

Fisiopatologia della broncopneumopatia cronica ostruttiva

Piero MAESTRELLI

*Dipartimento di Medicina Ambientale e Sanità Pubblica,
Servizio di Fisiopatologia Respiratoria, Università degli Studi, Padova*

Riassunto. - La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è caratterizzata da ostruzione al flusso delle vie aeree non completamente reversibile e progressiva. I sintomi come tosse, espettorato e dispnea, le alterazioni funzionali e le complicanze della BPCO possono essere tutti spiegati dal processo infiammatorio polmonare di fondo e dalle conseguenti alterazioni anatomopatologiche. L'ostruzione cronica al flusso espiratorio origina dalla combinazione di un processo patologico a carico delle piccole vie aeree (bronchiolite ostruttiva) e della distruzione parenchimale polmonare (enfisema). L'infiammazione cronica causa alterazioni che portano al restringimento delle piccole vie aeree. La distruzione del parenchima polmonare, pure dovuta al processo infiammatorio, porta alla perdita degli attacchi alveolari alle piccole vie aeree e alla riduzione della forza di retrazione elastica polmonare con riduzione della capacità delle vie aeree a rimanere pervie durante l'espirazione.

Parole chiave: broncopneumopatia cronica ostruttiva, flussi aerei, infiammazione, spirometria, broncodilatatori, patologia polmonare.

Summary (*Pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease*). - Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a disease state characterised by airflow obstruction that is not fully reversible and progressive. Symptoms, as cough, sputum production and dyspnoea, functional impairment and complications of COPD can all be explained on the basis of the underlying lung inflammation and the resulting pathology. The chronic airflow obstruction is caused by a mixture of small airway disease (obstructive bronchiolitis) and parenchymal destruction (emphysema). On one hand, chronic inflammation causes remodelling and narrowing of the small airways. On the other hand, destruction of the lung parenchyma, also by an inflammatory process, leads to the loss of alveolar attachments to the small airways and decreases lung elastic recoil. In turn, these changes reduce the ability of the airways to remain open during expiration.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, airflow, inflammation, spirometry, bronchodilators, lung disease.

Introduzione

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è definita dalle recenti linee guida del Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) [1] come un *quadro nosologico caratterizzato da ostruzione al flusso delle vie aeree che non è completamente reversibile. Tale ostruzione è di solito progressiva e si associa con un'anormale risposta infiammatoria del polmone all'inhalazione di agenti nocivi sotto forma di particelle o gas.* I sintomi come tosse, espettorato e dispnea, le alterazioni funzionali e le complicanze della BPCO possono essere tutti spiegati dal processo infiammatorio polmonare di fondo e dalle conseguenti alterazioni anatomopatologiche. Nonostante l'apparente semplicità della definizione, la BPCO è una malattia dalla eziopatogenesi complessa, in cui il meccanismo dell'ostruzione delle vie aeree è multifattoriale e che presenta un notevole grado di eterogeneità clinica e funzionale.

L'ostruzione cronica al flusso delle vie aeree caratteristica della BPCO è causato dalla combinazione di un processo patologico a carico delle piccole vie aeree (bronchiolite ostruttiva) e della distruzione parenchimale polmonare (enfisema), ma il contributo relativo di ciascuno di questi processi varia da individuo ad individuo. L'infiammazione cronica causa alterazioni che portano al restringimento delle piccole vie aeree, mentre la distruzione del parenchima polmonare, pure dovuta al processo infiammatorio, porta alla perdita degli attacchi alveolari alle piccole vie aeree e alla riduzione della forza di retrazione elastica polmonare. In conseguenza di ciò si riduce la capacità delle vie aeree di rimanere pervie durante l'espirazione.

Molte delle definizioni precedenti di BPCO comprendevano i termini enfisema e bronchite cronica, che non sono più introdotti come singole entità nella definizione attuale. L'enfisema, o distruzione della superficie di scambio dei gas del polmone (alveoli) è un

termine anatomico-patologico, spesso usato nella diagnosi clinica (ma non correttamente), che descrive solo una delle numerose alterazioni strutturali in grado di causare l'ostruzione al flusso aereo caratteristica della BPCO. La bronchite cronica, cioè la presenza di tosse ed espettorato abituali per almeno tre mesi all'anno da almeno due anni consecutivi, rimane un'utile termine clinico ed epidemiologico, ma non descrive il più importante aspetto funzionale della malattia, cioè l'ostruzione, che è quello con il maggiore impatto sulla morbilità e mortalità nei pazienti con BPCO. E' anche importante sottolineare che, mentre nella maggior parte dei pazienti, i sintomi di bronchite cronica precedono lo sviluppo della ostruzione al flusso aereo, in altri pazienti ci può essere un'importante ostruzione in assenza di sintomi di bronchite cronica. Infine alcuni dei pazienti con tosse ed espettorato cronici non sviluppano mai ostruzione al flusso aereo.

Mediatori dell'inflammatione e bronchite ostruttiva

La bronchiolite ostruttiva nella BPCO è caratterizzata da fibrosi, ipertrofia del muscolo liscio e infiltrazione di macrofagi e T linfociti [2]. Mentre è sicuro che i mediatori dell'inflammatione coinvolti nella BPCO sono molti, il ruolo preciso di ciascuno di essi non è chiarito (Tab. 1). Alcune famiglie di chemochine e peptidi chemiotattici generati da metalloproteasi della matrice extracellulare (MMP) possono essere coinvolte nell'accumulo di macrofagi nel tessuto polmonare [3]. Il *macrophage chemotactic peptide-1* (MCP-1), che fa parte delle chemochine-CC, è elevato nel lavaggio broncoalveolare nella BPCO ed è un potente fattore chemiotattico per i macrofagi e monociti. Il MIP- α , altra chemochina-CC, è maggiormente espresso nelle cellule epiteliali bronchiali nella BPCO e può contribuire all'attivazione dei macrofagi. Altre chemochine CXC attive sui monociti, come GRO- α ed ENA-78, sono risultate più elevate nella BPCO e possono contribuire al reclutamento di macrofagi nel polmone. Viceversa non sono stati ancora identificati fattori che promuovono l'accumulo di linfociti CD8.

Un ruolo significativo nel determinare la caratteristica fibrosi bronchiolare può essere svolto dal *transforming growth factor* (TGF)- β 1 che dimostra un'aumentata espressione nelle piccole vie aeree e nei pneumociti in pazienti con BPCO [4]. Il *platelet-derived growth factor* (PDGF) è un altro fattore di crescita prodotto dai macrofagi, dalle cellule mesenchimali ed endoteliali che potrebbe contribuire all'iperplasia della mucolatura liscia delle vie aeree e alla fibrosi bronchiolare [5, 6]. Infatti, il PDGF promuove la migrazione e la proliferazione dei fibroblasti e dei

miofibroblasti; promuove la sintesi di connettivo da parte di queste cellule e induce proliferazione delle cellule muscolari lisce.

