

Tabaccologia

Tobaccology

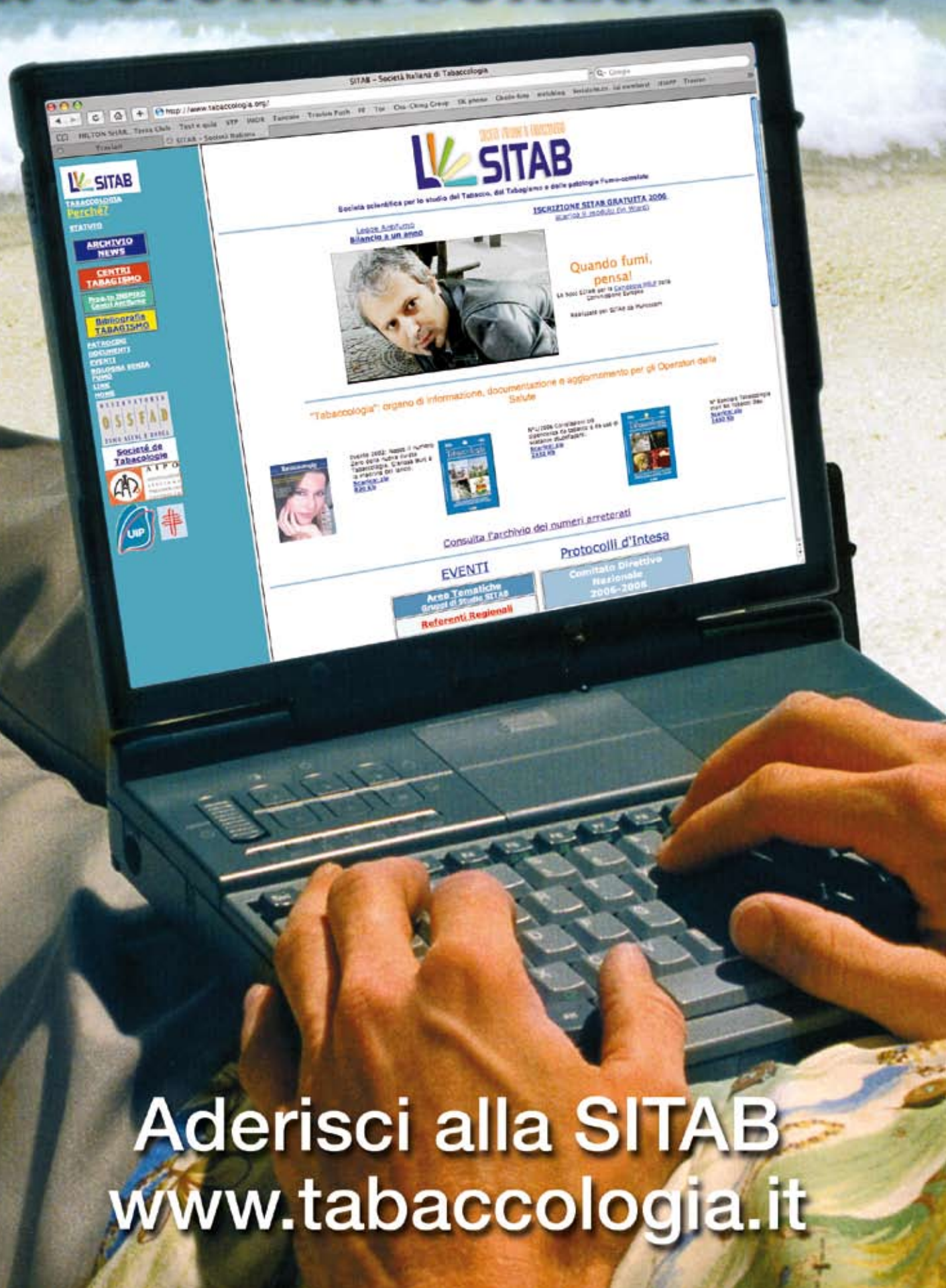
Trimestrale a carattere scientifico per lo studio del tabacco, del tabagismo e patologie fumo-correlate



Speciale Estratti

Fumo di tabacco e broncopneumopatia cronica

Tabaccologia... la scienza senza filtro



Aderisci alla SITAB
www.tabaccologia.it

Tabaccologia

ORGANO UFFICIALE DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI TABACCOLOGIA - SITAB

Direttore Responsabile: Giacomo Mangiaracina (Roma)

Direttore Scientifico: Gaetano Maria Fara (Roma)

CapoRedattore: Vincenzo Zagà (Bologna)

Vice CapoRedattore: Biagio Tinghino (Monza)

Comitato Scientifico-Redazionale: Christian Chiamulera, (Verona), Mario Del Donno (Benevento), Marco Mura (Roma), Claudio Poropat (Trieste), Nolita Pulerà (Livorno), Biagio Tinghino (Monza), Vincenzo Zagà (Bologna).

Comitato scientifico: Massimo Baraldo (Udine), Kamal Chaouachi (Parigi - Francia), Lorenzo Cima (Padova), Domenico Enea (Roma), Stefano Fedele (Londra), Paola Gremigni (Bologna), Maurizio Laezza (Bologna), Paola Martucci (Napoli), Vincenzo Masullo (Roma), Flaminio Mormile (Roma), Margherita Neri (Tradate -VA), Emanuele Passanante (Torino), Eugenio Sabato (Mesagne-BR), Franco Salvati (Roma), Elisabeth Tamang (Venezia), Roberto Tatarelli (Roma), Maria Teresa Tenconi (Pavia), Riccardo Tominz (Trieste), Stefano Vianello (Mirano - VE), Pier Giorgio Zuccaro (Roma)

Comitato scientifico d'onore:

Presidente: Umberto Veronesi (IEO Milano - Italia),

Amanda Amos (University of Scotland, Edimburgo - UK), Lucio Casali (Università di Perugia), Simon Chapman (Australia), Maria Paz Corvalan (Globalink, Santiago del Cile), Mario De Palma (Federazione TBC - Italia), Carlo DiClemente (USA), Pascal Diethelm (Svizzera), Jean Francois Etter (Univ. Ginevra Svizzera), Karl Fagerstrom (Smokers Clinic and Fagerstrom Consulting - Svezia), Vincenzo Fogliani (Presidente UIP, Messina), M. Rosaria Galanti (Karolinska University Hospital, Stoccolma Svezia), Martin Jarvis (University College, Londra - UK), Jacques Le Houezec (NRST, Parigi - Francia), Robert Molimard (Società Française de Tabacologie, Parigi - Francia), Dario Olivieri (Università di Parma - Italia), Francesco Schittulli (Lega Italiana per la Lotta contro Tumori, Roma - Italia), Stephen Rennard, (Nebraska University, Omaha - USA).

Con il Patrocinio:

- Federazione Italiana contro le Malattie Polmonari, Sociali e la Tubercolosi
- Lega Italiana per la lotta contro i Tumori
- FederAsma
- Associazione Pazienti BPCO

Segreteria di redazione: Livia Laurentino
(liviaelena.laurentino@fastwebnet.it)
c/o Suoni Comunicazioni - Bologna

Art director: Fabrizio Cani
Graph-x studio grafico - Bologna
www.graph-x.it - graph-x@fastwebnet.it



Ricerca iconografica: Zagor & Kano

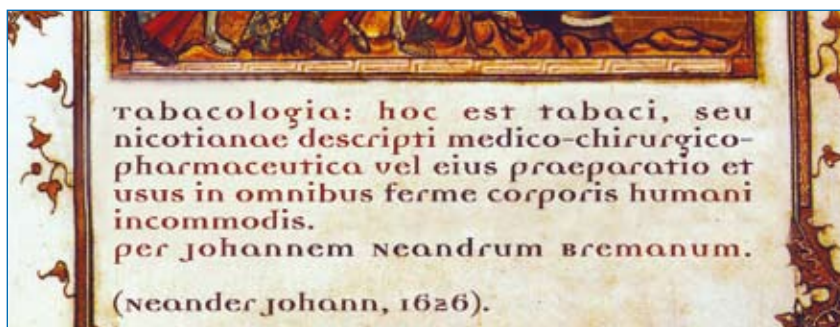
Stampa: Ideostampa - Via del Progresso s.n.
61030 Calcinelli di Saltara (PU)

Pubblicità: Suoni Comunicazione (suonicom@tin.it)
via Venturoli 38/D - 40138 Bologna - tel./fax +39 051 304737

Tutti i diritti riservati, è vietata la riproduzione anche parziale senza l'autorizzazione dell'Editore. Per le immagini pubblicate restiamo a disposizione degli aventi diritto che non si siano potuti reperire.

Periodico trimestrale sped. ab. post. 45% L. 662/96 - Autor: D.C.
Business - AN / Autorizzazione Tribunale di BO n° 7319 del 24/04/2003
Finito di stampare nel settembre 2006. Tiratura: 6000 copie.

Sommario



EDITORIALE

- 2** Fumo di tabacco e broncopneumopatie croniche: una sfida per la ricerca
(Mario Del Donno, Vincenzo Zagà)



FOCUS ON

- 4** Come cambia l'epitelio bronchiale del fumatore
(Marco Mura)



REVIEWS

- 8** Inquinamento outdoor e da fumo di tabacco: ossidanti e antiossidanti (Stefano Picciolo, Vincenzo Zagà)



- 15** Fumo di tabacco e stress ossidativo respiratorio (Enrico M. Melillo, Gaetano Melillo)



- 20** La BPCO come malattia ossidativa e infiammatoria sistemica: implicazioni fisiopatologiche e terapeutiche (Marco Mura)



- 25** Mucolitici e mucoregolatori nel trattamento della bronco-pneumopatia cronica ostruttiva
(Marco Mura)



- 29** Può il danno meccanico delle vie aeree periferiche giocare un ruolo nella genesi della BPCO nei soggetti fumatori?
(Joseph Milic-Emili, Marco Mura)

- 32 NEWS & VIEWS**



Fumo di tabacco e broncopneumopatie croniche: una sfida per la ricerca

Mario Del Donno, Vincenzo Zagà

Il fumo di sigaretta è oramai considerato uno dei principali fattori eziologici di numerose malattie respiratorie, in primo piano senz'altro la BPCO, l'enfisema polmonare ed il tumore del polmone. In particolare, nella BPCO l'inquinamento ha un ruolo additivo a quello sostanziale del fumo di tabacco, laddove, gli irritanti atmosferici

possono determinare in modo preminente un danno infiammatorio sulla mucosa delle vie aeree, con maggiore suscettibilità ad allergeni di vario tipo (pollini, polveri domestiche, ecc.) e ad infezioni respiratorie.

L'apparato respiratorio con la

sua ampia superficie a contatto con l'ambiente esterno risulta molto suscettibile a variazioni e modificazioni ambientali, tali da indurre nel tempo danni anche irreversibili dell'albero tracheo-bronchiale. Il polmone infatti, per le sue particolari caratteristiche anatomiche e funzionali, è un organo ad alto rischio di danno ossidativo, essendo direttamente esposto a sostanze tossiche date dalla polluzione atmosferica, dal fumo di sigaretta e da agenti infettivi. Le alterazioni che ne derivano, dovute essenzialmente agli ossidanti prodotti, contribuiscono alla progressione delle diverse affezioni respiratorie.

In particolare, nei pazienti affetti da BPCO l'ipersecrezione di muco, che si realizza per la presenza di flogosi tracheo-bronchiale con ipertrofia ed iperplasia delle cellule secretorie, contribuisce a riacutizzazioni frequenti, caratterizzate da tosse ed espettorazione. Nonostante il primo agente eziologico sia l'esposizione al fumo di tabacco, altri fattori di rischio come l'inquinamento ambientale, le infezioni respiratorie ricorrenti ed il deficit di alfa 1-antitripsina, sono sicuramente implicati allo sviluppo di tale affezione.

Il fumo di sigaretta è una miscela complessa di oltre 4700 composti chimici, tra cui alte concentrazioni di radicali liberi e agenti ossidanti, in grado di interagire con i costituenti cellulari. Un ruolo patogenetico importante nelle patologie polmonari croniche è rivestito proprio da uno stress infiammatorio di tipo ossidativo, dato da un aumento del carico ossidante. Tale stress ossidativo può verificarsi per un apporto esterno di radicali ossidanti (fumo di tabacco e inquinamento atmosferico) e/o per una produzione endogena incontrollata. Infatti, radicali liberi sono prodotti fisiologicamente durante la respirazione cellulare ed in corso di stati infiammatori a scopo di difesa antimicrobica. In entrambe le condizioni, il carico ossidante viene controbilanciato dalle difese antiossidanti naturali. Tuttavia, in alcune circostanze come nelle patologie respiratorie croniche, l'equilibrio ossidanti/antiossidanti, esistente in condizioni fisiologiche, può alterarsi a vantaggio dei primi. Lo stress ossidativo conseguente è defini-





to pertanto come aumento del carico ossidante per incremento della produzione di radicali liberi oppure per diminuzione delle difese antiossidanti, più spesso però per entrambi i fenomeni.

Le sostanze di difesa antiossidanti naturali possono essere di tipo intracellulare o di tipo extracellulare e possono anche essere suddivise in sistemi enzimatici e fattori non-enzimatici, come gli agenti antiossidanti, naturali e farmacologici, e gli agenti mucoattivi, ognuno con uno specifico ruolo in terapia.

I principali **sistemi enzimatici** sono la glutazione perossidasi, la superossido-dismutasi (SOD) e la catalasi. Tra i **sistemi non-enzimatici** è compreso lo strato di muco che riveste la superficie delle vie aeree e svolge un ruolo chiave poiché contiene sostanze di difesa come glicoproteine e albumina, ma anche sistemi enzimatici come una perossidasi delle vie aeree (APO), con attività antiossidante aspecifica. Altri fattori non-enzimatici sono transferrina, lattoferrina, ferritina, ceruloplasmina, albumina, vitamina E, vitamina A e β -carotene (provitamina A naturale), vitamina C, flavonoidi (antiossidanti vegetali), bilirubina, taurina, metionina, minerali come selenio, manganese e rame, ed acido urico. Infine, agiscono come antiossidanti anche le proteine plasmatiche (albumina, transferrina, ceruloplasmina) che sono presenti nel fluido extracellulare ed aumentano notevolmente in corso di infiammazione acuta. Quando le difese antiossidanti naturali risultano poco efficaci per deficit intrinseco individuale o perché superate dal carico ossidante, diventa necessario e razionale l'utilizzo di sostanze antiossidanti farmacologiche.

La ricerca farmacologica si è orientata sul GSH. Nei casi di deficit di glutazione o per necessità di aumentarne le concentrazioni per stress ossidativo, il GSH può essere somministrato per via endovenosa, tuttavia possiede emivita breve e non raggiunge il polmone. Oltre a ciò, sembra non sia sufficientemente trasportato nelle cellule animali e se in eccesso può essere fonte di radicali tiolici nello stress ossidativo.

Un'altra applicazione interessante

riguarda la somministrazione di precursori del GSH come la cisteina. Tuttavia, la cisteina viene rapidamente metabolizzata e trasformata in cistina che è neurotossica, per cui non è assolutamente utilizzata.

Al contrario, un ruolo cruciale nella prevenzione e terapia antiossidante, è dato dai farmaci mucoattivi: mucolitici e mucoregolatori. In particolare, soprattutto in campo polmonare, le prime e significative esperienze sono state date dalla N-acetilcisteina (NAC), composto donatore di gruppi sulfidrici (-SH) e di cisteina e farmaco noto da tempo come mucolitico ma che oramai dati della letteratura internazionale hanno confermato come dotato anche di attività antiossidante. Inoltre, tra i composti mucoregolatori, che agiscono alterando le caratteristiche biochimiche della secrezione cellulare di muco, una posizione di rilievo è svolta dalla carbocisteina (sale di lisina monoidrato), che ha evidenziato un notevole potenziale terapeutico antiossidativo. Tale molecola è stata studiata in laboratorio per l'attività antiossidante, dimostrando sia di poter ridurre la produzione di specie reattive dell'ossigeno sia di stimolare la secrezione di glutazione ridotto al livello delle cellule dell'epitelio bronchiale.

Le linee guida internazionali della BPCO indicano che gli obiettivi del trattamento sono alleviare i sintomi, ridurre il numero di riacutizzazioni, limitare il declino della funzionalità respiratoria, migliorando la qualità di vita dei pazienti affetti. Tuttavia, una volta posta diagnosi di BPCO, si deve cercare di modificare la storia naturale della malattia e, a tale scopo, l'utilizzo di farmaci in grado di ridurre le riacutizzazioni e migliorare la sintomatologia, appare sempre più indicato.

La misura di prevenzione più importante resta indubbiamente evitare l'esposizione ai fattori di rischio, come il fumo di tabacco. Il fumo infatti, in aggiunta al documentato effetto cancerogeno, risulta essere purtroppo una fonte importante di radicali ossidanti ed un continuo e costante insulto infiammatorio, capace di innescare meccanismi degenerativi soprattutto

a livello polmonare. Su questa linea si pongono soprattutto i farmaci antiossidanti con proprietà mucoattive e soprattutto antiinfiammatorie, che hanno già trovato una sicura collocazione nelle linee guida di patologie respiratorie ostruttive e restrittive.

Inoltre, è il caso di sottolineare che una delle grandi sfide nella ricerca pneumologica è senz'altro quella di trovare degli indicatori, biologici e/o funzionali, che possono consentire una precoce individuazione dei soggetti, fumatori in primis, che dalla bronchite cronica semplice (BPCO stadio 0 delle linee guida GOLD) passano nel corso degli anni allo stadio 1 GOLD, andando così ad aumentare quel 25% di fumatori con ostruzione bronchiale più marcata (stadi 1-3 delle GOLD).



Infine, il nostro augurio è che anche questa raccolta di contributi scientifici pubblicati su Tabaccologia, possa in qualche modo risultare utile ad accrescere medici specialisti, generalisti ed altre figure professionali, sia nella pratica clinica giornaliera che nella ricerca scientifica più avanzata. ■

Mario Del Donno

[m.deldonno@ao-rummo.it]

Direttore U.O. di Pneumologia

A.O. "G. Rummo" Benevento,

Docente Scuola di Spec. Mal. App. Respiratorio

Università degli Studi di Napoli "Federico II,"

Società Italiana di Tabaccologia-SITAB

Vincenzo Zagà

[redazione@tabaccologia.it]

U.O. di Pneumotisiologia Territoriale

Azienda USL di Bologna,

Società Italiana di Tabaccologia-SITAB



Focus On

Come cambia l'epitelio bronchiale del fumatore

Il fumo di sigaretta conduce a broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) clinicamente riconosciuta nel 15-20% dei soggetti fumatori [1]. Esso è in grado di produrre uno squilibrio tra la produzione di radicali tossici e i meccanismi di difesa che operano normalmente nel polmone e nell'organismo. L'epitelio delle vie aeree è la prima linea di difesa dei polmoni nei confronti delle sostanze tossiche inalate. Nei soggetti normali, le vie aeree contengono poche cellule caliciformi, produttrici di muco, e non contengono infiltrato infiammatorio. Nei soggetti fumatori, a livello delle vie aeree fino a un diametro >3 mm l'infiammazione è costituita prevalentemente da elementi mononucleati, quali linfociti, plasmacellule e macrofagi; la sottopopolazione linfocitaria predominante nella parete dei bronchioli è quella CD8+ [2]. Allo stesso livello, le alterazioni dominanti a carico dell'epitelio sono rappresentate da una metaplasia cellulare con riduzione delle cellule di Clara, che vengono rimpiazzate da cellule caliciformi mucipare, e dalla metaplasia squamosa dell'epitelio bronchiale.

La metaplasia squamosa delle cellule caliciformi mucipare intraepiteliali nei fumatori si accompagna ad aumentata degranulazione, con conseguente iperproduzione di muco [3], che è poi alla base della sintomatologia propria della bronchite cronica. Tuttavia la presenza dei sintomi di bronchite cronica sembra attualmente legata più all'infiammazione ed alla metaplasia delle vie aeree che non all'ipertrofia ghiandola [4]. A questo proposito è utile

ricordare che nell'epitelio bronchiale dei fumatori l'incremento delle cellule caliciformi mucipare si associa ad un aumento del numero di granulociti neutrofili; dal momento che l'elastasi neutrofila può svolgere una potente azione secretagoga, è ipotizzabile che la presenza dei neutrofili nell'epitelio sia rilevante ai fini dell'attivazione della funzione secretoria delle cellule caliciformi mucipare [4].

Marco Mura



Broncografia sistema bronchiale sinistro: quadro di bronchite cronica bronchiectasica in fumatore

L'altra conseguenza della metaplasia delle cellule caliciformi è legata alla riduzione delle cellule di Clara, che nor-



malmente producono una antiproteasi a basso peso molecolare (antileucoproteasi) ed una componente del surfattante polmonare. La deplezione della loro popolazione determina quindi sia un incremento dell'attività proteasica nei tessuti delle vie aeree, sia un aumento della tensione superficiale, con instabilità meccanica delle piccole vie aeree

chiale e bronchiolare, ed in particolare l'ipertrofia del tessuto muscolo liscio bronchiolare, edema murale e fibrosi peribronchiolare; con incremento del loro spessore (8).

Tuttavia l'iperplasia delle cellule caliciformi è ben presente anche a livello dei bronchioli (vie aeree senza parete cartilaginea), i quali non contengono

	BRONCHITE CRONICA	BRONCHIOLITE
Alterazioni Strutturali	Ipertrofie e iperplasia ghiandole mucose (↑ indice di Reid)	↓ cellule di Clara ↑ cellule mucipare Ipertrofia muscolo liscio Edema intramurale Fibrosi peribronchiolare ↑ n° di vie aeree di diametro < 400 μ
Infiammazione	Linfociti T CD8+ Macrofagi Plasmacellule	Macrofagi Neutrofili Linfociti T CD8+

Tabella comparativa dei quadri morfologici della bronchite cronica e della bronchiolite nel fumatore (modificato da Fabbri M.)

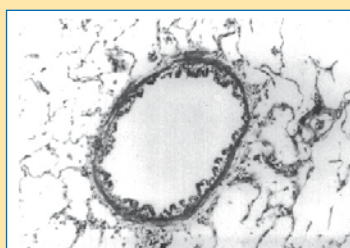
che le predispone a una precoce chiusura durante l'espiazione (5).

La metaplasia rappresenta una risposta adattativa che produce cellule meglio «equipaggiate» per far fronte alle mutate condizioni ambientali; nei bronchi dei fumatori l'epitelio respiratorio viene sostituito dall'epitelio squamoso sotto l'influenza dell'irritazione cronica da fumo di sigaretta; tale processo va sotto il nome di metaplasia squamosa (6).

ghiandole sottomucose (7). Anche nelle piccole vie aeree è inoltre presente l'infiltrato infiammatorio caratterizzato da una prevalenza dei linfociti CD8+, anche se nelle severe riacutizzazioni i neutrofili infiltrano anche la parete dei bronchioli (5).

