

Artigo de Revisão

Bases celulares e bioquímicas da doença pulmonar obstrutiva crônica*

Cellular and biochemical bases of chronic obstructive pulmonary disease

ROGÉRIO RUFINO¹, JOSÉ ROBERTO LAPA E SILVA²

RESUMO

A doença pulmonar obstrutiva crônica é uma doença inflamatória com participação ativa de macrófagos, neutrófilos e linfócitos CD8⁺ em sua patogênese, associada a estímulos oxidantes diretos das estruturas pulmonares, que desencadeiam reações bioquímicas, levando a progressiva desorganização das pequenas vias aéreas e ao remodelamento estrutural não reversível. A liberação de substâncias provenientes das células recrutadas e do estresse oxidativo leva ao desequilíbrio inicialmente temporário dos mecanismos de defesa pulmonar. A permanência desse desequilíbrio é uma das chaves da fisiopatogenia atual. Os autores descrevem as alterações celulares e bioquímicas da doença pulmonar obstrutiva crônica.

Descritores: Doença pulmonar obstrutiva crônica/fisiopatologia; Pulmão/metabolismo; Inflamação; Oxidantes; Antioxidantes; Estresse oxidativo

ABSTRACT

Chronic obstructive pulmonary disease is an inflammatory disease. Together with oxidant stimuli, which directly affect lung structures, macrophages, neutrophils and CD8⁺ lymphocytes actively participate in the pathogenesis of the disease and promote biochemical reactions that result in progressive alteration of the upper airways and irreversible lung remodeling. The release of substances promoted by inflammatory cell recruitment and by oxidative stress lead to a temporary imbalance in the pulmonary defense mechanisms. Understanding the long-term maintenance of this imbalance is key to understanding the current physiopathology of the disease. The present study explores the cellular and molecular alterations seen in chronic obstructive pulmonary disease.

Keywords: Pulmonary disease, chronic obstructive/physiopathology; Lung/metabolism; Inflammation; Oxydants; Antioxidants; Oxidative stress

1. Doutor em Pneumologia pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ; Professor Adjunto de Pneumologia e Fisiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ - Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

2. PhD pelo National *Heart and Lung Institute, Imperial College*, Londres. Pós-Doutorado no *Institut Pasteur* de Paris. Professor Titular de Pneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ - Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

Endereço para correspondência: José Roberto Lapa e Silva. Av. Brigadeiro Trompovski s/n, Ilha do Governador - CEP: 21944-970, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. E-mail: jrlapa.ntg@terra.com.br

Recebido para publicação em 12/7/05. Aprovado, após revisão, em 18/8/05.

INTRODUÇÃO

A prevalência da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) tem aumentado em todo o planeta, devido à permanente exposição das pessoas aos fatores de risco, já conhecidos: tabagismo, exposição ocupacional ao cádmio e à sílica e índices maiores de poluição em lugares abertos e fechados. Esses fatores, associados à maior expectativa de vida da população, fizeram com que a Organização Mundial de Saúde considerasse a DPOC uma epidemia, prevendo a sua eclosão no ano de 2020, quando poderá então se tornar a terceira maior causa de mortalidade e a quinta doença em prevalência. Nessa perspectiva negativa, esforços estão sendo feitos para se conseguir modificar essa catástrofe médica e econômica, já que nos dias atuais o gasto com o tratamento é extremamente elevado. Exemplo disto é o custo anual de 24 bilhões de dólares para o diagnóstico e tratamento de 16 milhões de doentes nos EUA.⁽¹⁻²⁾

Nos últimos anos, vários pesquisadores exploraram novos horizontes fisiopatogênicos, o que permitiu a mudança do enfoque, até então quase que exclusivamente relacionado à função pulmonar, para o estudo celular e bioquímico da doença. Isto foi introduzido na definição da DPOC pela *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease - GOLD*.⁽²⁾ Na DPOC ocorrem alterações dos componentes celulares do pulmão, com aumento do número de macrófagos, neutrófilos e linfócito CD8⁺, excesso de produtos oxidativos e a facilitação de colonização por microorganismos.⁽³⁾ Tais fatores interagem de modo a recrutar mais células pró-inflamatórias. Nas áreas de maior ventilação pulmonar ocorre a destruição periférica dos ligantes (*attachments*) dos alvéolos, facilitando a sua fusão e hiperinsuflação (enfisema).⁽³⁻⁴⁾

As células e componentes bioquímicos envolvidos na patogenia da DPOC serão detalhados a seguir.

