

AGING DELLE VIE AEREE: ASPETTI BIOLOGICI

Mario Malerba¹, Filippo Patrucco²

¹ Dipartimento di Medicina Traslazionale, S.C.D.U di Pneumologia, Ospedale Sant'Andrea, Università del Piemonte Orientale, Vercelli

² Dipartimento Medico, S.C. Pneumologia, Ospedale Sant'Andrea, ASL VC, Vercelli

Gli effetti dei meccanismi endogeni sono i principali responsabili dei danni a carico del polmone senile e richiedono tempi lunghi per diventare evidenti. Numerosi fattori possono predisporre il polmone all'azione di agenti esogeni questi fattori possono essere raggruppati in due gruppi: senescenza cellulare e senescenza immunologica.

Senescenza cellulare

Le specie reattive dell'O₂ sono responsabili del graduale accumulo di danno genetico e agli altri costituenti cellulari; inoltre con l'età viene meno la protezione antiossidante accelerando il declino della funzione cellulare e riducendo la resistenza dei tessuti allo stress ossidante indotto da agenti esogeni. Un meccanismo di difesa cellulare è rappresentato dalla capacità delle cellule di indurre la sintesi di proteine protettive, chiamate "heat shock proteins". Con l'invecchiamento si riduce la capacità proliferativa delle cellule comportando una ridotta capacità riparativa ai danni indotti da agenti esogeni.

Immuno-senescenza

Alcune delle conseguenze dell'immuno-senescenza sono il declino dell'entità e dell'affinità della risposta anticorpale, una ridotta risposta ai mitogeni, in particolar modo per quelli selettivi per i linfociti T, una ridotta attività delle cellule T-helper. Nel paziente anziano è più difficile indurre tolleranza e la presenza di autoanticorpi e di anticorpi anti-idiotipo è elevata. Vi è poi una riduzione della risposta immunologica anche a livello locale polmonare (1-3).

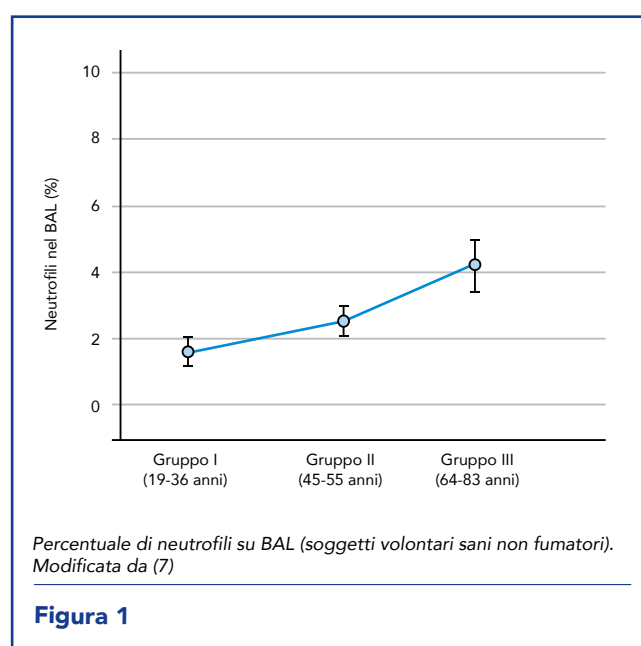
Modificazioni della cellularità delle vie aeree legate all'invecchiamento

L'attività dei macrofagi alveolari è generalmente preservata sia quantitativamente che qualitativamente durante l'invecchiamento; vi è infatti una correlazione positiva tra il numero dei macrofagi alveolari sul lavaggio broncoalveolare (BAL) e l'età di soggetti non fumatori di età compresa tra 20 e 80 anni (4). Il tratto respiratorio inferiore e gli alveoli sono continuamente sottoposti a stimoli antigenici provenienti dall'aria inalata, attivando i macrofagi residenti, determinando così un stato di flogosi locale cronica sub-clinica anche nel paziente anziano senza patologie respiratorie (5). Inoltre uno studio condotto da Meyer e colleghi ha dimostrato come in un gruppo di soggetti anziani non fumatori, esenti da patologie

respiratorie, il numero di macrofagi alveolari fosse superiore alla norma (6); gli autori suppongono che questo incremento di macrofagi nel comparto alveolare sia connesso con la ripetuta e prolungata esposizione ad agenti nocivi atmosferici verificatasi nel corso degli anni, determinando un quadro di flogosi cronica sub-clinica in sede alveolare.

