EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE REACTANTES DE FASE AGUDA EN DISTINTOS TIPOS CELULARES DE PACIENTES CON ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA

C. Calero[1,2,3], E. Arellano[2], A. Montes[2,3], D. Tobar[1], N. Moreno[1], J. L. López-Villalobos[1], J. L. López-Campos[1,2,3].

[1]Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias. [2]Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS). [3]CIBER de Enfermedades Respiratorias (CIBERES).

Proyecto de Investigación financiado por Fundación Neumosur 2/2008.

Resumen

Introducción: la presencia de valores aumentados de marcadores inflamatorios plasmáticos se ha asociado a la presencia de muchos de los procesos extrapulmonares relacionados con la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). El tejido pulmonar es capaz de sintetizar reactantes de fase aguda (RFA), cuya secreción puede estar relacionada con variables clínicas de la enfermedad. En el presente estudio nos planteamos el análisis de diversos grupos celulares con objeto de evaluar qué células están implicadas en esta síntesis pulmonar de RFA.

Método: estudio analítico observacional de caso-control, en el que se compararon los niveles de distintos RFA en células epiteliales, macrófagos y fibroblastos pulmonares humanos de muestras quirúrgicas de tejido pulmonar de pacientes fumadores o exfumadores con EPOC en fase estable frente a pacientes sin EPOC.

Resultados: la muestra estaba compuesta por 74 sujetos, divididos en 39 pacientes EPOC y 35 fumadores sin la enfermedad. Tanto fibroblastos, células epiteliales y macrófagos pulmonares son capaces de sintetizar estos reactantes de fase aguda. A pesar de que las diferencias entre casos y controles no son llamativas, en sujetos control parece que la producción de PCR estaría más elevada en células epiteliales, mientras que los diversos genes de amiloide A sérico (AAS) estarían elevados en las células epiteliales y macrófagos.

Conclusiones: los hallazgos del presente estudio señalan la capacidad de las células del aparato respiratorio en sintetizar reactantes de fase aguda en los pacientes con EPOC. Nuestros resultados nos permiten valorar esta producción y sugerir que es probable que no sean los únicos tipos celulares implicados.

Palabras clave: EPOC, reactantes de fase aguda, expresión celular, parénquima pulmonar.

DIFFERENTIAL EXPRESSION OF ACUTE PHASE REACTANTS FOR VARIOUS CELL TYPES IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Introduction: the presence of increased values for plasma inflammatory markers has been associated with the presence of extra-pulmonary processes linked to Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). Lung tissue is able to synthesize Acute Phase Reactants (APR), and this secretion could be linked to clinical variables of the disease. In this study, we contemplate analyzing a number of cell groups to assess which cells are involved in this pulmonary synthesis of APR.

Method: control case, analytical, observational study that compares the levels of various APR in human lung epithelial, macrophage and fibroblast cells of surgical lung tissue samples from patients with a stable phase of COPD who were either smokers or ex-smokers, and compare these with patients without COPD.

Results: the sample was composed of 74 subjects, divided into groups with 39 COPD patients, and 35 smokers without the disease. Both the lung fibroblast, epithelial and macrophage cells are able to synthesize these acute phase reactants. Although the differences between the cases and the control group are not significant, in the control subjects it seems that the production of PCR would be higher in the epithelial cells, while several serum Amyloid A genes would be overexpressed in the epithelial and macrophage cells.

Conclusions: the findings of this study point out the ability of respiratory system cells to synthesize acute phase reactants in patients with COPD. Our results allow us to assess this production and suggest that these are not the only cells involved.

Key words: COPD, Acute Phase Reactants, cellular expression, pulmonary parenchyma.

Recibido: 24 de abril de 2013. Aceptado: 19 de diciembre de 2013.

Carmen Calero Acuña
carmencalero@neumosur.net

INTRODUCCIÓN

La EPOC es una de las patologías de mayor prevalencia en el mundo occidental. Actualmente, en España hay una prevalencia de EPOC del 10,2% de las personas entre 40 y 80 años[1]. En términos generales, la EPOC es una enfermedad con una alta mortalidad que sigue aumentando[2], siendo la cuarta causa a nivel mundial. Debido a esto, la EPOC supone un importante impacto económico en el sistema sanitario, tanto por el diagnóstico y tratamiento en fase estable, como por el derivado de los costes por hospitalización[3].