Mediatori dell'inflammatione e distruzione parenchimale

E' stato proposto parecchio tempo fa che l'enfisema fosse il risultato della degradazione di componenti del tessuto connettivo, in particolare l'elastina, da parte di varie proteasi (Tab. 1). L'elastina sembra costituire il più importante bersaglio di questi enzimi poiché il parenchima polmonare di pazienti enfisematosi mostra una perdita di elasticità e l'elastina distrutta non può essere rigenerata [7]. L'attenzione maggiore si era indirizzata in passato verso le proteasi derivate dai neutrofili come l'elastasi, la proteinasi-3 e la catepsina-G, o dai macrofagi come le catepsine K, L ed S, tutte con proprietà elastolitiche e, in alcuni studi su animali, in grado di indurre enfisema sperimentale [8]. L'elastasi neutrofila è inibita dall' α 1-antitripsina nel parenchima polmonare, che con molta probabilità è responsabile dell'enfisema nelle condizioni di carenza dell' α 1-antitripsina geneticamente determinata. Tuttavia il suo ruolo nell'enfisema correlato al fumo di sigaretta è meno sicuro. Viceversa, sta diventando sempre più evidente il coinvolgimento delle MMP derivate da macrofagi e neutrofili nella patogenesi dell'enfisema [9]. Alcune di queste, MMP-1 (collagenasi) e MMP-9 (gelatinasi B), sono aumentate nel lavaggio broncoalveolare, nei macrofagi e l'attività dell'MMP-9 è aumentata nel parenchima polmonare di pazienti con enfisema. I macrofagi che esprimono più MMP-9, come quelli dei fumatori e soprattutto quelli di pazienti con BPCO hanno infatti aumentata capacità elastolitica. Inoltre è molto interessante l'osservazione che nel modello murino l'enfisema indotto da fumo di sigaretta può essere prevenuto dalla delezione del gene che codifica per MMP-12 (metalloelastasi macrofagica). Fisiologicamente tutti questi enzimi proteolitici sono antagonizzati da un eccesso di anti-proteasi. Gli inibitori delle proteasi della famiglia della tripsina sono l' α 1-antitripsina nel parenchima polmonare e il *secretory leukoprotease inhibitor* (SLPI) derivato dall'epitelio nelle vie aeree; mentre le MMP sono antagonizzate da almeno quattro inibitori tissutali (TIMP1-4). Il fumo di sigaretta può indurre inflammatione e aumentare il rilascio di proteasi la cui azione non è più sufficientemente bilanciata dalle antiproteasi per impedire il danno parenchimale. In effetti le alterazioni infiammatorie e lo squilibrio del rapporto proteasi/antiproteasi si riscontra anche nei fumatori senza BPCO, ma in quelli che sviluppano la malattia ostruttiva sono molto più evidenti [10, 11]. Questo suggerisce che l'accelerato declino della funzione respiratoria

Tabella 1. - Funzione dei mediatori infiammatori nella patogenesi della bronchiolite ostruttiva e dell'enfisema nella broncopneumopatia cronica ostruttiva

Bronchiolite ostruttiva	Enfisema
Accumulo macrofagi MCP-1 MIP- α GRO- α ENA-78	elastasi/ α 1-antitripsina proteinasi-3/SLPI cathepsine/inibitori cathepsine MMP/TIMP ossidanti/antiossidanti iNOS/HO-1
Accumulo neutrofilii IL-8 LTB ₄ GM-CSF	
Fibrosi/ipertrofia muscolo liscio TGF- β 1 PDGF	

MCP: *monocyte chemotactic protein-1*; MIP: *macrophage inflammatory protein*; GRO: *growth-related oncogene*; IL: *interleukin*; LTB: *leucotriene B*; GM-CSF: *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*; TGF: *transforming growth factor*; PDGF: *platelet-derived growth factor*; SLPI: *secretory leuko-protease inhibitor*; MMP: *matrix metalloproteinases*; TIMP: *tissue inhibitors of matrix metalloproteinases*; iNOS: *inducible nitric oxide synthase*; HO-1: *haem oxygenase-1*.

nella BPCO sia il risultato di un'amplificazione della normale risposta infiammatoria agli irritanti, o per un'eccessiva produzione di mediatori flogistici o per un deficit dei meccanismi endogeni di difesa. Esistono sufficienti evidenze che mostrano un aumentato stress ossidativo nella BPCO [12, 13]. Il fumo di sigaretta contiene elevate quantità di specie reattive dell'ossigeno (ROS) (10^{17} moli per aspirazione); inoltre le cellule infiammatorie, macrofagi e neutrofilii attivati, generano e liberano ossidanti. L'aumento del carico di ossidanti nella BPCO è indicato dalla aumentata concentrazione di acqua ossigenata e di prodotti di perossidazione lipidica nel condensato dell'aria espirata. Lo stress ossidativo può avere una serie di effetti negativi. Gli ossidanti possono danneggiare direttamente le strutture extracellulari del polmone. L'acqua ossigenata è un broncocostrittore *in vitro* e i radicali ossidrilici (OH⁻) inducono essudazione plasmatica nelle vie aeree. L'ossidazione di proteine e lipidi all'interno delle cellule può compromettere le normali funzioni cellulari. L'ossidazione di antiproteasi può ridurre l'attività enzimatica e gli ossidanti possono attivare le MMP aumentando la proteolisi. E' infine noto che gli ossidanti sono in grado di inattivare l'inibitore del fattore di trascrizione kB (NF-kB). Questi possono pertanto causare l'attivazione di NF-kB che è in grado di orchestrare l'espressione di molteplici geni tra cui quelli che inducono la sintesi di citochine pro-infiammatorie come TNF α e IL-8. Inoltre, l'attivazione di fattori di tra-

scrizione da parte degli ossidanti promuove la sintesi di enzimi coinvolti nell'azione pro- e anti-infiammatoria (Fig. 1). Uno di questi, l'isoforma inducibile dell'emeossigenasi (HO-1), catalizza la degradazione dell'eme a biliverdina, che a sua volta è ridotta a bilirubina, con liberazione di ferro e ossido di carbonio (CO). E' stato suggerito che l'HO-1 abbia una importante capacità antiossidante e sia in grado di proteggere le cellule dagli effetti dell'esposizione ad ossidanti. A questo proposito, è stato di recente osservato che i fumatori senza BPCO presentano un'aumentata espressione dell'emeossigenasi nel polmone periferico [14]. Un altro enzima regolato dai fattori di trascrizione, la forma inducibile dell'ossido nitrico sintetasi (iNOS), può essere in gioco nella patogenesi della BPCO, poiché il suo prodotto, l'ossido nitrico (NO), ha un'azione tossica diretta e reagisce con l'anione superossido generando perossinitrito. Questo potente radicale reagisce con i residui della tirosina proteica formando 3-nitrotirosina con possibile compromissione delle normali funzioni delle proteine interessate. E' stato di recente dimostrato che nella BPCO grave l'espressione di HO-1 nei macrofagi alveolari era ridotta, mentre il numero di pneumociti di tipo 2 che esprimevano iNOS era aumentato; inoltre il tasso di nitratura delle proteine nel tessuto polmonare periferico era correlato direttamente con l'espressione di iNOS ed associato a maggior grado di ostruzione al flusso aereo. Questi dati suggeriscono che un rapporto sbilanciato tra HO-1 e iNOS può essere collegato con lo sviluppo di una più grave compromissione funzionale nella BPCO [15].

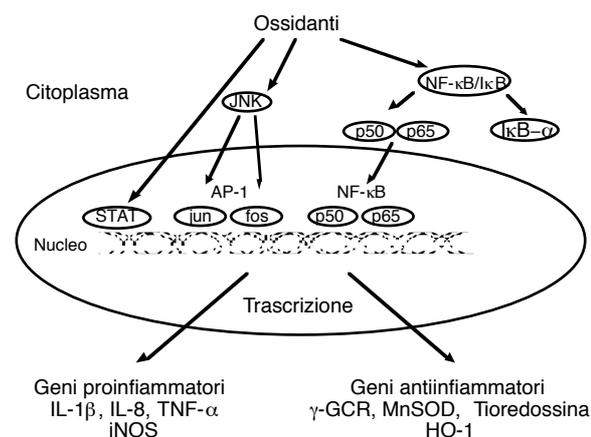


Fig. 1. - Rappresentazione schematica del meccanismo di azione intracellulare degli ossidanti: attivazione dei fattori nucleari di trascrizione e trascrizione di geni per agenti pro- e anti-infiammatori.

IL: interleuchina; TNF: *tumor necrosis factor*; iNOS: *inducible nitric oxide synthase*; GCR: recettore per i corticosteroidi; SOD: superossido dismutasi; HO-1: *haem oxygenase-1*.