A sostegno di questa ipotesi gli autori hanno sottolineato la presenza di un aumentato rilascio a livello alveolare di citochine pro-infiammatorie e di anione superossido. I macrofagi contribuiscono in modo significativo a favorire fenomeni di chemiotassi di cellule infiammatorie: rilasciano svariati fattori ad attività chemiotattica come il leucotriene B₄, le frazioni del complemento, le citochine (IL-5, IL-8), i fattori di proliferazione cellulare (CSF), il fattore di necrosi tumorale (TNF alfa), la macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1). In questo modo viene stimolato il passaggio di cellule infiammatorie, prevalentemente neutrofili, eosinofili e macrofagi, dal sangue al comparto alveolare, sede di infiammazione cronica.

Un ruolo fondamentale nello sviluppo di flogosi viene svolto dai neutrofili. Il numero di neutrofili su BAL e su espettorato è significativamente superiore nei soggetti anziani esenti da patologie respiratorie, non fumatori, rispetto a controlli più giovani (Figura 1, 2) (7, 8).



Un incremento di neutrofili nel BAL associato all'invecchiamento è stato osservato anche dal BAL Cooperative Study Group (9). In un altro studio, Thompson e coll. hanno dimostrato che il numero di neutrofili su BAL e su biopsie bronchiali di 33 soggetti non fumatori era più alto nei pazienti più anziani (10). Nello studio condotto da Meyer e coll. è stato dimostrato un incremento significativo del numero totale di cellule, di neutrofili e del rapporto linfociti T CD4+/CD8+, del rilascio di anione superossido e della concentrazione di IL-6 sul BAL nel gruppo di pazienti più anziani (6).

Tutte queste osservazioni suggeriscono la presenza di uno stato di infiammazione sub-clinica cronica delle vie aeree in volontari sani di età maggiore di 65 anni. Uno dei fattori che può contribuire alla persistenza di un basso grado di infiammazione è la perdita dell'attività di controllo da parte di fattori che normalmente modulano la risposta infiammatoria nei confronti di agenti ambientali o verso ripetute stimolazioni antigeniche che interessano le basse vie aeree.

Le cellule di rivestimento dell'epitelio così danneggiate sembra che stimolino a loro volta il reclutamento di altre cellule infiammatorie, soprattutto neutrofili, all'interno delle vie aeree. Questo status infiammatorio nel paziente anziano potrebbe essere il responsabile del danneggiamento della matrice polmonare mediato da proteasi e/o sostanze ossidanti; questo causerebbe sia la perdita di unità alveolari che il declino della capacità di transfer alveolo-capillare dei gas che si verifica con l'invecchiamento (7).

Questi aspetti relativi alle modificazioni della cellu-

larità delle vie aeree durante l'invecchiamento del polmone possono essere riscontrati anche nel deficit di alfa-1-antitripsina (DAAT). È stato infatti osservato che una ridotta attività antielastica come si rileva nel DAAT è in grado di influenzare la flogosi delle vie aeree assai precocemente nella storia naturale della malattia. Nei soggetti con DAAT lieve (eterozigoti – MZ) asintomatici, non fumatori e senza deficit funzionale ostruttivo delle vie aeree, è documentabile la presenza di un quadro di infiammazione neutrofila all'espettorato indotto prima della comparsa di sintomi clinici e/o alterazioni funzionali (11).