Recientemente, se ha demostrado que la EPOC, lejos de ser una enfermedad con una repercusión exclusivamente pulmonar, tiene una serie de importantes connotaciones sistémicas. Aunque la patogenia de las manifestaciones sistémicas de la enfermedad está aún poco clara, se ha sugerido que el aumento de la concentración en suero de diversas moléculas inflamatorias podría tener un papel relevante, al contribuir a un estado de inflamación sistémica permanente, que podría ser responsable de algunos de estos efectos sistémicos[4], considerándose un factor patogénico clave en la afectación multidimensional y heterogeneidad fenotípica de la enfermedad. De esta manera, una de las hipótesis actualmente vigentes en este sentido, defiende que un cierto grado de inflamación sistémica sería el responsable de la conexión entre estos fenómenos[5].

La presencia de valores aumentados de marcadores inflamatorios plasmáticos, se ha asociado a la presencia de muchos de los procesos extrapulmonares relacionados con la EPOC. Se desconoce con exactitud la relación causa-efecto entre estos fenómenos y si su modificación puede alterar el curso clínico de la enfermedad. Dentro de los distintos marcadores inflamatorios sistémicos estudiados, los llamados reactantes de fase aguda (RFA) parecen tener una especial relevancia, debido a su importante papel como nexo fisiológico entre la respuesta inflamatoria local y la sistémica[6].

En un trabajo previo[7], nuestro grupo demostraba que el tejido pulmonar es capaz de sintetizar RFA, cuya secreción puede estar relacionada con variables clínicas de la enfermedad. El patrón de secreción es diferente según la localización anatómica[8]. Este diferente patrón de secreción es interesante y podría ser útil para intentar dilucidar la aportación de la afectación de cada compartimento anatómico a la enfermedad. En el presente proyecto, nos planteamos el estudio de diversos grupos celulares, con objeto de evaluar qué células están implicadas en esta síntesis pulmonar de RFA.

MATERIAL Y MÉTODO

Se llevó a cabo un estudio analítico observacional de caso-control, en el que se compararon los niveles de distintos RFA en diferentes tipos celulares de muestras quirúrgicas de tejido pulmonar de pacientes fumadores o exfumadores, con EPOC en fase estable, frente a pacientes sin EPOC. El estudio contó con la aprobación del comité ético del H.U. Virgen del Rocío, observándose las normas de la Declaración de Helsinki para estudios con seres humanos y con el consentimiento informado por escrito de cada participante previo a su inclusión en el estudio. Todos los sujetos incluidos en el estudio son pacientes que se encontraban en lista de espera para cirugía de resección pulmonar (lobectomía o neumonectomía) por sospecha de neoplasia pulmonar primaria, que ingresaron de forma programada en nuestra unidad para la realización de la técnica quirúrgica prevista.

El diagnóstico de EPOC se realizó en función de la normativa internacional GOLD 2010, exigiéndose una exposición prolongada a inhalantes de riesgo (consumo acumulado de tabaco > 10 paq/año) y tener una espirometría con una obstrucción crónica al flujo aéreo que no fuese completamente reversible tras un test broncodilatador. Se excluyeron aquellos pacientes que padecieran alguna enfermedad concomitante crónica o inflamatoria, que pudiese estar asociada en la elevación de los RFA, así como aquellos pacientes que habían recibido quimioterapia o radioterapia sobre el tórax.

En caso de cumplir dichos criterios de inclusión, en una primera visita se realizó una evaluación clinica, recogiendo de cada sujeto: edad, sexo, evaluación del estado nutricional, hábito tabáquico plasmado en paquetes/año, estabilidad clínica en los meses previos, disnea usando la escala modificada del *Medical Research Council* (mMRC), patología concomitante y tratamiento médico habitual, recogido en principio activo y dosis habitual, expresándose la dosis de corticoides inhalados en μg/día de fluticasona o equivalente. Se realizó una evaluación funcional respiratoria, incluyendo espirometría, saturación de oxígeno y, si ésta era menor del 92%, gasometría arterial y test de la marcha de 6 minutos.

EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA QUIRÚRGICA

Durante la intervención quirúrgica, se midió el tiempo desde el inicio de la misma (apertura de plano cutáneo) hasta la obtención de la pieza quirúrgica. Se seleccionó una porción de parénquima pulmonar,

macroscópicamente normal y que estuviera alejada de la lesión que había motivado la intervención. Esta separación se realizó en el quirófano, en una mesita auxiliar y sobre un campo quirúrgico estéril en hielo, para preservar la biopsia lo mejor posible. El resto de la pieza anatómica siguió el tratamiento habitual, según protocolo del hospital y acorde al caso clínico del paciente.

INSTRUMENTOS DE MEDIDA

Escalas y cuestionarios: el consumo de tabaco se recogió empleando el índice acumulado en paquetes-año. La disnea fue medida por la escala modificada del *Medical Research Council* (mMRC)[9]. El estado nutricional se evaluó mediante el cálculo del índice de masa corporal, expresado en Kg/m^2.

Valoración funcional respiratoria: la espirometría se realizó siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR)[10]. Para el test broncodilatador se emplearon 500 µgr de terbutalina, administrada en dispositivo Turbuhaler, repitiéndose la espirometría con la misma técnica a los 15 minutos de la inhalación. Se consideró un test broncodilatador positivo si aumentaba un 12% y 200 mL en la segunda espirometría. La gasometría arterial se efectuó con muestras de sangre procedente de arteria radial o humeral y las medidas de pH, PaO_2 y $PaCO_2$ se llevaron a cabo en un gasómetro (ABL 700, *Radiometer Copenhagen*) siguiendo las recomendaciones de la SEPAR[11].

TRABAJO DE LABORATORIO

Se recogieron muestras de parénquima pulmonar de cada uno de los pacientes (casos y controles) Al fragmento de la muestra se le realizó una disgregación celular para obtener los fibroblastos, las células epiteliales y los macrófagos. La disgregación consta de una trituración mecánica, mediante bisturí, para lograr fragmentos del menor tamaño posible y una enzimática, que se realizó en un medio de digestión, cuya composición fue: RPMI, 5% de *Fetal Bovine Serum* (FBS), 1% de estreptomicina/penicilina, 1% de L-glutamina (todos de PAA *Laboratories*, Gmb, Alemania), 0,1 mM de 2-beta-mercaptoethanol (Sigma, GmbH, Alemania), 1 mg/mL de colagenasa I (Sigma, GmbH, Alemania) y 0,02 mg/mL de DNasa I. La muestra se mantuvo en este medio, a 37ºC, durante 25 minutos; posteriormente se neutralizó la colagenasa y la DNasa con RPMI al 5% de FBS, 1% de estreptomicina/penicilina y 1% de L-glutamina. Una vez neutralizadas las enzimas, centrifugamos a 1000 rpm durante 10 minutos a 4ºC. Posteriormente se retiró el sobrenadante y se lavó el *pellet* con una solución de PBS *(phosphate buffered saline)* a 10 mM de EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). A continuación, pasamos la muestra por un filtro de 40 µm (Becton Dickinson, NJ, USA) y volvimos a centrifugar a 1000 rpm durante 5 minutos a 4 ºC, retirando posteriormente el sobrenadante. Realizamos una lisis de eritrocitos al *pellet* (*Erythrocyte lysis buffer*, QIAGEN, Gmb, Alemania) siguiendo el protocolo del fabricante. La separación de los distintos tipos celulares, se realizó mediante la unión de las células a anticuerpos específicos, ligados a bolitas magnéticas (MACS *microbeads, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Gemany*) según las indicaciones del fabricante. Los marcadores seleccionados fueron; CD326 (para células epiteliales), CD14 (para macrófagos) y anti-fibroblastos (para los fibroblastos). Tras incubar las muestras con los diferentes anticuerpos, se pasaron por una columna de separación magnética (MS MACS columna, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany). Una vez que hubieran pasado todas las células, recogimos las que quedaron en la columna ($CD326^+$, $CD14^+$ o fibroblastos) y les realizamos la extracción de ARN mediante el método trizol-cloroformo *(TRIsure™, Bioline Ltd., United Kingdom)*.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versión 19.0 *(IBM Corporation, Somers, Nueva York, EE.UU)*. Para describir las variables se emplean las frecuencias absolutas y relativas en el caso de variables cualitativas. Las variables cuantitativas se describen mediante la media y la desviación estándar. El estudio de la expresión de RFA a nivel celular, entre pacientes EPOC y fumadores sanos, se realiza mediante el estudio de sus medias mediante el test de la t de Student para datos independientes (test de Mann-Whitney, en caso de no paramétrico), previa verificación de la igualdad de las varianzas con el test de Levene. Igualmente, ambos tests (t de Student y Pearson) son empleados para evaluar la relación entre la expresión de los RFA y las diversas características clínicas y funcionales recogidas. Se acepta un error alfa de 0,05.

