

CAPITOLO

4

PATOGENESI

DELL'ASMA

MESSAGGI PRINCIPALI

- L'asma è una malattia infiammatoria cronica delle vie aeree con ricorrenti riacutizzazioni.
- L'infiammazione cronica delle vie aeree è sempre associata con il danno e la riparazione dell'epitelio bronchiale, che provoca modificazioni strutturali e funzionali, conosciute con il termine di rimodellamento.
- L'infiammazione, il rimodellamento ed un alterato controllo neurogeno delle vie aeree causano sia ricorrenti riacutizzazioni dell'asma, che un'ostruzione bronchiale più persistente.
- La possibilità di un'eccessiva costrizione delle vie aeree costituisce la più importante alterazione funzionale nell'asma.
- Un'eccessiva costrizione delle vie aeree è provocata da un alterato comportamento della muscolatura liscia, in stretta interazione con l'edema della parete delle vie aeree, le forze retrattili parenchimali e le secrezioni intraluminali.
- Le riacutizzazioni di asma sono associate ad un aumento dell'infiammazione delle vie aeree e, nei soggetti suscettibili, possono essere causate da infezioni respiratorie, esposizione ad allergeni, oppure esposizione ad agenti sensibilizzanti professionali.
- L'insufficienza respiratoria in corso di asma è una conseguenza della chiusura delle vie aeree, di alterazione del rapporto ventilazione/perfusione e dell'esaurimento della muscolatura respiratoria.

INTRODUZIONE

Il concetto corrente della patogenesi dell'asma è che il caratteristico processo infiammatorio cronico che coinvolge le vie aeree sia la causa dello sviluppo di broncoostruzione e dell'aumentata responsività delle vie aeree; quest'ultima predispone le vie aeree a chiudersi in risposta ad una varietà di stimoli (**Figura 1-9** e **Figura 4-1**). Le componenti caratteristiche dell'infiammazione delle vie aeree sono un aumentato numero di eosinofili, mastociti, macrofagi e linfociti T attivati nella mucosa delle vie aeree e nel lume bronchiale. Queste modificazioni possono essere presenti anche quando l'asma è in uno stadio asintomatico e la loro estensione sembra essere grossolanamente correlata alla gravità clinica della malattia^{1,2}. Parallelamente al processo infiammatorio cronico, il danno dell'epitelio bronchiale stimola processi riparativi che esitano in cambiamenti strutturali e funzionali definiti con il termine di "rimodellamento"³. I ricorrenti episodi di sintomi e broncoostruzione reversibile che caratterizzano l'asma, rappresentano una risposta infiammatoria acuta che agisce su vie aeree strutturalmente e funzionalmente alterate.

INFIAMMAZIONE DELLE VIE AEREE NELL'ASMA

L'infiammazione delle vie aeree nell'asma è estremamente complessa quanto ad origine, regolazione e decorso. I meccanismi coinvolgono una cascata di eventi che comprendono molti differenti tipi di cellule, fattori e mediatori, i quali interagiscono per creare la flogosi ed i processi di rimodellamento tissutale caratteristici dell'asma.

Patogenesi immunologica dell'infiammazione delle vie aeree

Il sistema immunitario può essere suddiviso in processi mediati da anticorpi e processi mediati da cellule⁴. I processi mediati da anticorpi sono caratterizzati dalla produzione e dalla secrezione di anticorpi specifici da parte dei linfociti B, mentre i processi mediati da cellule dipendono dai linfociti T. I linfociti T controllano la funzione dei linfociti B ed esercitano anche azioni proinfiammatorie attraverso l'attività citotossica (da parte dei linfociti T "killer" CD8+) e la secrezione di citochine.

In molti casi, specialmente nei bambini ed in giovani adulti, l'asma è associato con atopia, che si manifesta attraverso meccanismi che dipendono dalle immunoglobuline E (IgE)⁵. A livello di popolazione, il contributo dell'atopia al fenotipo dell'asma è stato stimato essere del 40% sia nei bambini che negli adulti⁶. Un anticorpo monoclonale non anafilattogeno anti-IgE (E-25) è in grado di ridurre notevolmente la risposta delle vie aeree precoce e tardiva, l'aumento dell'iperresponsività bronchiale e la migrazione degli eosinofili nel lume delle vie aeree che segue alla provocazione con antigeni inalati. Questo anticorpo anti-IgE si è anche dimostrato efficace nel migliorare il controllo dell'asma in studi clinici. Queste osservazioni forniscono un'evidenza certa del ruolo essenziale delle IgE in una parte dei pazienti asmatici⁷⁻⁸.

Sono stati caratterizzati almeno due distinti sottotipi di linfociti T-helper (Th) CD4+, sulla base del loro profilo di produzione citochinica⁹⁻¹¹. Benché entrambi i sottotipi di linfociti T secernano IL-3 e GM-CSF, il sottotipo Th1 produce preferenzialmente IL-2, che stimola la proliferazione dei linfociti T, interferone- γ (IFN- γ) (che inibisce l'attivazione dei linfociti B e la sintesi di IgE) e fattore di crescita tumorale- β (tumor necrosis factor, TNF- β)⁹⁻¹¹ (**Figura 4-1**). Il sottotipo Th2, principalmente coinvolto nell'asma, secerne le citochine IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 ed IL-16. Le citochine di tipo Th2 sono responsabili dello sviluppo della classica reazione di ipersensibilità ritardata o cellulo-mediata.

L'IL-4 è una citochina cruciale nella risposta allergica, promuovendo il passaggio isotipico nelle cellule B verso la sintesi di IgE, dirigendo i linfociti T verso una via di differenziazione di tipo Th2, aumentando l'espressione della molecola di adesione vascolare cellulare 1 (VCAM-1) e controllando il livello di espressione di IgE Fc ϵ , recettori di citochine e chemochine e dei leucociti coinvolti nella cascata della reazione allergica. La somministrazione del recettore solubile dell'IL-4 (che si lega all'IL-4 libera, evitando che si leghi

ai recettori dell'IL-4 associati alle cellule) ha dimostrato di possedere effetti antinfiammatori benefici sia in modelli animali che in studi clinici preliminari in pazienti con asma^{12,13}. Anche l'IL-13, un'altra citochina Th2 che possiede molteplici effetti sulle componenti immuni e strutturali coinvolte nell'asma, potrebbe essere un valido strumento terapeutico¹⁴.

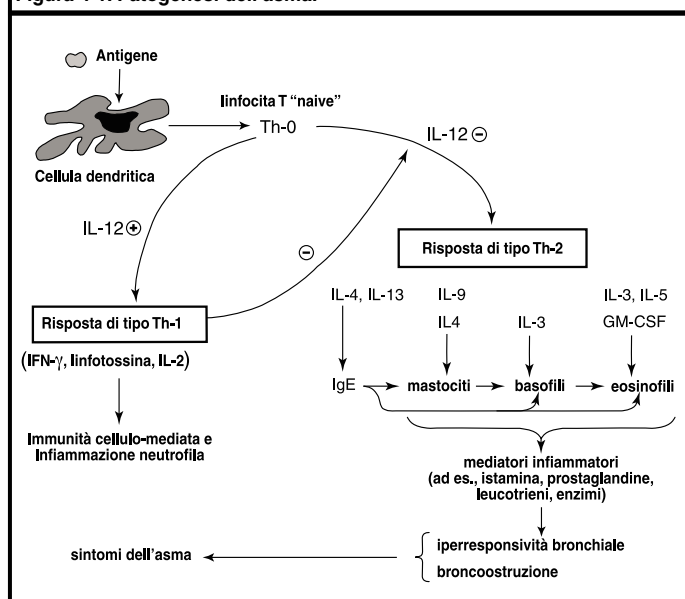
Un passaggio cruciale nello sviluppo di una risposta immunitaria è costituito dall'attivazione dei linfociti T da parte di antigeni ad essi adeguatamente presentati dalle cellule accessorie, un processo che coinvolge le molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (Major Histocompatibility Complex o MHC) (le molecole MHC di classe II sui linfociti T CD4+ e le molecole MHC di classe I sui linfociti T CD8+). Le cellule dendritiche sono le principali cellule che presentano gli antigeni nelle vie aeree. Esse originano da precursori nel midollo osseo¹⁵ e formano una estesa rete di cellule interdigitate lungo tutto l'epitelio bronchiale. Da questa localizzazione, esse migrano alle stazioni linfonodali locali sotto il controllo del fattore di stimolazione di colonie di granulociti-macrofagi (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor o GM-CSF), una citochina rilasciata da cellule epiteliali attivate, fibroblasti, linfociti T, macrofagi e mastociti. Dopo la cattura dell'antigene, che è favorita dalle IgE sulla superficie cellulare, le cellule dendritiche si muovono verso le regioni ricche di linfociti. Qui, sotto l'influenza di altre citochine, esse maturano e diventano cellule efficaci nella presentazione antigenica¹⁶. Le cellule dendritiche possono anche dirigere la polarizzazione dei linfociti T "naive" (Th0) verso il sottotipo Th2 che secreta in modo coordinato citochine che sono codificate da un gruppo di geni che si trovano nella regione cromosomica 5q31-33 ("cluster" del gene dell'IL-4) (Figura 4-1).

La presenza di linfociti e di eosinofili attivati nelle biopsie bronchiali di pazienti asmatici atopici e non atopici suggerisce che un'interazione tra linfociti T ed eosinofili è importante, un'ipotesi ulteriormente supportata dal riscontro di cellule che esprimono IL-5 in biopsie bronchiali di pazienti atopici con asma^{17,18}. L'IL-5 è una citochina importante per la regolazione degli eosinofili, ed il suo livello di espressione nella mucosa bronchiale di pazienti con asma correla con marcatori di attivazione sia dei linfociti T che degli eosinofili^{11,17}.

Asma intrinseco non-allergico

Le persone affette da asma intrinseco hanno prove cutanee negative e sono prive di storia di atopìa su base clinica o familiare. Le loro concentrazioni sieriche di IgE totali sono frequentemente a valori normali e non dimostrano alcuna evidenza di anticorpi IgE specifici diretti contro i comuni allergeni. Questa forma di asma è associata con polipi nasali e sensibilità all'aspirina, il suo esordio è spesso preceduto da una storia di infezioni da virus respiratori e colpisce soprattutto il sesso femminile. I pazienti con asma intrinseco sono generalmente più anziani rispetto ai loro analoghi allergici ed il loro decorso clinico è spesso più grave. Lo studio svizzero SAPALDIA su 8357 adulti di età compresa tra i 18 ed i 60 anni ha dimostrato che fino ad un terzo di tutti i casi di asma può essere classificato come non-allergico¹⁹.

Figura 4-1. Patogenesi dell'asma.