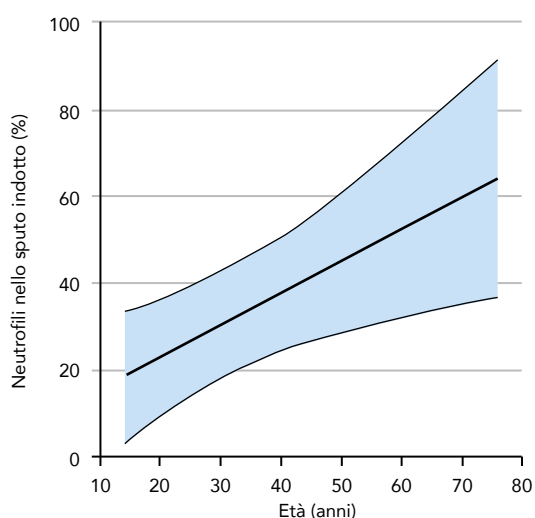
Questo quadro infiammatorio prevalentemente neutrofilico potrebbe spiegare il più rapido sviluppo di enfisema polmonare in quanto porterebbe ad una riduzione dell'effetto protettivo svolto dall'alfa-1-antitripsina, e al reclutamento di cellule infiammatorie delle vie aeree, cui segue uno stato di infiammazione cronica simile a quello evidenziabile in pazienti affetti da BPCO.

Queste osservazioni potrebbero in parte chiarire l'evoluzione clinica di un paziente che, pur partendo da una funzionalità respiratoria nella norma e senza sintomi, possa sviluppare un quadro di ostruzione delle vie aeree. Anche nello studio di Meyer e coll. è stato osservato che la concentrazione media nel BAL di neutrofili, di IL-8, di elastasi neutrofila, del complesso elastasi neutrofila/alfa-1-antitripsina era maggiore nei pazienti più anziani (7).

Questi risultati confermano le precedenti osservazioni suggerendo che nel soggetto anziano apparentemente sano vi possa essere uno stato infiammatorio latente all'interno delle vie aeree che possa contribuire alla perdita di fibre di elastina portando all'insorgenza del polmone senile.

Il reclutamento di neutrofili che si osserva nel soggetto anziano è verosimilmente secondario alla riduzione di efficacia di meccanismi difensivi che coinvolgono gli inibitori delle proteasi e la funzione antiossidante. Uno studio condotto da Post e coll. ha dimostrato che la capacità di produrre alfa-1-antitripsina e albumina sia costitutiva che in risposta a stimoli infiammatori diminuisce con l'avanzamento dell'età nei ratti (12). I neutrofili reclutati ed attivati all'interno delle vie aeree di soggetti anziani rilasciano elastasi libera e catepsina G che a loro volta stimolano l'IL-8 con ulteriore richiamo di neutrofili e liberazione di elastasi; in questo modo si innesca un circolo vizioso pro-infiammatorio in grado di automantenersi.

Tra i meccanismi responsabili dell'accumulo di neutrofili nel fluido di rivestimento epiteliale del tratto respiratorio distale nel soggetto anziano vi sarebbero fattori chemiotattici per i neutrofili, rilasciati da macrofagi attivati e/o da cellule epiteliali delle vie aeree, in risposta ad uno stimolo o a seguito del fisiologico declino del meccanismo apoptotico dei neutrofili da



Correlazione tra percentuale di neutrofili sull'espettorato indotto ed età in soggetti volontari sani. Modificata da (8)

Figura 2



parte dei macrofagi. È inoltre verosimile che sia le elastasi neutrofila che le macrofago-metallo-proteasi (MMP) possano partecipare alla degradazione dell'elastina nell'enfisema.

L'importanza dell'elastasi neutrofila in questo processo è suggerita dall'insorgenza di enfisema nel soggetto affetto da DAAT, mentre le MMP probabilmente svolgono un ruolo importante nell'enfisema senile. Gli enzimi elastolitici sarebbero in grado di degradare l'elastina nonostante un sufficiente effetto antiproteasico (13, 14).

Le proteasi rilasciate da parte di neutrofili e macrofagi reclutati all'interno delle vie aeree sarebbero in grado di degradare la matrice polmonare e di giustificare, nel corso degli anni, la perdita di elastina e la sua distruzione lungo le vie aeree nel polmone umano (15).

Recentemente Pavord e coll. hanno osservato che la percentuale di neutrofili nell'espettorato indotto di volontari sani si correlava positivamente con l'età e che tale correlazione era particolarmente evidente dopo i 50 anni (Figura 2); l'incremento della conta neutrofila era inoltre associato ad una riduzione proporzionale dei macrofagi correlata all'età, senza che vi fossero significative differenze di sesso (8).