L'infiammazione cronica determina pertanto a questo livello un danno, a cui conseguono processi riparativi della parete bronchiale e bronchiolare costituiscono un «rimodellamento» delle vie aeree. Il calibro dei bronchioli nei fumatori può essere ristretto da zaffi mucosi intraluminali, edema della mucosa, ipertrofia della muscolatura liscia, infiltrazione di cellule infiammatorie nella parete e fibrosi peribronchiale. È probabile che le modificazioni strutturali delle piccole vie aeree contribuiscano maggiormente all'ostruzione ed alla maldistribuzione dei gas ispirati rispetto alle grandi vie aeree, nonché alla progressione patogenetica della malattia, secondo l'ipotesi presentata da Milic-Emili sulle pagine di Tabaccologia (9).

Naturalmente rimane tuttora da capire perché soltanto relativamente pochi fumatori sviluppino BPCO. Stress ossidativo, infiammazione, danno tissutale



Bronco normale in non fumatore



Quadro di **bronchite cronica** in fumatore

A questa si accompagna una desquamazione della mucosa e delle regioni dell'epitelio che hanno subito la metaplasia squamosa stessa (7).

A livello delle vie aeree di calibro compreso tra 2 e 4 mm, prevalgono le alterazioni strutturali della parete bron-



e rimodellamento delle vie aeree sono parte del complesso processo patogenetico che conduce alla BPCO. Ma quale fumatore è «suscettibile»? Varie ipotesi sono state fatte, chiamando in causa di volta in volta l'infezione da adenovirus in età infantile, differenze nello stato nutrizionale, che potrebbe proteggere dallo stress ossidativo, l'iperresponsività delle vie aeree, differenze genetiche che potrebbero riguardare, oltre alla ben nota alfa-1-antitripsina, l'alfa-1-antichimotripsina, la proteina legante la vitamina D, la macroglobulina alfa 2, la superossido dismutasi extracellulare, la catepsina G, etc [10].

tro un'ora dall'esposizione, era inibita dallo scavenger tetrametilurea [12]. Il rimodellamento delle piccole vie aeree sembra quindi essere causato da una reazione scatenata dallo stress ossidativo e coinvolgente il potente fattore profibrotico TGF-1 [12]. Lo stesso gruppo ha dimostrato che il fumo di sigaretta inibisce la capacità riparativa delle cellule bronchiali epiteliali, ed in particolare la chemiotassi, la proliferazione, la capacità di rimodellare la matrice extracellulare e la produzione di fibronectina [13].

Un altro studio ha utilizzato come modello delle grandi vie aeree il palato

Solo due studi hanno investigato l'impatto della cessazione del fumo sulle alterazioni epiteliali nelle vie aeree negli ex-fumatori asintomatici [15, 16]. L'iperplasia delle cellule mucipare era indubbiamente ridotta negli ex-fumatori, mentre la metaplasia squamosa nelle vie centrali non era significativamente differente, mentre era ridotta nelle vie periferiche [15, 16]. Il volume delle ghiandole mucose, del tessuto muscolare liscio e della fibrosi non differivano tra fumatori ed ex-fumatori [15, 16].

Per quanto riguarda i soggetti affetti da bronchite cronica o BPCO, gli ex-fumatori mostravano rispetto ai fumatori meno iperplasia delle cellule caliciformi mucipare, ma presentavano una quota maggiore di metaplasia squamosa nelle grandi vie aeree [16]; nelle piccole vie aeree invece iperplasia delle cellule mucipare e metaplasia squamosa si equivalevano tra fumatori ed ex-fumatori. Quando quindi si è instaurata la malattia ostruttiva, la maggior parte delle alterazioni a carico dell'epitelio bronchiale e bronchiolare non sono reversibili. ■

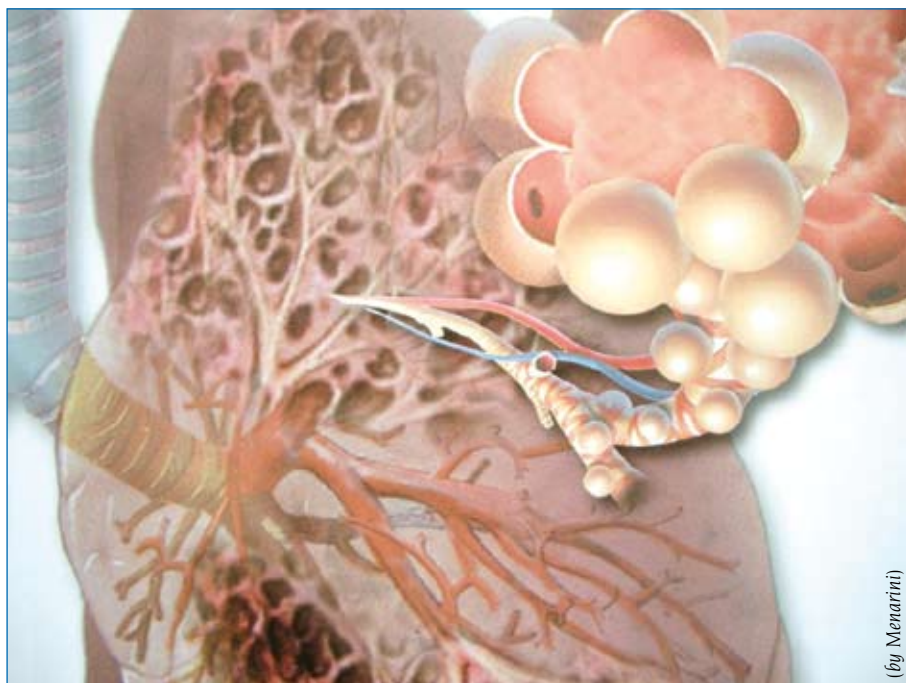


Illustrazione di sovradistensione polmonare di tipo enfisematosa

La suscettibilità genetica potrebbe essere legata a molteplici geni.

Le evidenze sperimentali mostrano che il fumo di tabacco può causare alterazioni strutturali delle vie aeree, quali fibrosi sottoepiteliale, senza la presenza di cellule infiammatorie, come dimostrato da Wang e coll. su sezioni di trachea di ratto mantenute in terreno di coltura ed esposte al fumo per 7 giorni [11]. Il fumo determina sull'epitelio il rilascio di Transforming Growth Factor-beta1 (TGF-1) e l'espressione dei geni del connective tissue growth factor e del procollagene [12]. L'espressione di TGF-1, che avviene en-

di rana e ha dimostrato che l'esposizione al fumo determina direttamente distruzione dell'epitelio ciliato e della matrice extracellulare andando a danneggiare «l'ancoraggio» alla membrana basale, causando così una vera e propria esfoliazione epiteliale [14]. La clearance del muco era pertanto ridotta già dopo l'esposizione ad una singola sigaretta, ed ulteriormente ridotta dopo 5 [14]. A questo stadio il muco non mostrava caratteristiche alterate, anche se veniva dimostrata una aumentata attività della metallo proteinasi 9, segno del danno a carico della matrice extracellulare [14].

Marco Mura

(marcomura@hotmail.com)
Dipartimento di Medicina Interna,
Sez. di Malattie Respiratorie,
Università di Roma "Tor Vergata"



Bibliografia

1. Willemse, B. W., D. S. Postma, W. Timens, and N. H. ten Hacken. The impact of smoking cessation on respiratory symptoms, lung function, airway hyperresponsiveness and inflammation. *Eur Respir J* 2004, 23(3):464-76.
2. Saetta, M., A. Di Stefano, G. Turato, F. M. Facchini, L. Corbino, C. E. Mapp, P. Maestrelli, A. Ciaccia, and L. M. Fabbri. CD8+ T-lymphocytes in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157(3 Pt 2):822-6.
3. Maestrelli, P., M. Saetta, C. E. Mapp, and L. M. Fabbri. Remodeling in response to infection and injury. Airway inflammation and hypersecretion of mucus in smoking subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 164(10 Pt 2):S76-80.
4. Turato, G., Baraldo S, Beghè B, Zuin R, Saetta M. Anatomia Patologica. In M. De Palma, Fabbri, LM. Rapporto sulla Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) 2005. Federazione Italiana contro le Malattie Polmonari Sociali e la Tuberculosis, Milano, 2005.
5. Fabbri, M. Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva. In *Malattie dell'Apparato Respiratorio*, Bologna, Clueb, Bologna, 2003.
6. Burkitt, H., Stevens, A, Lowe JS, Young B. Accrescimento patologico. In. *Istopatologia Essenziale*, Casa Editrice Ambrosiana, Milano, 1995.
7. Netter, F. Malattia polmonare ostruttiva cronica. In *Apparato Respiratorio*, Ciba-Geigy, *Apparato Respiratorio*, Varese, 1980.
8. Jeffery, P. 2000. Comparison of the structural and inflammatory features of COPD and Asthma. *Chest*(117):251S-260S.
9. Milic-Emili, J., Mura, M. Può il danno meccanico delle vie aeree periferiche contribuire alla patogenesi della BPCO nei fumatori? *Tabaccologia* 2005; 1:18-20.
10. Siafakas, N. M., and E. G. Tzortzaki. Few smokers develop COPD. Why? *Respir Med* 2002, 96(8):615-24.
11. Wang, R. D., H. Tai, C. Xie, X. Wang, J. L. Wright, and A. Churg. Cigarette smoke produces airway wall remodeling in rat tracheal explants. *Am J Respir Crit Care Med* 2003, 168(10):1232-6.
12. Wang, R. D., J. L. Wright, and A. Churg. Transforming growth factor-beta1 drives airway remodeling in cigarette smoke-exposed tracheal explants. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005, 33(4):387-93.
13. Wang, H., X. Liu, T. Umino, C. M. Skold, Y. Zhu, T. Kohyama, J. R. Spurzem, D. J. Romberger, and S. I. Rennard. Cigarette smoke inhibits human bronchial epithelial cell repair processes. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001, 25(6):772-9.
14. Zayas, J. G., D. W. O'Brien, S. Tai, J. Ding, L. Lim, and M. King. Adaptation of an amphibian mucociliary clearance model to evaluate early effects of tobacco smoke exposure. *Respir Res* 2004, 5(1):9.
15. Wright, J. L., J. E. Hobson, B. Wiggs, P. D. Pare, and J. C. Hogg. Airway inflammation and peribronchiolar attachments in the lungs of nonsmokers, current and ex-smokers. *Lung* 1988, 166(5):277-86.
16. Mullen, J. B., J. L. Wright, B. R. Wiggs, P. D. Pare, and J. C. Hogg. Structure of central airways in current smokers and ex-smokers with and without mucus hypersecretion: relationship to lung function. *Thorax* 1987, 42(11):1987, 843-8.





Inquinamento outdoor e da fumo di tabacco: ossidanti e antiossidanti

Air pollution and tobacco smoke: oxidants and antioxidants

Stefano Picciolo, Vincenzo Zagà

Riassunto

Il polmone è continuamente soggetto all'azione di ossidanti inalati dall'ambiente o prodotti durante le reazioni biochimiche del nostro organismo. Le principali fonti di ossidanti esogeni sono rappresentate dall'inquinamento atmosferico e dal fumo di tabacco. Cellule infiammatorie come i polimorfonucleati, i macrofagi alveolari e gli eosinofili sono in grado di produrre ossidanti endogeni attraverso reazioni enzimatiche e non enzimatiche.

È noto come lo stress ossidativo sia capace di indurre danni a livello tissutale, cellulare e subcellulare ed in ultima analisi contribuire alla patogenesi della broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) ed ai suoi effetti sistemici. Nel tessuto polmonare a questi agenti ossidanti si oppongono una serie di antiossidanti rappresentati da enzimi e sostanze non enzimatiche. È in discussione il ruolo degli antiossidanti nel prevenire tali danni e quindi contrastare lo sviluppo e la progressione della BPCO.

Parole chiave: inquinamento atmosferico, fumo di tabacco, sostanze ossidanti, broncopneumopatia cronica ostruttiva, N-acetil-L-cisteina, carbocisteina sale di lisina monoidrato.

Summary

Oxidants inhaled from the environment or produced during biochemical reactions exert their action on the lung continuously. The main sources of exogenous oxidants are air pollution and cigarette smoke.

Inflammatory cells like PLM, alveolar macrophages and eosinophils generate oxidants via enzymatic or non-enzymatic reactions. It is well known that oxidative stress can cause damage at the tissutal, cellular or subcellular level and eventually contribute to the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease and its systemic effects.

Several antioxidants, such as enzymes or non-enzymatic substances, counteract oxidant agents in lung tissue. The role of antioxidants to prevent those damages and contrast the development and progression of COPD is controversial.

Keywords: air pollution, cigarette smoke, oxidants, chronic obstructive pulmonary disease, N-acetyl-L-cysteine, carbocysteine lysine salt monohydrate.

INTRODUZIONE

Il polmone è sottoposto in maniera continua ad attacco di sostanze ossidanti. Loro caratteristica è la tendenza a strappare elettroni da altre molecole con cui vengono in contatto. Se una molecola **ossidante** sottrae elettroni ad un'altra **riducente** si realizza una coppia ossidoriduttiva. I **radicali liberi** sono porzioni di molecole in cui è presente un elettrone spaiato. Ciò rende il radicale libero molto instabile e reattivo e quindi pronto ad innescare nuovi fenomeni ossidoriduttivi. La fonte dello **stress ossidativo** può essere l'ambiente esterno, in primis l'inquinamento atmosferico e il fumo di tabacco (**ossidanti esogeni**), o le reazioni chimiche che si verificano nel nostro organismo, principalmente durante i fe-

nomeni flogistici (ossidanti endogeni). Queste sostanze derivano principalmente dall'ossigeno o dall'azoto, pertanto sono indicate come specie reattive dell'ossigeno (*reactive oxygen species* = ROS) o dell'azoto (*reactive nitrogen species* = RNS).

In questo articolo esamineremo alcune tra le fonti di ossidanti esogene ed endogene, il danno causato all'apparato respiratorio e quindi le difese di cui l'organismo dispone per contrastare l'attacco ossidativo. Infine discuteremo del ruolo di due farmaci antiossidanti nel prevenire il danno da stress ossidativo.

INQUINAMENTO ATMOSFERICO

La vasta superficie a contatto con l'ambiente esterno espone il polmone all'azione di sostanze inquinanti. Secondo

il DPR n. 203 del 24/5/88 l'inquinamento atmosferico può essere definito come "ogni modificazione della normale composizione o stato fisico dell'aria atmosferica, dovuta alla presenza nella stessa di una o più sostanze in qualità e caratteristiche tali da alterare le normali condizioni ambientali e di salubrità dell'aria; da costituire pericolo o pregiudizio diretto o indiretto per la salute dell'uomo; da compromettere le attività ricreative e gli altri usi legittimi dell'ambiente; alterare le risorse biologiche e gli ecosistemi, ed i beni materiali pubblici e privati". La composizione teorica dell'aria è riportata in **Tabella 1**.

Nelle *zone remote* sono da aggiungere altri 25 composti di origine antropica (cioè prodotti dall'uomo) con concentrazioni dell'ordine di µg/mc. L'atmosfera urbana

Tabella 1 – Composizione teorica dell'aria atmosferica

Sostanza	Concentrazione (ppm)
N ₂	780000
O ₂	209000
Gas rari	9344
H ₂ O	1000-3000
CO ₂	315
CH ₄	1,4
H ₂	0,5
CO	0,03-0,14
NO ₂	0,02-0,07
SO ₂	0,02
O ₃	0,02

contiene 48 ulteriori composti di origine antropica (µg/mc) e altri 88 presenti in concentrazioni dell'ordine di ng/mc. In totale 161 composti xenobiotici. Le sostanze inquinanti possono depositarsi per *fall out* (deposizione semplice – materiale particolato) o per *rain out* (deposizione umida).

Gli inquinanti poi, possono essere classificati in base alle sorgenti di emissione (fisse o mobili), lo stato fisico (aerosol, gas e vapori) e in primari e secondari. Primari sono gli inquinanti che vengono immessi direttamente nell'ambiente in seguito al processo che li ha prodotti. Gli inquinanti secondari sono invece quelle sostanze che si formano dagli inquinanti primari (sia antropogenici che naturali) a seguito di modificazioni di varia natura causate da reazioni che, spesso, coinvolgono l'ossigeno atmosferico e la luce. I principali inquinanti primari sono quelli emessi nel corso dei processi di combustione di qualunque natura, cioè il monossido di carbonio, il biossido di carbonio, gli ossidi di azoto (principalmente ossido nitrico), le polveri e gli idrocarburi incombusti. Nel caso in cui i combustibili contengano zolfo, si ha anche emissione di anidride solforosa. Dopo la loro emissione in atmosfera, gli inquinanti primari sono soggetti a processi di diffusione, trasporto e deposizione. Subiscono inoltre dei processi di trasformazione chimico-fisica che possono portare alla formazione degli inquinanti secondari, nuove specie chimiche che spesso risultano più tossiche e di più vasto raggio d'azione dei composti originari.

Fra i processi di formazione degli inquinanti secondari, particolare importanza è assunta dalla serie di reazioni che avvengono fra gli ossidi di azoto e gli idrocarburi in presenza di luce solare. Questa catena di reazioni porta all'ossidazione del monossido di azoto (NO) a biossido di azoto (NO₂), alla produzione di ozono (O₃) ed all'ossidazione degli idrocarburi, vi è formazione di aldeidi, perossidi, di acidi nitriloperacetici (PAN), acido nitrico, nitrati e nitroderivati in fase particellare, e centinaia di altre specie chimiche minori. L'insieme dei prodotti di queste reazioni viene definito **smog fotochimico**, che rappresenta una delle forme di inquinamento più dannose per l'ecosistema. L'uso del termine smog (da *smoke* e *fog*) è dovuto alla forte riduzione della visibilità che si determina nel corso degli episodi di inquinamento fotochimico, dovuta alla formazione di un grande numero di particelle di notevoli dimensioni.

Tabella 2 – Classificazione sostanze inquinanti

Sorgenti di emissione	- Fisse - Mobili
Stato fisico	- Aerosol - Vapori
Primari	- SO _x - NO _x - CO - CO ₂ - Idrocarburi - Metalli (Pb)
Secondari	- Acido solforico - Acido nitrico - Solfati - Nitrati - Perossidi - Aldeidi - Chetoni - Radicali instabili

Lo smog fotochimico è anche detto smog ossidante (tipo Los Angeles). Come già detto, esso è costituito prevalentemente da ossidi di azoto e da ozono, che da questi deriva (**Figura 1**), nonché da idrocarburi ed è peculiare delle città soleggiate e con intenso traffico veicolare. È necessaria anche una ridotta ventilazione che renda l'aria stagnante.

Figura 1 – Ciclo fotolitico degli ossidi di azoto

- NO₂ + radiazioni solari → NO + O
- O₂ + O → O₃
- O₃ + NO → NO₂ + O₂

Infine, esiste uno *smog riducente* (tipo Londra) o invernale. Questo smog è caratterizzato dalla presenza contemporanea di anidride solforosa e particolato. È presente nelle prime ore del mattino, mentre il primo è presente verso le 15, ora in cui è massimo l'irraggiamento solare. Normalmente gli inquinanti tendono ad andare verso l'alto trasportati dall'aria calda. Quando, durante l'inverno, si hanno le cosiddette gelate, accade il contrario e l'aria staziona (*inversione termica*). L'inversione termica si crea nelle città costiere con alle spalle le colline con conseguente innalzamento della temperatura nelle zone alte.

L'esposizione massiccia e concentrata nel tempo determina degli effetti acuti che richiamano l'inquinamento di Londra del 1952. In tale inverno, le condizioni meteorologiche stagnanti causarono un brusco incremento della concentrazione degli inquinanti nell'aria per parecchi giorni, il risultato fu l'aumento di più di tre volte della mortalità (circa 4000 morti in più). Le concentrazioni del biossido di zolfo raggiunsero concentrazioni di parecchie migliaia di µg/mc (**1**).

Attualmente si riscontrano più facilmente effetti a lungo termine. Questi comprendono BPCO (**2**), tumori polmonari (**3**), malattie dell'apparato cardiovascolare (**4**), etc.

Inquinanti di maggiore interesse: ozono, particolato, biossido d'azoto

Attualmente la concentrazione di biossido di zolfo è fortemente diminuita, cosicché l'attenzione si è spostata sull'ozono, il biossido d'azoto e il particolato.

Uno dei principali agenti ossidanti dell'inquinamento è rappresentato dall'ozono (**5**). Esso è un forte agente ossidante che si forma nella troposfera. Le concentrazioni nei centri cittadini tendono ad essere più basse di quelle riscontrabili nei sobborghi, principalmente come risultato dello scavenging dell'ozono da parte dell'ossido nitrico che si origina nel traffico.

La principale fonte di emissioni antropogeniche di **ossidi nitrosi** nell'atmosfera è la combustione fossile da fonti fisse (riscaldamento, produzione di energia) e veicolare (6). In condizioni ambiente, l'ossido nitrico è rapidamente trasformato in biossido d'azoto da ossidanti atmosferici come l'ozono.

L'inquinamento da particolato è una miscela di particelle solide, liquide o solide e liquide sospese nell'aria (7). È noto come l'apparato respiratorio disponga di filtri che si oppongono alla penetrazione di sostanze e particelle esogene. In termini pratici si distingue tra PM_{10} (particelle toraciche di diametro inferiore a 10 μm , che possono penetrare nelle basse vie respiratorie), $PM_{2.5}$ (particelle respirabili più piccole di 2.5 μm che possono penetrare nella regione polmonare in cui avvengono gli scambi gassosi), e particelle ultrafini più piccole di 100 nm che contribuiscono in poca misura alla massa del particolato, ma che sono abbondanti in termini numerici e offrono un'ampia superficie di contatto, che aumenta la penetrazione polmonare.

FUMO DI TABACCO

Il fumo del tabacco è una miscela gassosa contenente minute particelle liquide e solide in sospensione e può quindi essere definito un aerosol concentrato, nel quale si trova disperso materiale corpuscolato di piccolissime dimensioni, composto da una fase gas e una fase tar. Dalla grandezza delle particelle e dalla forza d'aspirazione del fumo dipende la deposizione delle particelle stesse: quelle di dimensioni più piccole penetrano profondamente nell'albero respiratorio fino ai bronchioli e agli alveoli, mentre quelle più grandi si fermano nelle prime vie respiratorie. Il fumo di tabacco viene definito come **l'aerosol ideale** in quanto gran parte della componente corpuscolata ha un diametro medio tale da raggiungere le medie e piccole vie respiratorie.

La composizione chimica del fumo del tabacco è complessa e variabile e dipende dalla qualità del tabacco, dalle lavorazioni cui è stato sottoposto e dal modo in cui viene fumato. Sono stati isolati circa 12.000 composti di cui circa 3.800 sono stati identificati. I principa-

li composti sono: l'ossido di carbonio, l'acido cianidrico, gli ossidi d'azoto, le aldeidi, i fenoli, gli alcaloidi (come la nicotina), l'arsenico, gli elementi radioattivi, gli idrocarburi aromatici policiclici.

I componenti del fumo di tabacco non sono tutti preesistenti nelle foglie di tabacco, ma per la massima parte si formano durante la combustione alla temperature che variano dai 600 agli 850 gradi, da altri composti presenti nelle foglie e che sono detti precursori.

La composizione chimica del fumo perciò dipende sostanzialmente da due ordini di fattori: la composizione chimica delle foglie del tabacco e le condizioni della combustione. Entrambi questi elementi sono a loro volta condizionati da molteplici altri fattori.

