

REVISIÓN

Enfermedad pulmonar obstructiva crónica: mecanismos moleculares y celulares

P.J. Barnes^a, S.D. Shapiro^b y R.A. Pauwels^c

Enfermedad pulmonar obstructiva crónica: mecanismos moleculares y celulares. P.J. Barnes, S.D. Shapiro, R.A. Pauwels. ©ERS Journals Ltd., 2003.

RESUMEN: La enfermedad pulmonar obstructiva crónica es una causa mayor de muerte y discapacidad, pero tan sólo recientemente se ha explorado desde una perspectiva celular y molecular.

Se produce una inflamación crónica que provoca un estrechamiento fijo de las vías respiratorias pequeñas y destrucción de la pared alveolar (enfisema). Se caracteriza por un aumento del número de macrófagos alveolares, neutrófilos y linfocitos T citotóxicos, y la liberación de mediadores inflamatorios múltiples (lípidos, quimiocinas, citocinas, factores de crecimiento). Un nivel elevado de estrés oxidativo podría amplificar esta inflamación. También se produce una mayor elastólisis y más hallazgos de participación de varias enzimas elastolíticas, entre ellas proteasas de serina, catepsinas y metaloproteinasas de matriz. La inflamación y proteólisis en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica es una ampliación de la respuesta inflamatoria normal al humo de tabaco. Esta inflamación, a gran diferencia del asma, parece ser resistente a los corticosteroides, por lo que urge una investigación de nuevas terapias antiinflamatorias que pudiesen prevenir la progresión implacable de la enfermedad.

Eur Respir J 2003; 22: 672-688.

^aNational Heart and Lung Institute, Imperial College, Londres, Reino Unido, ^bBrigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, EE.UU., ^cDept of Respiratory Diseases, Ghent University Hospital, Ghent, Bélgica.

Correspondencia: P.J. Barnes, National Heart and Lung Institute, Imperial College School of Medicine, Dovehouse St, London SW3 6LY, UK.

Fax: 44 2073515675

Correo electrónico:

p.j.barnes@imperial.ac.uk

Palabras clave: quimiocina, citocina, enfisema, macrófago, estrés oxidativo, proteasa.

Recibido: 10 de abril de 2003

Aceptado tras la revisión: 12 de junio de 2003

El encuentro "COPD: the important questions (EPOC: las preguntas importantes)" que tuvo lugar en Malta en noviembre de 2002 estuvo patrocinado por AstraZeneca.

Esta revisión es un resumen del encuentro "COPD: the important questions" que tuvo lugar en Malta en noviembre de 2002. El objetivo del encuentro fue identificar las preguntas importantes relacionadas con el mecanismo celular y molecular implicado en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y debatir los nuevos enfoques de investigación para comprender mejor los mecanismos básicos implicados en la EPOC.

La EPOC es un problema sanitario importante y cada vez más global, y se prevé que será la tercera causa más común de muerte y la quinta más común de discapacidad en el mundo en 2020¹. Mientras que se han producido avances importantes para comprender y controlar el asma, se ha olvidado prácticamente la EPOC y no existen terapias en la actualidad que reduzcan la progresión inevitable de esta enfermedad. Sin embargo, debido a la enorme carga de la enfermedad y al crecimiento de los costes sanitarios, ahora existe un cierto interés en estudiar los mecanismos celulares y moleculares subyacentes² e investigar las nuevas terapias³, lo que conduce a una reevaluación de la enfermedad⁴. A pesar de su enorme importancia global, ha habido relativamente poca investigación sobre EPOC, y es la enfermedad más infrafinanciada en relación con la carga global que supone la enfermedad⁵.

La EPOC se caracteriza por un desarrollo progresivo, aunque lento, de la limitación del flujo respiratorio, que es pocas veces reversible, a diferencia del asma, donde se pro-

duce una obstrucción variable del flujo respiratorio que normalmente es reversible espontáneamente o con un tratamiento. Recientemente, la Global Initiative on Obstructive Lung Disease (GOLD) ha adoptado una nueva definición de EPOC: "Un estado de enfermedad caracterizado por la limitación de flujo respiratorio que no es completamente reversible. La limitación de flujo respiratorio es normalmente progresiva y se asocia con la respuesta anormal e inflamatoria de los pulmones a las partículas y gases nocivos"⁶. Por primera vez, esta definición engloba la idea de que EPOC es una enfermedad inflamatoria crónica, y buena parte de la investigación más reciente se ha centrado en la naturaleza de esta respuesta inflamatoria.

La EPOC incluye bronquiolitis obstructiva crónica con fibrosis y obstrucción de las vías respiratorias pequeñas, y enfisema con ampliación de los espacios aéreos y destrucción del parénquima pulmonar, pérdida de elasticidad pulmonar y cierre de las vías respiratorias pequeñas. A diferencia de ello, la bronquitis crónica se define como una tos productiva de > 3 meses de duración durante más de dos años sucesivos; esto refleja la hipersecreción mucosa y no se asocia necesariamente a la limitación de flujo aéreo. La mayoría de pacientes con EPOC tienen los tres mecanismos patológicos (bronquiolitis obstructiva crónica, enfisema y taponamiento mucoso), dado que todos están inducidos por el tabaco, aunque podrían diferenciarse entre ellos por la proporción de enfisema y bronquiolitis obstructiva².

En los países desarrollados, el tabaquismo es, de lejos, la causa más común de EPOC en más de un 95% de los casos, aunque existen otros factores de riesgo, entre ellos la contaminación del aire (especialmente la contaminación interna del aire por combustibles inflamables), una dieta pobre y la exposición ocupacional. La EPOC se caracteriza por la aceleración de la disminución normal de la función pulmonar que se observa con la edad. La limitación del flujo respiratorio lentamente progresiva provoca discapacidad y muerte prematura, además de ser bastante diferente de la obstrucción variable de las vías respiratorias y los síntomas del asma, que muy pocas veces progresa hacia la gravedad. Aunque la EPOC y el asma impliquen ambos una inflamación del tracto respiratorio, existen diferencias notables en la naturaleza del proceso inflamatorio, con diferencias en las células inflamatorias, mediadores, respuesta a la inflamación, distribución anatómica y respuesta a la terapia antiinflamatoria^{4,7}. No obstante, parece ser que algunos pacientes comparten las características de la EPOC y el asma. Más que representar una gradación en el espectro de la enfermedad, es más probable que estos pacientes tengan ambas enfermedades al mismo tiempo.

Diferencias del asma

Los estudios histopatológicos de EPOC muestran una implicación predominante de las vías respiratorias (bronquiolos) y del parénquima pulmonar, mientras que el asma implica inflamación de todas las vías respiratorias, aunque normalmente sin implicación del parénquima pulmonar⁸. Existe una obstrucción de los bronquiolos, con fibrosis e infiltración con macrófagos y linfocitos T. Se produce la destrucción del parénquima pulmonar y un aumento de macrófagos y linfocitos T, con un mayor aumento de células CD8⁺ (citotóxicas) en comparación con las células CD4⁺ (coadyuvantes)⁹. Las biopsias bronquiales muestran cambios similares con una infiltración de macrófagos y células CD8⁺ y un aumento del número de neutrófilos en pacientes con EPOC grave¹⁰. El líquido de lavado broncoalveolar (LBA) y el esputo inducido demuestran un aumento notable de macrófagos y neutrófilos^{11,12}. A diferencia del asma, los eosinófilos no son prominentes, excepto en las exacerbaciones o cuando los pacientes tienen asma concomitante^{8,13}.

¿Cuáles son los mecanismos predominantes de la limitación del flujo respiratorio?

El estrechamiento fijo de las vías respiratorias pequeñas, enfisema y obstrucción luminal con secreciones de moco podrían contribuir en la limitación del flujo respiratorio en la EPOC, aunque existe un debate sobre qué mecanismo es el más importante. Existen diferencias entre pacientes y en distintas etapas de la progresión de la enfermedad, en la contribución de cada uno de estos procesos, aunque los problemas para precisar las determinaciones en los pacientes han dificultado la evaluación de la importancia de cada mecanismo en cada uno de ellos.

Vías respiratorias pequeñas

Durante mucho tiempo se ha reconocido que se estrechan las vías respiratorias pequeñas de los pacientes con EPOC^{14,17}.

Se produce un aumento del grosor de las vías respiratorias pequeñas con un aumento de la formación de folículos linfoides y la deposición de colágeno en la pared externa de la vía respiratoria, que podría restringir la apertura de la vía aérea¹⁸. La luz de las vías respiratorias pequeñas se reduce con el engrosamiento de la mucosa que contiene exudado inflamatorio, y que aumenta con la gravedad de la enfermedad. Se desconoce el mecanismo de formación de folículos linfoides en una enfermedad más grave, pero podría reflejar una respuesta a la colonización bacteriana crónica y exacerbaciones agudas de la inflamación. Todavía se desconocen los mecanismos de fibrosis en las vías respiratorias, pero seguramente representan un intento de reparar la inflamación crónica. También se desconoce la función de los factores de crecimiento específicos, como el factor de crecimiento transformador β (TGF- β), que está sobreexpresado en las vías respiratorias periféricas^{19,20} y el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF). El TGF- β podría provocar fibrosis mediante la liberación de CTGF, que podría estimular la deposición de colágeno en las vías respiratorias^{21,22}.

Un obstáculo importante para entender la contribución de la obstrucción de las vías respiratorias pequeñas es la dificultad para cuantificarla en pacientes si se mide el flujo respiratorio por la elevada variabilidad y poca reproducibilidad de las determinaciones²³.

Enfisema

Los fumadores podrían desarrollar tanto enfisema panacinar como centrolobulillar²⁴. Se ha examinado la función del enfisema como causa de la obstrucción del flujo respiratorio en la EPOC, determinando el enfisema macroscópico en pulmones resecaados o con tomografía computarizada (TAC) en relación con los tests de función pulmonar, o determinando la presión transpulmonar estática (P_L) como una determinación de la enfermedad alveolar. Muchos estudios han mostrado correlaciones significativas aunque débiles entre el grado de enfisema microscópico y varios tests de la función pulmonar^{25,26}. Sin embargo, la evaluación del enfisema macroscópico está dominada por la porción de pulmón destruido o con escaso funcionamiento, mientras que los tests de la función pulmonar reflejan predominantemente la función del pulmón mejor conservado. En el caso extremo de bulla enfisematosa sin ventilación rodeado por pulmón normal, las dos evaluaciones son casi independientes, con unos tests de la función pulmonar que tan sólo determinan la reducción del volumen del pulmón mejor conservado. En tipos más comunes de enfisema no se puede aplicar un modelo simple de dos compartimientos, y normalmente habrá más heterogeneidad de la enfermedad y cada vez más unidades serán menos funcionales a medida que progresa la enfermedad, lo que provoca un aumento del volumen residual y una disminución de la capacidad vital. De este modo, la fuerza de la correlación entre la evaluación del enfisema mayor y la función pulmonar dependerá de la gravedad y homogeneidad de la enfermedad "microscópica" en el pulmón menos afectado, que no se analiza tan a menudo.

Se representa gráficamente P_L (se determina utilizando un catéter esofágico) frente a la conductancia del flujo respiratorio o flujo espiratorio máximo en diferentes volúmenes pulmonares para indicar la contribución de la enfermedad alveolar (y, por implicación, enfisema) en la limitación

del flujo respiratorio, suponiendo que el resto se debe a una enfermedad intrínseca de las vías respiratorias^{27,29}. Sin embargo, no es cierto que la magnitud de disminución de *PL* refleje con precisión la gravedad del enfisema y sus efectos en las vías respiratorias. Es probable que la reducción de *PL* sea mayor con enfisema relativamente uniforme, tal como ocurre en el enfisema panacinar (por ejemplo, deficiencia de α 1-antitripsina), mientras que el enfisema centrolobulillar irregular tiene una *PL* casi normal. De hecho, el enfisema “microscópico” uniforme podría explicar el “pseudoenfisema” funcional sin que se produzca ningún cambio en la TAC.

En la práctica, es inusual que se produzca una reducción de la conductancia o flujo máximo, explicada por una reducción de *PL*, excepto en la enfermedad leve. Todos los estudios con catéter retrógrado en pulmones resecaos de pacientes con obstrucción grave de las vías respiratorias debida a EPOC han hallado aumentos importantes de la resistencia periférica con *PL* estándar^{30,32}. Pero existen otros posibles cambios de la función de las vías respiratorias debidos a enfisema que podrían provocar un aumento de la resistencia con una *PL* determinada, entre ellos angulación anormal o compresión de las vías respiratorias normales por pulmón sobredistendido circundante, pérdida de vías respiratorias paralelas por destrucción enfisematosa y pérdida funcional de vías respiratorias abiertas que conducen a áreas del pulmón poco ventiladas. Los efectos del enfisema no siempre reducen la *PL*, como, por ejemplo, en el caso de una estenosis corta causada por la pérdida local de uniones alveolares. Los análisis actuales de la morfología de las vías respiratorias no son suficientes para revelar una base anatómica del constante hallazgo fisiológico de aumento de la resistencia del flujo respiratorio periférico. Suponer que el aumento se debe a una enfermedad “intrínseca” de las vías respiratorias periféricas subestima la función del enfisema. El enfisema podría tener una función más importante en la enfermedad grave a medida que se acelera la disminución de la función pulmonar.

Hipersecreción mucosa

La contribución de la hipersecreción mucosa en la limitación del flujo respiratorio en EPOC todavía se desconoce. Aunque anteriores estudios apoyan la opinión de que la hipersecreción mucosa no estaba asociada a ningún defecto fisiológico^{33,34}, los estudios más recientes han demostrado que la hipersecreción mucosa podría ser un riesgo potencial para la disminución acelerada de la función pulmonar^{35,36}. Los estudios previos examinaron las primeras etapas de EPOC y también incluyeron una cohorte ocupacional. El mecanismo más probable por el que la hipersecreción mucosa crónica contribuye a la progresión de EPOC podría deberse al aumento del riesgo de exacerbaciones que parecen acelerar la pérdida de volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV_1)³⁷. La hipersecreción mucosa crónica podría contribuir poco en las primeras fases de EPOC cuando las exacerbaciones no son frecuentes. Es posible que la hipersecreción mucosa crónica refleje el proceso inflamatorio en las glándulas submucosas³⁸, y podría reflejar la intensidad de la inflamación en vías respiratorias más periféricas. También se ha hallado un número mayor de neutrófilos y mastocitos en las glándulas submucosas^{38,39}, y las proteasas de serina y la quimasa mastocíticas son secretagogos mucosos potentes^{40,42}. En

casos de EPOC grave, se asocia la hipersecreción mucosa crónica con la mortalidad, lo que podría reflejar también un mayor riesgo de infección terminal^{43,45}. No parece ser que la tos y producción mucosa crónicas de fumadores con función pulmonar normal (etapa 0 GOLD) pronostiquen el posterior desarrollo de EPOC⁴⁶.

¿Cuáles son las células inflamatorias clave?

La EPOC, como el asma, es una enfermedad inflamatoria compleja que implica diversos tipos de células y mediadores inflamatorios múltiples. No obstante, el modelo de inflamación y el espectro de mediadores son distintos entre estas dos enfermedades de las vías respiratorias, al menos en el estado estable de la enfermedad. Aunque se hayan documentado cantidades anormales de células inflamatorias en la EPOC, la relación entre estos tipos de células y la secuencia de su aspecto y persistencia siguen sin conocerse. La mayoría de los estudios se han basado en la selección transversal en la selección de pacientes con distintas etapas de la enfermedad, y se han hecho comparaciones entre fumadores sin limitación del flujo respiratorio (fumadores normales) y fumadores con EPOC que han fumado una cantidad de cigarrillos similar. No existen estudios longitudinales, y los sesgos de selección (como escoger el tejido pulmonar de pacientes que son candidatos para la cirugía de reducción de volumen pulmonar) podrían proporcionar resultados engañosos. El análisis del perfil celular en los alvéolos y las vías respiratorias pequeñas muestra un aumento de todos los tipos de células implicadas en EPOC, entre ellos macrófagos, linfocitos T, linfocitos B y neutrófilos⁴⁷.