CÉLULAS INFLAMATÓRIAS NA DPOC

Neutrófilos

Os neutrófilos são uma das células centrais no mecanismo fisiopatogênico da DPOC, em que existem claramente acúmulo e ativação deste tipo celular. Os neutrófilos são abundantes no sangue, mas praticamente ausentes nos tecidos pulmonares em pessoas saudáveis. Possuem meia-vida curta,

sobrevivendo poucas horas (seis horas, em média) depois de liberados pela medula óssea. Em uma reação inflamatória produzem-se vários fatores quimiotáticos para os neutrófilos, que rapidamente migram para o sítio de inflamação, onde exercem função fagocítica contra bactérias, fungos e vírus, e liberam substâncias que são tóxicas aos microorganismos e lesivas aos tecidos, como metabólitos do oxigênio, proteases, fosfolipases e óxido nítrico.⁽⁵⁻⁶⁾

Em tabagistas, os neutrófilos estão aumentados no escarro e no lavado broncoalveolar (Figura 1). Porém, nas amostras de tecido pulmonar não se consegue confirmar esse aumento. Acredita-se que isto ocorra pela rápida migração dos neutrófilos para o alvéolo e pela heterogeneidade do processo inflamatório.⁽⁶⁻⁷⁾ Outro fator importante é que o neutrófilo possui aproximadamente 8 μ , enquanto que o diâmetro do capilar pulmonar é de 5,5 μ . Assim, o neutrófilo deve se deformar para fluir adequadamente pela corrente sanguínea. Mas, apesar do seu tamanho, o sítio preferencial de sua localização no leito vascular é o capilar pulmonar, sendo que, algumas vezes, permanecem minutos nessa região. Quando estimulado por algumas substâncias o neutrófilo se enrijece e não consegue progredir na circulação sanguínea, ficando seqüestrado no local.⁽⁶⁻⁷⁾

Alguns fatores aumentam a adesão neutrofilica, como os fragmentos do complemento, especialmente o C5a, fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina-1 (IL-1) e lipopolissacarídeos.⁽⁴⁾

Tanto a estrutura quanto a função dos neutrófilos estão modificadas nos tabagistas. O fumo

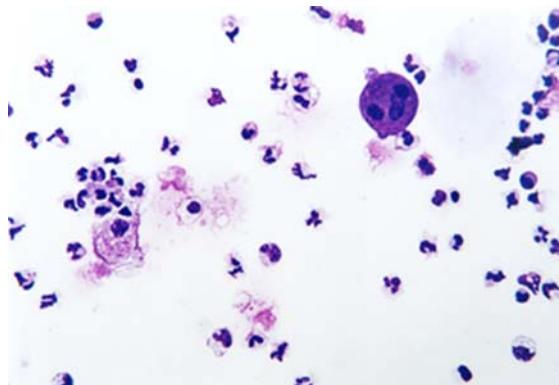


Figura 1- Escarro induzido neutrofilico em doença pulmonar obstrutiva crônica

aumenta o número de inclusões citoplasmáticas de algumas células residentes no pulmão e altera a fixação do receptor para o composto C3 do complemento ativado, o que dificulta a fagocitose. Diminui também as rugosidades da membrana dos neutrófilos e macrófagos.⁽⁵⁾

Substâncias protéicas são liberadas dos grânulos de neutrófilos, como elastase, fosfatase ácida, beta-glucuronidases, mieloperoxidase, metaloproteinases, lipocaína associada a gelatinase, proteinase 3 (PR3) e catepsina G (CG), e tais substâncias podem participar direta ou indiretamente da destruição do parênquima pulmonar. Outros produtos com capacidade de promover quimiotaxia e ativação de outros neutrófilos, como a IL-8 e o leucotrieno B4, são liberados pelo neutrófilo. Exercem, assim, amplificação e perpetuação do processo inflamatório neutrofilico. Estas substâncias contribuem para a alteração do balanço entre produção e degradação de proteínas da matriz extracelular, que leva à destruição da parede alveolar.⁽⁷⁻⁸⁾