Sulla base dei dati di letteratura precedentemente riportati e dalla constatazione che attualmente non sono disponibili valori di riferimento della cellularità delle vie aeree ricavata mediante espettorato indotto in soggetti con più di 50 anni, è stato avviato uno studio multicentrico italiano, con lo scopo di deter-

minare i valori di riferimento sia per la conta cellulare totale che per quella differenziale delle cellule infiammatorie, raccolte mediante la metodica dell'espettorato indotto, su un'ampia coorte di soggetti sani, non fumatori, esenti da patologie respiratorie acute o croniche.

Sono stati confrontati i risultati di pazienti con età inferiore di 50 anni e quelli di età compresa tra 51 e 81 anni. I risultati di questo studio hanno evidenziato una significativa correlazione positiva tra età e percentuale di neutrofilia nell'espettorato indotto (Figura 3), con un'inversione del fisiologico rapporto tra macrofagi e neutrofili nell'espettorato indotto riscontrato nel gruppo di età inferiore. Questi dati hanno confermato i dati evidenziati su BAL in cui, in soggetti di età superiore ai 50 anni, non fumatori, si può osservare un incremento della presenza di neutrofili quale verosimile marcatore di flogosi persistente di basso grado ed associabile al declino della funzione ventilatoria che inizia nel soggetto normale a partire dalla 4^a - 5^a decade di vita (16).

Quale sia lo stimolo per il reclutamento dei neutrofili non è tutt'ora noto anche se potrebbe essere possibile che, oltre ai macrofagi, anche le cellule epiteliali siano in grado di secernere fattori chemiotattici (IL-8) in risposta a stimoli flogogeni ricorrenti (17).

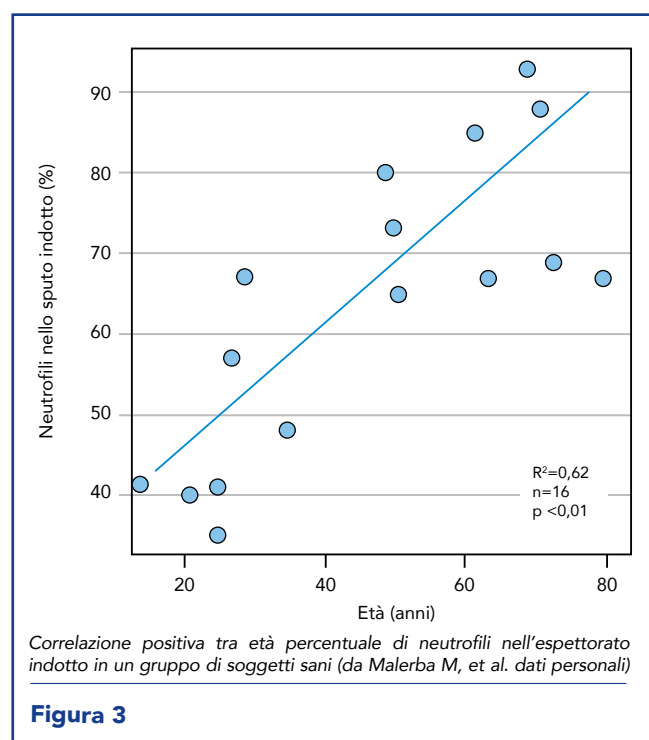
Questa attività da parte delle cellule epiteliali sembra acquisire rilevanza con il passare degli anni, quando sarebbero più evidenti i segni di un danno cronico a carico delle stesse cellule epiteliali di rivestimento delle vie aeree, come testimoniato dall'aumentata presenza di cellule epiteliali nell'espettorato o nel BAL di soggetti anziani (18).

Non è ancora chiaro se i neutrofili alveolari conservino intatto il loro potenziale difensivo o se partecipino al declino funzionale indotto dai neutrofili circolanti, con conseguente limitazione della capacità di flogosi di particelle opsonizzate, così come dell'attività di killing nei confronti di virus o batteri (19-21).