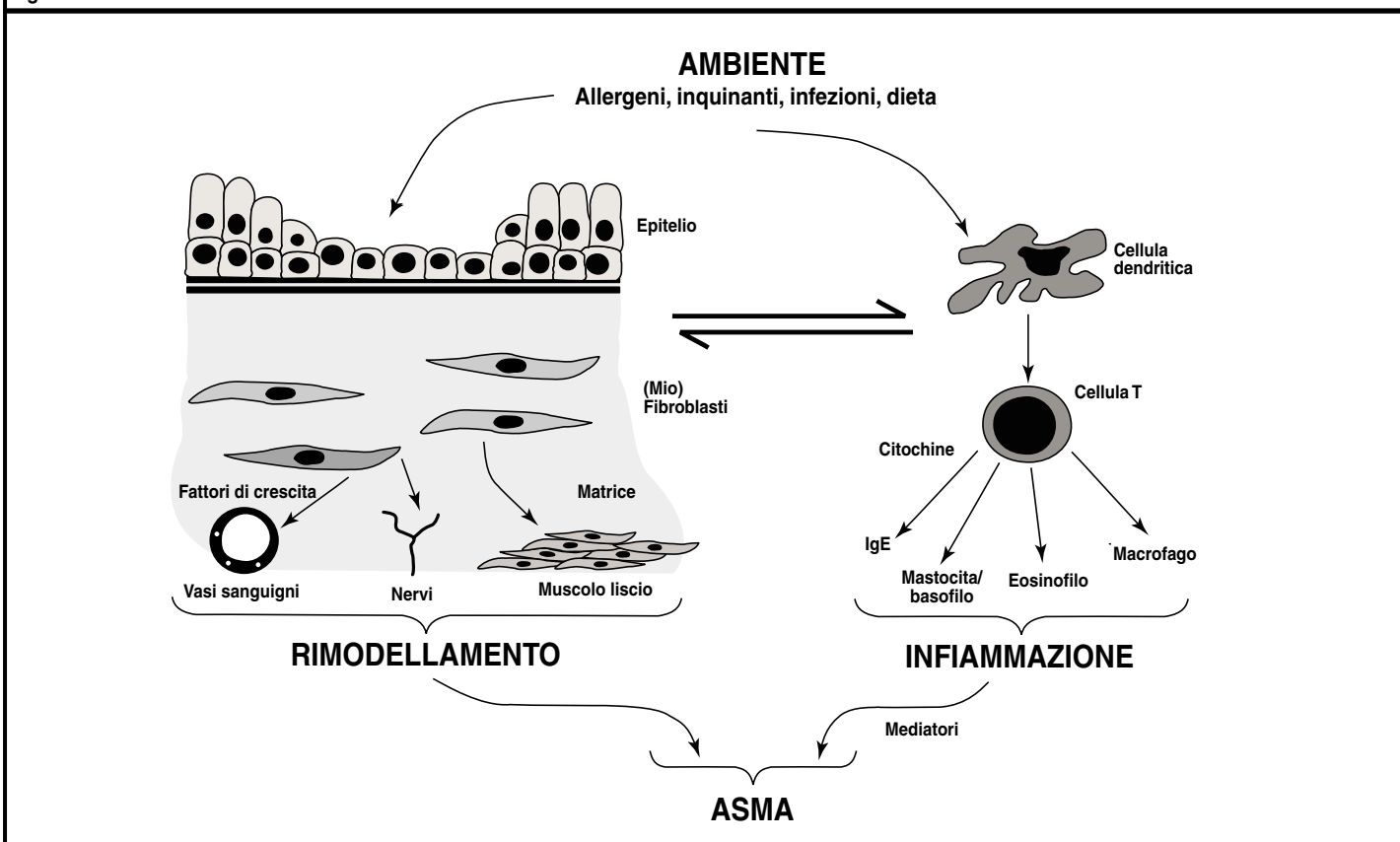


Dalla prima descrizione di asma intrinseco, c'è stato dibattito circa la correlazione di questa variante della malattia con l'atopia. Alcuni hanno sostenuto che l'asma intrinseco rappresenti una forma di autoimmunità, od autoallergia, scatenata da un'infezione. Altri hanno suggerito che le persone con asma intrinseco siano semplicemente sensibilizzate verso un allergene non ancora identificato²⁰. Anche se l'asma intrinseco ha un profilo clinico diverso da quello dell'asma atopico, non è tuttavia un'entità immunopatologica chiaramente distinta. Le biopsie delle vie aeree di individui con asma intrinseco evidenziano un profilo citochinico Th2 con cellule infiammatorie associate, proprio come nell'asma atopico²¹. Una piccola proporzione di casi di asma intrinseco potrebbe avere origine nel luogo di lavoro, con IgE non identificate o sensibilizzazione non sostenuta da IgE verso reattivi chimici (*vide infra*).

Infiammazione acuta

La provocazione con allergeni inalati in pazienti allergici determina una risposta allergica precoce, seguita in alcuni casi da una risposta in una fase tardiva. La risposta precoce deriva dall'attivazione di cellule che portano IgE allergene-specifiche, specialmente mastociti²² e macrofagi²³. Nei pazienti con una forte componente allergica del proprio asma, anche i basofili possono avere un ruolo. Il legame crociato delle IgE legate alle cellule dà inizio ad una serie di eventi biochimici che risultano nella secrezione non-citotossica di mediatori derivati da granuli quali l'istamina, gli enzimi proteolitici e glicolitici e l'eparina, e nella generazione di mediatori di nuova formazione, tra cui la prostaglandina PGD₂, il leucotriene C₄²⁴, l'adenosina e le sostanze reattive dell'ossigeno²⁵. Insieme, questi mediatori inducono la contrazione della muscolatura liscia delle vie aeree e stimolano nervi afferenti, l'ipersecrezione di muco, la vasodilatazione e lo stravasamento proteico a livello microvascolare²⁶ (Figura 4-2).

Figura 4-2. Infiammazione e rimodellamento nell'asma.



La risposta tardiva è stata considerata un modello sistemico per lo studio dei meccanismi dell'infiammazione nell'asma^{27,28}. Nel corso della risposta tardiva e durante esposizione ad allergeni naturali le cellule bronchiali attivate rilasciano citochine e chemochine nel circolo ematico, stimolando il rilascio di leucociti infiammatori, specialmente eosinofili e i loro precursori, dal midollo osseo^{29,30}.

Richiamo delle cellule infiammatorie nelle vie aeree

Le cellule del sangue periferico, compresi gli eosinofili, i basofili, i linfociti ed i monociti, sono richiamate all'interno delle vie aeree infiammate. Questo processo ha inizio con la sovra-regolazione di una serie di molecole di adesione endoteliale ad opera di specifici mediatori infiammatori. Queste molecole di adesione si attaccano ai rispettivi ligandi espressi sui leucociti in fase di rotolamento, determinando prima la solida adesione dei leucociti alle cellule endoteliali della microvascolatura³¹, quindi la migrazione attraverso l'endotelio ed all'interno dello spazio perivascolare. Anche le chemochine associate alle cellule hanno un ruolo importantissimo in questi processi, interagendo con i recettori sui leucociti e cooperando con le citochine eosinofilo-poietiche IL-5 e GM-CSF per favorire l'inizio e la direzione della migrazione e per indurre nei leucociti un'aumentata secrezione di mediatori^{32,33}.

Sopravvivenza delle cellule nei tessuti delle vie aeree

La sopravvivenza delle cellule infiammatorie nei tessuti delle vie aeree dipende da fattori esogeni. In circostanze normali, l'apoptosi (ovvero la morte cellulare programmata) delle cellule infiammatorie limita il danno infiammatorio tissutale e favorisce la risoluzione anziché la progressione della flogosi^{34,35}. Nell'asma, la sopravvivenza delle cellule infiammatorie attivate come gli eosinofili è notevolmente aumentata a seguito di un ridotto livello di apoptosi³⁶⁻³⁸. Molte tra le citochine e le chemochine ed alcune delle molecole della matrice, che sono sovra-esprese nelle vie aeree dei pazienti con asma, aumentano la sopravvivenza delle cellule infiammatorie³⁹.

Localizzazione dell'infiammazione nell'asma

Sebbene nell'asma notturno l'infiammazione si possa localizzare nel tessuto peribronchiale delle vie aeree e negli alveoli^{40,41}, l'asma è prevalentemente un'affezione che interessa le vie aeree di conduzione. Non vi è dubbio infatti che sia le vie aeree centrali che quelle periferiche siano infiammate e che l'infiammazione sia presente all'interno e all'esterno della tonaca muscolare liscia bronchiale; queste osservazioni hanno ovvie implicazioni per una ottimale somministrazione dei farmaci antinfiammatori. La ragione per cui la flogosi nell'asma coinvolge elettivamente le vie aeree di conduzione non è nota, ma è molto probabile che ciò dipenda dalle proprietà specifiche dell'epitelio delle vie aeree.

Oltre ad essere una barriera fisiologica, l'epitelio bronchiale ha un ruolo importante nell'orientare la risposta infiammatoria (Figura 4-2). Si è soliti ancora considerare l'asma allergico come una malattia prevalentemente di tipo immunitario, ma è egualmente valido il modello di una disfunzione epiteliale in cui la reazione al danno o allo stress (per esempio a virus, inquinanti o allergeni) induce un microambiente che facilita lo sviluppo di una risposta di tipo Th2. Le cellule epiteliali sono fonte di citochine e chemochine (per esempio GM-CSF, eotassina, RANTES) che sono in grado di favorire un'infiammazione eosinofila e di indurre la secrezione di fattori di crescita per i mastociti, come IL-6, e per le cellule staminali. Un aumento della comunicazione tra l'epitelio attivato e le cellule mesenchimali nella sottomucosa è anche in grado di causare il rilascio di grandi quantità di citochine con azione sugli eosinofili e sui mastociti. Se si considera la disfunzione dell'epitelio come una fondamentale alterazione nell'asma, si può fornire una spiegazione all'asma che non è collegato alle IgE, come l'asma intrinseco (ad esordio tardivo), l'asma da intolleranza all'aspirina (dovuto ad un difetto di produzione di PGE2) e l'asma professionale dovuto all'esposizione a sostanze chimiche reattive, come gli isocianati, di cui sono stati dimostrati coniugati a livello dell'epitelio.

Cellule residenti nell'infiammazione delle vie aeree

Nell'asma le cellule normalmente residenti nelle vie aeree (fibroblasti, miofibroblasti, cellule epiteliali e muscolari lisce) rilasciano una serie di citochine e fattori di crescita che possono contribuire alla natura cronica dell'infiammazione bronchiale.

I fibroblasti giocano un ruolo chiave nel processo infiammatorio e di rimodellamento. Essi producono collagene, fibre elastiche e reticolari, proteoglicani e le glicoproteine della matrice extracellulare amorfa (ECM)⁴². La loro attività biologica è regolata da numerose citochine e fattori di crescita. Sebbene i fibroblasti siano considerati delle cellule fisse della matrice extracellulare amorfa, essi conservano la capacità di crescita e rigenerazione e possono evolversi verso vari tipi di cellule come quelle del muscolo liscio, diventando miofibroblasti⁴³ e probabilmente muscolo liscio.