Neutrófilos

Se encuentran más neutrófilos activados en el esputo y líquido de LBA de pacientes con EPOC^{12,48}, aunque sólo se producen unos aumentos relativamente leves en las vías respiratorias o en el parénquima pulmonar⁴⁹. Esto podría reflejar su rápido tránsito a través de las vías respiratorias y el parénquima. Los neutrófilos secretan proteasas de serina, entre ellas elastasa de neutrófilo (EN), catepsina G y proteinasa 3, así como metaloproteinasa de matriz (MMP)-8 y MMP-9, las cuales podrían contribuir en la destrucción alveolar. Estas proteasas también son estimulantes potentes de moco. El reclutamiento de neutrófilos en las vías respiratorias y el parénquima implica la adhesión a células endoteliales; se regula E-selectina a la alza en las células endoteliales de las vías respiratorias de pacientes con EPOC⁵⁰. Después, los neutrófilos adherentes emigran al tracto respiratorio bajo la atracción de factores quimiotácticos de neutrófilos, que incluyen interleucina (IL)-8 y leucotrieno B4 (LTB4). La supervivencia de los neutrófilos en el tracto respiratorio podría aumentar con las citocinas, como el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF).

Todavía no está claro el papel de los neutrófilos en la EPOC. Existe una correlación entre el número de neutrófilos circulantes y la disminución de FEV_1 ⁵¹. Los números de neutrófilos en las biopsias bronquiales y el esputo inducido se correlacionan con la gravedad de la EPOC^{10,12} y con el índice de disminución de la función pulmonar⁵². El

tabaquismo tiene un efecto estimulador directo en la producción de granulocitos y liberación de la médula ósea, posiblemente mediadas por GM-CSF y G-CSF liberados de los macrófagos pulmonares⁵³. El tabaquismo también podría aumentar la retención de neutrófilos en el pulmón⁵⁴. No existe ninguna duda de que se activan los neutrófilos que se reclutan en las vías respiratorias de pacientes con EPOC, dado que se produce un aumento de las concentraciones de proteínas en gránulos, como mieloperoxidasa y lipocalina del neutrófilo humano, en el sobrenadante de esputo⁵⁵⁻⁵⁷. Estos neutrófilos también muestran un aumento de la respuesta respiratoria aguda, que se correlaciona con el grado de limitación del flujo respiratorio⁵⁸.

Los neutrófilos tienen la capacidad de inducir lesión tisular a través de la liberación de proteasas de serina y oxidantes. El cebado es un prerrequisito para la desgranulación y generación de aniones superóxidos en los neutrófilos⁵⁹. Los neutrófilos de la circulación periférica muestran indicios de cebado en la EPOC⁶⁰, aunque esto podría derivarse más de la fisiopatología pulmonar que contribuir a ella. Existen varias señales quimiotácticas que tienen el potencial de reclutar neutrófilos en la EPOC, como LTB₄, IL-8 y quimiocinas CXC relacionadas, entre ellas GRO- α (oncoproteína relacionada con el crecimiento) y ENA-78 (proteína activadora de neutrófilo epitelial de 78 kDa) que aumentan en las vías respiratorias con EPOC^{61,62}. Estos mediadores podrían derivar de macrófagos alveolares y células epiteliales, pero el propio neutrófilo podría ser una fuente importante de IL-8⁶³.

Los neutrófilos circulantes se marginan en la circulación pulmonar y se adhieren a células endoteliales de la pared alveolar antes de pasar al espacio alveolar⁶⁴. La vía precisa de la migración de neutrófilos en las vías respiratorias mayores es más incierta, pero es más probable que alcancen las vías respiratorias desde la circulación traqueobronquial y emigren a través de las vénulas poscapilares⁶⁵. Los mecanismos celulares subyacentes a la adhesión de neu-

trófilos y trasmigración son distintos entre las circulaciones sistémica y pulmonar; esto podría conferir diferentes propiedades sobre los neutrófilos que proceden de compartimientos alveolares o bronquiales. Pueden existir diferencias significativas en tiempos de tránsito de neutrófilos en distintas áreas del pulmón, que podrían explicar la distribución diferencial del enfisema, como el predominio del lóbulo superior en el enfisema centrolobulillar. Se conoce poco sobre la supervivencia y apoptosis de neutrófilos en las vías respiratorias con EPOC. Teóricamente, el GM-CSF podría prolongar la supervivencia de neutrófilos, pero se ha demostrado que es difícil cultivar neutrófilos de muestras de esputo.

Sin embargo, mientras que los neutrófilos tienen la capacidad de causar elastólisis, ésta no es una característica prominente de otras enfermedades pulmonares en las que la neutrofilia crónica de las vías respiratorias es incluso mayor, incluidas la fibrosis quística y la bronquiectasis. Esto sugiere que están implicados otros factores en la generación de enfisema. De hecho, existe una asociación negativa entre el número de neutrófilos y la cantidad de destrucción alveolar de EPOC⁴⁹, y los neutrófilos no son ninguna característica básica de la inflamación parenquimatosa en la EPOC. Sin embargo, es probable que la neutrofilia de las vías respiratorias se vincule con la hipersecreción de moco en la bronquitis crónica. Todas las proteasas de serina de neutrófilos, entre ellas elastasa de neutrófilo, catepsina G y proteinasa 3, son estimulantes potentes de secreción de moco desde las glándulas submucosas y células caliciformes en el epitelio^{40,42}.

Macrófagos

Parece ser que los macrófagos tienen una función central en la fisiopatología de EPOC y pueden explicar la mayoría de las características conocidas de la enfermedad (fig. 1)^{66,67}.

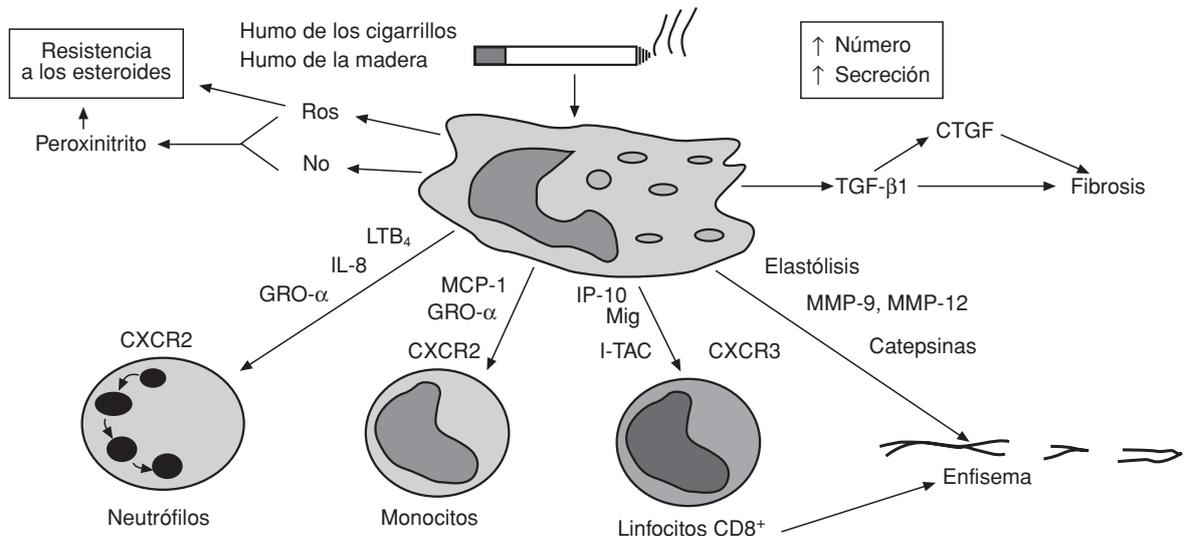


Figura 1. Los macrófagos podrían tener una función central en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), dado que se activan con extracto del humo del tabaco y secretan muchas proteínas inflamatorias que podrían dirigir el proceso inflamatorio en la EPOC. Los neutrófilos pueden ser atraídos por la interleucina (IL)-8, onco α relacionado con el crecimiento (GRO- α) y leucotrieno B4 (LTB₄) los monocitos por la proteína 1 quimiotáctica de macrófagos (MCP-1) y los linfocitos CD8⁺ por la proteína inducible de interferón γ (IP-10), monocina inducida por interferón γ (Mig) y quimiotáctico α para células T inducible por interferón (I-TAC). La liberación de enzimas elastolíticas, entre ellas las metaloproteinasas de matriz (MMP) y catepsinas, causa elastólisis y la liberación del factor de crecimiento transformador (TGF- β) y el de crecimiento de tejido conectivo (CTGF). Los macrófagos también generan especies de oxígeno reactivo (EOR) y óxido nítrico (ON), que juntos forman peroxinitrito y que podrían contribuir en la resistencia a los esteroides.

Se produce un aumento notable (de 5 a 10 veces) del número de macrófagos en las vías respiratorias, parénquima pulmonar, líquido del LBA y esputo en pacientes con EPOC. Un análisis morfométrico preciso del número de macrófagos en el parénquima pulmonar de pacientes con enfisema mostró un aumento 25 veces superior del número de macrófagos en el tejido y el espacio alveolar, en comparación con fumadores normales⁴⁷. Además, los macrófagos están localizados en puntos de destrucción de la pared alveolar en pacientes con enfisema^{49,68}. Existe una correlación entre el número de macrófagos en las vías respiratorias y la gravedad de EPOC¹⁰.

Se podrían activar los macrófagos con extracto de humo de tabaco para liberar los mediadores inflamatorios, entre ellos el factor de necrosis tumoral (TNF)- α , IL-8, otras quimiocinas CXC, péptido quimiotáctico monocítico (MCP)-1, LTB₄ y especies de oxígeno reactivo, lo que proporciona un mecanismo celular que vincula el tabaquismo con la inflamación en EPOC. Los macrófagos alveolares también secretan enzimas elastolíticas, como MMP-2, MMP-9, MMP-12, catepsinas K, L y S y elastasa de neutrófilo procedente de neutrófilos^{69,70}. Los macrófagos alveolares de pacientes con EPOC secretan más proteínas inflamatorias y tienen una mayor actividad elastolítica en el valor basal que los de fumadores normales, y esto aumenta con la exposición al humo del tabaco⁷⁰⁻⁷². Los macrófagos demuestran esta diferencia incluso cuando se mantienen en cultivo durante 3 días y, por lo tanto, parecen ser intrínsecamente diferentes de los macrófagos de fumadores normales y sujetos control normales no fumadores⁷⁰. La enzima elastolítica predominante que secretan los macrófagos alveolares en pacientes de EPOC es MMP-9. La mayoría de proteínas inflamatorias que se regulan a la alza en macrófagos de EPOC se regulan con el factor de transcripción nuclear κ B (NF κ B), que se activa en los macrófagos alveolares de pacientes de EPOC, especialmente durante las exacerbaciones^{73,74}.

El aumento del número de macrófagos en fumadores y pacientes de EPOC se podría deber al aumento del reclutamiento de monocitos de la circulación como respuesta a las quimiocinas monocitoselectivas. La quimiocina selectiva de monocitos MCP-1 aumenta en el esputo y el LBA de pacientes con EPOC^{61,75}, y se produce un aumento de la expresión de los macrófagos⁷⁶. Las quimiocinas CXC también son quimioatrativas para los monocitos que actúan a través de CXCR2, y la concentración de la quimiocina CXC GRO- α aumenta notablemente en el esputo y LBA de pacientes con EPOC⁶¹. Los monocitos de pacientes con EPOC muestran una respuesta quimiotáctica superior a GRO- α en comparación con las células de fumadores y no fumadores normales, pero esto no se explica con un aumento de CXCR2⁷⁷. Hay que destacar que mientras que todos los monocitos expresan CCR2, el receptor de la proteína 1 inflamatoria de macrófago, tan sólo aproximadamente el 30% de monocitos expresan CXCR2. Es posible que estos monocitos que expresan CXCR2 se transformen en macrófagos que se comporten de manera distinta, por ejemplo liberando más proteínas inflamatorias. Los macrófagos también tienen la capacidad de liberar quimiocinas como la proteína inducible de interferón γ (IP-10), quimiotáctico para células T inducible por interferón (I-TAC) y monocina inducida por interferón γ (Mig), las cuales son quimiotácticas para células CD4+Tc1, a través de la interacción con el receptor CXCR3 que se expresa en estas células⁷⁸.

El aumento del número de macrófagos en EPOC se podría deber al aumento de reclutamiento de monocitos, pero también al aumento de la proliferación y prolongamiento de la supervivencia en los pulmones. Los macrófagos tienen un índice de proliferación muy bajo en los pulmones, pero los autores del artículo han demostrado que se produce algún aumento de la proliferación celular determinado por el antígeno nuclear de células proliferativas (PCNA)⁷⁹. Los macrófagos tienen un tiempo de supervivencia largo, por lo que es difícil de determinar directamente. No obstante, en macrófagos de fumadores se produce un aumento notable de la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl-XL y un aumento de la expresión de p21^{CIP/WAF1} en el citoplasma⁷⁹. Esto sugiere que los macrófagos podrían tener una supervivencia prolongada en fumadores y pacientes con EPOC.

Los corticosteroides son ineficaces en la supresión de la inflamación, incluidas las citocinas, quimiocinas y proteasas, en pacientes con EPOC^{80,81}. *In vitro*, la liberación de IL-8, TNF- α y MMP-9 por los macrófagos de sujetos y fumadores normales se inhibe con los corticosteroides, mientras que éstos son ineficaces en los macrófagos de pacientes con EPOC⁸². Curiosamente, esto no se aplica a GM-CSF, cuya secreción no parece estar aumentada en EPOC y se suprime con corticosteroides, aunque en menor grado que en los macrófagos de fumadores normales. La causa de la resistencia a los corticosteroides en EPOC y, en menor grado, a macrófagos de fumadores, podría ser la reducción importante de la actividad de histona deacetilasa (HDAC)⁸³, que se recluta en genes inflamatorios activados con receptores glucocorticoides para silenciar los genes inflamatorios⁸⁴. La reducción de la actividad de HDAC en macrófagos se correlaciona con el aumento de secreción de citocinas, como TNF- α e IL-8, y con la reducción de la respuesta a los corticosteroides. La reducción de la actividad de HDAC en pacientes con EPOC podría mediarse a través del estrés oxidativo y la formación de peroxinitrito.

Aunque los corticosteroides no son eficaces a la hora de inhibir la secreción de citocinas y proteasas de los macrófagos, podrían ser útiles otros fármacos. La teofilina en concentraciones bajas aumenta la actividad de HDAC en macrófagos alveolares y revierte *in vitro* la resistencia esteroidea inducida por estrés oxidativo⁸⁵. El resveratrol, un flavonoide que se halla en el vino tinto, es un inhibidor eficaz de la expresión de la citocina de los macrófagos de pacientes con EPOC, pero todavía no se han determinado sus mecanismos de acción moleculares⁸⁶.

Los macrófagos son fagocíticos para las bacterias y tienen una función importante en cuanto a la defensa del huésped. El potencial fagocítico de los macrófagos de pacientes con EPOC todavía no se ha explorado, pero es posible que la alteración de la fagocitosis cause una mayor carga bacteriana en el tracto respiratorio de pacientes con EPOC. Los macrófagos reconocen las células apoptóticas a través de la expresión de la fosfatidilserina (PS), que interactúa con receptores específicos sobre la superficie de los macrófagos⁸⁷. La ingestión de granulocitos apoptóticos por parte de los macrófagos induce la secreción de TGF- β ¹⁸⁸. La elastasa de neutrófilo escinde el de PS, por lo que se podría alterar la capacidad de los macrófagos de absorber neutrófilos apoptóticos, provocando un aumento del número de neutrófilos apoptóticos en las vías respiratorias⁸⁹.