A apoptose dos neutrófilos pode estar alterada nos pacientes com DPOC que utilizam corticosteróides. Na asma, em que o eosinófilo é uma das principais células envolvidas no processo inflamatório, o corticosteróide amplifica a apoptose e aumenta a depuração macrófagica dos eosinófilos, diminuindo o processo inflamatório. Na DPOC, o corticosteróide prolonga a sobrevivência dos neutrófilos, mantendo o processo neutrofilico pulmonar; contudo, estimula a fagocitose dos macrófagos em até três vezes mais. Outro fator que diminui a apoptose dos neutrófilos é a persistência da hipóxia celular, muito freqüente em DPOC graves.⁽⁹⁻¹⁰⁾

Linfócitos

Evidências acumuladas nos últimos seis anos indicam que a DPOC é uma doença com forte participação patogênica de linfócitos T CD8⁺ citotóxicos. A resposta imune adaptativa é normalmente iniciada na criança após vacinas e infecções e depende preferencialmente dos linfócitos. A associação e o equilíbrio da imunidade inata, feita por neutrófilos, macrófagos e células NK, entre outras, e da imunidade adaptativa fortalecem o sistema de defesa contra microorganismos potencialmente patogênicos e outros antígenos.⁽¹¹⁾

Todos os efeitos dos linfócitos T dependem da interação com células que contêm proteínas não inatas. O complexo de histocompatibilidade prin-

cipal (MHC - *major histocompatibility complex*), que são glicoproteínas da membrana celular ligadas a peptídeos antigênicos, pode ser de duas classes: MHC I e MHC II.⁽¹¹⁾

Os subtipos de linfócitos CD4⁺ são mais conhecidos. Os CD4⁺ que secretam gama interferon (IFN- γ), IL-2 e TNF- β , mas não IL-4, IL-5, IL-10 ou IL-13 são designados linfócitos T *helper* 1 (Th1). O outro subtipo, o Th2, diferencia-se porque não secreta IFN- γ , IL-2 e TNF- β e, sim, IL-4, IL-5, IL-10 ou IL-13. Os linfócitos Th0 secretam todas as substâncias.⁽¹¹⁾

Os linfócitos T CD8⁺ expressam moléculas MHC I e os linfócitos T CD4⁺, MHC II. Além desta diferença, as células T CD8⁺ possuem alta suscetibilidade para apoptose e baixa sobrevivência. Este último dado pode ser um dos fatores para explicar o pouco conhecimento das células CD8⁺. Outro fator de importância na diferenciação entre os subtipos de linfócitos é a alta resistência para apoptose induzida pela ligação do receptor Fas nos linfócitos T CD4⁺.⁽¹²⁾

Os linfócitos CD8⁺ podem se diferenciar em Tc1, que secretam IFN- γ , mas não IL-4, e em Tc2, que secretam IL-4 e não IFN- γ . Diferentes das células CD4⁺ Th1 e Th2, os CD8⁺ são igualmente citotóxicos. Todavia o nível de toxicidade dependerá da expressão da classe MHC I e da possibilidade de sua co-estimulação.⁽¹¹⁾

Há diferenças na estimulação dos linfócitos CD8⁺ dependendo das interleucinas liberadas. A IL-12 aumenta Tc1, e a IL-4 inibe a proliferação de Tc1.

Os linfócitos CD8⁺ predominam nas regiões perivasculares, enquanto que os CD4⁺ predominam no subepitélio. Quando ocorre ativação dos CD8⁺, eles levam à citólise de células infectadas ou alteradas do

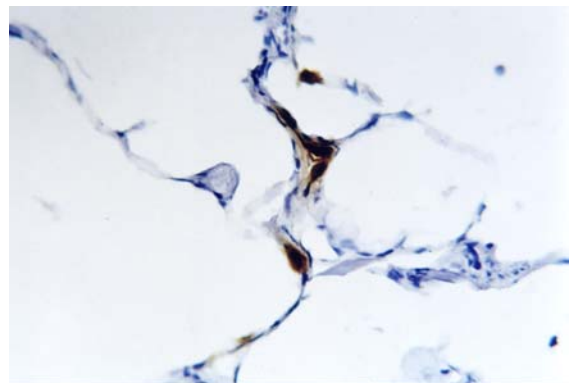


Figura 2 - Marcação de subtipos celulares de linfócitos T CD8⁺ em biópsia de doença pulmonar obstrutiva crônica

hospedeiro, através da liberação de IFN- γ e TNF- α , ocasionando rápida resolução de infecções virais. A excessiva e inapropriada estimulação de CD8⁺, em modelos experimentais, tem demonstrado alterações patológicas destrutivas pulmonares (Figura 2).⁽¹³⁾

