti e ciò è in parte dovuto al fatto che soltanto pochi studi istopatologici hanno esaminato pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva durante una riacutizzazione. I risultati di questi studi, eseguiti su biopsie bronchiali, lavaggio broncoalveolare e, più recentemente, su espettorato spontaneo o indotto, hanno dimostrato un'amplificazione del processo infiammatorio associato ad un aumento della produzione di citochine proinfiammatorie [33-35, 37-39]. In particolare, le riacutizzazioni della broncopneumopatia cronica ostruttiva sono caratterizzate da un marcato reclutamento di neutrofili e da una aumentata espressione di IL-8, mieloperossidasi, e TNF- $\alpha$  [34, 35, 38]. L'IL-8 è una chemochina con azione chemotattica sui neutrofili, la mieloperossidasi è un indice di attivazione dei neutrofili e il TNF- $\alpha$  è una citochina capace di aumentare l'espressione delle molecole di adesione sulle cellule endoteliali, facilitando così la migrazione dei leucociti nel tessuto delle vie aeree. La presenza di questa flogosi neutrofilica ed il fatto che l'IL-8 correli con le conte batteriche [32] fanno ipotizzare che le infezioni batteriche svolgano un ruolo importante nelle riacutizzazioni della broncopneumopatia cronica ostruttiva, in particolare in quelle gravi. Questa ipotesi è avvalorata dall'osservazione del gruppo di Stockley di un'associazione tra purulenza dell'espettorato e presenza di batteri nelle riacutizzazioni gravi [36]. Nelle biopsie bronchiali di soggetti con una riacutizzazione lieve di broncopneumopatia cronica ostruttiva, la neutrofilia è associata ad una marcata eosinofilia e ad un aumento delle chemochine eotassina e RANTES (*regulated upon activation normal T cell expressed and secreted*) [37-39]. Questi risultati fanno ipotizzare che le infezioni virali, capaci di indurre la produzione sia di

eotassina che di RANTES, abbiano un ruolo importante nelle riacutizzazioni della broncopneumopatia cronica ostruttiva. Poiché RANTES è in grado di promuovere l'apoptosi di cellule infettate da virus agendo in sinergia con i linfociti T CD8, è possibile che, come suggerito da Zhu *et al.* [39], un aumento di RANTES dovuto a ripetute riacutizzazioni virali possa favorire la distruzione del tessuto alveolare nella broncopneumopatia cronica ostruttiva, malattia che come abbiamo visto, è caratterizzata da un infiltrazione di linfociti T CD8. Con questo meccanismo ripetute riacutizzazioni virali potrebbero favorire lo sviluppo di enfisema e quindi la perdita di funzionalità respiratoria. Questa ipotesi è rafforzata dalla recente osservazione che, nei soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva, una maggior frequenza di riacutizzazioni è associata ad un maggior declino della funzionalità respiratoria [2].

#### **Reversibilità delle lesioni istopatologiche nella broncopneumopatia cronica ostruttiva**

Come abbiamo visto, la broncopneumopatia cronica ostruttiva è una malattia infiammatoria cronica del polmone dovuta al fumo di sigaretta. E' quindi plausibile supporre che interventi come il trattamento con farmaci antinfiammatori o smettere di fumare possano far regredire le lesioni istopatologiche caratteristiche della broncopneumopatia cronica ostruttiva. Tuttavia, i pochi studi che hanno esaminato l'effetto della cessazione del fumo sull'infiammazione delle vie aeree hanno dimostrato che essa persiste in chi smette di fumare [40, 41], facendo supporre la presenza di meccanismi che mantengono attivo il processo infiammatorio anche senza l'esposizione diretta al fumo di sigaretta [42]. E' tuttavia importante sottolineare che smettere di fumare ha un importante effetto benefico sulla funzionalità respiratoria. Infatti, smettendo di fumare, il declino annuo del VEMS (che nei fumatori è maggiore rispetto a quello dei non fumatori) diviene simile a quello dei non fumatori.

