

**Università degli Studi di Parma**  
**Dottorato in Fisiopatologia Respiratoria**  
**Sperimentale**

**Multicentric Italian Lung Detection trial (Progetto MILD) sulla  
diagnosi precoce del tumore polmonare in soggetti forti  
fumatori.**

**Relazione tra danno respiratorio e patologie fumo-correlate in  
soggetti ad alto rischio sottoposti a TAC spirale.**

**Coordinatore:  
Prof. Dario Olivieri**

**Relatore/Tutor:  
Dott. Ugo Pastorino**

**Tesi di dottorato di ricerca - XX**

**Dott.ssa Elisa Calabrò**

**ciclo**

## **Introduzione**

### **Long term evaluation of Milan Pilot study**

Con l'obiettivo di confermare i risultati favorevoli dei precedenti studi sulla diagnosi precoce del tumore polmonare mediante TC in una popolazione a rischio, nel giugno del 2000 è stato lanciato uno studio pilota per testare il valore della TC low-dose eseguita ogni anno, con o senza PET, e dei biomarcatori in una coorte di 1035 volontari ( $\geq 50$  età,  $\geq 20$  pacchi/anno). Il disegno innovativo dello studio considerava lesioni non sospette I noduli con dimensione inferiore ai 5 mm e utilizzava l'esame PET in sostituzione dell'agobiopsia per cutanea per la valutazione di noduli non calcificati con diametro superiore ai 7 mm dopo valutazione TC, semplificando il workup diagnostico e migliorando l'accuratezza della TC spirale nella valutazione dei noduli indeterminati. I risultati a 2 anni, pubblicati su Lancet nel 2003 (1-3), hanno mostrato buoni risultati, confermando la sicurezza della TC spirale e una elevata proporzione di resezioni complete (95%) e di tumori riscontrati in stadio I (77%).

Basandoci su questi risultati preliminari nel 2004 abbiamo lanciato uno studio randomizzato sulla diagnosi precoce del tumore polmonare mediante TC spirale, PET e biomarcatori in individui ad alto rischio. Il disegno dello studio aveva come obiettivo la riduzione della mortalità per tumore polmonare e la valutazione della frequenza ottimale con cui eseguire la TC de torace randomizzando i volontari in due braccia: programma ad elevata frequenza con TC spirale eseguita annualmente e programma a basse frequenza con TC spirale eseguita ogni due anni.

I risultati a sei anni dello studio pilota hanno rivelato un quadro differente con un aumento del numero di cancro in stadio avanzato a partire dal terzo anno e una

mancata evidenza di riduzione della mortalità per tumore polmonare nella popolazione sottoposta a screening.

Il tasso di mortalità è risultato essere sovrapponibile a quello riportato nei precedenti trials, in particolare è simile a quello riportato da Swensen nel 2005 (4-5). Questo dato è stato confermato dalla metanalisi condotta dal Memorial Sloan-Kettering Cancer Center sui tre studi a singolo braccio: INT, Mayo Clinic e Lee Moffitt Cancer Center (6). Questa meta-analisi non osserva alcuna riduzione della mortalità per tumore polmonare. La TC annuale aumenta di 3-4 volte il numero di neoplasie diagnosticate ma non reduce l'incidenza di tumori in stadio avanzato e di malattia potenzialmente letale. Gli individui con diagnosi di tumore polmonare sono risultati in numero superiore rispetto agli attesi in assenza di un programma di screening e il numero di tumori in stadio avanzato o il numero di decessi è risultato uguale all'atteso (42 osservati vs. 33.4 e 38 osservati vs 38.8, rispettivamente). La meta-analisi pubblicata sul Journal of American Medical Association – JAMA nel 2007, ha avuto grande risonanza nella comunità scientifica e nell'opinione pubblica in quanto i risultati si discostano molto da quelli presentati nello studio condotto dall'International Early Action Lung Cancer Project (I-ELCAP) e pubblicati nel 2006 sul New England Journal of Medicine (7). Secondo questo studio la sopravvivenza a 10 anni dei soggetti con tumore in stadio I riscontrato mediante screening con TC del torace è dell'88%. Nello studio della Mayo clinic così come nel nostro studio pilota, la sopravvivenza dei tumori in stadio I è equivalente a quella dello studio I-ELCAP. La buona sopravvivenza di pochi individui non necessariamente si traduce però in un beneficio globale. Inoltre, l'end point dello studio I-ELCAP è la mortalità specifica per tumore polmonare piuttosto che la mortalità complessiva e i dati si riferiscono essenzialmente all'esame baseline e alla prima valutazione TC dopo il baseline; la maggior parte dei dati dopo il secondo anno

non sono valutabili. Il meccanismo responsabile dei dati discordanti tra la sopravvivenza dei tumori in stadio precoce riscontrati allo screening e la mancata variazione della mortalità è che i programmi di screening possono diagnosticare patologie in stadio precoce, a lenta crescita o patologie indolenti ma non possono prevenire patologie aggressive o tumori precocemente metastatici.

#### **Meta-analisi Mayo-Moffit-INT**

	#	tumori	decessi
total	3,246	144	38
Milano	977	36	7
Mayo	1,439	66	19
Moffit	830	42	12

<b>Tumori</b>	<b>attesi</b>	<b>osservati</b>	<b>p</b>	
totale		45	144	< 0.001
Resezione chirurgica	11	109		< 0.001
Tumori avanzati		33	42	0.14
Decessi		39	38	0.90

Il dibattito sull'efficacia o meno dello screening nel ridurre la mortalità per tumore polmonare dovrà attendere la conclusione degli studi randomizzati controllati attualmente in corso. Infatti gli studi che non prevedono questo disegno possono definirsi conclusi in tutto il mondo. Per questo motivo nel 2005 abbiamo lanciato uno studio randomizzato controllato chiamato Multicentric Italian Lung Detection trial (MILD), che combina un programma di prevenzione primaria con smoking cessation con la diagnosi precoce e la valutazione del rischio individuale di sviluppo di cancro polmonare.

#### **MULTICENTRIC ITALIAN LUNG DETECTION (MILD)**

##### Popolazione

Abbiamo reclutato 3700 soggetti ad alto rischio fumatori o ex fumatori che non abbiano smesso di fumare da più di dieci anni. I volontari, di età compresa tra i

49 e i 75 anni, non devono avere anamnesi positiva per patologia neoplastica, sono ammessi pazienti con tumori della pelle eccetto i melanomi oppure pazienti affetti da neoplasia con remissione totale da almeno 5 anni. Tutti i volontari hanno firmato un consenso informato per l'inserimento nello studio. Il Progetto MILD è uno studio multicentrico randomizzato controllato che prevede l'assegnazione casuale dei volontari a uno dei 2 gruppi previsti: un gruppo di controllo che effettua programma di prevenzione primaria attraverso la cessazione del fumo, visita pneumologica con esame spirometrico e prelievo del sangue per analisi di biologia molecolare, e un gruppo che associa la TC spirale periodica alla prevenzione primaria. Quest'ultimo gruppo è ulteriormente randomizzato in TC annuale verso TC ogni 2 anni.

## **Materiali e Metodi**

### Protocollo radiologico

Viene impiegata una apparecchiatura TC a 16 strati (Sensation 16 Siemens Medical solutions Germany). Il protocollo dell'indagine TC low dose viene riportato nella tabella sottostante.

<b>SENSATION 16 –SIEMENS</b>	
Posizione paziente	supino
Limite campo di scansione craniale	Apice polmone
Limite campo di scansione caudale	Limite inferiore diaframma (surreni)
Tecnica di scansione	Spirale
Kv	120
mA	20
T° di scansione (rotazione a 360°)	0.42 sec
Collimazione	0,75 mm x16 mm
Velocità di scorrimento del lettino	18 mm/rotazione
Campo di visione (FOV )	280-380 mm
Tempo acquisizione (valori medi )	8-10 sec
Set1 )Spessore effettivo/ Indice di ricostruzione	1 mm/1mm
Set2) Spessore effettivo/ Indice di ricostruzione	5 mm / 5mm
Dose effettiva equivalente	$0.017\text{mSv}\cdot\text{mGy}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \times 91\text{mGy}^{-1}$ =1.54mSv

Le immagini vengono analizzate con una Workstation dedicata, non utilizzata nella routine clinica (Leonardo Siemens), che dispone, tra l'altro, di un software

dedicato alla identificazione automatica dei noduli e alla loro valutazione volumetrica computerizzata (LungCare software Siemens). Le immagini, vengono archiviate in un server dedicato, che risponde alla normativa vigente per la sicurezza dei dati. Il protocollo non prevede l'impiego routinario della tecnica di "contrast enhancement" per la valutazione di noduli solidi. La lettura viene eseguita con valori di finestra omogenei: -650/1500-1600 per il parenchima e 25/350 per il mediastino. I risultati della TC vengono valutati su monitor ad alta definizione indipendentemente ed in doppio cieco da due radiologi.

### **Definizione noduli non calcifici (NNC) o indeterminati**

Un nodulo è un'opacità focale non-lineare della densità dei tessuti molli, di forma rotondeggiante, che può essere solido, semi-solido e non-solido. Un nodulo viene definito **parzialmente solido** se contiene aree di densità tale da oscurare il parenchima polmonare, mentre un nodulo viene definito **non-solido** (ground glass) se nessuna parte del parenchima è totalmente oscurato dalla lesione. Nell'ambito della distinzione tra parzialmente solido e non-solido, i vasi all'interno del nodulo non devono essere considerati come componente solida.

- Un Nodulo < 5 mm viene considerato Non Calcifico se appare uniformemente meno denso delle coste (visualizzato con la finestra per osso e per parenchima).
- Un Nodulo di 5-20 mm viene considerato Non Calcifico se le calcificazioni sono meno del 50%, se le calcificazioni non hanno la tipica distribuzione benigna (calcificazioni complete, centrali, lamellari, popcorn), e/o i suoi margini sono spiculati (almeno in qualche parte), se non hanno densità di tipo adiposo, broncogramma aereo o vasi convergenti, e di cui non è nota la cronicità.
- Un Nodulo > 20 mm viene sempre considerato Non Calcifico a meno che non sia calcifico completamente.

## **Definizione di Noduli benigni**

Lesioni che mostrano calcificazioni benigne, cioè complete, centrali, lamellari o a popcorn; valori densitometrici di tipo adiposo nel contesto del nodulo (suggestivi per amartoma), noduli noti per avere dimensioni stabili da almeno 12 mesi (cioè che non siano aumentati più del 20%).

