

## Cytokiny w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc oraz przewlekłym zapaleniu oskrzeli \*

### Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease and chronic bronchitis \*

PETR PANZNER

Katedra Alergologii i Immunologii, Uniwersytetu Karola w Pilźnie, Alej Svobody 80, 304 60 Plzen, Czech Republic

Przewlekły proces zapalny w błonie śluzowej oskrzeli, chorych na przewlekłą chorobę obturacyjną płuc (POChP) i przewlekłe zapalenie oskrzeli (PZO) podlega złożonej kontroli wzajemnie wpływających na siebie cytokin. W odróżnieniu od astmy oskrzelowej stosunkowo niewiele dotychczas wiemy o czynnikach inicjujących oraz podtrzymujących zmiany zapalne w drogach oddechowych chorych na POChP i PZO. Klasyczne, dotychczas panujące wyobrażenie o dominującej roli wydzielanych przez limfocyty Th1 cytokin, wydaje się, w obliczu najnowszych doniesień, ulegać zmianie. Naciek zapalny śluzówki oskrzeli tworzą, poza neutrofilami, limfocytami T, makrofagami i eozynofilami, także makrofagi. Za migrację makrofagów, poza IL-8, odpowiada wiele innych chemokin. W podtrzymaniu przewlekłego procesu zapalnego istotną rolę pełnią prozapalne cytokiny: IL-6, TNF- $\alpha$  oraz posiadający znaczne własności fibrynogenne TGB- $\beta$ . Okazało się, że palenie tytoniu, najważniejszy czynnik przyczyniający się do rozwoju POChP i PZO, wpływa na spektrum oraz stężenie powstających w drogach oddechowych cytokin. *Alergia Astma Immunologia, 2002, 8(2), 91-99*

**Słowa kluczowe:** przewlekła obturacyjna choroba płuc, przewlekłe zapalenie oskrzeli, cytokiny

The chronic inflammatory reaction in the bronchial mucosa in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and chronic bronchitis is controlled by complex set of interacting cytokines. Unlike it is in case of bronchial asthma, factors that initiate and sustain the inflammatory changes in the airways of COPD and chronic bronchitis patients are little known. The latest evidence demonstrated that it is necessary to change our understanding of the relevant role of the cytokines released by Th1. The inflammatory cells in bronchial mucosa include macrophages beside of neutrophils, lymphocytes T, and eosinophils. The migration of macrophages is regulated not only by IL-8 but also numerous other chemokins. The chronic inflammatory processes are sustained by pro-inflammatory cytokines: IL-6, TNF- $\alpha$  and the remarkably fibrinogenic TGB- $\beta$ . It appears that cigarette smoking, as the most relevant factor in the progression of COPD and chronic bronchitis, affects the spectrum and the concentrations of the cytokines released in the airways.

*Alergia Astma Immunologia, 2002, 8(2), 91-99*

**Key words:** chronic obstructive pulmonary disease, chronic bronchitis, cytokines

Podstawową cechą charakterystyczną przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP) jest postępujące, nieodwracalne zwężenie oskrzeli. Choroba rozwija się w płucach, na podłożu zmian zapalnych wywołanych inhalacją szkodliwych pyłów lub gazów. Konsekwencją zmian zapalnych jest uszkodzenie drobnych dróg oddechowych (*bronchiolitis*) oraz pęcherzyków płucnych (rozedma). Obydwe zmiany występują równocześnie, w różnym nasileniu, w płucach i razem wpływają na rozwój postępującej obturacji. Palenie tytoniu stanowi główną przyczynę rozwoju przewlekłej obturacyjnej choroby płuc, jednocześnie wiemy, że do rozwoju POChP dochodzi tylko u mniejszości palaczy. Czynniki zwiększające ryzyko rozwoju przewlekłej obturacyjnej choroby płuc nie zostały dotychczas w pełni zidentyfikowane. Palenie tytoniu jest natomiast ściśle związane z częstym występowaniem przew-

lekłego zapalenia oskrzeli (PZO) i ze zwiększoną skłonnością do rozwoju infekcji.

Patogeneza obturacji dróg oddechowych u chorych na POChP jest najpewniej wieloczynnikowa. Proces zapalny prowadzi do przebudowy i zwężenia dróg oddechowych oraz utraty elastyczności przez tkankę płucną. Swoją rolę w patogenezie POChP mają zaburzenia równowagi enzymatycznej (proteazy – antyproteazy), stres oksydacyjny oraz nawracające infekcje. W badaniach histopatologicznych stwierdza się metaplastję i hiperplastję błony śluzowej oskrzeli, pogrubienie błony wewnętrznej, zwiększone włóknienie i przerost mięśni gładkich, prowadzące do zwężenia dróg oddechowych. Udowodniono nieprawidłową depozycję kolagenu o zmienionej strukturze [20]. W następstwie przedstawionych mechanizmów dochodzi do zwężenia oskrzeli i oskrzelików. Zmiany zapalne

\* Tłumaczenie z języka czeskiego: dr med. Radosław Gawlik

i zaburzenia enzymatyczne usposabiają do rozwoju rozedmy środka zrazika, uszkodzenia ścian pęcherzyków płucnych, a w konsekwencji do obniżenia FEV1. Kolejną cechą charakterystyczną dla POChP jest naciek komórek zapalnych. Wielu badaczy wykazało zwiększoną ilość neutrofilów, limfocytów T, makrofagów, a także eozynofiliów i makrofagów w błonie śluzowej oskrzeli [5,23,36,54,55,56]. Różne formy POChP są prawdopodobnie wywołane uszkodzeniem dróg oddechowych uwalnianymi przez neutrofile mediatorami – perforyną i granzymem.

Przewlekły proces zapalny w błonie śluzowej oskrzeli u chorych na POChP i PZO podlega złożonej kontroli wzajemnie wpływających na siebie cytokin. Dokładna rola poszczególnych cytokin w ramach istniejącej sieci powiązań nie została dotąd w pełni wyjaśniona. W dalszej części przedstawiono zróżnicowaną rolę i ekspresję cytokin w drogach oddechowych.

### Które z limfocytów pomocniczych Th dominują w POChP?

W odróżnieniu od astmy oskrzelowej, aktualnie stosunkowo mało wiemy o tym, jakie komórki inicjują, a następnie podtrzymują procesy zapalne w drogach oddechowych w przebiegu POChP. Wykazano, że limfocyty CD8<sup>+</sup> występują w znacznej ilości w płucach chorych na POChP oraz, że ich ilość jest ściśle związana z zaburzeniami czynnościowymi płuc. Wiadomo, że nie wszystkie limfocyty CD8<sup>+</sup> są jednakowe, występują subpopulacje wytwarzające INF- $\gamma$ , ale nie produkujące IL-4 (TC1) oraz limfocyty T syntetyzujące obydwie cytokiny (TC0), a także takie, które produkują IL-4, ale nie wytwarzają INF- $\gamma$ [42].