RESULTADOS

Descripción de la muestra: la muestra estaba compuesta por 74 sujetos, divididos en 39 pacien-

tes EPOC y 35 fumadores sin la enfermedad (Tabla 1). La distribución de pacientes por estadios GOLD 2011 era: 14 (35,9%) en estadio GOLD I, 22 (56,4%) en estadio GOLD II, 2 (5,1%) en estadio GOLD III y 1 (2,6%) en estadio GOLD IV. Los pacientes con EPOC estaban tratados, en un 13,2%, con corticoides inhalados, estando todos en tratamiento combinado. La dosis media de corticoides inhalados en los pacientes con EPOC era de 437,5 (426,9) µg/d.

Determinación de la expresión de PCR y AAS (amiloide A sérico) en células epiteliales, macrófagos y fibroblastos pulmonares humanos en EPOC y sujetos control: los resultados de la expresión están reflejados en las figuras 1 a 4. Tanto fibroblastos, células epiteliales y macrófagos pulmonares, son capaces de sintetizar estos reactantes de fase aguda. A pesar de que las diferencias no son llamativas, en sujetos control parece que la producción de PCR estaría más elevada en células epiteliales (figura 1), mientras que los diversos genes de AAS estarían elevados en epiteliales y macrófagos (figuras 2 a 4).

Al analizar la expresión génica de cada marcador en el grupo de casos, observamos dos fenómenos relevantes. El primero es que el protagonismo de secreción de algunos tipos celulares se modifica. En cuanto a la PCR, mientras que en los controles observábamos una síntesis más o menos similar en todos los grupos, con un ligero descenso en los macrófagos, en los pacientes con EPOC adquieren un mayor papel las células epiteliales (figura 1). De igual manera, el AAS1 en el grupo control, presentaba una síntesis similar en todos los tipos celulares, con una ligera disminución de los fibroblastos. Sin embargo, en el caso de los pacientes con EPOC, aparece una síntesis aumentada en las células epiteliales nuevamente (figura 2).

Por otro lado, la importancia de los tipos celulares en los dos marcadores restantes, también es cualitativamente diferente. El AAS2, que en los controles tenía una expresión similar para todos los tipos celulares, en el caso de los pacientes con EPOC prevalece la expresión en fibroblastos (figura 3). Análogamente, AAS4 que en sujetos control expresaba constitutivamente de manera más importante en macrófagos, cambia su expresión en pacientes EPOC, para mostrar mayor síntesis en fibroblastos (figura 4).

Tabla 1: Características basales de los casos y controles participantes en el estudio.