In caso di **calcificazioni**, il nodulo può essere considerato benigno quando:

- il diametro è  $> 20$  mm ed il nodulo è completamente calcificato
- il diametro è  $< 20$  mm e le calcificazioni presentano uno dei tipici pattern benigni ed interessano almeno il 50% del nodulo

Valutazione dell'incremento dimensionale:

Mentre il criterio morfologico costituisce solo un elemento sussidiario, quello dimensionale deve essere considerato l'elemento centrale per l'algoritmo diagnostico dei noduli. La crescita di un nodulo, viene definita un aumento del diametro del nodulo pari ad almeno il 20 % o un incremento di oltre il 50% del volume. A questo riguardo particolare attenzione deve essere rivolta alla metodologia di valutazione delle dimensioni del nodulo. Le dimensioni dei noduli devono essere infatti determinate a monitor mediante il calibro elettronico misurando il diametro medio del nodulo (diametro minimo e massimo/2). Nel caso di noduli ovalari viene suggerito il calcolo del diametro medio della lunghezza e della larghezza. Viene raccomandato, se disponibili, l'impiego di software per la valutazione volumetrica dei noduli, che appaiono di particolare utilità per formazioni nodulari con morfologia irregolare. Costituisce inoltre evidenza di crescita del nodulo anche la trasformazione di un nodulo semi-solido in solido, pur mantenendo un diametro invariato o l'incremento di una componente solida nel contesto di un'area di ground glass.

ESAME TC BASALE

La TC viene considerata negativa se non rileva noduli solidi indeterminati di dimensioni  $\geq 5$  mm. I soggetti che rientrano in queste caratteristiche, non saranno oggetto di ulteriori indagini e andranno al successivo controllo TC secondo il braccio di randomizzazione previsto. La TC viene considerata positiva nel caso di riscontro di

- noduli solidi o parzialmente solidi di diametro  $\geq 5$  mm
- noduli non-solidi (ground glass opacity) con diametro  $\geq 8$  mm.

#### Indagini positive

1. Noduli solidi e parzialmente solidi fra 5 e 8 mm viene programmato controllo TC low dose a 3 mesi per valutazione dell'evoluzione volumetrica.
  - non incremento → si rinvia al controllo TC a bassa dose annuale
  - incremento → PET → positiva → biopsia
    - negativa → ulteriore controllo volumetrico TC a 3 mesi.
2. Noduli solidi e parzialmente solidi di dimensioni  $> 8$  mm eseguiranno PET
  - PET positiva → biopsia
  - PET negativa → ulteriore controllo volumetrico TC a 3 mesi (da valutare eventuale biopsia).
3. Nodulo non-solido (ground glass opacity) con diametro  $\geq 8$  mm. → ulteriore controllo volumetrico TC a 3 mesi. Per noduli dall'aspetto benigno (polmonite focale) o nel sospetto di infezione → antibiotici per 15 gg e controllo TC a 3 mesi. Se non c'è risoluzione o se risoluzione parziale → TC a 3 mesi; se si ha risoluzione completa i soggetti verranno nuovamente inseriti nel programma diagnostico dei due bracci di appartenenza.
4. Un numero di noduli superiori a 6 costituisce in genere un indizio di malattia granulomatosa del polmone, in particolare nel caso di noduli di piccole dimensioni. Comunque nel caso di riscontro di uno o più noduli di dimensioni  $>$

5 mm ci si comporta per questi ultimi con le stesse modalità dei noduli multipli inferiori al numero di 6.

### ESAME TC DI FOLLOW-UP

Nel corso di questi esami assume un particolare rilievo il confronto comparativo con l'indagine precedente ed in particolare la progressione dimensionale di noduli dimostrati precedentemente o variazioni delle caratteristiche densitometriche in particolare la comparsa di componenti solide in lesioni a vetro smerigliato.

Nel caso di noduli nuovo riscontro identificati ai controlli:

- 1) Noduli  $\leq 3$  mm  $\rightarrow$  TC low dose a 6 mesi:
- 2) Noduli singoli o multipli di dimensioni  $> 3$  mm ed  $< 5$  mm  $\rightarrow$  TC low dose a 3 mesi;
- 3) Noduli singoli o multipli di dimensioni  $> 5$  mm ed  $< 8$  mm. Ci sono due opzioni:
  - a. TC low dose a 3 mesi: se risoluzione completa  $\rightarrow$  rinvio al controllo annuale o biennale a bassa dose; se risoluzione parziale  $\rightarrow$  TC low dose a 6 mesi, se crescita  $\rightarrow$  PET  $\rightarrow$  se positiva  $\rightarrow$  biopsia
  - b. Antibiotici a largo spettro per 15 gg TC low dose a 3 mesi: se risoluzione completa  $\rightarrow$  TC low dose annuale o biennale; se parziale  $\rightarrow$  TC low dose a 3 mesi; se nessuna risoluzione e/o crescita  $\rightarrow$  PET  $\rightarrow$  se positiva  $\rightarrow$  biopsia
- 4) Noduli singoli o multipli di dimensioni  $> 8$  mm due opzioni:
  - a. PET  $\rightarrow$  positiva  $\rightarrow$  biopsia  
negativa  $\rightarrow$  controllo volumetrico TC a 3 mesi ( eventuale biopsia)
  - b. Antibiotici a largo spettro per 15 gg seguite da controllo TC a 3 mesi.

### **PROTOCOLLO SPIROMETRICO**

I test di funzionalità respiratoria sono eseguiti con un spirometro portatile KoKo collegato a un computer per l'analisi dei dati. Sono stati registrati i seguenti parametri [8]:

- Capacità vitale forzata (FVC). Misura la quantità di aria che può essere espirata con forza dopo una inspirazione profonda.
  - Volume espiratorio forzato (FEV). Misura la quantità di aria espirata in maniera forzata e può essere misurata dopo un secondo (FEV<sub>1</sub>).
  - Flusso espiratorio forzato 25%- 75%.
  - Picco di flusso espiratorio (PEF).
1. Una riduzione del FEV<sub>1</sub> si rifletterà su una riduzione del rapporto FEV<sub>1</sub>/FVC %, tipico di un quadro disfunzionale di tipo ostruttivo. Il valore minimo soglia per FEV<sub>1</sub>/FVC è circa 70-75% ma il valore esatto dipende anche dall'età del soggetto.
  2. Il rapporto FEV<sub>1</sub>/FVC% rimane normale o aumenta (> 80%) con una riduzione del FEV<sub>1</sub> e della FVC tipico delle patologie di tipo restrittivo.
  3. Una riduzione della FVC e del rapporto FEV<sub>1</sub>/FVC% rispecchia un quadro disfunzionale di tipo misto.

#### **Classificazione della severità della BPCO**

I	LIEVE	FEV <sub>1</sub> /FVC < 70%    FEV <sub>1</sub> = 80% del predetto
II	MODERATA	FEV <sub>1</sub> /FVC < 70%; 50% ≤ FEV <sub>1</sub> < 80% del predetto
III	SEVERA	FEV <sub>1</sub> /FVC < 70%; 30% ≤ FEV <sub>1</sub> < 50% del predetto
IV	ESTREMAMENTE SEVERA	FEV <sub>1</sub> /FVC < 70%; FEV <sub>1</sub> < 30% del predetto o FEV <sub>1</sub> < 50% del predetto con danni respiratori

#### **Smoking cessation**

Circa il 20% dei fumatori sviluppa una BPCO. Circa il 30% dei fumatori (> 10 pack/year) hanno una limitazione del flusso. Sono stati studiati molti metodi per indurre a smettere di fumare e i seguenti sono quelli più comunemente usati anche nel nostro trial MILD.

## **Counselling**

Le persone che hanno un breve colloquio con un medico specialista hanno una probabilità maggiore di rinunciare al fumo. Il modello del CHIEDERE, RACCOMANDARE, VALUTARE, AIUTARE ed ORGANIZZARE è stato creato per aiutare i professionisti con i loro pazienti fumatori. Il medico chiede al paziente le proprie abitudini tabagiche ad ogni appuntamento; raccomanda al paziente di smettere di fumare; valuta la motivazione del paziente a smettere; aiuta il paziente, fornisce materiale e suggerisce una terapia che sostituisca la nicotina; e programma le visite successive. Un numero superiore di persone smettono dopo un counselling rispetto a soggetti che seguono programmi fai da te. [9]

## **Trattamento farmacologico**

I vari trattamenti riescono a far smettere la gente di fumare. I sostituti di nicotina come la gomma, i cerotti, lo spray o l'inalatore del nicotina, antidepressivi come il bupropione o sostanze come la vareniclina, sono stati studiati ed approvati come i trattamenti che contribuiscono a far cessare di fumare la popolazione. E' più probabile che soggetti che usano un sostituto di nicotina riescano a smettere di fumare dopo 6 - 12 mesi rispetto a soggetti che usano un placebo o non utilizzano alcun farmaco.[9-13]

## **Protocollo di raccolta del sangue**

Durante la visita viene raccolto un campione d sangue di 30 ml che viene trasferito in una provetta Falcon (50 ml) contenente EDTA (300 µl EDTA 0.5 M pH 8). Vengono prelevate 5 aliquote da 1 ml di sangue intero che vengono congelate a  $-80^{\circ}\text{C}$ . I rimanenti 25 ml vengono usati per la separazione del plasma. Il plasma viene separato dalla frazione cellulata mediante due centrifugazioni a 2500 rpm per 10 min a  $4^{\circ}\text{C}$ . Il supernatante (plasma) è diviso in 9 aliquote da 1 ml per l'analisi genomica e proteomica, per la stima del rischio

individuale di cancro al polmone e per l'estrazione del DNA.

### **Analisi proteomica**

Recentemente ha suscitato grande attenzione l'utilizzo di un pannello di diversi biomarkers su sangue come alternativa all'utilizzo di un singolo biomarker per la diagnosi precoce di tumore. Le differenze di profili proteici tra soggetti con cancro e soggetti sani sono rilevate utilizzando algoritmi di estrazione dei dati. Più proteine come un pannello di biomarkers invece di una singola proteina sono impiegate in questo approccio. I profili proteici del plasma e del siero vengono analizzati principalmente con metodica SELDI che ha accorpato la metodica TOF alla spettrometria di massa (MS) [14]. Studi recenti hanno dimostrato che la SELDI-TOF è molto sensibile e specifica nel misurare pannelli di peptidomi. Il Peptidoma è la porzione del proteoma plasmatico a più basso peso molecolare (generalmente definito come peptidi inferiori a di 20000 Da) [15]. La determinazione del profilo delle proteine al SELDI-TOF-MS combina velocità, semplicità, riproducibilità e sensibilità, facendone una tecnologia molto potente. Abbiamo cercato di sfruttare queste caratteristiche nel progettare un nuovo programma diagnostico atto a determinare il profilo plasmatici di soggetti ad alto rischio di insorgenza di cancro al polmone. L'obiettivo di questo studio è la determinazione di specifiche alterazioni proteomiche plasmatiche che distinguono soggetti ad alto rischio con o senza cancro al polmone. Le caratteristiche qualitative e quantitative dei profili saranno correlate con la storia clinica (dati TC e spirometrici o presenza di altre malattie) per sviluppare statisticamente un classificatore che rifletta la presenza e/o il rischio individuale di cancro al polmone. Sono stati valutati diversi modelli Self-teaching, come per una rete neuronale, in grado di aumentare la riproducibilità dei risultati e migliorare le correlazioni. La TC ha una sensibilità estremamente alta ma una specificità bassa nei programmi di diagnosi precoce del tumore polmonare.

