



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

**PREVALENZA DEL
COINVOLGIMENTO DELLE PICCOLE
VIE AEREE IN PAZIENTI CON GRAFT-
VERSUS-HOST DISEASE
POLMONARE: STUDIO CROSS-
SECTIONAL**

Relatore: Chiar.mo
Prof.ssa Martina Bonifazi

Tesi di Laurea di:
Alessandro Ferretti

A.A. 2022/2023

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	2
1.1 Piccole vie aeree: ruolo fisiopatologico e metodiche di valutazione	4
1.1.1 Ruolo fisiopatologico	4
1.1.2 Metodiche di valutazione	7
1.2 Trapianto di cellule staminali emopoietiche (HSCT).....	14
1.3 GVHD (Graft-versus-Host Disease o Malattia del Trapianto contro l’Ospite).....	16
1.3.1 GVHD Acuta.....	16
1.3.2 GVHD Cronica	18
1.4 BOS (Bronchiolite Obliterante)	20
1.4.1 Epidemiologia	20
1.4.2 Segni e sintomi.....	21
1.4.3 Fattori di rischio	22
1.4.4 Diagnosi	23
1.4.5 Trattamento	29
1.5 COP (Polmonite Criptogenica Organizzativa)	31
1.5.1 Epidemiologia	31
1.5.2 Fattori di rischio	32
1.5.3 Segni e sintomi.....	32
1.5.4 Diagnosi	33
1.5.5 Trattamento	38
2. SCOPO DELLO STUDIO	40
3. MATERIALI E METODI	41
3.1 Disegno di studio	41
3.2 Endpoints	41
3.3 Popolazione in studio.....	41
3.4 Pneumotocografo	42
3.5 Procedure	42
3.6 Scheda raccolta dati (CRF)	43
3.7 Valutazione degli outcomes.....	44
4. RISULTATI	45
5. DISCUSSIONE.....	49
5.1 Limiti dello studio.....	50
6. CONCLUSIONI.....	52
BIBLIOGRAFIA	53

1. INTRODUZIONE

La principale complicanza del trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (HSCT) è la GVHD (Graft-Versus-Host Disease), patologia che può interessare molteplici distretti e può essere divisa a sua volta in acuta e cronica, in base sia a differenze temporali, che a vere e proprie differenze patogenetiche e cliniche. [1]

In questo studio sperimentale ci si è focalizzati sul coinvolgimento polmonare della GVHD che si manifesta prevalentemente attraverso BOS (Bronchiolite Obliterante) e COP (Polmonite Criptogenica Organizzativa), patologie che coinvolgono principalmente le piccole vie aeree. Dal punto di vista pneumologico è utile quantificare l'interessamento polmonare tramite esami strumentali e funzionali che permettano di fare diagnosi e stadiare la malattia. Gli esami che permettono una diagnosi funzionale sono principalmente tre: la spirometria, la pletismografia e il calcolo della DLCO (capacità di diffusione del monossido di carbonio). Mentre esami di imaging cardine del processo diagnostico sono la radiografia del torace e la TC ad alta risoluzione (HRCT). La conferma istopatologica attraverso prelievo bioptico rimane il gold standard per la diagnosi e può essere coadiuvato dal lavaggio broncoalveolare che permette di escludere infezioni e di eseguire un'analisi citologica. A causa della sua invasività viene comunque eseguito raramente, basando quindi la diagnosi su esami funzionali e di imaging. [2] Come verrà spiegato successivamente, una nuova tecnica risulta utile come metodica di valutazione delle vie aeree periferiche: l'oscillometria ad impulsi (IOS).

Risulta semplice capire l'importanza di una corretta valutazione non solo delle vie aeree prossimali, e quindi di maggior calibro, bensì anche di quelle più distali e di più piccolo calibro le quali sono il principale sito coinvolto in corso di GVHD. Si è valutata quindi, con uno studio sperimentale, l'efficacia dell'oscillometria nella quantificazione del danno che riguarda le piccole vie aeree in questi pazienti e la si è confrontata con la spirometria.

1.1 Piccole vie aeree: ruolo fisiopatologico e metodiche di valutazione

1.1.1 Ruolo fisiopatologico

Le “piccole vie aeree” o “vie aeree periferiche” sono usualmente definite come le vie aeree con un diametro inferiore ai 2 mm e sprovviste di supporto cartilagineo. Corrispondono ai bronchioli respiratori dopo la settima-ottava generazione bronchiale e, oltre ad essere essenziali per il trasporto e lo scambio di ossigeno e anidride carbonica, giocano un ruolo rilevante nella patologie polmonari e nella meccanica respiratoria. [3]

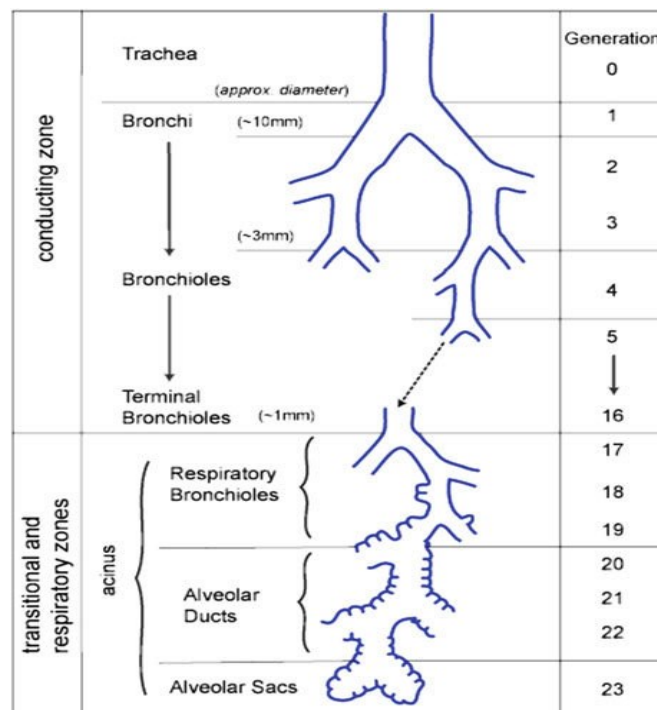


Figura 1. Generazioni delle vie aeree.

La zona di maggiore resistenza che incontra il flusso respiratorio è a livello delle vie aeree superiori (naso, faringe, laringe e trachea) in quanto è questa la parte che ha la minore superficie di sezione totale (basti pensare che il naso contribuisce al 50% della resistenza, tantè che quando bisogna ventilare molto, è più facile respirare con la bocca che con il naso perché questo offre maggiore resistenza); mentre le piccole vie aeree contribuiscono molto poco (10-15%) alla resistenza totale poiché hanno una maggiore superficie di sezione, come si evince dal grafico sottostante.

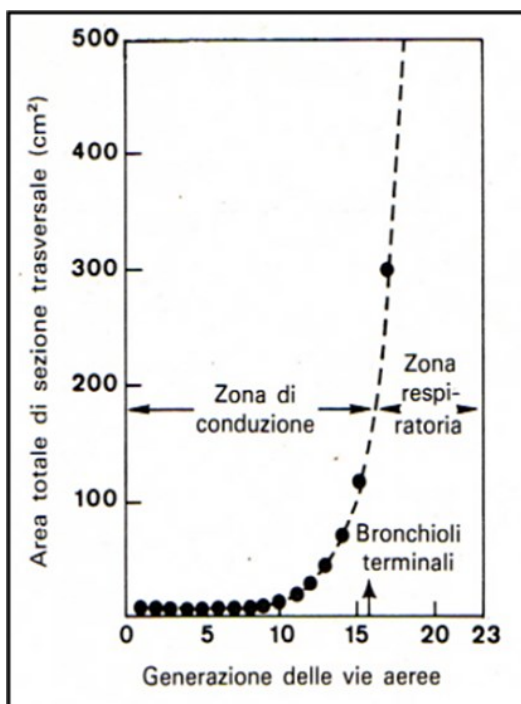


Figura 2. Confronto tra generazione delle vie aeree e area totale di sezione trasversale.