Manifestazioni fisiopatologiche della BPCO

Le alterazioni anatomopatologiche della BPCO dovute all'anormale risposta infiammatoria del polmone [2] comportano una serie di alterazioni funzionali:

- l'ipersecrezione mucosa;
- la disfunzione ciliare;
- l'ostruzione al flusso aereo;
- l'iperinflazione polmonare;
- le anomalie degli scambi gassosi;
- l'ipertensione polmonare;
- il cuore polmonare.

Queste alterazioni funzionali sono elencate in ordine di gravità crescente, di solito si sviluppano progressivamente durante il decorso della malattia e sono responsabili dei sintomi caratteristici della BPCO, cioè dei sintomi di bronchite cronica e della dispnea, inizialmente evidente solo con l'esercizio fisico, poi anche a riposo.

Ipersecrezione mucosa e disfunzione ciliare

Fisiologicamente il muco è prodotto dalle ghiandole mucose bronchiali e dalle cellule caliciformi nell'epitelio bronchiale. Due condizioni sono responsabili di un'iperproduzione di muco: l'aumento delle cellule che lo producono e/o l'aumento della degranolazione del loro contenuto mucoso [16]. L'ipertrofia delle ghiandole mucose è stata considerata per molti anni la base morfologica dell'iperproduzione di muco [17]. Tuttavia più recentemente, è stato dimostrato che la principale alterazione morfologica associata all'iperproduzione di muco è in realtà l'infiammazione delle vie aeree [18]. In particolare, nelle ghiandole sottomucose di pazienti con BPCO è stata riscontrata infiltrazione di neutrofili localizzati in stretta associazione con le cellule dell'epitelio ghiandolare e un eccesso di linfociti CD8 rispetto ai CD4. Viceversa nelle vie aeree periferiche di fumatori è stato riscontrato un effettivo aumento del numero di cellule caliciformi [19]. Il meccanismo per cui il fumo di sigaretta causa iperplasia di queste cellule non è chiarito. Tuttavia è stato proposto che questo fenomeno sia in relazione con l'attività del recettore dell'*epidermal growth factor* (EGF-R) [20]. Esso infatti può essere indotto da numerosi fattori presenti nella BPCO tra cui ossidanti, endogeni od esogeni, e citochine (TNF- α , IL-8, IL-13) [21, 22]. L'ipersecrezione mucosa può essere spiegata anche dall'interazione dei neutrofili con le cellule che producono il muco. Infatti, in modelli sperimentali è stato dimostrato che è l'elastasi legata ai neutrofili, non quella libera, responsabile dell'azione secretogoga dell'enzima e che è necessario che queste cellule si leghino per mezzo di molecole di adesione della famiglia delle integrine (CD11b/CD18, o Mac-1) al ligando epiteliale (ICAM-1) per indurre la degranula-

zione delle cellule mucipare [23]. Entrambe queste molecole di adesione sono risultate più espresse nella BPCO [24, 25]. Anche un meccanismo neurogeno può contribuire all'ipersecrezione di muco. Infatti, la densità delle fibre nervose contenenti il neuropeptide intestinale vaso attivo (VIP) è risultata maggiore nelle ghiandole sottomucose di fumatori con sintomi di bronchite cronica [26]. Linfocine come IL-13, la cui iperespressione è in grado di determinare enfisema nel modello murino [27], sono risultate pure associate con l'iperproduzione di muco. Tuttavia il ruolo dell'IL-13 nella BPCO, come quello dei linfociti CD8, non è ancora ben chiarito [28, 29]. La Fig. 2 illustra schematicamente i meccanismi dell'ipersecrezione di muco nella BPCO.

La metaplasia squamosa cui vanno incontro le cellule epiteliali ciliate nella BPCO porta ad alterazione dei meccanismi di clearance mucociliare e contribuisce allo sviluppo dei sintomi di bronchite cronica. Questa condizione è generalmente la prima che si manifesta nella BPCO e può precedere anche di molti anni le altre manifestazioni della malattia. E' attualmente ipotizzato che la cronica esposizione ad agenti esogeni fra cui il fumo di sigaretta determini a livello dell'epitelio bronchiale l'espressione di alcuni fattori di crescita cellulare come il TGF- β , l'*epidermal growth factor* (EGF) e il PDGF che modificano i processi di regolazione della proliferazione e differenziazione delle cellule epiteliali.

Ostruzione al flusso aereo

Il flusso aereo durante l'espiazione dipende dal rapporto tra gradiente pressorio tra alveoli e bocca e la resistenza delle vie aeree. Una riduzione del flusso espiratorio può essere dovuta a riduzione della pressione alveolare, ad aumento delle resistenze delle vie aeree, o alla combinazione di entrambi i fattori.

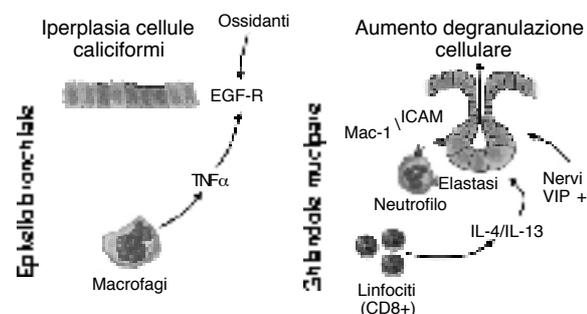


Fig. 2. - Meccanismi dell'ipersecrezione mucosa. EGF-R: *epidermal growth factor receptor*; TNF: *tumor necrosis factor*; ICAM: *intercellular adhesion molecule*; VIP: *vasoactive intestinal peptide*.

Uno dei determinanti della pressione alveolare è la forza di retrazione elastica del polmone. Se questa è ridotta, come si verifica nel caso di distruzione parenchimale caratteristica dell'enfisema, il flusso espiratorio sarà ridotto anche in presenza di vie aeree integre. Il principale fattore che determina le resistenze delle vie aeree è rappresentato dal raggio del lume bronchiale. Nel caso di malattie in cui il lume bronchiale è ridotto, il flusso aereo sarà ridotto a causa dell'aumentata resistenza, anche se la forza di retrazione elastica del polmone è conservata. Queste due condizioni che determinano riduzione del flusso aereo sono tipiche di condizioni patologiche distinte come l'enfisema primitivo da una parte o l'asma bronchiale dall'altra.

Nella BPCO l'ostruzione al flusso aereo è in genere dovuta alla combinazione dei due meccanismi. Il contributo relativo della riduzione della forza di retrazione elastica del polmone e dell'aumento di resistenze delle vie aeree può differire in relazione con varianti cliniche della BPCO e con lo stadio di avanzamento della malattia.

I meccanismi che contribuiscono alla riduzione del calibro bronchiale e quindi all'ostruzione al flusso aereo per aumento delle resistenze sono:

- presenza di secrezioni nel lume bronchiale;
- ispessimento della parete bronchiale;
- contrazione della muscolatura liscia bronchiale;
- riduzione dell'interdipendenza tra parenchima polmonare e vie aeree.

Presenza di secrezioni nel lume bronchiale

L'ipersecrezione mucosa è una delle manifestazioni principali della BPCO, ma il suo ruolo nello sviluppo dell'ostruzione cronica del flusso aereo è controverso. Infatti la presenza di sintomi quali tosse ed espettorato cronici è stata considerata per molti anni poco importante nella progressione della BPCO [30]. Tuttavia i risultati del Copenhagen City Heart Study Group indicano che la presenza di espettorazione cronica sarebbe associata sia ad un accelerato declino della funzione respiratoria che ad un aumentato rischio di ospedalizzazione per BPCO [31]. Quindi a livello epidemiologico la presenza di bronchite cronica risulta essere fattore prognostico negativo per la progressione della malattia.