Alguns autores⁽¹⁴⁻¹⁵⁾ publicaram trabalhos que evidenciavam o aumento da concentração de CD8⁺ nos pulmões de pacientes com DPOC fumantes em relação a não fumantes. Outros⁽¹⁶⁾ também encontraram maior população de células CD8⁺ no sangue periférico em pacientes com DPOC.

Eosinófilos

O papel dos eosinófilos na patogenia da DPOC é ainda controverso e aberto a especulações. Os eosinófilos são oriundos de células tronco da medula óssea, assim como os basófilos. Os progenitores celulares eosinofílico-basofílicos podem também ser encontrados na circulação. Muitos fatores, como a IL-5, estimulam a seletividade na diferenciação de células progenitoras para eosinófilos.

O eosinófilo é uma das células diretamente relacionadas à asma. Na DPOC, alguns trabalhos têm demonstrado a sua presença nas exacerbações, bem como nas fases de estabilidade da doença, através de biópsias, lavado broncoalveolar e escarro.⁽¹⁷⁻¹⁸⁾ Pensava-se, inicialmente, que havia eosinófilos somente num subgrupo de DPOC, com comportamento clínico similar à asma, mas vários trabalhos têm enfatizado a presença de eosinófilos na agudização da DPOC (Figura 3).

Alguns autores⁽¹⁹⁾ demonstraram, em bronquítis crônicas, o aumento de quimiotáxicos para eosinófilos: eotaxina, proteína quimiotáxica para

monócito 4 (MCP 4 -*monocyte chemoattractant protein*) e RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*). Tais achados demonstram a similaridade entre a inflamação na asma brônquica e na exacerbação da bronquite crônica. Uma teoria proposta é a de que durante a exacerbação, RANTES e linfócitos CD8⁺ atuam sinergicamente aumentando a apoptose dependente do ligante Fas para células infectadas.⁽⁹⁾

Macrófagos

Os macrófagos apresentam um importante papel no desenvolvimento da DPOC e encontram-se em número aumentado tanto na parede brônquica quanto no parênquima pulmonar, especialmente nos espaços alveolares, em pacientes com DPOC. Macrófagos são células derivadas da medula óssea e do monócito sangüíneo. É o tipo celular mais freqüente dentre os que residem no pulmão. Possuem várias funções: fagocitam partículas ou antígenos; participam da apresentação de antígenos aos linfócitos T; e são capazes de liberar várias citocinas e metabólitos ativos do ácido araquidônico. Apresentam importante pleomorfismo no pulmão, com tamanhos diferentes, o menor com intensa capacidade de fagocitose e os maiores com grande atividade bioquímica.⁽²⁰⁻²¹⁾

Em geral, os macrófagos representam na contagem celular do lavado broncoalveolar 90% das células aspiradas. Nos fumantes, pode até ser mantido este percentual; contudo, o número absoluto costuma ser quatro a cinco vezes maior. Estão localizados difusamente desde nas grandes vias aéreas até no alvéolo (Figura 4).

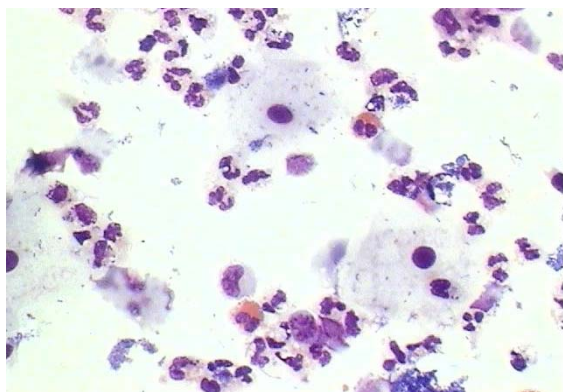


Figura 3 - Paciente com doença pulmonar obstrutiva crônica sem exacerbação há mais de dois meses com eosinófilos no material de escarro induzido