I miofibroblasti contribuiscono al rimodellamento del tessuto con il rilascio di componenti della matrice extracellulare amorfa come collagene interstiziale, fibronectina e laminina⁴⁴ e producendo fattori di crescita per vasi sanguigni, nervi e muscolo liscio. Il numero di miofibroblasti è risultato aumentato nelle vie aeree di soggetti con asma e il loro numero correla con lo spessore della membrana basale reticolare⁴⁵. Dopo prove di stimolazione bronchiale con allergene, i miofibroblasti aumentano di numero nelle biopsie delle vie aeree, indicando che è possibile una loro migrazione dalle parti più profonde della parete bronchiale verso la membrana basale⁴⁶.

La capacità dei miofibroblasti di promuovere il rimodellamento tissutale è influenzata dalle cellule epiteliali bronchiali, le quali, quando sono attivate o danneggiate, rilasciano fattori di crescita, come il fattore di trasformazione della crescita- β (*transforming growth factor*, TGF- β), che favoriscono la fibrosi^{47,48}. Una spiegazione dell'azione favorente il

rimodellamento da parte dei miofibroblasti può essere che l'alterato fenotipo delle cellule epiteliali le rende incapaci di reagire al danno o allo stress con un appropriato meccanismo di riparazione mediato dai recettori del fattore di crescita epidermico (*Epidermal Growth Factor Receptor*, EGFR). La conseguenza di ciò è un aumento della produzione da parte delle cellule epiteliali di citochine e fattori di crescita profibrotici^{49,50}. Nonostante nell'asma vi siano evidenze di una alterata risposta proliferativa dell'epitelio e un'aumentata espressione di inibitori del ciclo cellulare, non sono stati ancora chiariti con precisione i meccanismi molecolari che portano al rimodellamento⁵¹.

Studi *in vitro* suggeriscono che nell'asma le cellule muscolari lisce siano un'importante fonte di citochine proinfiammatorie⁵². Oltre alla loro capacità contrattile, queste cellule sono in grado di sintetizzare e secernere *in vitro* citochine e mediatori⁵³. Esse contribuiscono all'infiammazione cronica delle vie aeree interagendo con mastociti, eosinofili, linfociti T attivati e monociti/macrofagi. Le cellule muscolari lisce sono anche in grado di modificare la composizione del microambiente della matrice extracellulare amorfa e di dirigere eventi chiave nel rimodellamento delle vie aeree⁵⁴. Non si sa se questi eventi accadono *in vivo* nelle vie aeree delle persone con asma; infatti, la maggior parte delle osservazioni riguardanti le cellule muscolari lisce sono state effettuate in colture, per lo più ottenute da campioni chirurgici di polmone.

Cellule infiammatorie

Eosinofili.

Nell'asma cronico, in campioni biotici bronchiali, è stato rilevato un aumentato numero di eosinofili attivati², prevalentemente al di sotto della membrana basale. La maggior parte delle persone con asma allergico o non allergico, comprese quelle con asma lieve, hanno eosinofili nei loro bronchi. Inoltre c'è una associazione significativa, sebbene variabile, tra l'attivazione degli eosinofili e gravità dell'asma² e l'iperresponsività delle vie aeree⁵⁵.

Gli eosinofili possiedono un ampio spettro di proprietà biologiche, come la capacità di rilasciare delle proteine tossiche dai loro granuli, radicali liberi dell'ossigeno, eicosanoidi (leucotrieni solfo-peptidici)⁵⁶, fattore attivante le piastrine (PAF), citochine di tipo Th2^{57,58} e una varietà di fattori di crescita⁵⁹⁻⁶¹. La loro capacità di secernere mediatori può essere attivata da meccanismi sia immunologici che non immunologici⁶². Gli eosinofili attivati possono far iniziare la contrazione del muscolo liscio nelle vie aeree umane⁶³, aumentare la permeabilità microvascolare⁶⁴ e indurre iperresponsività bronchiale⁶⁵. Tuttavia, in uno studio preliminare un anticorpo monoclonale bloccante l'IL-5 somministrato per 16 settimane riduceva gli eosinofili nel sangue e nell'espettorato a valori praticamente nulli, ma non aveva effetti sulla risposta immediata o ritardata all'allergene, né sull'iperresponsività bronchiale⁶⁶. Questi risultati possono mettere in forse il ruolo degli eosinofili come cellule proinfiammatorie in tutti i casi di asma, specialmente perché simili riduzioni della conta degli eosinofili vengono

prodotte dalla somministrazione di IL-12 o di IFN- γ senza alcuna evidenza di un beneficio clinico o funzionale⁶⁷. Sono necessari studi ulteriori per determinare se questi risultati possono essere estrapolati alla funzione degli eosinofili nell'asma cronico.

Mastociti. I mastociti si localizzano nei bronchi sia di soggetti normali sia di quelli con asma^{55,68-70}. Essi sono spesso in uno stato di degranolazione nelle vie aeree di persone con asma, sia in fase di stabilità della malattia sia - molto di più - dopo prove di stimolazione bronchiale con allergene^{71,72}. Oltre a rilasciare mediatori autacoidi, i mastociti sono un'importante fonte di proteasi neutre, specialmente di tripsasi, che ha una serie di effetti su substrati proteici come ad esempio sui recettori attivati da proteasi.

Neutrofili. I neutrofili polimorfonucleati sono stati considerati per lungo tempo come cellule in stadio di differenziazione terminale, incapaci di sintesi proteica e deputate solo a ruolo di effettori passivi dell'infiammazione attraverso la fagocitosi e il rilascio di enzimi preformati e di composti citotossici. Tuttavia i neutrofili possono rilasciare un'ampia varietà di enzimi tra cui proteasi che degradano la matrice extracellulare (per esempio la MMP-9 e l'elastasi), specie reattive dell'ossigeno, citochine e chemochine come IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-8⁷³⁻⁷⁵. I neutrofili sono aumentati nelle vie aeree di pazienti con asma cronico grave durante le riacutizzazioni dovute a virus respiratori o dopo l'esposizione ad inquinanti inalatori, ma il loro ruolo nella fisiopatologia dell'asma grave necessita ancora di chiarimenti⁷⁶.

Macrofagi. I macrofagi tissutali hanno la capacità di secernere un'ampia varietà di prodotti, molti dei quali giocano un ruolo di rilievo nei processi di danno e riparazione⁷⁷⁻⁷⁹. Essi sintetizzano e secernono l'attivatore del plasminogeno e un gruppo di metalloproteasi che possono degradare varie macromolecole della matrice extracellulare come l'elastina⁸⁰. I macrofagi possono anche essere coinvolti nel rimodellamento delle vie aeree tramite la secrezione di fattori di crescita come quello derivato dalle piastrine (PDGF), il fattore basico di crescita dei fibroblasti (basic fibroblast growth factor, b-FGF) e il TGF- β ⁸¹.

Controllo neurogeno delle vie aeree

Parecchi stimoli irritanti (come nebbia, anidride solforosa, polveri e aria fredda) provocano una broncocostrizione riflessa per stimolazione di recettori sensoriali nelle vie aeree. Questo meccanismo di difesa fisiologico è in grado di provocare broncocostrizione sia in soggetti normali che in asmatici. Tuttavia, la risposta broncocostrittiva nei soggetti con asma si sviluppa per livelli inferiori di stimolazione ed è più intensa rispetto a quella che si osserva nei soggetti normali. È stato proposto che parte dell'iperresponsività delle vie aeree presente nell'asma sia dovuta ad aumentata attività del sistema nervoso autonomo parasimpatico⁸². Anche se questo meccanismo può essere coinvolto, non sembra che esso sia la causa principale della limitazione al flusso aereo in questa malattia⁸³. Il sistema di innervazione delle vie aeree è infatti molto più complesso. Oltre ai classici meccanismi colinergico ed adrenergico, nelle vie aeree umane è stata descritta una rete di vie nervose non-adrenergiche, non-colinergiche⁸³. La

dimostrazione di una vasta rete di fibre nervose contenenti potenti neuropeptidi e neuroregolatori (fattori di crescita simili all'EGF), oltre ai classici neurotrasmettitori, ha rinnovato l'interesse per un possibile ruolo delle alterazioni del controllo neurogeno delle vie aeree nella patogenesi dell'asma⁸³.

L'ossido nitrico (NO) è un gas reattivo che si forma dall'arginina sia nel tessuto nervoso che extranervoso per l'azione dell'ossido nitrico sintetasi. Ci sono delle evidenze che suggeriscono come la forma inducibile di questo enzima (inibita dai glucocorticoidi) sia accentuata nell'epitelio di soggetti asmatici⁸⁴. L'NO è un potente vasodilatatore e un broncodilatatore; inoltre è molto probabile che esso agisca come neuroregolatore rilasciato dalle terminazioni nervose non adrenergiche, non colinergiche⁸⁵ e regoli il tono broncomotore, il flusso sanguigno polmonare e la risposta immunitaria locale. Pertanto, le alterazioni della produzione e/o della degradazione dell'NO possono essere rilevanti per la fisiopatologia dell'asma⁸⁶.

L'osservazione che mastociti ed eosinofili hanno la tendenza ad aggregarsi nei gangli delle vie aeree e che i loro mediatori sono capaci di interferire con la trasmissione nervosa crea ulteriori sedi dove meccanismi neurogeni possono contribuire al fenotipo dell'asma. La disponibilità di inibitori potenti e selettivi e di antagonisti dei mediatori prodotti da queste cellule infiammatorie dovrebbe aiutare a risolvere alcune di tali questioni.

RIMODELLAMENTO DELLE VIE AEREE

Il rimodellamento delle vie aeree è un processo eterogeneo che determina dei cambiamenti nella deposizione di tessuto connettivo e delle alterazioni nella struttura delle vie aeree attraverso un meccanismo dinamico di de-differenziazione, migrazione, differenziazione e maturazione delle cellule tissutali residenti³ (**Figura 4-2**). Diversi cambiamenti strutturali sono caratteristici del rimodellamento delle vie aeree nell'asma.

Nei bronchi, la membrana basale dell'epitelio ha uno spessore normale, ma nella fase precoce del processo patogenetico si verificano un ispessimento e un aumento della densità della lamina reticolare. Questo ispessimento è dovuto alla deposizione intrecciata di collagene interstiziale di I, III e V tipo e di fibronectina⁸⁷ prodotta da miofibroblasti attivati che derivano, a loro volta, dallo strato sottile di fibroblasti situato immediatamente al di sotto dell'epitelio⁴⁵. Il fatto che, solo nell'asma, si osserva un aumento della deposizione di collagene a livello della lamina reticolare, suggerisce che questa alterazione è un elemento fondamentale nella patogenesi della malattia.