Per quanto concerne la composizione chimica delle foglie sono da tenere in particolare considerazione la selezione dei tabacchi e i metodi di coltivazione, i disinfettanti utilizzati, i processi di cura e di concia, l'aggiunta di sostanze a scopo umettante od aromatizzante.

Per quanto riguarda le condizioni della combustione, particolare importanza rivestono la temperatura di combustione, la forza e la durata dell'aspirazione (che condizionano l'ossigenazione della combustione e indirettamente anche la lunghezza della sigaretta e del mozzicone, la presenza o meno del filtro e il tipo di filtro che ha una notevole importanza nel trattenere una parte dei costituenti del fumo.

Anche nel fumo che si disperde nell'aria dell'ambiente nel periodo in cui il fumatore non aspira la sigaretta, e che va a costituire il fumo passivo, si trovano gli stessi composti che sono contenuti nel fumo aspirato. Anzi si può affermare che per quanto riguarda la nicotina e il catrame totale (catrame è tutto ciò che si deposita facendo raffreddare il fumo o disciogliendolo in adatti solventi e facendo poi evaporare il solvente) i valori presenti nel fumo che va nell'ambiente sono doppi o addirittura quadrupli di quelli presenti nel fumo aspirato; anche l'ossido di carbonio e gli altri gas sono presenti nel fumo dell'ambiente in quantità elevate. Si può pertanto affermare che respirando l'aria contaminata

dal fumo di tabacco, anche il non fumatore può assumere i componenti del fumo in quantità notevoli, anche se non pari a quelle introdotte dal fumatore, che naturalmente assomma alle sostanze inalate col fumo aspirato anche quelle assunte con il fumo respirato.

Il fumo di sigaretta contiene abbondanti quantità di radicali liberi dell'ossigeno, perossidi e perossinitriti, tutte molecole ossidanti (8), sia in forma gassosa che particolata. Si stima che la quantità di radicali introdotta sia nell'ordine di 10^{13} - 10^{18} radicali/sigaretta fumata (9).

Si possono distinguere due differenti gruppi di radicali liberi del fumo: radicali a lunga emivita presenti nella fase corpuscolata (fase tar) e radicali a breve emivita della fase aeriforme (fase gas). Il principale radicale della "fase tar" è costituito dal complesso chinone-idrochinone, un sistema redox molto attivo ed in grado di ridurre l'ossigeno molecolare a radicale superossido e quindi a perossido di idrogeno e a radicale idrossilico (10). Il ciclo può essere sostenuto da equivalenti riducenti biologici (ascorbato, NAD(P)H e glutatone) che riducono le sostanze chinonoidi ossidate ai loro stati ridotti, rendendole capaci di riprodurre il radicale superossido. La fase acquosa del condensato del fumo di sigaretta può essere sottoposto al ciclo redox per un periodo di tempo considerevole nel fluido di rivestimento epiteliale dei fumatori. La fase tar è anche un efficace chelante metallico in cui il ferro viene chelato per produrre tar-semichinone+tar- Fe^{2+} , che può generare continuamente perossido di idrogeno.

La "fase gas" del fumo di sigaretta contiene alte concentrazioni di ossidanti/radicali liberi ($>10^{15}$ molecole per puff) (11), come piccoli radicali alchilici e alcossilici, dotati di una reattività di gran lunga superiore ai radicali della fase corpuscolata, O_2^- ed ossido nitrico. L'ossido nitrico e l' O_2^- reagiscono immediatamente a formare la molecola altamente reattiva del perossinitrito.

Il fumo di sigaretta **sidestream** contiene più di 10^{17} composti organici reattivi per puff, come monossido di carbonio, nicotina, ammoniaca, formaldeide, acetaldeide, crotonaldeide, acroleina, N-nitrosamine, benzo(a)pirene, benzene, iso-

prene, etano, pentano e altri composti organici genotossici e cancerogeni. Sono state anche calcolate le concentrazioni di questi composti reattivi presenti nel fluido di rivestimento epiteliale dopo inalazione di fumo di sigaretta [12].

RUOLO DEI RADICALI LIBERI NELLA PATOLOGIA UMANA

La vita dei radicali liberi è molto breve e si svolge nelle immediate vicinanze della sede di produzione. Tuttavia, se non sono subito neutralizzati da un accettore fisiologico, i radicali attaccano i diversi costituenti endocellulari entro un raggio d'azione variabile a seconda del tipo di radicale stesso [46]. I radicali liberi esplicano la loro attività tossica solo quando sono prodotti con una velocità o in una quantità tale da non poter essere inattivati dai sistemi di difesa della cellula. In questo caso sono in grado di reagire con tutti i costituenti della cellula e della matrice cellulare, determinando un condizione chiamata "stress ossidativo". Tutte le classi di molecole biologiche sono potenziali "targets" per l'attacco dei radicali liberi. Particolarmente dannosa è l'azione sul DNA che va incontro a scissione delle catene polinucleotidiche con eventuale formazione di ponti che possono provocare fenomeni di mutazione, carcinogenesi o morte cellulare [44].

Altra importante azione di ossidoriduzione i radicali liberi la esercitano nella genesi dell'enfisema polmonare. Infatti l'esposizione a sostanze ossidoriducanti, come quelle presenti nel fumo di sigaretta, determina una ossidazione del sito 358-metionina della molecola dell'alfa-1 antitripsina che viene inattivata, con conseguente squilibrio del sistema di difesa antielastasi polmonare [45]. L'alfa-1 antitripsina è il principale rappresentante di un sistema di difesa antiproteasico. La detossificazione dei composti reattivi dell'ossigeno è uno dei prerequisiti della vita in condizioni aerobiche costituendo un importante sistema di difesa antiossidante di prevenzione, intercettazione e riparazione, che comprende agenti non enzimatici, noti come antiossidanti (*tocoferoli, antiproteasi, β-carotene, acido ascorbico, ubiquinol, bilirubina, acido urico*, etc.) ed enzimatici (superossido-dismutasi, glutatione perossidasi e catalasi) [42].

OSSIDANTI ENDOGENI E DANNO TISSUTALE

È noto come il processo di fagocitosi dei leucociti polimorfonucleati sia associato alla formazione di perossido di idrogeno [13]; quest'ultimo è il risultato di una reazione a due stadi: in un primo momento si forma anione superossido (O_2^-), a partire da ossigeno molecolare utilizzando NADPH come donatore di equivalenti riducenti. Da due molecole di anione superossido, in presenza di protoni, si forma ossigeno molecolare e perossido di idrogeno; quest'ultimo, a sua volta, può essere trasformato in radicale ossidrilico ($-OH$). Il perossido di idrogeno, rappresenta il substrato per la reazione della mieloperossidasi; quest'ultimo enzima, presente nei granuli dei polimorfonucleati e liberato in seguito a stimolazione cellulare, riveste una notevole importanza per l'attività battericida dei leucociti.

Radicali liberi possono anche essere generati a partire dagli idroperossidi (PGG₂, 5-, 12- e 15-HPETE) che rappresentano il prodotto primario di ossigenazione dell'acido arachidonico ad opera della cicloossigenasi e di varie lipossigenasi. L'auto-inattivazione della cicloossigenasi e della lipossigenasi viene comunemente attribuita alla produzione di tali specie ossidanti [14].

Il danno indotto dall'anione superossido e dai suoi derivati ai costituenti extracellulari del tessuto connettivo può essere considerato il più significativo danno tissutale di tutto il processo infiammatorio. Esso infatti è in grado di depolimerizzare l'acido ialuronico [15] e di frammentare proteoglicani e collagene [16]. Ossida proteine, lipidi, basi del DNA, enzimi del metabolismo intermedio. Inoltre l' α_1 -antitripsina viene rapidamente inattivata mediante ossidazione di un residuo di metionina [17], il che, associato ad un'attivazione dell'elastasi, espone i tessuti all'attività non controllata di questo enzima.

L' H_2O_2 è una molecola dotata di stabilità maggiore rispetto alle altre specie reattive dell'ossigeno. Rispetto agli altri ROS si è visto che causa specificamente un danno al DNA attraverso un meccanismo ferro e rame dipendente [18], questi ultimi ioni metallici sono indispensabili per la produzione di ROS dannosi.

In base all'entità dello stress ossidante, le cellule possono andare incontro a necrosi o apoptosi. A livello delle cellule endoteliali ed epiteliali, il danno da ossidanti può deteriorare anche la funzione di barriera alle macromolecole. Infine l' H_2O_2 e l' O_2 possono causare la produzione di potenti chemotassine o aumentare l'adesione dei leucociti all'endotelio attraverso l'attivazione della trascrizione genica delle integrine mediata dal fattore nucleare (NF)-κB. Nei fumatori, quindi la produzione localizzata di ossidanti può dar origine ad una cascata che propaga la risposta infiammatoria e culmina nella distruzione del tessuto e nel malfunzionamento d'organo che accompagna la BPCO. Numerosi studi suggeriscono che i fagociti dei fumatori producano, in certe condizioni, quantità maggiori di specie reattive dell'ossigeno. Sia i macrofagi alveolari che i PMN del sangue periferico dei fumatori rilasciano più O_2 di quelli dei non fumatori. È stata riscontrata una correlazione tra quest'ultimo fenomeno e l'iperreattività bronchiale dei pazienti con BPCO [19]; tale rilascio è aumentato nelle riacutizzazioni della BPCO.

Diversi mediatori dell'infiammazione come citochine, radicali liberi dell'ossigeno e dell'azoto sono capaci di indurre l'emeossigenasi-1, che catalizza la degradazione dell'eme a biliverdina (e poi bilirubina) e monossido di carbonio. La bilirubina è un antiossidante. L'emeossigenasi-1 viene quindi vista come una protezione del danno cellulare ossidanti-mediato. Anche la iNOS (ossido nitrico sintetasi inducibile) è un enzima contenente eme e può essere indotto dagli stessi stimoli ossidativi.

La perossidazione lipidica è una fase importante del fenomeno dello stress ossidativo. Gli isoprostani e gli isoeicosanoidi sono composti simili alle prostaglandine prodotte dall'azione dei radicali liberi su di esse, indipendentemente dalla cicloossigenasi. Questi composti si formano in situ sui fosfolipidi di membrana, da cui sono clivati, presumibilmente dalla fosfolipasi A₂ [20]. Gli isoprostani F₂ sono la serie più studiata. Almeno due isoprostani (8-epi-prostaglandina F_{2α} e 8-epi-prostaglandina E₂) hanno una potente attività biologica.

L'8-isoprostanone è un potente vasocostrittore a livello renale e dell'arteria polmonare negli animali [21]. Causa anche

Antiossidanti non-enzimatici	Antiossidanti enzimatici
Vitamina C	Superossido dismutasi
Vitamina E	Catalasi
Gas rari	Glutazione perossidasi
β -carotene	Eme ossigenasi-1
Acido urico	Tioredoossine
Glutazione	Perossiredossine
L-glutamyl-L-cisteinil-L-glicina	Glutaredossine

I principali enzimi antiossidanti dei polmoni, le loro localizzazioni e funzioni sono indicate nella seguente Tabella.

Enzima	Localizzazione polmonare	Funzione
Cu,Zn superossido dismutasi	Bronchiale, epitelio alveolare, macrofagi, fibroblasti, pneumociti	Elimina O_2
Superossido dismutasi extracellulare	Epitelio bronchiale, macrofagi, neutrofili, pareti vasali, pneumociti	Elimina O_2
Mn superossido dismutasi	Epitelio bronchiale, macrofagi, neutrofili, pareti vasali, pneumociti	Elimina O_2
Catalasi	Macrofagi, fibroblasti, pneumociti	Da perossido d'idrogeno ad acqua
Glutazione perossidasi	Cellule di lavaggio, epitelio, macrofagi, altre cellule polmonari	Da idroperossidi organici a idrossidi organici
Eme ossigenasi-1	Alveolare, epitelio bronchiale, macrofagi, cellule infiammatorie polmonari	Da eme a monossido di carbonio, biliverdina
Perossiredossina	Alveolare, epitelio bronchiale, macrofagi	Antiossidante, meccanismi del segnale, eliminazione perossido d'idrogeno
Tioredoossina	Epitelio bronchiale, macrofagi	Modulazione trascrizionale, scambio tiolo-ditiolo Da Prot-S-S-Prot a Prot-SH
Glutaredossina	Alveolare, epitelio bronchiale, macrofagi	Da Prot-S-S-Prot a Prot-SH
Subunità catalitica della glutammato Cisteina ligasi	Alveolare, epitelio bronchiale, macrofagi	Sintesi di glutazione

broncocostrizione nei ratti e contrazione della muscolatura liscia bronchiale umana in vitro [22]. Gli isoprostani hanno importanti attività in vitro che possono essere rilevanti nella fisiopatologia dell'aterosclerosi [23]. Gli 8-isoprostani modulano l'attività piastrinica e inducono la mitogenesi nelle cellule muscolari lisce vasali. Un altro isoprostano 12-epi-prostaglandina $F_2\alpha$ stimola la risposta proliferativa nei fibroblasti. Il meccanismo di azione degli isoprostani non è chiaro. Si pensava inizialmente che interagissero con i recettori dei trombociti. Prove farmacologiche dimostrano che questi

composti si comportano come agonisti del recettore dei trombociti nella muscolatura renale e delle arterie carotidi, ma come agonisti parziali o antagonisti nelle piastrine [24].

Infine, si è visto che le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono essenziali per la trasduzione del segnale intracellulare e sono implicate in molte funzioni intracellulari che includono l'attivazione della proteinkinasi attivata dai mitogeni (MAP), l'espressione della ciclossigenasi 2, l'attivazione della proteinkinasi C, la fosforilazione della tiroxina e il rilascio di istamina [25].

DIFESE POLMONARI ANTIOSSIDANTI

Gli antiossidanti rappresentano il principale meccanismo di difesa in vivo e in situ delle cellule contro lo stress ossidativo. Si conoscono due classi di antiossidanti (Tabella 3): antiossidanti non-enzimatici come vitamina E, C, β -carotene, glutazione e antiossidanti enzimatici come il sistema redox del glutazione che comprende glutammato cistein ligasi, glutazione reduttasi, glutazione perossidasi, glucosio-6-fosfato deidrogenasi ed inoltre superossido dismutasi, catalasi, eme ossigenasi-1, perossiredossine, tioredossine e glutaredossine. Le due classi di antiossidanti spesso lavorano in tandem.

I polmoni e diverse cellule infiammatorie mostrano diversi profili antiossidanti. In base allo stato degli antiossidanti in una particolare regione e il loro peso specifico può iniziare uno specifico processo patologico. Tutte le principali varietà di malattie infiammatorie come asma, BPCO, fibrosi polmonare idiopatica, ARDS, interstiziopatie e displasie broncopulmonari condividono la caratteristica comune di un alterato rapporto ossidanti/antiossidanti.

FARMACI ANTIOSSIDANTI N-Acetilcisteina

La N-acetil-L-cisteina (NAC) è una sostanza dotata di azione mucolitico-fluidificante sulle secrezioni depolimerizzando i complessi mucoproteici e gli acidi nucleici. Tuttavia, la NAC possiede anche proprietà antiossidanti dirette ed indirette. È indicata infatti come trattamento antidotico nell'intossicazione da paracetamolo e nell'uropatia da iso- o ciclofosfamide. Il gruppo tiolico libero è capace di interagire con gruppi elettrofili dei ROS. [26,27]. Inoltre ha un effetto antiossidante indiretto in quanto implicata nel metabolismo del glutathione (GSH). Il GSH è un tripeptide formato da acido glutammico, cisteina e glicina. Protegge contro agenti tossici endogeni (respirazione cellulare aerobica e metabolismo dei fagociti) ed esogeni (NO, ossido solforico e altri componenti del fumo di tabacco e dell'inquinamento). Il gruppo sulfidrilico della cisteina neutralizza questi agenti. Il GSH si forma principalmente nel fegato e nei polmoni. La NAC agisce come precursore del GSH dato che penetra facilmente nelle cellule ed è in seguito deacetilata a formare cisteina. I livelli cellulari di acido

glutammico e glicina sono elevati, per cui è la cisteina a rappresentare il fattore limitante nella sintesi del GSH. Non si può somministrare direttamente la L-cisteina a causa del basso assorbimento intestinale, la scarsa idrosolubilità ed il rapido metabolismo epatico. Alcune delle attività antiossidanti della NAC sono state studiate in polmoni di topo. È stato visto che essa ripristina i livelli di GSH ridotti dal fumo di sigaretta, attenua il danno da perossido d'idrogeno delle cellule epiteliali [28] e riduce l'attivazione dell'NF- κ B in alcune cellule [29].

È noto come i pazienti BPCO spesso presentino un aumento delle alterazioni morfologiche dei globuli rossi. Il trattamento con 1200 o 1800 mg/die di NAC per 2 mesi ha migliorato la forma dei globuli rossi, ridotto le concentrazioni di H_2O_2 dal 38 al 54% ed aumentato i livelli di tioli dal 50 al 68% [30]. Nei pazienti con BPCO stabile si osservano livelli aumentati di H_2O_2 nell'esalato condensato, con un ulteriore incremento durante le riacutizzazioni [31]. Il trattamento con NAC 600 mg/die per 12 mesi ha ridotto le concentrazioni di H_2O_2 rispetto al placebo dopo 6 mesi di trattamento [32]. A dosi di 1200 mg/die la riduzione è stata osservata dopo 30 giorni, suggerendo un effetto dose-dipendente [33].

Sono stati condotti altri studi su pazienti BPCO focalizzati su outcome clinici quali il declino del FEV_1 o il numero di riacutizzazioni. Uno dei principali è rappresentato dal trial BRONCUS [34] che ha coinvolto 50 centri e reclutato 523 pazienti BPCO trattati con NAC 600 mg/die e seguiti per 3 anni. In questo studio affermano che non si sono registrate differenze, rispetto al placebo, sul declino annuo del FEV_1 , né sul numero delle riacutizzazioni. Si è avuto un effetto sull'iperinflazione dei pazienti non trattati con corticosteroidi inalatori. Resta da indagare l'efficacia di dosi superiori di NAC (1200 o 1800 mg/die). Un'ulteriore strada da percorrere è rappresentata dallo studio dell'azione della NAC sugli effetti sistemici della BPCO. Infatti, come ribadito anche nella recente definizione ERS/ATS [35], la BPCO determina conseguenze su organi extra-polmonari. Infiammazione e stress ossidativo non si limitano al polmone, ma coinvolgono l'intero organismo con ripercussioni a livello muscolare, nutrizionale, osteo-scheletrico, cardiovascolare, neurologico e quindi sulla qualità della vita del paziente. Se fossero di-

mostrati i benefici di un antiossidante sugli effetti sistemici della BPCO, questi sarebbero di maggiore importanza rispetto al miglioramento della funzionalità respiratoria.

Carbocisteina sale di lisina

Diversi studi hanno preso in considerazione le proprietà antiossidanti della carbocisteina sale di lisina (SCMC-Lys). Quest'ultimo è un farmaco mucoattivo la cui efficacia terapeutica è comunemente attribuita alla capacità di normalizzare le caratteristiche reologiche del muco incrementando le sialomucine rispetto alle fucomucine. Tuttavia essa avrebbe anche effetti antiossidanti quale scavenger di radicali liberi.

In questa molecola l'atomo di zolfo non è di natura tiolica, ma è impegnato in un legame tioetereo che non lo rende disponibile per l'equilibrio tiolo-disolfuro (vedi coppia glutatione-glutatione ridotto). D'altra parte anche i tioeteri presentano notevole reattività nei confronti degli ossidanti, generando solfossidi e solfuri. Uno studio [36] ha evidenziato il ruolo antiossidante dei residui di metionina (un tioetere come la carbocisteina). Inoltre, è stato dimostrato l'effetto antiossidante della carbocisteina nei confronti dell'acido ipocloroso [37], quest'ultimo capace direttamente di ossidare i residui di metionina presenti nell' α 1-antitripsina, inattivando così il principale meccanismo di regolazione dell'elastasi. Analoga azione di scavenger verrebbe esercitata sul radicale idrossilico, come dimostrato, in seguito al trattamento con SCMC-Lys, dalla riduzione di IL-8 [38], citochina chemiotattica la cui sintesi sarebbe mediata dal radicale idrossilico. La carbocisteina si è dimostrata inoltre in grado di proteggere la funzione mucociliare dal danno provocato dall'azione ossidoriducibile dell'ozono [39]. Come già detto in precedenza, l'ozono, come molte altre sostanze ad azione ossido-riducibile, è responsabile del danno che si estrinseca a carico di molte componenti dell'apparato respiratorio determinando alterazioni morfologiche e funzionali fra cui modificazioni della clearance-mucociliare. Un recente studio ha inoltre evidenziato che SCMC-Lys è in grado di stimolare la secrezione di glutatione ridotto, uno dei principali agenti antiossidanti endogeni in linee cellulari di epitelio respiratorio. Infine, è noto come nell'esalato condensato di pazienti con BPCO si riscontrino concentrazioni au-

mentate di 8-isoprostano e interleuchina-6.

A conferma degli studi sperimentali, uno studio clinico condotto su 40 soggetti con BPCO riacutizzata, di cui 15 trattati con SCMC-Lys 2,7 g/die per via orale per 6 mesi, ha dimostrato una marcata riduzione dello 8-isoprostano, un marcatore dello stress ossidativo, e della interleuchina 6 (IL-6), un marcatore dell'infiammazione, nell'esalato condensato dei pazienti trattati con SCMC-Lys, rispetto ai livelli riscontrati al momento della riacutizzazione ed ai controlli non trattati. In questo studio è stata anche evidenziata una correlazione tra i livelli di 8-isoprostano e IL-6 [40]. Questo è il primo studio clinico che ha messo in evidenza le proprietà non solo mucoregolatrici, ma anche antiossidanti della SCMC-Lys. Dato il riconosciuto ruolo oncogenetico dei ROS contenuti nel fumo di tabacco [41] queste osservazioni sul ruolo antiossidante, oltre che mucoregolatore ed antinfiammatorio, della SCMC-Lys rivestono una particolare importanza nell'ottica di una possibile prevenzione della BPCO e del cancro del polmone nei soggetti fumatori ed ex-fumatori [42].