L'interesse clinico per le piccole vie aeree sta crescendo e dato il loro frequente coinvolgimento in corso di patologie polmonari è necessario avere delle metodiche di

valutazione delle stesse affidabili e sensibili. Essendo responsabili di circa il 10% delle resistenze totali, anche se una metà di tutte le piccole vie aeree venisse completamente ostruito, raddoppiando quindi la loro resistenza complessiva, le vie aeree maggiori resterebbero intatte e la loro resistenza rimarrebbe invariata e per questo, anche duplicando quel 10% delle piccole vie, aumenterebbero di solo un 10% le resistenze totali. È quindi facile intuire che sarebbe difficile rilevare un coinvolgimento delle piccole vie utilizzando le comuni prove di funzionalità polmonare. [4]

E' stato difatti stimato come sia necessaria un'ostruzione di circa il 75% dell'area globale delle piccole vie perché si verificano delle modificazioni apprezzabili ai routinari test di funzionalità respiratoria. Di conseguenza, un interessamento evidente di queste zone del polmone potrebbe passare inosservato nelle prime fasi di malattia.

Le metodiche di imaging comunemente usate nella pratica clinica, come la tomografia computerizzata (TC) visualizzano con difficoltà questa parte dell'albero respiratorio, avendo le scansioni TC volumetriche sottili una risoluzione spaziale massima di 0.75 – 1.25 mm che consentono la visione fino alle vie aeree di medio calibro. Per quanto invece concerne la valutazione istopatologica, valutabile su prelievo biotico, spesso necessaria per la diagnosi definitiva di alcune patologie, si dimostra poco sensibile se effettuata per via transbronchiale e necessita l'esecuzione di una biopsia chirurgica che risulta essere più invasiva.

Per questo, la difficoltà nel reperire elementi caratterizzanti il ruolo fisiopatologico delle piccole vie aeree, ne giustifica l'appellativo di "silent zone" del polmone. Nonostante ciò, tale distretto sembra essere particolarmente vulnerabile, in quanto

molte particelle ed agenti infettivi si depositano facilmente nelle vie più periferiche ed il lume ristretto che le caratterizza le rende più suscettibili ad una completa ostruzione rispetto alle vie aeree di calibro maggiore. Questo spiega perché l'interessamento delle vie aeree si verifica sia isolatamente sia nel contesto di molte patologie che coinvolgono anche vie aeree superiori ed alveoli e perchè le piccole vie rappresentano il principale sito di ostruzione al flusso aereo nella maggior parte delle entità nosologiche.

1.1.2 Metodiche di valutazione

Parametri funzionali

Le prove di funzionalità respiratoria standard, ed in particolare il volume espiratorio massimo nel primo secondo (VEMS o FEV1), riflettono in maniera più sensibile il grado di ostruzione a livello delle vie aeree centrali. La misurazione del coinvolgimento delle piccole vie aeree può essere effettuato in maniera indiretta tramite le prove di funzionalità respiratoria standard (FEF 25-75%, analisi delle curve flusso/volume e volume/tempo, volumetria statica mediante pletismografia corporea, misura della capacità di diffusione alveolo-capillare del monossido di carbonio). In particolare, il FEF 25-75% è gravato da una certa variabilità intra-soggetto, per cui è generalmente considerato poco affidabile e riproducibile nella valutazione sistematica delle piccole vie aeree.

Come accennato, può essere misurata la DLCO (capacità di diffusione del monossido di carbonio) campionando il monossido di carbonio (CO) nell'esalato di fine espirazione dopo averne fatto inspirare al paziente una piccola quantità e aver

trattenuto il respiro e quindi espirato. La DLCO è stata anche correlata alla sopravvivenza nei pazienti affetti da coinvolgimento polmonare di GVHD. [5]

Più recentemente, è stata introdotta nella pratica clinica una metodologia di misurazione delle vie aeree periferiche più accurata e diretta che si ottiene tramite l'utilizzo dell'oscillometria ad impulsi (IOS). Tale strumento, già ampiamente utilizzato in ambito pediatrico per la diagnosi di asma bronchiale, in quanto non richiedente la collaborazione da parte del paziente, è in grado di misurare la resistenza e la reattanza delle vie aeree, distinguendo tra centrali e periferiche. Pertanto, l'estensione dell'applicazione dell'oscillometria anche in età adulta ha consentito di ottenere ulteriori informazioni in merito al ruolo delle piccole vie in diversi setting clinici.

Attraverso l'oscillometria si va ad imporre un flusso di onde sonore che incontrano il flusso respiratorio del paziente, ciò determina una variazione del rapporto pressione/flusso che permette di valutare le proprietà meccaniche del polmone. Il parametro funzionale più importante è l'impedenza respiratoria che rappresenta la somma di tutte le forze che si oppongono alla forza generata dall'oscillometro. Questa componente può essere scissa in due ulteriori elementi che vengono misurati mediante tale metodica: la resistenza delle vie respiratorie e la reattanza.

La resistenza viene valutata a basse frequenze (5Hz) per calcolare la resistenza globale (R5), dato che le onde a bassa frequenza riescono a raggiungere anche le vie aeree più distali. Mentre le misurazioni effettuate a frequenze di circa 20 Hz approssimano le resistenze delle vie aeree centrali (R20) e per questo la differenza tra R5 ed R20 (R5-20) è considerato un indice riferibile alla resistenza opposta dalle

piccole vie aeree e la cui unità di misura è il kPa/L/s. In particolare, quindi, i parametri ritenuti suggestivi di alterazione funzionale delle vie aeree distali sono considerati $\Delta R5-R20$ e AX. [6]

Per AX si fa riferimento all'area sotto la curva di reattanza che risulta essere probabilmente il parametro più sensibile per valutare l'elasticità polmonare, infatti reattanza è sinonimo di compliance e riflette l'energia che genera il ritorno elastico del polmone.

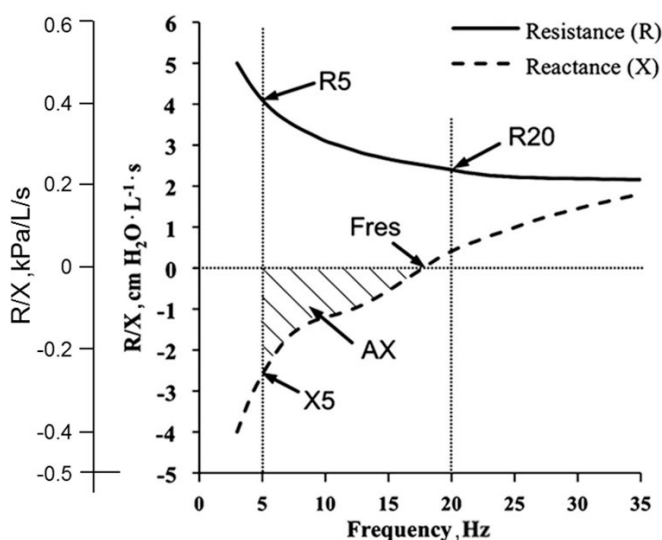


Figura 3. Illustrazione schematica degli indici oscillometrici. [7], [8]

L'oscillometria è una metodica usata principalmente nei pazienti affetti da BPCO e da asma data la sua capacità di individuare sensibilmente variazioni della resistenza nelle vie aeree. È una metodica preferita nei pazienti geriatrici, pediatrici, in coloro i

quali hanno una debolezza dei muscoli respiratori o una ridotta funzionalità polmonare dato che necessita di una ridotta collaborazione medico-paziente.

Le uniche raccomandazioni sono l'utilizzo di un tappo stringi naso, una ventilazione a volume corrente per alcuni secondi e l'apposizione delle mani a sostegno delle guance al fine di non alterare l'impedenza respiratoria. È importante chiedere al paziente di stringere le labbra attorno al boccaglio in modo da non far uscire aria e di porre la lingua al di sotto di una sporgenza di plastica (mouthpiece nella figura sottostante) che permette di ventilare correttamente. La misurazione verrà successivamente ripetuta dopo qualche secondo di pausa e il paziente, avendo respirato a volume corrente, non avrà nessun segno di affaticamento.