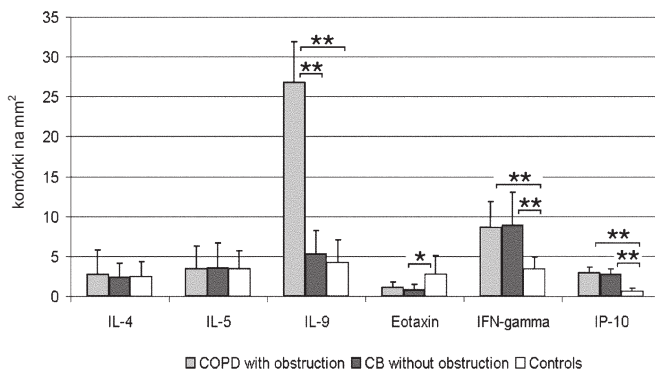
POChP i PZO przebiegające bez zwężenia światła oskrzeli są często uważane za choroby z dominującym udziałem Th1, o czym świadczy bogaty naciek błony śluzowej przez limfocyty i komórki jednojądrzaste oraz zwiększona ilość neutrofilów w płwocinie. Istnieją również przesłanki dotyczące zaangażowania limfocytów Th2 w rozwój choroby, czego dowodzi zwiększona ilość eozynofiliów.

**IL-5** jest podstawową, wydzielaną przez limfocyty Th2 cytokiną, odpowiedzialną za dojrzewanie i różnicowanie eozynofiliów. Liczba komórek IL-5 dodatnich jest w biopłatach oskrzeli mniejsza u chorych na POChP niż u zdrowych [4]. Eozynofilia, stwierdzana w drogach oddechowych chorych na POChP i PZO, nie jest związana ze zwiększoną ekspresją IL-5 w śluzówce oskrzeli [31,68], ani ze zwiększoną ekspresją mRNA dla IL-5 i IL-4 [36,56,85,87]. Mimo, iż podczas zaostrzeń w przebiegu POChP dochodzi do wzrostu eozynofilii, nie obserwuje się statystycznie znaczącej zmiany ekspresji mRNA dla IL-5 [86].

**IL-9** jest multipotencjalną cytokiną wydzielaną przez limfocyty Th2 wpływającą na limfocyty T i B oraz komórki tuczne. IL-9 aktywuje komórki Th2 i stymuluje syn-

tezę IgE i IgG, zwiększa wytwarzanie mucyny, która przyczynia się do rozwoju chorób płuc. U chorych na POChP, w porównaniu z chorymi na PZO oraz osobami zdrowymi, obserwowaliśmy wyraźny wzrost liczby komórek zawierających mRNA dla IL-9 [56].

Z drugiej strony wydzielane przez Th1 cytokiny nie wydają się być istotnym elementem odpowiedzialnym za rozwój zmian zapalnych w POChP i PZO.



Ryc. 1. Ekspresja cytokin i chemokin w biopłatach oskrzelowych (zapożyczono z [56])

Wpływ cytokin na procesy immunologiczne i zapalne zależy często od aktywacji przekazników wewnątrzkomórkowych tj. czynników transkrypcyjnych (STATs). Aktywność nabłonkowego STAT-1 (czynnik transkrypcyjny dla INF- $\gamma$ ) jest taka sama u chorych na PZO i osób zdrowych, towarzyszy jej zmniejszona obecność INF- $\gamma$  oraz zmniejszona ilość komórek produkujących INF- $\gamma$ [69]. U chorych na ciężką postać POChP, w porównaniu z grupą zdrowych palaczy, wykazano znaczący spadek ilości komórek zawierających INF- $\gamma$  [4]. Zaobserwowano, że nasilenie przewlekłej obturacyjnej choroby płuc wiąże się ze zmniejszeniem w tkance oskrzelowej liczby komórek Th1 zawierających INF- $\gamma$  i IL-2, co wskazuje na upośledzenie odporności komórkowej w ciężkich postaciach POChP [4].

W śluzówce oskrzeli chorych na POChP i PZO stwierdzono jednak większą liczbę komórek zawierających mRNA dla INF- $\gamma$  niż w grupie zdrowych [56].

Niespodzianką jest fakt wykazania wśród limfocytów CD4<sup>+</sup> krwi obwodowej chorych na POChP zwiększonej liczby komórek produkujących INF- $\gamma$  i zmniejszonego odsetka limfocytów wytwarzających IL-4, zjawiska nie obserwowanego u osób zdrowych. U tych samych badanych nie zanotowano żadnych znaczących różnic w ilości produkowanych przez limfocyty T CD8<sup>+</sup> interferonu- $\gamma$  i IL-4 [45].

**IL-15** należy do Th1 cytokin, zwiększających produkcję INF- $\gamma$  i TNF- $\alpha$  oraz aktywujących limfocyty i makrofagi. W błonie śluzowej oskrzeli chorych na PZO wykazano większe nagromadzenie komórek zawierających mRNA dla IL-15 niż u osób zdrowych [51].

## Które chemokiny są istotne w patogenezie POChP i PZO?

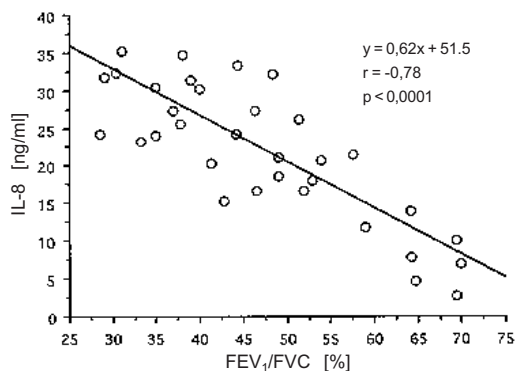
**IL-8** jest CXC chemokina, działającą swoiście na neutrofile i eozynofile. Ma prawdopodobnie znaczenie w aktywacji tych komórek. Interleukina-8 jest produkowana przez makrofagi pęcherzykowe, neutrofile i nabłonek dróg oddechowych. Wydzielanie IL-8 indukowane jest m.in. przez TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i lipopolisacharydy [72]. Elastaza neutrofilowa oraz defenzyny mogą także pobudzać wydzielanie IL-8 przez nabłonek oddechowy. Działanie wymienionych enzymów ograniczone jest inhibitorami protez oraz wzajemnie blokującym oddziaływaniem pomiędzy białkami neutrofilów [26].

Liczne badania wykazały podwyższone stężenia IL-8 w płwocinie [14,21,38,39,40,48,53,57,63,65,83] i popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych [11,28,49,59,65,73] chorych na POChP. Stężenia IL-8 u chorych na POChP były wyższe w porównaniu do odpowiednich wartości u chorych na astmę oraz zdrowych palaczy i osób niepalących. Liczba neutrofilów, stężenia mieloperoksydazy, elastazy, ECP i NO korelują dodatnio z poziomem IL-8 [30,37,38,49,53,59,73,83]. Obserwowano ujemną zależność między stężeniem IL-8 i wartościami FEV1 [73,83].