Nel processo di rimodellamento sembra avere un ruolo centrale la combinazione tra danno epiteliale, prolungata riparazione epiteliale, produzione eccessiva di fattori di crescita fibrogenetici (TGF- β), proliferazione e differenziazione dei

FISIOPATOLOGIA DELL'ASMA

fibroblasti in miofibroblasti. I miofibroblasti attivati producono fattori di crescita, chemochine e citochine che promuovono la proliferazione di cellule muscolari lisce delle vie aeree, l'aumento della permeabilità microvascolare e l'aumento della rete neurale. Dal momento che questi cambiamenti sono stati osservati nei bambini prima dello sviluppo dell'asma, è probabile che l'attivazione o la riattivazione delle componenti mesenchimali dell'epitelio, insieme all'infiammazione, sia un processo fondamentale per l'asma e differenzi la malattia umana dalla reazione infiammatoria acuta indotta da allergene osservata nei vari modelli animali della malattia. Si è osservato inoltre, un aumento della deposizione di molecole della matrice, inclusi i proteoglicani complessi, più in profondità nella parete delle vie aeree di pazienti morti per asma; l'estensione di questa deposizione è direttamente proporzionale alla durata della malattia.

La matrice extracellulare è una struttura dinamica caratterizzata, in circostanze normali, da un equilibrio tra sintesi e degradazione controllata delle sue componenti. Le metalloproteasi della matrice (MMP), che degradano selettivamente le componenti della matrice extracellulare (MMP-2 e MMP-9), sono molto importanti in questo processo, così come lo sono i loro rispettivi inibitori, TIMP-1 e TIMP-2. Le MMP sono inoltre implicate nei processi di angiogenesi e di iperplasia della componente muscolare liscia attraverso il rilascio di fattori di crescita e giocano un ruolo cruciale nei cambiamenti delle cellule infiammatorie e tissutali residenti. Le componenti della matrice extracellulare interagiscono con le cellule infiammatorie⁸⁸ (**Figura 4-2**). I proteoglicani possono servire come riserva per le citochine e i fattori di crescita^{89, 90}, come "trappole" per l'acqua, determinando un edema tissutale persistente, come ligandi per le molecole di adesione delle cellule infiammatorie^{91, 92}, come promotori del rilascio di mediatori leucocitari e della sopravvivenza cellulare^{93, 95}. Le citochine e i fattori di crescita causano la proliferazione della componente muscolare liscia delle vie aeree e inducono la sintesi delle proteine della matrice extracellulare^{48, 96}.

I bronchi di soggetti asmatici, specialmente di quelli con malattia cronica e grave, presentano ipertrofia e iperplasia della componente muscolare liscia, delle cellule calciformi e delle ghiandole sottomucose^{97, 98}. Inoltre, nell'asma, le vie aeree mostrano diverse alterazioni strutturali che possono tutte contribuire all'ispessimento della loro parete. Per decenni l'asma è stato considerato una condizione di ostruzione reversibile delle vie aeree. Infatti, nella maggior parte dei pazienti si può osservare una completa reversibilità dei valori spirometrici anomali, quali il VEMS, dopo trattamento con glucocorticoidi per via inalatoria. Tuttavia, molti soggetti asmatici mantengono, dopo questo trattamento, un'ostruzione residua delle vie aeree, che si può riscontrare anche in pazienti asintomatici; e questo è verosimilmente dovuto al rimodellamento. Il rimodellamento potrebbe essere importante anche nella patogenesi dell'iperresponsività bronchiale non specifica, soprattutto per la componente che si risolve lentamente (dopo 1 o 2 anni) o non completamente dopo trattamento con glucocorticoidi per via inalatoria^{99, 100}.

Ostruzione delle vie aeree

Si ritiene che l'infiammazione delle vie aeree dei soggetti asmatici sia responsabile dell'alterazione della funzionalità respiratoria caratteristica dell'asma, cioè l'ostruzione bronchiale, che causa una limitazione al flusso delle vie aeree che varia spontaneamente o in seguito a trattamento. Questi cambiamenti funzionali si associano ai sintomi caratteristici dell'asma (tosse, difficoltà di respiro e respiro sibilante) e all'iperresponsività delle vie aeree a stimoli broncocostrittori. La tosse è probabilmente causata dalla stimolazione delle terminazioni nervose sensitive delle vie aeree da parte di mediatori dell'infiammazione, e la tosse ricorrente può essere il solo sintomo dell'asma, soprattutto nei bambini (tosse come equivalente asmatico)^{101, 103}. I mediatori dell'infiammazione possono inoltre alterare la percezione della dispnea attraverso i loro effetti sui nervi afferenti. L'eccitazione delle terminazioni nervose afferenti può, da un lato, contribuire, a volte con l'ipercapnia o l'ipossiemia, ad una stimolazione esagerata del respiro, responsabile dell'iperventilazione alveolare e, probabilmente, anche di parte della sintomatologia degli attacchi acuti di asma. D'altro lato, però, cambiamenti nella funzione recettoriale afferente sono ritenuti responsabili della riduzione della percezione dell'ostruzione bronchiale in alcuni pazienti, in particolare in quelli con asma cronico grave, i cosiddetti "poor perceivers"^{77, 104, 107}.

L'ostruzione delle vie aeree nell'asma ha un'etiologia multifattoriale. La causa più importante è la contrazione della muscolatura liscia bronchiale provocata dagli agonisti rilasciati dalle cellule infiammatorie. Questi agonisti comprendono l'istamina, la triptasi, la prostaglandina D2 e il leucotriene C4, liberati dai mastociti; i neuropeptidi rilasciati dai nervi locali afferenti; e l'acetilcolina liberata dai nervi efferenti postgangliari. Le conseguenze della contrazione della muscolatura liscia sono amplificate dall'ispessimento della parete delle vie aeree dovuto all'edema, all'infiltrazione cellulare e al rimodellamento-iperplasia cronica delle cellule muscolari lisce, vascolari e secretorie, e dalla deposizione di matrice nella parete delle vie aeree¹⁰⁸. Una limitazione ancora maggiore al flusso aereo può insorgere se il lume bronchiale si riempie di abbondanti secrezioni viscoso dense prodotte dalle cellule calciformi e dalle ghiandole sottomucose, di proteine plasmatiche stravasate dal microcircolo bronchiale e di detriti cellulari^{108, 113}.

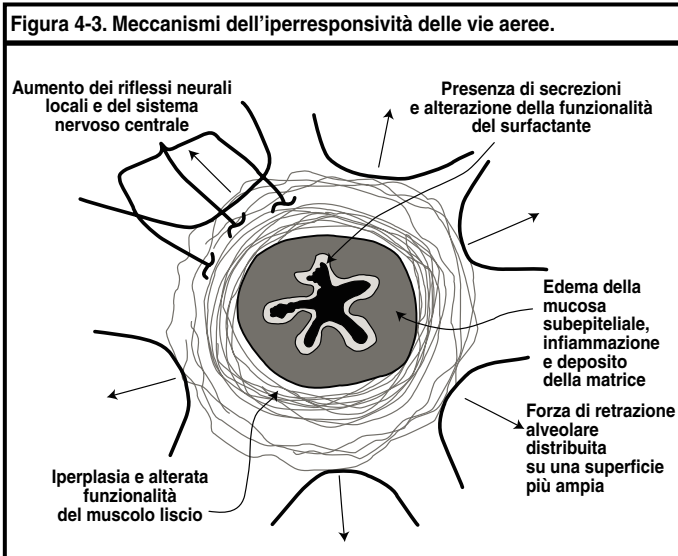
La quasi totalità dei disturbi funzionali dell'asma deriva, quindi, da questa ostruzione delle vie aeree che interessa l'intero albero tracheobronchiale, ma è probabilmente massima nei piccoli bronchi dai 2 ai 5 mm di diametro¹¹⁴⁻¹¹⁶. La resistenza delle vie aeree è aumentata, e il flusso espiratorio massimo è ridotto a livello di tutti i volumi polmonari. Le vie aeree periferiche ostruite si chiudono a volumi polmonari maggiori, causando un marcato aumento del volume residuo¹¹⁷. L'iperinflazione toracica è anche conseguenza della tendenza a respirare a un volume polmonare più alto, come meccanismo di adattamento atto a ridurre l'eccessiva ostruzione aumentando

la trazione esterna sulle vie aeree intrapolmonari¹¹⁸. Questi cambiamenti determinano un importante aumento del lavoro respiratorio: il lavoro resistivo è aumentato a causa delle alte pressioni richieste per muovere l'aria attraverso le vie aeree ostruite ed il lavoro elastico è aumentato a causa di una relativa diminuzione della compliance dovuta agli alti volumi polmonari. L'iperinflazione toracica pone il diaframma e i muscoli intercostali in una condizione di svantaggio meccanico, obbligandoli a lavorare al di sopra del range subottimale della loro curva lunghezza-tensione¹¹⁹. L'incremento del lavoro respiratorio e la perdita dell'efficienza muscolare causano fatica e possono portare all'insufficienza respiratoria acuta.

Iperresponsività bronchiale

L'asma è quasi invariabilmente associato ad un'ostruzione delle vie aeree, che si verifica troppo facilmente e/o troppo intensamente in risposta a vari stimoli^{120,121}. La predisposizione all'eccessiva ostruzione delle vie aeree è clinicamente l'alterazione fisiologica più rilevante di questa malattia. I meccanismi responsabili dell'esagerata reattività o "iperresponsività" non sono noti, ma potrebbero essere correlati con un comportamento alterato della muscolatura liscia delle vie aeree, secondario a cambiamenti della sua funzione contrattile o del suo fenotipo¹²². Inoltre, le variazioni nella parete bronchiale dovute all'infiammazione, in particolare nella regione peribronchiale, potrebbero aumentare notevolmente l'ostruzione delle vie aeree durante la contrazione delle cellule muscolari lisce¹²³ (**Figura 4-3**).

L'iperresponsività bronchiale viene misurata somministrando un aerosol di dosi crescenti di uno stimolo farmacologico, come l'istamina o la metacolina, fino a che i parametri di funzionalità respiratoria non cambino di una determinata entità, precedentemente fissata^{120,121} (**Figura 1-5**). Il parametro più comunemente usato è la caduta del VEMS e l'iperresponsività bronchiale è espressa in termini di "concentrazione di provocazione" o di "dose di provocazione" che causa una caduta pari al 20%, cioè di "PC₂₀" o "PD₂₀". Una PC₂₀ <8 mg/ml per l'istamina o per la metacolina conferma l'iperresponsività bronchiale ed è caratteristica dell'asma^{120,121}, ma si può riscontrare anche in altre patologie, come la BPCO, la fibrosi cistica e le riniti allergiche. Nell'asma c'è una correlazione inversa tra PC₂₀ o PD₂₀ e gravità della malattia^{120,121}. L'iperresponsività delle vie aeree può essere dimostrata anche da un incremento o addirittura da un'assenza del plateau della risposta massimale della curva dose-risposta¹²⁰. Altri stimoli, come lo sforzo fisico, l'iperpnea eucapnica da aria secca e fredda e gli aerosol di soluzione salina ipertonica, di acqua distillata e di adenosina non hanno un'azione diretta sulla muscolatura liscia delle vie aeree (a differenza di istamina e metacolina). Si presume che essi siano in grado di stimolare il rilascio di mediatori dai mastociti, dalle terminazioni nervose o da altre cellule residenti nelle vie aeree^{120,121} (**Figura 1-2**), il che presenta il vantaggio di agire con un meccanismo molto più simile a quello dei fattori di broncocostrizione che si incontrano nella vita di tutti i giorni. Un confronto tra responsività all'istamina, agonista diretto della muscolatura liscia, e responsività all'adenosina, che agisce



attraverso l'attivazione dei mastociti delle vie aeree, è stato fatto per capire se i cambiamenti nelle misurazioni della responsività siano dovuti principalmente ad un'alterazione nel rilascio di mediatori dai mastociti delle vie aeree o ad un'alterazione nella responsività bronchiale verso i mediatori stessi.