La presenza nella broncopneumopatia cronica ostruttiva di una flogosi cronica ha fatto ipotizzare che il trattamento con corticosteroidi, la terapia più efficace per la cura dell'asma, possa avere effetto anche nella broncopneumopatia cronica ostruttiva. Tuttavia, il tipo di infiammazione caratteristico della broncopneumopatia cronica ostruttiva (neutrofili e linfociti) è diverso da quello caratteristico dell'asma (eosinofili) e non risponde al trattamento con steroidi, neppure a dosi elevate. Questa mancanza di effetto potrebbe esser dovuta al fatto che i corticosteroidi, che agiscono bene contro l'eosinofilia, prolungano invece la sopravvivenza dei neutrofili, attraverso l'inibizione della loro apoptosi. L'efficacia degli steroidi nelle ria-



**Tabella 3.** - Confronto tra broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) e asma bronchiale

Zona del polmone	BPCO	Asma bronchiale
<b>Vie aeree</b>		
Ispezzimento della membrana basale	no	si
Infiltrato infiammatorio	Linfociti T CD8 e macrofagi	Linfociti T CD4, eosinofili e mastociti
Citochine	INF- $\gamma$ (tipo Th1)	IL-4, IL-5 (tipo Th2)
<b>Parenchima</b>		
Infiltrato infiammatorio	Linfociti T CD8	Linfociti T CD4 ed eosinofili (nell'asma notturno)
Distruzione	si	no
Fibrosi	si	no

cutizzazioni di broncopneumopatia cronica ostruttiva potrebbe essere dovuta al fatto che, come abbiamo visto, durante le riacutizzazioni il processo infiammatorio si modifica e compare una marcata eosinofilia che non è presente in condizioni di base [38]. L'idea che la presenza di eosinofilia possa essere predittivo di una buona risposta al trattamento con corticosteroidi è rafforzata dai risultati di Chanez *et al.* che hanno dimostrato la presenza di eosinofilia nelle vie aeree di pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva che miglioravano la loro funzionalità respiratoria in risposta ad un breve ciclo di trattamento con steroidi [43].

#### Aspetti istopatologici in soggetti con broncopneumopatia cronica ostruttiva dovuta a storia di asma

La broncopneumopatia cronica ostruttiva e l'asma bronchiale sono due malattie che, nella loro forma tipica, sono chiaramente differenziabili perché caratterizzate da una bronco-ostruzione che è poco reversibile nella broncopneumopatia cronica ostruttiva e reversibile nell'asma. Tuttavia in alcuni soggetti, soprattutto di età avanzata, la diagnosi differenziale tra le due malattie diventa più difficile. E' stato infatti osservato che, con l'avanzare dell'età, alcuni soggetti asmatici possono sviluppare una bronco-ostruzione poco reversibile. Poiché la misura della funzionalità respiratoria non viene ancora considerata uno strumento fondamentale di diagnosi, spesso accade che pazienti con storia di asma vengano valutati funzionalmente, per la prima volta, in età avanzata, quando hanno già sviluppato una bronco-ostruzione poco reversibile e vengano quindi considerati come pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva. E' di particolare rilievo notare che una corretta diagnosi differenziale tra asma e broncopneumopatia cronica ostruttiva in questi pazienti è di fondamentale importanza se si considera che la storia naturale e

soprattutto la risposta al trattamento farmacologico sono diversi nelle due malattie. Studi epidemiologici hanno dimostrato che i pazienti con bronco-ostruzione poco reversibile che hanno avuto una storia clinica di asma sono circa il 30%.