Linfocitos T

Se produce un aumento del número total de linfocitos T en el parénquima pulmonar, vías respiratorias periféricas y centrales de pacientes con EPOC, con un aumento mayor de células CD8⁺ en comparación con CD4⁺^{47,49,90-92}. Existe una correlación entre los números de células T y la cantidad de destrucción alveolar y la gravedad de la obstrucción del flujo respiratorio. También se produce un aumento del número absoluto de células T CD4⁺⁴⁷, pero la relación de células CD4⁺:CD8⁺ se invierte en la EPOC. Esto se encuentra principalmente en fumadores con EPOC más que en fumadores sin signos de limitación del flujo respiratorio⁹⁰. No se sabe si estas células están clasificadas como subtipos Tc1 (productora de interferón γ) o Tc2 (productora de IL-4)⁹³, pero existen indicios de que la mayoría de las células T de las vías respiratorias en caso de EPOC son del subtipo Tc1⁷⁸. Las células T CD8⁺ y CD4⁺ muestran un aumento de la expresión de marcadores de activación en comparación con las células T de la circulación, aunque no existe ninguna diferencia clara entre pacientes con EPOC y controles normales⁹⁴.

Todavía no se conocen los mecanismos por los que las células CD8⁺ y, en menor grado, CD4⁺ se acumulan en las vías respiratorias y los pulmones de pacientes con EPOC. No obstante, la recuperación de la posición inicial de células T en el pulmón tiene que depender de alguna activación inicial, y después de la adhesión y quimiotaxis selectiva. Las células T en las vías respiratorias periféricas de pacientes con EPOC muestran un aumento de la expresión de CXCR3, un receptor activado por IP-10, Mig y I-TAC.

Se produce un aumento de la expresión de IP-10 en las células epiteliales bronquiales, lo que podría contribuir a la acumulación de células CD8⁺, las cuales expresan preferentemente CXCR3⁷⁸.

También se produce un aumento del número de células CD8⁺ en la circulación en pacientes con EPOC que no fuman^{95,96} y un aumento de células CD⁺ del tipo coadyuvante T1 –productora de interferón (IFN)- γ – en pacientes con EPOC⁹⁷. Esto indica que se podría producir estimulación inmune crónica a través de los antígenos presentados por la vía HLA de clase I. Las células dendríticas podrían emigrar desde las vías respiratorias hasta los ganglios linfáticos y estimular la proliferación de células T CD8⁺ y CD4⁺. Las células CD8⁺ normalmente se incrementan en las infecciones de las vías respiratorias, y es posible que la colonización crónica del tracto respiratorio inferior de pacientes con EPOC con patógenos víricos y bacterianos sea la responsable de esta respuesta inflamatoria⁹⁸. También es posible que la lesión pulmonar inducida por proteasa pudiese descubrir autoantígenos previamente aislados o que el propio humo de los cigarrillos dañase las células epiteliales de las vías respiratorias o las convirtiese en antigénicas⁹⁹.

La función del aumento del número de células CD4⁺ en EPOC, especialmente en casos de enfermedad grave, también se desconoce⁴⁷; es posible que tengan memoria inmunológica y una función en la perpetuación del proceso inflamatorio en ausencia de humo de tabaco. Las células asesinas naturales (NK, CD56⁺) son la primera línea de la defensa contra las infecciones víricas. Se reducen las células NK circulantes en pacientes con EPOC, las cuales tienen una menor actividad fagocítica¹⁰⁰, y se encuentran hallazgos similares en fumadores normales¹⁰, aunque no se halló ninguna diferencia en las células NK en el parénqui-

ma pulmonar de pacientes con EPOC⁹⁰. Se produce un aumento de células T γ/δ en los alvéolos de fumadores, ya tengan obstrucción de las vías respiratorias o no⁹⁰.

La función de las células T en la fisiopatología de EPOC todavía se desconoce. Las células CD8⁺ tienen la capacidad de causar citolisis y apoptosis de las células epiteliales alveolares a través de la liberación de perforinas, granzima B y TNF- α ¹⁰². Se crea una asociación entre las células CD8⁺ y la apoptosis de las células alveolares en el enfisema⁹⁰. En un modelo de ratón de enfisema inducido por cigarrillos, existe un predominio de células T que está directamente relacionado con la gravedad del enfisema¹⁰³.

Eosinófilos

Se desconoce la función de los eosinófilos en la EPOC. Existen algunos informes que hablan del aumento del número de eosinófilos inactivos en las vías respiratorias y lavado de pacientes con EPOC estable, mientras que otros no han hallado aumento del número de biopsias de las vías respiratorias, LBA o esputo inducido¹⁰⁴. La presencia de eosinófilos en pacientes con EPOC pronostica una respuesta a los corticosteroides y podría indicar la presencia de asma coexistente^{105,106}. Se ha observado aumento del número de eosinófilos en biopsias bronquiales y líquido del LBA durante exacerbaciones agudas de bronquitis crónica^{107,108}. Sorprendentemente, los niveles de proteínas básicas de eosinófilo en esputo inducido son tan elevados en EPOC como en asma, a pesar de la ausencia de eosinófilos, lo que sugiere que se podrían desgranular y ya no se reconocen con un microscopio⁵⁵. Quizá esto se deba a los niveles elevados de elastasa de neutrófilo que se ha demostrado que causan la desgranulación de eosinófilos¹⁰⁹.

Células dendríticas

La célula dendrítica tiene una función central en la iniciación de la respuesta inmune innata y adaptativa¹¹⁰. Las vías respiratorias y los pulmones contienen una red rica de células dendríticas que se localizan cerca de la superficie, por lo que tienen una ubicación ideal para señalar la entrada de sustancias extrañas que se inhalan¹¹¹.

Las células dendríticas pueden activar una gran variedad de otras células inflamatorias e inmunes, entre ellas macrófagos, neutrófilos, linfocitos T y linfocitos B¹¹². Por lo tanto, es probable que la célula dendrítica desempeñe una función importante en la respuesta pulmonar al humo del tabaco y otros agentes nocivos que se inhalan; de este modo, podría ser un elemento celular clave en la EPOC (fig. 2). El mecanismo por el que el humo del tabaco activa el sistema inmunológico todavía se desconoce, pero sí se sabe que una glucoproteína aislada del tabaco tiene acciones inmunoestimuladoras potentes¹¹³. Se produce un aumento del número de células dendríticas en los pulmones de ratas expuestas a humo del tabaco¹¹⁴ y en las vías respiratorias y paredes alveolares de fumadores^{115,116}. La histiocitosis pulmonar es una enfermedad causada por granulas de células dendríticas en el pulmón, y se caracteriza por una destrucción del parénquima pulmonar que se asemeja al enfisema^{117,118}. La forma adulta de la enfermedad ocurre casi exclusivamente en fumadores. En ratones expuestos a humo de tabaco crónico, se produjo un aumento de las células dendríticas en las vías respiratorias y el parénquima pulmonar¹¹⁹. La función de las células dendríticas

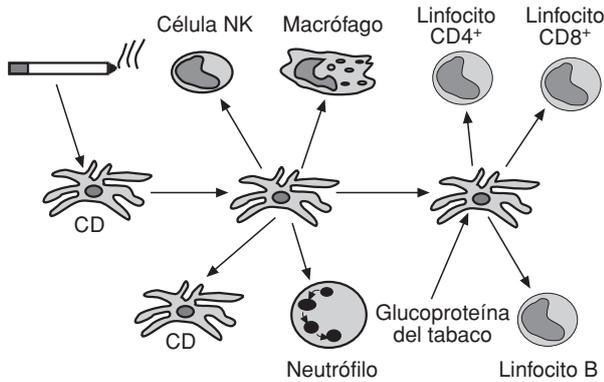


Figura 2. Las células dendríticas (CD) podrían tener una función importante en la fisiopatología de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, dado que se pueden activar con el humo y con la glucoproteína del tabaco, que procede del reclutamiento de neutrófilos, macrófagos, células asesinas naturales (NK), linfocitos B y linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺.

ticas en el reclutamiento de otras células efectoras en EPOC se merece una consideración aparte.

Células epiteliales

Las células epiteliales de las vías respiratorias y alveolares podrían ser una fuente importante de mediadores inflamatorios y proteasas en EPOC. Las células epiteliales se activan con el humo del tabaco para producir mediadores inflamatorios, como TNF- α , IL-1 β , GM-CSF e IL-8^{120,122}. Las células epiteliales de las vías respiratorias podrían ser una fuente importante de TGF- β , que después provoca fibrosis local²⁰. Parece ser que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es necesario para mantener la supervivencia de las células alveolares, y el bloqueo de los receptores de VEGF (VEGFR2) en las ratas provoca apoptosis de las células alveolares y una patología parecida al enfisema¹²³. Sin embargo, la función de VEGF en la patogénesis del enfisema humano todavía se desconoce.

Las células epiteliales de las vías respiratorias también son importantes en la defensa de las vías respiratorias. El moco que se produce en las células caliciformes atrapa las bacterias y partículas que se inhalan¹²⁴. Las células epiteliales secretan las defensinas y otros péptidos catiónicos con efectos antimicrobianos y forman parte del sistema de defensa innato, pero también están implicadas en los procesos de reparación de tejidos¹²⁵. También secretan antioxidantes y antiproteasas, como el inhibidor de la leucoproteasa secretora (SLPI). Las células epiteliales también transportan inmunoglobulina A y, por lo tanto, participan en la inmunidad adaptativa¹²⁶. Es posible que el humo del tabaco y otros agentes nocivos alteren estas respuestas inmunes innatas y adaptativas del epitelio de las vías respiratorias, por lo que se aumentaría la susceptibilidad a sufrir una infección.

El epitelio de las vías respiratorias en la bronquitis crónica y EPOC muestra a menudo metaplasia escamosa, que podría proceder del aumento de la proliferación de las células epiteliales de las vías respiratorias. La proliferación de las células epiteliales basales de las vías respiratorias, determinada por PCNA, aumenta en algunos fumadores normales, pero lo hace especialmente en pacientes con bronquitis crónica y se correlaciona con el grado de metaplasia escamosa¹²⁷. Todavía no se conoce la naturaleza de los factores de crecimiento que participan en la prolifera-

ción de células epiteliales, ciclo celular y diferenciación en EPOC. Los receptores de factores de crecimiento epiteliales muestran un aumento de la expresión de las células epiteliales de las vías respiratorias de fumadores, y podrían contribuir a la proliferación celular basal, lo que provocaría metaplasia escamosa y un aumento del riesgo de sufrir carcinoma bronquial¹²⁸.

¿Cuál es la función del estrés oxidativo?

El estrés oxidativo aparece cuando se producen más especies de oxígeno reactivo (ROS) que mecanismos de defensa antioxidantes, lo que provoca efectos perjudiciales, como lesión en lípidos, proteínas y ácido desoxirribonucleico (ADN). Existen cada vez más indicios de que el estrés oxidativo es una característica importante en la EPOC¹²⁹⁻¹³¹.

Formación

Las células inflamatorias y estructurales que se activan en las vías respiratorias de los pacientes con EPOC producen ROS, entre ellas neutrófilos, eosinófilos, macrófagos y células epiteliales¹³⁰. Se generan aniones superóxidos (O₂⁻) con la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa, que se convierte a peróxido de hidrógeno (H₂O₂) mediante dismutasas de superóxido. Después el H₂O₂ se transforma en agua por la catalasa. O₂ y H₂O₂ podrían interactuar en presencia de hierro libre para formar el radical hidroxil (OH), muy reactivo. El O₂ también se podría combinar con NO para formar peroxinitrito, que también genera OH¹³². El estrés oxidativo conduce a la oxidación de ácido araquidónico y a la formación de una nueva serie de mediadores prostanoideos llamados isoprostanas, que podrían ejercer efectos funcionales significativos¹³³, como broncoconstricción y exudación plasmática¹³⁴⁻¹³⁶.

Las peroxidadas de granulocitos, como mieloperoxidasa en los neutrófilos, tienen una función importante en el estrés oxidativo. En los neutrófilos, se metaboliza el H₂O que se genera de O₂ con mieloperoxidasa en presencia de iones de cloro a ácido hipocloroso, un oxidante potente. La mieloperoxidasa también puede nitrar residuos de tirosina, al igual que el peroxinitrito¹³⁷⁻¹³⁹.

Antioxidantes

La producción normal de oxidantes se contrarresta con varios mecanismos antioxidantes en el tracto respiratorio humano¹⁴⁰. Los antioxidantes intracelulares mayores en las vías respiratorias son catalasa, superóxido dismutasa (SOD) y glutatión, formados por la enzima γ -glutamil cisteína sintetasa y sintetasa de glutatión. El estrés oxidante activa la enzima inducible oxigenasa-1 hemínica (HO-1), y convierte hem y hemina en biliverdina con la formación de monóxido de carbono (CO)¹⁴¹. La biliverdina se convierte mediante la bilirrubina reductasa en bilirrubina, un antioxidante potencial. HO-1 se expresa ampliamente en las vías respiratorias¹⁴², y aumenta la producción de CO en EPOC¹⁴³. En el pulmón se expresan los antioxidantes intracelulares en niveles relativamente bajos, y no se inducen por el estrés oxidativo, mientras que los antioxidantes mayores son extracelulares¹⁴⁴. Los antioxidantes extracelulares, especialmente glutatión peroxidasa, se regulan sobre

todo al alza, en respuesta al humo del tabaco y al estrés oxidativo. El sistema de glutatión es el mecanismo antioxidante principal de las vías respiratorias. Existe una elevada concentración de glutatión reducido en el líquido epitelial pulmonar¹⁴⁰, y en fumadores aumentan las concentraciones. La peroxidasa de glutatión extracelular (eGPx) es un antioxidante importante en los pulmones y se podría secretar con células epiteliales y macrófagos, sobre todo como respuesta al humo del tabaco o el estrés oxidativo¹⁴⁵. La eGPx inactiva H₂O₂ y O₂, pero también podría bloquear las especies de nitrógeno reactivo¹⁴⁴. Los antioxidantes extracelulares también incluyen los antioxidantes dietéticos como la vitamina C (ácido ascórbico) o la vitamina E (α -tocoferol), ácido úrico, lactoferrina y SOD3 extracelular. SOD3 se expresa sobre todo en el pulmón humano, pero su función principal en la EPOC no queda del todo clara¹⁴⁶.

Efectos en las vías respiratorias

Las ROS tienen varios efectos en las vías respiratorias, como el de aumentar la respuesta inflamatoria. Estos efectos se podrían mediar con acciones directas de ROS en las células diana en las vías respiratorias, pero también se podrían mediar indirectamente a través de la activación de las vías de transducción de señales y factores de transcripción así como de la formación de mediadores oxidizados, como isoprostanasas e hidroxil-nonalal.

Las ROS activan NF- κ B, que a su vez pone en marcha los genes inflamatorios múltiples que proceden de la amplificación de la respuesta inflamatoria¹⁴⁷. No se han averiguado todas las vías moleculares por las que el estrés oxidativo activa NF- κ B, pero existen varios pasos sensibles a redox en la vía de activación¹⁴⁸. Parece ser que muchos de los estímulos que activan NF- κ B lo hacen mediante la formación de ROS, especialmente H₂O₂. Las ROS activan NF- κ B en una línea celular epitelial¹⁴⁹ y aumentan la liberación de citocinas proinflamatorias de células epiteliales cultivadas de las vías respiratorias humanas¹⁵⁰. El estrés oxidativo provoca una activación de la actividad de histona acetiltransferasa, que abre la estructura de cromatina y se asocia a un aumento de la transcripción de genes inflamatorios múltiples^{151,152}.