Chorzy z częstymi zaostrzeniami POChP wykazują wyższe stężenia IL-8 w płwocinie [7]. Stężenia IL-8 i LTB4 w płwocinie wzrastają podczas zaostrzeń choroby, ulegając znamiennej obniżeniu po leczeniu [12].

W płwocinie chorych na PZO znajduje się więcej komórek zawierających IL-8 niż u chorych na astmę. U chorych na PZO interleukinę 8 znajduje się w neutrofilach, zaś u chorych na astmę w monocytach, makrofagach, komórkach nabłonka oddechowego [31]. Powyższe obserwacje potwierdzają hipotezę o odmiennej roli IL-8 w patogenezie astmy i POChP.

Kolejną CXC chemokina wpływającą, poza limfocytami i monocytami, na eozynofile jest **RANTES**. Podczas zaostrzeń PZO wykazano w komórkach nabłonka



Ryc. 2. Zależność pomiędzy stężeniem IL-8 w płwocinie a wartością wskaźnika FEV1/FVC u chorych na POChP (zapożyczono z [83])

oskrzeli i komórkach jednojądrzastych błony śluzowej znamiennej wzrost ekspresji mRNA dla tej chemokiny [87].

Liczba obserwowanych komórek korelowała z liczbą eozynofiliów [87]. Powyższe spostrzeżenia wskazują na możliwość rozwoju u chorych na PZO zmian zapalnych przypominających częściowo zapalenie alergiczne.

**MCP-1, MIP-1 $\alpha$  i MIP-1 $\beta$**  to CC chemokiny działające chemotaktycznie na komórki jednojądrzaste. **MCP-4** posiada zbliżone do eotaksyny własności chemotaktyczne dla eozynofiliów. O ile rola IL-8 była szeroko badana, to o znaczeniu powyższych chemokin w rozwoju POChP i PZO wiadomo niewiele.

W popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) chorych na PZO oraz u palaczy wykazano wyższe, niż u niepalących, stężenie MCP-1 [10,62]. Znaczącą różnicę w stężeniu MIP-1 $\beta$  stwierdzano u chorych na PZO i u osób zdrowych (palaczy i niepalących). Wśród chorych na PZO obserwowano ujemną korelację między stężeniem MIP-1 $\beta$  a wartościami FEV1. Zwiększone stężenie MCP-1 wydaje się być związane z paleniem tytoniu i stanowi odzwierciedlenie reakcji zapalnej. Zwiększone stężenie MIP-1 $\beta$  obserwowano tylko u palaczy, u których dochodziło do rozwoju POChP [10].

W badaniach immunohistochemicznych obwodowej tkanki płucnej chorych ze zmianami obturacyjnymi wykazano zwiększoną ekspresję mRNA dla MCP-1 i MIP-1 $\alpha$ , która korelowała ujemnie z wartościami FEV1 [43]. Autorzy obserwowali zwiększoną ekspresję mRNA dla MCP-1 i MIP-1 $\alpha$  w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych oraz biopatach śluzówki oskrzeli [50].

Ze względu na zwiększoną eozynofilię, szczególnie podczas zaostrzeń w przebiegu POChP, poddano analizie rolę **eotaksyny**. W aktualnym piśmiennictwie można znaleźć prace dokumentujące udział eotaksyny w rozwoju astmy oskrzelowej i atopowego zapalenia skóry, lecz brak badań poświęconych udziałowi eotaksyny w patogenezie POChP i PZO. W badaniach Jahnz-Różyk i wsp. stwierdzono w surowicy chorych na POChP wyższe, niż u chorych na astmę, stężenie eotaksyny [34].

**IP-10** jest plejotropową cząsteczką o rozlicznych właściwościach biologicznych, cytokina ta np. pobudza migrację monocytów, limfocytów T oraz komórek NK, reguluje dojrzewanie limfocytów T oraz ich prekursorów, wpływa na ekspresję cząsteczek adhezyjnych, osłabia angiogenezę.

IP-10 przypisuje się udział w regulacji fibrynogenezy, w chorobach zapalnych płuc. IP-10 powstaje głównie w nabłonku oskrzelowym, mogąc istotnie wpływać na migrację aktywnych limfocytów T. Zgodnie z przedstawioną hipotezą autorzy wykazali w biopatach oskrzelowych chorych na POChP i PZO zwiększoną ekspresję mRNA dla IP-10 [56].

### Znaczenie innych cytokin (pro- i przeciwzapalnych) i czynników wzrostowych

**IL-1** jest prozapalną cytokiną wpływającą na różne typy komórek zapalnych m.in. limfocyty T. IL-1 powstaje głównie w makrofagach i neutrofilach. Zwiększa ekspresję IL-6 i IL-8 w nabłonku pęcherzyków płucnych [72]. Dominującą formą IL-1 jest IL-1 $\beta$ . Wykryto dwa rodzaje receptorów dla IL-1: IL-1RI – pośredniczący w działaniu komórkowym cytokiny oraz IL-1RII – pełniący funkcję regulacyjną. W krwi obwodowej występują rozpuszczalne formy obu receptorów, które wiążąc rozpuszczalną postać IL-1, wykazują własności przeciwzapalne.

Stężenia IL-1RII w surowicy chorych na POChP i zdrowych nie różnią się, jednak w czasie zaostrzeń POChP stają się znamienne wyższe niż u zdrowych i chorych na POChP w okresie ustabilizowanym [18]. Zwiększone stężenia IL-1 $\beta$  w indukowanej płwocinie obserwowano u chorych na POChP, zarówno w okresie stabilizacji, jak i zaostrzeń [48].

**IL-6** to wielofunkcyjna, prozapalna cytokina produkowana przez liczne komórki. W patologii układu oddechowego ważna jest produkcja IL-6 przez makrofagi oraz komórki nabłonka oskrzelowego. IL-6 jest czynnikiem aktywującym i różnicującym limfocyty T i B oraz makrofagi. Cytokina ta ogranicza aktywność procesu zapalnego poprzez zmniejszenie uwalniania TNF- $\alpha$  z makrofagów. Stężenie IL-6 w BAL-u jest miernie podwyższone u palaczy, osiągając coraz wyższe stężenia w łagodnej, umiarkowanej postaci przewlekłej choroby obturacyjnej płuc oraz w jej ciężkich zaostrzeniach [73]. Stężenie IL-6 w BAL-u koreluje ujemnie z wartościami FEV1 [73]. W czasie zaostrzenia POChP w płwocinie stwierdza się wyższe stężenie IL-6 [6,71].