CONCLUSIONI

Inquinamento atmosferico e fumo di tabacco rappresentano le principali fonti di ossidanti esogeni. Questi, insieme alle fonti ossidative endogene, possono essere responsabili di danni a livello broncopolmonare. In questo contesto si impongono due sostanze farmacologiche con proprietà mucolitiche ed antiossidanti con possibili interessanti effetti protettivi. Una volta dimostrati gli effetti antiossidanti di tali molecole in vitro o su variabili biologiche, la sfida per il futuro sarà dimostrarne l'efficacia sulla storia naturale della malattia e i loro effetti sistemici nell'ottica del miglioramento della qualità della vita del paziente. Lo studio di Scala e coll. dimostra che una concentrazione di SCMC-Lys uguale a 10^{-4} M permette il recupero del 77% dell'attività antielastica. Questi dati risultano particolarmente interessanti se confrontati con l'attività di NAC. Se l'attività protettiva di NAC e SCMC-Lys alle concentrazioni più elevate (10^{-4} M) sembra paragonabile, l'effetto antiossidante di SCMC-Lys risulta più marcato alle dosi più basse: alla concentrazione di farmaco di $2,5 \times 10^{-5}$ M, il recupero di attività antielastica è pari al 67% per SCMC-Lys ed è descritto essere del 45% per NAC. ■

Bibliografia

- Ministry of Health. Mortality and morbidity during the London fog of December 1952. Reports on Public Health and Medical Subjects No 95. London: HMSO, 1954.
- Sunyer J. Urban air pollution and chronic obstructive pulmonary disease: a review. *Eur Respir J* 2001; 17:1024-33.
- Pope CA 3rd, Burnett RT, Thun MJ, et al. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA* 2002; 287: 1132-41.
- Dockery DW. Epidemiologic evidence of cardiovascular effects of particulate air pollution. *Environ Health Perspect* 2001; 109 (suppl 4):483-86.
- Thurston GD, Ito K. Epidemiological studies of acute ozone exposure and mortality. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 2001; 11: 286-94.
- Twigg MV. Controlling automotive exhaust emissions: successes and underlying science. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.* 2005 Apr 15;363(1829):1013-33.
- Nyberg BF, Pershagen G. Epidemiologic studies on the health effects of ambient particulate air pollution. *Scand J Work Environ J Health* 2000; 26 (suppl 1): 49-89.
- Pryor WA. Biological aspects of cigarette smoke, wood smoke, and the smoke from plastics: the use of electron spin resonance. *Free Radic Biol Med* 1992; 13: 659-676.
- Zagà V, Gattavecchia E. Radicali liberi e fumo di sigaretta. *Giorn. It. Mal. Tor.* 2002; 56, 5: 375-391.
- Nakayama T, Church DF, Pryor WA. Quantitative analysis of the hydrogen peroxide formed in aqueous cigarette tar extracts. *Free Radic. Biol. Med.* 1989; 7:9-15.
- Church DF, Pryor WA: Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ. Health Perspect.* 1985; 64: 111-126.
- Eiserich JP, van der Vliet A, Handelman GJ, Halliwell B, Cross CE. Dietary antioxidants and cigarette smoke-induced biomolecular damage: a complex interaction. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:1490S-1500S.
- Iyer G.Y.N. et al.: Biochemical aspects of phagocytosis. *Nature (London)* 1961; 192:535-537.
- Egan R.W. et al.: Mechanism for irreversible selfdeactivation of prostaglandin synthetase. *J.Biol.Chem.* 1976; 251:7329-7336.
- Mc Cord J.M.: Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science* 1974; 185:529-531.
- Greenwald R.A. et al.: Degradation of cartilage proteoglycans and collagen by superoxide radical. *Arthritis Rheum* 1976; 9: 799-806.
- Brot N. e Weissbach H.: The biochemistry of methionine sulfoxide residues in proteins. *Trends Biochem. Sci.* 1982; 7: 137-140.
- Jornot L, Petersen H, Junod AF. Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. *Biochem J* 1998; 335: 85-94.
- Postma DS, Renkema TEJ, Noordhoek JA, Faber H, Sluiter HJ, Kauffman H. Association between nonspecific bronchial hyperreactivity and superoxide anion production by polymorphonuclear leukocytes in chronic airflow obstruction. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 57-61.
- Morrow JD, Awad JA, Boss HJ, Blair IA, Roberts LK. Non-cyclooxygenase derived prostanoids (F2-isoprostanes) are formed in situ on phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10721-10725.
- Bannerjee M, Kang HK, Morrow JD, Roberts LJ, Newman JH. Effects of a novel prostaglandin, 8-epi-F_{2a}, in rabbit lung in situ. *Am J Physiol* 1992; 263: H660-H663.
- Kawikowa I, Barnes PJ, Takahashi T, Tadjikarmi S, Yacoub MH, Belvisi MG. 8-epi-F_{2a} novel noncyclooxygenase-derived prostaglandin, constricts airways in vitro. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 590-596.
- Patrino C, FitzGerald GA. Isoprostanes: potential markers of oxidant stress in atherothrombotic disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2309-2315.
- Morrow JD, Minton TA, Roberts LJ. The F2-isoprostane, 8-epi-prostaglandin F_{2a}, potent agonist of the vascular thromboxane/endoperoxide receptor, is a platelet receptor antagonists. *Prostaglandins* 1992; 44: 155-163.
- Giannella E, Pistelli A, Palmerani B, Gambassi F, Mannaioni PE. Histamine release by free radicals: relationship with the signal transduction system. *Agents Actions* 1989; 27: 131-140.
- Moldeus P, Cotgreave IA, Berggren M. Lung protection by a thiol-containing antioxidant: N-acetylcysteine. *Respiration* 1986; 50: 31-42.
- Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989; 6: 593-597.
- Cotgreave IA, Moldeus P. Lung protection by thiol containing antioxidants. *Bull Eur Physiol Pathol Respir* 1987; 23: 275-277.
- Schreck R, Albermann K, Baeuerle PA. Nuclear factor κ B: an oxidative stress-responsive transcription factor of eukaryotic cells (a review). *Free Radic Res Commun* 1992; 17: 221-237.
- Schmid G, Li Bianchi E, Straface E, et al. N-acetylcysteine (NAC) counteracts erythrocyte damage and is useful in the management of COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: A227.
- Dekhuijzen PNR, Aben KKH, Dekker I, et al. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 813-816.
- Kasielski M, Nowak D. Long-term administration of N-acetylcysteine decreases hydrogen peroxide exhalation in subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2001; 95: 448-456.
- De Benedetto F, Aceto A, Formisano S, et al. Long-term treatment with N-acetylcysteine (NAC) decreases hydrogen peroxide level in exhaled air of patients with moderate COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: A725.
- Decramer M, et al. Effects of N-acetylcysteine on outcomes in chronic obstructive pulmonary disease (Bronchitis Randomized on NAC Cost-Utility Study, BRONCUS): a randomised placebo controlled trial. *Lancet* 2005; 365: 1552-60.
- Celli BR, MacNee W, and committee members. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J* 2004; 23: 932-946.
- Vogt W. Oxidation of Methionyl residues in proteins: tools, targets and reversal. *Free Radical Biology and Medicine* 1995; 18 (1): 93-105.
- Scala A, Allegretti M. Carbocisteina sale di lisina (SCMC-Lys): azione antiossidante in vitro nei confronti dell'acido ipocloroso (HClO) e mantenimento dell'equilibrio elastasi-antielastasi. *Giorn. It. Mal. Tor.* 54, Supp. 3, 2000.
- Brandolini L, Allegretti M, Berdini V, Cervellera MN, Mascagni P, Rinaldi M, Melillo G, Ghezzi P, Mengozzi M, Bertini R. Carbocysteine lysine salt monohydrate (SCMC-LYS) is a selective scavenger of reactive oxygen intermediates (ROIs). *Eur Cytokine Netw.* 2003 Jan-Mar; 14(1): 20-6.
- Rampoldi C, Caminiti G, Centanni S, Noave-ro NE, Abraham WM, Allegra L. Contributo personale sulla protezione da esposizione all'ozono da parte della Carbocisteina (SCMC). *Giorn. It. Mal. Tor.* 2000; 54, Supp. 3.
- Carpagnano GE, Resta O, Foschino-Barbaro MP, Spanevello A, Stefano A, Di Gioia G, Serviddio G, Gramiccioni E. Exhaled Interleukine-6 and 8-isoprostane in chronic obstructive pulmonary disease: effect of carbocysteine lysine salt monohydrate (SCMC-Lys). *Eur J Pharmacol.* 2004 Nov 28;505(1-3):169-75.
- Zagà V, Mura M, Fabbri M. Ruolo oncogenetico dei radicali liberi nel fumo di tabacco. *Tabaccologia* 2003; 2:27-32.
- Mura M. Mucolitici e mucoregolatori nel trattamento della broncopneumopatia cronica ostruttiva. *Tabaccologia* 2005; 2: 27-30.



Fumo di tabacco e stress ossidativo respiratorio

Tobacco smoke and respiratory oxidative stress

Enrico M. Melillo, Gaetano Melillo

Riassunto

Il fumo di sigaretta è uno dei più potenti ossidanti. Esso rappresenta la causa più importante nello sviluppo della BPCO. L'azione è diretta, attraverso gli ossidanti in esso contenuti, ed indiretta, attraverso l'attivazione delle cellule epiteliali e dei macrofagi residenti nei bronchi, nonché delle cellule reclutate (neutrofili, monociti, linfociti ed eosinofili). Molteplici sono i danni provocati dal fumo: danno epiteliale, effetti sull'equilibrio proteasi-antiproteasi, danni a livello del DNA, riduzione della capacità antiossidante del plasma, riduzione della capacità di inibizione dell'elastasi nei soggetti con deficit di alfa1 antitripsina. La possibilità di misurare i markers biologici dello stress ossidativo (H_2O_2 , sostanze reattive dell'acido tiobarbiturico-TBARs, F2-isoprostanone) in maniera non invasiva nel condensato espiratorio ha permesso un progressivo ampliamento delle ricerche in campo di stress ossidativo. La sospensione del fumo, pur non eliminandola, riduce la componente infiammatoria e produce diminuzione o arresto del declino della funzione respiratoria.

Parole chiave: stress ossidativo, specie reattive dell' O_2 (ROS), markers biologici, BPCO, danno ossidativo, condensato espiratorio

Summary

Cigarette smoke is a very powerful oxidant. It has been shown to play a key role in the development of COPD. It acts directly through oxidant components of smoke or activation of epithelial resident cells and macrophages, as well of recruited cells (neutrophils, lymphocytes, eosinophils). Several damages may be due to smoke: epithelial damage, effects on the proteinase-anti-proteinase balance, DNA damage, plasma antioxidant depletion, decreased ability to inhibit elastasis in patients with alfa1-antitrypsin deficit. Measurement of biological markers of oxidative stress (H_2O_2 , thiobarbituric acid reactive substances-TBARs, F2-isoprostanone) in expiratory breath condensate by a non invasive method has recently allowed to increase studies in the field of oxidative stress. Smoking cessation, although not removing it, reduces the inflammatory component and decreases or even stops the progressive decline of pulmonary function.

Keywords: oxidative stress, reactive oxygen species (ROS), biological markers, COPD, oxidative damage, expiratory breath condensate.

INTRODUZIONE

Per stress ossidativo si intende un'aumentata esposizione ad ossidanti e/o diminuita capacità antiossidante con esito in squilibrio tra ossidanti ed antiossidanti. Gli ossidanti generalmente indicati come "specie reattive dell'ossigeno" (ROS, reactive oxygen species) o metaboliti reattivi dell'ossigeno (ROM) comprendono i radicali liberi quali il radicale superossido (O_2^-), che si forma dall' O_2 molecolare per perdita di un elettrone, ed il radicale idrossile ($O\cdot H$), più altri derivati non-radicali dell' O_2 quali il perossido di idrogeno (H_2O_2) e l'acido ipocloroso (HOCl). Le specie reattive dell' O_2 sono implicate nella patogenesi di svariate malattie (cardio- e vasculopatie, neu-

ropatie, diabete, epatopatie, virosi, artrite reumatoide, pneumopatie, etc.). Molti tessuti sono esposti al danno ossidativo, ma, per ragioni anatomico-funzionali, la superficie epiteliale del polmone risulta particolarmente a rischio (1).

Lo stress ossidativo è stato evidenziato nella broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), nella fibrosi cistica, nell'asma, nella fibrosi polmonare idiopatica, in alcune broncopneumopatie professionali, nella sindrome da distress respiratorio dell'adulto. Data la nota correlazione tra fumo di tabacco e BPCO, faremo riferimento nella presente rassegna a tale patologia, che risulta peraltro la più studiata per quanto riguarda il ruolo dello stress ossidativo.

FUMO DI TABACCO E BPCO

Il fumo di sigaretta è la causa di maggior rilievo nello sviluppo della BPCO (2). Altre possibili cause possono agire come fattori di rischio indipendente, ma la loro importanza è minima se paragonata a quella del fumo. Solo nell'1% dei casi di BPCO si rileva un fattore di rischio di importanza paragonabile, che è il deficit di alfa1-antitripsina (3). Il fumo di tabacco interviene in modo determinante anche nella storia naturale della BPCO. La diminuzione di funzione polmonare con l'età, in soggetti normali ed in fumatori, è riportata in Fig. 1.

I soggetti normali non fumatori perdono fisiologicamente tra i 25 ed i 35 ml di VEMS (o FEV1) all'anno. Tale percentuale di perdita è decisamente più elevata

Enrico M. Melillo, Gaetano Melillo

Unità Operativa di Pneumologia e Riabilitazione Respiratoria - Fondazione S. Maugeri, IRCCS - Clinica del Lavoro e della Riabilitazione - Istituto Scientifico di Telese (BN)

nei fumatori [4]. I pazienti con BPCO mostrano una riduzione del FEV1 di circa 90 ml/anno. Questo processo può essere arrestato ed in parte fatto regredire mediante la cessazione del fumo. Lo studio "Lung Health Study" ha evidenziato come pazienti che avevano sospeso il fumo presentassero un aumento medio del FEV1 post-broncodilatazione di 57 ml alla prima visita annuale, laddove in coloro che avevano continuato a fumare si registrava una diminuzione di 38 ml del medesimo valore [5]. Viene così confermato che la sospensione del fumo non solo arresta il progressivo declino della funzione polmonare ma può addirittura farla migliorare. Bambini esposti a fumo passivo manifestano in genere maggiore prevalenza di sintomi e malattie respiratorie rispetto ai non esposti, ed una diminuzione nel tempo della funzione polmonare come nell'adulto.

negli spazi aerei, nel respiro, nel sangue e nelle urine di fumatori.

Il fumo di sigaretta è una miscellanea complessa di oltre 4700 composti chimici, incluse alte concentrazioni di ossidanti (1014 ossidanti/puff) [7].

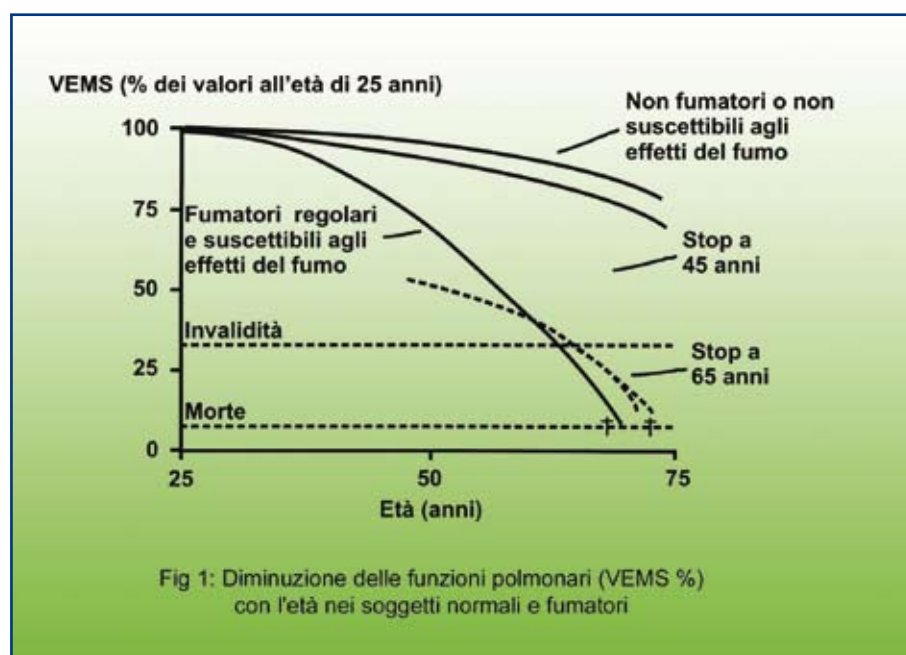
La fase gassosa del fumo di sigaretta contiene alte quantità di ossidanti a breve vita quali l' $\cdot\text{O}_2$ e l'ossido nitrico (NO). $\cdot\text{O}_2$ e NO reagiscono per formare molecole di perossinitrico altamente reattivo (ONOO-) [8]. La fase corpuscolata del fumo contiene invece radicali a lunga vita come i radicali semichinone, che possono reagire con l' $\cdot\text{O}_2$ per formare radicale idrossile ($\text{O}\cdot\text{H}$) e H_2O_2 .

Il fumo di sigaretta ha la capacità di generare H_2O_2 anche se in soluzione acquosa [9, 10]. Per quanto attiene agli ossidanti di origine endogena, un aspetto comune dell'infiammazione polmonare nelle broncopneumopatie in genere è lo sviluppo di una risposta infiammatorio-

sido di idrogeno (H_2O_2). La generazione di ossidanti a livello respiratorio può essere incrementata dalla reazione dell' O_2 in presenza di piccole quantità di ioni metallici, come il ferro libero. Questo, sotto forma ferrosa (Fe^{++}), catalizza la reazione di Fenton ($\text{Fe}^{++} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^3 + \text{OH} + \text{OH}\cdot$), dando origine al radicale idrossile ($\text{O}\cdot\text{H}$). L' H_2O_2 , se catalizzato dalla mieloperossidasi neutrofila in presenza di cloruro, forma acido ipocloroso [11, 12].

MECCANISMI DI PRODUZIONE DEGLI OSSIDANTI

Accanto al meccanismo diretto espletato dagli ossidanti contenuti nel fumo, esiste un meccanismo indiretto manifestantesi attraverso stimolazione ed attivazione delle cellule residenti (cellule epiteliali e macrofagi) e di quelle reclutate (neutrofili, linfociti, eosinofili). Per quanto riguarda le cellule reclutate è di notevole rilevanza l'influsso dei neutrofili. Il loro sequestro nei capillari polmonari dà ad essi tempo per interagire ed aderire all'endotelio capillare polmonare e, quindi, per trasmigrare attraverso la membrana alveolare capillare nell'interstizio e negli spazi aerei del polmone. È stato dimostrato che nei fumatori vi è aumento transitorio del sequestro di neutrofili nel polmone [13] in conseguenza della loro deformabilità [14]. Studi in vitro hanno dimostrato che tale aumentata deformabilità indotta dal fumo è abolita dagli antiossidanti, come il glutathione (GSH), suggerendo indirettamente una mediazione degli ossidanti nell'evento iniziale [14]. L'inalazione forzata di fumo in criceti aumenta l'adesione dei neutrofili all'endotelio di arteriole e venule [15]; tale evento si ritiene mediato dall'anione superossidodismutasi (SOD) derivato dal fumo di sigaretta, poiché esso è inibito dal pretrattamento con CuZn superossidodismutasi (SOD) [15]. Neutrofili sequestrati nel circolo polmonare di conigli in seguito ad inalazione forzata di fumo, mostrano aumentata espressione di CD18 [16]. Il sequestro di neutrofili nel microcircolo polmonare facilita l'insorgenza della chemiotassi; la nicotina è d'altronde per se stessa chemiotattica. L'esposizione al fumo, pertanto, dà luogo alla presenza di fattori chemiotattici negli spazi aerei



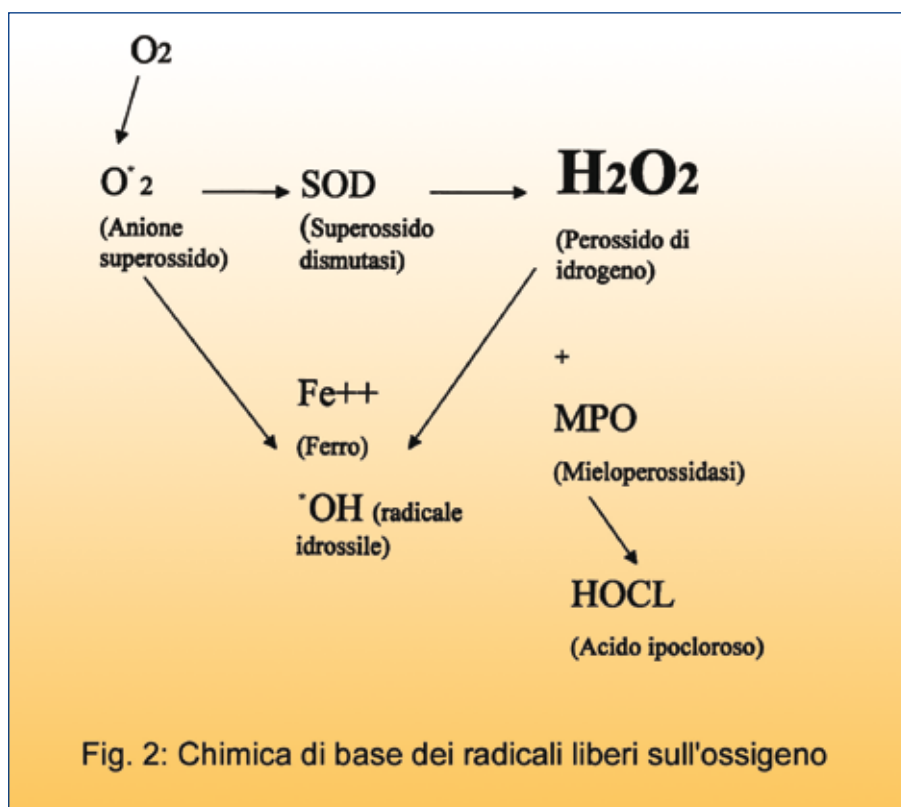
ORIGINE DEGLI OSSIDANTI

Gli ossidanti possono riconoscere origine esogena o endogena.

Tra i fattori esogeni abbiamo già annoverato come potente ossidante il fumo di sigaretta. Considerevoli evidenze sono state finora riportate in letteratura riguardo all'aumentato carico di stress ossidativo in fumatori, specie se sviluppati BPCO, basate sull'aumento dei markers biologici di stress ossidativo

immunitaria da attivazione delle cellule epiteliali e dei macrofagi residenti, nonché delle cellule reclutate (neutrofili, linfociti, eosinofili). Una volta reclutate, le cellule possono essere attivate e generare metaboliti reattivi dell' O_2 in risposta a vari stimoli, incluse le citochine. L'attivazione delle varie cellule genera anione superossido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) (Fig. 2).

Esso, sotto l'influenza della perossidodismutasi (SOD), viene convertito in peros-



(17). È stata recentemente segnalata in letteratura infiltrazione neutrofila nelle vie aeree periferiche.

L'esame della microlocalizzazione di cellule infiammatorie nelle vie aeree periferiche ha mostrato significativo aumento della quantità di neutrofili, sia in fumatori con BPCO conclamata che in fumatori con normale funzionalità polmonare (18). Studi epidemiologici hanno evidenziato una correlazione tra il numero di neutrofili circolanti ed il FEV1 (19). Altrettanto correlati si sono dimostrati il rilascio di ossidanti dai neutrofili in circolo ed i valori di limitazione del flusso aereo in giovani fumatori (20). Con riferimento alle restanti cellule infiammatorie, è stato riportato aumento di macrofagi e T-linfociti nella mucosa bronchiale di fumatori con BPCO aventi livelli di ostruzione bronchiale paragonata a soggetti normali non fumatori (21). Segni di aumentata attivazione e produzione di specie reattive dell'O₂ da parte di tali cellule sono stati osservati in fumatori (22-24). Il liquido di lavaggio bronchioloalveolare di fumatori contiene un maggior numero di macrofagi alveolari, con maggiore densità e producenti maggiori quantità di anione superossido (22-24).