Muscolatura liscia delle vie aeree

Alcune misure di contrazione isotonica hanno dimostrato che la muscolatura liscia delle vie aeree di soggetti asmatici va incontro ad un accorciamento maggiore^{124,125}. Questo cambiamento della funzione contrattile può dipendere da alterazioni dell'apparato contrattile¹²⁶, dell'elasticità del tessuto muscolare liscio o della matrice extracellulare¹²⁷. L'incremento della contrattilità visto nell'asma sembra essere associato con l'aumento della velocità di accorciamento delle fibre¹²⁷. Ciò potrebbe accompagnarsi ad una crescita della muscolatura liscia¹²⁸ e/o a cambiamenti del fenotipo delle cellule muscolari lisce, con cellule che variano tra il fenotipo contrattile, secretorio e proliferativo in base all'interazione con il processo infiammatorio delle vie aeree¹²⁹. Inoltre, cambiamenti nell'organizzazione dei filamenti contrattili o nella plasticità delle cellule muscolari lisce potrebbero spiegare il mantenimento dell'iperresponsività bronchiale¹³⁰. Questo dimostra che le proprietà funzionali della muscolatura liscia sono fondamentali per le proprietà delle vie aeree *in vivo*.

Il ruolo della dinamica delle vie aeree è ulteriormente sostenuto dall'ipotesi dell'equilibrio perturbato, secondo la quale la muscolatura liscia delle vie aeree nell'asma si irrigidisce quando non è periodicamente stirata causando uno stato di rigidità responsabile dell'ostruzione bronchiale persistente¹³¹. Tale condizione contrattile "congelata" potrebbe essere secondaria all'infiammazione delle vie aeree, che causa edema dell'avventizia e di conseguenza un disaccoppiamento meccanico tra la pressione di retrazione elastica e la muscolatura liscia delle vie aeree^{123,131}.

I mediatori dell'infiammazione rilasciati dai mastociti, come la triptasi e la proteina cationica eosinofila, determinano un aumento della risposta contrattile della muscolatura liscia nei confronti di altri mediatori infiammatori come l'istamina¹³². Questi dati forniscono un legame tra il "prodotto" di derivazione mastocitaria e l'iperresponsività bronchiale *in vitro* nell'uomo. L'infiammazione, quindi, può agire sia direttamente sulla contrattilità delle cellule muscolari lisce¹³³ che indirettamente tramite gli effetti secondari ai cambiamenti della geometria e della meccanica delle vie aeree^{123,134}.

Ipersecrezione di muco

La produzione cronica ed eccessiva di espettorato è il sintomo tipico della bronchite cronica, ma è anche caratteristico di pazienti asmatici che non hanno mai fumato sigarette o che non sono mai stati esposti professionalmente a polveri. Indagini condotte hanno dimostrato che il 30% degli asmatici ha catarro ogni giorno, ed il 70% lo segnala come sintomo importante durante gli attacchi¹³⁵. L'asma, anzi, è spesso erroneamente diagnosticato come "bronchite acuta ricorrente". L'iperplasia delle cellule caliciformi e delle cellule delle ghiandole sottomucose è un reperto costante nelle vie aeree di soggetti asmatici^{131,132}, ed è una caratteristica del rimodellamento della parete bronchiale tipico dell'asma cronico. L'ostruzione diffusa delle vie aeree da tappi di muco si riscontra quasi costantemente nell'asma fatale^{111-113,136,137} ed è probabilmente una causa importante di ostruzione al flusso aereo, che spesso persiste malgrado il trattamento delle riacutizzazioni gravi con dosi massimali di broncodilatatori.

Le secrezioni dei soggetti asmatici non sono semplicemente aumentate di volume, rispetto a quelle dei soggetti normali, ma differiscono anche nelle proprietà viscoelastiche e cinetiche. Si ritiene che queste differenze quantitative e qualitative derivino dall'infiltrazione di cellule infiammatorie nella parete delle vie aeree e dalle alterazioni delle cellule secretorie e dei vasi sanguigni dell'epitelio e della sottomucosa. L'anomala densità e viscosità di queste secrezioni non sono dovute semplicemente ad un eccesso di produzione di mucina¹³⁸, ma anche ad accumuli di cellule epiteliali, di albumina fuoriuscita dal microcircolo bronchiale, di proteine basiche di derivazione eosinofila, e di DNA delle cellule infiammatorie andate incontro a lisi^{138,139}. Queste alterazioni spiegano il reperto occasionale delle spirali di Curschmann nell'espettorato di pazienti asmatici¹⁴⁰.

L'ipersecrezione di muco nell'asma riflette due diversi meccanismi fisiopatologici: l'iperplasia e la metaplasia delle cellule secretorie da un lato e la degranolazione delle stesse cellule secretorie dall'altro. Mediatori importanti della metaplasia e dell'iperplasia delle cellule caliciformi sono rilasciati dai processi infiammatori caratteristici dell'asma e includono il fattore di crescita epiteliale e altri fattori di crescita¹⁴¹, IL-4, IL-9 e IL-13^{14,142,143}. La degranolazione delle cellule caliciformi è attivata da stimoli ambientali (quali il fumo, l'anidride solforosa, il cloro e l'ammoniaca), probabilmente attraverso il rilascio locale di neuropeptidi o l'attivazione di vie riflesse colinergiche. Forse, però, è più importante la

degranolazione provocata da mediatori infiammatori con attività secretagoga, come l'elastasi neutrofila, la chimasi mastocitaria, i leucotrieni, l'istamina e i prodotti neutrofili non proteasici^{113,144,145}. La presenza dell'elastasi neutrofila nell'espettorato prodotto durante le riacutizzazioni d'asma suggerisce un'azione secretagoga di questo enzima particolarmente importante negli attacchi gravi^{146,147}.

Limitazione irreversibile al flusso aereo

L'ispessimento della parete delle vie aeree, caratteristico del rimodellamento, avviene sia a livello della struttura bronchiale cartilaginea (in cui è esteso), sia a livello di quella membranosa (in cui è scarso) ed è evidente negli studi anatomopatologici e radiologici^{115,116,148}. L'ispessimento della parete bronchiale, insieme ai cambiamenti delle proprietà elastiche delle vie aeree e alla perdita dell'interdipendenza tra vie aeree e parenchima circostante, potrebbe spiegare la limitazione al flusso aereo non completamente reversibile in un sottogruppo di pazienti asmatici^{149,151}. I meccanismi responsabili del rimodellamento sono oggetto di intensa ricerca, ma non sono ancora stati definiti⁹⁹. Sembrano correlati con l'infiammazione cronica o ricorrente delle vie aeree e c'è evidenza che questa perdita di funzionalità delle vie aeree, che riflette anch'essa il rimodellamento, si realizzi persino nell'asma lieve di recente sviluppo, ma che si possa prevenire mediante regolare terapia con glucocorticoidi per via inalatoria¹⁵²⁻¹⁵⁴. Inoltre, nell'asma, anche l'irrigidimento della muscolatura liscia contribuisce allo sviluppo della limitazione irreversibile al flusso aereo¹³¹. Non si conosce la percentuale di pazienti con asma lieve a rischio di sviluppare una limitazione al flusso aereo clinicamente importante, cronica ed irreversibile.

Riacutizzazioni

L'aggravamento episodico è la caratteristica più importante dell'asma¹⁵⁵. Ci sono molti fattori scatenanti le riacutizzazioni, compresi gli stimoli che producono la sola broncocostrizione (facilitanti), come l'aria fredda, la nebbia o l'esercizio, e gli stimoli che promuovono l'infiammazione delle vie aeree (scatenanti), come l'esposizione ad allergeni, alle sostanze sensibilizzanti di origine professionale, all'ozono, o le infezioni respiratorie virali^{120,156}. L'esercizio e l'iperventilazione con aria fredda e secca¹⁵⁷ causano broncocostrizione nell'asma attraverso un raffreddamento e una disidratazione delle vie aeree, che determinano il rilascio, da parte delle cellule tissutali residenti e delle cellule infiammatorie, di mediatori come l'istamina o i cisteinil leucotrieni, che stimolano la contrazione della muscolatura liscia¹⁵⁸. Questi fattori facilitanti non peggiorano la responsività bronchiale nei confronti di altri stimoli e, perciò, hanno soltanto effetti transitori.

Le riacutizzazioni d'asma si possono sviluppare nell'arco di alcuni giorni. La maggior parte è associata alle infezioni virali respiratorie e, in particolare, al comune virus del raffreddore (rinovirus)¹⁵⁹. Il rinovirus può indurre una risposta infiammatoria delle vie aeree intrapolmonari¹⁶⁰ e nei pazienti con asma, questa infiammazione è associata ad un episodio di ostruzione variabile delle vie aeree e ad un peggioramento

dell'iperresponsività bronchiale¹⁶¹. La risposta infiammatoria comporta l'afflusso e l'attivazione di eosinofili e/o neutrofili, che potrebbero essere mediati da citochine e chemochine rilasciate dalle cellule T e/o dalle cellule epiteliali bronchiali^{162,163}. È altamente probabile che anche l'esposizione ad allergeni possa indurre riacutizzazioni in soggetti sensibilizzati con asma¹⁶⁴. In particolare, i pazienti con reazioni asmatiche ritardate mostrano una riacutizzazione dell'infiammazione eosinofila delle vie aeree, dopo provocazione con allergene, seguita da un aggravamento dell'iperresponsività bronchiale¹⁶⁵. Anche ripetute provocazioni con allergene a livelli di sub-broncocostrizione, che probabilmente assomigliano di più alle esposizioni naturali e stagionali¹⁶⁷, possono indurre queste risposte. Non si può escludere la possibilità che esposizioni ripetute ad un livello sub-broncocostrittore possano effettivamente indurre un'infiammazione persistente delle vie aeree e alcuni aspetti del rimodellamento, come la deposizione di collagene nello strato reticolare subepiteliale¹⁶⁵.

I pazienti con asma professionale sviluppano alterazioni persistenti in seguito ad esposizione a sostanze sensibilizzanti professionali¹⁶⁶. L'iperresponsività bronchiale ed alcuni aspetti dell'infiammazione delle vie aeree (infiltrazione di eosinofili e macrofagi nella mucosa) possono persistere anche diversi mesi dopo la cessata esposizione, mentre altre caratteristiche (inclusa la deposizione subepiteliale di collagene) generalmente sono reversibili¹⁶⁷. Esiste, quindi, una complessa interazione tra i meccanismi fisiopatologici coinvolti nelle riacutizzazioni e quelli coinvolti nella persistenza dell'asma. Tale interazione è complicata ulteriormente da potenziali interazioni tra fattori scatenanti, per esempio, tra sostanze sensibilizzanti professionali e inquinanti atmosferici¹⁶⁸.