**TNF- $\alpha$**  jest produkowany przez makrofagi, komórki NK, neutrofile, limfocyty T i B. Produkcję TNF- $\alpha$  pobudza infekcja wirusowa oraz lipopolisacharydy bakteryjne, hamują zaś interferony  $\alpha$  i  $\beta$ , TGF- $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10. TNF- $\alpha$  wpływa na różnicowanie i metabolizm komórek śródbłonka, makrofagów, fibroblastów, neutrofilów. TNF- $\alpha$  jest znaczącym czynnikiem zwiększającym ekspresję, ważnej w procesach fagocytozy, cząsteczki adhezyjnej ICAM-1 na fibroblastach i komórkach śródbłonka. TNF- $\alpha$  zwiększa cytotoksyczność makrofagów i neutrofilów, pobudza je do uwalniania rodników tlenowych oraz cytokin m.in. IL-6 i IL-8 [72]. Działanie prozapalne TNF- $\alpha$  jest możliwe poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego NF-B. TNF- $\alpha$  wpływa na odporność komórkową. Produkcja TNF- $\alpha$  zwiększa się podczas wysiłku fizycznego oraz w wyniku głodzenia.

U chorych na POChP stwierdzono w surowicy oraz płwocinie wyższe stężenie TNF- $\alpha$  niż u zdrowych palaczy i osób niepalących [39,40,84]. Podwyższone stężenia TNF- $\alpha$  nie zależały ani od zaostrzenia choroby ani od towarzyszącego zakażenia [9,48]. Stężenie TNF- $\alpha$  w BAL-u

chorych na POChP było wyższe niż w grupach osób zdrowych palących i niepalących tytoniu [73]. Ekspresja TNF- $\alpha$  na komórkach uzyskanych w biopsji oskrzeli była u chorych na POChP i palaczy zbliżona, zwiększyła się jedynie jedynie podczas zaostrzenia choroby [67,79]. Komórki obecne w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych chorych na PZO poddane stymulacji toksyną tęcząwą produkowały większą niż u palaczy ilość TNF- $\alpha$  [60].

### Polimorfizm genu TNF- $\alpha$ i jego rola w POChP

Na komórkach krwi obwodowej zdrowych osób obserwowano różny stopień nasilenia ekspresji cytokiny TNF- $\alpha$ . Ekspresja TNF- $\alpha$  podlega regulacji na poziomie transkrypcji, stwierdzone różnice w jej produkcji są w części uwarunkowane genetycznie. Za powyższe odpowiedzialny jest polimorfizm genu dla TNF- $\alpha$  w pozycji 308, rzadszy allel TNF2 prezentujący większe nasilenie ekspresji TNF- $\alpha$  w warunkach *in vitro*. Dystrybucja tego polimorfizmu była po raz pierwszy badana w populacji Tajwanu, gdzie odkryto, że allel TNF2 występuje zdecydowanie częściej wśród chorych na PZO [32]. Wyciągnięto z tego wnioski o większym ryzyku rozwoju PZO u osób, u których wykryto allel TNF2 [32].

Do odmiennych wniosków doszli autorzy badający częstość występowania alleli TNF1 i TNF2 u osób rasy kaukaskiej. Nie wykazali oni żadnych różnic pomiędzy grupami osób zdrowych i chorych na POChP, a obecność alleli TNF1 i TNF2 nie wiązała się ze stopniem obturacji dróg oddechowych ani z obecnością rozedmy [29,44]. Produkcja cytokiny TNF- $\alpha$  przez komórki jednojądrzaste *in vitro* była, zarówno w spoczynku, jak i po stymulacji LPS, podobna i nie zależała od występującego polimorfizmu [66]. W innych badaniach autorzy wykazali znaczącą różnicę w polimorfizmie + 488 genu dla TNF- $\alpha$  pomiędzy chorymi na POChP i osobami zdrowymi [44].

### TNF- $\alpha$ a stan odżywienia

Wśród chorych na POChP często obserwujemy trudny do wyjaśnienia ubytek wagi ciała. W wielu chorobach przebiegających ze spadkiem masy ciała stwierdza się w krwi obwodowej podwyższone stężenia TNF- $\alpha$ . Podanie zdrowym ochotnikom prozapalnych cytokin TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  pobudza ich metabolizm, a zwłaszcza katabolizm białek. Podanie TNF- $\alpha$  zwierzętom laboratoryjnym wywołuje ich wyniszczenie. Przypuszcza się, że TNF- $\alpha$  może być czynnikiem wywołującym spadek masy ciała u chorych na POChP. Powyższą hipotezę potwierdzają wyniki wielu badań [16,19,52,70,71,75].

**MIF** (czynnik hamujący migrację makrofagów) jest jedyną prozapalną cytokiną stanowiącą przeciwwagę dla przeciwzapalnego działania kortykosteroidów. Rola MIF w patogenezie PZO pozostaje nieznana. Stężenie MIF w indukowanej płwocinie u chorych na POChP jest wyższe niż u osób zdrowych, nie stwierdzono różnic w stężeniu

MIF w surowicy krwi między badanymi grupami chorych. U chorych na POChP, stężenie MIF w indukowanej płwocinie znamienne korelowało ze stężeniem elastazy neutrofilowej i ECP [78]. MIF wytwarzany jest wyłącznie przez komórki nabłonka oskrzelowego [78].

**Endotelina (ET-1)** jest ważnym czynnikiem kurczącym oskrzela i naczynia krwionośne, posiada również własności mitogenne, głównie w stosunku do fibroblastów i komórek mięśni gładkich. ET-1 pobudza produkcję wybranych cytokin. Endotelina wytwarzana jest przez nabłonek oddechowy, naczyniowy i makrofagi. Jej produkcję pobudzają cytokiny, chemokiny m.in. MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , RANTES, zakażenie wirusowe oraz hipoksja. Endotelina ma potencjalne własności, które mogą przyczyniać się do rozwoju obturacji dróg oddechowych i nadciśnienia płucnego u chorych na POChP. Wyniki badań analizujących stężenie endoteliny w BAL-u, surowicy, indukowanej płwocinie u chorych na POChP są zróżnicowane i kontrowersyjne [33,77].

**IL-10** jest cytokiną regulacyjną, wytwarzaną przez limfocyty T oraz makrofagi. IL-10 zmniejsza odpowiedź prozapalną wywołaną przez limfocyty Th1 oraz produkcję cytokin przez liczne komórki. Na modelu mysim wykazano hamujący wpływ IL-10 na indukowaną antygenem odpowiedź komórkową w drogach oddechowych. Sformułowano hipotezę mówiącą, że obniżona produkcja IL-10 wpływa na rozwój zmian zapalnych w drogach oddechowych u chorych na PZO i POChP.

Stężenie IL-10 oraz liczba komórek IL-10 dodatnich w indukowanej płwocinie chorych na POChP i zdrowych palaczy jest wyraźnie niższa niż u zdrowych, niepalących ludzi. Komórkami IL-10 dodatnimi są głównie makrofagi [76]. Stężenie IL-10 w płwocinie podczas zaostrzenia POChP jest niższe niż w okresie wyrównania choroby lub u osób zdrowych [57]. Tylko w jednym badaniu obserwowano w płwocinie chorych, w początkowej fazie rozwoju POChP zwiększone stężenie IL-10, w porównaniu do zdrowych palaczy [63].