In aggiunta a ciò, i macrofagi alveolari di fumatori reduci da recente infezione delle basse vie aeree rilasciano un'aumentata quantità di H₂O₂.

EFFETTI DANNOSI DEL FUMO

Il danno epiteliale delle vie aeree è una precoce ed importante conseguenza dell'esposizione al fumo, confermata dalla conseguente aumentata permeabilità dell'epitelio. Quest'ultima, susseguente alla deplezione glutationica, facilita i processi infiammatori per l'afflusso di neutrofili e macrofagi attivati, liberanti a loro volta altri ossidanti (O₂, H₂O₂). Un secondo effetto è quello esplicato sul bilancio proteasi-antiproteasi nel polmone. Questo può manifestarsi attraverso un aumentato carico di proteinasi (particolarmente elastasi neutrofila) o attraverso la menomazione funzionale dello schermo antielastastico, riguardante l'antielastasi delle vie di conduzione aerea (l'inibitore della proteina del muco bronchiale), e soprattutto l'antielastasi del tratto respiratorio inferiore (l'inibitore dell'alfa1proteinasasi che è il principale antiproteasico nelle vie aeree, alfa1PI). Componenti fondamentali della matrice polmonare (elastina, collagene) posso-

no essere direttamente danneggiate o frammentate dagli ossidanti del fumo (26). Il danno da fumo può manifestarsi inoltre a livello del DNA attraverso l'attivazione di fattori di trascrizione quali il NF-KB e l'API, regolanti i mediatori proinfiammatori e per l'espressione del gene antiossidante protettivo.

METODICHE DI MISURA DELLE SPECIE REATTIVE DELL'O₂

Per la misurazione dello stress ossidativo in campo di malattie respiratorie, più che verso le rilevazioni su siero di sangue o urine come negli anni scorsi, le ricerche si sono recentemente orientate a livello locale, con particolare attenzione al condensato espiratorio. In esso sono infatti quantificabili i principali markers biologici di stress ossidativo quali l'H₂O₂, le sostanze reattive dell'acido tiobarbiturico (TBARs) e l'8-isoprostano (27).

FUMO E ANTIOSSIDANTI

Abbiamo informazioni decisamente limitate sulle difese antiossidanti epiteliali in fumatori (28). La protezione naturale contro l'aumentata concentrazione di H₂O₂ è svolta dalla catalasi, e in ambito polmonare, dal glutathione.

L'analisi del liquido di lavaggio broncoalveolare (BAL) di fumatori con BPCO ha mostrato aumentata concentrazione di glutathione in toto (libero e legato a bisolfuro) (29). Rahman e coll. (30, 31) hanno studiato gli effetti acuti dell'instillazione endotracheale di condensato di fumo sul metabolismo del glutathione in vitro in una linea di cellule epiteliali umane ed in vivo nei polmoni di ratto, riscontrando deplezione glutationica intracellulare tempo dipendente e concomitante con la formazione di coniugati del glutathione. Altri studi hanno mostrato modificazioni variabili degli ossidanti nel BAL (32). È stato inoltre riportato che il fumo aumenta il GSH nel liquido epiteliale superficiale di fumatori cronici, ma lo riduce nell'esposizione acuta al fumo.

Una marcata deplezione sulfidrilica nel polmone è stata osservata in vitro a seguito di esposizione al fumo, il che può aiutare a spiegare la caduta delle

capacità antiossidanti nel plasma dopo il fumo. Molti investigatori hanno misurato i principali antiossidanti plasmatici (acido ascorbico, alfatocoferolo, acido urico e solfidrici) in fumatori [32, 33], dimostrando deplezione di acido ascorbico, vit. E, betacarotene e selenio nel siero di fumatori cronici.

Il liquido di lavaggio broncoalveolare di fumatori si è mostrato meno ricco in vit. E rispetto ai non fumatori [34]. Il dato netto è che la capacità antiossidante del plasma è significativamente ridotta dal fumo (ed in pazienti con riacutizzazione di BPCO) a paragone con quella di soggetti normali.

SOSPENSIONE DEL FUMO

La sospensione del fumo produce effetti sui processi infiammatori mucosali e sulla funzione polmonare. È stata infatti osservata riduzione del numero di macrofagi alveolari e dei polimorfonucleati in liquido di broncospiraggio dopo 6 mesi dalla cessazione del fumo [35, 36]. Ulteriori studi hanno evidenziato invece persistenza dei processi infiammatori nelle vie aeree periferiche pur in presenza di una migliorata funzionalità respiratoria [37].

Infiammazione persistente era poi rilevata a livello delle vie aeree centrali e periferiche in pazienti con bronchite persistente dopo cessazione del fumo [38, 39]. È quindi evidente che il fumo cronico può manifestare i suoi effetti sull'attività metabolica e sui processi mediati da fagociti polmonari per lungo tempo in ex fumatori [40]. Del tutto caratteristico è il comportamento dello stress ossidativo in ex fumatori. Concentrazioni simili di H_2O_2 sono state riscontrate in fumatori in atto ed ex fumatori [41, 42].

Il fumo è il principale fattore ambientale causante accelerato declino della funzionalità respiratoria in adulti [4, 5]. Gli effetti della cessazione del fumo sono variabili e sembrano condizionati

dall'età dei pazienti. La frequenza del declino di funzionalità respiratoria in pazienti con BPCO moderata è ridotta dalla cessazione del fumo, che potenzialmente diminuisce molte sorgenti di stress ossidativo. Dimostrativa in tal senso è l'osservazione della riduzione del numero di macrofagi alveolari e neutrofili nel liquido di lavaggio bronchiale (e del conseguente squilibrio ossidanti-antiossidanti) di soggetti che avevano sospeso il fumo per sei mesi [37, 38].

Bosse e coll. hanno osservato un rapido effetto benefico della cessazione del fumo con ridotta percentuale di declino

del FEV1, anche in soggetti dai 50 ai 69 anni [43]. In un recente studio su pazienti che avevano sospeso il fumo, nei 6 mesi successivi si manifestava miglioramento del FEV1 e FEV1/FVC, ma tale effetto positivo non compariva nei più anziani del gruppo [44].

Un quadro sufficientemente indicativo degli effetti del fumo e relativa cessazione è a nostro parere reperibile

nello studio di Fletcher [4] e nel "Lung Health Study" [5].

CONCLUSIONI

Il fumo di sigaretta è uno dei più potenti ossidanti a cui un essere umano possa esporsi, e non sorprende che esso costituisca il principale responsabile di insorgenza e persistenza della BPCO, mediante la sua duplice azione: diretta, attraverso gli ossidanti in esso contenuti, ed indiretta, attraverso stimolazione delle cellule infiammatorie residenti e reclutate, che una volta attivate producono sostanze reattive dell' O_2 (ROS). Tra i molteplici danni da fumo annoveriamo in prima battuta quello sull'epitelio respiratorio, l'inattivazione dell'antiproteasi, l'ipersecrezione mucosa, l'aumentato sequestro di neutrofili nel microcircolo polmonare e l'espressione genica di mediatori proinfiammatori. La cessazione del fumo produce altresì di-

minuzione dell'infiammazione con riduzione del numero di macrofagi alveolari e neutrofili e diminuzione o arresto del declino della funzionalità respiratoria. La cessazione del fumo impoverisce pertanto molte delle principali sorgenti di stress ossidativo, modifica positivamente la storia naturale della BPCO e migliora qualità ed aspettativa di vita [45]. ■

Corrispondenza: Enrico M. Melillo, c/o Fondazione S. Maugeri

Via Bagni Vecchi, 82037 Telese (BN)

Tel. 0824909111/357

fax 0824909614/9

enrico.melillo@fastwebnet.it



Bibliografia

- Crystal RG. Ossidanti e danno epiteliale delle vie respiratorie: patogenesi e strategie di intervento terapeutico. In: GSH system: glutathione in antioxidant defense. L Allegra, RG Crystal and C Grassi Eds., Excerpta Medica, Amsterdam 1992: 63-74
- Sherril DL, Lobwitz MD, Burrows B. Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Chest* 1990; 11: 375-388
- Buist SA. Smoking and other risk factors. In: Murray JF, Nadel JA Eds. *Textbook of respiratory medicine* - 2nd ed., Philadelphia, Saunders 1994: 1259-1287
- Fletcher C, Peto K. The natural history of chronic airflow obstruction. *Brit Med J* 1977; 1: 1645-1648
- Anthonisen NR, Connett JE, Kiley JP, Althouse MD, Bailey WC, Buist S et al. The effect of smoking intervention and the use of an inhaled anticholinergic bronchodilator on the rate of decline of FEV1: the Lung Health Study. *JAMA* 1994; 272: 1497-1505
- McNee W. Oxidants, antioxidants and chronic obstructive pulmonary disease: pathogenesis to treatment. Wiley, Chichester: Novartis Foundation Symposium 232, 2001: 169-188
- Nakayama T, Church DF, Prior WA. Quantitative analysis of hydrogen peroxide formed in aqueous cigarette tar extracts. *Free Radical Biol Med* 1989; 7: 9-15
- Prior WA, Brier DG, Church DF. Electron-spin resonance study of mainstream cigarette smoke: nature of the free radicals in gas-phase smoke and cigarette TAR. *Environ Health Perspective* 1985; 47: 345-355
- Repine JE, Bast AA, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 156: 341-357
- Alliwell B, Gatteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990; 86: 1-85
- MacNee W, Selby C. New perspectives on basic mechanisms in lung diseases. 2 - Neutrophil traffic in the lungs: role of haemodynamics, cell adhesion and deformability. *Thorax* 1993; 48: 79-88
- Drost EM, Selby C, Lannan S, Lowe GD, MacNee W. Changes in neutrophil deformability following in vitro smoke exposure: mechanism and protection. *Am J Resp Crit Care Med* 1992; 6: 287-295
- Lehr HA, Kress E, Menger MD, Friedl HP, Hubner C, Arfors KE, Messmer K. Cigarette smoke elicits leukocyte adhesion to endothelium in hamsters: inhibition by CuZn-SOD. *Free Rad Biol Med* 1993; 14: 573-581
- Klut ME, Doerschuk CM, Van Eeden SF, Burns AR, Hogg JC. Activation of neutrophils in the pulmonary microvasculature of rabbits exposed to cigarette smoke. *Am J Resp Crit Care Med* 1993; 39: 82-90
- Morrison D, Strieter RM, Donnelly SC, Burdick MD, Kunkel SL, MacNee W. Neutrophil chemokines in bronchoalveolar lavage fluid and leukocyte-conditioned medium from nonsmokers and smokers. *Eur Resp J* 1988; 12: 1067-1072
- Baraldo S, Turato G, Badin C, Bazzan E, Beghè B, Zuin R et al. Neutrophilic infiltration within the airway smooth muscle in patients with COPD. *Thorax* 2004; 59(4): 308-312
- Chan-Yeung M, Abboud R, Buncio AD, Vedral S. Peripheral leukocyte count and longitudinal decline in lung function. *Thorax* 1988; 43: 462-468
- 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 Resp Dis* 1989; 139: 181-187
- Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P, Ferraraccio A, Drigo R, Potena A et al. Activated T-lymphocytes and macrophages in bronchial mucosa of subjects with chronic bronchitis. *Am Rev Resp Dis* 1993; 47: 301-306
- Hoidal JR, Fox RB, Le Marbe PA, Perri R, Repine JE. Altered oxidative metabolic responses in vitro of alveolar macrophages from asymptomatic cigarette smokers. *Am Rev Resp Dis* 1981; 123(1): 85-89
- Greening AP, Lawrie DB. Extracellular release of hydrogen peroxide by human alveolar macrophages: the relationship to cigarette smoking and lower respiratory tract infections. *Clin Science* 1983; 165: 661-664
- Schaberg T, Klein U, Rau M, Eller J, Lode H. Subpopulations of alveolar macrophages in smokers and nonsmokers: relation to the expression of CD11/CD18 molecules and superoxide anion production. *Am J Resp Crit Care Med* 1995; 151: 1551-1558
- Morrison D, Lannan S, Langridge A, Rahman I, MacNee W. Effect of acute cigarette smoking on epithelial permeability, inflammation and oxidant status in the airspaces of chronic smokers. *Thorax* 1994; 49: P1077
- Cantin A, Crystal RG. Oxidants, antioxidants and the pathogenesis of emphysema. *Eur Resp J* 1985; 6(suppl. 139): 7-17
- Kharitonov SA, Barnes PJ. Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. *Biomarkers* 2002; 7(1): 1-32
- McCusker K, Hoidal JR. Selective increase of antioxidant enzyme activity in alveolar macrophages from cigarette smokers and smoke exposed hamsters. *Am Rev Resp Dis* 1990; 41: 678-687
- Linden M, Rasmussen JB, Piitulainen E, Tunek A, Larson M, Tegner H et al. Airway inflammation in smokers with non obstructive bronchitis. *Am Rev Resp Dis* 1993; 148: 1226-1232
- Rahman I, Li XY, Donaldson K, Harrison DJ, Mac Nee W. Glutathione homeostasis in alveolar epithelial cells in vitro and lung in vivo under oxidative stress. *Am J Physiol* 1995; 269: L285-L292
- Rahman I, Smith CA, Lawson MF, Harrison DJ, Mac Nee W. Induction of gamma-glutamylcysteine synthetase by cigarette smoke is associated with AP-1 in human alveolar cells. *FEBS Letter* 1996; 396: 21-25
- Rahman I, Morrison D, Donaldson K, Mac Nee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD and smokers. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 154: 1055-1060
- Rahman I, Mac Nee W. Lung glutathione and oxidative stress implications in cigarette smoke-induced airway disease. *Am J Physiol* 1999; 277(6 pt. 1): L1067-L1088. Review.
- van Antwerpen L, Theron AJ, Myer MS, Richards GA, Wolmarans L, Booysen U et al. Cigarette smoke-mediated oxidant stress, phagocytes, vit. C, vit. E and tissue injury. *Ann NY Acad Sci* 1993 May 28; 686: 53-65
- Chow CK, Thacker RR, Changchit C, Bridges RB, Rehm SR, Humble J, Turbek J. Lower levels of vit. C and carotene in plasma of cigarette smokers. *J Am Coll Nutr* 1986; 5: 305-312
- Pacht ER, Kaseki H, Mohammed JR, Cornwell DG, Davis WB. Deficiency of vitamin E in the alveolar fluid of cigarette smokers. Influence on alveolar macrophage cytotoxicity. *Clin Invest* 1988; 77: 789-796
- Rennard SI, Daughton D, Fujita J, Oehlerking MB, Dobson JR, Stahl MG et al. Short-term smoking cessation is associated with reduction in measures of lower respiratory tract inflammation in heavy smokers. *Eur Resp J* 1990; 3: 752-759
- Skold CM, Had J, Eklund A. Smoking cessation rapidly reduces cell recovery in bronchoalveolar lavage fluid while alveolar macrophage fluorescence remains high. *Chest* 1992; 101: 989-991
- Wright JL, Lawson LM, Pare PD, Wiggs BR, Kennedy S, Hogg JC. Morphology of peripheral airways in current smokers and ex smokers. *Am Rev Resp Dis* 1983; 127(4): 474-477
- Mullen JB, Wright JL, Wiggs BR, Pare PD, Hogg JC. Structure of central airways in current smokers and ex smokers with and without mucus hypersecretion: relationship to lung function. *Thorax* 1987; 42: 843-848
- Turato G, Di Stefano A, Maestrelli P, Mapp CE, Ruggieri MP, Roggeri A et al. Effect of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. *Am J Resp Crit Care Med* 1995; 152: 1262-67
- Skold CM, Forslid J, Eklund A, Hed J. Metabolic activity in human alveolar macrophages increases after cessation of smoking. *Inflammation* 1993; 17: 345-352
- Nowak D, Antczak A, Kroll M, Pietras T, Shariati B, Bialasiewicz P et al. Increased content of hydrogen peroxide in expired breath of cigarette smokers. *Eur Resp J* 1996; 9: 652-657
- Van Beurden WJ, Dekhuijzen PN, Smeenk FW. Exhaled biomarkers in COPD: their potential role in diagnosis, treatment and prognosis. *Monaldi Arch Chest Dis* 2002; 57(5-6): 258-267
- Bosse R, Sparrow D, Rose CL, Weiss ST. Longitudinal effect of age and smoking cessation on pulmonary function. *Am Rev Resp Dis* 1981; 123: 378-381
- Suluburic DM, Suluburic TT, Lazovic NN, Kovanovic DM. The effect of stop smoking on FEV1 and FEV1/FVC. *Eur Resp J* 2003; 22(suppl.45): P1962
- Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Workshop report. Publication N. 2701, April 2001: 58-62



La BPCO come malattia ossidativa e infiammatoria sistemica: implicazioni fisiopatologiche e terapeutiche

COPD as a oxidative and inflammatory systemic disease: pathophysiologic and therapeutic implications

Marco Mura

Riassunto

Accanto alle tipiche manifestazioni polmonari della broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) sono state descritte una serie di alterazioni a livello sistemico, quali infiammazione, stress ossidativo, perdita di peso, perdita di massa cellulare corporea, osteoporosi e disfunzione muscolare scheletrica. Tali alterazioni sono clinicamente rilevanti e potenzialmente utili per una più completa classificazione della malattia. La presente rassegna discute l'infiammazione sistemica e lo stress ossidativo quali costituenti principali della componente sistemica della BPCO e prende in esame l'impatto di tali alterazioni sulla fisiopatologia della malattia, oltre alle possibili implicazioni terapeutiche. In particolare, l'azione inibitoria che la carbocisteina sale di lisina monoidrato effettua sull'attività chemiotattica e la capacità di adesione alle cellule endoteliali dei neutrofili, la principale fonte di radicali liberi dell'ossigeno e citochine proinfiammatorie nella BPCO, rende questo agente assai promettente nel trattamento della componente sistemica della malattia, anche se trials randomizzati e controllati sono necessari per studiarne l'efficacia clinica.

Parole chiave: BPCO, infiammazione sistemica, stress ossidativo, disfunzione muscolare scheletrica, antiossidanti.

Summary

Together with the typical pulmonary manifestations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), several systemic alterations have been described, such as inflammation, oxidative stress, loss of weight and body cell mass, osteoporosis and skeletal muscle dysfunction. These alterations are clinically relevant and potentially useful for a more complete stadiation of the disease. The present review discusses systemic inflammation and oxidative stress as the main features of the systemic component in COPD, their pathophysiological relevance and the possible therapeutic implications. In particular, given that carbocysteine lysine salt monohydrate inhibits the chemotactic activity and adhesion capacity of neutrophils, which are the main source of reactive oxygen species and proinflammatory cytokines in COPD, this drug may be useful in the treatment of the systemic component of the disease, though randomized and controlled trials are necessary to investigate its actual clinical efficacy.

Keywords: COPD, systemic inflammation, oxidative stress, skeletal muscle dysfunction, anti-oxidants.

INTRODUZIONE

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) diventerà la quinta malattia più diffusa nel mondo e la terza maggiore causa di mortalità entro il 2020 (30). Tradizionalmente, la comprensione di questa malattia dal punto di vista fisiopatologico si è focalizzata sulla presenza di ostruzione al flusso aereo; tuttavia quest'ultima si associa ad una anormale risposta infiammatoria alla noxa patogena non solo a livello polmonare, ma anche sistemico (1). La BPCO può essere quindi considerata

come una malattia con più componenti. La presente rassegna si focalizzerà sulla componente sistemica, con particolare riferimento all'infiammazione ed allo stress ossidativo e sulle loro implicazioni fisiopatologiche e terapeutiche. Gli effetti sistemici più comunemente associati alla BPCO comprendono infiammazione sistemica, stress ossidativo, disfunzione della muscolatura scheletrica, perdita di peso, anomalie dello stato nutritivo ed osteoporosi. Il contributo della componente sistemica al quadro patologico della BPCO varia da paziente a paziente, a seconda della predisposizione genetica, della presenza di fattori

confondenti, quali diabete e malattie cardiache e della eventuale persistenza delle abitudine al fumo.

L'INFIAMMAZIONE SISTEMICA

L'infiammazione nella BPCO è cronica e risulta in una malattia eterogenea, caratterizzata da alterazioni morfologiche a livello delle vie aeree centrali (*bronchite*), periferiche (*malattia delle piccole vie aeree*) e del parenchima polmonare (*enfisema*) (19, 28). L'infiammazione a livello extra-polmonare gioca un ruolo fondamentale nella patogenesi della componente sistemica della BPCO.

Marco Mura

Dottore di Ricerca in Scienze Pneumo-Cardio-Toraciche / Thoracic Surgery Research Laboratory, Toronto General Hospital Research Institute, Toronto, Ontario, Canada - Dipartimento di Medicina Interna, Università Tor Vergata, Roma

L'esposizione al fumo di tabacco stimola una risposta infiammatoria nel polmone, con la conseguente infiltrazione di neutrofili, macrofagi e linfociti [37, 39], cellule in grado di rilasciare citochine proinfiammatorie quali l'interleuchina 8 (IL-8), l'interleuchina 1-beta (IL-1 β) e il tumor necrosis factor-alfa (TNF- α) [18], oltre alle proteasi responsabili della distruzione del parenchima. L'ipotesi secondo cui l'entità della risposta infiammatoria sia diversa nei fumatori con e senza BPCO è attualmente oggetto di intense ricerche [1].

Le citochine proinfiammatorie nel siero sono state oggetto di ricerche quali possibili responsabili dell'infiammazione sistemica nella BPCO. I monociti isolati dal siero dei pazienti broncopneumopatici, soprattutto quelli con basso indice di massa corporea, sono infatti in grado di rilasciare maggiori quantità di TNF- α rispetto ai soggetti normali [10]. L'IL-8 e il TNF- α possono non solo passare nella circolazione sistemica, ma potrebbero anche incrementare il numero di cellule infiammatorie sistemiche durante il loro transito nella circolazione polmonare [2]. Anche l'espressione delle molecole di adesione nei neutrofili e nelle cellule endoteliali dei pazienti con BPCO risulta alterata rispetto ai soggetti normali, con un incremento della espressione della Mac-1 (CD11b/CD18) a livello dei neutrofili, insieme ad una riduzione dei livelli della *intercellular adhesion molecule* (sICAM-1), il che suggerisce la presenza di una possibile disfunzione endoteliale sistemica [31], visto che i livelli circolanti di ICAM-1 sono considerati un surrogato dell'espressione a livello endoteliale [47]. L'aumentata espressione delle molecole di adesione superficiale nei neutrofili circolanti dei pazienti con BPCO ne facilita il reclutamento nei siti di infiammazione [2].