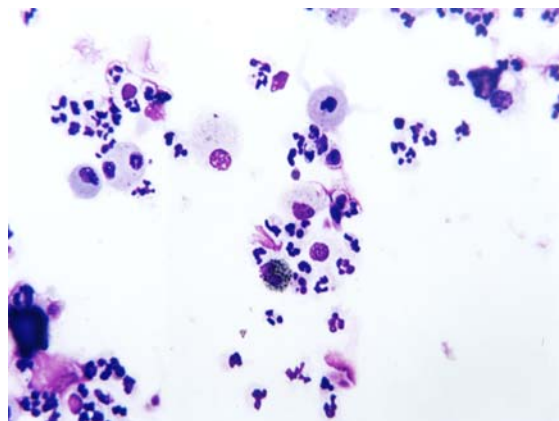


Figura 4 - Escarro induzido de paciente com doença pulmonar obstrutiva crônica de predomínio macrofágico

Nos tabagistas, há uma maior liberação de lisossomas, até cinco vezes mais do que nos não fumantes, secretando uma variedade de substâncias: metabólitos do ácido araquidônico - tromboxano A₂, prostaglandina E₂, prostaglandina D₂, prostaglandina F_{2a}, leucotrieno B₄, 5-HETE (hidroxieicosatetraenóico); citocinas - IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- α e β , IL-10, IL-12, IL-15, fator inibitório de macrófagos; metabólitos do oxigênio - ânion superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxila (OH⁻); enzimas - metaloproteases, elastases; e óxido nítrico.⁽²²⁾

PAPEL DAS INFECÇÕES

Vírus

Alguns autores⁽²³⁾ propuseram que a infecção viral latente pelo adenovírus na mucosa das vias aéreas de algumas pessoas levava ao excessivo recrutamento de células inflamatórias quando expostas ao fumo. O adenovírus aumenta a via pró-inflamatória do fator nuclear κ B (NF κ B - nuclear factor κ B), aumentando a indução de ICAM 1 e IL-8.

Outros autores⁽¹⁹⁾ formularam a hipótese de que em pacientes com bronquite crônica, durante a fase de exacerbação, a infecção viral causa um aumento da indução da expressão de RANTES epitelial. Os vírus mais envolvidos são rinovírus, vírus sincicial respiratório e o influenza, mas pode haver bactérias também.⁽²⁴⁾

Bactérias

A perda dos cílios devida ao tabagismo pode alterar a resposta de depuração mucociliar, principalmente de bactérias, e predispor à colonização

Quadro 1- Principais antiproteases e proteases que participam da doença pulmonar obstrutiva crônica

Antiproteases	Proteases
α_1 antitripsina	Elastase neutrofilica
α_2 macroglobulina	Proteinase neutrofilica
Inibidor de leucoproteases	Proteinase 3 neutrofilica
TIMP 1	Catepsina G neutrofilica
TIMP 2	Metaloproteinase neutrofilica
	Metaloproteinase do macrófago
	Catepsina S
	Cisteína proteinase

TIMP: *tissue inhibitors of metalloproteinases*.

e infecções recorrentes, com altas concentrações de proteinases, metaloproteases e mediadores citoquímicos (IL-6, IL-8), resultando em processo inflamatório persistente.⁽²⁵⁻²⁶⁾

PROTEASES E ANTIPROTEASES

Inibidores de proteinases

A α 1-antitripsina é uma glicoproteína de 52kDa sintetizada primariamente pelo fígado; consiste em uma cadeia de polipeptídeo de 394 aminoácidos, e possui atividade de inibição proteolítica da elastase neutrofilica e de outras proteinases. Em 1963, alguns autores⁽²⁷⁾ propuseram uma associação entre a deficiência sérica de α 1-antitripsina e enfisema, originando uma teoria de desbalanço entre proteinase e antiproteinase para a gênese da DPOC. A sua deficiência genética traduz-se em enfisema pulmonar em jovens não fumantes (Quadro 1).