E' importante considerare che l'espettorato non è costituito da solo muco, ma che in esso è presente anche una componente cellulare. Il meccanismo per cui alcuni fumatori sono più suscettibili e sviluppano la BPCO non è noto. Tuttavia in uno studio longitudinale, è stato dimostrato che la percentuale di neutrofili nell'espettorato era maggiore nei fumatori con BPCO rispetto ai fumatori sani e la percentuale di queste cellule correlava con il decadimento annuo della funzione ventilatoria [32]. E' probabile che i neutrofili

siano reclutati nel lume delle vie aeree dalla circolazione bronchiale, processo che coinvolge l'adesione cellulare e stimoli chemiotattici. Il fumo di sigaretta ed altri tossici respiratori legati all'inquinamento o all'ambiente di lavoro attivano i macrofagi alveolari, e probabilmente le cellule epiteliali bronchiali, a rilasciare mediatori come il leucotriene B₄ (LTB₄), il *tumor necrosis factor-α* (TNF-α) e l'interleuchina-8 (IL-8) che promuovono l'afflusso di neutrofili nel polmone (Fig. 3). Entrambi LTB₄ e IL-8 sono fattori chemiotattici per i neutrofili, mentre il TNF-α promuove l'espressione di molecole di adesione e induce la sintesi di IL-8 attivando fattori di trascrizione nucleari come l'NF-κB. In effetti nella BPCO è stata riscontrata un'aumentata espressione di molecole di adesione CD11b/CD18 sui neutrofili dell'espettorato che correlava con il grado di broncoostruzione [33]. L'azione di questi meccanismi di reclutamento dei neutrofili può essere amplificata da un aumento di sopravvivenza delle cellule infiammatorie per azione del GM-CSF e dalla ridotta presenza di citochine anti-infiammatorie come l'interleuchina-10 [34, 35].

Ispessimento della parete bronchiale

L'aumento di spessore della parete bronchiale a causa dell'infiltrato infiammatorio rappresenta una caratteristica morfologica della BPCO [36] e può contribuire all'aumento delle resistenze delle vie aeree. Infatti è stata dimostrata una relazione diretta fra lo spessore dello strato interno della parete bronchiale e il grado di ostruzione bronchiale nella BPCO [37]. Inoltre l'aumentato spessore della parete delle vie aeree può amplifica-

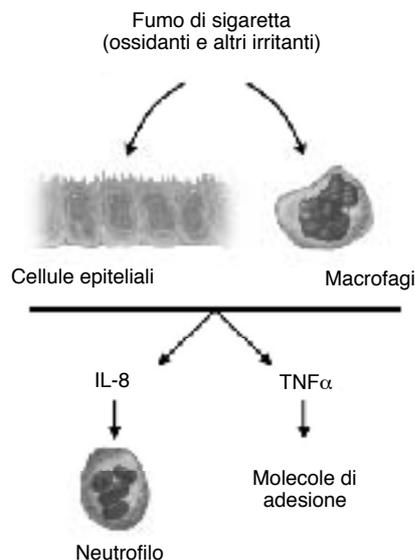


Fig. 3. - Azione del fumo di sigaretta sulle cellule bersaglio delle vie aeree.

re, per ragioni puramente geometriche, l'effetto della contrazione del muscolo liscio bronchiale. Infatti, a parità di contrazione muscolare, l'aumento di resistenza sarà molto superiore in un bronco con il lume in partenza già ristretto dall'ispessimento della parete rispetto a un bronco con parete integra.

Contrazione della muscolatura liscia bronchiale

Alcuni studi morfologici hanno dimostrato un certo aumento di spessore della muscolatura liscia bronchiale in soggetti con BPCO [38, 39]. Sebbene la contrazione della muscolatura liscia delle vie aeree sia una caratteristica prevalentemente dell'asma bronchiale, essa può contribuire all'ostruzione al flusso, in misura variabile da soggetto a soggetto, anche nella BPCO. Questa condizione spiega la quota di reversibilità della broncoostruzione che si può osservare in questi pazienti dopo somministrazione di broncodilatatori per via inalatoria che agiscono sulla muscolatura bronchiale.

Riduzione dell'interdipendenza tra parenchima polmonare e vie aeree

Le pareti delle vie aeree intrapolmonari sono connesse tramite il tessuto peribronchiale all'impalcatura connettivale del parenchima polmonare, cioè alle fibre dei setti alveolari, che a sua volta sono in connessione con il connettivo della pleura viscerale [40]. Questa continuità anatomica permette la trasmissione delle variazioni di pressione pleurica a tutte le strutture adiacenti. Per questo fenomeno di interdipendenza le varie regioni del parenchima e i bronchi in esse contenuti si espandono in modo consensuale [41]. Le forze di trazione cui sono sottoposti i bronchi dipendono dalla forza di retrazione elastica del polmone e dall'integrità strutturale delle connessioni cioè degli attacchi alveolari. La principale alterazione strutturale a carico del parenchima polmonare nella BPCO è la distruzione parenchimale che caratterizza l'enfisema. Ne consegue che in presenza di questa condizione le forze di trazione sulla parete bronchiale sono ridotte, sia per diminuzione della forza di retrazione elastica che per riduzione del numero di attacchi alveolari alla parte esterna della parete delle vie aeree periferiche [42, 43]. In effetti nella BPCO la relazione tra volume polmonare e calibro delle vie aeree è alterata nel senso che quest'ultimo aumenta meno del volume polmonare.

La riduzione degli attacchi alveolari facilita la compressione dinamica delle piccole vie aeree, cioè dei bronchioli con diametro < 2 mm privi di supporto cartilagineo. Normalmente, ciò non comporterebbe alcun problema, poiché la pressione pleurica si mantiene

negativa per tutto il ciclo ventilatorio, così che la pressione intraluminale garantisce la pervietà delle vie aeree. Tuttavia in condizioni di espirazione forzata, come nell'esercizio fisico, e in presenza di iperinflazione polmonare (vide infra), la pressione pleurica può essere positiva durante l'espirazione. Il lume bronchiale non è più mantenuto pervio dalla forza di retrazione elastica del parenchima polmonare e viene ridotto dalla pressione conseguente alla pressione pleurica positiva. La riduzione di calibro delle piccole vie aeree, per compressione dinamica, oltre a provocare ostruzione al flusso espiratorio, può indurre chiusura precoce di alcuni bronchioli durante l'espirazione, e quindi intrappolamento dell'aria espirata a valle di quelle vie aeree. Questo fenomeno contribuisce all'aumento del volume residuo.

Oltre alla riduzione delle forze di trazione sulle vie aeree, questa riduzione dell'interdipendenza può essere dovuta ad una maggiore rigidità delle pareti bronchiali per effetto di quello che è stato definito "rimodellamento" delle vie aeree periferiche, cioè una serie di alterazioni strutturali che comprendono la fibrosi e l'ipertrofia del muscolo liscio. Misure dirette delle resistenze delle vie aeree periferiche hanno mostrato che le alterazioni strutturali della parete bronchiolare sono la più importante causa dell'aumento delle resistenze delle vie aeree nella BPCO [44]. Quando è la riduzione della forza di retrazione elastica del polmone a determinare prevalentemente l'ostruzione al flusso permettendo la compressione dinamica delle vie aeree e riducendo l'interdipendenza con il parenchima polmonare, i flussi espiratori utilizzati nella respirazione a riposo possono essere già massimali e non modificabili dall'attività dei muscoli espiratori. Questa condizione funzionale che si verifica in pazienti con ostruzione delle vie aeree viene definita limitazione del flusso espiratorio [45] e può essere evidenziata comparando la curva flusso volume massimale con quella generata durante la respirazione tranquilla. Il meccanismo per cui all'aumento della pressione pleurica per effetto della contrazione dei muscoli espiratori (e quindi all'aumento della pressione alveolare) non vi sia alcun incremento del flusso espiratorio è oggetto di dibattito fra i fisiologi respiratori. Comunque, poiché in questa condizione il flusso espiratorio risulterà generato esclusivamente dalla pressione di retrazione elastica del polmone, il solo modo di incrementare i flussi espiratori (per esempio come richiesto nell'esercizio fisico) è quello di aumentare la pressione di retrazione elastica del polmone. Per fare ciò, è necessario respirare a volumi polmonari più elevati (Fig. 4).