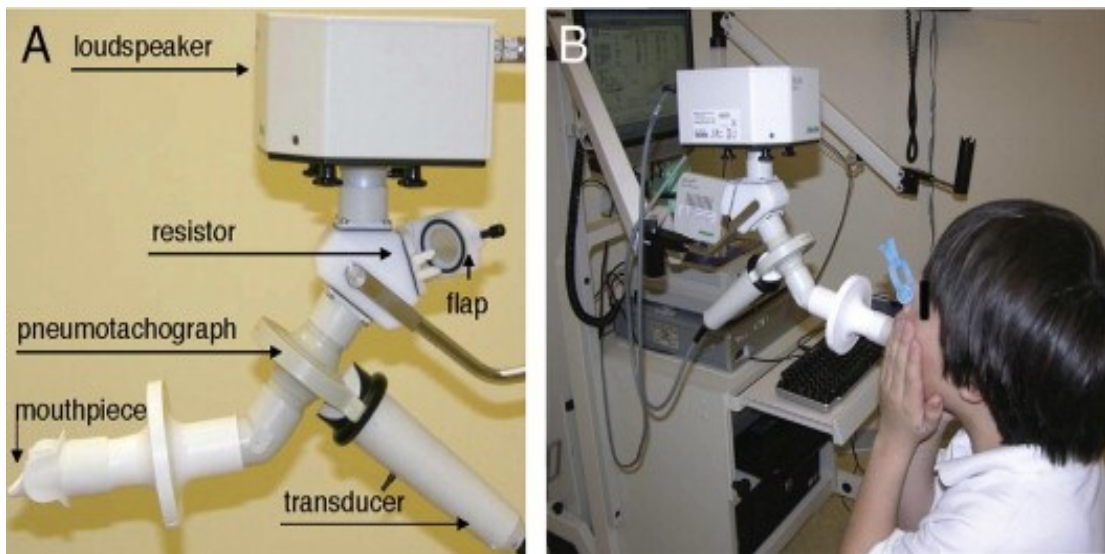


Figura 4. Schema di funzionamento dell'oscillometria ad impulsi. [9]

Aspetti radiologici

Finora nessun test convenzionale, tra quelli funzionali e radiologici, è riuscito a svolgere un ruolo nella determinazione di un possibile interessamento delle piccole vie aeree polmonari. L'unico test ben correlato con gli aspetti anatomopatologici e in grado di rilevare le caratteristiche di questo particolare distretto è risultato l'HRCT a sezioni sottili, da alcuni decenni ormai disponibile nella pratica clinica. Di norma, in assenza di patologie, le piccole vie aeree e nello specifico i bronchioli, terminali e respiratori, non sono visibili all'HRCT.

Segni diretti di interessamento delle piccole vie

In condizioni patologiche si può determinare un aumento della densità tissutale a livello della parete bronchiolare o all'interno del bronchiolo stesso. L'aumento della densità peribronchiolare genera così segni diretti TC di interessamento delle piccole vie aeree: noduli centrolobulari a ground-glass, noduli solidi e opacità lineari ad albero in fiore (tree in bud) (Fig.5A e 5B).

Segno diretto meno comune è la presenza di bronchiolectasie, ossia dilatazione bronchiolari generalmente associate a processi cronici fibrotici e più facilmente riconoscibili a livello del polmone subpleurico.

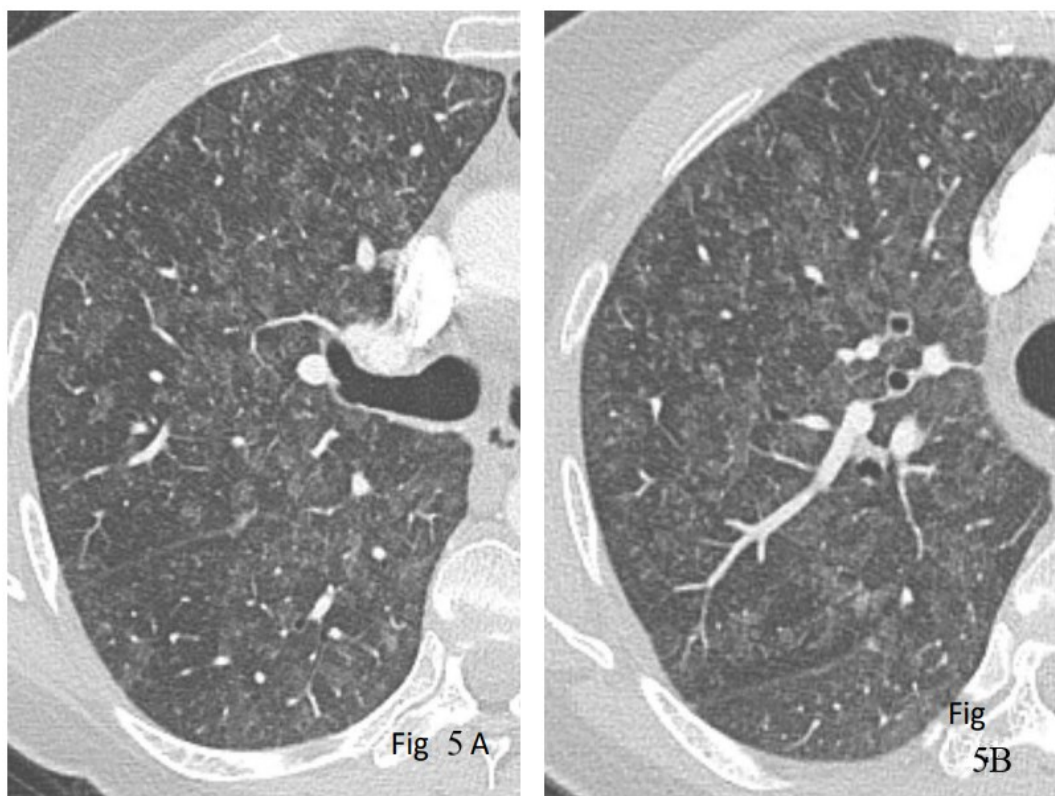


Figura 5A e 5B. Segni diretti di interessamento delle piccole vie aeree. Noduli ground-glass centro lobulari, noduli solidi e opacità a “tree in bud”.

Segni indiretti di interessamento delle piccole vie

È possibile riconoscere anche segni indiretti di patologie delle piccole vie aeree.

“Nelle patologie delle piccole vie aeree, con danno all’epitelio bronchiolare per flogosi, fibrosi od entrambi, e conseguente ostruzione, l’attenuazione a mosaico (mosaic attenuation) rappresenta, in modo indiretto, un segno di patologia; sono presenti aree di ridotta densità parenchimale (generalmente diffuse o con distribuzione a carta geografica), dovute alla redistribuzione del flusso in altre zone, e

con riduzione del calibro dei vasi polmonari, per vasocostrizione ipossica (quest'ultima secondaria alla ostruzione delle piccole vie respiratorie)" [10];

Infine, immagini di "intrappolamento d'aria" (air trapping), visualizzabili nelle scansioni di fine espirazione, possono essere anch'esse rappresentative di patologia bronchiolare.

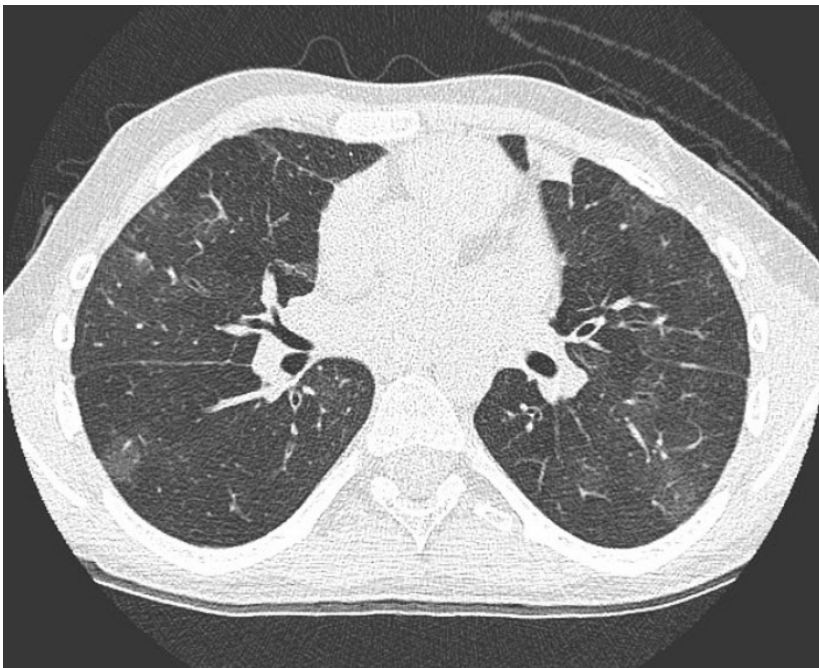


Figura 6. Segni indiretti di interessamento delle piccole vie. Rappresentazione di "mosaic attenuation" e "air trapping" in una HRCT in espirazione di paziente affetto da BOS.