**TGF- $\beta$  (transformujący czynnik wzrostu)** posiada właściwości chemotaktyczne oraz fibrynogenne. Makrofagi pęcherzykowe chorych na PZO uwalniają spontanicznie większe ilości TGF- $\beta$  i fibronektyny niż makrofagi osób zdrowych. Poza makrofagami także śródbłonek oddechowy, fibroblasty, eozynofile, neutrofile są źródłem TGF- $\beta$  [81]. Opisano znaczącą zależność między grubością błony podstawnej, liczbą fibroblastów a liczbą nabłonkowych i podśluzowych komórek z ekspresją TGF- $\beta$  [81]. Przedstawione obserwacje wskazują na istotną rolę TGF- $\beta$  w procesie przebudowy (*remodellingu*) dróg oddechowych w PZO.

Wykazano, że nabłonek oskrzelowy chorych na POChP zawiera dużą liczbę makrofagów i komórek tucznych. Wynika to z własności chemotaktycznych TGF- $\beta$ . W nabłonku oskrzelikowym i pęcherzykowym chorych

na POChP wykazano wyższe, w odróżnieniu od zdrowych palaczy, stężenia TGF- $\beta$ 1 i mRNA dla TGF- $\beta$ 1 [15]. Stężenia te były związane z liczbą makrofagów i mastocytów oraz korelowały dodatnio z wartościami FEV1 [15]. Potwierdza to hipotezę o znaczącej roli TGF- $\beta$ 1 w migracji makrofagów i mastocytów do śródbłonna oddechowego chorych na POChP. Produkcja TGF- $\beta$  była znacząco wyższa u chorych z rozedmą płuc niż u osób zdrowych [22].

Śródbłonkowy czynnik wzrostu (**EGF**) posiada własności mitogenne dla komórek nabłonka, śródbłonna i fibroblastów. EGF ma słabsze właściwości fibrynogenne niż TGF- $\beta$ . **GM-CSF (czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów)** jest czynnikiem wzrostowym stymulującym różnicowanie komórek szpiku. GM-CSF aktywuje makrofagi, neutrofile, eozynofile, pobudza miejscową proliferację makrofagów, ma łagodne własności fibrynogenne. W porównaniu ze zdrowymi chorymi na PZO wykazują zwiększoną ekspresję EGF i mRNA dla EGF w nabłonku dróg oddechowych oraz zwiększoną ekspresję GM-CSF i mRNA dla GM-CSF w tkance podśluzowej [80,81]. U chorych na PZO i bezobjawowych palaczy GM-CSF występuje w makrofagach i neutrofilach, a u chorych na astmę w eozynofilach [8,31]. Różna lokalizacja GM-CSF w komórkach indukowanej płwociny chorych na PZO i astmę wskazuje na odmienną rolę tej cytokiny w eozynofilowym i neutrofilowym zapaleniu dróg oddechowych.

U chorych na PZO stwierdza się podwyższone, w porównaniu do zdrowych, stężenia GM-CSF w BAL-u i krwi obwodowej, ulegają one dalszemu wzrostowi w miarę zaostrzania się choroby [2].

**VEGF (Vascular permeability/vascular endothelial growth factor)** jest wieloczynnościową cytokiną zaangażowaną w angiogenezę i przewlekłe procesy zapalne. Stężenie VEGF w BAL-u nie różni się pomiędzy zdrowymi a chorymi na PZO [17]. Komórki zawierające VEGF znaleziono w mięśniówce gładkiej przerośniętej tętnicy płucnej u chorych z rozedmą płuc [22]. Ekspresję VEGF wykazano także na powierzchni makrofagów znajdujących się w ścianie pęcherzyków płucnych chorych z rozedmą płuc, jednak podobnych zmian nie obserwowano u osób zdrowych [22].

### Rola apoptozy

W przebiegu POChP dochodzi do uszkodzenia ścian oskrzelików i pęcherzyków płucnych, co oznacza śmierć komórek spowodowaną martwicą lub apoptozą. Brak jest bezpośrednich dowodów apoptozy. Cytotoksyczne limfocyty T (CD8+) są komórkami naciekającymi śluzówkę oskrzeli w przebiegu POChP. Wiadomo, że komórki te wraz z NK wywołują letalne uszkodzenie komórek docelowych. Odbywa się to dwiema niezależnymi drogami: poprzez wzbudzenie egzocytozy lub przy pomocy układu Fas-ligand/Fas. Pierwsza droga wiedzie poprzez degra-

nulację i uwolnienie proteaz serynowych, granzymu i perforyny, druga jest złożona z receptora powierzchniowego Fas (Apo-1, CD95) obecnego na powierzchni wielu komórek oraz Fas – ligandu znajdującego na powierzchni limfocytów cytotoksycznych oraz np. aktywnych neutrofilów. Fas i Fas-L występują także w formie rozpuszczalnej, działając podobnie do cytokin. Fas, Fas-l i postać rozpuszczalna Fas-L należą do induktorów apoptozy, zaś postać rozpuszczalna Fas do jej inhibitorów.

Wysunięto hipotezy o związku tych czynników z progresją POChP. Stężenie sFas-L w surowicy krwi, w przeciwieństwie do stężenia Fas, nie jest podwyższone w ciężkiej postaci POChP [84]. Liczba apoptotycznych eozynofiliów i makrofagów w biopsjach oskrzelowych chorych na PZO jest wyższa niż u chorych na astmę i u osób zdrowych [82]. Dane te wskazują na prawdopodobnie niewielkiej znaczenie inhibitorów apoptozy w patogenezie zapalenia w przebiegu POChP.

Przeciwciała blokujące TNF- $\alpha$  ma zdolność hamowania apoptozy, co oznacza, że TNF- $\alpha$  pełni rolę w jej indukcji [24]. Wymieniona aktywność może pełnić istotną rolę w rozwoju POChP. Pomimo że wykazano zwiększoną ekspresję perforyny na powierzchni limfocytów T [1], brak badań dotyczących roli perforyny w POChP.

### Wpływ wirusów na ekspresję cytokin

Adenowirus E1A (DNA i białko) jest często znajdowany w płucach chorych na POChP. Wykazano, że E1A pobudza produkcję ICAM-1 i IL-8 po stymulacji komórek nabłonka oddechowego płuc i oskrzelików [27,41].

Zwiększone stężenie IL-6 w indukowanej płwocinie podczas zaostrzenia POChP, jest często związane z infekcją dróg oddechowych, co może oznaczać, że IL-6 pełni ważną rolę podczas zaostrzeń POChP wywołanych infekcją [6].

Nie wykazano różnic w stężeniach IL-8 w płwocinie chorych zainfekowanych *Haemophilus influenzae* oraz zdrowych badanych bez cech infekcji [9].