Quindi con lo scopo di sfruttare sia i vantaggi della TC spirale sia del profilo peptidomico sarebbe utile sviluppare un test di screening che abbia la specificità migliore. Altro obiettivo importante è quello realizzare un test sul profilo peptidomico che può rilevare una malattia pre-clinica con alta sensibilità. Per stabilire la sensibilità della valutazione del profilo individuale nella diagnosi precoce valuteremo anche il plasma di altri soggetti valutati in maniera longitudinale. I dati clinici ottenuti nei tre anni successivi di follow-up saranno utili per definire il rischio di tumore polmonare associato al diverso profilo peptidomico. Ulteriori studi di proteomica sul plasma sono condotti per studiare i componenti relativi alla risposta dell'ospite al tumore e alla risposta di fase acuta. Caratteristica della risposta di fase acuta [16] è l'aumento rapido della produzione di proteine come la amiloide A (SAA) e la proteina C reattiva (CRP), noi abbiamo focalizzato il nostro studio su queste proteine e sulle citochine pro-infiammatorie legate alla loro espressione [17]. Ci riferiamo a molti mediatori rilasciati dai macrofagi che hanno un ruolo importante nell'infiammazione, essendo coinvolti nella fase iniziale e nella persistenza del processo infiammatorio. IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, fattore attivante delle piastrine (PAF) e tumor necrosing factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) sono i markers rilasciati dai macrofagi che stimolano sia cellule infiammatorie sia la produzione di proteine di fase acute. Sulla base dei nostri studi preliminari, i cambiamenti dell'espressione di SAA e CRP possono essere studiati con SELDI-TOF-MS in parallelo con l'analisi peptidomica del plasma. L'espressione differente di SAA, CRP viene valutata statisticamente in rapporto all'espressione di citochine in ogni specifica condizione clinica per stabilire associazioni con un rischio più alto di cancro al polmone [18].

## **RISULTATI**

I soggetti registrati sono oltre 6000. Oltre 4000 sono i soggetti reclutati. Presso l'Istituto Nazionale Tumori abbiamo reclutato 3487 soggetti (1134 arruolati nel gruppo TC annuale, 1126 arruolati nel gruppo TC ogni due anni e 1227 arruolati nel gruppo di controllo). Abbiamo eseguito 2181 TC spirale low-dose spiral CT e 846 valutazioni nel gruppo di controllo. Abbiamo processato oltre 2900 prelievi ematici per un totale di 40.000 aliquote storate presso la banca tessuti del progetto MILD. Il range di età dei volontari è 49 –75 anni, 321 soggetti di età > 65 anni e 3166 di età <65 anni, 2368 (68%) sono maschi, il consumo medio di tabacco è di 25 sigarette al giorno da almeno 20 anni, circa il 27% sono ex-fumatori. Il numero totale di soggetti con almeno 1 nodulo al baseline è di 1311 (60%), 598 soggetti presentano un solo nodulo, 297 due noduli, 196 tre noduli e 220 più di tre noduli. Il numero totale di noduli è di 2369 suddivisi secondo lo schema riportato nella tabella sottostante.

<b>MILD INT</b>	Baseline ( 2181 )
Numero totale di noduli	2369
< 50 mm <sup>3</sup>	1876
50-250 mm <sup>3</sup>	424
>250 mm <sup>3</sup>	69

Abbiamo identificato 493 lesioni sospette che sono state monitorate con TC di follow-up in accordo con il protocollo radiologico. I casi di tumore polmonare diagnosticati sono 19. I soggetti che hanno eseguito esame PET sono 38, l'esame è risultato positivo in 16 casi dei tumori diagnosticati. L'uso selettivo della PET può risultare utile nel sostituire la biopsia con ago sottile per la diagnosi differenziale.

<b>MILD INT</b>	Baseline	Year 2
<b>PET</b>	<b>24</b>	<b>14</b>
True positive	8	8
True negative	14	6
False positive	1	0
False negative	1	0

L'esame PET combinato con un algoritmo semplificato di valutazione con TC è utile nel completare il work up diagnostico in pochi mesi. Il falso-negativo è un adenocarcinoma ben differenziato di 11 mm, con componente bronchiolo-alveolare. Un soggetto ha eseguito biopsia toracoscopica video-assistita per la biopsia di una lesione infiammatoria della pleura risultata captante alla PET. Abbiamo eseguito resezione completa in 15 casi di neoplasia polmonare. Otto tumori sono in stadio IA, uno in stadio IB, due in stadio IIIA, uno rispettivamente in stadio IIB e IIIB, e due casi in stadio IV. Sei casi sono spinocellulari, undici casi sono adenocarcinomi e uno è un tumore neuroendocrino a grandi cellule. In un caso non è stato possibile eseguire approccio chirurgico a causa di un importante deficit funzionale che ha richiesto trattamento radiante in prima battuta. Prima del trattamento definitivo abbiamo ottenuto diagnosi istologica di ogni lesione. La procedura standard utilizzata è la toracotomia di minima con risparmio dei piani muscolari seguita da lobectomia radicale e dissezione linfonodale.

## Bibliografia

1. Pastorino U, Bellomi M, Landoni C, De Fiori E, Arnaldi P, Picchio M, Pelosi G, Boyle P, Fazio F. Early lung-cancer detection with spiral CT and positron emission tomography in heavy smokers: 2-year results. *Lancet*. 2003 Aug 23;362(9384):593-7
2. Pastorino U. Early detection of lung cancer. *Respiration*. 2006;73(1):5-13.
3. Bria E, Ceribelli A, Trovo MG, Gelibter A, [Gigante M](#), Calabro E, Cuppone F, Cognetti F, Terzoli E, Pastorino U. Non-small cell lung cancer: early stages. *Ann Oncol*. 2006 Mar;17 Suppl 2:ii17-21.
4. Patz EF Jr, Swensen SJ, and Herndon JE II. Estimate of Lung Cancer Mortality From Low-Dose Spiral Computed Tomography Screening Trials: Implications for Current Mass Screening Recommendations. *J Clin Oncol* 22:2202-2206, 2004.
5. Swensen SJ, Jett JR, Hartman TE, Midthun DE, Mandrekar SJ, Hillman SL, Sykes AM, Aughenbaugh GL, Bungum AO, Allen KL, CT Screening for Lung Cancer: Five-year Prospective Experience 1. *Radiology* 2005; 235:259-265
6. Bach PB, Jett JR, Pastorino U, Tockman MS, Swensen SJ, Begg CB. Computed tomography screening and lung cancer outcomes. *JAMA*. Mar 7;297(9):953-61,2007
7. The International Early Lung Cancer Action Program Investigators. Survival of Patients with Stage I Lung Cancer Detected on CT Screening. *N Engl J Med* 2006;355:1763-71.
8. Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, Calverley P, Fukuchi Y, Jenkins C, Rodriguez-Roisin R, van Weel C, Zielinski J; Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Sep 15;176(6):532-55. Epub 2007 May 16
9. Rennard SI, Daughton DM. Smoking cessation.. *Chest* 2000;117: 360-364.
10. Smedslund G, Fisher KJ, Boles SM, Lichtenstein E. The effectiveness of workplace smoking cessation programmes: a meta-analysis of recent studies. *Tobacco Control* 2004; 13: 197-204.
11. Gonzales D, Rennard SI, Nides M, Oncken C, Azoulay S, Billing CB, Watsky EJ, Gong J, Williams KE, Reeves KR; Varenicline Phase 3 Study Group. Varenicline, an alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, vs sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2006 Jul 5;296(1):47-55.
12. Jorenby DE, Hays JT, Rigotti NA, Azoulay S, Watsky EJ, Williams KE, Billing CB, Gong J, Reeves KR; Varenicline Phase 3 Study Group. Efficacy of varenicline, an alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, vs placebo or sustained-release bupropion for smoking cessation: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2006 Jul 5;296(1):56-63. Erratum in: *JAMA*. 2006 Sep 20;296(11):1355.
13. Tonstad S, Tønnesen P, Hajek P, Williams KE, Billing CB, Reeves KR; Varenicline Phase 3 Study Group. Effect of maintenance therapy with varenicline on smoking cessation: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2006 Jul 5;296(1):64-71.
14. Merchant M, Weinberger SR. Recent advancements in surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry. *Electrophoresis*. 2000;21(6):1164-77.
15. Hortin GL. Proteomics: a new diagnostic frontier. *Clin Chem*. 2006;52(7):1223-37.
16. Normolle D *et al*. *Cancer informatics*. 2005;1(1): 25-31.
17. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*. (1999); 340:448-454.
18. Jensen LE, Whitehead AS. Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem. J*. (1998); 334:489-503.

## **Relazione tra danno respiratorio e patologie fumo-correlate in soggetti ad alto rischio sottoposti a TC spirale.**

### **Introduzione e Razionale dello studio**

Il fumo di tabacco è il principale fattore che causa danni a livello di funzionalità respiratoria. Infatti gli ossidanti del fumo di sigaretta sono responsabili del danno biologico cronico e degli insulti a livello del DNA, che predispongono all'insorgenza delle alterazioni patologiche associate alla Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO), nonché del cancro polmonare. Il rapporto fra il fumo, l'ostruzione del flusso aereo e i danni citogenetici è ben riconosciuto ma il loro grado di associazione è altamente variabile tra i fumatori. La suscettibilità al danno tissutale indotto dal fumo varia, infatti, da individuo a individuo e deriva da un'interazione fra l'ospite (per esempio predisposizione genetica, mancanza di  $\alpha_1$ -antitripsina (AAT), altri fattori genetici, predisposizione fenotipica) ed i fattori ambientali (per esempio il fumo di tabacco, polveri professionali e l'inquinamento atmosferico). Generalmente si ritiene che l'infiammazione cronica contribuisca al processo di carcinogenesi, ma pochi studi epidemiologici hanno esaminato le effettive correlazioni con il rischio di cancro polmonare o altre patologie respiratorie fumo-correlate. Sono diversi gli studi in cui si è evidenziata l'associazione tra l'ostruzione al flusso delle vie aeree e il cancro. Anche l'enfisema, come descritto in molti studi, incrementa il rischio relativo per tumore; si è inoltre evidenziato che nei pazienti candidati a chirurgia per riduzione volumetrica di bolle enfisematose, il riscontro di tumori polmonari è più elevato. Inoltre, si è evidenziato che il rischio per tumore incrementa con il diminuire del FEV<sub>1</sub>, ma che tale incremento non è lineare: infatti per esempio se il FEV<sub>1</sub> varia dal 100% al 90% il rischio incrementa del 30-60% [1-3].