Dall'esame dei meccanismi in gioco nel determinare ostruzione al flusso aereo nella BPCO si può dedurre che mentre alcune componenti come quelle legate al rimodellamento delle vie aeree e alla riduzione della forza di retrazione elastica polmonare siano irreversibili, altre come l'accumulo di secrezioni nel lume delle vie aeree, l'infiltrato infiammatorio e la

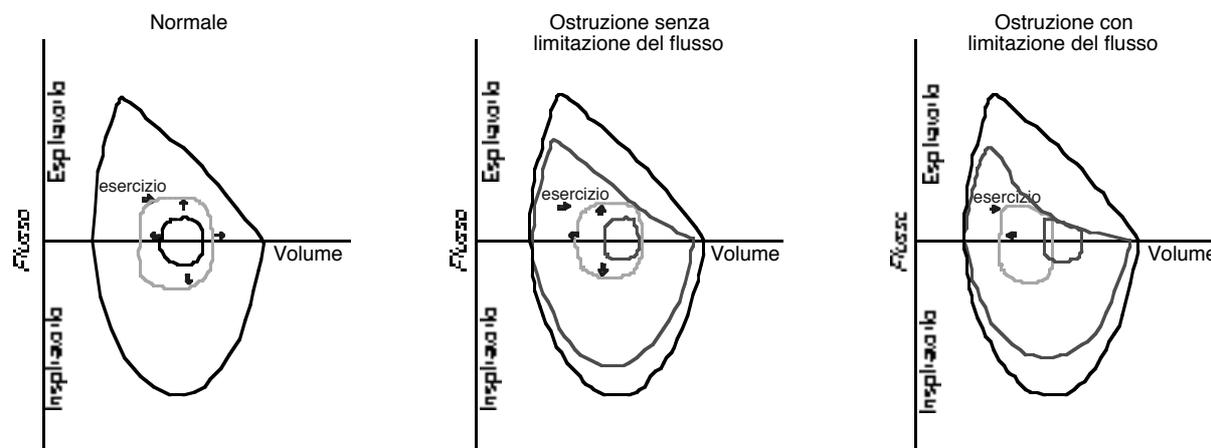


Fig. 4. - Rappresentazione della curva flusso-volume massimale e durante la respirazione corrente a riposo (linea nera) o nell'esercizio fisico (linea grigia). Il soggetto normale ha possibilità di aumentare il volume corrente e i flussi sfruttando la riserva funzionale inspiratoria ed espiratoria di volumi e flussi (freccie). Il soggetto con ostruzione, ma senza limitazione dei flussi espiratori a riposo, può aumentare i flussi inspiratori ed espiratori e il volume corrente sfruttando la riserva inspiratoria (freccie). Il soggetto con ostruzione e limitazione dei flussi espiratori a riposo (che si sovrappongono a quelli della curva flusso-volume massimale) può incrementare la ventilazione solo respirando a volumi polmonari più elevati (freccia).

contrazione del muscolo liscio possano essere in parte reversibili (Tab. 2). L'effetto di queste componenti può essere di particolare importanza in corso di riacutizzazioni della malattia [46].

Sebbene le manifestazioni fisiopatologiche della BPCO siano varie, la misura dell'ostruzione al flusso aereo rappresenta la fondamentale valutazione fisiopatologica nella BPCO.

Gli obiettivi della valutazione funzionale della ostruzione al flusso aereo nella BPCO sono:

- diagnosi precoce;
- stadiazione della malattia;
- risposta al trattamento;
- evoluzione/storia naturale.

Diagnosi precoce

I dati di prevalenza e morbilità della BPCO sottostimano l'impatto globale della malattia poiché essa non viene di solito riconosciuta e diagnosticata fino a quando non raggiunge l'evidenza clinica e l'ostruzione al flusso è già in stato relativamente avanzato [1]. La caratteristica della BPCO di peggiorare lentamente porta ad una minore allerta del paziente per i segni di malattia. Spesso per un soggetto fumatore avere tosse al mattino o una ridotta tolleranza all'esercizio fisico sono considerati come fenomeni normali [47]. Inoltre è stato osservato in un gruppo di soggetti con broncoostruzione che la proporzione di quelli con scadente percezione della dispnea era maggiore (26%) in chi non si era recato dal medico di base rispetto a quella (6%) di chi era invece andato dal medico [48]. Poiché l'abitudine al fumo è il più importante fattore di rischio per lo sviluppo di BPCO e la cessazione dal fumo è l'inter-

Tabella 2. - Componenti irreversibili e reversibili dell'ostruzione al flusso nella broncopneumopatia cronica ostruttiva

Irreversibili

Diminuzione forza di retrazione elastica polmonare
Diminuzione attacchi alveolari delle piccole vie aeree
Rimodellamento delle vie aeree

Reversibili (parzialmente)

Accumulo di cellule e secrezione nel lume
Infiammazione della parete bronchiale
Broncospasmo

vento più efficace in ogni stadio della malattia, l'approccio più sensato è quello di selezionare per la valutazione funzionale i soggetti fumatori. Poiché non tutti i fumatori sviluppano la BPCO, ma tra il 24 e il 47% secondo il numero di sigarette fumate, la consapevolezza di essere un fumatore suscettibile può incoraggiare e motivare il paziente a smettere di fumare.

Stadiazione della malattia

Le linee guida GOLD [1] hanno proposto una classificazione di gravità della BPCO in quattro stadi che è basata prevalentemente su dati funzionali. La presenza di ostruzione al flusso espiratorio è definita da un rapporto volume espiratorio massimo al primo secondo (VEMS)/capacità vitale forzata (CVF) < 70%, mentre la gravità dell'ostruzione è definita dai valori di VEMS osservati dopo broncodilatazione in percentuale rispetto a quelli di riferimento. Questa classificazione consente

un approccio pragmatico alla malattia e dovrebbe essere considerata uno strumento informativo che fornisce un'indicazione molto generale per stabilire il trattamento. Infatti bisogna tenere presente che i singoli valori di VEMS% del valore teorico usati per stabilire i vari stadi di gravità (80%, 50%, 30%) sono stati usati con il proposito di semplificazione, ma non sono stati validati clinicamente.

Risposta al trattamento

Il test di reversibilità dell'ostruzione con broncodilatatori è una valutazione che in genere viene consigliata al momento della diagnosi ed è utile per diverse ragioni [1]:

- aiuta ad escludere la diagnosi di asma; infatti se il VEMS dopo broncodilatatore ritorna a valori normali è probabile che il paziente abbia asma;
- permette di stabilire quali sono i migliori valori di funzionalità respiratoria ottenibili in quel momento;
- fornisce indicazioni prognostiche: infatti il VEMS dopo broncodilatatore è un migliore indicatore prognostico del valore pre-broncodilatatore; inoltre il grado di risposta al broncodilatatore è inversamente correlato con il decadimento annuo del VEMS;
- predice la risposta al trattamento: infatti i pazienti con miglioramento significativo del VEMS dopo broncodilatatore avranno maggiore beneficio dal trattamento cronico con broncodilatatori e maggiori probabilità di rispondere favorevolmente ai corticosteroidi.