Un altro fattore che potrebbe contribuire al mantenimento della infiammazione sistemica è l'ipoossiemia, che determina una aumentata produzione di citochine da parte dei macrofagi e l'attivazione del sistema TNF [48]. Correlazioni inverse tra PaO $_2$ arteriosa ed i livelli circolanti di TNF- α e del recettore TNFR sono state in effetti osservate in pazienti con BPCO [44]. L'hypoxia inducibile factor 1 α segnala inoltre la presenza di ipoossia dando il via alla trascrizione di molteplici geni coinvolti nei processi di angiogenesi, eritropoiesi, proliferazione cellulare, rimodellamento vascolare, risposte vasomotorie ed infiammazione [42].

re durante le esacerbazioni acute della BPCO è stato dimostrato un marcato squilibrio tra ossidanti ed antiossidanti [35]. Tuttavia, l'ossidazione è presente anche in condizione stabili di malattia, come dimostrato dagli elevati livelli di perossidazione lipidica, un marker dello stress ossidativo, riportati nel siero dei pazienti con BPCO stabile [35]. A conferma di questo, i leucociti dei soggetti fumatori rilasciano maggiori quantità di radicale superossido (O $_2^{\cdot-}$) e di perossido di idrogeno (H $_2$ O $_2$) rispetto ai controlli sani [25]. Le specie ossidanti, a loro volta, si sono dimostrate in grado di modificare la trascrizione dei geni alterando l'attività di fattori di trascrizione redox-

sensibili [19]. Il fattore di trascrizione *Nuclear Factor kappa B* (NF- κ B) è regolato, tra gli altri fattori, anche dagli ossidanti [17, 38], e gioca un ruolo fondamentale nella infiammazione cronica e nella sopravvivenza cellulare [6].

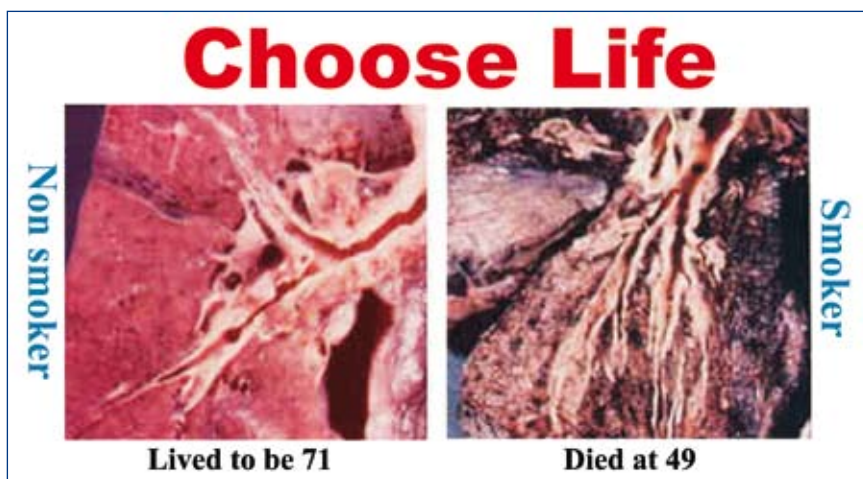
La relazione tra infiammazione e stress ossidativo è quindi complessa. Il

fattore comune ad entrambe le componenti è la NF- κ B *pathway* (proinfiammatoria ed antiapoptotica) che, una volta attivata, da un lato stimola l'espressione di citochine proinfiammatorie e di molecole di adesione dall'altro, è anche redox-dipendente e può essere attivata dallo stress ossidativo, come già sottolineato [17, 38].

Di seguito verranno presi in esame le disfunzioni della massa cellulare corporea e della muscolatura scheletrica ed il ruolo svolto dall'ossidazione ed infiammazione sistemica nella loro patogenesi.

ALTERAZIONI DELLA MASSA CELLULARE CORPorea

La perdita di tessuto metabolizzante caratterizza molte malattie croniche, inclusa la BPCO. La massa cellulare corporea (MCC) è un indice che rappresen-



LO STRESS OSSIDATIVO

Il termine stress ossidativo sta ad indicare tutte le alterazioni funzionali e strutturali causate dai radicali liberi dell'ossigeno (ROS) [2]. Il fumo di tabacco è già di per sé una potente sorgente di ROS [23, 50]. Pertanto gli aumentati livelli di ROS, prodotti in particolare dai neutrofili, nei pazienti con BPCO non possono che ridurre ulteriormente le capacità antiossidanti, oltre a causare danno epiteliale, attivazione dei macrofagi residenti nelle vie aeree, squilibrio tra proteasi ed antiproteasi [23] ed aumentato rischio di sviluppare cancro polmonare [49]. Lo stress ossidativo è considerato uno dei fattori più importanti contribuenti alla componente sistemica della BPCO. Numerosi studi hanno riportato alterazioni nei livelli di stress ossidativo, citochine circolanti, proteine della fase acuta e nel livello di attivazione delle cellule circolanti nella BPCO [47]. In particola-

ta il tessuto attivamente metabolizzante (nei vari organi) e il tessuto capace di attività contrattile (nei muscoli) [47]. Cambiamenti della MCC possono essere riconosciuti clinicamente da perdita di peso e perdita della massa "fat-free" ("magra" - MFF). Quest'ultima include un compartimento cellulare, ovvero la MCC, che rappresenta la parte scambiante energia, ed un compartimento extracellulare [47]. Una selettiva perdita della MFF è stata riportata nella BPCO, con una prevalenza variabile tra il 20 e il 35% dei pazienti [13, 41]. La perdita di MFF si ripercuote negativamente sulla funzione respiratoria [5] e muscolare [14], nonché sulla capacità di esercizio [32] e sulla qualità di vita [26].

È stato inoltre dimostrato che un basso indice di massa corporea si associa ad aumentata mortalità nei pazienti affetti da BPCO [40] ed infatti questo indice è stato incluso nel nuovo score multidimensionale (BODE index), altamente predittivo della mortalità, messo a punto da Celli e Coll. [9].

Uno squilibrio del processo di degradazione e sostituzione proteica, presente anche in condizioni cliniche stabili, sembra essere alla base della perdita di MCC e MFF, anche se gli studi a disposizione sono ancora pochi. Uno studio di Engelen et al. ha dimostrato alterazioni nel processo di degradazione e sintesi proteica mediante lo studio del metabolismo di isotopi (L-[ring-(2)H(5)]phenylalanina e L-[ring-(2)H(2)]tyrosina) iniettati endovena in 14 pazienti con BPCO, con un turnover più elevato in questi ultimi rispetto ai controlli sani [12].

LA DISFUNZIONE MUSCOLARE SCHELETRICA

La disfunzione della muscolatura scheletrica limita fortemente la capacità di esercizio dei pazienti broncopneuropatici e deriva sia da una riduzione della massa muscolare che da un'alterazione funzionale della massa rimanente, soprattutto a carico del diaframma [33], ma anche dei muscoli periferici.

La perdita di massa muscolare scheletrica, specialmente a livello degli arti inferiori e in particolare a carico delle fibre di tipo II, è stata documentata da

Gosker e Coll. [15]. La riduzione della massa muscolare si correla alla infiammazione sistemica [47] e con lo stress ossidativo [8]. Le alterazioni dello scambio gassoso polmonare giocano probabilmente un ruolo in tale disfunzione muscolare, a causa della attivazione del sistema TNF, come già visto [2].

Gli aumentati livelli sierici di TNF- α , una citochina in grado di causare cachessia negli animali di laboratorio, potrebbero dare il via alla morte delle cellule muscolari scheletriche [10], oltre a determinare stress ossidativo, riduzione dell'espressione di miosina creatinina fosfochinasi e disfunzione contrattile [8].

Gli aumentati livelli sierici di TNF- α non possono essere legati ad una ridotta clearance renale, visto che in uno studio specifico sul TNF- α nei pazienti affetti da BPCO la funzione renale si manteneva nei limiti della normalità [11].

Li et al. hanno dimostrato che il trattamento con TNF- α dei miotubi differenziati determina una riduzione del contenuto proteico totale dose-dipendente e progressiva nel tempo. Tali effetti diretti sulle fibre muscolari scheletriche si manifestavano a concentrazioni di TNF- α simili a quelle presenti nel plasma dei pazienti affetti da BPCO [21].

Le citochine infiammatorie sembrano inoltre determinare alterazioni nella regolazione della differenziazione delle fibre muscolari scheletriche. Langen et al. hanno dimostrato che l'attivazione della NF- κ B pathway determinata da TNF- α ed IL-1, interferiva con la differenziazione dei miofibroblasti [20].

Nei soggetti broncopneuropatici i livelli di perossidazione lipidica nel siero e nella muscolatura scheletrica aumentano dopo un esercizio muscolare non necessariamente massimale e si accompagnano ad un aumento del rapporto GSSG (glutazione ossidato)/GSH (glutazione ridotto) [34, 46]. Sempre a carico del muscolo scheletrico è stato riportata una elevata incidenza di inclusioni di lipofusina, un marker del danno ossidativo cumulativo, nel vasto laterale di soggetti affetti da BPCO [3]. Le proteine dell'apparato contrattile possono essere esse stesse ossidate dai ROS, compromettendo lo sviluppo del-

la forza contrattile [22]. Infine, lo stress ossidativo inibisce l'espressione delle proteine muscolo-specifiche; la conseguente atrofia muscolare potrebbe così ulteriormente contribuire alla disfunzione contrattile [8].

Considerando nell'insieme le evidenze sperimentali suddette, risulta chiaro quanto sia importante mantenere un normale bilancio ossidativo per ottimizzare la funzione muscolare. Tale regolazione, tuttavia, risulta compromessa nella BPCO.

OSTEOPOROSI

La prevalenza della osteoporosi nella BPCO è elevata e potrebbe essere spiegata da molteplici fattori quali malnutrizione, sedentarietà, fumo [51], trattamento con corticosteroidi ed infiammazione sistemica [2]. È interessante notare come l'osso osteoporotico ed il polmone enfisematoso condividano le stesse alterazioni morfologiche, con una rarefazione del tessuto, suggerendo una possibile patogenesi comune [2], che però deve essere ancora chiarita.

IMPLICAZIONI TERAPEUTICHE

Le anomalie descritte a livello sistemico potrebbero essere una causa, più che una conseguenza, della BPCO. A sostenere tale ipotesi sta la constatazione che solo una minoranza dei fumatori sviluppa la BPCO [52], suggerendo la coesistenza di fattori genetici. Le anomalie osservate a carico dei neutrofili circolanti, per esempio, potrebbero essere l'espressione di tale predisposizione genetica alla malattia che rende le cellule più suscettibili al fumo di tabacco; i neutrofili potrebbero pertanto rispondere in maniera più vigorosa alla noxa patogena, rilasciando maggiori quantità di ROS e citochine proinfiammatorie, dando il via ad un circolo vizioso che perpetua la malattia anche dopo la cessazione del fumo. Per verificare tale ipotesi, è necessario tuttavia: 1) investigare la presenza di queste alterazioni nei soggetti fumatori prima che sviluppino la BPCO; 2) stabilire un sicuro nesso patogenetico tra ROS ed insorgenza di enfisema, infiammazione sistemica e disfunzione muscolare in modelli animali sperimentali;

3) dare il via a studi clinici controllati e randomizzati con agenti antiossidanti, di cui potrebbero beneficiare sia soggetti fumatori ancora "sani", a fine preventivo, che soggetti broncopneumopatici, al fine di stabilizzare la malattia.

Alcune evidenze sperimentali e cliniche incoraggiano l'utilizzo degli agenti ossidanti nella BPCO. Tudor e coll., in un modello animale di enfisema indotto dalla inattivazione farmacologica del *vascular endothelial growth factor* (un fattore di sopravvivenza delle cellule endoteliali), hanno dimostrato la presenza a livello delle pareti alveolari di una aumentata espressione di marker di stress ossidativo, quali lipoperossidazione e frammentazione del DNA oligonucleosomale, in associazione con apoptosi delle cellule endoteliali ed epiteliali, che portava allo sviluppo di enfisema [45]. Sul piano clinico, una positiva associazione tra assunzione di vitamine antiossidanti con la dieta e buona funzionalità polmonare è stata dimostrata da vari studi epidemiologici [19] [43].

Sulla base di queste evidenze si può dunque ipotizzare un possibile ruolo protettivo per gli agenti ossidanti nella BPCO.

La N-acetilcisteina (NAC) è un donatore tiolico ed è dotata di proprietà mucolitiche ed antiossidanti [29]. La NAC agisce come sorgente di gruppi sulfidrilici, aumentando i livelli di glutazione ridotto nelle cellule riducendo l'attività della NF- κ B [36]. Sadowska e Coll. hanno recentemente osservato una riduzione

dei livelli plasmatici di IL-8 dopo 10 settimane di trattamento con NAC (600 mg/die) in 10 pazienti con BPCO, anche se i marker di stress ossidativo (superossido dismutasi, glutazione perossidasi, capacità anti-ossidante in equivalenti trolox) non erano influenzati significativamente [38]. Questo rappresenta però al momento l'unico studio sulla NAC e la componente sistemica della BPCO ed il limitato numero di osservazioni induce alla prudenza nella interpretazione dei risultati.

La carbocisteina è dotata di attività anti-infiammatoria ed anti-ossidante, oltre che mucoregolatrice [27]. In campo sperimentale, la somministrazione per via orale di carbocisteina si è dimostrata in grado di ridurre l'infiltrazione neutrofila a livello polmonare in risposta alla instillazione nelle vie aeree di IL-1, una delle citochine proinfiammatorie coinvolte nella componente sistemica della BPCO, ed anche dopo esposizione al fumo di tabacco [4]. La carbocisteina, sale di lisina monoidrato, svolge inoltre una attività di scavenger nei confronti dei ROS prodotti in vitro da neutrofili attivati, tramite l'ossidazione del proprio gruppo tioetere [7]. Un'altra proprietà di questa molecola, dimostrata ancora in vitro, è quella di ridurre la produzione di IL-8 da parte di monociti sierici [7].

Da ultimo, l'azione diretta che la carbocisteina esercita sui neutrofili, riducendone l'attività chemiotattica e la capacità di adesione alle cellule endoteliali [16], rende tale molecola partico-

larmente promettente come possibile agente terapeutico a livello sistemico della BPCO. La carbocisteina potrebbe quindi ridurre l'attivazione dei neutrofili ed il rilascio di citochine e ROS, che sono alla base di tutte le manifestazioni sistemiche della BPCO. Trial clinici multicentrici sono tuttavia necessari per testare l'effettivo impatto della carbocisteina sulla componente sistemica della BPCO.

CONCLUSIONE

La BPCO è associata ad una serie di manifestazioni extrapolmonari la cui insorgenza è in massima parte da ricollegarsi all'infiammazione sistemica ed allo stress ossidativo multiorgano. La cessazione del fumo determina un miglioramento della funzionalità polmonare ma non risolve la risposta infiammatoria né a livello delle vie aeree né a livello sistemico [24], suggerendo la presenza di meccanismi che perpetuano il processo infiammatorio una volta che esso si è stabilito. Data la rilevanza clinica di queste alterazioni, la componente sistemica della BPCO dovrebbe essere presa in considerazione per una più completa stadiazione della malattia. In aggiunta a questo, l'utilizzo dei farmaci antiossidanti potrebbe svolgere un ruolo protettivo sul bilancio ossidativo e di conseguenza, sull'infiammazione sistemica e sulla funzionalità muscolare scheletrica ma la loro efficacia deve essere confermata da studi clinici randomizzati e controllati su larga scala. ■

Bibliografia

1. Agustí AG. COPD, a multicomponent disease: implications for management. *Respir. Med.*, 2005; 99: 670-82.
2. Agustí AG, Noguera A, Saulea J, Sala E, Pons J, Busquets X. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.*, 2003; 21: 347-360.
3. Allaire J, Maltais F, LeBlanc P, Simard PM, Whittom F, Doyon JF, Simard C, Jobin J. Lipofuscin accumulation in the vastus lateralis muscle in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Muscle Nerve*, 2002; 25: 383-389.
4. Asti C, Melillo G, Caselli GF, Daffonchio L, Hernandez A, Clavenna G, Omini C. Effectiveness of carbocysteine lysine salt monohydrate on models of airway inflammation and hyperresponsiveness. *Pharmacol. Res.*, 1995; 31: 387-392.
5. Baarends EM, Schols AM, Mostert R, Wouters EF. Peak exercise response in relation to tissue depletion in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.*, 1997; 10: 2807-2813.
6. Baeuerle PA. I κ B-NF- κ B structures: at the interface of inflammation control. *Cell.*, 1998; 95: 729-731.
7. Brandolini L, Allegretti M, Berdini V, Cervellera MN, Mascagni P, Rinaldi M, Melillo G, Ghezzi P, Mengozzi M, Bertini R. Carbocysteine lysine salt monohydrate (SCMC-LYS) is a selective scavenger of reactive oxygen intermediates (ROIs). *Eur. Cytokine Netw.*, 2003; 14: 20-26.
8. Buck M, Chojkier M. Muscle wasting and differentiation induced by oxidative stress in a murine model of cachexia is prevented by inhibitors of nitric oxide synthesis and antioxidants. *Embo J.*, 1996; 15: 1753-1765.
9. Celli BR, Cote CG, Marin JM, Casanova C, Montes de Oca M, Mendez RA, Pinto Plata V, Cabral HJ. The body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.*, 2004; 350: 1005-1012.
10. de Godoy I, Donahoe M, Calhoun WJ, Mancino J, Rogers RM. Elevated TNF-alpha production

- by peripheral blood monocytes of weight-losing COPD patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996; 153: 633-637.
11. Di Francia M, Barbier D, Mege JL, Orehek J. Tumor necrosis factor- α levels and weight loss in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1994; 150: 1453-1455.
 12. Engelen MP, Deutz NE, Wouters EF, Schols AM. Enhanced levels of whole-body protein turnover in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000; 162: 1488-1492.
 13. Engelen MP, Schols AM, Baken WC, Wesseling GJ, Wouters EF. Nutritional depletion in relation to respiratory and peripheral skeletal muscle function in out-patients with COPD. *Eur. Respir. J.*, 1994; 7: 1793-1797.
 14. Engelen MP, Schols AM, Does JD, Wouters EF. Skeletal muscle weakness is associated with wasting of extremity fat-free mass but not with airflow obstruction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000; 71: 733-738.
 15. Gosker HR, Engelen MP, van Mameren H, van Dijk PJ, van der Vusse GJ, Wouters EF, Schols AM. Muscle fiber type IIX atrophy is involved in the loss of fat-free mass in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002; 76: 113-119.
 16. Ishii Y, Kimura T, Morishima Y, Mochizuki M, Nomura A, Sakamoto T, Uchida Y, Sekizawa K. S-carboxymethylcysteine inhibits neutrophil activation mediated by N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *Eur. J. Pharmacol.*, 2002; 449: 183-189.
 17. Janssen-Heininger YM, Poynter ME, Baeuerle PA. Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor kappaB. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28: 1317-1327.
 18. 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.
 19. Langen RC, Korn SH, Wouters EF. ROS in the local and systemic pathogenesis of COPD. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 226-235.
 20. Langen RC, Schols AM, Kelders MC, Wouters EF, Janssen-Heininger YM. Inflammatory cytokines inhibit myogenic differentiation through activation of nuclear factor-kappaB. *Faseb J* 2001; 15: 1169-1180.
 21. Li YP, Schwartz RJ, Waddell ID, Holloway BR, Reid MB. Skeletal muscle myocytes undergo protein loss and reactive oxygen-mediated NF-kappaB activation in response to tumor necrosis factor alpha. *Faseb J* 1998; 12: 871-880.
 22. MacFarlane NG, Miller DJ. Depression of peak force without altering calcium sensitivity by the superoxide anion in chemically skinned cardiac muscle of rat. *Circ. Res.*, 1992; 70: 1217-1224.
 23. Melillo E, Melillo G. Fumo di tabacco e stress ossidativo respiratorio. *Tabaccologia* 2004; 1: 29-33.
 24. Montuschi P, Collins JV, Ciabattini G, Lazzari N, Corradi M, Kharitonov SA, Barnes PJ. 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: 1175-1177.
 25. Morrison D, Rahman I, Lannan S, MacNee W. Epithelial permeability, inflammation, and oxidant stress in the air spaces of smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999; 159: 473-479.
 26. Mostert R, Goris A, Welting-Scheepers C, Wouters EF, Schols AM. Tissue depletion and health related quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.*, 2000; 94: 859-867.
 27. Mura M. Mucolitici e mucoregolatori nel trattamento della broncopneumopatia cronica ostruttiva. *Tabaccologia*, 2005; 2: 27-30.
 28. Mura M, Milic-Emili J. Può il danno meccanico delle vie aeree periferiche giocare un ruolo nella genesi della Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva nei soggetti fumatori? *Tabaccologia*, 2005; 1: 18-20.
 29. Mura M, Zagà V, Fabbri M. Strategie di onco-prevenzione con antiossidanti nei confronti dei radicali liberi del fumo di tabacco. *Tabaccologia*, 2003; 3: 23-28.
 30. Murray C, Lopez, AD. Alternative visions of the future: projecting mortality and disability. In: Murray CJL L, AD, ed. *The global burden of disease*. Harvard: Harvard University Press, pp. 361-75, 1996.
 31. Noguera A, Busquets X, Saulea J, Villaverde JM, MacNee W, Agusti AG. Expression of adhesion molecules and G proteins in circulating neutrophils in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998; 158: 1664-1668.
 32. Palange P, Forte S, Felli A, Carlone S. Nutritional status and exercise performance in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Monaldi Arch. Chest Dis.*, 1993; 48: 543-545.
 33. Polkey MI, Kyroussis D, Hamnegard CH, Mills GH, Green M, Moxham J. Diaphragm strength in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996; 154: 1310-1317.
 34. Rabinovich RA, Ardite E, Troosters T, Carbo N, Alonso J, Gonzalez de Suso JM, Vilari J, Barbera JA, Polo MF, Argiles JM, Fernandez-Checa JC, Roca J. Reduced muscle redox capacity after endurance training in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001; 164: 1114-1118.
 35. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996; 154: 1055-1060.
 36. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Oxidative Stress Study Group. Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1997; 156: 341-357.
 37. Rutgers SR, Postma DS, ten Hacken NH, Kaufman HF, van Der Mark TW, Koeter GH, Timens W. Ongoing airway inflammation in patients with COPD who do not currently smoke. *Chest*, 2000; 117: 262S.
 38. Sadowska AM, van Overveld FJ, Gorecka D, Zdril A, Filewska M, Demkow UA, Luyten C, Saenen E, Zielinski J, De Backer WA. The inter-relationship between markers of inflammation and oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease: modulation by inhaled steroids and antioxidant. *Respir. Med.*, 2005; 99: 241-249.
 39. Saetta M, Turato G, Facchini FM, Corbino L, Lucchini RE, Casoni G, Maestrelli P, Mapp CE, Ciaccia A, Fabbri LM. Inflammatory cells in the bronchial glands of smokers with chronic bronchitis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1997; 156: 1633-1639.
 40. Schols AM, Slangen J, Volovics L, Wouters EF. Weight loss is a reversible factor in the prognosis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998; 157: 1791-1797.
 41. Schols AM, Soeters PB, Dingemans AM, Mostert R, Frantzen PJ, Wouters EF. Prevalence and characteristics of nutritional depletion in patients with stable COPD eligible for pulmonary rehabilitation. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1993; 147: 1151-1156.
 42. Semenza GL. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J. Appl. Physiol.*, 2000; 88: 1474-1480.
 43. Strachan DP, Cox BD, Erzincinoglu SW, Walters DE, Whichelow MJ. Ventilatory function and winter fresh fruit consumption in a random sample of British adults. *Thorax*, 1991; 46: 624-629.
 44. Takabatake N, Nakamura H, Abe S, Inoue S, Hino T, Saito H, Yuki H, Kato S, Tomoike H. The relationship between chronic hypoxemia and activation of the tumor necrosis factor- α system in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000; 161: 1179-1184.
 45. Tudor RM, Zhen L, Cho CY, Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Salverini D, Voelkel NF, Flores SC. Oxidative stress and apoptosis interact and cause emphysema due to vascular endothelial growth factor receptor blockade. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 2003; 29: 88-97.
 46. Vina J, Servera E, Asensi M, Sastre J, Pallardo FV, Ferrero JA, Garcia-De-La-Asuncion J, Anton V, Marin J. Exercise causes blood glutathione oxidation in chronic obstructive pulmonary disease: prevention by O₂ therapy. *J. Appl. Physiol.*, 1996; 81: 2198-2202.
 47. Wouters EF, Creutzberg EC, Schols AM. Systemic effects in COPD. *Chest*, 2002; 121: 127S-130S.
 48. Wouters FM. local and systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2005; 2: 26-33.
 49. Zagà V, Mura M, Fabbri M. Ruolo oncogenetico dei radicali liberi dell'ossigeno nel fumo di tabacco. *Tabaccologia*, 2003; 2: 27-32.
 50. Zagà V, Gattavaccia E. Radicali liberi e fumo di sigaretta. *Giorn. It. Mal Tor*, 2002; 56, 5:375-391.
 51. W-Dahl A, Toksvig-Larsen. Cigarette smoking delays bone healing: a prospective study of 200 patients operated on by the hemicallotaxis technique. *Acta Orthop Scand*, 2004; 75(3): 347-51.
 52. Fletcher C., Peto R. Tinker C., et al., *The Natural History of Chronic Bronchitis and emphysema*. Oxford, Oxford University Press, 1976.