Il nostro studio ha come obiettivo quello di chiarire se la risposta dell'ospite ai reattanti della fase acuta può essere utile al fine di distinguere i pazienti affetti da cancro polmonare o altre patologie fumo-correlate dagli individui sani. Di conseguenza, è ragionevole studiare se la predisposizione individuale allo sviluppo di patologie fumo-correlate così come le caratteristiche cliniche e patologiche di tali patologie, differisce in base al grado di alterazione della funzionalità respiratoria e del danno strutturale del parenchima polmonare.

Queste alterazioni sono bene evidenziabili mediante Tomografia Computerizzata (TC), esame che ha migliorato le conoscenze anatomo-patologiche delle malattie polmonari fumo correlate. Gli indici di enfisema rilevati con TC riflettono l'anatomia del polmone e rappresentano il modo migliore per valutarne la severità in vivo. In soggetti con enfisema polmonare l'alterazione dei parametri funzionali correla con l'estensione della patologia rilevata con esame TC, anche se solo parte della riduzione della funzionalità respiratoria è attribuibile al grado di estensione dell'enfisema. Lo studio si focalizza sulla quantificazione delle alterazioni morfologiche mediante TC del torace e sul loro potenziale ruolo nell'identificazione e valutazione di patologie fumo-correlate compreso il tumore polmonare. La fase successiva dello studio sarà infatti quella di valutare un'eventuale correlazione tra gli indici di enfisema polmonare e/o riduzione del FEV<sub>1</sub> e sviluppo di patologia neoplastica.

### **BRONCOPNEUMOPATIA CRONICA OSTRUTTIVA (BPCO)**

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) viene definita sul piano funzionale come una malattia caratterizzata da limitazione al flusso aereo non completamente reversibile; tale riduzione del flusso di solito è progressiva ed è associata ad una risposta infiammatoria polmonare. La BPCO comprende la bronchite cronica, l'enfisema e la malattia delle piccole vie aeree ed esclude l'asma. Pur essendo di fatto una BPCO, infatti, l'asma non condivide con i

diversi quadri di bronchite e con l' enfisema né i meccanismi patogenetici, né la storia naturale, né le strategie preventive e terapeutiche [4-6].

## **ENFISEMA POLMONARE**

L'American Thoracic Society (ATS) ha definito l'Enfisema Polmonare come “quella condizione morbosa del polmone caratterizzata da un anomalo e permanente aumento del contenuto aereo degli spazi distali al bronchiolo terminale associato a distruzione delle pareti alveolari, senza segni di fibrosi” macroscopicamente evidenziabile (Fig.1).

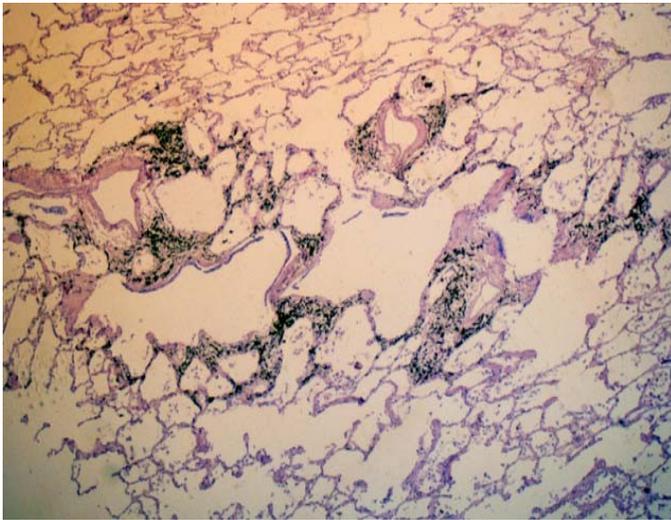


Fig.1: preparato istologico di polmone enfisematoso. Non più visibili i setti alveolari. Dilatazione patologica degli alveoli.

Quest'ultima affermazione che si riferisce all'assenza di fibrosi è in realtà controversa, poiché recenti studi hanno dimostrato che l'enfisema è spesso associato ad un aumento di collagene e quindi alla presenza di fibrosi.

Il processo di distruzione parenchimale, che costituisce la modificazione strutturale più importante dell'enfisema polmonare, permette la distinzione dell'enfisema, sulla base della regione dell'acino interessata dalla distruzione, in tre varianti anatomico-patologiche: centro-acinare, panacinare, parasettale. L'enfisema centro-acinare è caratterizzato da una distruzione parenchimale che si manifesta preferenzialmente nella porzione centrale del lobulo e che pertanto interessa i gli spazi alveolari prossimali che appaiono microscopicamente allargati e/o distrutti, circondati da dotti alveolari e sacchi alveolari relativamente intatti che occupano la periferia dell'acino. Poiché ciascun lobulo contiene molti acini ed essendo la malattia localizzata al centro del lobulo stesso, si rileva una distribuzione multifocale, non uniforme. Questa forma di enfisema è la più comune nei fumatori e si manifesta preferenzialmente ai lobi polmonari superiori, probabilmente perché sono quelli maggiormente ventilati.

La variante panacinare si manifesta con un coinvolgimento completo e contemporaneo di tutte le strutture dell'acino. Il danno non è multifocale come nella forma precedente ma è diffuso. La causa principale di tale alterazione non è l'inflammazione bronchiolare con la successiva stenosi, ma una distruzione non selettiva di tutto il parenchima dovuto ad un alterazione dei meccanismi proteasi/anti-proteasi, in particolare al deficit di alfa1-anti-tripsina [5]. Poiché il deficit è congenito, tale forma enfisematosa si presenta in giovane età e, a differenza della variante precedente, tende a coinvolgere i lobi inferiori del polmone. L'enfisema parasettale, definito anche distale, interessa selettivamente i dotti alveolari e i sacchi alveolari, ha una localizzazione solitamente focale e consiste in zone di enfisema situate alla periferia del polmone. In alcuni casi si può evidenziare un aumento di collagene, suggerendo che il meccanismo iniziale possa essere una infiammazione localizzata. E' importante sottolineare il fatto che dalla coalescenza di più alveoli distrutti e distesi si possono formare delle bolle che possono raggiungere anche grandi dimensioni.

### **Caratteristiche Radiografiche**

L'immagine radiografica dell'enfisema (Fig. 2) si caratterizza per la presenza di tre reperti [6]:

- campi polmonari ipertrasparenti o aree focali di ipertrasparenza, dovute alla distruzione del parenchima polmonare (di difficile identificazione).
- appiattimento del diaframma, aumento dello spazio retrosternale e sterno incurvato anteriormente, spazi intercostali slargati e orizzontali
- presenza di bolle

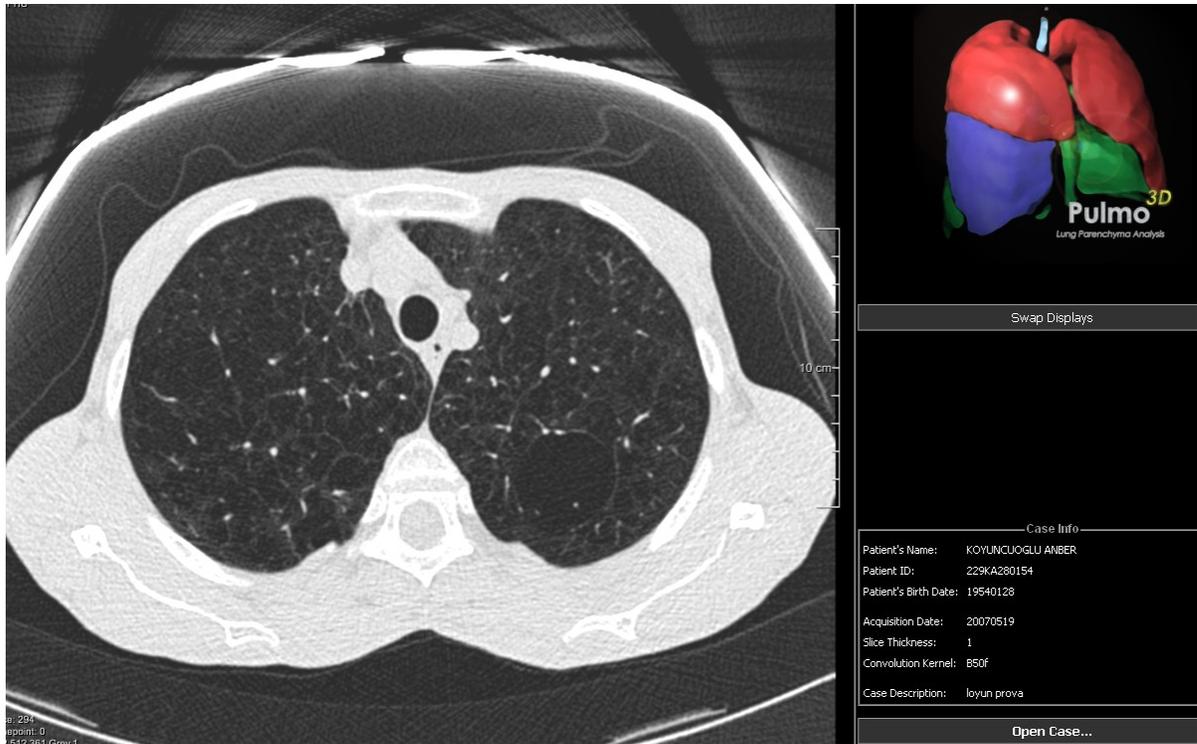


Fig. 2: Immagine TC di polmone enfisematoso

Nell'enfisema panlobulare, che interessa prevalentemente i lobi inferiori, i segni radiologici dell'iperinsufflazione sono particolarmente evidenti con l'eccezione delle forme lievi il cui quadro radiologico può essere negativo. Nelle forme più progredite si sovrappongono costantemente i quadri dell'ipertensione precapillare e del cuore polmonare. Nell'enfisema centrolobulare, tipico dei fumatori e che interessa prevalentemente i lobi superiori, i segni radiologici dell'iperinsufflazione sono variabili. Il disegno polmonare è caratteristicamente accentuato con vasi a contorni irregolari e sfumati (endoarterite obliterante e fibrosi perivasale). E' però accertato che l'accentuazione del disegno è in rapporto soprattutto a una dilatazione dei rami vasali (la componente broncogena avrebbe minore importanza). L'enfisema parasettale interessa selettivamente le zone adiacenti alla pleura parietale e mediastinica ed è responsabile della formazione di bolle che possono anche rompersi nello spazio pleurico dando origine ad un pneumotorace [7].