In circa il 10% dei pazienti asmatici, i farmaci anti-infiammatori non steroidei, che inibiscono la cicloossigenasi-1, causano attacchi d'asma¹⁶⁹, che possono essere molto pericolosi. In un esteso studio retrospettivo su pazienti asmatici sottoposti a ventilazione meccanica per un attacco d'asma quasi fatale, il 24% riportava una storia di intolleranza all'aspirina¹⁷⁰.

Asma notturno

L'aggravamento dell'asma nelle ore notturne è una caratteristica clinica ben riconosciuta in moltissimi pazienti¹⁷¹. In soggetti con asma notturno non è stato riscontrato un aumento del numero di cellule T, eosinofili o mastociti in biopsie bronchiali prelevate alle 4.00 del mattino¹⁷². In biopsie transbronchiali, però, è stato trovato un certo accumulo, durante le ore notturne, di eosinofili e macrofagi nel tessuto peribronchiale ed alveolare⁴⁰. Quest'ultimo reperto è di particolare interesse, alla luce del presunto ruolo dell'infiammazione dell'avventizia delle vie aeree periferiche nello sviluppo dell'eccessiva ostruzione bronchiale^{123,134}. Un altro elemento estremamente importante nell'asma notturno potrebbe essere l'alterata interdipendenza tra vie aeree e parenchima; un'ipotesi sostenuta dalla recente osservazione della perdita di questa interdipendenza in pazienti con asma notturno durante il sonno in posizione supina¹⁷³.

Alterazioni dell'emogasanalisi

L'asma causa importanti alterazioni dello scambio dei gas soltanto durante le riacutizzazioni gravi. Il grado dell'ipossiemia arteriosa correla approssimativamente con la gravità dell'ostruzione bronchiale, che non si distribuisce omogeneamente nell'apparato respiratorio. Spesso, alcune vie aeree sono completamente ostruite, altre lo sono in modo grave e altre ancora non lo sono. L'alterato rapporto tra ventilazione e perfusione che ne consegue aumenta la differenza alveolo-arteriosa di ossigeno ((A-a)dO₂), giustificando i valori di 60-69 mmHg (8.0-9.2 kPa) di pressione parziale di ossigeno, che tipicamente si riscontrano durante le riacutizzazioni gravi di asma¹⁷⁴. L'ipocapnia, che si riscontra quasi invariabilmente negli attacchi lievi di media gravità, riflette un aumento del ritmo respiratorio. Un'elevata PCO₂ arteriosa indica che l'ostruzione delle vie aeree è così grave che i muscoli respiratori non sono in grado di mantenere il ritmo di ventilazione imposto dall'impulso respiratorio centrale (ipoventilazione alveolare). Qualsiasi aggravamento dell'ostruzione delle vie aeree o della fatica muscolare, o qualsiasi depressione del centro del respiro (come per assunzione di narcotici o di sedativi), può provocare un'ulteriore caduta della ventilazione alveolare. L'aumento della PCO₂ arteriosa, che ne consegue, inibisce ulteriormente la performance muscolare ed il ritmo respiratorio (narcosi da CO₂), scatenando l'insufficienza respiratoria e causando la morte^{175,176}. L'ipercapnia arteriosa indica, quindi, un attacco d'asma di estrema gravità che necessita di un trattamento aggressivo.

BIBLIOGRAFIA

1. Vignola AM, Chanez P, Campbell AM, Souques F, Lebel B, Enander I, et al. Airway inflammation in mild intermittent and in persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:403-9.
2. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990;323:1033-9.
3. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, Vignola AM. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1720-45.
4. Roitt IM. *Immunology, physiology, pathology and clinic*. London: Blackwell Scientific; 1992.
5. Bukantz SC, Lockey RF. IgE immediate hypersensitivity. In: Weiss EB, Stein M, eds. *Bronchial asthma. Mechanisms and therapeutics*. Boston: Little, Brown; 1993. p. 68-79.
6. Pearce N, Pekkanen J, Beasley R. How much asthma is really attributable to atopy? *Thorax* 1999;54:268-72.
7. Milgrom H, Fick RB Jr, Su JQ, Reimann JD, Bush RK, Watrous ML, et al. Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. rhuMAb-E25 Study Group. *N Engl J Med* 1999;341:1966-73.
8. Fahy JV, Cockcroft DW, Boulet LP, Wong HH, Deschesnes F, Davis EE, et al. Effect of aerosolized anti-IgE (E25) on airway responses to inhaled allergen in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1023-7.
9. Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol* 1994;12:227-57.
10. Del Prete G. Human Th1 and Th2 lymphocytes: their role in the pathophysiology of atopy. *Allergy* 1992;47:450-5.
11. Humbert M, Corrigan CJ, Kimmitt P, Till SJ, Kay AB, Durham SR. Relationship between IL-4 and IL-5 mRNA expression and disease severity in atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:704-8.
12. Henderson WR Jr, Chi EY, Maliszewski CR. Soluble IL-4 receptor inhibits airway inflammation following allergen challenge in a mouse model of asthma. *J Immunol* 2000;164:1086-95.
13. Borish LC, Nelson HS, Lanz MJ, Claussen L, Whitmore JB, Agosti JM, et al. Interleukin-4 receptor in moderate atopic asthma. A phase I/II randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1816-23.
14. Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, Schofield B, Neben TY, Karp CL, et al. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. *Science* 1998;282:2258-61.
15. Holt PG, Stumbles PA, McWilliam AS. Functional studies on dendritic cells in the respiratory tract and related mucosal tissues. *J Leukoc Biol* 1999;66:272-5.
16. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392:245-52.
17. Lampinen M, Rak S, Venge P. The role of interleukin-5, interleukin-8 and RANTES in the chemotactic attraction of eosinophils to the allergic lung. *Clin Exp Allergy* 1999;29:314-22.
18. Kay AB. Asthma and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:893-910.
19. Leuenberger P, Kunzli N, Ackermann-Lieblich U, Schindler C, Bolognini G, Bongard JP, et al. [Swiss Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults (SAPALDIA)]. *Schweiz Med Wochenschr* 1998;128:150-61.
20. Umibe T, Kita Y, Nakao A, Nakajima H, Fukuda T, Yoshida S, et al. Clonal expansion of T cells infiltrating in the airways of non-atopic asthmatics. *Clin Exp Immunol* 2000;119:390-7.
21. Humbert M, Menz G, Ying S, Corrigan CJ, Robinson DS, Durham SR, et al. The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences. *Immunol Today* 1999;20:528-33.
22. Murray JJ, Tonnel AB, Brash AR, Roberts LJ, Gosset P, Workman R, et al. Prostaglandin D2 is released during acute allergic bronchospasm in man. *Trans Assoc Am Physicians* 1985;98:275-80.
23. Tonnel AB, Joseph M, Gosset P, Fournier E, Capron A. Stimulation of alveolar macrophages in asthmatic patients after local provocation test. *Lancet* 1983;1:1406-8.
24. Wenzel SE, Westcott JY, Smith HR, Larsen GL. Spectrum of prostanoid release after bronchoalveolar allergen challenge in atopic asthmatics and in control groups. An alteration in the ratio of bronchoconstrictive to bronchoprotective mediators. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:450-7.
25. Comhair SA, Bhatena PR, Dweik RA, Kavuru M, Erzurum SC. Rapid loss of superoxide dismutase activity during antigen-induced asthmatic responses [letter]. *Lancet* 2000;355:624.
26. Persson CG. Role of plasma exudation in asthmatic airways. *Lancet* 1986;2:1126-9.

27. Holgate ST. The 1992 Cournand Lecture. Asthma: past, present and future. *Eur Respir J* 1993;6:1507-20.
28. Bochner BS, Udem BJ, Lichtenstein LM. Immunological aspects of allergic asthma. *Annu Rev Immunol* 1994;12:295-335.
29. Sehmi R, Howie K, Sutherland DR, Schragge W, O'Byrne PM, Denburg JA. Increased levels of CD34+ hemopoietic progenitor cells in atopic subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;15:645-55.
30. Denburg JA. The origins of basophils and eosinophils in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:S74-6.
31. Montefort S, Roche WR, Howarth PH, Djukanovic R, Gratziau C, Carroll M, et al. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) expression in the bronchial mucosa of normal and asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1992;5:815-23.
32. Sedgwick JB, Quan SF, Calhoun WJ, Busse WW. Effect of interleukin-5 and granulocyte-macrophage colony stimulating factor on in vitro eosinophil function: comparison with airway eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:375-85.
33. Teixeira MM, Wells TN, Lukacs NW, Proudfoot AE, Kunkel SL, Williams TJ, et al. Chemokine-induced eosinophil recruitment. Evidence of a role for endogenous eotaxin in an in vivo allergy model in mouse skin. *J Clin Invest* 1997;100:1657-66.
34. Haslett C, Savill JS, Whyte MK, Stern M, Dransfield I, Meagher LC. Granulocyte apoptosis and the control of inflammation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1994;345:327-33.
35. White E. Life, death, and the pursuit of apoptosis. *Genes Dev* 1996;10:1-15. 36. Woolley KL, Adelroth E, Woolley MJ, Ramis I, Abrams JS, Jordana M, et al. Interleukin-3 in bronchial biopsies from nonasthmatics and patients with mild and allergen-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:350-5.
37. Simon HU, Blaser K. Inhibition of programmed eosinophil death: a key pathogenic event for eosinophilia? *Immunol Today* 1995;16:53-5.
38. Woolley KL, Gibson PG, Carty K, Wilson AJ, Twaddell SH, Woolley MJ. Eosinophil apoptosis and the resolution of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:237-43.
39. Vignola AM, Chanez P, Chiappara G, Siena L, Merendino A, Reina C, et al. Evaluation of apoptosis of eosinophils, macrophages, and T lymphocytes in mucosal biopsy specimens of patients with asthma and chronic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:563-73.
40. Kraft M, Djukanovic R, Wilson S, Holgate ST, Martin RJ. Alveolar tissue inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1505-10.
41. Kraft M, Martin RJ, Wilson S, Djukanovic R, Holgate ST. Lymphocyte and eosinophil influx into alveolar tissue in nocturnal asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:228-34.
42. Sheppard MN, Harrison NK. New perspectives on basic mechanisms in lung disease. 1. Lung injury, inflammatory mediators, and fibroblast activation in fibrosing alveolitis. *Thorax* 1992;47:1064-74.
43. Low RB. Modulation of myofibroblast and smooth-muscle phenotypes in the lung. *Curr Top Pathol* 1999;93:19-26.
44. Leslie KO, Mitchell J, Low R. Lung myofibroblasts. *Cell Motil Cytoskeleton* 1992;22:92-8.
45. Brewster CE, Howarth PH, Djukanovic R, Wilson J, Holgate ST, Roche WR. Myofibroblasts and subepithelial fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;3:507-11.
46. Gizycki MJ, Adelroth E, Rogers AV, O'Byrne PM, Jeffery PK. Myofibroblast involvement in the allergen-induced late response in mild atopic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:664-73.
47. Sun G, Stacey MA, Bellini A, Marini M, Mattoli S. Endothelin-1 induces bronchial myofibroblast differentiation. *Peptides* 1997;18:1449-51.
48. Zhang S, Smartt H, Holgate ST, Roche WR. Growth factors secreted by bronchial epithelial cells control myofibroblast proliferation: an in vitro co-culture model of airway remodeling in asthma. *Lab Invest* 1999;79:395-405.
49. Holgate ST, Davies DE, Lackie PM, Wilson SJ, Puddicombe SM, Lordan JL. Epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:193-204.
50. Puddicombe SM, Davies DE. The role of MAP kinases in intracellular signal transduction in bronchial epithelium. *Clin Exp Allergy* 2000;30:7-11.
51. Holgate ST. Epithelial damage and response. *Clin Exp Allergy* 2000;30 Suppl 1:37-41.
52. Chung KF, Barnes PJ. *Cytokines in asthma*. *Thorax* 1999;54:825-57.
53. John M, Hirst SJ, Jose PJ, Robichaud A, Berkman