Mucolitici e mucoregulatori nel trattamento della broncopneumopatia cronica ostruttiva

Mucolytic and mucoregulators agents in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease

Marco Mura

Riassunto

L'infiammazione delle vie aeree nella bronchite cronica (BC) e nella broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) determina una ipersecrezione di muco da parte delle cellule caliciformi e delle ghiandole submucose. Tali secrezioni bronchiali presentano inoltre proprietà reologiche anormali, con una aumentata viscoelasticità, per cui la clearance muco-ciliare risulta ridotta. Gli agenti mucoattivi sono in grado di modificare le proprietà fisico-chimiche delle secrezioni bronchiali, facilitandone l'espettorazione o riducendone la produzione. Nei soggetti affetti da BPCO, vari agenti mucolitici e mucoregulatori utilizzati a lungo termine si sono inoltre dimostrati in grado di ridurre significativamente il numero delle riacutizzazioni bronchitiche. La presente rassegna prende in esame i meccanismi d'azione e le evidenze clinico-sperimentali di vari agenti mucoattivi. Le proprietà mucoattive, antinfiammatorie ed antiossidanti della carbocisteina, della N-acetilcisteina e dell'erdosteina rendono questi farmaci i più promettenti per un loro impiego nel trattamento della BC e BPCO, soprattutto nei soggetti con riacutizzazioni frequenti e che richiedono l'ospedalizzazione.

Parole chiave: bronchite cronica, BPCO, mucolitici, mucoregulatori, antiossidanti.

Summary

Airway inflammation in chronic bronchitis (CB) and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) determines mucus hypersecretion from goblet cells and sub mucosal glands. These secretions are characterized by abnormal rheologic properties, with increased viscosity and elasticity; therefore the mucus clearance is impaired. Mucoactive agents can modify the physical and chemical properties of bronchial secretions, increasing their expectoration and decreasing their production. In COPD patients, various mucolytic and mucoregulators agents have shown the capacity of significantly reducing the number of exacerbations. The present review analyses the effects and the clinical-experimental evidences regarding various mucoactive agents. The mucoactives, anti-inflammatory and anti-oxidant properties of carbocysteine, N-acetylcysteine and erdosteine provide the stronger rationale for their use in patients affected by CB and COPD, especially in those with frequent exacerbations that require hospitalisation.

Keywords: chronic bronchitis, COPD, mucolytic, mucoregulators, anti-oxidants.

INTRODUZIONE

Circa la metà dei fumatori sviluppa la bronchite cronica (BC) e circa il **15%** di chi fuma un pacchetto al giorno e il **25%** di chi ne fuma due è a rischio di broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) (1).

L'infiammazione delle vie aeree in entrambe le condizioni porta ad una ipersecrezione di muco da parte delle cellule caliciformi e delle ghiandole submucose, che presentano iperplasia e ipertrofia (2). Tali secrezioni bronchiali presentano proprietà reologiche anormali, con una aumentata viscosità ed elasticità, e

conseguentemente la clearance muco-ciliare risulta ridotta.

Sia i pazienti bronchitici che quelli broncopneumopatici lamentano esacerbazioni ricorrenti con peggioramento dei sintomi ed aumento del volume di secrezioni nelle vie aeree. Tali riacutizzazioni sono associate ad infiammazione delle vie aeree (3) e contribuiscono alla morbidità, al peggioramento della qualità di vita (4) e ad un aumento dei costi per il servizio sanitario (5). La severità delle riacutizzazioni dipende dalla severità della malattia ostruttiva (6).

Le esacerbazioni da bronchite e BPCO vengono comunemente trattate con an-

tibiotici e steroidi, ma appare di essenziale importanza avere a disposizione dei farmaci in grado di ridurre la frequenza delle riacutizzazioni. I farmaci mucoattivi determinano un incremento della espettorazione agendo sulle secrezioni bronchiali (7). Una rassegna sistematica dei 20 trial clinici più significativi condotti sugli agenti mucoattivi nella BC e BPCO ha rivelato che questi farmaci sono in grado di ridurre la frequenza di riacutizzazioni del 29% rispetto ai controlli non trattati, con una riduzione media di 0,07 esacerbazioni al mese e di 0,79 all'anno (1). Inoltre tutti gli studi senza eccezione hanno riportato una riduzio-

Marco Mura

Dottore di Ricerca in Scienze Pneumo-Cardio-Toraciche / Thoracic Surgery Research Laboratory, Toronto General Hospital Research Institute, Toronto, Ontario, Canada - Dipartimento di Medicina Interna, Università Tor Vergata, Roma

ne della frequenza delle riacutizzazioni. In particolare, nei due studi in cui soggetti arruolati presentavano un FEV1 inferiore al 50% del predetto, la riduzione della frequenza di esacerbazioni è stata di 0,13 al mese e 0,8 in 6 mesi, suggerendo un maggiore effetto per quei pazienti più compromessi dal punto di vista funzionale [8-9]. È interessante notare che oltre la metà degli studi considerati (11 su 20) sono stati effettuati in Italia [1].

COME AGISCONO I FARMACI MUCOATTIVI?

Gli agenti mucoattivi sono in grado di modificare le proprietà fisico-chimiche delle secrezioni bronchiali, facilitandone l'espettorazione o riducendone la produzione [2].

Tra questi agenti possiamo distinguere i mucolitici e i mucoregolatori.

PROPRIETÀ VISCOELASTICHE DELLE SECREZIONI BRONCHIALI

I maggiori determinanti della viscosità ed elasticità delle secrezioni dell'apparato respiratorio sono le fucomucine e le immunoglobuline IgG [10].

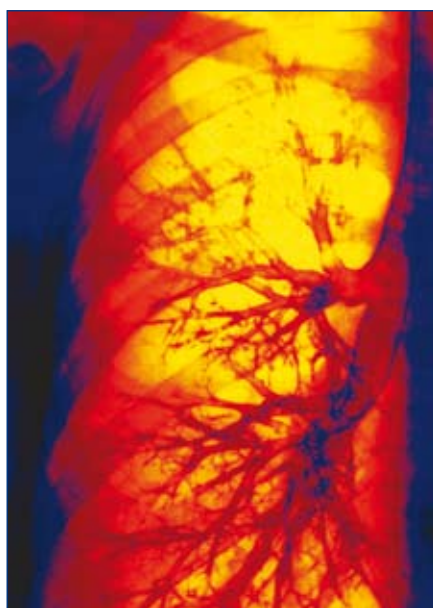
Le fucomucine sono presenti nelle glicoproteine purificate dal muco respiratorio (GM) e sono assenti nel siero [11]. Le GM prodotte localmente dalle cellule caliciformi e dalle ghiandole submucose sono in gran parte responsabili della elevata viscoelasticità delle secrezioni bronchiali in condizioni di infiammazione delle vie aeree [11].

Le IgG invece sono largamente derivate dal siero e solo in parte prodotte localmente. Benché il meccanismo attraverso cui le IgG aumentano la viscoelasticità delle secrezioni non sia chiaro, il controllo dell'infiammazione risulta in grado di ridurre la viscoelasticità del muco attraverso una riduzione delle IgG [11].

Le subunità delle GM possono essere identificate in due diverse regioni peptidiche. La prima è costituita da un polipeptide arricchito da gruppi oligosaccaridici, attaccato alla serina e alla treonina; esso è resistente all'attacco proteolitico. La seconda è invece priva di glucidi e sensibile agli attacchi proteolitici [11].

Le proprietà viscoelastiche del muco

non dipendono solo dalla quantità di GM, ma anche dalla formazione di interconnessioni mediante legami molecolari nell'ambito del muco stesso. Le GM si formano attraverso l'associazione di subunità mediante ponti disulfidici, diventando in tal modo molecole molto grandi [11]. Anche altri legami intermolecolari, quali i legami ionici, legami idrogeno e le forze di Van der Waals possono contribuire alla formazione di strutture complesse.



N-ACETILCISTEINA

La N-acetilcisteina (NAC) è dotata di un gruppo sulfidrilico libero che interrompe i legami disulfidici sulle GM, rompendo le strutture glicoproteiche in componenti meno viscosi [12]. La NAC viene prima metabolizzata in cisteina ed aumenta i gruppi sulfidrilici tissutali. La NAC diminuisce pertanto la viscosità delle secrezioni. In uno studio in vitro la somministrazione di una soluzione di NAC al 10% ha determinato una diminuzione assai significativa della viscoelasticità del muco nasale purulento [13]. La NAC è dotata anche di proprietà antiossidanti, essendo deacetilata in cisteina, che è un importante precursore del sistema del glutathione [14].

ERDOSTEINA

L'erdoesteina è un agente espettorante derivato dalla omocisteina. L'erdoesteina alla dose di 100-600 mg/kg si è dimostra-

ta in grado di attenuare l'inibizione della clearance muco-ciliare e l'infiltrazione di cellule infiammatorie in ratti sottoposti ad instillazione intratracheale di lipopolisaccaride [15]. Tuttavia, nessun effetto veniva osservato sull'aumento della albumina e dei mucopolisaccaridi nel lavaggio broncoalveolare (BAL) [15].

In uno studio clinico randomizzato, controllato e in doppio cieco, condotto su 155 pazienti affetti da BPCO la somministrazione di erdoesteina 300 mg per 8 mesi ha determinato una riduzione significativa delle riacutizzazioni bronchitiche, assenza di perdita funzionale e miglioramento della qualità di vita, valutata con questionari specifici, rispetto ai controlli trattati con placebo [16].

L-CISTEINA ETIL ESTERE IDROCLORIDE

L-cisteina-etil-estere-idrocloride (CEE) è un altro mucolitico sulfidrilico utilizzato per via orale, soprattutto in Giappone. In uno studio, la CEE 300 mg/die per 4 settimane ha determinato una riduzione della viscoelasticità del muco in pazienti affetti da sinusite cronica [17]. La CEE somministrata oralmente viene biotrasformata in NAC [11]. Mancano però degli studi sulla BC e la BPCO.

DEOSSIRIBONUCLEASI

La deossiribonucleasi ricombinante umana è un enzima proteolitico che in vitro riduce l'adesività, viscosità ed elasticità delle secrezioni provenienti da pazienti con fibrosi cistica [11]. Successivi studi clinici ne hanno documentato l'efficacia e la sicurezza nei pazienti con fibrosi cistica [18]. Uno studio in vitro ne ha dimostrato l'efficacia anche sulle secrezioni ottenute da pazienti con BC [19]. Anche in questo caso sono necessari trial clinici per valutarne l'efficacia nei pazienti con BC e BPCO.

AMBROXOLO

L'ambroxolo (trans-4-(2-amino-3,5-dibromobenzilamino)-cicloesano-idrocloride) stimola la secrezione mucosa promuovendone anche una normalizzazione della viscosità [20]. L'ambroxolo ha anche azione antinfiammatoria, inibendo la produzione di citochine e di metaboliti dell'acido arachidonico,

ed antiossidante, agendo da scavenger del radicale idrossile e dell'acido ipocloroso [20]. Il trattamento con ambroxolo (72 mg 2 v./die) per un anno di 242 soggetti affetti da BPCO non ha però determinato una significativa diminuzione delle riacutizzazioni bronchitiche rispetto ai soggetti trattati con il placebo [21]. Un effetto vantaggioso in termini di giorni liberi da malattia veniva tuttavia osservato nei 45 pazienti più compromessi dal punto di vista funzionale [21]. Questi risultati dovrebbero essere quindi confermati da studi più ampi e focalizzati su popolazioni di soggetti con incapacità ventilatoria ostruttiva più pronunciata.

CARBOCISTEINA: UN AGENTE MUCOREGOLATORE E ANTIOSSIDANTE

La carbocisteina (SCMC) è un derivato della cisteina in cui i gruppi sulfidrici sono bloccati da un residuo di acido carbossilico [22]. SCMC svolge una differente azione sulle secrezioni, modificandone l'equilibrio della sintesi delle glicoproteine a livello delle cellule secernenti il muco nelle vie aeree [23]. SCMC può quindi essere definita un agente mucoregolatore, capace di correggere i disordini nella sintesi delle glicoproteine e normalizzando la funzione secretoria della mucosa bronchiale [22].

MECCANISMI DI AZIONE DELLA CARBOCISTEINA

La ingestione di SCMC 50 mg/kg/die determina una aumentata sintesi delle mucine ricche di acido sialico (sialomucine) e una riduzione delle fucomucine. A causa dei loro gruppi carbossilici periferici le sialomucine si possono attaccare a numerose molecole, quali acqua, proteine, peptidi [22]. La struttura viscoelastica delle secrezioni mucose bronchiali ne risulta modificata, facilitandone l'espettorazione e la clearance muco-ciliare e diminuendo il rischio di sovrainfezione e di rimodellamento delle vie aeree.

Più recentemente il gruppo tioetere contenuto nella SCMC sale di lisina monoidrato (SCMC-Lys) ha mostrato la capacità di ridurre l'infiammazione

delle vie aeree [24]. In modelli animali SCMC-Lys somministrata oralmente (300 mg/kg) si è dimostrata in grado di ridurre l'infiltrazione di neutrofili ed eosinofili indotta da instillazione intratracheale di interleuchina 1 beta (5 ng) o ad instillazione intrapleurica di carragenina (200 ml di soluzione al 2%) [25]. Nello stesso studio SCMC-Lys si è rivelata capace di constatare in modo dose-dipendente l'iperreattività bronchiale e l'infiltrazione di eosinofili indotte dalla esposizione sperimentale al fumo di tabacco per 10 minuti consecutivi [25]. I meccanismi alla base di questa azione antinfiammatoria rimangono tuttora da chiarire completamente; tra di essi vi potrebbero essere un effetto broncodilatatore diretto sulla muscolatura liscia delle vie aeree, gli effetti sulle secrezioni mucose e gli effetti antiossidanti, discussi di seguito [25].

Un recente studio ha evidenziato anche un possibile effetto diretto sull'attivazione dei neutrofili. Neutrofili isolati da campione di sangue umano sono stati preincubati con diverse concentrazioni di SCMC ed incubati con N-formil-metionil-leucil-fenilalanina (FMLP), un peptide chemiotattico in grado di attivare i neutrofili. Il trattamento con 10 mg/ml o più di SCMC ha determinato sui neutrofili una riduzione dell'attività chemiotattica e dell'aderenza FMLP-mediata alle cellule endoteliali dei vasi polmonari e una riduzione della produzione di inositolo 1,4,5-trifosfato e di diacilglicerolo, due marker dell'attivazione dei neutrofili [26].

Proprietà antiossidanti di SCMC-Lys sono state suggerite da studi in vitro condotti su polimorfonucleati neu-

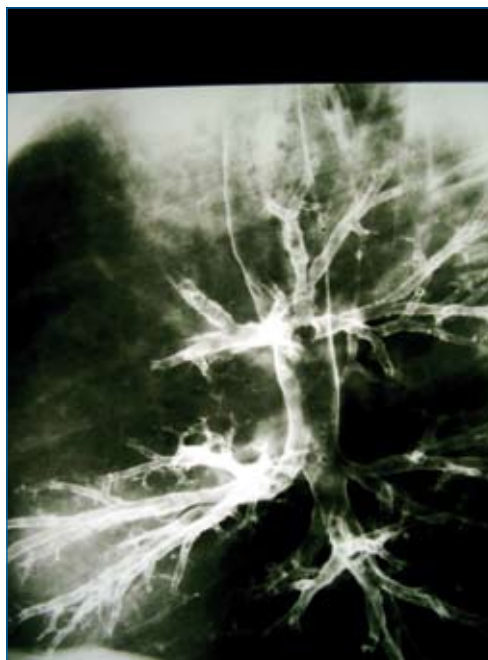
trofili attivati, in cui la SCMC-Lys si è dimostrata un efficiente scavenger di radicali liberi dell'ossigeno quali il radicale idrossile e l'acido ipocloroso [27]. Questa proprietà viene svolta attraverso l'ossidazione del gruppo tioetere della SCMC-Lys [27]. L'attività di scavenger si accompagnava inoltre alla riduzione della produzione di interleuchina 8, uno dei maggiori mediatori del reclutamento dei neutrofili, da parte delle cellule mononucleate del sangue periferico [27]. Simili osservazioni sulle proprietà antiossidanti della SCMC-Lys sono state riportate su altri sistemi produttori di ROS (BAL da pazienti con BPCO e siero umano trattato con ultrasuoni e cellule endoteliali in coltura trattate con elastasi) [28]. In questo caso l'azione inibitrice si svolgeva anche sulla produzione di anione superossido [28].

A conferma degli studi sperimentali, uno studio clinico condotto su 40 soggetti con BPCO riacutizzata, di cui 15 trattati con SCMC-Lys 2,7 g/die per via orale per 6 mesi, ha dimostrato una marcata riduzione dello 8-isoprostano,

un marcatore dello stress ossidativo, e della interleuchina 6 (IL-6), un marcatore dell'infiammazione, nell'esalato condensato dei pazienti trattati con SCMC-Lys rispetto ai livelli riscontrati al momento della riacutizzazione e rispetto ai controlli non trattati [29]. È stata anche evidenziata una correlazione significativa tra

i livelli di 8-isoprostano e IL-6 [29]. Questo è il primo studio clinico che ha messo in evidenza le proprietà non solo mucoregolatrici ma anche anti-ossidanti della SCMC-Lys.

Dato il riconosciuto ruolo oncogenetico



dei ROS contenuti nel fumo di tabacco [30], queste osservazioni sul ruolo antiossidante, oltre che mucoregolatore e antinfiammatorio, della SCMC-Lys rivestono una particolare importanza nella prevenzione della BPCO e del cancro del polmone nei soggetti fumatori ed ex-fumatori.

CONCLUSIONI

Gli agenti mucoattivi possono limitare o prevenire l'ostruzione bronchiale

normalizzando le caratteristiche reologiche delle secrezioni bronchiali e riducendo l'edema della mucosa e il broncospasmo. La carbocisteina, la NAC e la erdoseina hanno mostrato le proprietà e le evidenze clinico-sperimentali più promettenti per un loro impiego nel trattamento della BPCO. Le loro proprietà antinfiammatorie potrebbero rivelarsi molto utili anche nel trattamento dell'asma e della panbronchiolite diffusa [2]. Futuri trial clinici su

larga scala e multicentrici sono comunque richiesti per valutare il ruolo definitivo dei mucoattivi nei pazienti con riacutizzazioni bronchitiche frequenti e prolungate o che richiedono l'ospedalizzazione. ■

Bibliografia

- Poole J, Black PN. Oral mucolytic drugs for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: systematic review. *British Medical Journal* 2001;322:12171-1276.
- Rubin BK. The pharmacologic approach to airway clearance: mucoactive agents. *Respir Care* 2002;47(7):818-22.
- Wedzicha JA, Donaldson GC. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Care* 2003;48(12):1204-13; discussion 1213-5.
- 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(5 Pt 1):1418-22.
- Feinleib M, Rosenberg HM, Collins JG, Delozier JE, Pokras R, Chevarley FM. Trends in COPD morbidity and mortality in the United States. *Am Rev Respir Dis* 1989;140(3 Pt 2):S9-18.
- MacNee W, Calverley PM. Chronic obstructive pulmonary disease. 7: Management of COPD. *Thorax* 2003;58(3):261-5.
- Del Donno M, Olivieri D. Mucoactive drugs in the management of chronic obstructive pulmonary disease. *Monaldi Arch Chest Dis* 1998;53(6):714-9.
- Committee BTSR. Oral N-acetylcysteine and exacerbation rates in patients with chronic bronchitis and severe airways obstruction. *Thorax* 1985;40:832-835.
- Petty T. The national mucolytic study: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of iodinated glycerol in chronic obstructive bronchitis. *Chest* 1990;97:75-83.
- Majima Y, Harada T, Shimizu T, Takeuchi K, Sakakura Y, Yasuoka S, et al. Effect of biochemical components on rheologic properties of nasal mucus in chronic sinusitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160(2):421-6.
- Majima Y. Mucoactive medications and airway disease. *Paediatr Respir Rev* 2002;3(2):104-9.
- Sheffner AL. The reduction in vitro in viscosity of mucoprotein solutions by a new mucolytic agent, N-acetyl-L-cysteine. *Ann N Y Acad Sci* 1963;106:298-310.
- Rhee CS, Majima Y, Cho JS, Arima S, Min YG, Sakakura Y. Effects of mucokinetic drugs on rheological properties of reconstituted human nasal mucus. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;125(1):101-5.
- Mura M, Zaga' V, Fabbri M. Strategie di oncoprevenzione con antiossidanti nei confronti dei radicali liberi del fumo di tabacco. *Tabaccologia* 2003;3:23-28.
- Hosoe H, Kaise T, Ohmori K. Erdosteine enhances mucociliary clearance in rats with and without airway inflammation. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1998;40(3):165-71.
- Moretti M, Bottrighi P, Dallari R, Da Porto R, Dolcetti A, Grandi P, et al. The effect of long-term treatment with erdoseine on chronic obstructive pulmonary disease: the EQUALIFE Study. *Drugs Exp Clin Res* 2004;30(4):143-52.
- Majima Y, Hirata K, Takeuchi K, Hattori M, Sakakura Y. Effects of orally administered drugs on dynamic viscoelasticity of human nasal mucus. *Am Rev Respir Dis* 1990;141(1):79-83.
- Zahm JM, Girod de Bentzmann S, Deneuville E, Perrot-Minnot C, Dabadie A, Pennaforte F, et al. Dose-dependent in vitro effect of recombinant human DNase on rheological and transport properties of cystic fibrosis respiratory mucus. *Eur Respir J* 1995;8(3):381-6.
- Puchelle E, Zahm JM, de Bentzmann S, Groskopf C, Shak S, Mougé D, et al. Effects of rhDNase on purulent airway secretions in chronic bronchitis. *Eur Respir J* 1996;9(4):765-9.
- Gillissen A, Nowak D. Characterization of N-acetylcysteine and ambroxol in anti-oxidant therapy. *Respir Med* 1998;92(4):609-23.
- Malerba M, Ponticciello A, Radaeli A, Bensi G, Grassi V. Effect of twelve-months therapy with oral ambroxol in preventing exacerbations in patients with COPD. Double-blind, randomized, multicenter, placebo-controlled study (the AMETHIST Trial). *Pulm Pharmacol Ther* 2004;17(1):27-34.
- Puchelle E, Aug F, Polu JM. Effect of the mucoregulator S-carboxy-methyl-cysteine in patients with chronic bronchitis. *Eur J Clin Pharmacol* 1978;14(3):177-84.
- Garcet S, Servin A, Huyen VN. Effect of a prolonged treatment by S-carboxy-methyl-cysteine on the disturbances of the pulmonary protein synthesis induced by sulfur dioxide in the rat. *C R Seances Soc Biol Fil* 1974;168(1):43-6.
- Barnes PJ. New concepts in chronic obstructive pulmonary disease. *Annu Rev Med* 2003;54:113-29.
- Asti C, Melillo G, Caselli GF, Daffonchio L, Hernandez A, Clavenna G, et al. Effectiveness of carbocysteine lysine salt monohydrate on models of airway inflammation and hyperresponsiveness. *Pharmacol Res* 1995;31(6):387-92.
- Ishii Y, Kimura T, Morishima Y, Mochizuki M, Nomura A, Sakamoto T, et al. S-carboxy-methylcysteine inhibits neutrophil activation mediated by N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *Eur J Pharmacol* 2002;449(1-2):183-9.
- Brandolini L, Allegretti M, Berdini V, Cervellera MN, Mascagni P, Rinaldi M, et al. Carbocysteine lysine salt monohydrate (SCMC-LYS) is a selective scavenger of reactive oxygen intermediates (ROIs). *Eur Cytokine Netw* 2003;14(1):20-6.
- Pinamonti S, Venturoli L, Leis M, Chicca M, Barbieri A, Sostero S, et al. Antioxidant activity of carbocysteine lysine salt monohydrate. *Panminerva Med* 2001;43(3):215-20.
- Carpagnano GE, Resta O, Foschino-Barbaro MP, Spanevello A, Stefano A, Di Gioia G, et al. Exhaled Interleukin-6 and 8-isoprostane in chronic obstructive pulmonary disease: effect of carbocysteine lysine salt monohydrate (SCMC-Lys). *Eur J Pharmacol* 2004;505(1-3):169-75.
- Zaga' V, Mura M, Fabbri M. Ruolo oncogenetico dei radicali liberi nel fumo di tabacco. *Tabaccologia* 2003; 2:27-32.
- Fletcher C., Peto R, Tinker C., et al., The Natural History of Chronic Bronchitis and Emphysema. Oxford, Oxford University Press, 1976.