## **TECNICHE RADIOLOGICHE**

I pazienti con BPCO presentano specifici cambiamenti morfologici, a livello delle vie aeree centrali e periferiche, del parenchima e della vascolarizzazione polmonare, ben rappresentati dalla Tomografia Computerizzata (TC). La valutazione TC dell'enfisema riflette i corrispondenti dati anatomico-patologici e rappresenta la via migliore per stimare la severità di questa patologia in vivo.

In questa review verranno riassunti i seguenti temi:

- l'utilità della TC nella pratica clinica per lo studio della BPCO
- lo stato dell'arte attuale dei sistemi di quantificazione TC delle alterazioni associate alla BPCO
- il concetto di TC funzionale

La TC può evidenziare ciò che esami clinici e test di funzionalità polmonare non riescono a rilevare. Infatti un ampio spettro di patologie, che includono le bronchiectasie, alcuni tipi di bronchioliti ed anche pneumopatie interstiziali, sono associate all'ostruzione cronica delle vie aeree. La TC è in grado di rilevare anche l'evidenza dell'enfisema polmonare in fumatori asintomatici con funzionalità polmonare normale. Dati recenti hanno dimostrato che 13/18 soggetti "a rischio" (quello che un tempo era denominato stadio GOLD 0), presentavano enfisema alla TC. Alcuni studi hanno infatti "stressato" l'importanza dell'identificazione e della quantificazione dell'enfisema in pazienti con BPCO in quanto il fenotipo enfisematoso è associato ad una prognosi peggiore [8-9]. E' stata anche dimostrata la predittività della TC: Martinez e coll. [10] hanno dimostrato una sopravvivenza maggiore nei pazienti con severo enfisema ma limitato ai campi polmonari superiori rispetto a quelli nei quali i campi inferiori erano interessati dalla malattia. Inoltre i due principali substrati della BPCO, vale a dire l'enfisema e la malattia delle piccole vie aeree, hanno fenotipi distinti e relazioni differenti con il fumo di sigaretta, che non

trovano spesso correlazione con la durata e severità dell'esposizione, suggerendo una complessa interazione gene-ambiente. Le più innovative misurazioni fornite dalla TC (da qui la denominazione di TC quantitativa) permettono di distinguere enfisema e patologia delle vie aeree nei pazienti con BPCO. Inoltre la scansione TC ha ulteriori vantaggi nel determinare l'eterogeneità e la comorbidità nei pazienti con BPCO: è possibile distinguere tra un fenotipo di BPCO associato al fumo (tipicamente caratterizzata da enfisema centrolobulare) da quello causato dal deficit dell' inibitore dell'alfa1-proteinasi (alfa1-antitripsina), e magari dimostrandone anche la coesistenza.

### **Quantificazione TC dell'enfisema polmonare**

La TC viene usata per indagare l'enfisema e il suo grado di severità. La TC discrimina tra i vari tipi di enfisema (centrolobulare, parasettale e panlobulare) e l'impiego delle immagini ricostruite con algoritmo a minima intensità (minIP) permette di individuare anche le lesioni enfisematose di minori dimensioni. L'estensione della patologia può essere valutata essenzialmente utilizzando due sistemi: lo score visivo e l'analisi computerizzata [11-12]. Un inconveniente della stima visiva è la misurazione del "rumore" dovuta alla variazione inter-osservatore, bilanciata dalla velocità e dalla semplicità della tecnica. I metodi di quantificazione automatica si basano sull'analisi della densità. La cosiddetta "maschera di densità" rappresenta un punto fermo per l'accertamento e la quantificazione TC dell'enfisema polmonare. In pratica si applica alle immagini TC un intervallo di densità entro il quale tutti i voxels sono considerati enfisema. Utilizzando misurazioni morfometriche del tessuto polmonare, Bankier e coll. [13] dimostrarono che gli osservatori tendevano a sovrastimare l'estensione dell'enfisema alla TC e che invece le misurazioni ottenute con la TC densitometrica correlavano meglio con i riferimenti morfometrici. La "maschera di densità" è usata per caratterizzare l'enfisema lieve, moderato o

severo, viene usata per identificare i sottogruppi di pazienti che mostrano vantaggio dalla riduzione chirurgica del volume polmonare ed è anche predittiva della sopravvivenza nell'enfisema indotto da deficit di alfa1-antitripsina. La risoluzione raggiunta dagli apparecchi consente di acquisire volumi polmonari fornendo un'ulteriore miglioramento in termini di "precisione quantitativa". Adesso le analisi forniscono anche una stima regionale (lobare o segmentale) dei parametri esaminati, come il volume totale, il peso, la densità media, l'estensione ed anche il tipo di enfisema. La maschera di densità da sola non è però sufficiente per distinguere tra polmone malato o sano, soprattutto nei casi di patologia iniziale o mista (enfisema e intrappolamento aereo da bronchiolite). Inoltre la TC densiometrica può essere influenzata da diversi fattori (peso, età, grado d'inspirazione ecc.). Si evince quindi che né l'approccio TC visivo né quello densiometrico per la quantificazione dell'enfisema sono perfetti. Analisi più avanzate sembrano avvicinarsi ancora di più alla quantificazione perfetta [14-21].

### **Pazienti e Metodi**

Sono stati esaminati 500 soggetti (402 maschi, range di età : 49-78), fumatori o ex fumatori che non avessero smesso di fumare da più di dieci anni. I soggetti sono stati reclutati nell'ambito del Progetto MILD sulla diagnosi precoce del tumore polmonare condotto dall'Istituto Nazionale Tumori di Milano dal 2005. I soggetti sono stati suddivisi in tre gruppi in base ai dati spirometrici: 1) fumatori con broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), 2) fumatori con volume espiratorio forzato al secondo  $\leq 90\%$  del predetto (a rischio), 3) fumatori con volume espiratorio forzato al secondo  $\geq 90\%$  del predetto ("sani"). Tutti i soggetti dello studio hanno eseguito TC spirale low-dose 16-slice del torace (Sensation 16-Siemens Medical Solutions, Forheim, Germany), senza utilizzo del mezzo di contrasto. Le TC sono state esaminate mediante l'impiego di un

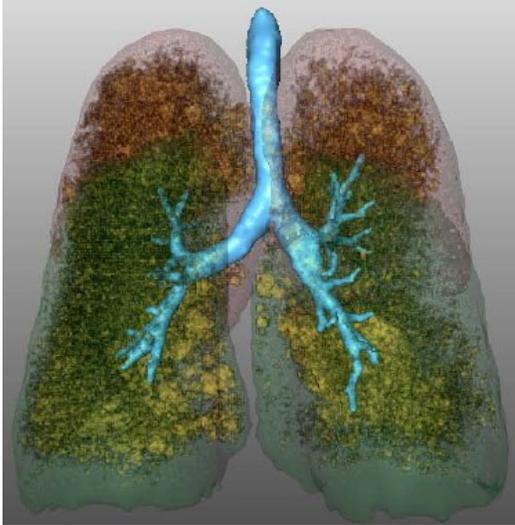
software (MeVisPulmo, Bremen) che consente un'analisi sia qualitativa che quantitativa dell'enfisema polmonare a livello lobare. Il software utilizzato permette la valutazione morfologica dell'enfisema, fornendo un parametro, il bulla index, in grado di stabilire il volume delle lesioni enfisematose riscontrate. Le dimensioni delle bolle sono state valutate come di grado C1 se di volume = a 0.002 ml, C2 se di volume = a 0.008 ml, C3 se di volume = a 0.065 ml e di grado C4 se di volume = a 0.12 ml. Oltre all'estensione e alla morfologia abbiamo analizzato la distribuzione delle lesioni enfisematose indicando come **Core** le localizzazioni centrali rispetto al piano assiale e **Peel** quelle distali rispetto al piano assiale.

### **Protocollo TC spirale**

I parametri TC sono stati i seguenti: 120 Kvp, 20 mAs, tempo di rotazione 0.42 s, collimazione 0.75 mm con ricostruzione a 1 mm. E' stato utilizzato un software che fornisce la densità polmonare e la volumetria. Utilizzando procedure automatiche abbiamo isolate il parenchima polmonare dal mediastino e dalla parete toracica applicando il range di -200 / -1024 HU. Successivamente il polmone è stato diviso in sub-range di densità con una soglia di -910/-1024 HU per l'enfisema e -200/-500 HU per lesioni tumorali, atelettasie o zone di perdita aerea non riferibili a tumori come accade per la fibrosi polmonare. Il computer ha calcolato il volume totale del parenchima polmonare espresso in cm<sup>3</sup> e successivamente la porzione di parenchima patologica. Due radiologi hanno valutato le immagini separatamente e i dati sono stati registrati al fine di valutare anche l'agreement tra gli osservatori. Le immagini sono state analizzate in una workstation dedicata (Leonardo Siemens) ed è stato utilizzato un software per la valutazione della crescita volumetrica (LungCare software Siemens).