Otro factor de transcripción que activa los genes inflamatorios es la proteína 1 activadora (AP-1), un heterodímero de las proteínas Fos y Jun. Igual que ocurre con NF- κ B, existen varios pasos sensibles a redox en la vía de activación¹⁵³. Los oxidantes exógenos también podrían ser importantes en el empeoramiento de la enfermedad de las vías respiratorias. El humo del tabaco, el ozono y, en menor grado, el dióxido de nitrógeno, imponen un estrés oxidativo en las vías respiratorias¹⁵⁴.

Los oxidantes también activan las vías de la proteína activada por mitógeno (MAP) cinasa. H₂O₂ es un activador potente de las cinasas reguladas extracelulares y p38 de las vías de MAP cinasa, que regulan la expresión de muchos genes inflamatorios y la supervivencia de algunas células, y la difusión de los macrófagos¹⁵³. De hecho, muchos aspectos de la función de los macrófagos están reguladas por oxidantes a través de la activación de vías de cinasa múltiples¹⁵⁶.

Indicios de un mayor estrés oxidativo

Existen indicios considerables de un aumento del estrés oxidativo en EPOC^{129,130}. El humo del tabaco ya contiene

una concentración elevada de ROS¹⁵⁷. Las células inflamatorias, como los macrófagos y neutrófilos activados, también generan ROS, tal como se comenta anteriormente. Los indicios epidemiológicos indican que la reducción de la ingesta dietética de antioxidantes podría ser un determinante de EPOC, y las encuestas de población han vinculado una ingesta dietética baja del antioxidante ácido ascórbico (vitamina C) con un empeoramiento de la función pulmonar^{158,159}.

Existen varios marcadores de estrés oxidativo que se podrían detectar en la respiración, y varios estudios han demostrado un incremento de la producción de oxidantes en el aire espirado o los condensados de la respiración¹⁶⁰⁻¹⁶². Se produce un aumento de la concentración de H₂O₂ en el condensado de aire espirado de pacientes con EPOC, especialmente durante las exacerbaciones^{163,164}.

También se produce un aumento de la concentración de 8-isoprostaglandina F_{2a} (8-isoprostana) en condensado de aire exhalado, que se encuentra incluso en pacientes exfumadores¹⁶⁵ y aumenta todavía más durante exacerbaciones agudas¹⁶⁶. También aumenta la isoprostana en la respiración de fumadores normales, pero en menor grado en comparación con pacientes de EPOC, lo que sugiere que se produce una exageración del estrés oxidativo en EPOC. 8-isoprostana aumenta de manera similar en la orina de pacientes con EPOC y todavía más durante las exacerbaciones¹⁶⁷.

También hay indicios de un aumento de marcadores sistémicos de estrés oxidativo en pacientes con EPOC, según determinan los marcadores bioquímicos de la peroxidación lipídica¹⁶⁸. Se puede detectar una peroxidación del lípido marcador específico 4-hidroxi-2-nonalal que forma aductos con residuos de aminoácidos básicos en proteínas con inmunocitoquímica, y se ha detectado en los pulmones de pacientes con EPOC¹⁶⁹. Esta marca de estrés oxidativo se localiza en las células epiteliales alveolares y de las vías respiratorias, células endoteliales y neutrófilos.

Función del estrés oxidativo

El aumento de estrés oxidativo en las vías respiratorias de un paciente con EPOC puede tener una función fisiopatológica importante en la enfermedad al amplificar la respuesta inflamatoria en la EPOC. Esto podría reflejar la activación de NF- κ B y AP-1, que después inducen una inflamación neutrofilica a través del aumento de expresión de IL-8 y otras quimiocinas CXCL, TNF- α y MMP9. NF- κ B se activa en los macrófagos de las vías respiratorias y alveolares de pacientes con EPOC, y después se activa durante las exacerbaciones^{73,74}. Es probable que el estrés oxidativo sea un activador importante de este factor de transcripción en pacientes con EPOC.

El estrés oxidativo también podría alterar la función de antiproteasas como α 1-antitripsina y SLPI y, por lo tanto, podría acelerar la degradación de elastina en el parénquima pulmonar¹⁷⁰.

Los corticosteroides son mucho menos eficaces en la EPOC que en el asma y no reducen la progresión de la enfermedad¹⁷¹⁻¹⁷⁴. A diferencia de los pacientes con asma, los casos con EPOC no muestran ninguna respuesta antiinflamatoria significativa a los corticosteroides^{80,81}. Los macrófagos alveolares de pacientes con EPOC muestran una reducción importante de la capacidad de respuesta a los efectos antiinflamatorios de los corticosteroides, en compa-

ración con las células de fumadores normales y no fumadores⁸². Estudios recientes sugieren que podría existir un vínculo entre el estrés oxidativo y la poca respuesta a los corticosteroides en la EPOC. El estrés oxidativo altera la unión de receptores de glucocorticoides a ADN y la traslocación de estos receptores del citoplasma al núcleo^{175,176}. Los corticosteroides desactivan los genes inflamatorios reclutando HDAC2 en el punto de transcripción activo, y desacetilando las histonas hiperacetiladas del gen inflamatorio activamente transcriptor, son capaces de desactivar la transcripción y de este modo suprimir la inflamación^{84,177}. En fumadores y pacientes con EPOC, se produce una reducción notable de la actividad de HDAC y de la expresión de HDAC2 en los macrófagos alveolares⁸³, e incluso una reducción mayor de la expresión de HDAC2 en el tejido pulmonar periférico¹⁷⁸. Esta reducción de la actividad de HDAC se correlaciona con la reducción de la supresión de citocinas inflamatorias y una respuesta reducida a los corticosteroides. Esto podría proceder directa o indirectamente del estrés oxidativo y se imita con los efectos de H₂O₂ en las líneas celulares¹⁷⁸.

El estrés oxidativo también podría inducir apoptosis en las células endoteliales y epiteliales. La apoptosis de neumocitos de tipo 1 podría contribuir al desarrollo del enfisema, y se podría inducir con linfocitos T citotóxicos o con la inhibición de receptores del factor de crecimiento vascular-endotelial^{90,123}. ROS podría inducir apoptosis activando la vía NF- κ B, mediante lesión directa de ADN a través de la activación de poliadenosina difosfato ribosa y a través de la generación de 4-hidroxi-nonenal. La cinasa 1 reguladora de la señal de apoptosis tiene una estructura inactiva con tioredoxina y, al oxidizarse con ROS, se desencadenan las vías apoptóticas¹⁷⁹.

¿Qué proteasas son importantes?

Se ha propuesto durante mucho tiempo que varias proteasas descomponen los compuestos del tejido conectivo, especialmente la elastina, en el parénquima pulmonar para producir enfisema, y que existe un desequilibrio entre las proteasas y las antiproteasas endógenas que deberían proteger normalmente de los efectos mediados con proteasa. La elastina puede ser el objetivo más importante para estas enzimas, dado que se produce una pérdida de elasticidad en el parénquima pulmonar en pacientes con enfisema y la elastina no se puede regenerar en una forma activa. Se demuestra la degradación de elastina en EPOC con el aumento de la excreción de desmosina, derivada de cruces con elastina, en fumadores con disminución rápida de la función pulmonar, en comparación con los fumadores con una disminución normal¹⁸⁰. Aunque primeramente se prestó mayor atención a la elastasa de neutrófilo (NE), ahora se sabe que participan muchas otras proteasas que tienen la capacidad de degradar elastina¹⁸¹.

Elastasa de neutrófilo

Se ha puesto especial énfasis en la función de NE desde que se demostró que los pacientes con deficiencia de α 1-antitripsina (α 1-AT) heredada desarrollaban una aparición temprana de enfisema. Además, la demostración de que α 1-AT se podría desactivar con la exposición al humo del tabaco levantó la posibilidad de que la elastasa de neutrófilo

lo pudiese tener una función importante en fumadores con concentraciones normales de α 1-AT en el plasma. Esto se demostró con modelos animales en los que la instilación traqueal de NE induce enfisema e infiltración de neutrófilos¹⁸² y localización inmunocitoquímica de NE, en fibras de elastina en el parénquima pulmonar de pacientes con enfisema¹⁸³. NE (E.C.3.4.21.37) es una proteasa de serina que se inhibe con α 1-AT en parénquima pulmonar. Se almacena en gránulos azurofílicos en neutrófilos; en el caso de células estimuladas por citocinas, se podría expresar sobre la superficie celular¹⁸⁴.

Posteriormente, se ha demostrado que NE tiene otras acciones relevantes en su función potencial en EPOC. Es un secretagogo de moco potente de las células glandulares submucosas y células caliciformes^{40,185}. NE induce la expresión de MUC5AC en una línea celular epitelial y parece ser que este mecanismo depende de la generación de especies de oxígeno reactivo^{186,187}. NE también induce la expresión de algunas citocinas, entre ellas IL-8, en células epiteliales de las vías respiratorias¹⁸⁸. NE escinde el receptor de fosfatidilserina en macrófagos, y altera así su capacidad de limpiar las células apoptóticas⁸⁹.

Por otro lado, NE también inactiva CD14, un receptor de la superficie celular de lipopolisacárido, y de este modo se reduce la respuesta inflamatoria a endotoxina¹⁸⁹. Es probable que NE tenga una función importante en la defensa de huéspedes y los ratones NE(-/-) tienen una mayor susceptibilidad a infecciones bacterianas gramnegativas contundentes, pero no parece ser que sufran ningún aumento de las infecciones espontáneas^{190,191}.

Tan sólo se establecerá la función de NE en EPOC cuando se estudie clínicamente el efecto de los inhibidores de NE¹⁹². En cobayas expuestas a humo de tabaco, un inhibidor de NE redujo notablemente el enfisema y la respuesta inflamatoria de neutrófilos¹⁹³. Aunque se han analizado varios inhibidores de NE en humanos, se han presentado pocos resultados. No queda claro si fallaron los medicamentos o si los ensayos clínicos no estaban diseñados adecuadamente. Un inhibidor de NE, MR⁸⁸⁹, no tuvo ningún efecto en desmosina urinaria en pacientes con EPOC sin seleccionar, pero se observó una pequeña reducción en pacientes con una historia relativamente corta¹⁹⁴. También se ha demostrado que los antibióticos macrólidos eritromicina y fluritromicina inhiben la actividad de NE¹⁹⁵, lo que podría explicar su efecto beneficioso en la hipersecreción mucosa¹⁹⁶.

Otras proteasas de serina

Los neutrófilos también almacenan otras proteasas de serina, catepsina G y proteinasa 3 en sus gránulos específicos. Estas otras proteasas de serina tienen unas propiedades similares a NE e inducen la secreción mucosa de manera similar^{40,42}. La proteinasa 3 se expresa potentemente en la superficie de los neutrófilos después de la activación con citocinas¹⁹⁷. La proteinasa 3 se inhibe potentemente con α 1-AT¹⁹⁸. Los inhibidores de elastasa de neutrófilo en el desarrollo inhiben otras proteasas de serina¹⁹².

Proteasas de cisteína

Las proteasas de cisteína liposomales (catepsinas) también podrían participar en la EPOC^{199,200}. La expresión de catepsina S se induce con interferón γ en varios tipos de

células, incluidas las células del músculo liso. La sobreexpresión de IFN- γ induce enfisema en ratones y se produce una mayor expresión de catepsinas B, D, H, L y S²⁰¹. Los inhibidores de catepsina reducen notablemente IL-13 inducido por enfisema en ratones transgénicos, lo que indica el potencial elastolítico de esta catepsina²⁰². Varias otras catepsinas también tienen actividad elastolítica, como las catepsinas B, K y L, que se expresan en macrófagos alveolares^{69,203} y catepsina W en células T CD8⁺²⁰⁴. Se desconoce la función de las catepsinas en la EPOC. Se han detectado mayores concentraciones de catepsina L en el líquido LBA de pacientes con enfisema²⁰⁵, y los macrófagos alveolares de pacientes con EPOC secretan más actividad de proteasa de cisteína que los macrófagos de fumadores normales o no fumadores⁷⁰. Los inhibidores endógenos de las catepsinas son cistatinas y estefinas, pero no se conoce mucho su función en la EPOC. Aumentan las concentraciones de cistatina C en el líquido LBA de pacientes con EPOC²⁰⁵.

Metaloproteinasas de matriz

Cada vez hay más indicios de una función de las MMP en la EPOC²⁰⁶. En pacientes con enfisema, se produce un aumento de las concentraciones de LBA y expresión de macrófagos de MMP-1 (colagenasa) y MMP-9 (gelatinasa B)^{81,207,208}. Se produce un aumento de la actividad de MMP-9 en el parénquima pulmonar de pacientes con enfisema²⁰⁹. La expresión de MMP-1 también aumenta en los pulmones de pacientes con enfisema, con una localización importante en neumocitos de tipo II²¹⁰. Los macrófagos alveolares de fumadores normales expresan más MMP-9 que los de sujetos normales⁷², y se produce un aumento aún mayor en células de pacientes con EPOC⁷¹, lo que ha aumentado notablemente la actividad elastolítica⁷⁰. De hecho, con la utilización del inhibidor de MMP marismatato, se demostró que las MMO representan la mayor parte de la actividad elastolítica liberada de los macrófagos alveolares de pacientes con EPOC en períodos de tiempo prolongados⁷⁰.

Se ha subrayado el interés de las MMP al demostrar que en ratones con MMP-12^{-/-} (metaloestatas de macrófago) se previene el enfisema inducido con exposición crónica al tabaco²¹¹. En ratones MMP12^{-/-} con enfisema inducido por IL-13 e IFN- γ , se reduce la sobreexpresión^{201,202} y se produce una reducción importante del reclutamiento de monocitos en el pulmón. Esto podría deberse al hecho de que las MMP generan péptidos quimiotácticos que promueven el reclutamiento de macrófagos en el parénquima y las vías respiratorias. Las MMP podrían activar la forma latente de TGF- β en su forma activa. Además, los ratones en los que se elimina la integrina avb6 (ratones sin Itgb6) no lograron activar TGF- β y desarrollaron enfisema relacionado con la edad, que se previene en ratones MMP12^{-/-} y con sobreexpresión de TGF- β 1²¹². Esto sugiere que TGF- β 1 regula a la baja MMP-12 en condiciones normales y que la ausencia de TGF- β provoca una MMP-12 excesiva y enfisema. Los ratones MMP-9^{-/-} no están protegidos contra el enfisema inducido por humo del tabaco, pero están protegidos contra la fibrosis de las vías respiratorias pequeñas²¹³. Se activa TGF- β 1 con MMP-9²¹⁴; esto se podría mediar a través de una escisión proteolítica inducida por MMP-9 de proteína 1 latente con unión a TGF, lo que provoca la liberación de TGF- β 1²¹⁵. Por lo tanto, este meca-

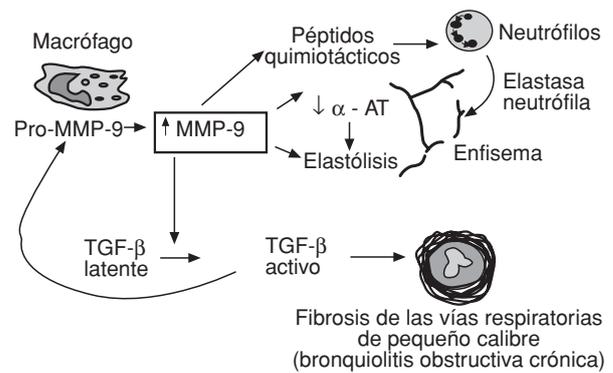


Figura 3. Posible interrelación entre la fibrosis de las vías respiratorias pequeñas y el enfisema en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. La transformación del factor de crecimiento (TGF)- β activa la metaloproteínasa-9 de matriz (MMP-9) y, a su vez, se activa con MMP-9. α 1-AT: α 1-antitripsina.

nismo podría ser un vínculo entre elastólisis inducida por MMP-9 y la producción simultánea de fibrosis con la activación de TGF- β 1 (fig. 3). De este modo, MMP-12 es una MMP destacada en el ratón y, aunque está presente en los humanos, no parece ser tan importante como MMP-9.