- N, Witt C, et al. Human airway smooth muscle cells express and release RANTES in response to T helper 1 cytokines: regulation by T helper 2 cytokines and corticosteroids. *J Immunol* 1997;158:1841-7.
54. Hirst SJ. Airway smooth muscle cell culture: application to studies of airway wall remodelling and phenotype plasticity in asthma. *Eur Respir J* 1996;9:808-20.
55. Bradley BL, Azzawi M, Jacobson M, Assoufi B, Collins JV, Irani AM, et al. Eosinophils, T-lymphocytes, mast cells, neutrophils, and macrophages in bronchial biopsy specimens from atopic subjects with asthma: comparison with biopsy specimens from atopic subjects without asthma and normal control subjects and relationship to bronchial hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:661-74.
56. Busse WW, Sedgwick JB. Eosinophil eicosanoid relations in allergic inflammation of the airways. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 1994;22:241-9.
57. Ying S, Durham SR, Corrigan CJ, Hamid Q, Kay AB. Phenotype of cells expressing mRNA for TH2- type (interleukin 4 and interleukin 5) and TH1-type (interleukin 2 and interferon gamma) cytokines in bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies from atopic asthmatic and normal control subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;12:477-87.
58. Broide DH, Paine MM, Firestein GS. Eosinophils express interleukin 5 and granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor mRNA at sites of allergic inflammation in asthmatics. *J Clin Invest* 1992;90:1414-24.
59. Weller PF. The immunobiology of eosinophils. *N Engl J Med* 1991;324:1110-8.
60. Gleich GJ, Adolphson CR, Leiferman KM. The biology of the eosinophilic leukocyte. *Annu Rev Med* 1993;44:85-101.
61. Venge P, Hakansson L, Peterson CG. Eosinophil activation in allergic disease. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987;82:333-7.
62. Capron M. Eosinophils: receptors and mediators in hypersensitivity. *Clin Exp Allergy* 1989;19 Suppl 1:3-8.
63. Rabe KF, Munoz NM, Vita AJ, Morton BE, Magnussen H, Leff AR. Contraction of human bronchial smooth muscle caused by activated human eosinophils. *Am J Physiol* 1994;267:L326-34.
64. Collins DS, Dupuis R, Gleich GJ, Bartemes KR, Koh YY, Pollice M, et al. Immunoglobulin E-mediated increase in vascular permeability correlates with eosinophilic inflammation. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:677-83.
65. Leff AR. Inflammatory mediation of airway hyperresponsiveness by peripheral blood granulocytes. The case for the eosinophil. *Chest* 1994;106:1202-8.
66. Leckie MJ, Ten Brinke A, Khan J, Diamant Z, Walls CM, Mathur AK, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway responsiveness and the late asthmatic response. *Lancet* 2000;356:2144-8.
67. Bryan SA, O'Connor BJ, Matti S, et al. Effects of recombinant human interleukin-12 on eosinophils, airway hyperresponsiveness, and the response to allergen in patients with asthma. *Lancet* 2000;356:2149-53.
68. Djukanovic R, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR, et al. Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:863-71.
69. Pesci A, Foresi A, Bertorelli G, Chetta A, Olivieri D, Oliveri D. Histochemical characteristics and degranulation of mast cells in epithelium and lamina propria of bronchial biopsies from asthmatic and normal subjects [published erratum appears in *Am Rev Respir Dis* 1993;148:following 264]. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:684-9.
70. Koshino T, Arai Y, Miyamoto Y, Sano Y, Takaishi T, Hirai K, et al. Mast cell and basophil number in the airway correlate with the bronchial responsiveness of asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:378-9.
71. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:599-606.
72. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:806-17.
73. Malech HL, Gallin JI. Current concepts: immunology. Neutrophils in human diseases. *N Engl J Med* 1987;317:687-94.
74. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 1982;107:395-418.
75. Lloyd AR, Oppenheim JJ. Poly's lament: the neglected role of the polymorphonuclear neutrophil in the afferent limb of the immune response. *Immunol Today* 1992;13:169-72.
76. Wenzel SE, Szefer SJ, Leung DY, Sloan SI, Rex

- MD, Martin RJ. Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:737-43.
77. Nathan CF. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 1987;79:319-26.
78. Johnston RB Jr. Current concepts: immunology. Monocytes and macrophages. *N Engl J Med* 1988;318:747-52.
79. Werb Z, Underwood J, Rappolee D. The role of macrophage-derived growth factors in tissue repair. In: Van Furth R, ed. *Mononuclear phagocytes*. Dordrecht: Kluwer Academic Press; 1992. p. 404-9.
80. Senior RM, Connolly NL, Cury JD, Welgus HG, Campbell EJ. Elastin degradation by human alveolar macrophages. A prominent role of metalloproteinase activity. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:1251-6.
81. Vignola AM, Chanez P, Chiappara G, Merendino A, Zinnanti E, Bousquet J, et al. Release of transforming growth factor-beta (TGF-beta) and fibronectin by alveolar macrophages in airway diseases. *Clin Exp Immunol* 1996;106:114-9.
82. Nadel JA. Autonomic regulation of airway smooth muscle. In: Nadel JA, ed. *Physiology and pharmacology of the airways*. New York: Marcel Dekker; 1980. p. 217-58.
83. Barnes PJ, Baraniuk JN, Belvisi MG. Neuropeptides in the respiratory tract. *Part II*. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:1391-9.
84. Hamid Q, Springall DR, Riveros-Moreno V, Chanez P, Howarth P, Redington A, et al. Induction of nitric oxide synthase in asthma. *Lancet* 1993;342:1510-3.
85. Barnes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 1993;48:1034-43.
86. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994;343:133-5.
87. Roche WR, Beasley R, Williams JH, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989;1:520-4.
88. Roman J. Extracellular matrix and lung inflammation. *Immunol Res* 1996;15:163-78.
89. Redington AE, Roche WR, Holgate ST, Howarth PH. Co-localization of immunoreactive transforming growth factor-beta 1 and decorin in bronchial biopsies from asthmatic and normal subjects. *J Pathol* 1998;186:410-5.
90. Lipscombe RJ, Nakhoul AM, Sanderson CJ, Coombe DR. Interleukin-5 binds to heparin/heparan sulfate. A model for an interaction with extracellular matrix. *J Leukoc Biol* 1998;63:342-50.
91. DeGrendele HC, Estess P, Picker LJ, Siegelman MH. CD44 and its ligand hyaluronate mediate rolling under physiologic flow: a novel lymphocyte-endothelial cell primary adhesion pathway. *J Exp Med* 1996;183:1119-30.
92. Laurent TC, Fraser JR. Hyaluronan. *Faseb J* 1992;6:2397-404.
93. Lavens SE, Goldring K, Thomas LH, Warner JA. Effects of integrin clustering on human lung mast cells and basophils. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;14:95-103.
94. Anwar AR, Moqbel R, Walsh GM, Kay AB, Wardlaw AJ. Adhesion to fibronectin prolongs eosinophil survival. *J Exp Med* 1993;177:839-43.
95. Neeley SP, Hamann KJ, Dowling TL, McAllister KT, White SR, Leff AR. Augmentation of stimulated eosinophil degranulation by VLA-4 (CD49d)-mediated adhesion to fibronectin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;11:206-13.
96. Meerschaert J, Kelly EA, Mosher DF, Busse WW, Jarjour NN. Segmental antigen challenge increases fibronectin in bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:619-25.
97. Dunnill MS, Massarella GR, Anderson JA. A comparison of the quantitative anatomy of the bronchi in normal subjects, in status asthmaticus, in chronic bronchitis, and in emphysema. *Thorax* 1969;24:176-9.
98. Hossain S, Heard BE. Hyperplasia of bronchial muscle in chronic bronchitis. *J Pathol* 1970;101:171-84.
99. Kips JC, Pauwels RA. Airway wall remodelling: does it occur and what does it mean? *Clin Exp Allergy* 1999;29:1457-66.
100. Pare PD, Bai TR, Roberts CR. The structural and functional consequences of chronic allergic inflammation of the airways. *Ciba Found Symp* 1997;206:71-86.
101. McFadden ER Jr. Exertional dyspnea and cough as preludes to acute attacks of bronchial asthma. *N Engl J Med* 1975;292:555-9.
102. Glauser FL. Variant asthma. *Ann Allergy* 1972;30:457-9.