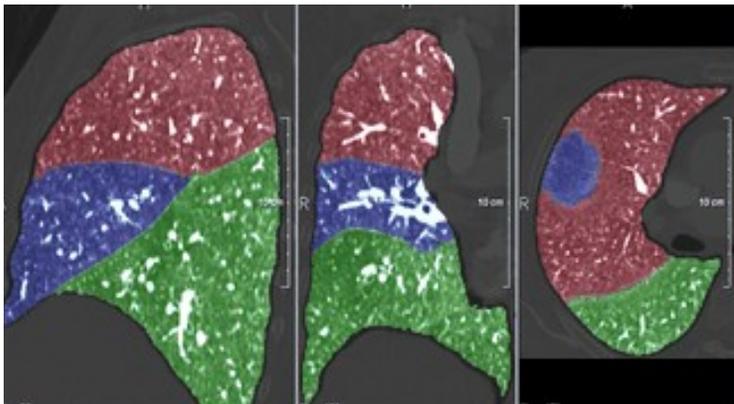
### **Quantificazione dell'enfisema mediante TC e software MeVisPulmo**

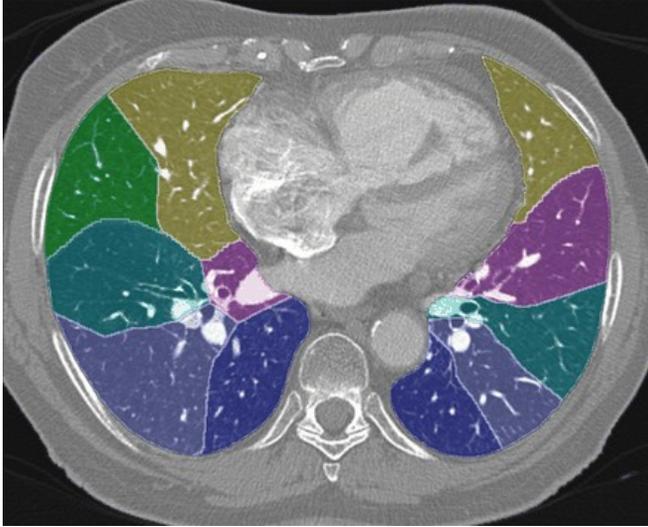
Le TC sono state esaminate mediante l'impiego di un software (MeVisPulmo, Bremen) che consente la misurazione totale del volume polmonare, la densità media, i pixel, il "bulla index" e l'analisi sia qualitativa che quantitativa dell'enfisema polmonare. La valutazione prevede la segmentazione delle vie aeree e del polmone. I dati processati vengono stored come immagini DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine). Alla fine della processazione dei dati i valori vengono visualizzati e trascritti in un report. Le regioni lobari vengono indicate con differenti colori nelle sezioni sagittali, coronali e assiali come indicato nella fig. 3-5.



**Figura 3.** Scansione TC 3D (postero-anteriore). Albero tracheobronchiale (azzurro), lobi inferiori (verde), lobi superiori (rosso). I valori di pixels  $\leq$  a -950 HU (giallo), identificano le zone di enfisema.

**Figura 4.** Uso dell'interfaccia MeVisPULMO durante segmentazione lobare. I lobi sono indicate da diversi colori nelle diverse sezioni. Sagittale (sinistra), coronale (centro), e assiale (destra).





**Figura 5.**  
Immagine assiale con ripartizione dei segmenti polmonari indicati con colori diversi.

## **Danno funzionale polmonare**

Poiché fumo e ostruzione delle vie aeree sono i principali fattori di rischio per l'insorgenza di BPCO, enfisema e cancro polmonare, la loro valutazione è una parte standard della valutazione del paziente. E' risaputo che il grado di infiammazione, fibrosi e di essudato nel lume delle piccolo vie aeree sono correlate con la riduzione del FEV<sub>1</sub> e del rapporto FEV<sub>1</sub>/FVC, e probabilmente con il declino accelerato del FEV<sub>1</sub>, caratteristico della BPCO. Nel nostro trial, i test di funzionalità respiratoria sono eseguiti con un spirometro portatile KoKo collegato a un computer per l'analisi dei dati. Sono stati registrati i seguenti parametri: Capacità vitale forzata (FVC). Volume espiratorio forzato un secondo (FEV<sub>1</sub>). Flusso espiratorio forzato 25%- 75%. Picco di flusso espiratorio (PEF).

## **Risultati**

Nel nostro studio abbiamo analizzato 500 soggetti forti fumatori di cui 62 affetti da BPCO, 126 a rischio (con FEV<sub>1</sub> ≤ 90%) e 312 sani. Dei soggetti affetti da BPCO 3 presentavano BPCO di grado estremamente severo (stadio IV linee GOLD), 21 presentavano BPCO di grado severo (stadio III linee guida GOLD), 34 di grado moderato (stadio II linee guida GOLD) e 4 presentavano BPCO di grado lieve (stadio I linee guida GOLD).

La percentuale media di estensione di enfisema nei soggetti affetti da BPCO non sembra correlare con il grado di gravità della patologia di base. Infatti, i soggetti in stadio I presentavano un percentuale media di enfisema del 15,9% (range 5.1-31.5%), i soggetti in stadio II presentavano un percentuale media di enfisema dell'11% (range 1.7-28.4%), i soggetti in stadio III presentavano un percentuale media di enfisema del 14.5% (range 0.1-29.5%) e i soggetti in stadio IV presentavano un percentuale media di enfisema del 17,76% (range 16.1-19.1%).

Nei 438 soggetti non affetti da BPCO l'estensione media di enfisema risultava significativamente più bassa rispetto ai soggetti affetti da BPCO con una percentuale media di 4.27% (range 0.1-38.2%). Nessuno di questi soggetti presentava una estensione di enfisema di grado severo.

Abbiamo eseguito un confronto delle medie dell'estensione percentuale dell'enfisema tra gruppo BPCO vs sani e gruppo a rischio vs sani. Abbiamo riscontrato sostanziali differenze di enfisema tra i tre gruppi: i fumatori con BPCO avevano un enfisema significativamente più esteso, distribuito più centralmente sul piano assiale e composto da "buchi" di più grosse dimensioni rispetto a quello riscontrato nei fumatori "sani". (Tabella 1)

Tabella 1 – Caratteristiche cliniche dei soggetti

	BPCO		a rischio con FEV1%<90		sani	
	media	sd	media	sd	media	sd
Overall total %	<b>12.91*</b>	7.65	<b>5.04**</b>	5.01	<b>3.94</b>	4.17
Overall core	<b>14.20*</b>	9.20	<b>5.03*</b>	5.33	<b>4.00</b>	4.64
Overall peel	<b>11.07*</b>	6.06	<b>5.02**</b>	4.79	<b>3.86</b>	3.69
Rel. Vol. C1	<b>0.88*</b>	0.54	<b>0.61</b>	0.60	<b>0.53</b>	0.58
Rel. Vol. C2	<b>1.25*</b>	0.46	<b>0.80</b>	0.65	<b>0.70</b>	0.65
Rel. Vol. C3	<b>0.24*</b>	0.10	<b>0.13</b>	0.12	<b>0.11</b>	0.13
Rel. Vol. C4	<b>9.98*</b>	8.15	<b>2.49**</b>	4.36	<b>1.51</b>	3.43
Core/PeelRatio	<b>1.25*</b>	0.40	<b>0.95</b>	0.34	<b>0.95</b>	0.35

\* rispetto alla media nel gruppo dei sani p-value<0.0001

\*\* rispetto alla media nel gruppo dei sani p-value<0.05

L'estensione media di enfisema nel gruppo BPCO risulta di 12.91 (*sd* 7.65) e nel gruppo a rischio 5.04 (*sd* 5.01), rispettivamente con una  $p < 0.0001$  e  $< 0.05$  rispetto alla media nel gruppo dei sani pari a 3.94 (*sd* 4.17).

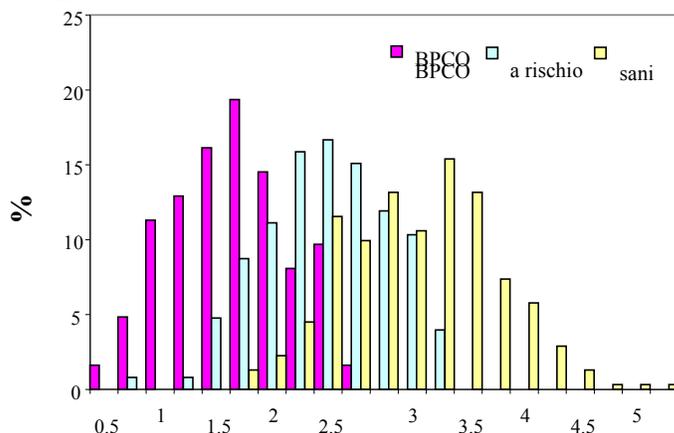
Per quanto riguarda il volume delle bolle riscontrate all'esame TC abbiamo riscontrato che il volume medio delle bolle di grado C4 nel gruppo BPCO risulta di 9.98 (*sd* 8.15) e nel gruppo a rischio di 2.49 (*sd* 4.36), rispettivamente con una  $p < 0.0001$  e  $< 0.05$  rispetto alla media nel gruppo dei sani pari a 1.51 (*sd* 3.43).

Nel gruppo BPCO abbiamo ottenuto un risultato statisticamente significativo anche per il volume di bolle C1, C2 e C3 con un  $p < 0.0001$  rispetto alla media nel gruppo dei sani. Abbiamo eseguito un confronto delle medie per quanto riguarda il rapporto Core/Peel tra gruppo BPCO vs sani e gruppo a rischio vs sani.

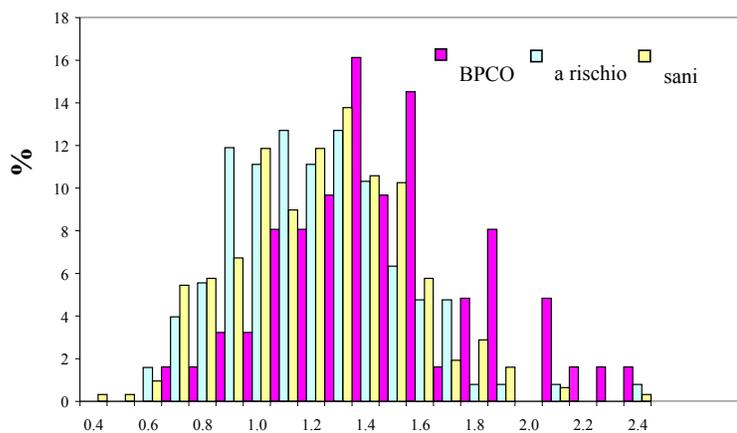
Il rapporto core/peel nel gruppo BPCO risultava pari a 1.25 (*sd* 0.40) con una  $p < 0.0001$  rispetto al rapporto medio nel gruppo dei sani pari a 0.95 (*sd* 0.35).

Non abbiamo invece riscontrato alcuna significatività statistica confrontando il rapporto core/peel dei soggetti a rischio vs il rapporto core/peel dei soggetti sani.

**Figure 3 – Distribuzione del FEV<sub>1</sub>% nei 62 soggetti con BPCO, nei 126 soggetti a rischio (FEV<sub>1</sub>%<90) e nei 312 soggetti sani.**



**Figura 4 – Distribuzione del rapporto core/peel ratio nei 62 soggetti con BPCO, nei 126 subjects a rischio (FEV<sub>1</sub>%<90) e nei 312 soggetti sani.**



Inoltre, abbiamo valutato le correlazioni esistenti tra parametri morfologici ottenuti mediante pulmomevis e i parametri funzionali utilizzando il coefficiente

di correlazione di Pearson ( $r$ ). Abbiamo riscontrato una significativa correlazione tra FEV<sub>1</sub>, Tiffenau e l'estensione dell'enfisema. Ulteriore correlazione è stata riscontrata tra il Core/Peel ratio, il Tiffeneau e l'estensione dell'enfisema. Anche il "bulla index" C1 correlava in maniera significativa con il Tiffeneau e l'estensione dell'enfisema, mentre i "bulla index" C2, C3 e C4 correlavano anche con il FEV<sub>1</sub> (Tabella 2 e 3).