Antiproteasas

Normalmente, las proteasas se contrarrestan con un exceso de antiproteasas endógenas. Los inhibidores principales de proteasas de serina son α 1-AT en el parénquima pulmonar y SLPI derivado de epitelio de las vías respiratorias en las mismas. Otros inhibidores de proteasa de serina incluyen elafina y α 1-antiquimotripsina. Los inhibidores de proteasa de serina inactivan NE y otras proteasas de serina como proteinasa-3²¹⁶. Ahora ya se reconocen las variantes genéticas múltiples de α 1-AT, que provocan la reducción de las concentraciones de α 1-AT activo circulante^{217,218}. La deficiencia que conduce al inicio prematuro del enfisema que mejor se ha descrito es el tipo ZZ, en el que la sustitución de un solo aminoácido (Gly342 δ Lys) provoca alteraciones estructurales en α 1-AT que, a su vez, hacen que no se pueda conseguir su modificación y secreción postrasla-cional normal con hepatocitos, lo que provocaría concentraciones en el plasma muy bajas. Es más discutible si los heterocigotos y otras variantes genéticas que reducen las concentraciones de α 1-AT circulante en menor grado en comparación con el fenotipo ZZ también predisponen a sufrir enfisema²¹⁹. La deficiencia de α 1-AT ZZ es una causa rara de enfisema, que representa menos del 1% de los pacientes, pero se propuso hace mucho tiempo que el humo del tabaco podría oxidar la α 1-AT provocando la alteración de la función de las antiproteasas y el aumento de la actividad de elastasa de neutrófilo²²⁰. Parece ser que el mecanismo se debe al estrés oxidativo, y la oxidación de metionina en las posiciones 351 o 358 altera la actividad anti-NE de α 1-AT¹⁷⁰.

SLPI es el otro inhibidor importante de proteínasa de serina en las vías respiratorias²²¹. Al igual que α 1-AT, SLPI se podría desactivar con el estrés oxidativo, pero también con escisión en su punto activo mediante las catepsinas L y S²²², y en pacientes con enfisema, se observan fragmentos proteolíticos de SLPI en el líquido de LBA, lo que contribuye a la reducción de actividad anti-NE en estos pacientes. Esta desactivación de SLPI no sólo altera su actividad

anti-NE, sino también sus funciones antimicrobianas y antiinflamatorias. SLPI regula a la baja el TNF- α inducido por LPS y la secreción de MMP en los monocitos^{223,224}, y esto se podría mediar con un efecto inhibitor en la degradación de I κ B α , lo que provoca una inhibición de NF- κ B²²⁵. La función de elafina y α 1-antiquimotriptasa en EPOC no está tan bien definida^{226,227}.

Cuatro inhibidores tisulares de las MMP (TIMP1-4) contrarrestan las MMP²²⁸. La secreción de TIMP-1 de macrófagos alveolares aumenta como respuesta a los estímulos inflamatorios, pero el aumento se debilita en células derivadas de pacientes con EPOC, por lo que se favorece, de este modo, el aumento de elastólisis^{70,71}. Se ha descrito un aumento de la frecuencia de pérdida de las mutaciones funcionales de TIMP-2 en pacientes con EPOC²²⁹.

¿Cuáles son los mecanismos amplificadores?

También se observan cambios inflamatorios y desequilibrio de proteasa en la EPOC en fumadores sin EPOC, pero en menor grado^{12,47,70,81,82}, lo que sugiere que la disminución acelerada de la función pulmonar en EPOC se podría producir por la amplificación de la respuesta inflamatoria pulmonar normal a irritantes. Esto probablemente se debe a un aumento de la producción de mediadores inflamatorios y enzimas, o a mecanismos antiproteasas o antiinflamatorios endógenos defectuosos. Estas diferencias se podrían explicar mediante polimorfismos en los genes que codifican citocinas, proteasas, proteínas antiinflamatorias y antiproteasas^{230,231}.

Otra hipótesis es que estas diferencias se deban a una infección vírica latente²³². La secuencia E1A de adenovirus latente se detecta más frecuentemente en los pulmones de pacientes con enfisema, en comparación con sujetos control fumadores de las mismas características, y se correlaciona con un aumento de la respuesta inflamatoria⁴⁷. La infección por adenovirus amplifica la respuesta inflamatoria al humo del tabaco en las vías respiratorias de cobayas⁶⁸. La transfección de E1A en una línea celular epitelial humana provoca un aumento de la activación del factor de transcripción NF- κ B, con un posterior aumento de la liberación de IL-8 como respuesta a la activación celular y aumento de la producción de TGF- β 1, lo que proporciona un mecanismo molecular para la amplificación de la respuesta inflamatoria^{233,234}.

Otro mecanismo molecular que podría ser la base de la amplificación de la inflamación en EPOC podría implicar la alteración de la actividad de HDAC en macrófagos alveolares. En macrófagos de fumadores, se produce una alteración de la actividad de HDAC, que participa en la desactivación de la transcripción de genes inflamatorios invirtiendo la acetilación de histonas nucleares que se asocia con su activación^{83,84}. En pacientes con EPOC, se produce una reducción todavía más marcada de la actividad de HDAC en el pulmón periférico, en comparación con fumadores sin obstrucción de las vías respiratorias¹⁷⁸. Esto podría causar la amplificación de la expresión de genes inflamatorios, tal como se observa en macrófagos alveolares de pacientes con EPOC^{71,82}. También se produce un aumento de la activación de NF- κ B en estas células de pacientes con EPOC^{73,74}.

Aunque el tabaquismo sea el mecanismo causal principal en la EPOC, no parece ser que el hecho de abandonar el hábito resuelva la respuesta inflamatoria en las vías respi-

atorias, especialmente en etapas avanzadas de la enfermedad^{47,235,236}. Esto sugiere que existen mecanismos perpetuadores que mantienen el proceso inflamatorio crónico cuando éste ya se ha establecido. Esto podría explicar la presentación de EPOC en pacientes que dejaron de fumar muchos años antes de desarrollar sus primeros síntomas. En la actualidad, todavía se desconocen los mecanismos de persistencia de la enfermedad.

¿Por qué se produce poca respuesta a los corticosteroides?

Los corticosteroides que se inhalan son actualmente el pilar de la terapia contra el asma crónico, y el reconocimiento de que la inflamación crónica también está presente en la EPOC proporcionó una justificación para su uso en la EPOC. De hecho, los corticosteroides inhalados se prescriben ampliamente en la actualidad en el tratamiento de la EPOC y se utilizan casi con tanta frecuencia como en el caso del asma. Sin embargo, no se suprime la inflamación en la EPOC ni con dosis elevadas de corticosteroides inhalados u orales^{80,81,237}. Esto podría reflejar el hecho de que la inflamación neutrofílica en humanos no se puede suprimir con corticosteroides, dado que los esteroides prolongan la supervivencia de los neutrófilos^{238,239}. Aproximadamente el 10% de los pacientes con EPOC estable muestran algunas mejorías sintomáticas y objetivas con corticosteroides orales, y es probable que estos pacientes tengan asma concomitante, dado que ambas enfermedades son muy comunes. De hecho, la hiperrespuesta de las vías respiratorias, una característica del asma, podría pronosticar el índice de disminución en la EPOC²⁴⁰. Se pronostica una respuesta a los corticosteroides con el aumento del número de eosinófilos en el esputo y un aumento de NO exhalado^{105,106}, ambos rasgos característicos del asma.

Cuatro estudios amplios han demostrado que dosis elevadas de corticosteroides inhalados no logran reducir la progresión de la EPOC¹⁷¹⁻¹⁷⁴. Los corticosteroides que se inhalan podrían tener un efecto menor en la reducción de exacerbaciones de pacientes con enfermedad grave²⁴¹.

Parece probable una resistencia activa a los corticosteroides en EPOC. Las dosis elevadas de corticosteroides no consiguen reducir citocinas y quimiocinas que se deberían suprimir con el tratamiento basado en corticosteroides^{80,81}. Los mecanismos moleculares de resistencia a corticosteroides todavía se desconocen, pero podrían ser los mismos mecanismos que provocan la amplificación de las respuestas inflamatorias. De este modo, una reducción de la actividad de HDAC en macrófagos⁸³ podría prevenir la acción antiinflamatoria de los corticosteroides, que depende del reclutamiento de las HDAC en el complejo del gen inflamatorio⁸⁴. Parece ser que el adenovirus latente induce de manera similar la resistencia a corticosteroides en animales experimentales²⁴².

A diferencia de ello, existe un efecto beneficioso de los corticosteroides sistémicos en el tratamiento de exacerbaciones agudas de EPOC, y se produce una mejoría del resultado clínico así como una reducción de la duración del ingreso hospitalario^{243,244}. Las causas de esta discrepancia entre las respuestas a los esteroides en la EPOC aguda frente a la EPOC crónica se podrían relacionar con las diferencias de la respuesta inflamatoria (aumento de eosinófilos) o edema de las vías respiratorias en exacerbaciones.

¿Cuáles son los mecanismos de las exacerbaciones agudas?

Aunque las exacerbaciones agudas de la EPOC, definidas por el aumento de síntomas y empeoramiento de la función pulmonar, son una causa común del ingreso en el hospital, todavía no se conocen demasiado los mecanismos celulares y moleculares²⁴⁵. Se podrían prolongar las exacerbaciones agudas y podrían tener un efecto profundo en la calidad de vida²⁴⁶ y acelerar la progresión de EPOC²⁴⁷. Siempre se ha pensado que el aumento de la cantidad y purulencia de esputo significaba infección bacteriana del tracto respiratorio, pero ahora se sabe que muchas exacerbaciones de EPOC (y asma) se deben a infecciones víricas del tracto respiratorio superior (especialmente rinovirus) y a factores ambientales, como la contaminación del aire y la temperatura^{248,249}. Se produce un aumento de neutrófilos y concentraciones de IL-6, IL-8, TNF- α y LTB4 en el esputo durante una exacerbación^{250,251}, y los pacientes que tienen exacerbaciones frecuentes presentan niveles superiores de IL-6 y concentraciones más bajas de SLPI, incluso cuando la EPOC es estable^{252,253}.

También se produce un aumento de la activación de NF- κ B en macrófagos alveolares durante las exacerbaciones de COPD, lo que crea un vínculo entre infecciones, estrés oxidativo y el aumento de la expresión de genes inflamatorios⁷⁴. Se asocian las exacerbaciones purulentas con una infección bacteriana, y se caracterizan por un aumento notable de las concentraciones de LTB4 en el esputo²⁵⁴. La colonización bacteriana crónica del esputo se correlaciona con el aumento de los índices inflamatorios en el esputo⁹⁸ y predispone a exacerbaciones purulentas más frecuentes²⁵⁵. Las biopsias bronquiales muestran un aumento de eosinófilos durante exacerbaciones en pacientes con bronquitis de crónica leve¹⁰⁷, y esto podría reflejar la regulación al alza marcada de la regulación con la activación, célula T normal expresada y secretada (RANTES), que se ha observado en las células epiteliales de las vías respiratorias durante exacerbaciones agudas³⁹. No obstante, no se produce ningún aumento de los eosinófilos en el esputo durante las exacerbaciones en pacientes con EPOC grave²⁵². Durante las exacerbaciones se observa un aumento de los marcadores de estrés oxidativo y NO exhalado, lo que presumiblemente refleja un aumento de la inflamación de las vías respiratorias^{163,166,256,257}. Esto podría reflejar un aumento de la activación de NF- κ B durante las exacerbaciones⁷⁴. De este modo, parece ser que las exacerbaciones de EPOC se deben a otra amplificación del proceso inflamatorio. Esto implica que los tratamientos que suprimen la inflamación en EPOC también bloquearían las exacerbaciones.

El motivo por el que se coloniza el tracto respiratorio inferior de algunos pacientes con EPOC con bacterias, como cepas no clasificables de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Moraxella catarrhalis*, todavía se desconoce²⁵⁸. En un estudio reciente, el 24% de los 600 especímenes de esputo tomados durante una exacerbación aguda contenía un patógeno bacteriano, en comparación con el 18% en pacientes sin exacerbaciones²⁵⁹. Aproximadamente un tercio de las exacerbaciones se asociaron a cepas “nuevas” de bacterias con una composición proteica distinta, lo que sugiere una infección recién adquirida, más que un brote de organismos existentes. No obstante, estas cepas “nuevas” podrían surgir de variantes anti-

génicas de cepas colonizantes persistentes, que las podrían hacer menos susceptibles a mecanismos inmunes locales²⁶⁰. La persistencia de algunas bacterias en el tracto respiratorio inferior de pacientes con EPOC se podría deber a la localización de puntos protegidos. *H. influenzae* se localiza en puntos situados dentro de la pared de las vías respiratorias, por ejemplo entre las células de las paredes de las vías respiratorias²⁶¹, y estos organismos no son susceptibles a antibióticos o mecanismos de defensa mediados por anticuerpos cuando se localizan entre las células epiteliales de las vías respiratorias²⁶². Se asocia la infección por *H. influenzae* con un aumento de las concentraciones de mediadores inflamatorios, entre ellos IL-8 y TNF- α , en pacientes con EPOC²⁶³. El proceso inflamatorio en sí también podría promover la persistencia de algunas bacterias. Por ejemplo, las defensas de neutrófilo humano podrían incrementar la adhesión de *H. influenzae* en las células epiteliales de las vías respiratorias y, por lo tanto, predisponer a una invasión²⁶⁴.

¿Cuáles son las siguientes preguntas?

Todavía estamos en las primeras etapas para comprender los mecanismos celulares y moleculares implicados en EPOC, en comparación con el asma. Aunque en ambas enfermedades se produzca inflamación del tracto respiratorio, el modelo de inflamación, los resultados del proceso inflamatorio y la respuesta terapéutica son extremadamente distintos. Esta revisión se ha centrado en algunas preguntas clave actuales sobre la EPOC, aunque no es en absoluto una revisión completa.

Aunque aún no se ha identificado la activación de varias células inflamatorias en la EPOC, su relativa importancia y función secuencial para producir la patología típica de EPOC todavía se conocen poco. No obstante, es probable que el humo del tabaco y otros irritantes activen las células residentes, entre ellas macrófagos, células epiteliales y células dendríticas, que después señalan el flujo de otras células inflamatorias, como neutrófilos, monocitos y linfocitos T de la circulación. Todas estas células liberan mediadores múltiples de inflamación, aunque el modelo de mediadores es distinto de los mediadores que se hallan en el asma. El proceso patológico se ubica predominantemente en la periferia del pulmón, y participan las vías respiratorias pequeñas y el parénquima pulmonar. Sin embargo, se desconoce la relación entre la inflamación y la fibrosis en las vías respiratorias pequeñas y la destrucción del parénquima pulmonar e hipersecreción mucosa; además, existen diferencias en la preponderancia de estos mecanismos entre pacientes y en distintas etapas de la enfermedad, así como una necesidad de obtener mejores técnicas de estudio de la función de las vías respiratorias pequeñas.