	Muestra completa	Casos (n=39)	Controles (n=35)	Valor p*
Tabaquismo activo	19 (25,7%)	11 (28,2%)	8 (22,9%)	0,013
Consumo acumulado (paquetes/año)	50,65 (68,5)	52,08 (27,9)	48,8 (99,5)	NS
Hombres	63 (85,1%)	36 (92,3%)	27 (77,1)	NS
Edad	64,39 (9,3)	66 (7,6)	62,4 (10,7)	NS
Índice de masa corporal (Kg/m^2)	26 (6,01)	27,21 (4,9)	26,33 (4,4)	NS
Charlson-edad	5,32 (2,02)	6,02 (1,7)	4,54 (2,09)	0,001
FVC (%)	92,14 (17,5)	151,1 (365,1)	91,1 (15,3)	NS
FEV_1 (%)	78,79 (17,85)	70,6 (14,3)	84,1 (15,1)	<0,001
FEV_1/FVC (%)	67,86 (10,62)	60,2 (8,4)	74,3 (6,1)	<0,001

Datos expresados como media (desviación estándar), o con las frecuencias absolutas (relativas) según el caso.
*Datos analizados con el test de la t de Student para datos independientes, o el test $\chi 2$ según la naturaleza de los datos.
FVC: capacidad vital forzada.
FEV_1: volumen espirado forzado en el primer segundo.
NS: diferencias no significativas.

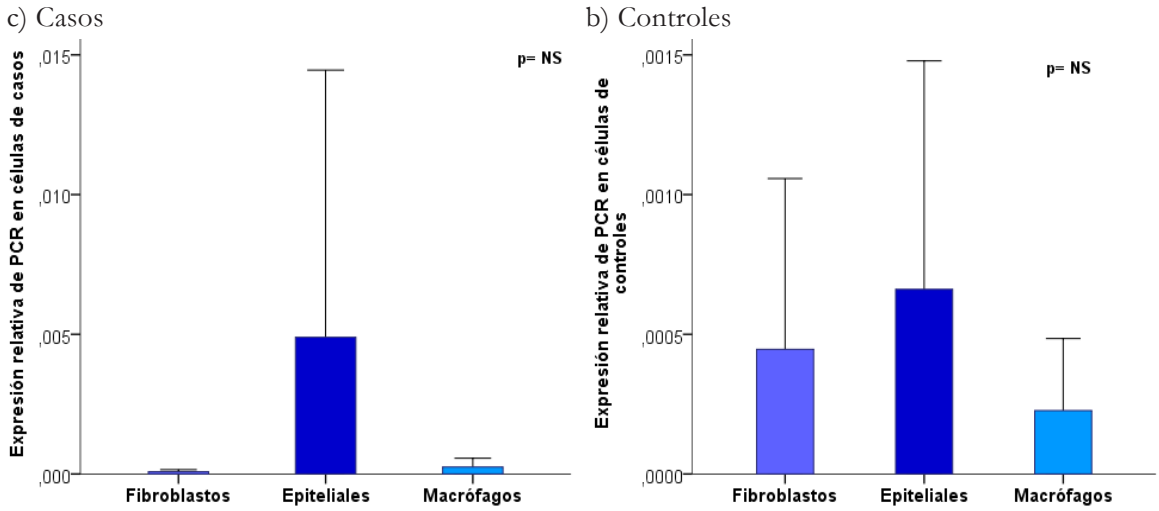

Figura 1. Expresión relativa de PCR en los grupos celulares estudiados de sujetos EPOC y sujetos control. Se representan la media y el intervalo de confianza al 95%.