A α 2-macroglobulina é uma grande proteína usualmente restrita à corrente sanguínea (725.000 kDa), que inibe proteinases de várias classes através da clivagem de partes suscetíveis das moléculas.⁽²⁸⁾

A α 1-antitripsina é o principal inibidor de proteinases. A inibição das proteinases neutrofilicas dá-se com maior rapidez do que com outras proteinases.⁽²⁸⁻²⁹⁾

O inibidor de leucoprotease secretória é uma molécula com 12 kDa, produzida pelas células epiteliais das vias aéreas e pelo pneumócito tipo 2, que consegue inibir a elastase neutrofilica, a catepsina G e outras proteinases.⁽³⁰⁾

Inibidores de metaloproteases

Os inibidores de metaloproteases (TIMP - *tissue inhibitors of metalloproteinases*), no total de quatro, são secretados por várias células e estão presentes em grandes concentrações nos tecidos. Os macrófagos secretam as metaloproteases e também os TIMP-1 e TIMP-2. Os TIMP-1 realizam uma ligação com o C-terminal das metaloproteases. Os TIMP-2 interagem especificamente com as gelatinases A e B, respectivamente com as metaloproteases 2 e 9.⁽²⁸⁻³⁰⁾

Proteinases neutrofilicas

Correspondem a um grupo de enzimas com funções biológicas distintas, incluindo enzimas digestivas de glândulas exócrinas, fatores de coagulação e proteinases associadas a grânulos de leucócito. As serinoproteases são sintetizadas

como pró-enzimas no retículo endoplasmático (por exemplo, nos grânulos azurofílicos).^(5,30-31)

Elastase neutrofílica

A elastase neutrofílica tem atividade contra as proteínas da matriz extracelular, em especial, a elastina. Está diretamente envolvida na gênese da DPOC. Vários trabalhos demonstram o seu aumento nos lavados broncoalveolares e escarros dos tabagistas.⁽⁵⁻⁶⁾

Catepsina G neutrofílica

É armazenada nos grânulos neutrofílicos e, em concentrações menores, nos mastócitos e monócitos. Também exerce atividade contra a elastina, mas tem atividade de destruição de outras proteínas da matriz celular. Está relacionada à facilitação da penetração dos neutrófilos no endotélio e epitélio brônquico.^(5,30)

Metaloproteinase neutrofílica

Os neutrófilos contêm duas metaloproteinases da matriz: gelatinase B e colagenase neutrofílica. A colagenase degrada o colágeno intersticial. A gelatinase atua contra gelatinas, componentes da membrana basal e elastina.^(5,30)

Cisteína (tiol) proteinase do macrófago

O macrófago alveolar humano produz a lisosomol-tiol-proteinase e as catepsinas B, H, L e S. Estas enzimas possuem várias similaridades, com atividade máxima em pH ácido, e atuam na matriz extracelular pulmonar. A catepsina S tem atividade elastolítica.⁽²⁹⁾

Metaloproteinases do macrófago

As metaloproteinases constituem-se numa família de enzimas (mais de vinte enzimas, que degradam a matriz extracelular pulmonar). São essenciais para o desenvolvimento normal do tecido pulmonar, bem como para o remodelamento e reparo. Expressões anormais têm sido encontradas e relacionadas à destruição pulmonar da DPOC. São secretadas como pró-enzimas e ativadas na superfície da membrana celular ou dentro do espaço extracelular, pela clivagem proteolítica do N-terminal.^(5,30)

As metaloproteinases podem ser classificadas como colagenases, gelatinases, estromelinas, matrilisinas e metaloelastases.

COMENTÁRIOS FINAIS

O trato respiratório é constantemente exposto

aos efeitos oxidantes. O oxigênio, gases inalados, peróxido de oxigênio, óxido nítrico, dióxido de enxofre e fumaça de cigarro possuem forte efeito oxidante. Durante processos infecciosos pulmonares, oxidantes são formados pelos granulócitos e macrófagos. Estas células produzem oxidantes para destruir os microorganismos; contudo, apresentam também efeito destrutivo no tecido onde eles estão situados.^(1,3,32)

O fumo contém mais de 1.017 partículas e muitas são produtos oxidantes, incluindo óxidos de nitrogênio, radicais orgânicos livres e aldeídos (acroleína). Muitas células inflamatórias são recrutadas para o pulmão em resposta à fumaça do cigarro, as quais também geram mais radicais oxidantes. Os antioxidantes, tais como a superóxido-dismutase, também aumentam nos tabagistas. Todavia, apesar deste balanço oxidante e antioxidante estar alterado na DPOC, seu real significado funcional ainda não foi provado.^(2,32)