Parece que se produce una amplificación del proceso inflamatorio entre fumadores que no tienen limitación del flujo respiratorio y la minoría de fumadores con disminución acelerada de la función pulmonar que desarrollan la EPOC. La base molecular de esta amplificación necesita más investigación, pero los posibles mecanismos se relacionan con las diferencias genéticas en mecanismos inflamatorios, proteolíticos o protectores o infecciones virales latentes adquiridas. Los mecanismos de la amplificación también podrían estar vinculados a la relativa resistencia a esteroides hallada en la EPOC, y un vínculo plausible es la

deficiencia de la activación de HDAC que tanto amplifica la expresión del gen inflamatorio como altera la respuesta antiinflamatoria a los corticosteroides.

Ahora se necesita más investigación para contestar a algunas de estas preguntas clave. No obstante, la disponibilidad de tejidos de pacientes con EPOC y los que tienen una exposición similar al humo del tabaco sin EPOC, así como el desarrollo de técnicas moleculares y celulares nuevas, hacen posible que se pueda progresar rápidamente. Esto hará posible predecir qué fumadores desarrollarán EPOC, y se podrían identificar nuevos objetivos para el desarrollo de terapias nuevas que supriman este proceso inflamatorio crónico. Ya se están desarrollando bastantes fármacos nuevos para la EPOC²⁶⁵, y varios están a punto de entrar en ensayos clínicos.

“COPD: the important questions” reunión que tuvo lugar en Malta en noviembre de 2002: Presidente: P. Barnes (Reino Unido), R. Pauwels (Bélgica) y S. Shapiro (EE.UU.); Participantes: Canadá: M. Cosio, J. Hogg; Dinamarca: J. Vestbo; Irlanda: G. McElvaney; Italia: L. Fabbri, M. Luisetti; Malta: R. Ellul-Micalef; Países Bajos: L. van Alphen; Suiza: L. Nicod; Reino Unido: P. Calverley, E. Chilvers, W. MacNee, N. Pride, W. Wedzicha; EE.UU.: H. Chapman, S. Kunkel, S. Rennard.

Bibliografía

- Lopez AD, Murray CC. The global burden of disease, 1990-2020. *Nat Med* 1998; 4: 1.241-1.243.
- Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 269-280.
- Barnes PJ. New treatments for chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Pharmacol* 2001; 1: 217-222.
- Barnes PJ. New concepts in COPD. *Ann Rev Med* 2003; 54: 113-129.
- Gross CP, Anderson GF, Powe NR. The relation between funding by the National Institutes of Health and the burden of disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 1.881-1.887.
- Pauwels RA, Buist AS, Calverley PM, Jenkins CR, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (OLD) Workshop summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1.256-1.276.
- 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: 1.304-1.309.
- Fabbri LM, Romagnoli M, Corbetta L, et al. 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: 418-424.
- Saetta M, Di Stefano A, Turato G, et al. CD8z T lymphocytes in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 822-826.
- Di Stefano A, Capelli A, Lusuardi M y cols. Severity of airflow limitation is associated with severity of airway inflammation in smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1.277-1.285.
- Pesci A, Balbi B, Majori M y cols. Inflammatory cells and mediators in bronchiolavage of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1998; 12: 380-386.
- 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: 530-534.
- 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: 803-808.
- Hogg JC, Macklem PT, Thurlbeck WM. Site and nature of airway obstruction in chronic obstructive lung disease. *N Engl J Med* 1968; 278: 1.355-1.360.
- Cosio M, Ghezzi H, Hogg JC y cols. The relations between structural changes in small airways and pulmonary-function tests. *N Engl J Med* 1978; 298: 1.277-1.281.
- Niewoehner DE, Kleinerman J, Rice DB. Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Engl J Med* 1974; 291: 755-758.
- Gelb AF, Hogg JC, Muller NL y cols. Contribution of emphysema and small airways in COPD. *Chest* 1996; 109: 353-359.
- Chu FSF, Utokaparch S, Butazu L y cols. The nature of airway obstruction in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: A874.
- De Boer WI, Van Schadewijk A, Sont JK y cols. Transforming growth factor beta1 and recruitment of macrophages and mast cells in airways in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1.951-1.957.
- Takizawa H, Tanaka M, Takami K y cols. Increased expression of transforming growth factor-beta1 in small airway epithelium from tobacco smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1.476-1.483.
- Ihn H. Pathogenesis of fibrosis: role of TGF- β and CTGF. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 681-685.
- Chen G, Grotendorst G, Eichholtz T, Khalil N. GM-CSF increases airway smooth muscle cell connective tissue expression by inducing TGF-beta receptors. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284: L548-L556.
- Macklem PT. The physiology of small airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: S181-S183.
- 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: 1.385-1.390.
- Hogg JC, Wright JL, Wiggs BR, Coxson HO, Opazo SA, Pare PD. Lung structure and function in cigarette smokers. *Thorax* 1994; 49: 473-478.
- Nakano Y, Muro S, Sakai H y cols. Computed tomographic measurements of airway dimensions and emphysema in smokers. Correlation with lung function. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1.102-1.108.
- Greaves IA, Colebatch HJ. Elastic behavior and structure of normal and emphysematous lungs post mortem. *Am Rev Respir Dis* 1980; 121: 127-136.
- Pare PD, Brooks LA, Bates J y cols. Exponential analysis of the lung pressure-volume curve as a predictor of pulmonary emphysema. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 54-61.
- Pride NB, Milic-Emili J. Lung Mechanics. In: Calverley PMA, Macnee W, Rennard S, Pride NB, eds. *Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. London, Arnold, 2003 (in press).
- Van Brabant H, Cauberghs M, Verbeke E, Moerman P, Lauweryns JM, Van de Woestijne KP. Partitioning of pulmonary impedance in excised human and canine lungs. *J Appl Physiol* 1983; 55: 1.733-1.742.
- Verbeke EK, Cauberghs M, Mertens I, Lauweryns JM, Van de Woestijne KP. Tissue and airway impedance of excised normal, senile, and emphysematous lungs. *J Appl Physiol* 1992; 72: 2.343-2.353.
- Yanai M, Sekizawa K, Ohru T, Sasaki H, Takishima T. Site of airway obstruction in pulmonary disease: direct measure-

- ment of intrabronchial pressure. *J Appl Physiol* 1992; 72: 1.016-1.023.
33. Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. *Br Med J* 1977; 1: 1.645-1.648.
 34. Peto R, Speizer FE, Cochrane AL y cols. 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.
 35. Vestbo J, Prescott E, Lange P. Association of chronic mucus hypersecretion with FEV1 decline and chronic obstructive pulmonary disease morbidity. Copenhagen City Heart Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1.530-1.535.
 36. Vestbo J. Epidemiological studies in mucus hypersecretion. *Novartis Found Symp* 2002; 248: 3-12.
 37. Kanner RE, Anthonisen NR, Connett JE. Lower respiratory illnesses promote FEV1 decline in current smokers but not ex-smokers with mild chronic obstructive pulmonary disease: results from the lung health study. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 358-364.
 38. Saetta M, Turato G, Facchini FM y cols. Inflammatory cells in the bronchial glands of smokers with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1.633-1.639.
 39. Zhu J, Majumdar S, Qiu Y y cols. Interleukin-4 and interleukin-5 gene expression and inflammation in the mucus-secreting glands and subepithelial tissue of smokers with chronic bronchitis. Lack of relationship with CD8z cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 2.220-2.228.
 40. Sommerhoff CP, Nadel JA, Basbaum CB, Caughey GH. Neutrophil elastase and cathepsin G stimulate secretion from cultured bovine airway gland serous cells. *J Clin Invest* 1990; 85: 682-689.
 41. Sommerhoff CP, Caughey GH, Finkbeiner WE, Lazarus SC, Basbaum CB, Nadel JA. Mast cell chymase: a potent secretagogue for airway gland serous cells. *J Immunol* 1989; 142: 2.450-2.455.
 42. Witko-Sarsat V, Halbwachs-Mecarelli L, Schuster A y cols. Proteinase 3, a potent secretagogue in airways, is present in cystic fibrosis sputum. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 729-736.
 43. Lange P, Nyboe J, Appleyard M, Jensen G, Schnohr P. Relation of ventilatory impairment and of chronic mucus hypersecretion to mortality from obstructive lung disease and from all causes. *Thorax* 1990; 45: 579-585.
 44. Miravittles M, Guerrero T, Mayordomo C, Sanchez-Agudo L, Nicolau F, Segu JL. Factors associated with increased risk of exacerbation and hospital admission in a cohort of ambulatory COPD patients: a multiple logistic regression analysis. The EOLO Study Group. *Respiration* 2000; 67: 495-501.
 45. Prescott E, Lange P, Vestbo J. Chronic mucus hypersecretion in COPD and death from pulmonary infection. *Eur Respir J* 1995; 8: 1.333-1.338.
 46. 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: 329-332.
 47. Retamales I, Elliott WM, Meshi B y cols. Amplification of inflammation in emphysema and its association with latent adenoviral infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 469-473.
 48. Lacoste JY, Bousquet J, Chanez P. Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma, chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92: 537-548.
 49. Finkelstein R, Fraser RS, Ghezzi H, Cosio MG. Alveolar inflammation and its relation to emphysema in smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1.666-1.672.
 50. Di Stefano A, Maestrelli P, Roggeri A y cols. Upregulation of adhesion molecules in the bronchial mucosa of subjects with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 803-810.
 51. Sparrow D, Glynn RJ, Cohen M, Weiss ST. The relationship of the peripheral leukocyte count and cigarette smoking to pulmonary function among adult men. *Chest* 1984; 86: 383-386.
 52. Stanescu D, Sanna A, Veriter C y cols. Airways obstruction, chronic expectoration and rapid decline in FEV1 in smokers are associated with increased levels of sputum neutrophils. *Thorax* 1996; 51: 267-271.
 53. Terashima T, Wiggs B, English D, Hogg JC, Van Eeden SF. Phagocytosis of small carbon particles (PM10) by alveolar macrophages stimulates the release of polymorphonuclear leukocytes from bone marrow. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1.441-1.447.
 54. Macnee W, Wiggs B, Belzberg AS, Hogg JC. The effect of cigarette smoking on neutrophil kinetics in human lungs. *N Engl J Med* 1989; 321: 924-928.
 55. Keatings VM, Barnes PJ. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma and normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 449-453.
 56. Yamamoto C, Yoneda T, Yoshikawa M y cols. Airway inflammation in COPD assessed by sputum levels of interleukin-8. *Chest* 1997; 112: 505-510.
 57. Peleman RA, Ryttila PH, Kips JC, Joos GF, Pauwels RA. The cellular composition of induced sputum in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 13: 839-843.
 58. Richards GA, Theron AJ, Van der Merwe CA, Anderson R. Spirometric abnormalities in young smokers correlate with increased chemiluminescence responses of activated blood phagocytes. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 181-187.
 59. Condliffe AM, Kitchen E, Chilvers ER. Neutrophil priming: pathophysiological consequences and underlying mechanisms. *Clin Sci (Lond)* 1998; 94: 461-471.
 60. Noguera A, Batle S, Miralles C y cols. Enhanced neutrophil response in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2001; 56: 432-437.
 61. Traves SL, Culpitt S, Russell REK, Barnes PJ, Donnelly LE. Elevated levels of the chemokines GRO- α and MCP-1 in sputum samples from COPD patients. *Thorax* 2002; 57: 590-595.
 62. Tanino M, Betsuyaku T, Takeyabu K y cols. Increased levels of interleukin-8 in BAL fluid from smokers susceptible to pulmonary emphysema. *Thorax* 2002; 57: 405-411.
 63. Bazzoni F, Cassatella MA, Rossi F, Ceska M, Dewald B, Baggolini M. Phagocytosing neutrophils produce and release high amounts of the neutrophil-activating peptide 1/interleukin 8. *J Exp Med* 1991; 173: 771-774.
 64. Hogg JC, Walker BA. Polymorphonuclear leucocyte traffic in lung inflammation. *Thorax* 1995; 50: 819-820.
 65. Pettersen CA, Adler KB. Airways inflammation and COPD: epithelial-neutrophil interactions. *Chest* 2002; 121: 142S-150S.
 66. Shapiro SD. The macrophage in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: S29-S32.
 67. Barnes PJ. Current and future therapies for airway mucus hypersecretion. *Novartis Found Symp* 2002; 248: 237-249.
 68. Meshi B, Vitalis TZ, Ionescu D y cols. Emphysematous lung destruction by cigarette smoke. The effects of latent adenoviral infection on the lung inflammatory response. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 52-57.
 69. Punturieri A, Filippov S, Allen E y cols. Regulation of elastolytic cysteine proteinase activity in normal and cathepsin