1.2 Trapianto di cellule staminali emopoietiche (HSCT)

Il trapianto di cellule staminali emopoietiche è un trattamento salvavita ormai consolidato per molti pazienti con neoplasie ematologiche maligne. Questo può essere a sua volta allogenico, ovvero con un donatore e un ricevente diversi, o autologo, ovvero un tipo di trapianto in cui donatore e ricevente coincidono (attraverso la criopreservazione delle cellule prelevate). Ad oggi la patologia che più frequentemente porta a trapianto autologo è il mieloma multiplo, mentre per l'allogenico sono le leucemia acute.

Le fonti principali di cellule staminali emopoietiche (CSE) sono il midollo osseo (solo nel trapianto allogenico e generalmente prelevato da cresta iliaca posteriore), il sangue periferico (cellule CD34+ che circolano in numero ridotto ma possono essere mobilizzate dal midollo maggiormente tramite G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor e chemioterapia)) e il sangue cordonale dove le cellule CD34+ sono numerose ma il volume ottenuto è limitato. [11]

Ci sono notevoli differenze tra i due tipi di trapianto, di particolare importanza è il fatto che quello allogenico permette di ottenere più guarigioni e remissioni rispetto a quello autologo ma è anche gravato da maggiore morbilità e mortalità. [12] Risulta cruciale, in questo caso, la compatibilità tra HLA (human leukocyte antigen) del ricevente e del donatore, che rappresenta il principale requisito per la buona riuscita del trapianto. La compatibilità HLA viene definita sulla tipizzazione di 10 alleli e il donatore è definito compatibile se presenta concordanza di almeno 8 alleli su 10.

Il razionale alla base del trapianto autologo è principalmente la possibilità di aumentare in maniera esponenziale la dose di farmaci antitumorali, al fine di

bypassare l'inevitabile ed irreversibile tossicità ematologica che ne conseguirebbe. È facile intendere come, un requisito fondamentale a questo tipo di trattamento, sia la chemiosensibilità almeno parziale, della neoplasia ematologica in questione.

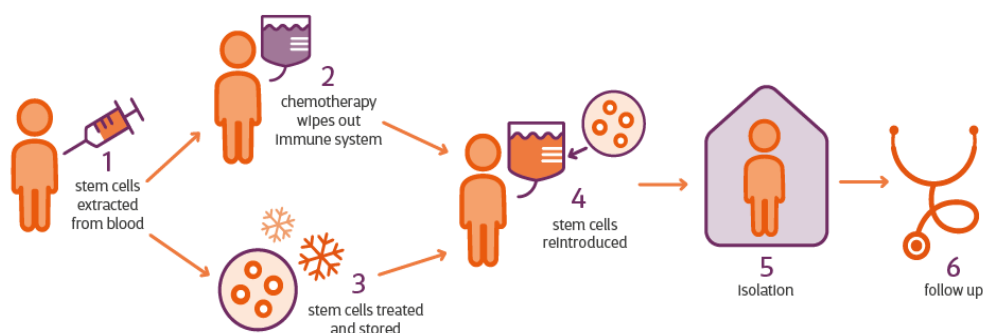


Figura 7. Schema di funzionamento del trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche.

Diverso è il concetto relativo a quello allogenico, dove i meccanismi sono molteplici e di cui il più rilevante è costituito dalla sostituzione di un midollo alterato con uno sano. Sarà quindi necessario fare spazio nelle nicchie del midollo osseo del ricevente con l'effetto mieloablativo del regime di condizionamento (che si è visto essere associato a un maggior rischio di sviluppo di GVHD [13]). Oltre a questo riveste un ruolo di primaria importanza anche il blocco della risposta immunitaria del ricevente, che tenderebbe a “rigettare” le cellule del donatore, attraverso l'effetto immunoablativo del condizionamento.

1.3 GVHD (Graft-versus-Host Disease o Malattia del Trapianto contro l'Ospite)

La GVHD è una patologia, complicanza del trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche, che si verifica quando le cellule T del donatore riconoscono come estranei i tessuti del ricevente. La forma acuta è la principale causa di NRM (non relapse mortality) precoce (entro 1 anno) e la forma cronica è la principale causa di mortalità tardiva e impatta anche molto sulla qualità di vita. Storicamente si è sempre distinta la forma acuta da quella cronica sulla base temporale (cut-off di 100 giorni) mentre oggi si propende di più a differenziarle sulla base del fatto che sono proprio due malattie differenti e che hanno differenti patogenesi. Ci sono infatti forme acute che insorgono dopo i 100 giorni e pazienti che pur avendo sviluppato la forma acuta non svilupperanno la forma cronica. [1]

1.3.1 GVHD Acuta

È una complicanza che interessa circa il 30-40 % dei pazienti che ricevono un trapianto allogenico di cui il 10-15 % sviluppa una forma severa.

I principali fattori di rischio sono il livello di compatibilità tra donatore e ricevente (maggior rischio se minor compatibilità) e il tipo di condizionamento. Infatti i condizionamenti mieloablativi si associano a maggior rischio rispetto a condizionamenti ad intensità ridotta. Altri importanti fattori di rischio sono rappresentati dal maggior numero di linfociti presenti nel graft i quali però come è noto da tempo hanno anche un effetto terapeutico contro la leucemia appunto definito "graft versus leukemia effect"[13], e dall'età avanzata del ricevente.

Nella fisiopatologia della aGVHD intervengono principalmente tre fattori: il danno tissutale indotto dal condizionamento (che causa un aumento del rilascio di citochine), la proliferazione e l'attivazione del linfociti T del donatore ed infine la fase effettrice caratterizzata da danno cellulare e massivo rilascio di citochine. [14]

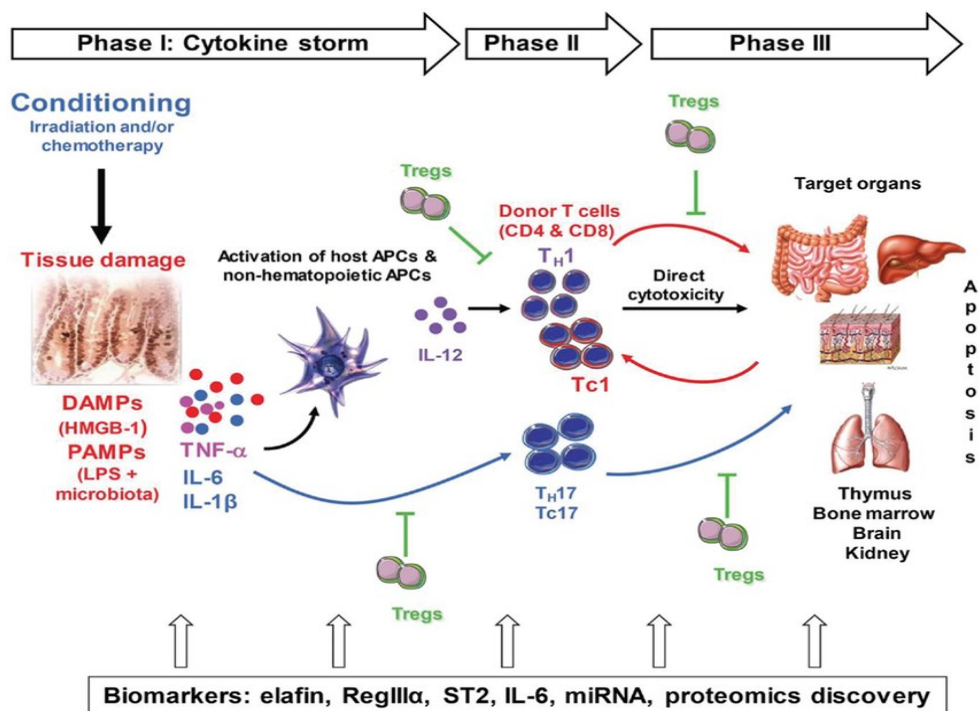


Figura 8. Fisiopatologia della GVHD acuta. [15]

Le principali manifestazioni cliniche sono di seguito riportate:

Organo coinvolto	Manifestazione clinica
Cute	Rash eritematoso e maculopapulare che coinvolge prima mani e piedi e può progredire ad interessare tutta la superficie cutanea. Nei casi gravi possono formarsi bolle fino alla desquamazione.
Fegato	Colestasi con o senza ittero. Alterazione dei livelli degli enzimi di colestasi.