Il test di reversibilità al broncodilatatore dovrebbe essere eseguito quando il paziente è clinicamente stabile ed esente da infezioni respiratorie. E' necessario accertarsi che non abbia assunto broncodilatatori a breve durata d'azione da almeno 6 ore o da almeno 12 ore, se si tratta di broncodilatatori a lunga durata di azione, o da almeno 24 ore nel caso di teofilline a lento rilascio. Dopo misura del VEMS di base, si somministra il broncodilatatore da un aerosol predosato utilizzando uno spaziatore, per assicurarsi che il farmaco sia inalato bene, o per mezzo di un aerosolizzatore. La dose di farmaco dovrebbe essere sufficientemente alta in relazione alla curva dose-risposta. Ad esempio 400 µg di un β_2 stimolante o 80 µg di un anticolinergico, oppure la combinazione dei due. Il VEMS dovrebbe essere misurato di nuovo dopo 30-45 minuti dalla somministrazione del farmaco. E' considerata significativa una variazione del VEMS superiore a 200 ml e al 12% rispetto al valore di base [49].

Nell'interpretazione dei risultati bisogna tenere presente che la risposta individuale al test con broncodilatatore è influenzata da molti fattori e che la mancata risposta significativa in quel giorno non preclude necessariamente una risposta positiva in un'altra occasione. Inoltre, anche pazienti che non mostrano un significativo miglioramento del VEMS dopo broncodilatatore a breve durata d'azione possono avere beneficio dal trattamento a lungo termine. Una delle spiegazioni di questo

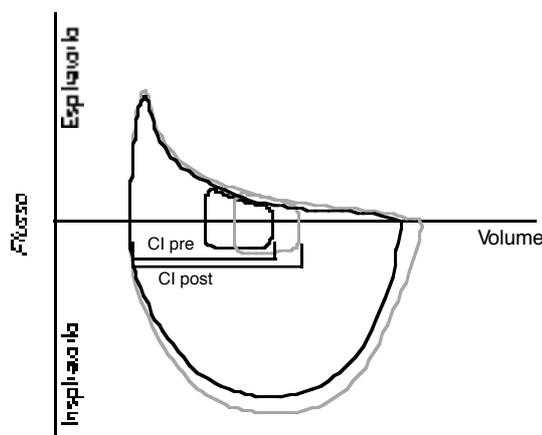


Fig. 5. - Rappresentazione della curva flusso-volume massimale e durante la respirazione corrente in un soggetto con grave ostruzione al flusso aereo prima (linea nera) e dopo broncodilatatore (linea grigia). L'incremento dei flussi espiratori dopo broncodilatatore non è sufficiente ad aumentare il VEMS in modo significativo, ma permette una riduzione della capacità funzionale residua (CFR) con conseguente aumento della capacità inspiratoria (CI post) rispetto ai valori di partenza (CI pre).

effetto è che un lieve incremento dei flussi espiratori ai bassi volumi polmonari può permettere al paziente di respirare ad un livello di riempimento polmonare inferiore, cioè di ridurre la capacità funzionale residua (CFR). Di conseguenza aumenterà la capacità inspiratoria (CI) (Fig. 5). Studi recenti hanno dimostrato che il valore di CI in pazienti con BPCO e grave limitazione al flusso aereo è l'indice funzionale meglio correlato con la tolleranza allo sforzo e che un significativo aumento di CI dopo broncodilatatore può verificarsi in questi pazienti anche senza rilevanti variazioni del VEMS [50, 51]. Pertanto la misura di CI rappresenta un utile complemento alla valutazione della risposta funzionale ai broncodilatatori in pazienti con BPCO.

Al momento, il trattamento a lungo termine con corticosteroidi inalatori nella BPCO è giustificato solo in quei pazienti che dimostrano un significativo e dimostrabile incremento del VEMS in risposta a questi farmaci. Il modo più semplice e potenzialmente più sicuro di identificare questi pazienti è quello di sottoporli a un ciclo di trattamento con cortisonici inalatori per 6-12 settimane, usando come criterio di reversibilità un aumento del VEMS di 200 ml e 12% al di sopra del valore di partenza [49]. La risposta ai cortisonici dovrebbe essere valutata in riferimento al VEMS post-broncodilatatore, cioè l'effetto di questi farmaci dovrebbe essere aggiuntivo rispetto a quello ottenibile con l'assunzione regolare di broncodilatatori [1]. In alternativa ai cortisonici inalatori è consentito utilizzare un breve ciclo di terapia orale con corticosteroidi (per esempio 20-40 mg di prednisolone) per non più di 2 settimane.

Evoluzione/storia naturale

Poiché la BPCO è una malattia progressiva ci si aspetta che la funzione polmonare peggiori con il tempo. Esiste un declino fisiologico dei volumi polmonari dopo i 20-30 anni che può essere stimato dalle equazioni dei valori di riferimento (circa 20-30 ml/anno per il VEMS) [52, 53]. Il miglior modo per valutare se un paziente abbia un'accelerato decadimento della funzione respiratoria è quello di eseguire misure periodiche della spirometria. Per ottenere queste informazioni è sufficiente un controllo spirometrico annuale [1].

Iperinflazione polmonare

L'iperinflazione polmonare si definisce come un aumento stabile della CFR e rappresenta una delle conseguenze dei meccanismi che generano ostruzione al flusso e dell'eccessiva limitazione del flusso espiratorio stesso. In primo luogo, la perdita di forza di retrazione elastica del polmone sposta il punto di equilibrio elastico del polmone (cioè il punto dove la forza di retrazione elastica del polmone è controbilanciata esattamente dalla forza di espansione della parete toracica) dal normale 35% della capacità vitale verso il punto di equilibrio elastico della parete toracica (55% della capacità vitale). La seconda causa dell'iperinflazione polmonare è la chiusura precoce delle piccole vie aeree con conseguente intrappolamento di aria intrapolmonare (vedi sopra). Infine, per l'eccessiva riduzione del flusso espiratorio durante l'espirazione, il punto di equilibrio elastico dell'apparato respiratorio non viene raggiunto nel tempo disponibile per un'espirazione corrente e il nuovo sforzo inspiratorio interviene a interrompere l'espirazione prima che essa sia completa. Il volume di aria che rimane nei polmoni e nelle vie aeree per questo meccanismo varia dinamicamente e dipende dall'entità dell'ostruzione, dalla compliance del polmone, dalla frequenza respiratoria e dalla quantità di volume inspirato: maggiori sono queste variabili, maggiore sarà il volume di aria che non viene espirato. Quest'ultima componente dinamica dell'iperinflazione genera una pressione alveolare positiva alla fine dell'espirazione (*PEEPi*, *intrinsic positive end-expiratory pressure*) [54]. Questo fenomeno aggrava il lavoro respiratorio perché la PEEPi deve essere controbilanciata dai muscoli inspiratori prima che possa essere generata una pressione negativa nelle vie aeree che dia inizio realmente al flusso inspiratorio. In condizioni di iperinflazione polmonare il lavoro inspiratorio risulta maggiore perché è aumentato il lavoro respiratorio elastico. Infatti i muscoli respiratori devono vincere non solo la forza di retrazione elastica del polmone, ma

anche quella della parete toracica che ad alti volumi polmonari tende a retrarsi. A queste conseguenze sfavorevoli dell'iperinflazione, si aggiunge la riduzione della capacità che hanno i muscoli inspiratori, in particolare il diaframma, di generare pressione e di aumentare il volume della gabbia toracica. Infatti, in primo luogo la forza che un muscolo striato può sviluppare diminuisce con il diminuire della lunghezza del muscolo: ad elevati volumi polmonari le fibre del diaframma saranno accorciate. Inoltre, l'iperinflazione appiattirà la cupola diaframmatica e in conseguenza della legge di Laplace, l'aumento del raggio di curvatura diminuirà la forza generabile. Infine, per la riduzione dell'area di apposizione del diaframma, cioè la zona in cui l'addome è a contatto con la parete toracica, la contrazione del diaframma determinerà un minore aumento della pressione addominale superiore; così che si ridurrà l'aumento di volume della gabbia toracica inferiore che contribuisce a negativizzare la pressione intratoracica e ad espandere le basi polmonari.