- K-deficient human macrophages. *J Exp Med* 2000; 192: 789-800.
70. Russell RE, Thorley A, Culpitt SV y cols. Alveolar macrophage-mediated elastolysis: roles of matrix metalloproteinases, cysteine, and serine proteases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283: L867-L873.
 71. Russell RE, Culpitt SV, DeMatos C y cols. Release and activity of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 602-609.
 72. Lim S, Roche N, Oliver BG, Mattos W, Barnes PJ, Fan CK. Balance of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 from alveolar macrophages in cigarette smokers. regulation by interleukin-10. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1.355-1.360.
 73. Di Stefano A, Caramori G, Capelli A y cols. Increased expression of NF- κ B in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. *Eur Respir J* 2002; 20: 556-563.
 74. Caramori G, Romagnoli M, Casolari P y cols. Nuclear localisation of p65 in sputum macrophages but not in sputum neutrophils during COPD exacerbations. *Thorax* 2003; 58: 348-351.
 75. Capelli A, Di Stefano A, Gnemmi I y cols. Increased MCP-1 and MIP-1 β in bronchoalveolar lavage fluid of chronic bronchitis. *Eur Respir J* 1999; 14: 160-165.
 76. De Boer WI, Sont JK, Van Schadewijk A, Stolk J, Van Krieken JH, Hiemstra PS. Monocyte chemoattractant protein 1, interleukin 8, and chronic airways inflammation in COPD. *J Pathol* 2000; 190: 619-626.
 77. Traves SL, Smith SJ, Barnes PJ, Donnelly LE. Increased migration of monocytes from COPD patients towards GRO α is not mediated by an increase in CXCR2 receptor expression. *Am J Resp Crit Care Med*: 2003: A824.
 78. Saetta M, Mariani M, Panina-Bordignon P y cols. 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: 1.404-1.409.
 79. Tomita K, Caramori G, Lim S y cols. Increased p21CIP1/WAF1 and B cell lymphoma leukemia-xL expression and reduced apoptosis in alveolar macrophages from smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 724-731.
 80. Keatings VM, Jatakanon A, Worsdell YM, Barnes PJ. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 542-548.
 81. 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* 1999; 160: 1.635-1.639.
 82. Culpitt SV, Rogers DF, Shah P y cols. Impaired inhibition by dexamethasone of cytokine release by alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 24-31.
 83. Ito K, Lim S, Caramori G, Chung KF, Barnes PJ, Adcock IM. Cigarette smoking reduces histone deacetylase 2 expression, enhances cytokine expression and inhibits glucocorticoid actions in alveolar macrophages. *FASEBJ* 2001; 15: 1.100-1.102.
 84. Ito K, Barnes PJ, Adcock IM. Glucocorticoid receptor recruitment of histone deacetylase 2 inhibits IL-1 β -induced histone H4 acetylation on lysines 8 and 12. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 6.891-6.903.
 85. Ito K, Lim S, Caramori G y cols. A molecular mechanism of action of theophylline: Induction of histone deacetylase activity to decrease inflammatory gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 8.921-8.926.
 86. Donnelly LE, Jones GE, Newton R, Barnes PJ. The anti-inflammatory action of resveratrol on human airway epithelial cells is not mediated via estrogen or glucocorticosteroid receptors. *Am J Resp Crit Care Med* 2003; 165: A614.
 87. Fadok VA, Bratton DL, Rose DM, Pearson A, Ezekewitz RA, Henson PM. A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. *Nature* 2000; 405: 85-90.
 88. Huynh ML, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF- β 1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002; 109: 41-50.
 89. Vandivier RW, Fadok VA, Hoffmann PR y cols. Elastase mediated phosphatidylserine receptor cleavage impairs apoptotic cell clearance in cystic fibrosis and bronchiectasis. *J Clin Invest* 2002; 109: 661-670.
 90. Majo J, Ghezzi H, Cosio MG. Lymphocyte population and apoptosis in the lungs of smokers and their relation to emphysema. *Eur Respir J* 2001; 17: 946-953.
 91. Saetta M, Baraldo S, Corbino L y cols. CD8 α cells in the lungs of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 711-717.
 92. O'Shaughnessy TC, Ansari TW, Barnes NC, Jeffery PK. Inflammation in bronchial biopsies of subjects with chronic bronchitis: inverse relationship of CD8 α T lymphocytes with FEV1. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 852-857.
 93. Vukmanovic-Stejic M, Vyas B, Gorak-Stolinska P, Noble A, Kemeny DM. Human Tc1 and Tc2/Tc0 CD8 T-cell clones display distinct cell surface and functional phenotypes. *Blood* 2000; 95: 231-240.
 94. Leckie MJ, Jenkins GR, Khan J y cols. Sputum T lymphocytes in asthma, COPD and healthy subjects have the phenotype of activated intraepithelial T cells (CD69 α CD103 α). *Thorax* 2003; 58: 23-29.
 95. de Jong JW, Belt-Gritter B, Koeter GH, Postma DS. Peripheral blood lymphocyte cell subsets in subjects with chronic obstructive pulmonary disease: association with smoking, IgE and lung function. *Respir Med* 1997; 91: 67-76.
 96. Kim WD, Kim WS, Koh Y y cols. Abnormal peripheral blood T-lymphocyte subsets in a subgroup of patients with COPD. *Chest* 2002; 122: 437-444.
 97. Majori M, Corradi M, Caminati A, Cacciani G, Bertacco S, Pesci A. Predominant TH1 cytokine pattern in peripheral blood from subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 458-462.
 98. Hill AT, Campbell EJ, Hill SL, Bayley DL, Stockley RA. Association between airway bacterial load and markers of airway inflammation in patients with stable chronic bronchitis. *Am J Med* 2000; 109: 288-295.
 99. Cosio MG, Majo J, Cosio MG. Inflammation of the airways and lung parenchyma in COPD: role of T cells. *Chest* 2002; 121: 160S-165S.
 100. Prieto A, Reyes E, Bernstein ED y cols. Defective natural killer and phagocytic activities in chronic obstructive pulmonary disease are restored by glycoprophosphopeptical (immunoferrin). *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1.578-1.583.
 101. Zeidel A, Beilin B, Yardeni I, Mayburd E, Smirnov G, Bessler H. Immune response in asymptomatic smokers. *Acta Anaesthesiol Scand* 2002; 46: 959-964.
 102. Hashimoto S, Kobayashi A, Kooguchi K, Kitamura Y, Onodera H, Nakajima H. Upregulation of two death pathways of perforin/granzyme and FasL/Fas in septic acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 237-243.
 103. Takubo Y, Guerassimov A, Ghezzi H y cols. Alpha1 antitrypsin determines the pattern of emphysema and function in tobacco smoke-exposed mice: parallels with human disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 1.596-1.603.

104. Turato G, Zuin R, Saetta M. Pathogenesis and pathology of COPD. *Respiration* 2001; 68: 117-128.
105. Brightling CE, Monteiro W, Ward R y cols. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 2000; 356: 1.480-1.485.
106. Papi A, Romagnoli M, Baraldo S y cols. Partial reversibility of airflow limitation and increased exhaled NO and sputum eosinophilia in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1.773-1.777.
107. Saetta M, Distefano A, Maestrelli P y cols. Airway eosinophilia in chronic bronchitis during exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 1.646-1.652.
108. Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P y cols. Airway eosinophilia and expression of interleukin-5 protein in asthma and in exacerbations of chronic bronchitis. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 766-774.
109. Liu H, Lazarus SC, Caughey GH, Fahy JV. Neutrophil elastase and elastase-rich cystic fibrosis sputum degranulate human eosinophils in vitro. *Am J Physiol* 1999; 276: L28- L34.
110. Banchereau J, Briere F, Caux C y cols. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 767-811.
111. Holt PG, Stumbles PA. Regulation of immunologic homeostasis in peripheral tissues by dendritic cells: the respiratory tract as a paradigm. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 421-429.
112. Huang Q, Liu D, Majewski P y cols. The plasticity of dendritic cell responses to pathogens and their components. *Science* 2001; 294: 870-875.
113. Francus T, Klein RF, Staiano-Coico L, Becker CG, Siskind GW. Effects of tobacco glycoprotein (TGP) on the immune system. II. TGP stimulates the proliferation of human T cells and the differentiation of human B cells into Ig secreting cells. *J Immunol* 1988; 140: 1.823-1.829.
114. Zeid NA, Muller HK. Tobacco smoke induced lung granulomas and tumors: association with pulmonary Langerhans cells. *Pathology* 1995; 27: 247-254.
115. Casolaro MA, Bernaudin JF, Saltini C, Ferrans VJ, Crystal RG. Accumulation of Langerhans' cells on the epithelial surface of the lower respiratory tract in normal subjects in association with cigarette smoking. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 406-411.
116. Soler P, Moreau A, Basset F, Hance AJ. Cigarette smoking-induced changes in the number and differentiated state of pulmonary dendritic cells/Langerhans cells. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 1.112-1.117.
117. Tazi A, Soler P, Hance AJ. Adult pulmonary Langerhans' cell histiocytosis. *Thorax* 2000; 55: 405-416.
118. Tazi A, Moreau J, Bergeron A, Dominique S, Hance AJ, Soler P. Evidence that Langerhans cells in adult pulmonary Langerhans cell histiocytosis are mature dendritic cells: importance of the cytokine microenvironment. *J Immunol* 1999; 163: 3.511-3.515.
119. D'Hulst A, Vermeulen KY, Pauwels RA. Cigarette smoke exposure causes increase in pulmonary dendritic cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 164: A604.
120. Mio T, Romberger DJ, Thompson AB, Robbins RA, Heires A, Rennard SI. Cigarette smoke induces interleukin-8 release from human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1.770-1.776.
121. Hellermann GR, Nagy SB, Kong X, Lockey RF, Mohapatra SS. Mechanism of cigarette smoke condensate-induced acute inflammatory response in human bronchial epithelial cells. *Respir Res* 2002; 3: 22.
122. Floreani AA, Wyatt TA, Stoner J y cols. Smoke and C5a induce airway epithelial ICAM-1 and cell adhesion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003 [en prensa].
123. Kasahara Y, Tudor RM, Taraseviciene-Stewart L y cols. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest* 2000; 106: 1.311-1.319.
124. Adler KB, Li Y. Airway epithelium and mucus: intracellular signaling pathways for gene expression and secretion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25: 397-400.
125. Aarbiou J, Rabe KF, Hiemstra PS. Role of defensins in inflammatory lung disease. *Ann Med* 2002; 34: 96-101.
126. Pilette C, Ouadrhiri Y, Godding V, Vaerman JP, Sibille Y. Lung mucosal immunity: immunoglobulin-A revisited. *Eur Respir J* 2001; 18: 571-588.
127. Demoly P, Simony-Lafontaine J, Chanez P y cols. Cell proliferation in the bronchial mucosa of asthmatics and chronic bronchitics. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 214-217.
128. Franklin WA, Veve R, Hirsch FR, Helfrich BA, Bunn PA, Jr. Epidermal growth factor receptor family in lung cancer and premalignancy. *Semin Oncol* 2002; 29: 3-14.
129. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 341-357.
130. Macnee W. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. *Eur J Pharmacol* 2001; 429: 195-207.
131. Henricks PA, Nijkamp FP. Reactive oxygen species as mediators in asthma. *Pulm Pharmacol Ther* 2001; 14: 409- 420.
132. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol* 1996; 271: C1432-C1437.
133. Morrow JD. The isoprostanes: their quantification as an index of oxidant stress status in vivo. *Drug Metab Rev* 2000; 32: 377-385.
134. Kawikova I, Barnes PJ, Takahashi T, Tadjkarimi S, Yacoub MH, Belvisi MG. 8-epi-prostaglandinF2a, a novel non cyclooxygenase derived prostaglandin, is a potent constrictor of guinea-pig and human airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 590-596.
135. Okazawa A, Kawikova I, Cui ZH, Skoogh BE, Lotvall J. 8Epi-PGF2alpha induces airflow obstruction and airway plasma exudation in vivo. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 436-441.
136. Janssen LJ. Isoprostanes: an overview and putative roles in pulmonary pathophysiology. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L1067-L1082.
137. van der Vliet A, Eiserich JP, Shigenaga MK, Cross CE. Reactive nitrogen species and tyrosine nitration in the respiratory tract: epiphenomena or a pathobiologic mechanism of disease? *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1-9.
138. Eiserich JP, Hristova M, Cross CE y cols. Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature* 1998; 391: 393-397.
139. Gaut JP, Byun J, Tran HD y cols. Myeloperoxidase produces nitrating oxidants in vivo. *J Clin Invest* 2002; 109: 1.311-1.319.
140. Cantin AM, Fells GA, Hubbard RC, Crystal RG. Antioxidant macromolecules in the epithelial lining fluid of the normal human lower respiratory tract. *J Clin Invest* 1990; 86: 962-971.
141. Choi AM, Alam J. Heme oxygenase-1: function, regulation, and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 15: 9-19.
142. Lim S, Groneberg D, Fischer A y cols. Expression of heme oxygenase isoenzymes 1 and 2 in normal and asthmatic airways. Effect of inhaled corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1.912-1.918.
143. Montuschi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled carbon monoxide and nitric oxide in COPD. *Chest* 2001; 120: 496-501.

144. Comhair SA, Erzurum SC. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283: L246-L255.
145. Avissar N, Finkelstein JN, Horowitz S y cols. Extracellular glutathione peroxidase in human lung epithelial lining fluid and in lung cells. *Am J Physiol* 1996; 270: L173-L182.
146. Bowler RP, Crapo JD. Oxidative stress in airways: is there a role for extracellular superoxide dismutase? *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: S38-S43.
147. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor- κ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; 336: 1.066-1.071.
148. Janssen-Heininger YM, Poynter ME, Baeuerle PA. Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor κ B. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1.317-1.327.
149. Adcock IM, Brown CR, Kwon OJ, Barnes PJ. Oxidative stress induces NF- κ B DNA binding and inducible NOS mRNA in human epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 199: 1.518-1.524.
150. Rusznak C, Devalia JL, Sapsford RJ, Davies RJ. Ozone-induced mediator release from human bronchial epithelial cells in vitro and the influence of nedocromil sodium. *Eur Respir J* 1996; 9: 2.298-2.305.
151. Tomita K, Barnes PJ, Adcock IM. The effect of oxidative stress on histone acetylation and IL-8 release. *Biochem Biophys Res Comm* 2003; 301: 572-577.
152. Rahman I. Oxidative stress, chromatin remodeling and gene transcription in inflammation and chronic lung diseases. *J Biochem Mol Biol* 2003; 36: 95-109.
153. Xanthoudakis S, Curran T. Redox regulation of AP-1: a link between transcription factor signaling and DNA repair. *Adv Exp Med Biol* 1996; 387: 69-75.
154. Devalia JL, Bayram H, Rusznak C y cols. Mechanisms of pollution-induced airway disease: in vitro studies in the upper and lower airways. *Allergy* 1997; 52: 45-5; 57-58.
155. Ogura M, Kitamura M. Oxidant stress incites spreading of macrophages via extracellular signal-regulated kinases and p38 mitogen-activated protein kinase. *J Immunol* 1998; 161: 3.569-3.574.
156. Forman HJ, Torres M. Reactive oxygen species and cell signaling: respiratory burst in macrophage signaling. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: S4-S8.
157. Pryor WA, Stone K. Oxidants in cigarette smoke. Radicals, hydrogen peroxide, peroxyhydrate, and peroxyhydrate. *Ann NY Acad Sci* 1993; 686: 12-27.
158. Britton JR, Pavord ID, Richards KA y cols. Dietary antioxidant vitamin intake and lung function in the general population. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1.383-1.387.
159. Schunemann HJ, Freudenheim JL, Grant BJ. Epidemiologic evidence linking antioxidant vitamins to pulmonary function and airway obstruction. *Epidemiol Rev* 2001; 23: 248-267.
160. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1.693-1.772.
161. Montuschi P, Barnes PJ. Analysis of exhaled breath condensate for monitoring airway inflammation. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23: 232-237.
162. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Analysis of expired air for oxidation products. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: S31-S37.
163. Dekhuijzen PNR, Aben KHH, Dekker I y cols. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 813-816.
164. Nowak D, Kasielski M, Antczak A, Pietras T, Bialasiewicz P. Increased content of thiobarbituric acid-reactive substances and hydrogen peroxide in the expired breath condensate of patients with stable chronic obstructive pulmonary disease: no significant effect of cigarette smoking. *Respir Med* 1999; 93: 389-396.
165. Montuschi P, Collins JV, Ciabattini G y cols. Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1.175-1.177.
166. Biernacki WA, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased leukotriene B4 and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of patients with exacerbations of COPD. *Thorax* 2003; 58: 294-298.
167. Pratico D, Basili S, Vieri M, Cordova C, Violi F, Fitzgerald GA. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with an increase in urinary levels of isoprostane F2a-III, an index of oxidant stress. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1.709-1.714.
168. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, Macnee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1.055-1.060.
169. Rahman I, Van Schadewijk AA, Crowther AJ y cols. 4-Hydroxy-2-nonenal, a specific lipid peroxidation product, is elevated in lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 490-495.
170. Taggart C, Cervantes-Laurean D, Kim G y cols. Oxidation of either methionine 351 or methionine 358 in α 1-antitrypsin causes loss of anti-neutrophil elastase activity. *J Biol Chem* 2000; 275: 27.258-27.265.
171. Vestbo J, Sorensen T, Lange P, Brix A, Torre P, Viskum K. Long-term effect of inhaled budesonide in mild and moderate chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 1999; 353: 1.819-1.823.
172. Pauwels RA, Lofdahl CG, Laitinen LA y cols. Long-term treatment with inhaled budesonide in persons with mild chronic obstructive pulmonary disease who continue smoking. *N Engl J Med* 1999; 340: 1.948-1.953.
173. Burge PS, Calverley PMA, Jones PW, Spencer S, Anderson JA, Maslen T. Randomised, double-blind, placebo-controlled study of fluticasone propionate in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease; the ISOLDE trial. *Br Med J* 2000; 320: 1.297-1.303.
174. Lung Health Study Research Group. Effect of inhaled triamcinolone on the decline in pulmonary function in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 1.902-1.909.
175. Hutchison KA, Matic G, Meshinchi S, Bresnick EH, Pratt WB. Redox manipulation of DNA binding activity and BuGR epitope reactivity of the glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 1991; 266: 10.505-10.509.
176. Okamoto K, Tanaka H, Ogawa H y cols. Redox-dependent regulation of nuclear import of the glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 1999; 274: 10.363-10.371.
177. Barnes PJ, Adcock IM. How corticosteroid switch off inflammation in asthma. *Ann Int Med* 2003 [en prensa].
178. Ito K, Watanabe S, Kharitonov S, Hanazawa T, Adcock IM, Barnes PJ. Histone deacetylase activity and gene expression in COPD patients. *Eur Respir J* 2001; 18: 316S.
179. Gotoh Y, Cooper JA. Reactive oxygen species-and dimerization induced activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 in tumor necrosis factor- α signal transduction. *J Biol Chem* 1998; 273: 17.477-17.482.
180. Gottlieb DJ, Stone PJ, Sparrow D y cols. Urinary desmosine excretion in smokers with and without rapid decline of lung function: the Normative Aging Study. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1.290-1.295.
181. Stockley RA. Proteases and antiproteases. *Novartis Found Symp* 2001; 234: 189-199.