Tratto gastrointestinale	Tratto superiore: anoressia, nausea e vomito. Tratto inferiore: diarrea solitamente verde e acquosa, raro l'ileo paralitico.
--------------------------	---

1.3.2 GVHD Cronica

L'incidenza di questa complicanza sembra essere più frequente rispetto alla GVHD acuta e interessa circa il 50% di pazienti trattati con trapianto allogenico. [1] I principali fattori di rischio sono rappresentati da: grado di compatibilità HLA tra donatore e ricevente, dall'età avanzata del donatore, dall'uso di TBI (total body irradiation) come terapia di condizionamento, dalla sorgente di CSE (maggior rischio se da sangue periferico) e il principale che risulta essere la storia di una pregressa GVHD acuta.

La fisiopatologia è caratterizzata da un'alterazione della tolleranza immunologica che coinvolge sia l'immunità innata che quella adattativa. Gli attori principali responsabili del danno d'organo sono i linfociti B della memoria, i quali mostrano una costitutiva iperattività nella produzione di allo/autoanticorpi responsabili della stimolazione fibroblastica, citochinica e macrofagica. È in particolar modo importante la produzione di TGF-beta (fattore di crescita trasformante-beta) e di PDGF (fattore di crescita derivante dalle piastrine) a cui consegue una spiccata attività fibroblastica che è responsabile dell'evoluzione fibrosante della malattia.

Le manifestazioni cliniche della GVHD cronica iniziano di solito da 3 mesi a 2 anni dopo il trapianto, ma in alcuni casi è possibile osservare un esordio più precoce, con andamento rapidamente progressivo. Nei casi tipici la diagnosi clinica non presenta

problemi, ma oltre alle manifestazioni classiche, la cGVHD può simulare pressochè qualsiasi malattia autoimmune, come ad esempio la Miastenia Gravis o le miositi. Come precedentemente accennato può colpire praticamente qualsiasi organo e quello più frequentemente coinvolto, come nel caso della forma acuta, risulta essere la cute. La tabella di seguito illustra le manifestazioni tipiche delle patologie divise per gradi di gravità secondo lo score cGVHD, dove grado 3 è il più severo.

	Score 1	Score 2	Score 3
Skin	<18% of BSA and no sclerotic features	19–50% of BSA or superficial sclerosis (able to pinch)	>50% of BSA or deep sclerosis (unable to pinch) or impaired mobility, ulceration or severe pruritus
Mouth	Mild signs/symptoms not limiting oral intake	Moderate signs/symptoms with partial limitation of oral intake	Severe signs/symptoms with major limitation of oral intake
Eyes	Mild dry-eye symptoms (using eye-drops $\leq 3 \times$ /day) or asymptomatic but signs of keratokonjunctivitis sicca	Moderate dry-eye symptoms partially affecting ADL (using eyedrops $\geq 3 \times$ /day or punctuate plugs), no visual impairment	Severe dry-eye symptoms significantly affecting ADL or unable to work or loss of vision
GI tract	Symptoms without significant weight loss	Symptoms with weight loss of 5–15%	Symptoms with weight loss >15%, requiring nutritional supplementation or need for esophageal dilatation
Liver	Bilirubin, AP, AST or ALAT $< 2 \times$ of normal upper limit	All $2-5 \times$ of normal upper limit or bilirubin > 3 mg/dl	All $\geq 5 \times$ of upper normal limit
Lungs ¹	Mild symptoms (SOB after 1 flight of steps); FEV ₁ 60–79% or LFS 2	Moderate symptoms (SOB after walking on flat ground); FEV ₁ 40–59% or LFS 6–9	Severe symptoms (SOB at rest or requiring supplement O ₂); FEV ₁ ≤ 39 or LFS 10–12
Joint/fascia	Mild tightness of arms or legs, mildly decreased ROM and not affecting ADL	At least 1 of the following: tightness of arms or legs, joint contractures, erythema due to fasciitis, moderately decreased ROM and mild-moderate limitation of ADL	Contractures with significantly decreased ROM and significant limitation of ADL
Genital tract	Mild signs/symptoms and no effect on coitus/minimal discomfort on examination	Moderate signs/symptoms and mild dyspareunia/discomfort with examination	Advanced signs (strictures, labial fusion or severe ulceration) and severe pain with coitus/inability to insert vaginal speculum

Figura 9. Manifestazioni e gravità della GVHD. [16] BSA = body surface area; ADL = activities of daily living; SOB = shortness of breath; ROM = range of motion; LFS = lung function score.

1.4 BOS (Bronchiolite Obliterante)

Il termine BOS è utilizzato per descrivere una patologia polmonare caratterizzata da un danno che fa seguito a un trapianto ematopoietico (GVHD-BOS) o polmonare (CLAD-BOS) in cui si verifica un declino persistente del FEV1 (forced expiratory volume in 1 second), con un pattern spirometrico tipicamente ostruttivo, che non è causato da nessun altro fattore identificabile e reversibile. [17] Si parla quindi di una reazione allo-immune che porta alla fine a una perdita di funzionalità respiratoria e al rimodellamento delle vie aeree con conseguente bronchiolite obliterante. È una patologia che sta avendo sempre maggiore attenzione clinica e ciò è dovuto al fatto che sempre più, negli ultimi anni, si sta ricorrendo a procedure trapiantologiche e questo porta a una maggiore casistica che permette, rispetto al passato, di avere dati e letteratura che possano migliorare la definizione diagnostica e terapeutica della malattia. [18]

È importante sottolineare che, mentre la COP potrebbe anche essere la manifestazione di una GVHD acuta, la BOS è già diagnostica di per sé di GVHD cronica. [19]

1.4.1 Epidemiologia

Risulta essere più comune la BOS dopo trapianto polmonare rispetto a quella dopo HSCT la quale sembra colpire circa il 2-10% dei riceventi entro 5 anni. Questa sembra presentarsi con maggior frequenza dopo i 100 giorni dal HSCT e prima dei 2 anni anche se sono documentati casi ad insorgenza tardiva anche dopo 5-6 anni.

La prevalenza complessiva sembra assestarsi intorno al 9% dei pazienti trapiantati con cellule staminali ematopoietiche e la diagnosi viene effettuata mediamente a distanza di 10 mesi dal trapianto con una riduzione media del FEV1 del 35,8% e dell'indice di Tiffenau (FEV1/FVC) del 17.5%. [20]

1.4.2 Segni e sintomi

I segni e i sintomi non sono specifici e questo potrebbe portare ad un ritardo diagnostico che avrebbe ripercussioni terapeutiche negative sull'outcome della patologia. Nel corteo sintomatologico della BOS, come di qualsiasi altra patologia a carattere ostruttivo polmonare, rientrano dispnea, tosse secca e wheezing. Tipicamente il decorso clinico è variabile, con esordio insidioso e deterioramento progressivo. Nella maggioranza dei casi il paziente, pur presentando alterazioni spirometriche, rimane, nelle fasi iniziali, asintomatico.

La comparsa di febbre e tosse produttiva potrebbe indicare una infezione polmonare, a cui, questi soggetti, vanno più frequentemente incontro rispetto alla popolazione generale e il cui corretto inquadramento è di fondamentale importanza considerando che la terapia di base della BOS è il trattamento immunosoppressivo che invece risulta relativamente controindicato in caso di quadro infettivo. [2]

Nel caso della GVHD-BOS la patologia è ad interesse sistemico quindi è chiaro che potrebbe esserci tutto un insieme di segni e sintomi che riguarda qualsiasi organo o tessuto colpito. Si ricorda che particolarmente frequente è l'interessamento cutaneo, oculare e del cavo orale.

1.4.3 Fattori di rischio

I fattori di rischio più importanti sono il rigetto acuto (soprattutto un rigetto acuto di grado A2 o superiore predispone allo sviluppo di una BOS di maggiore severità [21]), una bronchiolite linfocitica, una polmonite CMV correlata e altre polmoniti non dovute a CMV. Di notevole importanza, essendo una manifestazione tipica del GVHD polmonare, è sicuramente il mismatch HLA ovvero il grado di compatibilità tra HLA del donatore e quello del ricevente e tutti i fattori precedentemente menzionati al capitolo 1.3.2. [22]

Ulteriori fattori di rischio sono riconosciuti essere la presenza di reflusso gastro-esofageo, un aumento del numero dei neutrofili nel lavaggio bronco-alveolare e la presenza di una patologia autoimmunitaria sistemica. [17]

Anche una riduzione della funzione polmonare prima del trapianto e subito dopo di questo, la sieropositività per CMV, il sesso femminile del ricevente e una precedente storia di GVHD aumentano il rischio di sviluppare la BOS. [23]

Primary graft dysfunction (PGD)
Acute cellular rejection
Lymphocytic bronchiolitis
Humoral rejection (e.g. de novo anti-human leukocyte antigen antibodies)
Gastro-oesophageal reflux and microaspiration
Infection
 Viral
 Bacterial
 Fungal
Persistent neutrophil influx and sequestration (bronchoalveolar lavage neutrophilia)
Autoimmunity (collagen V sensitisation)

Figura 10. Fattori di rischio per lo sviluppo della BOS. [17]

Infine sembrano essere importanti predittori di sviluppo della malattia anche l'età del ricevente (maggiore età maggior rischio) e un minore rapporto FEV1/FVC prima del trapianto.