Os produtos da oxidação podem inativar a α 1-antitripsina *in vitro* e o inibidor de leucoprotease. As moléculas reativas do oxigênio (O_2^- , H_2O_2 , OH $^-$, ONOO $^-$) podem atuar aumentando a secreção de muco e a permeabilidade capilar, e levando à broncoconstrição. O estresse oxidativo também pode atuar aumentando o fator de transcrição NF κ B, com conseqüente aumento da liberação de IL-8 e TNF- α , levando a mais recrutamento neutrofílico.⁽³²⁻³³⁾

A idéia de que o enfisema resulta da lesão proteolítica dos septos alveolares tem se mantido como a teoria que mais se adapta aos conhecimentos adquiridos nestes últimos anos. Pela hipótese de desequilíbrio entre protease e antiprotease, ocorreria uma liberação episódica ou regular de proteinases no tecido pulmonar capaz de digerir as proteínas de sustentação da estrutura pulmonar. Normalmente, o pulmão é protegido pela ação de inibidores de proteases, principalmente provenientes do sangue, mas que também podem ser produzidos localmente. O enfisema resultaria num desequilíbrio da relação entre protease e antiprotease, favorecendo as proteases. O reparo pulmonar seria feito de forma insuficiente e deficiente e logo mudanças funcionais poderiam ser verificadas. É evidente que os fatores de risco já determinados seriam os principais determinantes do início do processo inflamatório celular e do estresse oxidativo. Quando associados a uma predisposição genética, levariam a uma disfunção das células inflamatórias, como os linfóci-

tos T CD8⁺ e os macrófagos, que se manteriam ativados no tecido pulmonar, acarretando progressiva destruição parenquimatosa e tendo como consequência final a DPOC (Figura 5).