In conclusione, ad oggi i dati riguardanti i cambiamenti della cellularità a carico delle vie aeree nel corso del fisiologico processo di invecchiamento polmonare sono scarsi, in particolare non è chiaro come i cambiamenti della popolazione cellulare in senso pro-infiammatorio siano in grado di costituire una spia di future alterazioni parenchimali legate alla senescenza polmonare.

Ulteriori studi sono necessari per caratterizzare più dettagliatamente il quadro di flogosi cronica, minima e persistente legata al processo di aging.

Tali informazioni potrebbero fornire la chiave per chiarire meglio i legami tra alterazioni delle vie aeree e il declino della funzione respiratoria correlato all'età, contemporaneamente consentendo di intraprendere le migliori strategie per prevenire il deterioramento della funzione polmonare senile.



Bibliografia

1. Massaro D(Ed). Lung Cell Biology. Lung Biology in Health and Disease vol. 41. Marcel Dekker, New York, 1989.
2. Kuhn III C - Morphology of the Aging Lung. In R.G. Crystal, J.B. West, E.R. Weibel, P.J.Barnes (Eds). The lung. Scientific Foundations - 2nd Ed. Chapt.167; pp 2187-2192. Lippincott. Raven Pub, Philadelphia, 1997.
3. Castle SC. Clinical Relevance of Age-Related Immune Dysfunction. *Cli. Infect. Dis.* 2000; 31: 578-585.
4. Wallace WAH, Gilloly M, Lamb D. Age related increase in the intra-alveolar macrophage population of non-smokers. *Thorax* 1993; 48: 668-669.
5. Meyer KC. Aging. *Proc Am Thorac Soc.* 2005; 2: 433-449.
6. Meyer KC, Ershler W, Rosenthal NS, et al. Immune dysregulation in the aging human lung. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 153: 1072-1079.
7. Meyer KC, Rosenthal NS, Soergel P, et al. Neutrophils and low-grade inflammation in the seemingly normal aging human lung. *Mech Aging Dev.* 1998; 104: 169-181.
8. Thomas RA, Green RH, Brightling CE, et al. The influence of age on induced sputum differential cell counts in normal subjects. *Chest.* 2004; 126: 1811-1814.
9. The BAL Cooperative Group Steering Committee. Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis, and selected comparison groups. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990; 141(Suppl.): 1-200.
10. Thompson AB, Scholer SG, Daughton DM, et al. Altered epithelial lining fluid parameters in old normal individuals. *J. Gerontol.* 1992; 47: M171-M176.
11. Malerba M, Ricciardolo F, Radaeli A, et al. Neutrophilic inflammation and IL-8 levels in induced sputum of alpha-1-antitrypsin PiMZ subjects. *Thorax.* 2006; 61: 129-133.
12. Post DJ, Carter KC, Papacostantinou J. The effect of aging on constitutive mRNA levels and lipopolysaccharide inducibility of acute phase genes. *Ann. NY Acad. Sci.* 1991; 621: 66-77.
13. Finlay GA, O'Driscoll LR, Russell KJ, et al. Matrix metalloproteinase expression and production by alveolar macrophages in emphysema. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156: 240-247.
14. Tetley TD. Matrix metalloproteinases: a role in emphysema? *Thorax.* 1997; 52: 495.
15. Andreotti L, Bussotti A, Cammeli D, et al. Connective tissue in aging lung. *Gerontology.* 1993; 29: 377-387.
16. Malerba M, Balbi B, Spaneello A. Aging and Induced-Sputum Cells. *Chest.* 2005; 128: 4049-4050.
17. Babior BM. The respiratory burst of phagocytes. *J. Clin. Invest.* 1984; 73: 599-601.
18. Meyer KC, Soergel P. Variation of bronchoalveolar lymphocyte phenotypes with age in the physiologically normal human lung. *Thorax.* 1999; 54: 697-700.
19. Abramson SL, Malech HL, Gallin JI. Neutrophils. R.G. Crystal and J.B. West, editors. *The Lung: Scientific Foundations.* Raven Press, New York. 1991; 553-563.
20. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Ann. Intern. Med.* 1980; 93: 480-489.
21. Ershler WB. Interleukin-6: a cytokine for gerontologists. *J. Am. Geriatr. Soc.* 1993; 41: 176-181.