E' ormai noto che la bronco-ostruzione reversibile tipica dell'asma è associata ad un processo infiammatorio caratteristico, costituito da un'aumentata infiltrazione di eosinofili, mastociti e linfociti T CD4, e da ispessimento della membrana basale reticolare sottoepiteliale [44]. Come abbiamo visto, la bronco-ostruzione poco reversibile tipica della broncopneumopatia cronica ostruttiva è invece associata ad un processo infiammatorio diverso, caratterizzato da un'aumentata infiltrazione di linfociti T CD8, assenza di eosinofilia e assenza di ispessimento della membrana basale, almeno nella maggior parte dei soggetti (Tab. 3). Fino a poco tempo fa ancora non era noto se le caratteristiche dell'infiammazione presente nei soggetti asmatici si modificassero con lo sviluppo della bronco-ostruzione poco reversibile, con uno spostamento dall'infiammazione caratteristica dell'asma a quella caratteristica della broncopneumopatia cronica ostruttiva. Questo problema è stato recentemente affrontato in uno studio eseguito su biopsie bronchiali di un gruppo di soggetti con bronco-ostruzione poco reversibile che avevano più di 50 anni. I risultati hanno dimostrato che, tra questi soggetti, quelli con storia clinica di asma avevano un ispessimento della membrana basale sottoepiteliale, e un'aumentata infiltrazione di eosinofili e di linfociti T CD4, che non erano presenti nei soggetti con storia di fumo (che non avevano mai avuto storia di asma) [45]. E' importante sottolineare che in questo studio i soggetti con storia clinica di asma e quelli con storia di fumo avevano identiche caratteristiche cliniche e funzionali. I risultati ottenuti fanno supporre che la bronco-ostruzione poco reversibile non sia un'unica malattia, ma sia associata ad un quadro istopatologico diverso che dipende dalla storia clinica del paziente. In particolare, i soggetti con

storia di asma mantengono il processo infiammatorio caratteristico dell'asma anche quando sviluppano bronco-ostruzione poco reversibile, e questo processo infiammatorio è ben diverso da quello presente nei pazienti con la forma tipica di broncopneumopatia cronica ostruttiva dovuta a storia di fumo.

E' possibile che queste differenze nel quadro istopatologico possano spiegare la migliore risposta agli steroidi e la miglior prognosi osservate nei soggetti con bronco-ostruzione poco reversibile dovuta ad asma rispetto a quella dovuta a fumo di sigaretta.

Lavoro presentato su invito.

Accettato il 1 luglio 2003.