### Skutki palenia papierosów

Zmiany zapalne u palących i niepalących chorych na PZO wykazują odmienną komórkową i molekularną. Wydaje się, że patogeneza zapalenia u tych chorych jest różna. Wcześniej przedstawiono różnice w ekspresji różnych cytokin u palących i niepalących. Chorzy na PZO, którzy nigdy nie palili papierosów wykazują zwiększoną ekspresję genów dla IL-5 i GM-CSF oraz samych białek w komórkach uzyskanych w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych. W przeciwieństwie do tego, chorzy palący tytoń wykazują zwiększoną ekspresję IL-8, TNF- $\alpha$ , i IL-2. Ekspresja IL-8 jest większa u zdrowych palaczy, niż u zdrowych niepalących [74]. Stężenie IL-8 w BAL-u zdrowych palaczy jest także wyższe [49,73]. Wyciąg

z dymu papierosów pobudza uwalnianie IL-8 z komórek nabłonka oskrzeli oraz hodowli monocytów [46,49]. TNF- $\alpha$  i lipopolisacharydy działają synergistycznie do IL-8 [46,49]. Wykazano potencjalizację TNF- $\alpha$  i oksydantów w aktywacji czynnika transkrypcyjnego NFkappa B komórek nabłonka szczurów [35].

PZO wśród palaczy wykazuje liczne kliniczne i histologiczne podobieństwa do chorób płuc wywołanych wdychaniem bakteryjnych endotoksyn (lipopolisacharydów). Inhalacja lipopolisacharydów wywołuje w dolnych drogach oddechowych podobne zmiany jak dym tytoniowy. Dlatego zasugerowano, że lipopolisacharydy mogą być biologicznie aktywną częścią dymu tytoniowego. Nie wykazano jednak żadnych różnic w stężeniach lipopolisacharydów w krwi palących i niepalących zdrowych ludzi, nie wykazano także różnic w stężeniach surowiczych TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2 i IL-6 [25]. Tym niemniej makrofagi uzyskane z BAL-u zdrowych osób palących po pobudzeniu LPS wydzielają mniej TNF- $\alpha$  oraz IL-6 niż makrofagi niepalących [47]. Defekt ten może predysponować palaczy do zapalenia dróg oddechowych, a także przyczyniać się do zwiększonej skłonności palaczy do zapadania na infekcje wywoływane wziewnymi patogenami.

### Wpływ leczenia POChP na cytokiny

Podczas leczenia chorych na POChP często stosujemy wziewne kortykosterydy (KS), mimo że nie wykazano jednoznacznie ich klinicznej skuteczności. Stężenie IL-8 w indukowanej płwocinie nie zmieniało się w wyniku inhalacji kortykosteroidowych [13,40], ani w następstwie ich systemowego podawania [21,40]. W innych badaniach w wyniku stosowanego leczenia KS zanotowano jednak spadek stężenia IL-8 w BAL-u i płwocinie [3,14], pomimo, że skuteczność kliniczna leczenia nie została wykazana. Jedynie w badaniach Rutgersa i wsp. opisano znaczący spadek stężenia IL-8 w surowicy po leczeniu KS w inhalacji [84].

Podobnie, po zastosowaniu w inhalacji i doustnie kortykosteroidów nie wykazano zmniejszenia stężenia TNF- $\alpha$  w płwocinie [40]. Ekspresja IL-10 w komórkach indukowanej płwociny oraz stężenie IL-10 nie uległo zmianie w wyniku takiego leczenia [76].

W przeciwieństwie do powyższego na uwalnianie cytokin wpływała teofilina. Wykazano hamowanie produkcji IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ . Teofilina zwiększała wytwarzanie przeciwzapalnej cytokiny IL-10 [58].

Odkrycie, że proces zapalny leży u podstaw rozwoju astmy oskrzelowej pozwoliło na zastosowanie leków przeciwzapalnych i stało się podstawą do skuteczniejszego leczenia astmy. W przypadku PZO i POChP trwają próby dokładniejszej charakterystyki przebiegającego procesu zapalnego. Znajduje to odzwierciedlenie w nie zawsze skutecznej terapii tych chorób. Najnowsze badania poszerzające naszą wiedzę o PZO i POChP, częściowo opi-

sane w tym artykule, dają nadzieję na wprowadzenie do praktyki lekarskiej nowych metod leczenia, a także na dokładniejszą diagnostykę i właściwy dobór chorych do leczenia przeciwzapalnego np. przy zastosowaniu kortykosteroidów.

Mimo to otwierają się nowe możliwości leczenia przeciwzapalnego dzięki zastosowaniu inhibitorów enzymów

(np. proteaza, fosfodwuesterazy<sup>4</sup>), antagonistów mediatorów (np. leukotrienów) i cytokin. W tej grupie największe nadzieje wzbudzają antagoniści IL-8 i TNF- $\alpha$ . Pytaniem pozostaje terapeutyczne zastosowanie przeciwzapalnych cytokin np. IL-10. W dalszej perspektywie nadzieje budzą antagoniści czynników transkrypcyjnych oraz cząstek adhezyjnych.