1.4.4 Diagnosi

La diagnosi di CLAD-BOS viene solitamente effettuata più rapidamente rispetto a quella di GVHD-BOS proprio perché nel trapianto polmonare c'è un monitoraggio stretto e continuo della funzionalità respiratoria mentre nel HSCT si guarda generalmente di più al comparto ematico. [24]. La BOS dopo HSCT avviene in corso di GVHD mentre la BOS secondaria a trapianto polmonare è limitata al graft (polmone trapiantato). Per questo motivo diagnosticare la BOS dopo HSCT risulta essere più difficile anche a causa del fatto che il declino della funzione polmonare potrebbe essere secondario all'interessamento extrapolmonare della GVHD come ad esempio la sclerosi o l'infiammazione della fascia o dei muscoli della parete toracica. [18] Nel processo diagnostico della BOS è necessario prestare attenzione anche alla storia anamnestica del paziente, indagando eventuali fattori di rischio relativi al paziente e al trapianto, e all'esame obiettivo del paziente.

È chiaro che poi la diagnosi si baserà su criteri spirometrici, esami strumentali e di imaging ma comunque la fase anamnestica e obiettiva dell'approccio al paziente rimane fondamentale.

Il gold standard nella diagnosi di BOS è la biopsia ma, a causa della sua invasività, spesso si ricorre a prove meno invasive che permettono lo stesso di fare diagnosi secondo i criteri NIH (US National Institute of Health) riportati di seguito.

GVHD-BOS [41]

FEV₁ <75% of predicted with ≥10% decline over <2 years; FEV₁ should not correct to >75% predicted with albuterol and absolute decline for corrected values should remain ≥10% over 2 years

FEV₁/vital capacity ratio of <0.7 or the fifth percentile of predicted⁺

Absence of respiratory tract infection documented with investigations and directed by clinical symptoms^f

One of the two supporting features of BOS: 1) evidence of air trapping on expiratory CT, or small airway thickening or bronchiectasis by high-resolution chest CT, or 2) evidence of air trapping by pulmonary function testing^{g,h}

Figura 11. Criteri diagnostici della US National Institutes of Health (NIH). [19]

Spirometria

Le prove di funzionalità polmonare (PFT) includono primariamente la spirometria e successivamente la pletismografia corporea e la valutazione della DLCO (diffusing capacity for carbone monoxide). In alcuni pazienti possono essere difficili da realizzare, in particolare in bambini sotto i 5 anni e per questo si può ricorrere ad altre metodiche quali l'oscillometria. [25]

È di frequente riscontro in questi pazienti una riduzione del FEV₁, una riduzione del rapporto FEV₁/FVC, un aumento del rapporto RV (residual volume) / TLC (total lung capacity). Di solito queste alterazioni precedono la comparsa di sintomi e traducono quello che è l'interessamento strutturale precoce della malattia. Altra alterazione molto frequente è la riduzione del FEF_{25-75%} (forced expiratory flow tra il 25 e il 75% della FVC (forced vital capacity)). [26]

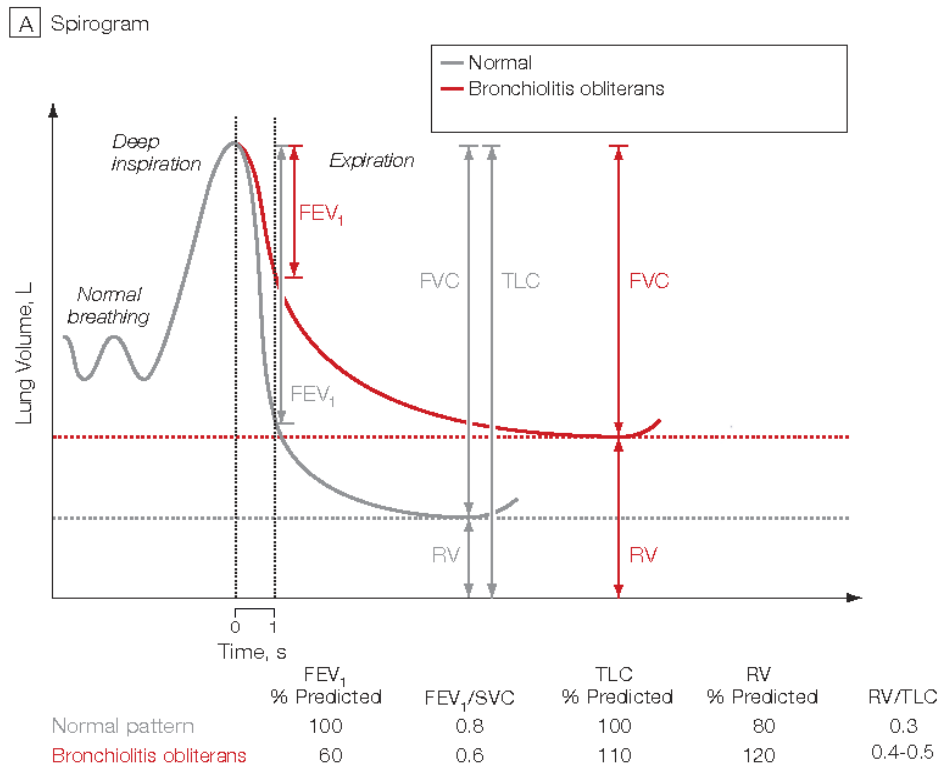


Figura 12. Pattern spirometrico normale (I) e del paziente affetto da BOS (II) [27]

È buona regola clinica, al fine di identificare in maniera tempestiva i pazienti a rischio di sviluppare questa complicanza, o con la presenza subclinica della stessa, di effettuare uno screening basato sulle PFT due settimane prima del condizionamento e come follow-up ogni 3 mesi per i primi 2 anni dopo il trapianto, continuando successivamente ogni due mesi. [28]

Un problema di tipo diagnostico è rappresentato dal fatto che, come precedentemente menzionato, i PFT potrebbero essere influenzati dal coinvolgimento extrapolmonare in corso di GVHD e perciò, un eventuale declino della funzionalità polmonare andrà indagato con ulteriori metodiche diagnostiche, come di seguito.

Esami di imaging

L'esame principe tra quelli di imaging è sicuramente la HRCT (TC ad alta risoluzione) che permette una migliore visualizzazione dei cambiamenti del parenchima e delle piccole vie aeree rispetto alla radiografia del torace e risulta essere più accessibile e meno costosa rispetto alla RMN.

Il quadro tipico alla HRCT di questi pazienti, effettuata in inspirazione ed espirazione, è rappresentato da: [29]

- Air trapping: fenomeno che si evidenzia durante l'espirazione ed è caratterizzato dall'accumulo di aria nelle vie aeree distali. È il reperto di maggiore sensibilità [30];
- Attenuazione a mosaico: rappresentato da un insieme di regioni polmonari con differente attenuazione individuati alle immagini in inspirazione e può essere rappresentativa di patologia obliterativa delle piccole vie o malattia vascolare occlusiva;
- Bronchiectasie: aree di dilatazione bronchiale e bronchiolare;
- ispessimento della parete bronchiale: conseguente a flogosi ed infiltrazione di cellule infiammatorie;

In più è confermato che la TC abbia un ruolo prognostico in questi pazienti, è infatti stata dimostrata una correlazione tra il Brody score elevato (punteggio di valutazione dell'immagine TC in cui maggiore è lo score maggiore è l'interessamento polmonare) e una peggiore prognosi del paziente. [31]