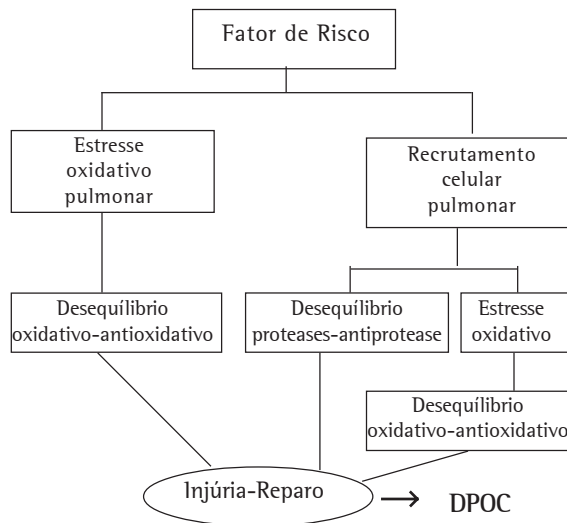


Figura 5 - Modelo do processo inflamatório na doença pulmonar obstrutiva crônica

REFERÊNCIAS

- Barnes PJ. Small airways in COPD. *N Engl J Med.* 2004;350(56):2635-7. Comment in: *N Engl J Med.* 2004;351(14):1459-61; author reply 1459-61. Comment on: *N Engl J Méd.* 2004;350(26):2645-53.
- Pauwels RA, Buist AS, Calverley PM, Jenkins CR, Hurd SS; GOLD Scientific Committee. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Workshop summary. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(5):1256-76. Comment in: *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(5):1047-8.
- Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2000;343(4):269-80. Comment in: *N Engl J Med.* 2000;343(26):1969-70; author reply 1970-1; *N Engl J Med.* 2000;343(26):1970; author reply 1970-1; *N Engl J Med.* 2000;343(26):1970; author reply 1970-1.
- Barnes PJ. New concepts in chronic obstructive pulmonary disease. *Annu Rev Med.* 2003;54:113-29.
- Dallegri F, Ottonello. Tissue injury in neutrophilic inflammation. *Inflamm Res.* 1997;46(10):382-91. Comment in: *Inflamm Res.* 1998;47(6):237-8.
- Wagner JG, Roth RA. Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacol Rev.* 2000;52(3):349-74.
- Jeffery PK. Inflammation in chronic obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:S3-S4.
- Haslett C. Granulocyte apoptosis and its role in the resolution and control of lung inflammation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160(5 Pt 2):S5-11.
- Salamone G, Giordano M, Trevani AS, Gamberale R, Vermeulen M, Schettini J, et al. Promotion of neutrophil apoptosis by TNF-alpha. *J Immunol.* 2001;166(5):3476-83.
- Barnes PJ, Ito K, Adcock IM. Corticosteroid resistance in chronic obstructive pulmonary disease: inactivation of histone deacetylase. *Lancet.* 2004;363(9410):731-3.
- Liu CC, Young LH, Young JD. Lymphocyte-mediated cytolysis and disease. *N Engl J Med.* 1996;335(22):1651-7.
- Majo J, Ghezzi H, Cosio MG. Lymphocyte population and apoptosis in the lungs of smokers and their relation to emphysema. *Eur Respir J.* 2001;17(5):946-53.
- Lapa e Silva JR, Guerreiro D, Noble B, Poulter LW, Cole PJ. Immunopathology of experimental bronchiectasis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1989;1(4):297-304.
- O'Shaughnessy T, Ansari TW, Barnes NC, Jeffery PK. Inflammation in bronchial biopsies of subjects with chronic bronchitis: inverse relationship of CD8⁺ T lymphocytes with FEV₁. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155(3):852-7.
- Saetta M, Di Stefano A, Turato G, Facchini FM, Corbino L, Mapp CE, et al. CD8⁺ T-lymphocytes in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157(3 Pt 1):822-6.
- De Jong JW, Van der Belt-Gritter B, Koeter GH, Postma DS. Peripheral blood lymphocyte cell subsets in subjects with chronic obstructive pulmonary disease: association with smoking, IgE and lung function. *Respir Med.* 1997;91(2):67-76.
- Pizzichini E, Pizzichini MM, Gibson P, Parameswaran K, Gleich GJ, Berman L, et al. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158(5 Pt 1):1511-7.
- Keatings VM, Barnes PJ. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155(2):449-53.
- Zhu J, Qiu YS, Majumdar S, Gamble E, Matin D, Turato G, et al. Exacerbations of bronchitis: bronchial eosinophilia and gene expression for interleukin-4, interleukin-5, and eosinophil chemoattractants. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164(1):109-16. Comment in: *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164(1):3-4.
- Niewoehner DE, Kleinerman J, Rice DB. Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Engl J Med.* 1974;291(15):755-8.
- Hogg JC, Senior RM. Chronic obstructive pulmonary disease part 2: pathology and biochemistry of emphysema. *Thorax.* 2002;57(9):830-4.
- Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes para cessação do tabagismo. *J Bras Pneumol.* 2004;30(Supl 2):S8-10.
- Keicho N, Elliott WM, Hogg JC, Hayashi S. Adenovirus E1A upregulates interleukin-8 expression induced by endotoxin in pulmonary epithelial cells. *Am J Physiol.* 1997;272(6 Pt 1):L1046-52.

24. Hussell T, Baldiwn CJ, O'Garra A, Openshaw PJ. CD8+ T cells control Th2-driven pathology respiratory syncytial virus infection. *Eur J Immunol.* 1997;27(12):3341-9.
25. Senior RM, Anthonisen NR. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157(4 Pt 2):S139-47.
26. Murphy TF, Sethi S. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis.* 1992;146(4):1067-83.
27. Laurell CB, Erickson S. The electrophoretic alpha-1 globulin pattern of serum in alpha-1-antitrypsin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest.* 1963;15:132-40.
28. Shapiro SD. Elastolytic metalloproteinases produced by human mononuclear phagocytes. Potential roles in destructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150(6 Pt 2):S160-4.
29. Finlay GA, O'Driscoll LR, Russell KJ, D'Arcy EM, Masterson JB, Fitz Gerald MX, et al. Matrix metalloproteinase expression and production by alveolar macrophages in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156(1):240-7. Comment in: *Thorax.* 1999;54(5):378.
30. Shapiro SD. Evolving concepts in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. In: Rochester C, editor. *Clinics in chest medicine.* Philadelphia: WB Saunders; 2000. p. 633-44.
31. Fels AO, Cohn ZA. The alveolar macrophage. *J Appl Physiol.* 1986;60(2):353-69.
32. Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. *Am J Med.* 1991;91(3C):2S-13S.
33. Doelman CJ, Bast A. Oxygen radicals in lung pathology. *Free Rad Biol Med.* 1990;9(5):381-400.