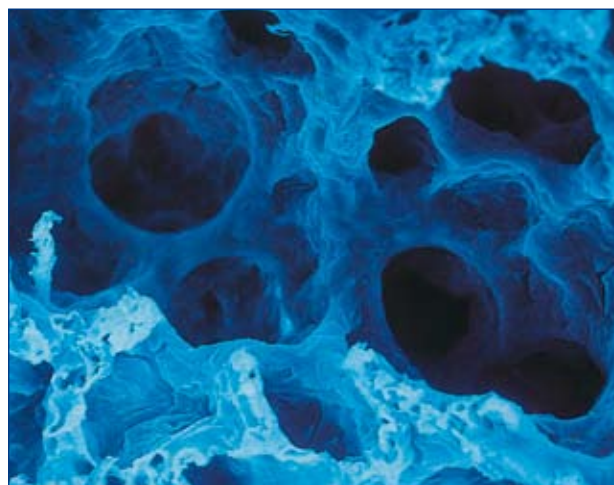


Può il danno meccanico delle vie aeree periferiche giocare un ruolo nella genesi della BPCO nei soggetti fumatori?

Does mechanical injury of the peripheral airways play a role in the genesis of COPD in smokers?

Joseph Milic-Emili, Marco Mura

La Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) è una condizione solitamente associata con il fumo di sigaretta. La BPCO è caratterizzata da un inizio insidioso e da un prolungato periodo durante il quale il polmone può essere considerato a metà strada tra lo stato di salute e lo stato di evidente malattia. Nei giovani fumatori, infatti, le variazioni patologiche più precoci consistono nel denudamento dell'epitelio e nell'accumulo di cellule infiammatorie nelle pareti dei bronchioli respiratori e membranosi (1). Questa condizione viene denominata malattia delle vie aeree periferiche (MVAP). Nella MVAP i valori di FEV₁ e CVF (capacità vitale forzata) si mantengono normali. Si è quindi re-



so necessario lo studio di nuovi test per mettere in evidenza tale condizione. Tra questi vi sono i flussi espiratori massimali a basso volume polmonare (FEF75) e il volume di chiusura (VC).

Bassi valori di FEF75 possono essere riscontrati in soggetti "sani", con FEV₁ e CVF normali; in tal caso è giustificata la diagnosi funzionale di ostruzione isolata delle vie aeree periferiche (VAP) (2).

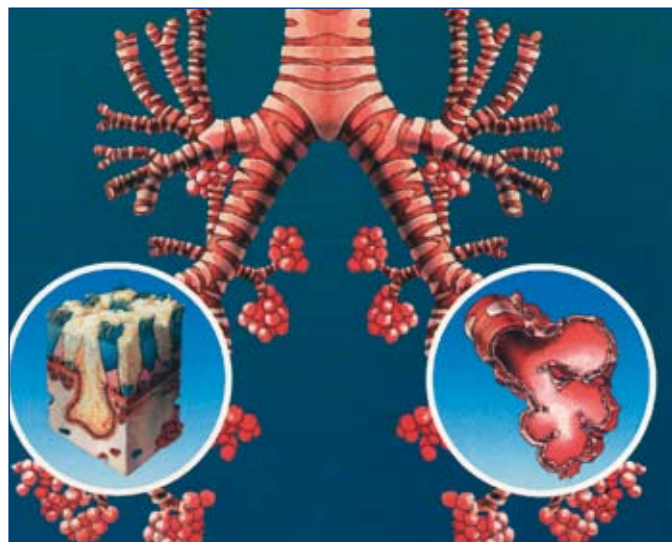
Il CV viene generalmente determinato con la tecnica della diluizione dell'azoto: dopo l'inalazione di una capacità

vitale di O₂ la concentrazione dell'azoto nel gas esalato viene continuamente esaminata durante una espirazione tranquilla. La diluizione dell'azoto nelle zone apicali è inferiore a quella nelle zone basali poiché gli apici sono sovradistesi rispetto alle basi e quindi una minore quantità di O₂ entrerà negli apici. Verso la fine dell'espirazione le vie aeree delle basi cominciano a chiudersi e il gas espirato proviene solo dalle zone apicali meno diluite e quindi più ricche di azoto: la concentrazione dell'azoto sale rapidamente. Il volume espirato da questo punto sino alla completa espirazione costituisce il VC (3). L'aumento della concentrazione di azoto segna quindi il punto in cui una quota significativa delle VAP comincia a chiudersi. In presenza di prove funzionali altrimenti normali, un aumento del VC può indicare lo stadio iniziale di una patologia broncopolmonare a partenza dalle VAP. Tuttavia la pervietà delle vie aeree è influenzata sia dalle loro proprietà meccaniche che dalla pressione trasmurale che le mantiene distese, per cui un aumento di CV non permette di distinguere definitivamente tra una ostruzione delle VAP ed una perdita della forza di retrazione elastica del polmone (3).

FEF75 e VC riflettono due fenomeni che sono correlati nella patogenesi della iperinflazione dinamica polmonare (IDP), la quale rappresenta la principale causa della dispnea e della ridotta capacità di esercizio nella BPCO (4,5). La IDP si verifica quando la durata dell'espirazione è insufficiente a permettere il raggiun-

gimento del volume di rilassamento del sistema respiratorio, che normalmente corrisponde alla capacità funzionale residua (CFR), prima della successiva inspirazione.

Nel giovane adulto normale la CFR è maggiore del VC, ma con l'avanzare dell'età la differenza si riduce, senza che tuttavia il VC superi la CFR, almeno nel soggetto normale.



Dal punto di vista pratico, il fumo di sigaretta può essere considerato una condizione che accelera il decadimento funzionale del polmone. Nel soggetto fumatore si possono individuare 3 stadi che segnano il passaggio dalla MVAP alla BPCO vera e propria. Tale ipotesi si basa sull'assunzione che i soggetti fumatori destinati

a sviluppare la BPCO sono quelli che presentano un danno meccanico alle VAP, dovuto alla chiusura delle vie aeree e alla presenza di flusso-limitazione espiratoria (FLE) durante la respirazione tranquilla. Questo tipo di danno è simile a quello riscontrato nei pazienti che sviluppano una ARDS (adult respiratory distress syndrome) dopo ventilazione meccanica a bassi volumi [6,7].

Il I stadio della progressione da MVAP a BPCO può essere caratterizzato dal processo infiammatorio a carico delle VAP del fumatore, che porta ad un incremento del VC rispetto alla CFR, sperimentalmente osservato [8], nonostante valori normali di FEV_1 e CVF. La presenza di una chiusura delle vie aeree durante la ventilazione tranquilla implica la chiusura sequenziale delle VAP durante l'espirazione e la loro riapertura durante l'inspirazione, col conseguente rischio di danno meccanico alle VAP stesse. L'incremento fumo-dipendente del VC accelera anche il declino del FEF_{75} [9], legato all'intrappolamento aereo. In questa fase alcuni sintomi cronici, come tosse e produzione di muco, possono

essere già presenti ed il volume residuo (VR) comincia ad aumentare [8].

I soggetti normali non mostrano segni di FLE nemmeno durante uno sforzo massimale, mentre nei soggetti BPCO essa è spesso presente anche a riposo. L'insorgenza di FLE dipende dalla riduzione del flusso disponibile e/o da un aumento delle richieste ventilatorie. Il fumo determina in alcuni soggetti una progressiva riduzione dei FEF (flussi espiratori massimali) nel range della ventilazione tranquilla, per cui la FLE può insorgere persino in posizione seduta [11]. La presenza di FLE a riposo implica l'insorgenza di una eterogenea compressione dinamica delle VAP durante l'inspirazione e la loro riespansione durante l'inspirazione. Questo fenomeno non fa che aggravare il danno meccanico alle VAP [6,7]. Durante questa fase, che può essere considerata lo stadio II del processo patogenetico a carico delle VAP, il VC e il VR tendono ad aumentare ulteriormente, mentre alla capacità vitale (CV) tende a diminuire. Dal momento che il FEV_1 è ancora normale, l'indice di Tiffeneau può persino aumentare [8]. Durante lo stadio II la FLE diventa generalizzata, cosicché i flussi sono massimali anche a riposo. La FLE è la causa della IDP poiché i soggetti flusso-limitati devono respirare a volumi più alti per ottenere una ventilazione adeguata.

Con il progressivo peggioramento della IDP, i soggetti fumatori passano allo stadio III, caratterizzato da dispnea e limitazione all'esercizio, i quali possono essere considerati i marker della transizione dallo stato di salute a quello di malattia cronica ostruttiva. In questa fase si osservano nel soggetto fumatore una diminuzione della FEV_1 , della CVF e dell'indice di Tiffeneau, mentre il VC può anche non essere più misurabile, a causa delle grossolane alterazioni nella distribuzione della ventilazione [8].

Nel soggetto normale a riposo, la CFR corrisponde al punto di equilibrio meccanico del sistema toraco-polmonare [11]. La iperinflazione polmonare viene definita come un aumento della CFR e può essere causata da un aumento del VR, legato alla perdita di ritorno elastico nell'enfisema, od alla IDP. Nel soggetto BPCO la IDP è molto comune ed

è causata principalmente dalla FLE [4]. In condizioni normali i flussi espiratori massimali sono largamente superiori a quelli durante la ventilazione a riposo, grazie alla presenza di una notevole riserva nei flussi espiratori stessi [10]. Di conseguenza, nel soggetto normale la ventilazione durante esercizio aumenta a spese sia del volume di riserva inspiratorio che di quello espiratorio. Nel paziente BPCO con FLE, al contrario, i flussi espiratori sono già massimi a riposo e quindi la ventilazione può aumentare solo a spese della capacità inspiratoria (CI), che però è diminuita a causa della IDP. La capacità e la tolleranza all'esercizio in questi soggetti non possono quindi che essere diminuite. In effetti la CI è un fattore predittivo della tolleranza all'esercizio assai migliore del FEV₁ e della CVF [5,12,13]. Anche la correlazione tra FEV₁ e dispnea è modesta, per cui lo score della dispnea e i test funzionali dovrebbero essere considerati come marker indipendenti della severità della BPCO [14].

L'importante studio di Cosio et al. nel 1978 dimostrò la correlazione tra la misurazione del VC e le misure morfologiche di MVAP nei soggetti fuma-

tori [15]. Gli studi epidemiologici successivi, tuttavia, riportarono risultati contrastanti, in quanto considerarono il FEV₁ come parametro di riferimento per quanto riguarda il deterioramento funzionale, e la diluizione dell'azoto venne sostanzialmente abbandonata. Va però sottolineato che mentre il VC rispecchia una alterazione dei FEF a bassi volumi, il FEV₁ è una misura della funzionalità polmonare ad alti volumi, per cui non sorprende il fatto che esso rappresenti un modesto fattore predittivo della IDP, della dispnea cronica e della capacità di esercizio [4,5,13]. Il FEV₁ quindi non può essere considerato un marker della transizione da MVAP a BPCO.

In conclusione, i soggetti fumatori destinati a sviluppare una sintomatologia presentano probabilmente un accelerato declino della funzionalità polmonare. Il danno meccanico a livello delle VAP, legato alla presenza di chiusura delle vie aeree e compressione dinamica, ne è la causa. Questi fenomeni incrementano l'infiammazione già presente per via del fumo, portando via via alle alterazioni funzionali e strutturali che caratterizzano la BPCO. Tale processo è reversibile soltanto allo stadio I. ■

Bibliografia

1. Niewohner DE, Kleinerman J, Rice DB. Pathologic changes in the peripheral of young cigarette smokers. *N Engl J Med* 1974; 291:755-758.
2. Marazzini L. La ventilazione massima volontaria e i flussi massimali. In: Marazzini L. ed. *Fisiopatologia e semeiotica funzionale della respirazione*. Milano: Raffaello Cortina Editore, 1991: 250.
3. Marazzini L. La mescolanza e la distribuzione dei gas. In: Marazzini L. ed. *Fisiopatologia e semeiotica funzionale della respirazione*. Milano: Raffaello Cortina Editore, 1991: 241.
4. Eltayara L, Becklake MR, Volta CA, Milic-Emili J. Relationship between chronic dyspnea and expiratory flow-limitation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1726-1734.
5. Diaz O, Villafranca C, Ghezzi H, Borzone G, Leiva A, Milic-Emili J, Lisboa C. Exercise tolerance in COPD patients with and without tidal expiratory flow limitation at rest. *Eur Respir J* 2000; 16:269-275.
6. Koutsoukou A, Armaganidis A, Stravarakaki-Kallergi C, Vassilakopoulos T, Lymberis A, Roussos C, Milic-Emili J. Expiratory flow limitation and intrinsic positive and end-expiratory pressure at zero positive end-expiratory pressure in patients with adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1590-1596.
7. Koutsoukou A, Bekos B, Sotiropoulou C, Koulouris NG, Roussos C, Milic-Emili J. Effects of positive end-expiratory pressure on gas exchange and expiratory flow limitation in adult respiratory distress syndrome. *Crit Care med* 2002; 30:1941-1949.
8. McCarthy DS, Spencer R, Greene R, Milic-Emili J. Measurement of "closing volume" as a simple and sensitive test for early detection of small airway disease. *Am J Med* 1972; 52:747-753.
9. Knudson RJ. Physiology of the aging lung. In: Crystal RG, West JB, et al. eds. *The Lung: Scientific Foundations*. New York: Raven Press Ltd., 1991:1749.
10. Bates DV, Macklem PT, Christie RV. *Respiratory Function in Disease*. Philadelphia: WB Saunders, 1971:35.
11. Agostoni E, Mead J. Statics of the respiratory system. In: Macklem PT, Mead J, eds. *The Respiratory System: Mechanics of Breathing*. Handbook of Physiology, Section 3. Vol. I. Bethesda: American Physiological society, 1964:387-409.
12. Murariu C, Ghezzi H, Milic-Emili J, Gauthier H. Exercise limitation in obstructive lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135:1069-1074.
13. O'Donnell DE, Lam M, Webb KA. Spirometric correlates of improvement in exercise performance after anti-cholinergic therapy in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:467-470.
14. Mahler DA, Harver A. A factor analysis of dyspnea ratings, respiratory muscle strength, and lung function in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Rev Respir Dis* 1992; 145:467-470.
15. Cosio M, Ghezzi H, Hogg JC, Corbin R, Loveland M, Dosman J, Macklem PT. The relations between structural change in small airways and pulmonary-function tests. *N Engl J Med* 1978; 298:1277-1281.



Preferisco l'Aria

5 novembre: giornata per i diritti dei non fumatori

A cura dell'ICAT, International Coalition Against Tabacco e di GEA Progetto Salute

Respirare aria buona è un diritto, come bere acqua potabile. Al contrario dell'acqua però il diritto all'aria è stato violato o ignorato.

Nel 1975, i cinema e i mezzi di trasporto divennero puliti per legge. Niente fumo, mai più. Poi anche i treni. L'associazione dei Nonfumatori italiani (www.nonfumatori.it) ha fatto la sua parte per garantire aria buona a chi la respira, appoggiando la legge che tutta l'Italia approva, che vieta di fumare nei luoghi di lavoro e di svago. La ricerca ha detto la sua in modo chiaro. Lo IARC, agenzia internazionale di ricerca sul cancro dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, ha inserito il Fumo Passivo tra le 88 sostanze "sicuramente cancerogene". Fa aumentare il rischio tumorale nei non fumatori in una percentuale che va dal 20 al 30%. Esteso sulla popolazione generale, che annovera un esercito di 13-14 milioni di fumatori, tutto ciò ha conseguenze devastanti. L'Istituto Tumori di Milano, il CNR di Pisa, La Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori, la Società di Tabaccologia, gli Istituti di ricerca e le società scientifiche, hanno prodotto in Italia un volume di materiale scientifico che conferma queste conclusioni. La ricerca sulle polveri sottili e ultrasottili (PM-10, 5, 2.5, 1), che raggiungono le parti più "interne" del polmone, ha dato risultati incontestabili. Misurate nell'aria di ambienti dove si fuma, ha fatto rilevare un inquinamento dell'aria nei luoghi chiusi (indoor), centinaia di volte peggiore rispetto all'aria delle grandi città: 50 microgrammi per metro cubo di PM-10 è la soglia oltre la quale si chiudono i centri cittadini al traffico; 5.000 (cinquemila) microgrammi per metro cubo è invece la quantità di PM-10 che si può rilevare in un ambiente chiuso dove si fuma. C'è bisogno di leggi a tutela dei Nonfumatori che non possono difendersi: i bambini.

Dal 10 gennaio dello scorso anno non si fuma in bar e ristoranti. Una grande conquista. Ma occorre tenere sotto controllo l'osservanza della legge.

Il 5 Novembre è dunque un giorno per pensare, far pensare e per esprimere civilmente il diritto all'Aria con la "A" maiuscola. La Giornata ha raggiunto le 62 adesioni da parte di varie organizzazioni, ed è entrata nel calendario della Lega Italiana per la lotta contro i Tumori.

LA STORIA

La "Giornata per i Diritti dei Non Fumatori" nasce in seno all'ICAT, International Coalition Against Tobacco, (www.gea2000.org/icat), ed inglobato nell'INGCAT (International Non-Governmental Coalition Against Tobacco), che rappresenta l'organizzazione non governativa accreditata presso l'OMS. La Giornata del 5 Novembre precede di molti mesi la Giornata Mondiale senza Tabacco (31 maggio). Ciò ha un riscontro pratico in quanto permette di avviare campagne di prevenzione nelle scuole con inizio il 5 novembre e conclusione al 31 maggio di ogni anno.

LE INIZIATIVE

La prima Giornata venne celebrata in Italia nel 2000 e vide l'inaugurazione del sito "Nonfumatori.it", divenuto ormai un riferimento nazionale, punto di incontro e biglietto da visita dei non fumatori italiani. Dal 2002 ad oggi ha partecipato il Comune di Roma con gli assessorati alla Salute e all'Ambiente. Questo anno 2006 vede l'inaugurazione del sito Tabagismo.it (www.tabagismo.it), primo web-care assistito per aiutare i fumatori che vogliono smettere, via internet. Il servizio si affianca alla Quit-Line della Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori (SOS FUMO: 800 99 88 77). Il banner "**PREFERISCO L'ARIA**" ed altre immagini dei nostri siti possono essere scaricati e utilizzati su altri siti con l'inserimento del collegamento ipertestuale a: www.gea2000.org/preferiscolaria.htm, accompagnato dalla

scritta: "5 Novembre - Giornata Nazionale per i Diritti dei Non Fumatori".

La Giornata ha fondamentalmente lo scopo di incentivare la prevenzione e di avviare progetti scolastici finalizzati alla prevenzione, che potranno essere portati a conclusione il 31 maggio dell'anno successivo, per la "Giornata Mondiale senza Tabacco".

Le scuole che vogliono aderire, devono comunicare la loro partecipazione via posta elettronica all'indirizzo: anp@prevenzione.info, con la descrizione di un programma di massima che si vuole attuare. Sono state realizzate pagine web speciali per le scuole, accessibili dal sito GEA (www.gea2000.org), con servizi, informazioni e consulenze dei maggiori esperti. Info-Line: 340 70 88 301.

LA COMUNICAZIONE SOCIALE

L'ufficio stampa di GEA provvede a:

1. Distribuire gli originali cartelli "Vietato Fumare" del cartoonist Roberto Mangosi (www.gea2000.org/vietatofumare.htm).
2. Diffondere le GEANews (www.gea2000.org/nosmoke/geanews.html)
3. Redigere e divulgare comunicati stampa.
4. Fare divulgazione attraverso i Media.
5. Realizzare rapporti di rete con altri siti web che divulgano il banner "Preferisco l'Aria".

Aderiscono all'iniziativa 62 fra Organismi e Associazioni.

DICHIARAZIONE UNIVERSALE DEI DIRITTI DELL'UOMO

(approvata dall'Assemblea Generale dell'O.N.U. il 10 dicembre 1948) - Art. 3:

Ogni individuo ha diritto alla vita, alle libertà e alla sicurezza della propria persona.

COSTITUZIONE DELLA REPUBBLICA ITALIANA

(Principi Fondamentali - 1° gennaio 1948) - Art. 32:

La Repubblica tutela la salute come fondamentale diritto dell'individuo e interesse della collettività, e garantisce cure gratuite agli indigenti.