### BIBLIOGRAFIA

- Pauwels RA, Buist AS, Calverley PM, Jenkins CR, Hurd SS; GOLD Scientific Committee. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Workshop summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1256-76.
- Donaldson GC, Seemungal TA, Bhowmik A, Wedzicha JA. Relationship between exacerbation frequency and lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2002;57:847-52.
- Niewoehner DE, Kleinerman J, Rice DB. Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Engl J Med* 1974;291:755-8.
- Cosio M, Ghezzi H, Hogg JC, Corbin R, Loveland M, Dosman J, Macklem PT. The relations between structural changes in small airways and pulmonary function tests. *N Engl J Med* 1978;298:1277-81.
- Cosio MG, Majo J. Inflammation of the airways and lung parenchyma in COPD: role of T cells. *Chest* 2002;121(5 Suppl):160S-165S.
- Saetta M, Turato G, Maestrelli P, Mapp CE, Fabbri LM. Cellular and structural bases of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1304-9.
- Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:S77-121.
- Lang MR, Fiaux GW, Gillooly M, Stewart JA, Hulmes DJ, Lamb D. Collagen content of alveolar wall tissue in emphysematous and non-emphysematous lungs. *Thorax* 1994;49:319-26.
- Kim WD, Eidelman DH, Izquierdo JL, Ghezzi H, Saetta MP, Cosio MG. Centrilobular and panlobular emphysema in smokers. Two distinct morphologic and functional entities. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:1385-90.
- Saetta M, Shiner RJ, Angus GE, Kim WD, Wang NS, King M, Ghezzi H, Cosio MG. Destructive index: a measurement of lung parenchymal destruction in smokers. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:764-9.
- Saetta M, Baraldo S, Corbino L, Turato G, Braccioni F, Rea F, Cavallese G, Tropeano G, Mapp CE, Maestrelli P, Ciaccia A, Fabbri LM. CD8+ve cells in the lungs of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:711-7.
- Saetta M, Di Stefano A, Turato G, Facchini FM, Corbino L, Mapp CE, Maestrelli P, Ciaccia A, Fabbri LM. CD8+ T-lymphocytes in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:822-6.
- Saetta M, Ghezzi H, Kim WD, King M, Angus GE, Wang NS, Cosio MG. Loss of alveolar attachments in smokers. A morphometric correlate of lung function impairment. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:894-900.
- Corsico A, Milanese M, Baraldo S, Casoni GL, Papi A, Riccio AM, Cerveri I, Saetta M, Brusasco V. Small airway morphology and lung function in the transition from normality to chronic airway obstruction. *J Appl Physiol* 2003;95:441-7.
- O'Shaughnessy TC, Ansari TW, Barnes NC, Jeffery PK. Inflammation in bronchial biopsies of subjects with chronic bronchitis: inverse relationship of CD8+ T lymphocytes with FEV<sub>1</sub>. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:852-7.
- Saetta M, Turato G, Beghé B, Casoni GL, Bellettato CM, Zuin R, Rea F, Fabbri LM, Papi A. Increased proportion of CD8+ T-lymphocytes in the paratracheal lymph nodes of smokers with mild COPD. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2003;20:28-32.
- Saetta M, Mariani M, Panina-Bordignon P, Turato G, Buonsanti C, Baraldo S, Bellettato CM, Papi A, Corbetta L, Zuin R, Sinigaglia F, Fabbri LM. Increased expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand CXCL10 in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:1404-9.
- Saetta M, Turato G, Baraldo S, Zanin A, Braccioni F, Mapp CE, Maestrelli P, Cavallese G, Papi A, Fabbri LM. Goblet cell hyperplasia and epithelial inflammation in peripheral airways of smokers with both symptoms of chronic bronchitis and chronic airflow limitation. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1016-21.
- Di Stefano A, Turato G, Maestrelli P, Mapp CE, Ruggieri MP, Roggeri A, Boschetto P, Fabbri LM, Saetta M. Airflow limitation in chronic bronchitis is associated with T-lymphocyte and macrophage infiltration of the bronchial mucosa. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:629-32.
- Di Stefano A, Maestrelli P, Roggeri A, Turato G, Calabro S, Potena A, Mapp CE, Ciaccia A, Covacev L, Fabbri LM, et al. Upregulation of adhesion molecules in the bronchial mucosa of subjects with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:803-10.
- Saetta M, Turato G, Facchini FM, Corbino L, Lucchini RE, Casoni G, Maestrelli P, Mapp CE, Ciaccia A, Fabbri LM. Inflammatory cells in the bronchial glands of smokers with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1633-9.
- Peto R, Speizer FE, Cochrane AL, Moore F, Fletcher CM, Tinker CM, Higgins IT, Gray RG, Richards SM, Gilliland J, Norman-Smith B. The relevance in adults of air-flow obstruction, but not of mucus hypersecretion, to mortality from chronic lung disease. Results from 20 years of prospective observation. *Am Rev Respir Dis* 1983;128:491-500.
- Vestbo J, Prescott E, Lange P. Association of chronic mucus hypersecretion with FEV<sub>1</sub> decline and chronic obstructive pulmonary disease morbidity. Copenhagen City Heart Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1530-5.