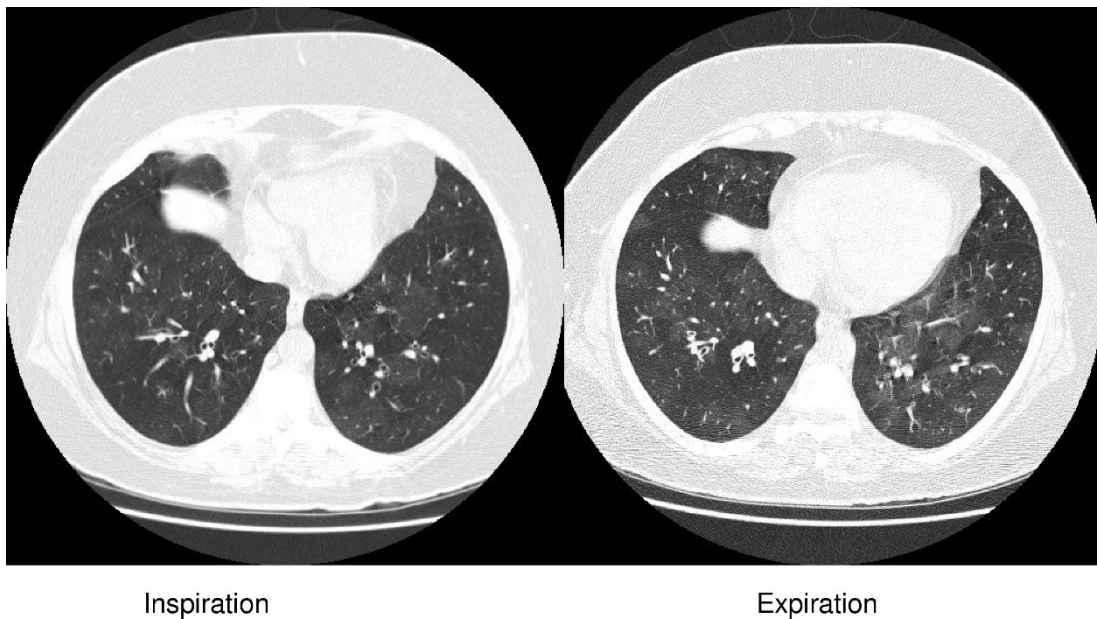


Figura 13. Da notare l'aumento del fenomeno di attenuazione a mosaico e di air trapping in fase di espirazione. [29]

Biopsia

La biopsia è il gold standard nella diagnosi e serve anche per escludere tutte le cause infettive o alternative di declino del FEV1 ma non viene sempre effettuata a causa della sua invasività e più spesso si arriva alla conferma diagnostica tramite i criteri presenti nella figura 11 (criteri NIH). Nel caso in cui la diagnosi sia bioptica questo equivale automaticamente a diagnosi di GVHD mentre nel caso in cui sia secondo i criteri NIH dovrà essere dimostrato almeno un coinvolgimento extrapolmonare per porre diagnosi di GVHD. [32]

Molto interessante risulta essere la dimostrazione del fatto che in un buon numero di pazienti la diagnosi che si era fatta di BOS secondo i criteri NIH veniva poi smentita

dalla biopsia e le diagnosi differenziali principali erano la COP e la NSIP (non specific interstitial pneumonia). [32]

I pattern tipici riscontrabili istologicamente prevedono:

1. infiltrato infiammatorio bronchiolare o peribronchiolare di varia densità;
2. sviluppo di bronchioectasie con stasi di secrezione, accumulo di macrofagi, tappi di muco;
3. obliterazione parziale o completa dei bronchioli con tessuto connettivo cicatriziale;

La biopsia può essere effettuata per via transbronchiale (TBLB) o per via “open” (biopsia chirurgica), dove la seconda, per via del tipico interessamento periferico della BOS risulta essere più sensibile.

Questa metodica diagnostica, pur essendo dotata di maggiore specificità e sensibilità, espone al rischio di complicanze quali pneumotorace ed emorragia ed è per questo poco utilizzata rispetto alle altre metodiche diagnostiche in vista anche del fatto che la sopravvivenza in chi ha diagnosi tramite i criteri NIH è sovrapponibile a chi si sottopone a biopsia. [32]

In corso di broncoscopia può essere effettuato il BAL (lavaggio bronco-alveolare) che risulta utile per escludere un’eziologia infettiva del processo morboso e per dimostrare un aumento della presenza di neutrofili nel BAL di pazienti affetti da BOS. Un recente studio introduce l’efficacia del BAL anche nella diagnosi differenziale tra BOS e ACR (rigetto acuto), dove, nella prima, sono stati trovati valori maggiori e statisticamente significativi di IL-26. [33]

1.4.5 Trattamento

Il trattamento della BOS è in larga parte immunosoppressivo e comprende diversi tipi di farmaci tra i quali: corticosteroidi sistemici e inalatori, Rituximab, Ciclosporina, Tacrolimus, Sirolimus, Micofenolato Mofetile ed Etanercept. Molto importante in questo tipo di terapia è l'inizio precoce che si è dimostrato aumentare la sopravvivenza e diminuire la riduzione del FEV1 rispetto a un approccio tardivo.

[20]

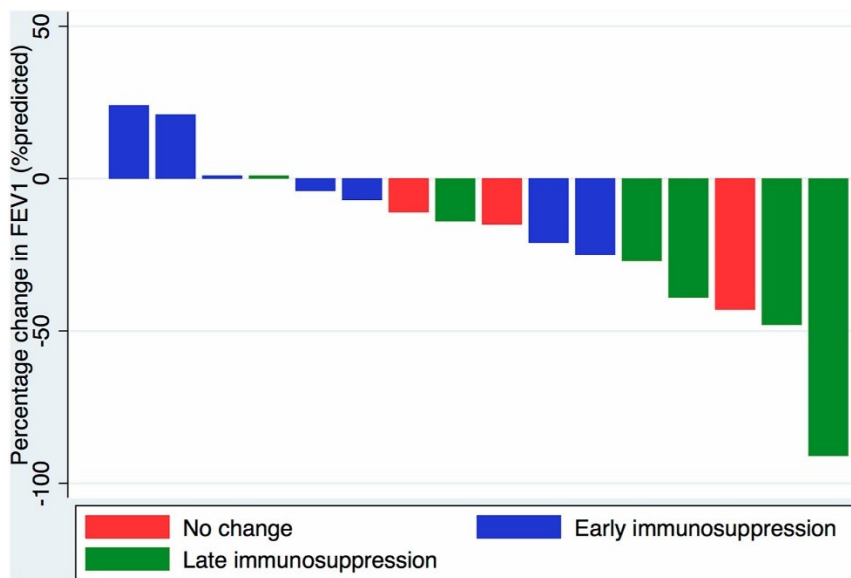


Figura 14. È evidente come un immunosoppressione precoce abbia migliori outcome in termini di riduzione del FEV1 rispetto a quella tardiva. [20]

Altri tipi di approccio terapeutico riguardano l'utilizzo di Azitromicina (il paziente beneficia del suo effetto immunomodulante a livello bronchiale più che del suo effetto antibiotico) che sembra avere effetto soprattutto nei pazienti che presentano

neutrofilia al BAL [34], il ri-trapianto polmonare che ha ottimi outcome in termini di sopravvivenza in pazienti accuratamente selezionati [35], la terapia con Montelukast e la fotoafesi extracorporea. Si prospetta un futuro ricco di nuove opportunità terapeutiche che sono in questo momento in costante studio. Tra questi vanno menzionati il Nintedanib e il Pirfenidone, farmaci già utilizzati per alcune patologie fibrosanti del polmone e che potrebbero vedere allargato il loro campo di applicazione molto presto. Si delinea anche la possibilità di un futuro impiego di farmaci appartenenti alla classe dei JAK inhibitors quali Ruxolitinib.

1.5 COP (Polmonite Criptogenica Organizzativa)

La COP è una malattia che colpisce in particolar modo le piccole vie aeree (bronchioli) e il tessuto polmonare peribronchiale. Il termine organizzativa si riferisce al fatto che la malattia si presenta come una polmonite con presenza di essudato endoalveolare e tende non a risolversi bensì all'organizzazione e all'evoluzione a tessuto fibroso con predominanza di fibroblasti e miofibroblasti. Il termine criptogenica invece indica l'origine eziologica sconosciuta della malattia. Fa parte, secondo i criteri dell'American Thoracic Society (ATS), delle polmoniti interstiziali idiopatiche. [36]

In passato veniva chiamata indifferentemente anche BOOP (bronchiolite obliterante con polmonite organizzativa), termine che è stato progressivamente accantonato a causa del fatto che si riteneva confondente nei confronti della BOS che è una patologia differente e che si sviluppa generalmente in contesti diversi.