182. Senior RM, Tegner H, Kuhn C, Ohlsson K, Starcher BC, Pierce JA. The induction of pulmonary emphysema with human leukocyte elastase. *Am Rev Respir Dis* 1977; 116: 469-475.
183. Damiano VV, Tsang A, Kucich U y cols. Immunolocalization of elastase in human emphysematous lungs. *J Clin Invest* 1986; 78: 482-493.
184. Owen CA, Campbell MA, Boukedes SS, Campbell EJ. Cytokines regulate membrane-bound leukocyte elastase on neutrophils: a novel mechanism for effector activity. *Am J Physiol* 1997; 272: L385-L393.
185. Takeyama K, Agusti C, Ueki I, Lausier J, Cardell LO, Nadel JA. Neutrophil-dependent goblet cell degranulation: role of membrane-bound elastase and adhesion molecules. *Am J Physiol* 1998; 275: L294-L302.
186. Voynow JA, Young LR, Wang Y, Horger T, Rose MC, Fischer BM. Neutrophil elastase increases MUC5AC mRNA and protein expression in respiratory epithelial cells. *Am J Physiol* 1999; 276: L835-L843.
187. Fischer BM, Voynow JA. Neutrophil elastase induces MUC5AC gene expression in airway epithelium via a pathway involving reactive oxygen species. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 447-452.
188. Nakamura H, Yoshimura K, McElvaney NG, Crystal RG. Neutrophil elastase in respiratory epithelial lining fluid of individuals with cystic fibrosis induces interleukin-8 gene expression in a human bronchial epithelial cell line. *J Clin Invest* 1992; 89: 1.478-1.484.
189. Le Barillec K, Si-Tahar M, Balloy V, Chignard M. Proteolysis of monocyte CD14 by human leukocyte elastase inhibits lipopolysaccharide-mediated cell activation. *J Clin Invest* 1999; 103: 1.039-1.046.
190. Belaouaj A, McCarthy R, Baumann M y cols. Mice lacking neutrophil elastase reveal impaired host defense against gram negative bacterial sepsis. *Nat Med* 1998; 4: 615-618.
191. Shapiro SD. Neutrophil elastase: path clearer, pathogen killer, or just pathologic? *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 266-268.
192. Ohbayashi H. Neutrophil elastase inhibitors as treatment for COPD. *Expert Opin Investig Drugs* 2002; 11: 965-980.
193. Wright JL, Farmer SG, Churg A. Synthetic serine elastase inhibitor reduces cigarette smoke-induced emphysema in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 954-960.
194. Luisetti M, Sturani C, Sella D y cols. MR889, a neutrophil elastase inhibitor, in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a double-blind, randomized, placebo controlled clinical trial. *Eur Respir J* 1996; 9: 1.482-1.486.
195. Gorrini M, Lupi A, Viglio S y cols. Inhibition of human neutrophil elastase by erythromycin and flurythromycin, two macrolide antibiotics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25: 492-499.
196. Goswami SK, Kivity S, Marom Z. Erythromycin inhibits respiratory glycoconjugate secretion from human airways in vitro. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 72-78.
197. Campbell EJ, Campbell MA, Owen CA. Bioactive proteinase 3 on the cell surface of human neutrophils: quantification, catalytic activity, and susceptibility to inhibition. *J Immunol* 2000; 165: 3.366-3.374.
198. Duranton J, Bieth JG. Inhibition of proteinase 3 by α 1antitrypsin in vitro predicts very fast inhibition in vivo. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29: 57-61.
199. Turk V, Turk B, Turk D. Lysosomal cysteine proteases: facts and opportunities. *EMBO J* 2001; 20: 4.629-4.633.
200. Chapman HA, Riese RJ, Shi GP. Emerging roles for cysteine proteases in human biology. *Annu Rev Physiol* 1997; 59: 63-88.
201. Wang Z, Zheng T, Zhu Z y cols. Interferon gamma induction of pulmonary emphysema in the adult murine lung. *J Exp Med* 2000; 192: 1.587-1.600.
202. Zheng T, Zhu Z, Wang Z y cols. Inducible targeting of IL-13 to the adult lung causes matrix metalloproteinase- and cathepsin-dependent emphysema. *J Clin Invest* 2000; 106: 1.081-1.093.
203. Reddy VY, Zhang QY, Weiss SJ. Pericellular mobilization of the tissue-destructive cysteine proteinases, cathepsins B, L, and S, by human monocyte-derived macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 3.849-3.853.
204. Linnevers C, Smeekens SP, Bromme D. Human cathepsin W, a putative cysteine protease predominantly expressed in CD8z T-lymphocytes. *FEBS Lett* 1997; 405: 253-259.
205. Takeyabu K, Betsuyaku T, Nishimura M y cols. Cysteine proteinases and cystatin C in bronchoalveolar lavage fluid from subjects with subclinical emphysema. *Eur Respir J* 1998; 12: 1.033-1.039.
206. Shapiro SD, Senior RM. Matrix metalloproteinases. Matrix degradation and more. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 1.100-1.102.
207. Finlay GA, O'Driscoll LR, Russell KJ y cols. Matrix metalloproteinase expression and production by alveolar macrophages in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 240-247.
208. Betsuyaku T, Nishimura M, Takeyabu K y cols. Neutrophil degradation in human pulmonary emphysema. *Lab Invest* 1998; 78: 1.077-1.087.
209. Ohnishi K, Takagi M, Kurokawa Y, Satomi S, Kontinen YT. Matrix metalloproteinase-mediated extracellular matrix protein granule proteins in bronchoalveolar lavage fluid from subjects with subclinical emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1.985-1.991.
210. Imai K, Dalal SS, Chen ES y cols. Human collagenase (matrix metalloproteinase-1) expression in the lungs of patients with emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 786-791.
211. Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, Shapiro SD. Requirement for macrophage metalloelastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Science* 1997; 277: 2.002-2.004.
212. Morris DG, Huang X, Kaminski N y cols. Loss of integrin avb6-mediated TGF- β activation causes MMP12-dependent emphysema. *Nature* 2003; 422: 169-173.
213. Lanone S, Zheng T, Zhu Z y cols. Overlapping and enzyme specific contributions of matrix metalloproteinases-9 and -12 in IL-13-induced inflammation and remodeling. *J Clin Invest* 2002; 110: 463-474.
214. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev* 2000; 14: 163-176.
215. Dallas SL, Rosser JL, Mundy GR, Bonewald LF. Proteolysis of latent transforming growth factor-b (TGF- β)-binding protein-1 by osteoclasts. A cellular mechanism for release of TGF- β from bone matrix. *J Biol Chem* 2002; 277: 21.352-21.360.
216. Rooney CP, Taggart C, Coakley R, McElvaney NG, O'Neill SJ. Anti-proteinase 3 antibody activation of neutrophils can be inhibited by α 1-antitrypsin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 24: 747-754.
217. Mahadeva R, Lomas DA. Genetics and respiratory disease. 2. Alpha 1-antitrypsin deficiency, cirrhosis and emphysema. *Thorax* 1998; 53: 501-505.
218. Carrell RW, Lomas DA. α 1-antitrypsin deficiency - a model for conformational diseases. *N Engl J Med* 2002; 346: 45-53.
219. Lomas DA, Mahadeva R. α 1-antitrypsin polymerization and the serpinopathies: pathobiology and prospects for therapy. *J Clin Invest* 2002; 110: 1.585-1.590.

220. Carp H, Janoff A. Possible mechanisms of emphysema in smokers. In vitro suppression of serum elastase-inhibitory capacity by fresh cigarette smoke and its prevention by antioxidants. *Am Rev Respir Dis* 1978; 118: 617-621.
221. Vogelmeier C, Hubbard RC, Fells GA y cols. Anti-neutrophil elastase defense of the normal human respiratory epithelial surface provided by the secretory leukoprotease inhibitor. *J Clin Invest* 1991; 87: 482-488.
222. Taggart CC, Lowe GJ, Greene CM y cols. Cathepsin B, L, and S cleave and inactivate secretory leukoprotease inhibitor. *J Biol Chem* 2001; 276: 33.345-33.352.
223. Jin FY, Nathan C, Radzioch D, Ding A. Secretory leukocyte protease inhibitor: a macrophage product induced by and antagonistic to bacterial lipopolysaccharide. *Cell* 1997; 88: 417-426.
224. Zhang Y, DeWitt DL, McNeely TB, Wahl SM, Wahl LM. Secretory leukocyte protease inhibitor suppresses the production of monocyte prostaglandin H synthase-2, prostaglandin E2 and matrix metalloproteinases. *J Clin Invest* 1997; 99: 894-900.
225. Taggart CC, Greene CM, McElvaney NG, O'Neill S. Secretory leukoprotease inhibitor prevents lipopolysaccharide induced I κ B α degradation without affecting phosphorylation or ubiquitination. *J Biol Chem* 2002; 277: 33.648-33.653.
226. Sallenave J. The role of secretory leukocyte proteinase inhibitor and elafin (elastase-specific inhibitor/skin-derived antileukoprotease) as alarm antiproteinases in inflammatory lung disease. *Respir Res* 2000; 1: 87-92.
227. Ishii T, Matsuse T, Teramoto S y cols. Association between α 1-antichymotrypsin polymorphism and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 543-548.
228. Cawston T, Carrere S, Catterall J y cols. Matrix metalloproteinases and TIMPs: properties and implications for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Novartis Found Symp* 2001; 234: 205-218.
229. Hirano K, Sakamoto T, Uchida Y y cols. Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2001; 18: 748-752.
230. Barnes PJ. Molecular genetics of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54: 245-252.
231. Lomas DA, Silverman EK. The genetics of chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2001; 2: 20-26.
232. Hogg JC. Role of latent viral infections in chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: S71-S75.
233. Gilmour PS, Rahman I, Hayashi S, Hogg JC, Donaldson K, Macnee W. Adenoviral E1A primes alveolar epithelial cells to PM(10)-induced transcription of interleukin-8. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281: L598-L606.
234. Higashimoto Y, Elliott WM, Behzad AR y cols. Inflammatory mediator mRNA expression by adenovirus E1A transfected bronchial epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 200-207.
235. Turato G, Di Stefano A, Maestrelli P y cols. Effect of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1.262-1.267.
236. Rutgers SR, Postma DS, ten Hacken NH y cols. Ongoing airway inflammation in patients with COPD who do not currently smoke. *Thorax* 2000; 55: 12-18.
237. Loppow D, Schleiss MB, Kanniss F, Taube C, Jorres RA, Magnussen H. In patients with chronic bronchitis a four week trial with inhaled steroids does not attenuate airway inflammation. *Respir Med* 2001; 95: 115-121.
238. Meagher LC, Cousin JM, Seckl JR, Haslett C. Opposing effects of glucocorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes. *J Immunol* 1996; 156: 4.422-4.428.
239. Nightingale JA, Rogers DF, Chung KF, Barnes PJ. No effect of inhaled budesonide on the response to inhaled ozone in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 479-486.
240. Tashkin DP, Altose MD, Connett JE, Kanner RE, Lee WW, Wise RA. Methacholine reactivity predicts changes in lung function over time in smokers with early chronic obstructive pulmonary disease. The Lung Health Study Research Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1.802-1.811.
241. Paggiaro PL, Dahle R, Bakran I, Frith L, Hollingworth K, Efthimou J. Multicentre randomised placebo-controlled trial of inhaled fluticasone propionate in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 1998; 351: 773-780.
242. Yamada K, Elliott WM, Brattsand R, Valeur A, Hogg JC, Hayashi S. Molecular mechanisms of decreased steroid responsiveness induced by latent adenoviral infection in allergic lung inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 35-42.
243. Niewoehner DE, Erbland ML, Deupree RH y cols. Effect of systemic glucocorticoids on exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 1.941-1.947.
244. Davies L, Angus RM, Calverley PM. Oral corticosteroids in patients admitted to hospital with exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a prospective randomised controlled trial. *Lancet* 1999; 354: 456-460.
245. Wedzicha JA. Exacerbations: etiology and pathophysiologic mechanisms. *Chest* 2002; 121: 136S-141S.
246. Seemungal TA, Donaldson GC, Paul EA, Bestall JC, Jeffries DJ, Wedzicha JA. Effect of exacerbation on quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1.418-1.422.
247. Donaldson GC, Seemungal TA, Bhowmik A, Wedzicha JA. Relationship between exacerbation frequency and lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2002; 57: 847-852.
248. Seemungal T, Harper-Owen R, Bhowmik A y cols. Respiratory viruses, symptoms, and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1.618-1.623.
249. Donaldson GC, Seemungal T, Jeffries DJ, Wedzicha JA. Effect of temperature on lung function and symptoms in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 13: 844-849.
250. Crooks SW, Bayley DL, Hill SL, Stockley RA. Bronchial inflammation in acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis: the role of leukotriene B $_4$. *Eur Respir J* 2000; 15: 274-280.
251. Aaron SD, Angel JB, Lunau M y cols. Granulocyte inflammatory markers and airway infection during acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 349-355.
252. Bhowmik A, Seemungal TA, Sapsford RJ, Wedzicha JA. Relation of sputum inflammatory markers to symptoms and lung function changes in COPD exacerbations. *Thorax* 2000; 55: 114-120.
253. Gompertz S, Bayley DL, Hill SL, Stockley RA. Relationship between airway inflammation and the frequency of exacerbations in patients with smoking related COPD. *Thorax* 2001; 56: 36-41.
254. Gompertz S, O'Brien C, Bayley DL, Hill SL, Stockley RA. Changes in bronchial inflammation during acute exacerbations of chronic bronchitis. *Eur Respir J* 2001; 17: 1.112-1.119.

255. 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: 759-764.
256. Maziak W, Loukides S, Culpitt S, Sullivan P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 998-1002.
257. Agusti AG, Villaverde JM, Togo B, Bosch M. Serial measurements of exhaled nitric oxide during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 14: 523-528.
258. Sethi S, Murphy TF. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease in 2000: a state-of-the-art review. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 336-363.
259. Sethi S, Evans N, Grant BJ, Murphy TF. New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 465-471.
260. Van Alphen L, Jansen HM, Dankert J. Virulence factors in the colonization and persistence of bacteria in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 2.094-2.099.
261. Moller LV, Timens W, Van der BW y cols. *Haemophilus influenzae* in lung explants of patients with end-stage pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 950-956.
262. Van Schilfgaarde M, Eijk P, Regelink A y cols. *Haemophilus influenzae* localized in epithelial cell layers is shielded from antibiotics and antibody-mediated bactericidal activity. *Microb Pathog* 1999; 26: 249-262.
263. Bresser P, Out TA, Van Alphen L, Jansen HM, Lutter R. Airway inflammation in nonobstructive and obstructive chronic bronchitis with chronic *Haemophilus influenzae* airway infection. Comparison with noninfected patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 947-952.
264. Gorter AD, Eijk PP, Van Wetering S, Hiemstra PS, Dankert J, Van Alphen L. Stimulation of the adherence of *Haemophilus influenzae* to human lung epithelial cells by antimicrobial neutrophil defensins. *J Infect Dis* 1998; 178: 1.067-1.074.
265. Barnes PJ. New treatments for COPD. *Nature Rev Drug Disc* 2002; 1: 437-445.