Tab 2: correlazioni tra indici di funzionalità respiratoria ed estensione dell'enfisema.

Parametri funzionali	Estensione Enfisema	
	$r$	$p$
FEV <sub>1</sub>	-0.402	<0.0001
Tiffenau	-0.524	<0.0001

Tab 3: correlazioni tra indici TC e indici di funzionalità respiratoria.

Parametri TC	Tiffenau		FEV <sub>1</sub>		Estensione Enfisema	
	$r$	$p$	$r$	$p$	$r$	$p$
Core/Peel	-0.258	<0.0001			0.45	<0.0001
C1	-0.211	<0.0001			0.38	<0.0001
C2	-0.32	<0.0001	-0.2	<0.0001	0.63	<0.0001
C3	-0.36	<0.0001	-0.25	<0.0001	0.65	<0.0001
C4	-0.51	<0.0001	-0.42	<0.0001	0.96	<0.0001

Analizzando la distribuzione dei soggetti con BPCO vs i soggetti sani rispetto alle caratteristiche cliniche e i corrispondenti OR e intervalli di confidenza al 95% abbiamo riscontrato nei soggetti con BPCO un rischio maggiore di enfisema più esteso (odds ratio, OR=33.8 per il terzo vs il primo terzile), di bolle soprattutto di volume C4 (OR=54.9) e di un rapporto Core/Peel più elevato. Questi risultati sono stati riscontrati anche analizzando la distribuzione dei soggetti a rischio vs i soggetti sani ma con un minor potere discriminante tra i due gruppi (Tabella 3 e 4).

Tabella 3 – Distribuzione dei soggetti con BPCO e dei soggetti sani rispetto alle caratteristiche cliniche e

corrispondenti OR e intervalli di confidenza al 95%

	<b>BPCO</b>	<b>sani</b>	<b>OR (95%)*</b>	<b>OR (95%)**</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>		
<b>Overall total %</b>				
I terzile	20 (32.3)	277 (89.1)	1.00°	1.00°
II terzile	20 (32.3)	26 (8.4)	9.68 (4.53-20.7)	12.9 (5.35-31.3)
III terzile	22 (35.5)	8 (2.6)	29.3 (11.3-75.8)	33.8 (11.2- 102)
<b>Rel. Vol. C1</b>				
I terzile	18 (29.0)	195 (62.9)	1.00°	1.00°
II terzile	19 (30.6)	43 (13.9)	4.24 (2.01-8.95)	6.20 (2.61-14.7)
III terzile	25 (40.3)	72 (23.2)	3.38 (1.70-6.70)	6.83 (3.06-15.2)
<b>Rel. Vol. C2</b>				
I terzile	17 (27.4)	216 (69.7)	1.00°	1.00°
II terzile	23 (37.1)	54 (17.4)	4.86 (2.35-10.0)	5.66 (2.47-13.0)
III terzile	22 (35.5)	40 (12.9)	6.03 (2.85-12.7)	9.57 (4.09-22.4)
<b>Rel. Vol. C3</b>				
I terzile	11 (17.7)	219 (70.6)	1.00°	1.00°
II terzile	21 (33.9)	46 (14.8)	8.23 (3.57-19.0)	12.8 (4.92-33.1)
III terzile	30 (48.4)	45 (14.5)	12.3 (5.51-27.4)	15.5 (6.27-38.2)
<b>Rel. Vol. C4</b>				
I terzile	20 (32.3)	282 (91.0)	1.00°	1.00°
II terzile	20 (32.3)	23 (7.4)	11.2 (5.20-24.4)	15.7 (6.23-39.4)
III terzile	22 (35.5)	5 (1.6)	47.1 (15.7- 141)	54.9 (15.0- 200)
<b>Core/Peel Ratio</b>				
I terzile	20 (32.3)	194 (62.2)	1.00°	1.00°
II terzile	21 (33.9)	83 (26.6)	2.11 (1.06-4.19)	3.27 (1.52-7.04)
III terzile	21 (33.9)	35 (11.2)	4.60 (2.21-9.58)	6.45 (2.75-15.1)

I terzili sono calcolati rispetto alla distribuzione dei soggetti con BPCO

° categoria di riferimento

\* aggiustato per sesso e età

\*\* aggiustato per sesso, età, bmi, tosse, anni fumo, sigarette

**Tabella 4 – Distribuzione dei soggetti a rischio (con FEV<sub>1</sub>%<90) e dei soggetti sani rispetto alle caratteristiche cliniche e corrispondenti OR e intervalli di confidenza al 95%**

	<b>a rischio</b>	<b>sani</b>	<b>OR (95%)*</b>	<b>OR (95%)**</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>		
<b>Overall total %</b>				
I terzile	41 (32.5)	114 (36.7)	1.00°	1.00°
II terzile	42 (33.3)	134 (43.1)	0.87 (0.53-1.45)	0.94 (0.56-1.59)
III terzile	43 (34.1)	63 (20.3)	1.89 (1.09-3.28)	2.19 (1.22-3.93)
<b>Rel. Vol. C1</b>				
I terzile	38 (30.4)	115 (37.1)	1.00°	1.00°
II terzile	40 (32.0)	89 (28.7)	1.43 (0.84-2.43)	1.31 (0.76-2.27)
III terzile	47 (37.6)	106 (34.2)	1.36 (0.82-2.26)	1.49 (0.88-2.52)
<b>Rel. Vol.C2</b>				
I terzile	27 (21.6)	103 (33.2)	1.00°	1.00°
II terzile	55 (44.0)	126 (40.6)	1.67 (0.98-2.85)	1.65 (0.95-2.86)
III terzile	43 (34.4)	81 (26.1)	2.10 (1.17-3.76)	2.31 (1.26-4.23)
<b>Rel. Vol. C3</b>				
I terzile	41 (32.8)	132 (42.6)	1.00°	1.00°
II terzile	34 (27.2)	87 (28.1)	1.27 (0.74-2.17)	1.25 (0.72-2.17)
III terzile	50 (40.0)	91 (29.4)	1.83 (1.09-3.06)	1.96 (1.13-3.37)
<b>Rel. Vol. C4</b>				
I terzile	34 (27.2)	106 (34.2)	1.00°	1.00°
II terzile	47 (37.6)	137 (44.2)	1.09 (0.65-1.82)	1.09 (0.64-1.87)
III terzile	44 (35.2)	67 (21.6)	2.11 (1.20-3.73)	2.29 (1.25-4.18)
<b>Core/Peel Ratio</b>				
I terzile	41 (32.5)	90 (28.8)	1.00°	1.00°
II terzile	43 (34.1)	109 (34.9)	0.83 (0.49-1.38)	0.89 (0.52-1.52)
III terzile	42 (33.3)	113 (36.2)	0.76 (0.45-1.29)	0.85 (0.48-1.50)

I terzili sono calcolati rispetto alla distribuzione dei soggetti a rischio

° categoria di riferimento

\* aggiustato per sesso e età

\*\* aggiustato per sesso, età, bmi, tosse, anni fumo, sigarette

## Discussione

Anche se i criteri diagnostici delle Linee GOLD attualmente non prevedono l'impiego della TC [4] nella valutazione dei pazienti, un numero sempre maggiore di lavori scientifici attesta che la TC può giocare un ruolo chiave per la comprensione dei meccanismi fisio-patologici della BPCO. È utile, infatti, disporre di un metodo obiettivo per valutare la distribuzione regionale dell'enfisema poiché può influenzare la mortalità dei pazienti e la valutazione della distribuzione dei cluster è utile nel rivelare la progressione delle lesioni a carico del parenchima polmonare.

Nessuno studio ha analizzato finora il ruolo delle variazioni morfologiche dell'enfisema e i cambiamenti nella sua distribuzione regionale in soggetti a rischio sottoposti a un programma di screening. Il nostro studio dimostra che l'ostruzione al flusso delle vie aeree in soggetti sottoposti a programma di screening è correlato con diverse caratteristiche morfologiche identificate alla TC. La correlazione tra estensione totale dell'enfisema e la severità dell'ostruzione al flusso aereo è ben riconosciuta. Tuttavia molti soggetti con ostruzione a carico delle vie respiratorie, misurata con prove funzionali, presentano un enfisema apparentemente limitato alla TC [11, 22-31]. Altri studi non hanno dimostrato un rapporto diretto fra distruzione della parete alveolare e la severità dell'ostruzione al flusso aereo [32-35], suggerendo che l'estensione dell'enfisema non sia l'unica anomalia morfologica che causa l'ostruzione del flusso.

Questo studio si differenzia per diversi aspetti da quelli già presenti in letteratura che hanno valutato la correlazione tra danno morfologico e alterazione dei parametri funzionali. È il primo studio ad utilizzare in maniera sistematica un software automatico, sensibile e avanzato, per l'analisi dell'enfisema in una popolazione sottoposta a screening per tumore polmonare. Gli studi precedenti, infatti, si basano sull'individuazione dell'enfisema mediante score visivo che,

pur correlandosi bene con i dati funzionali, si limita all'analisi di sole tre fette del parenchima e non di tutto il volume polmonare come abbiamo effettuato nel nostro studio. Gli studi precedenti hanno comunque concluso che lo score visivo correla bene con i dati funzionali quanto quello automatico ma bisogna tenere in considerazione che questi studi hanno come popolazione soggetti con enfisema di grado moderato severo, alterazioni morfologiche che l'occhio di un radiologo esperto riesce a cogliere bene. La popolazione oggetto del nostro studio, invece, è costituita prevalentemente da fumatori senza BPCO e siamo riusciti a dimostrare come un esame TC può rivelare la presenza di enfisema polmonare anche in fumatori asintomatici senza alcuna anomalia alle prove di funzionalità respiratoria. La valutazione ottenuta con il Mevis permette un'analisi (lobare o segmentale) appropriata dei parametri TC del parenchima polmonare: volume totale, densità media, indice pixel e un tipo di enfisema [36].