Anomalie degli scambi gassosi

Nella BPCO grave l'ostruzione delle vie aeree periferiche, la distruzione del parenchima e le alterazioni strutturali dei vasi polmonari alterano l'efficienza degli scambi gassosi causando inizialmente ipossiemia poi anche ipercapnia. Queste condizioni possono essere valutate dal punto di vista strumentale con l'emogasanalisi del sangue arterioso. Si parla di insufficienza respiratoria quando la PaO_2 è inferiore a 60 mmHg [1]. Poiché una riduzione della pressione parziale dell'ossigeno nel plasma (PaO_2) comporta una riduzione della saturazione dell'emoglobina per l'ossigeno ($SatHbO_2\%$), la misura della $SatHbO_2\%$ può essere usata come metodo alternativo non invasivo per la valutazione delle anomalie di ossigenazione. Bisogna tenere presente però che questo indice è poco sensibile a variazioni della PaO_2 finché essa non scende al di sotto dei 65 mmHg, in quanto la relazione tra PaO_2 e $SatHbO_2\%$ non è lineare. Al variare della PaO_2 da 90 a 65 mmHg corrisponde una riduzione della $SatHbO_2$ da 98 a 92%. Viceversa, la misura della $SatHbO_2\%$ consente un adeguato monitoraggio dell'ossigenazione in pazienti con insufficienza respiratoria conclamata, anche se non fornisce informazioni sulla $PaCO_2$.

Sebbene la correlazione tra le misure spirometriche e quelle dei gas ematici arteriosi sia debole, è solitamente raro osservare ipossiemia o ipercapnia se il VEMS è superiore a 1 litro [55]. Generalmente l'ipossiemia si manifesta prima solo durante lo sforzo, con il progredire della malattia compare anche a riposo. Il principale meccanismo alla base dell'ipossiemia è lo

squilibrio del rapporto ventilazione/perfusione (V/Q): in alcune unità il V/Q sarà basso per le anomalie di ventilazione alveolare dovute all'ostruzione delle piccole vie aeree, in altre unità il V/Q sarà elevato per la ridotta perfusione dovuta alla distruzione alveolare con perdita di vasi capillari [56]. Inoltre in queste aree enfisematose sarà ridotta la superficie anatomica disponibile per la diffusione dei gas [57]. Questi fenomeni spiegano la buona correlazione tra la capacità di diffusione dell'ossido di carbonio (CO) per litro di volume alveolare (DLCO/VA) e la severità dell'enfisema valutato macroscopicamente.

L'ipercapnia cronica di solito riflette una disfunzione dei muscoli inspiratori e l'ipoventilazione alveolare.

Ipertensione polmonare e cuore polmonare cronico

L'ipertensione polmonare che compare nelle fasi più avanzate della BPCO è la principale complicanza cardiovascolare della BPCO. La pressione media nell'arteria polmonare (PAP) in condizioni fisiologiche è di 14 ± 3 mmHg. L'ipertensione polmonare è definita da una PAP media superiore ai 20 mmHg a riposo (PAP sistolica >25 mmHg; PAP diastolica >15 mmHg). Tuttavia anche in pazienti con severa compromissione funzionale la pressione arteriosa polmonare può essere poco elevata a riposo e aumentare in modo rilevante solo durante lo sforzo oppure nel sonno durante la fase REM per accentuazione dell'ipossiemia e in corso di riacutizzazioni. I fattori che contribuiscono all'elevazione della pressione polmonare sono [1]:

- la vasocostrizione ipossica;
- il rimodellamento delle arterie polmonari che aumenta lo spessore della parete vascolare e ne restringe il lume;
- la distruzione del letto capillare dovuta all'enfisema.

L'ipertensione polmonare si associa allo sviluppo di cuore polmonare cronico che viene definito come ipertrofia del ventricolo destro dovuta a malattie che colpiscono la struttura o la funzionalità del polmone, escludendo quelle alterazioni polmonari dovute a malattie che prevalentemente colpiscono il cuore sinistro come i difetti cardiaci congeniti.

La prevalenza e la storia naturale dell'ipertensione polmonare nella BPCO e del cuore polmonare cronico non sono chiare e necessitano di ulteriori studi [58].

Ringraziamenti

Finanziato in parte dal Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (PRIN2003), dall'Università degli Studi di Padova e dall'ARCA di Padova.

Lavoro presentato su invito.
Accettato il 22 aprile 2003.

BIBLIOGRAFIA

1. National Institutes of Health. *Global initiative for chronic obstructive lung disease*. Bethesda, MD: NIH 2001. (Publication n. 2701). <http://www.goldcopd.com/>.
2. 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.
3. Barnes PJ. New concepts in chronic obstructive pulmonary disease. *Annu Rev Med* 2003;54:113-29.
4. Takizawa H, Tanaka M, Takami K *et al*. Increased expression of transforming growth factor- β_1 in small airway epithelium from tobacco smokers and patients with COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1476-83.
5. Hoyle GW, Li J, Finkelstein JB *et al*. Emphysematous lesions, inflammation and fibrosis in the lungs of transgenic mice over-expressing platelet-derived growth factor. *Am J Pathol* 1999;154:1763-75.
6. Kallio EA, Koskinen PK, Aavik E *et al*. Role of platelet-derived growth factor in obliterative bronchiolitis (chronic rejection) in the rat. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1324-32.
7. Gottlieb DJ, Stone PJ, Sparrow D *et al*. Urinary desmosine excretion in smokers with and without rapid decline of lung function. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;154:1290-5.
8. Stokley RA. Neutrophils and protease/antiprotease imbalance. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S49-S52.
9. Shapiro SD, Senior RM. Matrix metalloproteinases. Matrix degradation and more. *Am J Resp Cell Mol Biol* 1999;20:1100-2.
10. Keatings VM, Collins PD, Scott DM, Barnes PJ. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor- α in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:530-4.
11. Culpitt SV, Nightingale JA, Barnes PJ. Effect of high dose inhaled steroid on cells, cytokines and proteases in induced sputum in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;160:1635-9.
12. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:341-57.
13. MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airway disease. *Eur J Pharmacol* 2001;429:195-207.
14. Maestrelli P, El Messlemani A, De Fina O, Nowiki Y, Saetta M, Mapp CE, Fabbri LM. Increased expression of heme oxygenase(HO)-1 in alveolar spaces and HO-2 in alveolar walls of smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1508-13.
15. Maestrelli P, Paska, Saetta M, Turato G, Nowiki Y, Monti S, Formichi B, Miniati M, Fabbri LM. Decreased haem oxygenase-1 and increased inducible nitric oxide synthase in the lung of severe COPD. *Eur Respir J* 2003;21:971-6.
16. Maestrelli P, Saetta M, Mapp CE, Fabbri LM. Remodeling in response to infection and injury. Airway inflammation and hypersecretion of mucus in smoking subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:S76-S80.
17. Reid L. Pathology of chronic bronchitis. *Lancet* 1954;1:275-9.