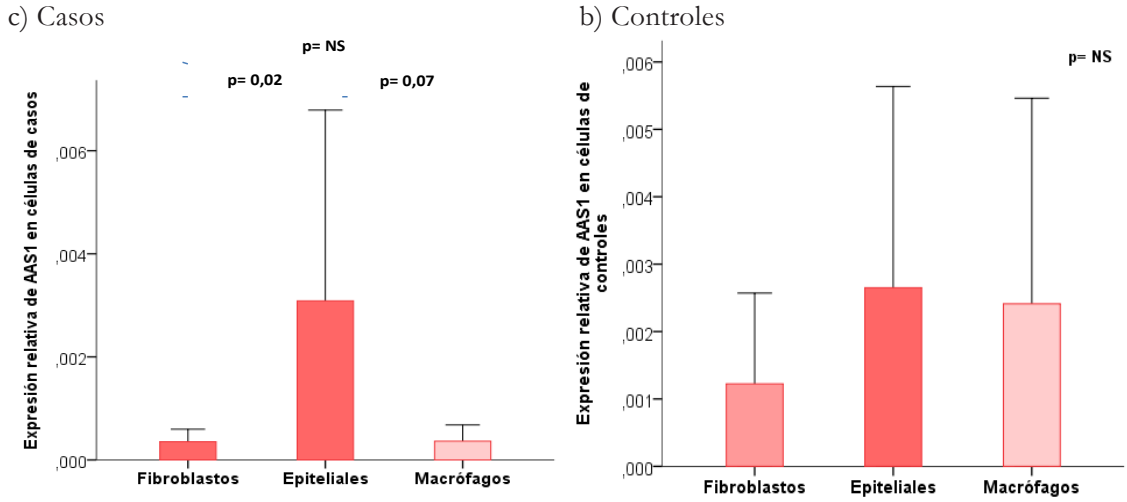

Figura 2. Expresión relativa de AAS1 en los grupos celulares estudiados de sujetos EPOC y sujetos control. Se representan la media y el intervalo de confianza al 95%.

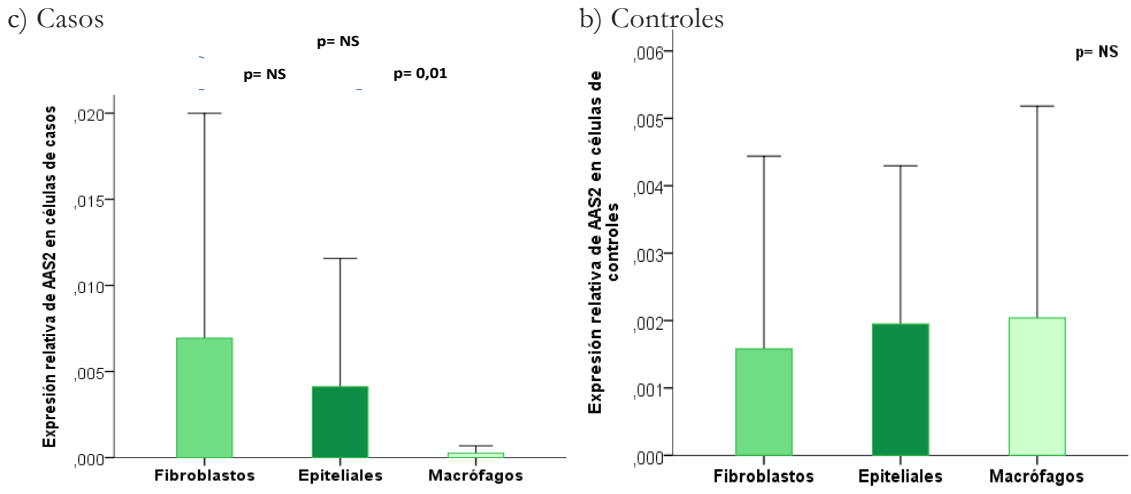

Figura 3. Expresión relativa de AAS2 en los grupos celulares estudiados de sujetos EPOC y sujetos control. Se representan la media y el intervalo de confianza al 95%.