Questo studio enfatizza il ruolo della riduzione del FEV<sub>1</sub> nell'insorgenza di progressive alterazioni morfologiche. Infatti, nel nostro studio abbiamo riscontrato come la percentuale di estensione di enfisema aumenti in relazione al grado di compromissione funzionale. Inoltre, abbiamo riscontrato come la distribuzione delle alterazioni morfologiche manifesti una progressione dalle regioni periferiche del parenchima verso le regioni centrali in relazione al danno funzionale e come a diversi tipi di alterazioni funzionali corrispondano diversi fenotipi di enfisema. La fenotipizzazione dei soggetti con alterazioni morfologiche rilevate mediante TC risulta essere molto utile in quanto è possibile rivelare ciò che gli esami clinici e le prove di funzionalità respiratoria spesso non possono. Infatti, la valutazione funzionale non può sempre distinguere tra anomalie dovute all'enfisema da quelle dovute a malattie delle vie aeree. La capacità di separare la componente aerea da quella parenchimale può risultare utile nell'applicazione delle terapie specifiche destinate a prevenire o

migliorare il rimodellamento delle vie aeree o la distruzione parenchimale. Risultati recenti precisano inoltre come sia importante identificare e misurare l'enfisema in pazienti con BPCO poiché il fenotipo enfisematoso è associato con una malattia più severa [8-9]. Inoltre è stato evidenziato che la distribuzione TC dell'enfisema è in grado di predire la mortalità, con una migliore sopravvivenza nei pazienti con enfisema più esteso nelle regioni superiori rispetto alle zone più basse del polmone [10]. La TC contribuisce a distinguere malattie che causano ostruzione al flusso aereo e può svelare le forme meno comuni di patologie polmonari ostruttive, che spesso non sono diagnosticate in maniera adeguata. Una definizione migliore della patologia di base è cruciale per ridurre la variabilità della risposta terapeutica nei pazienti con BPCO.

Questa discussione si riferisce ai dati preliminari sui primi 500 soggetti sottoposti a screening di cui abbiamo analizzato in maniera quantitativa e qualitativa l'esame TC del torace. Questi dati ci dimostrano che un esame TC può differenziare morfologicamente diverse popolazioni di fumatori, suggerendo un suo impiego anche per identificare soggetti a rischio maggiore di sviluppare patologie fumo-correlate. Studi recenti infatti hanno dimostrato una forte associazione tra alterazioni morfologiche diagnosticate alla TC e aumento del rischio di sviluppo di cancro polmonare anche in soggetti senza limitazione funzionale. Il disegno definitivo dello studio prevede il confronto tra tre diverse popolazioni (soggetti sottoposti a screening senza cancro, soggetti con tumore screening-detected e soggetti con tumore non screening-detected) con l'obiettivo di valutare se le alterazioni morfologiche e la riduzione della funzionalità respiratoria siano fattori di rischio per lo sviluppo di cancro polmonare e se esista un particolare valore cut-off a cui corrisponda un incremento decisivo del rischio di insorgenza di patologia neoplastica polmonare [1-3].

#### **Bibliografia**

1. Kuller LH. Relation of forced expiratory volume in one second (FEV1) to lung cancer mortality in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol* 1990 132(2):265-74
2. Wassawa-Kintu S. Relationship between reduced forced expiratory volume in one second and the risk of lung cancer: a systemic review and meta-analysis. *Thorax* 2005; 60:570-575
3. Mannino DM. Low lung function and incident lung cancer in the United States: data From the First national Health and Nutrition Examination Survey follow-up. *Arch Intern Med* 2003 23;163(12):1475-80
4. Lopez AD, Shibuya K, Rao C, Mathers CD, Hansell AL, Held LS, et al. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections. *Eur Respir J* 2006;27(2):397-412.
5. Luisetti M, E' ancora valido il concetto dello squilibrio Proteasi/Antiproteasi nella patogenesi dell'Enfisema Polmonare? *Chest ed. Italiana* 2002; 4:1-2.
6. Webb W, Muller N, Naidich D: HRTC of the lung 71-192, Lippincott, Philadelphia, 2001
7. Webb WR. Radiology of obstructive pulmonary disease. *AJR* 1997; 169: 637-47.
8. Boschetto P, Miniati M, Miotto D, Braccioni F, De Rosa E, Bononi I, Papi A, Sietta M, Fabbri LM, Mapp CE. 2003. Predominant emphysema phenotype in chronic obstructive pulmonary. *Eur.Respir.J.*, 21: 450-454.
9. Boschetto P, Quintavalle S, Zeni E, Leprotti S, Potena A, Ballerin L, Papi A, Palladini G, Luisetti M, Annovazzi L, Iadarola P, De Rosa E, Fabbri LM, Mapp CE. Association between markers of emphysema and more severe chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2006, 61: 1037-1042.
10. Martinez FJ, Foster G, Curtis JL, Criner G, Weinmann G, Fishman A, DeCamp MM, Benditt J, Sciruba F, Make B, Mohsenifar Z, Diaz P, Hoffman E, Wise R; NETT Research Group. Predictors of mortality in patients with emphysema and severe airflow obstruction. *Am.J.Respir.Crit Care Med* 2006, 173: 1326-1334.
11. Muller NL. "Density Mask": an objective method to quantitate emphysema using computed tomography. *Chest* 1988; 94: 782-7.
12. Goldin JG. Quantitative CT of the lung. *Radiol Clin North Am* 2002; 40(1): 145-62.
13. Bankier AA, De Maertelaer V, Keyzer C, Gevenois PA. Pulmonary emphysema: subjective visual grading versus objective quantification with macroscopic morphometry and thin-section CT densitometry. *Radiology* 1999, 211: 851-858.
14. Muller NL, Staples CA, Miller RR, Abboud RT. "Density mask". An objective method to quantitate emphysema using computed tomography. *Chest* 1988, 94: 782-787.
15. Nakano Y, Muro S, Sakai H, Hirai T, Chin K, Tsukino M, Nishimura K, Itoh H, Paré PD, Hogg JC, Mishima M. Computed tomographic measurements of airway dimensions and emphysema in smokers. Correlation with lung function. *Am.J.Respir.Crit Care Med* 2000,162: 1102-1108.
16. Newell JD Jr, Hogg, JC, Snider GL 2004. Report of a workshop: quantitative computed tomography scanning in longitudinal studies of emphysema. *Eur.Respir.J.*, 23: 769-775.
17. O'Brien C, Guest PJ, Hill SL, Stockley RA. Physiological and radiological characterisation of patients diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease in primary care. *Thorax* 2000, 55: 635-642.
18. Orlandi I, Moroni C, Camiciottoli G, Bartolucci M, Pistolesi M, Villari N, Mascalchi M. Chronic obstructive pulmonary disease: thinsection CT measurement of airway wall thickness and lung attenuation. *Radiology* 2005, 234: 604-610.
19. Patel B, Make B, Coxson HO, Muller NL, Pillai S, Anderson W, Silverman E, Lomas D.. Airway and parenchymal disease in chronic obstructive pulmonary disease are distinct phenotypes. *Pro Am Thorac Soc* 2006, 3: 533.

20. Remy-Jardin M, Edme JL, Boulenguez C, Mastora I, Sobaszek A. Longitudinal follow-up study of smoker's lung with thin-section CT in correlation with pulmonary function tests. *Radiology* 2002, 222: 261-270.
21. Zompatori M, Fasano L, Mazzoli M, Sciascia N, Cavina M, Pacilli AM, Paioli D. Spiral CT evaluation of pulmonary emphysema using a low-dose technique. *Radiol.Med* 2002, vol. 104: 13-24.
22. Berger P, Laurent F, Begueret H, Perot V, Rouiller R, Raheison C, Molimard M, Marthan R, Tunon-de-Lara JM. Structure and function of small airways in smokers: relationship between air trapping at CT and airway inflammation. *Radiology* 2003, 228: 85-94.
23. Copley SJ, Wells AU, Muller NL, Rubens MB, Hollings NP, Cleverley JR, Milne DG, Hansell DM. Thin-section CT in obstructive pulmonary disease: discriminatory value. *Radiology* 2002, 223: 812-819.
24. de Jong PA, Muller NL, Paré PD, Coxson HO. Computed tomographic imaging of the airways: relationship to structure and function. *Eur Respi .J* 2005, 26: 140-152.
25. Desai SR, Hansell DM, Walker A, MacDonald SL, Chabat F, Wells AU. Quantification of emphysema: a composite physiologic index derived from CT estimation of disease extent *Eur Radiol* 2006, 29.
26. Gurney JW, Jones KK, Robbins RA, Gossman GL, Nelson KJ, Daughton D, Spurzem JR, Rennard SI. Regional distribution of emphysema: correlation of high-resolution CT with pulmonary function tests in unselected smokers. *Radiology* 1992, 183: 457-463.
27. Hasegawa M, Nasuhara Y, Onodera Y, Makita H, Nagai K, Fuke S, Ito Y, Betsuyaku T, Nishimura M. Airflow limitation and airway dimensions in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2006, 173: 1309-1315.
28. Hoffman EA, Simon BA, McLennan G. 2006. State of the Art. A structural and functional assessment of the lung via multidetector-row computed tomography: phenotyping chronic obstructive pulmonary disease. *Proc.Am.Thorac.Soc.*, 3: 519-532.
29. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott WM, Buzatu L, Cherniack RM, Rogers RM, Sciurba FC, Coxson HO, Paré PD. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N.Engl.J.Med* 2004, 350: 2645-2653.
30. Kitaguchi Y, Fujimoto K, Kubo K, Honda T.. Characteristics of COPD phenotypes classified according to the findings of HRCT. *Respir Med* 2006, 100: 1742-1752.
31. Kuwano K, Matsuba K, Ikeda T, Murakami J, Araki A, Nishitani H, Ishida T, Yasumoto K, Shigematsu N. The diagnosis of mild emphysema. Correlation of computed tomography and pathology scores". *Am Rev Respir Dis* 1990, 141: 169-178.
32. Grenier PA. Detection of altered lung physiology. *Eur Radiol* 2005, 15: 42-47.
33. Grenier PA, Beigelman-Aubry C, Fetita C, Prêteux F, Brauner MW, Lenoir S. New frontiers in CT imaging of airway disease. *Eur Radiol* 2002, 12: 1022-1044.
34. Aziz ZA, Wells AU, Desai SR, Ellis SM, Walker AE, MacDonald S, Hansell DM.. Functional impairment in emphysema: contribution of airway abnormalities and distribution of parenchymal disease. *AJR Am J Roentgenol* 2005, 185: 1509-1515.
35. Kuhnigk JM, Dicken V, Zidowitz S, Bornemann L, Kuemmerlen B, Krass S, Peitgen HO, Yuval S, Jend HH, Rau WS, Achenbach T. Informatics in radiology (infoRAD): new tools for computer assistance in thoracic CT. Part 1. Functional analysis of lungs, lung lobes, and bronchopulmonary segments". *Radiographics* 2005, 25: 525-536.