18. 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.
19. Saetta M, Turato G, Baraldo S, Zanin A, Braccioni F, Mapp CE, Maestrelli P, Cavallese G, Papi A, Fabbri LM. Globet 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.
20. Takeyama K, Jung B, Shim JJ, Burgel PR, Dao-pick T, Ueki IF, Protin U, Kroschel P, Nadel JA. Activation of epidermal growth factor receptors is responsible for mucin synthesis induced by cigarette smoke. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:L165-L172.
21. Shim JJ, Dabbagh K, Ueki IF, Dao-pick T, Burgel PR, Takeyama K, Tam DC, Nadel JA. IL-13 induces mucin production by stimulating epidermal growth factor receptors and by activating neutrophils. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:L134-40.
22. Takeyama K, Dabbagh K, Jeong Shim J, Dao-pick T, Ueki IF, Nadel JA. Oxidative stress causes mucin synthesis via transactivation of epidermal growth factor receptor: role of neutrophils. *J Immunol* 2000;164:1546-52.
23. Nadel JA. Role of neutrophil elastase in hypersecretion during COPD exacerbations and proposed therapies. *Chest* 2000;117: 386s-9s.
24. Maestrelli P, Calcagni PG, Saetta M, Bertin T, Mapp CE, Sanna A, Veriter C, Fabbri LM, Stanescu D. Integrin upregulation on sputum neutrophils in smokers with chronic airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1296-300.
25. Di Stefano A, Maestrelli P, Roggeri A, Turato G, Calabro S, Potena A, Mapp CE, Ciaccia A, Covacev L, Fabbri LM, Saetta M. Upregulation of adhesion molecules in the bronchial mucosa of subjects with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:803-10.
26. Lucchini RE, Facchini F, Turato G, Saetta M, Caramori G, Ciaccia A, Maestrelli P, Springall DR, Polak JM, Fabbri LM, Mapp CE. Increased VIP-positive nerve fibres in the mucous glands of subjects with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1963-8.
27. Zheng T, Zhu Z, Wang Z, Homer RJ, Ma B, Riese RY Jr, Chapman HA Jr, Shapiro SD, Elias JA. Inducible targeting of IL-13 to the adult lung causes matrix metalloproteinase- and cathepsin-dependent emphysema. *J Clin Invest* 2000;106:1081-93.
28. Shim JJ, Dabbagh K, Ueki IF, Dao-pick T, Burgel PR, Takeyama K, Tam DC, Nadel JA. IL-13 induces mucin production by stimulating epidermal growth factor receptors and by activating neutrophils. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:L134-40.
29. Mapp CE, Miotto D, Buzzacaro E, Maestrelli P, Saetta M, Braccioni F, Cavallese G, Papi A, Fabbri LM. Increased expression of IL-13 in the central airways of smokers with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161: A571.
30. Peto R, FE. Speizer, A.L. Cochrane, F. Moore, C.M. Fletcher, C.M. Thinker, H.T.T. Higgins, R.G. Gray, S.M. Richards, J. Gilliland, B. Norman-Smith. The relevance in adults of airflow obstruction, but not of mucous hypersecretion, to mortality from chronic lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1983;128:491-500.
31. Vestbo J., E. Prescott, P. Lange and the Copenhagen City Heart Study Group. Association of chronic mucus hypersecretion with FEV₁ decline and chronic obstructive pulmonary disease morbidity. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1530-5.
32. Stanescu D, Sanna A, Veriter C, Kostianev S, Calcagni PG, Fabbri LM, Maestrelli P. Airways obstruction, chronic expectoration, and rapid decline of FEV₁ in smokers are associated with increased levels of sputum neutrophils. *Thorax* 1996;51:267-71.
33. Maestrelli P, Calcagni PG, Saetta M, Bertin T, Mapp CE, Sanna A, Veriter C, Fabbri LM, Stanescu D. Integrin upregulation on sputum neutrophils in smokers with chronic airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1296-300.
34. Balbi B, Bason C, Balleari E *et al.* Increased bronchoalveolar granulocytes and granulocyte/macrophage colony stimulating factor during exacerbations of chronic bronchitis. *Eur Resp J* 1997;10:846-50.
35. Takanashi S, Hasegawa Y, Kanehira Y, Yamamoto K, Fujimoto K, Satoh K, Okamura K. Interleukin-10 level in sputum is reduced in bronchial asthma, COPD and in smokers. *Eur Respir J* 1999;14:309-14.
36. Jeffery PK. Remodeling in asthma and chronic obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164: s28-38.
37. Leaver DG, Tattersfield AE, Pride NB. Bronchial and extra-bronchial factors in chronic airflow obstruction. *Thorax* 1974;29:394-400.
38. Tiddens HAWM, Pare PD, Hogg JC, Hop WCJ, Lambert R, DeJongste JC. Cartilaginous airway dimensions and airflow obstruction in human lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:260-6.
39. Pare PD, Bai TR. Airway wall remodelling in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1996;6:259-63.
40. Weibel ER, Gil J. Alveolar structure-function relationship. In: West JB (Ed). *Bioengineering aspects of the lung*. New York: Marcel Dekker Inc.; 1977:1-81.
41. Mead J Takishima T, Leith D. Stress distribution in lungs: a model of pulmonary elasticity *J Appl Physiol* 1970;28:596-608.
42. Dayman H. Mechanics of airflow in health and emphysema. *J Clin Invest* 1951;30:1175-90.
43. Mead J, Turner JM, Macklem PT, Little JB. Significance of the relationship between lung recoil and maximum expiratory flow. *J Appl Physiol* 1967;22:95-108.
44. Hogg JC, Macklem PT, Thurlbeck WM. Site and nature of airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 1968;278:1355-60.
45. Tantucci C, Grassi V. Flow limitation: an overview. *Monaldi Arch Chest Dis* 1999;54:353-7.
46. Burnett D, Stockley RA. Serum and sputum alpha 2 macroglobulin in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1981;36:512-6.
47. Van Schayck CP, Chavannes NH. Detection of asthma and chronic obstructive pulmonary disease in primary care. *Eur Respir J* 2003;21(Suppl 39):16s-22s.
48. Van Schayck CP, van der Heijden FMMA, van den Boom G, Tirimanna PRS, van Herwaarden CLA. Underdiagnosis of asthma: is the doctor or the patient to blame? The DIMCA project. *Thorax* 2000;55:562-5.
49. American Thoracic Society. Lung function testing: Selection of reference values and interpretative strategies. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:1202-18.

50. Diaz O, Villafranca C, Ghezzi H, Borzone G, Leiva A, Milic-Emili J, Lisboa C. Role of inspiratory capacity on exercise tolerance in COPD patients with and without tidal expiratory flow limitation at rest. *Eur Respir J* 2000;16:269-75.
51. Boni E, Corda L, Franchini D, Chirolì P, Damiani GP, Pini L, Grassi V, Tantucci C. Volume effect and exertional dyspnoea after bronchodilator in patients with COPD with and without expiratory flow limitation at rest. *Thorax* 2002;57:528-32.
52. Paoletti P, Pistelli G, Fazzi P, Viegi G, Di Pede F, Giuliano G, Prediletto R, Carrozzi L, Polato R, Saetta M, Zambon R, Sapigni T, Lebowitz MD, Giuntini C. Reference values for vital capacity and flow-volume curves from a general population study. *Clin Respir Physiol* 1986;22:451-459.
53. Quanjer PhH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault J-C. Lung volumes and forced ventilatory flows. *Eur Respir J* 1993;6: Suppl 16:5-40.
54. Dal Vecchio L, Polese G, Poggi R, Rossi A. Intrinsic positive end-expiratory pressure in stable patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1990;3:74-80.
55. Lane DJ, Howell JB, GIBLIN B. Relation between airways obstruction and CO₂ tension in chronic obstructive airways disease. *Br Med J* 1968;3:707-9.
56. Rodrigues-Roisin R, MacNee W. Pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease. In: Postma DS, Siafakas NM, Eds. Management of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir Monograph* 1998;3:107-26.
57. McLean A, Warren PM, Gillooly M, MacNee W, Lamb D. Microscopic and macroscopic measurements of emphysema: relation to carbon monoxide gas transfer. *Thorax* 1992;47:144-9.
58. Biernaki W, Flenley DC, Muir AL, MacNee W. Pulmonary hypertension and right ventricular function in patients with COPD. *Chest* 1988;94:1169-75.