24. Vestbo J, Lange P. Can GOLD Stage 0 provide information of prognostic value in chronic obstructive pulmonary disease? *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:329-32.
25. Retamales I, Elliott WM, Meshi B, Coxson HO, Pare PD, Sciruba FC, Rogers RM, Hayashi S, Hogg JC. Amplification of inflammation in emphysema and its association with latent adenoviral infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:469-73.
26. Turato G, Zuin R, Miniati M, Baraldo S, Rea F, Beghe B, Monti S, Formichi B, Boschetto P, Harari S, Papi A, Maestrelli P, Fabbri LM, Saetta M. Airway inflammation in severe chronic obstructive pulmonary disease: relationship with lung function and radiologic emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:105-10.
27. Di Stefano A, Capelli A, Lusuadi M, Balbo P, Vecchio C, Maestrelli P, Mapp CE, Fabbri LM, Donner CF, Saetta M. Severity of airflow limitation is associated with severity of airway inflammation in smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1277-85.
28. Wenzel SE, Szeffler SJ, Leung DY, Sloan SI, Rex MD, Martin RJ. Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:737-43.
29. Nagai A, West WW, Paul JL, Thurlbeck WM. The National Institutes of Health Intermittent Positive-Pressure Breathing trial: pathology studies. I. Interrelationship between morphologic lesions. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:937-45.
30. Snider GL. Chronic obstructive pulmonary disease - a continuing challenge. *Am Rev Respir Dis* 1986;133:942-4.
31. Fabbri L, Beghe B, Caramori G, Papi A, Saetta M. Similarities and discrepancies between exacerbations of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1998;53:803-8.
32. Patel IS, Seemungal TA, Wilks M, Lloyd-Owen SJ, Donaldson GC, Wedzicha JA. Relationship between bacterial colonisation and the frequency, character, and severity of COPD exacerbations. *Thorax* 2002;57:759-64.
33. Seemungal T, Harper-Owen R, Bhowmik A, Moric I, Sanderson G, Message S, MacCallum P, Meade TW, Jeffries DJ, Johnston SL, Wedzicha JA. Respiratory viruses, symptoms, and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1618-23.
34. Crooks SW, Bayley DL, Hill SL, Stockley RA. Bronchial inflammation in acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis: the role of leukotriene B4. *Eur Respir J* 2000;15:274-80.
35. Aaron SD, Angel JB, Lunau M, Wright K, Fex C, Le Saux N, Dales RE. Granulocyte inflammatory markers and airway infection during acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:349-55.
36. Stockley RA, O'Brien C, Pye A, Hill SL. Relationship of sputum color to nature and outpatient management of acute exacerbations of COPD. *Chest* 2000;117:1638-45.
37. Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P, Turato G, Mapp CE, Pieno M, Zanguochi G, Del Prete G, Fabbri LM. Airway eosinophilia and expression of interleukin-5 protein in asthma and in exacerbations of chronic bronchitis. *Clin Exp Allergy* 1996;26:766-74.
38. Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P, Turato G, Ruggieri MP, Roggeri A, Calcagni P, Mapp CE, Ciaccia A, Fabbri LM. Airway eosinophilia in chronic bronchitis during exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:1646-52.
39. Zhu J, Qiu YS, Majumdar S, Gamble E, Matin D, Turato G, Fabbri LM, Barnes N, Saetta M, Jeffery PK. Exacerbations of bronchitis. Bronchial eosinophilia and gene expression for interleukin-4, interleukin-5, and eosinophil chemoattractants. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:109-16.
40. Turato G, Di Stefano A, Maestrelli P, Mapp CE, Ruggieri MP, Roggeri A, Fabbri LM, Saetta M. Effect of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:1262-7.
41. Rutgers SR, Kerstjens HA, Timens W, Tzanakis N, Kauffman HF, Postma DS. Ongoing airway inflammation in patients with COPD who do not currently smoke. *Chest* 2000;117(5 Suppl 1):262S.
42. Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2000;343:269-80.
43. Chanez P, Vignola AM, O'Shaughnessy T, Enander I, Li D, Jeffery PK, Bousquet J. Corticosteroid reversibility in COPD is related to features of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1529-34.
44. Kraft M, Martin RJ, Wilson S, Djukanovic R, Holgate ST. Lymphocyte and eosinophil influx into alveolar tissue in nocturnal asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:228-34.
45. Fabbri LM, Romagnoli M, Corbetta L, Casoni G, Busljetic K, Turato G, Ligabue G, Ciaccia A, Saetta M, Papi A. Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:418-24.