103. Hannaway PJ, Hopper GD. Cough variant asthma in children. *JAMA* 1982;247:206-8.
104. Barnes PJ. Poorly perceived asthma [editorial]. *Thorax* 1992;47:408-9.
105. Boulet LP, Deschesnes F, Turcotte H, Gignac F. Near-fatal asthma: clinical and physiologic features, perception of bronchoconstriction, and psychologic profile. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:838-46.
106. Kikuchi Y, Okabe S, Tamura G, Hida W, Homma M, Shirato K, et al. Chemosensitivity and perception of dyspnea in patients with a history of near-fatal asthma. *N Engl J Med* 1994;330:1329-34.
107. Veen JC, Smits HH, Ravensberg AJ, Hiemstra PS, Sterk PJ, Bel EH. Impaired perception of dyspnea in patients with severe asthma. Relation to sputum eosinophils. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1134-41.
108. Wiggs BR, Bosken C, Pare PD, James A, Hogg JC. A model of airway narrowing in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:1251-8.
109. Aikawa T, Shimura S, Sasaki H, Ebina M, Takishima T. Marked goblet cell hyperplasia with mucus accumulation in the airways of patients who died of severe acute asthma attack. *Chest* 1992;101:916-21.
110. Shimura S, Andoh Y, Haraguchi M, Shirato K. Continuity of airway goblet cells and intraluminal mucus in the airways of patients with bronchial asthma. *Eur Respir J* 1996;9:1395-401.
111. Huber H, Koessler K. The pathology of bronchial asthma. *Arch Intern Med* 1922;30:689-710.
112. Dunnill MS. The pathology of asthma with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J Clin Pathol* 1960;13:27-33.
113. Fahy JV. Airway mucus and the mucociliary system. In: Middleton E, Ellis EF, Adkinson NF Jr, Yunginger JW, Busse WW, eds. *Allergy principles and practice*. St. Louis: Mosby; 1998. p. 520-31.
114. Kessler GF, Austin JH, Graf PD, Gamsu G, Gold WM. Airway constriction in experimental asthma in dogs: tantalum bronchographic studies. *J Appl Physiol* 1973;35:703-8.
115. Carroll N, Elliot J, Morton A, James A. The structure of large and small airways in nonfatal and fatal asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:405-10.
116. Awadh N, Muller NL, Park CS, Abboud RT, FitzGerald JM. Airway wall thickness in patients with near fatal asthma and control groups: assessment with high resolution computed tomographic scanning. *Thorax* 1998;53:248-53.
117. McFadden ER Jr. Pulmonary structure, physiology and clinical correlates in asthma. In: Middleton E, Ellis EF, Adkinson NF Jr, Yunginger JW, Busse WW, eds. *Allergy principles and practice*. St. Louis: Mosby; 1993. p. 672-93.
118. Ding DJ, Martin JG, Macklem PT. Effects of lung volume on maximal methacholine-induced bronchoconstriction in normal humans. *J Appl Physiol* 1987;62:1324-30.
119. McFadden ER Jr, Kiser R, DeGroot WJ. Acute bronchial asthma. Relations between clinical and physiologic manifestations. *N Engl J Med* 1973;288:221-5.
120. Sterk PJ, Fabbri LM, Quanjer PH, Cockcroft DW, O'Byrne PM, Anderson SD, et al. Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J* 1993;16 Suppl:53-83.
121. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, Hankinson JL, Irvin CG, et al. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing—1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:309-29.
122. Solway J, Fredberg JJ. Perhaps airway smooth muscle dysfunction contributes to asthmatic bronchial hyperresponsiveness after all. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17:144-6.
123. Macklem PT. A theoretical analysis of the effect of airway smooth muscle load on airway narrowing. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:83-9.
124. Thomson RJ, Bramley AM, Schellenberg RR. Airway muscle stereology: implications for increased shortening in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:749-57.
125. Bai TR. Abnormalities in airway smooth muscle in fatal asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:552-7.
126. Stephens NL, Li W, Wang Y, Ma X. The contractile apparatus of airway smooth muscle. Biophysics and biochemistry. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:S80-94.
127. Mitchell RW, Ruhlmann E, Magnussen H, Leff AR,

- Rabe KF. Passive sensitization of human bronchi augments smooth muscle shortening velocity and capacity. *Am J Physiol* 1994;267:L218-22.
128. Ebina M, Takahashi T, Chiba T, Motomiya M. Cellular hypertrophy and hyperplasia of airway smooth muscles underlying bronchial asthma. A 3-D morphometric study. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:720-6.
129. Chung KF. Airway smooth muscle cells: contributing to and regulating airway mucosal inflammation? *Eur Respir J* 2000;15:961-8.
130. Gunst SJ, Tang DD. The contractile apparatus and mechanical properties of airway smooth muscle. *Eur Respir J* 2000;15:600-16.
131. Fredberg JJ. Airway smooth muscle in asthma. Perturbed equilibria of myosin binding. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:S158-60.
132. Johnson PR, Ammit AJ, Carlin SM, Armour CL, Caughey GH, Black JL. Mast cell tryptase potentiates histamine-induced contraction in human sensitized bronchus. *Eur Respir J* 1997;10:38-43.
133. Schmidt D, Watson N, Ruehlmann E, Magnussen H, Rabe KF. Serum immunoglobulin E levels predict human airway reactivity in vitro. *Clin Exp Allergy* 2000;30:233-41.
134. King GG, Pare PD, Seow CY. The mechanics of exaggerated airway narrowing in asthma: the role of smooth muscle. *Respir Physiol* 1999;118:1-13.
135. Shimura S, Sasaki T, Sasaki H, Takishima T. Chemical properties of bronchorrhea sputum in bronchial asthma. *Chest* 1988;94:1211-5.
136. Earle BV. Fatal bronchial asthma. *Thorax* 1953;8:195-206.
137. Cardell BS, Pearson RSB. Death in asthmatics. *Thorax* 1959;14:341-52.
138. Fahy JV, Steiger DJ, Liu J, Basbaum CB, Finkbeiner WE, Boushey HA. Markers of mucus secretion and DNA levels in induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1132-7.
139. Fahy JV, Liu J, Wong H, Boushey HA. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1126-31.
140. Sakula A. Charcot-Leyden crystals and Curschmann spirals in asthmatic sputum. *Thorax* 1986;41:503-7.
141. Takeyama K, Dabbagh K, Lee HM, Agusti C, Lausier JA, Ueki IF, et al. Epidermal growth factor system regulates mucin production in airways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:3081-6.
142. Grunig G, Warnock M, Wakil AE, Venkayya R, Brombacher F, Rennick DM, et al. Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. *Science* 1998;282:2261-3.
143. Temann UA, Prasad B, Gallup MW, Basbaum C, Ho SB, Flavell RA, et al. A novel role for murine IL-4 in vivo: induction of MUC5AC gene expression and mucin hypersecretion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:471-8.
144. Rogers DF. Airway goblet cells: responsive and adaptable front-line defenders. *Eur Respir J* 1994;7:1690-706.
145. Wanner A, Salathe M, O'Riordan TG. Mucociliary clearance in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1868-902.
146. Nadel JA, Takeyama K, Agusti C. Role of neutrophil elastase in hypersecretion in asthma. *Eur Respir J* 1999;13:190-6.
147. Fahy JV, Kim KW, Liu J, Boushey HA. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:843-52.
148. Paganin F, Seneterre E, Chanez P, Dures JP, Bruel JM, Michel FB, et al. Computed tomography of the lungs in asthma: influence of disease severity and etiology. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:110-4.
149. Brown PJ, Greville HW, Finucane KE. Asthma and irreversible airflow obstruction. *Thorax* 1984;39:131-6.
150. Lange P, Parner J, Vestbo J, Schnohr P, Jensen G. A 15-year follow-up study of ventilatory function in adults with asthma. *N Engl J Med* 1998;339:1194-200.
151. Ulrik CS. Outcome of asthma: longitudinal changes in lung function. *Eur Respir J* 1999;13:904-18.
152. Agertoft L, Pedersen S. Effects of long-term treatment with an inhaled corticosteroid on growth and pulmonary function in asthmatic children. *Respir Med* 1994;88:373-81.
153. Haahtela T, Jarvinen M, Kava T, Kiviranta K, Koskinen S, Lehtonen K, et al. Comparison of a beta 2-agonist, terbutaline, with an inhaled corticosteroid, budesonide, in newly detected asthma. *N Engl J Med* 1991;325:388-92.
154. Selroos O, Pietinalho A, Lofroos AB, Riska H.

- Effect of early vs late intervention with inhaled corticosteroids in asthma. *Chest* 1995;108:1228-34.
155. Fabbri L, Beghe B, Caramori G, Papi A, Saetta M. Similarities and discrepancies between exacerbations of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1998;53:803-8.
156. Dolovich J, Hargreave F. The asthma syndrome: inciters, inducers, and host characteristics. *Thorax* 1981;36:641-3.
157. Strauss RH, McFadden ER Jr, Ingram RH Jr, Jaeger JJ. Enhancement of exercise-induced asthma by cold air. *N Engl J Med* 1977;297:743-7.
158. Godfrey S, Bar-Yishay E. Exercise-induced asthma revisited. *Respir Med* 1993;87:331-44.
159. Johnston SL. Viruses and asthma. *Allergy* 1998;53:922-32.
160. Corne JM, Holgate ST. Mechanisms of virus induced exacerbations of asthma. *Thorax* 1997;52:380-9.
161. Grunberg K, Timmers MC, de Klerk EP, Dick EC, Sterk PJ. Experimental rhinovirus 16 infection causes variable airway obstruction in subjects with atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1375-80.
162. Fraenkel DJ, Bardin PG, Sanderson G, Lampe F, Johnston SL, Holgate ST. Lower airways inflammation during rhinovirus colds in normal and in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:879-86.
163. Grunberg K, Smits HH, Timmers MC, de Klerk EP, Dolhain RJ, Dick EC, et al. Experimental rhinovirus 16 infection. Effects on cell differentials and soluble markers in sputum in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:609-16.
164. Djukanovic R, Feather I, Gratziau C, Walls A, Peroni D, Bradding P, et al. Effect of natural allergen exposure during the grass pollen season on airways inflammatory cells and asthma symptoms. *Thorax* 1996;51:575-81.
165. Sterk PJ. Repeated low dose allergen exposure: a new investigational model of asthma as a persistent disease? *Eur Respir J* 1998;11:798-800.
166. Chan-Yeung M, Malo JL. Occupational asthma. *N Engl J Med* 1995;333:107-12.
167. Saetta M, Maestrelli P, Turato G, Mapp CE, Milani G, Pivrotto F, et al. Airway wall remodeling after cessation of exposure to isocyanates in sensitized asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:489-94.
168. Krishna MT, Mudway I, Kelly FJ, Frew AJ, Holgate ST. Ozone, airways and allergic airways disease. *Clin Exp Allergy* 1995;25:1150-8.
169. Szczeklik A, Nizankowska E, Bochenek G, Nagraba K, Mejza F, Swierczynska M. Safety of a specific COX-2 inhibitor in aspirin-induced asthma. *Clin Exp Allergy* 2001;31:219-25.
170. Marquette CH, Saulnier F, Leroy O, Wallaert B, Chopin C, Demarcq JM, et al. Long-term prognosis of near-fatal asthma. A 6-year follow-up study of 145 asthmatic patients who underwent mechanical ventilation for a near-fatal attack of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:76-81.
171. Silkoff PE, Martin RJ. Pathophysiology of nocturnal asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81:378-83.
172. ten Hacken NH, Timens W, Smith M, Drok G, Kraan J, Postma DS. Increased peak expiratory flow variation in asthma: severe persistent increase but not nocturnal worsening of airway inflammation. *Eur Respir J* 1998;12:546-50.
173. Irvin CG, Pak J, Martin RJ. Airway-parenchyma uncoupling in nocturnal asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:50-6.
174. McFadden ER Jr, Lyons HA. Arterial-blood gas tension in asthma. *N Engl J Med* 1968;278:1027-32.
175. Stanescu DC, Teculescu DB. Pulmonary function in status asthmaticus: effect of therapy. *Thorax* 1970;25:581-6.
176. Ferrer A, Roca J, Wagner PD, Lopez FA, Rodriguez-Roisin R. Airway obstruction and ventilation-perfusion relationships in acute severe asthma [published erratum appears in *Am Rev Respir Dis* 1993;148:following 264]. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:579-84.