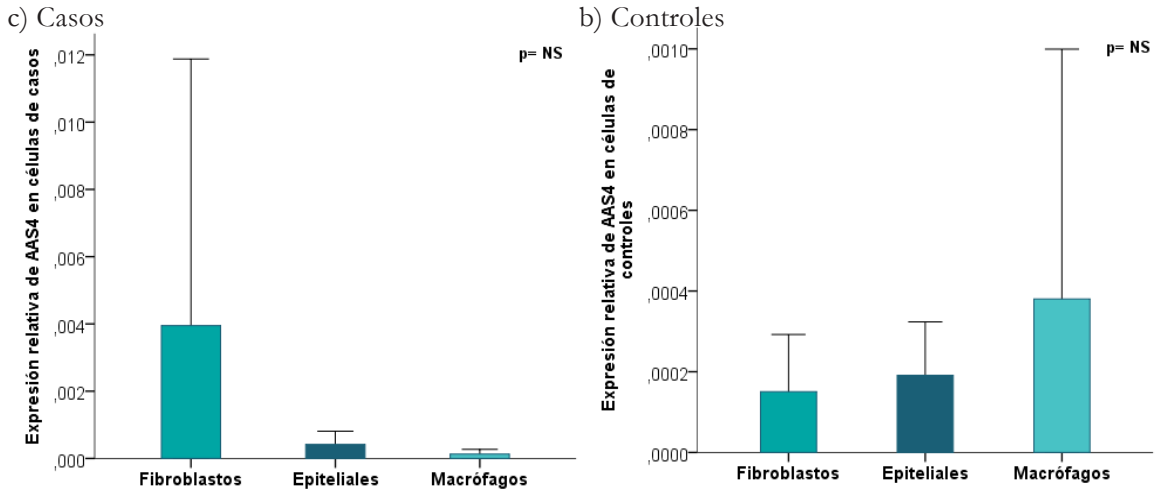

Figura 4. Expresión relativa de AAS4 en los grupos celulares estudiados de sujetos EPOC y sujetos control. Se representan la media y el intervalo de confianza al 95%.

DISCUSIÓN

El presente estudio proporciona información relevante sobre la síntesis de PCR y AAS en el parénquima pulmonar, con objeto de analizar qué tipos celulares pulmonares son los principales responsables de esta secreción, mostrando diferencias en su producción, según el tipo celular y la presencia o no de enfermedad.

De los resultados obtenidos, podemos afirmar que tanto los fibroblastos, las células epiteliales y los macrófagos sintetizan PCR y AAS. El papel de estos grupos celulares en la patogenia de la EPOC se ha estudiado previamente en diversos trabajos. Estudios sobre biopsias bronquiales identifican a las células epiteliales como componentes del proceso inflamatorio[12], añadiendo que esta relación está asociada a la intensidad del tabaquismo[13]. Por otro lado, los fibroblastos intervienen en la patogenia de la EPOC, especialmente en la afectación bronquiolar de la vía aérea fina, en la que se ha demostrado una proliferación peribronquiolar, que resulta ser el factor más limitante en la génesis de la obstrucción crónica al flujo aéreo[14]. Además, se ha demostrado que los macrófagos tienen un papel muy relevante en la patogenia de los pacientes con EPOC[15]. En este sentido, su papel como primera barrera de defensa innata en la vía aérea y el parénquima pulmonar ante estímulos nocivos crónicos, como el humo del tabaco, les hace tener un papel central en la coordinación de la respuesta inmune frente a las partículas inhaladas disueltas en el humo.

En la comparación de la expresión génica de ambos RFA en dichos grupos celulares, entre pacientes con EPOC y sujetos sin la enfermedad, podemos señalar dos aspectos interesantes. En primer lugar, la secreción celular se modifica ante la presencia de la enfermedad. El predominio de la síntesis en células epiteliales en sujetos con la enfermedad, podría ser consecuencia del remodelado producido en el tejido pulmonar de pacientes con EPOC. Este daño epitelial, podría tener como consecuencia un aumento de la respuesta inflamatoria en estas células. En el borde de la lesión, las células no dañadas se diferenciarían y emigrarían para cubrir el área lesionada y se liberarían una serie de citoquinas pro-inflamatorias y factores de crecimiento para atraer proteínas y células necesarias para la reparación de la matriz extra celular, lo cual es crucial para la reparación del tejido dañado. El proceso de re-epitelización inicia la respuesta inflamatoria y con ello la reparación[16].

Por otro lado, la variabilidad en la importancia de los tipos celulares en los dos marcadores restantes, es interesante. Tanto el AAS2, como el AAS4 en los pacientes EPOC, tienen una mayor expresión en fibroblastos, lo que daría un mayor protagonismo al papel de estas células en la respuesta inflamatoria. Los fibroblastos son las principales células responsables en la producción y mantenimiento de la matriz extracelular en el pulmón. Por tanto, la alteración en la capacidad funcional de estos fibroblastos, puede desempeñar un papel relevante en la patogénesis del enfisema pulmonar, que se traduce en una desestructuración del tejido.