## Piśmiennictwo

1. Arnold V, Balkow S, Staats R i wsp. Increase in perforin-positive peripheral blood lymphocytes in extrinsic and intrinsic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 182-186.
2. Balbi B, Bason C, Balleari E i wsp. Increased bronchoalveolar granulocytes and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor during exacerbations of chronic bronchitis. *Eur Respir J* 1997; 10: 846-850.
3. Balbi B, Majori M, Bertacco S i wsp. Effect of inhaled steroids on cells and molecular mediators of airway inflammation in COPD. *Eur Respir J* 1999; (Suppl): ERS Madrid 1999 [P2041].
4. Balbi B, DiStefano A, Capelli A i wsp. IL-2 protein immunoreactivity reduction in the bronchial mucosa of severe COPD patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [A97] [Poster 613].
5. Balzano G, Stefanelli F, Iorio C i wsp. Eosinophilic inflammation in stable chronic obstructive pulmonary disease. Relationship with neutrophils and airway function. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1486-1492.
6. Bhowmik A, Seemungal T, Sapsford R i wsp. Induced sputum markers during COPD exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: ATS 1999 [B60] [Poster A163].
7. Bhowmik A, Seemungal TA, Sapsford RJ, Wedzicha JA. Relation of sputum inflammatory markers to symptoms and lung function changes in COPD exacerbations. *Thorax* 2000; 55: 114-120.
8. Bocchino V, Dippolito R, Foresi A i wsp. Expression of ICAM-1 and GM-CSF in induced sputum (IS) from smokers with normal lung function. *Eur Respir J* 1999; (Suppl): ERS Madrid 1999 [P2404].
9. Bresser P, Lutter R, VanAlphen L i wsp. Airway inflammation in clinically stable patients with nonobstructive and obstructive chronic bronchitis who are chronically infected with *Haemophilus influenzae*. *Eur Respir J* 1999; (Suppl): ERS Madrid 1999 [P1180].
10. Capelli A, DiStefano A, Gnemmi I i wsp. Increased MCP-1 and MIP-1beta in bronchoalveolar lavage fluid of chronic bronchitics. *Eur Respir J* 1999; 14: 160-165.
11. Car BD, Meloni F, Luisetti M i wsp. Elevated IL-8 and MCP-1 in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 655-659.
12. Crooks SW, Bayley DL, Hill SL, Stockley RA. Bronchial inflammation in acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis: the role of leukotriene B<sub>4</sub>. *Eur Respir J* 2000; 15: 274-280.
13. Culpitt SV, Maziak W, Loukidis S i wsp. Effect of high dose inhaled steroid on cells, cytokines, and proteases in induced sputum in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1635-1639.
14. DeBacker WA, Vandekerckhove K, Claes R i wsp. Comparison of inflammatory indices in induced sputum from normal subjects and from steroid-treated and non-treated COPD patients. *Eur Respir J* 1999; (Suppl): ERS Madrid 1999 [P270].
15. DeBoer WI, VanSchadewijk A, Sont JK i wsp. Transforming growth factor beta1 and recruitment of macrophages and mast cells in airways in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1951-1957.
16. DeGodoy I, Donahoe M, Calhoun WJ i wsp. Elevated TNF-alpha production by peripheral blood monocytes of weight-losing COPD patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 633-637.
17. Demoly P, Maly FE, Mautino G i wsp. VEGF levels in asthmatic airways do not correlate with plasma extravasation. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1390-1394.
18. Dentener MA, Creutzberg EC, Schols AMWJ i wsp. Enhanced levels of soluble interleukin-1RII decoy receptor during treatment of exacerbation of COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [C32] [Poster C41].
19. DiFrancia M, Barbier D, Mege JL, Orehek J. Tumor necrosis factor-alpha levels and weight loss in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 1453-1455.
20. Finlay GA, ODonnell MD, OConnor CM i wsp. Elastin and collagen remodelling in emphysema: a scanning electron microscopy study. *Am J Pathol* 1996; 149: 1405-1415.
21. Fujimoto K, Kubo K, Yamamoto H i wsp. Eosinophilic inflammation in the airway is related to glucocorticoid reversibility in patients with pulmonary emphysema. *Chest* 1999; 115: 697-702.
22. Ge RL, Kubo K, Yamamoto H i wsp. Role of VEGF and TGF-Beta for vascular remodeling in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: ATS 1999 [A46] [Poster C76].
23. Grashoff WFH, Sont JK, Sterk PJ i wsp. Chronic obstructive pulmonary disease: the role of bronchiolar mast cells and macrophages. *Am J Pathol* 1997; 151: 1785-1790.
24. Hamzaoui A, Hamzaoui K, Salah H, Chabbou A. Lymphocytes apoptosis in patients with acute exacerbation of asthma. *Mediators of Inflammation* 1999; 8: 237-243.
25. Hasday JD, Bascom R, Costa JJ i wsp. Bacterial endotoxin is an active component of cigarette smoke. *Chest* 1999; 115: 829-835.
26. Hiemstra PS, VanWetering S, Stolk J. Neutrophil serine proteinases and defensins in chronic obstructive pulmonary disease: effects on pulmonary epithelium. *Eur Respir J* 1998; 12: 1200-1208.
27. Higashimoto Y, Ohata M, Enomoto M i wsp. Adenovirus E1A suppresses nitric oxide production in pulmonary epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [A47] [Poster H100].
28. Higham MA, Tetley TD, Upton PD i wsp. IL-8 is elevated in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) from chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [A81].
29. Higham MA, Pride NB, Alikhan A, Morrell NW. Tumour necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2000; 15: 281-284.

30. Hill AT, Bayley D, Stockley RA. The interrelationship of sputum inflammatory markers in patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 893-898.
31. Hoshi H, Ohno I, Honma M i wsp. IL-5, IL-8 and GM-CSF immunostaining of sputum cells in bronchial asthma and chronic bronchitis. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 720-728.
32. Huang SL, Su CH, Chang SC. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphism in chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1436-1439.
33. Chalmers GW, MacLeod KJ, Thomson LJ i wsp. Sputum endothelin-1 is increased in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: ATS 1999 [D31] [Poster A41]
34. Jahnz-Rózyk K, Płusa T, Chciałowski A, Mierzejewska J. Eotaxin and eosinophil cationic protein (ECP) in serum of patients with asthma and COPD *Allergy* 2000; (Suppl): EAACI Lisabon 2000 [Poster 344]
35. Janssen-Heininger YM, Macara I, Mossman BT. Cooperativity between oxidants and tumor necrosis factor in the activation of nuclear factor (NF)-kappaB: requirement of Ras/mitogen-activated protein kinases in the activation of NF-kappaB by oxidants. *Am J Respir Cell Molec Biol* 1999; 20: 942-952.
36. Jeffery PK. Differences and similarities between chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Clin Exp Allergy* 1999; 29 (Suppl 2): 14-26.
37. Kanazawa H, Shoji S, Yoshikawa T i wsp. Increased production of endogenous nitric oxide in patients with bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 1244-1250.
38. Kato K, Hitsuda Y, Igishi T i wsp. The level of interleukin-8 in induced sputum was correlated with the rate of annual decline in forced expiratory volume in one second. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [C32] [Poster C43]
39. Keatings VM, Collins PD, Scott DM, Barnes PJ. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 530-534.
40. Keatings VM, Jatakanon A, Worsdell YM, Barnes PJ. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 542-548.
41. Keicho N, Elliott WM, Hogg JC, Hayashi S. Adenovirus E1A gene dysregulates ICAM-1 expression in transformed pulmonary epithelial cells. *Am J Respir Cell Molec Biol* 1997; 16: 23-30.
42. Kemeny DM, Vyas B, Vukmanovic-Stejić M i wsp. CD8(+) T cell subsets and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160 (Suppl): 33-37.
43. Koga T, Kinoshita M, Rikimaru T i wsp. Altered expressions of chemokines in peripheral lung tissue in patients with COPD. *Eur Respir J* 1999; (Suppl): ERS Madrid 1999 [200]
44. Kucukaycan M, VanKrugten M, Pennings HJ i wsp. Tumor necrosis factor-alpha polymorphism in chronic obstructive pulmonary disease: difference in +489 genotype frequency compared with controls. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [D32] [Poster C5]
45. Majori M, Corradi M, Caminati A i wsp. Predominant Th1 cytokine pattern in peripheral blood from subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 458-462.
46. Masdin PC, Sanjar S, Eichholtz TJ. Synergistic effects of cigarette smoke on cytokine release from human bronchial epithelial cells and macrophages. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [C47] [Poster J81]
47. McCrea KA, Ensor JE, Nall K i wsp. Altered cytokine regulation in the lungs of cigarette smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 696-703.
48. Mincarini M, Riccio A.M, Scordamaglia A, Passalacqua G, Canonica GW. Evaluation, by induced sputum, of cytokines in stable and exacerbated COPD patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [D32] [Poster C16]
49. Mio T, Romberger DJ, Thompson AB, Robbins RA, Heires A, Rennard SI. Cigarette smoke induces interleukin-8 release from human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1770-1776.
50. Miotto D, Christodoulouopoulos P, Taha R i wsp. Expression of interferon-gamma-inducible protein-10 (IP-10), monocyte chemoattractant protein (MCP)-1,-3,-4, and eotaxin in Th2 and in non-Th1 and Th2 lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [D96] [Poster 226]
51. Muro S, Lamblin C, Tscicopoulos A, Tonnel AB, Wallaert B, Hamid Q. Expression of interleukin-15 (IL-15) in inflammatory lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [D96] [Poster 225]
52. Nguyen LT, Bedu M, Caillaud D i wsp. Increased resting energy expenditure is related to plasma TNF-alpha concentration in stable COPD patients. *Clin Nutr* 1999; 18: 269-274.
53. Nocker RE, Schoonbrood DF, Van de Graaf EA i wsp. Interleukin-8 in airway inflammation in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 109: 183-191.
54. OByrne PM, Postma DS. The many faces of airway inflammation. Asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159 (Suppl): 41-63.
55. OShaughnessy TC, Ansari TW, Barnes NC, Jeffery PK. Inflammation in bronchial biopsies of subjects with chronic bronchitis: inverse relationship of CD8<sup>+</sup> T lymphocytes with FEV<sub>1</sub>. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 852-857.
56. Panzner P, Taha R, Tscicopoulos A i wsp. Airway inflammation in COPD patients assessed by cell characterization and cytokine mRNA expression in bronchial biopsy. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: S252.
57. Park KO, Kang YH, Lim SC, Kim YC. Airway Inflammation Assessed By Cytokines & Neutrophilic Activation In Induced Sputum From COPD patients; IL-10 was Decreased In COPD Patients With Acute Exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: ATS 1999 [D31] [Poster A38]
58. Peleman RA, Kips JC, Pauwels RA. Therapeutic activities of theophylline in chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Exp Allergy* 1998; 28 (Suppl 3): 53-56.
59. Pesci A, Balbi B, Majori M i wsp. Inflammatory cells and mediators in bronchial lavage of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1998; 12: 380-386.
60. Qvarfordt I, Riise GC, Larsson S i wsp. Immunological findings in blood and bronchoalveolar lavage fluid in chronic bronchitis patients with recurrent infectious exacerbations. *Eur Respir J* 1998; 11: 46-54.
61. Roland MA, Bhowmik A, Sapsford RJ i wsp. Endothelin-1 at COPD exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [A97] [Poster 601].
62. Rózyk KJ, Płusa T, Kuna P, Pirożyńska E. Monocyte chemotactic and activating factor/monocyte chemoattractant protein in bronchoalveolar lavage fluid from patients with atopic asthma and chronic bronchitis. Relationship to lung function tests, bronchial hyper-responsiveness and cytology of bronchoalveolar lavage fluid. *Immunol Letters* 1997; 58: 47-52.