Sin embargo, a la luz de nuestros resultados no podemos descartar que estos tipos celulares sean los únicos implicados en la enfermedad. Probablemente, existan otros grupos celulares que participen en esta síntesis de manera más importante. En este sentido, nuestro grupo está estudiando la expresión de

estos marcadores en células dendríticas, cuyos resultados esperamos tener próximamente. La relación con este tipo celular puede ser más plausible. Las células dendríticas parecen ser un agente clave en la modulación de la respuesta inmune y podrían tener un papel relevante en la patogenia de la enfermedad. Por el momento, existen datos contradictorios en la literatura sobre la importancia en la patogenia de la EPOC[17, 18].

En resumen, los hallazgos del presente estudio señalan la capacidad de las células del aparato respiratorio de sintetizar reactantes de fase aguda en los pacientes con EPOC. Nuestros resultados nos permiten valorar esta producción y sugerir que es probable que no sean los únicos tipos celulares implicados. Futuros trabajos deberán realizar un estudio en el que impliquen mayor número de tipos celulares, para avanzar en el conocimiento de la patogenia de la EPOC y sus repercusiones sistémicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ancochea J, Badiola C, Duran-Tauleria E et al. Estudio EPI-SCAN: resumen del protocolo de un estudio para estimar la prevalencia de EPOC en personas de 40 a 80 años en España. Arch Bronconeumol 2009; 45: 41-47.
2. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. Lancet 1997; 349: 1498-504.
3. López-Campos JL, Fernández J, Lara A et al. Análisis de los ingresos por enfermedad pulmonar obstructiva crónica en Andalucía, año 2000. Arch Bronconeumol 2002; 38: 473-478.
4. Agusti AG, Noguera A, Sauleda J et al. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir 2003 Jun; 21: 347-360.
5. Pinto-Plata VM, Mullerova H, Toso JF et al. C-reactive protein in patients with COPD, control smokers and non-smokers. Thorax 2006; 61: 23-28.
6. Dahl M, Vestbo J, Lange P, Bojesen et al. C-reactive protein as a predictor of prognosis in chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175: 250-255.
7. Rojano B, Arellano E, López M et al. Expresión local de reactantes de fase aguda en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Rev Esp Pat Torácica 2010; 22: 252-258.
8. López-Campos JL, Calero C, Rojano B et al. C-reactive protein and serum amyloid a overexpression in lung tissues of chronic obstructive pulmonary disease patients: a case-control study. Int J Med Sci 2013; 10: 938-47.
9. Fletcher CM, Elmes PC, Fairbairn AS et al. The significance of respiratory symptoms and the diagnosis of chronic bronchitis in a working population. Br Med J 1959; 5147: 257-266.
10. Casan P, Burgos F, Barberá JA, et al. Procedimientos de evaluación de la función pulmonar. Espirometría. Man SEPAR pcdtos 1987; 3: 4-15.
11. Rodríguez-Roisín R, Agustí A, Burgos F et al. Grupo de trabajo de la SEPAR para la práctica de la gasometría arterial. Gasometría arterial. Arch Bronconeumol 1998; 34: 142-153.
12. Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P et al. Activated T-lymphocytes and macrophages in bronchial mucosa of subjects with chronic bronchitis. Am Rev Respir Dis 1993; 147: 301-306.
13. Auerbach O, Stout AP, Hammond EC et al. Changes in bronchial epithelium in relation to cigarette smoking and in relation to lung cancer. N Engl J Med 1961; 265: 253-267.
14. Togo S, Holz O, Liu X et al. Lung fibroblast repair functions in patients with chronic obstructive pulmonary disease are altered by multiple mechanisms. Am J Respir Crit Care Med 2008; 178: 248-260.
15. Spurzem JR, Rennard SI. Pathogenesis of COPD. Semin Respir Crit Care Med 2005; 26: 142-153.
16. Karrasch S, Holz O, Jorres RA. Aging and induced senescence as factors in the pathogenesis of lung emphysema. Respir Med 2008; 102: 1215–1230.
17. Demedts IK, Bracke KR, Van Pottelberge G et al. Accumulation of dendritic cells and increased CCL20 levels in the airways of patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175: 998-1005.
18. Tsoumakidou M, Koutsopoulos AV, Tzanakis N et al. Decreased small airway and alveolar CD83+ dendritic cells in COPD. Chest 2009; 136: 726-733.