63. Russell RE, Culpitt SV, Wiggins J, Barnes PJ. Levels of interleukines 8 and 10 are increased in the induced sputum of subjects with early chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Eur Respir J* 1999; (Suppl): ERS Madrid 1999 [1721].
64. Rutgers SR, Koeter GH, Van der Mark TW, Postma DS. Short-term treatment with budesonide does not improve hyperresponsiveness to adenosine 5'-monophosphate in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:880-886.
65. Rutgers SR, Timens W, Kaufmann HF i wsp. Comparison of induced sputum with bronchial wash, bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies in COPD. *Eur Respir J* 2000; 15: 109-115.
66. Ryan CM, Cave SJ, Kerr J i wsp. TNF alpha production by peripheral blood mononuclear cells from patients with COPD, grouped according to TNFAlpha-308 genotype. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [C32] [Poster C11].
67. Sietta M, DiStefano A, Maestrelli P i wsp. Airway eosinophilia in chronic bronchitis during exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 1646-1652.
68. Sietta M, DiStefano A, Maestrelli P i wsp. Airway eosinophilia and expression of interleukin-5 protein in asthma and in exacerbations of chronic bronchitis. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 766-774.
69. Sampath D, Castro M, Look DC, Holtzman MJ. Constitutive activation of an epithelial signal transducer and activator of transcription (STAT) pathway in asthma. *J Clin Invest* 1999; 103: 1353-1361.
70. Schols AM, Buurman WA, Staal van den Brekel AJ i wsp. Evidence for a relation between metabolic derangements and increased levels of inflammatory mediators in a subgroup of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1996; 51: 819-824.
71. Schols AM, Creutzberg EC, Buurman WA i wsp. Plasma leptin is related to proinflammatory status and dietary intake in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1220-1226.
72. Schulz C, Harth M, Riegger G, Pfeifer M. Expression of proinflammatory cytokines in lung epithelial cells under hypoxic and normoxic conditions. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [C47] [Poster J104].
73. Soler N, Ewig S, Torres A i wsp. Airway inflammation and bronchial microbial patterns in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 14: 1015-1022.
74. Sun G, Stacey MA, Vittori E i wsp. Cellular and molecular characteristics of inflammation in chronic bronchitis. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 364-372.
75. Takabatake N, Nakamura H, Abe S i wsp. Circulating leptin in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1215-1219.
76. Takanashi S, Hasegawa Y, Kanehira Y i wsp. Interleukin-10 level in sputum is reduced in bronchial asthma, COPD and in smokers. *Eur Respir J* 1999; 14: 309-314.
77. Torvaldsson S, Laan M, Quarfordt I i wsp. Reduced level of endothelin-1 in smokers with and without chronic bronchitis. *Eur Respir J* 1999; (Suppl): ERS Madrid 1999 [P2042].
78. Tsujino I, Nishimura M, Tanino Y i wsp. Increased production of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in airways of subjects with bronchial asthma or COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: ATS 2000 [B35] [Poster J86].
79. Turato G, DiStefano A, Maestrelli P i wsp. Effect of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1262-1267.
80. Vachier I, Chiappara G, Vignola AM i wsp. Glucocorticoid receptors in bronchial epithelial cells in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 963-970.
81. Vignola AM, Chanez P, Chiappara G i wsp. Transforming growth factor-beta expression in mucosal biopsies in asthma and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 591-599.
82. Vignola AM, Chanez P, Chiappara G i wsp. 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: 563-573.
83. Yamamoto C, Yoneda T, Yoshikawa M i wsp. Airway inflammation in COPD assessed by sputum levels of interleukin-8. *Chest* 1997; 112: 505-510.
84. Yasuda N, Gotoh K, Minatoguchi S i wsp. An increase of soluble Fas, an inhibitor of apoptosis, associated with progression of COPD. *Respir Med* 1998; 92: 993-999.
85. Zhu J, Majumdar S, Ansari T i wsp. IL-4 and IL-5 mRNA in the bronchial wall of smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: ATS 1999 [B60] [Poster A173].
86. Zhu J, Majumdar S, Turato G i wsp. Airway eosinophilia in bronchitis and gene expression for IL-4, IL-5 and eotaxin in bronchial biopsies. *Eur Respir J* 1999; (Suppl): ERS Madrid 1999 [P2401].
87. Zhu J, Qiu YS, Majumdar S i wsp. Exacerbations of bronchitis. Bronchial eosinophilia and gene expression for interleukin-4, interleukin-5, and eosinophil chemoattractants. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 109-116.