Quando la COP è secondaria ad un processo morboso chiaramente identificabile (es. infezione, connettivite o farmaci) si parla di OP secondaria (organizing pneumonia). [37]

1.5.1 Epidemiologia

Rimane poco chiara l'incidenza e la prevalenza della COP, ma diversi studi suggeriscono che l'insorgenza della malattia si verifica più frequentemente tra la quinta e la sesta decade, che non c'è differenza tra i due sessi, che i non-fumatori

potrebbero avere un rischio più alto di svilupparla e che l'incidenza annuale si aggira approssimativamente intorno a 1 su 100.000 abitanti. [38]

È necessario segnalare che numerosi studi riportati in letteratura includono le OP secondarie a una specifica causa e questo potrebbe aver causato risultati confondenti in termini di incidenza.

1.5.2 Fattori di rischio

Sono molteplici e distinti in diverse categorie quali: fattori pre-trapiantologici, fattori correlati alla procedura e fattori post-trapiantologici.

Tra i primi si annoverano: sesso maschile, malattia avanzata ed età adulta del ricevente. Il CMV non sembra essere associato con l'insorgenza della COP. Fattori di elevata importanza sono sicuramente la compatibilità HLA e la donazione da sesso femminile a ricevente maschile. Tra quelli relativi alla procedura trapiantologica spicca un regime di condizionamento mieloablativo basato sul Busulfano rispetto invece al regime di intensità ridotta (RIC). Come è chiaro dalla patologia oggetto di questo studio, anche la comparsa di GVHD sistemica extra-polmonare incrementa il rischio di sviluppare la COP dopo il HSCT. [39]

1.5.3 Segni e sintomi

Tipicamente la COP si presenta alla stessa maniera di una CAP (polmonite acquisita in comunità) o di una sindrome influenzale, generalmente meno di due mesi prima della diagnosi. I sintomi più comuni sono: tosse non produttiva persistente che può

essere variabilmente accompagnata da febbre, astenia e malessere, perdita di peso e dispnea da sforzo. [40], [41] In alcuni rari casi la COP si presenta come una malattia rapidamente progressiva che porta a insufficienza respiratoria che può soddisfare i criteri di ARDS. [42]

L'esame obiettivo rivela frequentemente crepitii inspiratori e al contrario della BOS il wheezing non è presente.

1.5.4 Diagnosi

Nel processo diagnostico rientrano diverse tipologie di esami, partendo da semplici esami di laboratorio fino ad arrivare al prelievo bioptico con conferma istopatologica, passando per prove di funzionalità respiratoria ed esami di imaging.

Esami di laboratorio

Reperti molto frequenti ma assolutamente aspecifici sono: leucocitosi, aumento della VES e aumento della PCR. [43]

Nel paziente con malattia avanzata può essere rilevata ipossiemia all'emogasanalisi o comunque desaturazione in corso di esercizio fisico. [38]

Prove di funzionalità respiratoria

È bene sottolineare che circa un quarto dei pazienti ha risultati normali alle prove di funzionalità respiratoria (spirometria, pletismografia e DLCO). Mentre, tra i risultati

patologici, i più frequenti sono rappresentati da un pattern restrittivo da lieve a moderato e una riduzione del DLCO. Nei pazienti che presentano un pattern ostruttivo questo sembra essere correlato più all'abitudine tabagica precedente al trapianto che alla COP. [38], [43]

Esami di imaging

Probabilmente l'esame di primo approccio potrebbe essere la radiografia del torace ma anche in questo caso, come visto precedentemente nella BOS, l'esame principe rimane la HRCT, in cui il tipo più frequente di riscontro è rappresentato da aree di addensamento parenchimale a chiazze (80-95%) accompagnato da broncogramma aereo (fenomeno caratterizzato dalla visione di bronchi e bronchioli pieni di aria resa possibile da alveoli radiopachi circocostanti).

Spesso compaiono infiltrati puntiformi circondati da addensamenti diffusi generalmente ai campi periferici e inferiori del polmone. Opacità a vetro smerigliato diffuse sono il secondo reperto più frequente (60-90%) e riflettono l'infiammazione alveolare. Queste aree risultano essere spesso circondate da opacità perilobulari definite come la localizzazione delle stesse alla periferia del lobulo, vicino al setto interlobulare e con annesso ispessimento dei setti interlobulari.



Figura 15. HRCT che mostra opacità a vetro smerigliato bilaterali (freccia) così come addensamenti parenchimali focali. In questo caso l'interessamento polmonare è apicale, contrariamente alla più frequente localizzazione della malattia ai lobi inferiori. L'asterisco mostra il "segno dell'alone" che è definito come opacità a vetro smerigliato che circonda un nodulo o una massa polmonare, ed è conseguenza dell'emorragia perinodulare. [36]

Inoltre un ispessimento della parete bronchiale e la presenza di versamento pleurico possono essere presenti in circa il 20% dei casi ma sono reperti aspecifici di COP. Nel caso in cui vi sia iniziale evidenza di pattern reticolare è lecito aspettarsi una minore risposta alla terapia steroidea.



Figura 16. HRCT di paziente affetto da COP che mostra importanti aree di addensamenti parenchimali simmetrici in entrambi i lobi inferiori associati ad opacità a vetro smerigliato. Sono inoltre evidenziabili alcune aree bronchiectasiche.

Biopsia e BAL

Una volta che la COP sia sospettata il campionamento bioptico risulta necessario per fare diagnosi e la metodica migliore per ottenere sufficiente tessuto sembra essere la VATS (video-assisted thoracic surgery). Come nelle altre polmoniti interstiziali idiopatiche la biopsia dovrebbe essere effettuata in più lobi e ed essere guidata da un TC eseguita preoperatoriamente. In alcuni casi, potrebbe essere indicata la biopsia transbronchiale o la core needle biopsy che risultano essere tecniche meno invasive.

[44]

L'analisi istopatologia della biopsia dimostra la presenza di aree di tessuto di granulazione costituito da fibroblasti e miofibroblasti immersi in una matrice di tessuto connettivo (caratteristica delle polmoniti organizzative). [45] Altro frequente riscontro nelle OP è l'estensione di questo di tessuto di granulazione da un alveolo all'altro attraverso i pori intralveolari (il cosiddetto "pattern a farfalla"). [46] Nonostante sia predominante l'interessamento alveolare, sono regolarmente coinvolti anche i bronchioli adiacenti il cui lume può essere ostruito (da qui il vecchio nome di BOOP). Negli alveoli non infarciti di tessuto di granulazione sono spesso evidenziati macrofagi schiumosi.

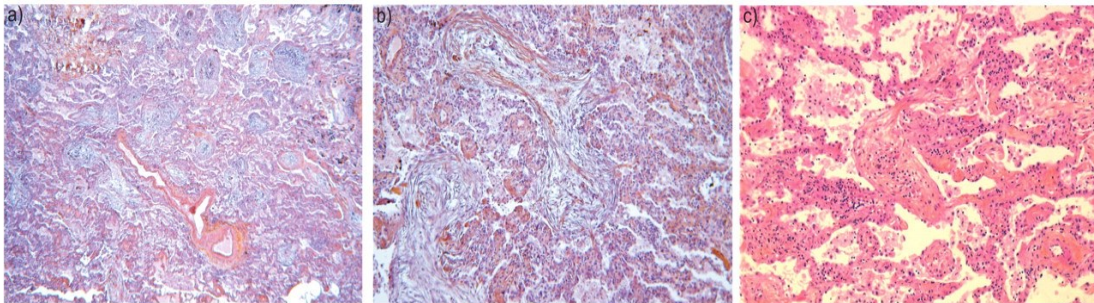


Figura 17. Pattern istopatologici tipici della COP. a) diffuse aree di tessuto di granulazione a bassa risoluzione. b) interessamento intralveolare. c) pattern "a farfalla" intralveolare. [47]

Durante la bronscopia effettuata a scopo diagnostico può essere eseguito il BAL che, prima di tutto, aiuta nell'escludere altre diagnosi o cause secondarie di OP. Secondariamente dimostrerà, in corso di COP, un pattern misto caratterizzato da una aumento di linfociti, neutrofili ed eosinofili (con livelli dei primi più elevati rispetto

agli eosinofili altrimenti, in caso contrario, la diagnosi sarà orientata verso la polmonite eosinofila cronica idiopatica). [46]

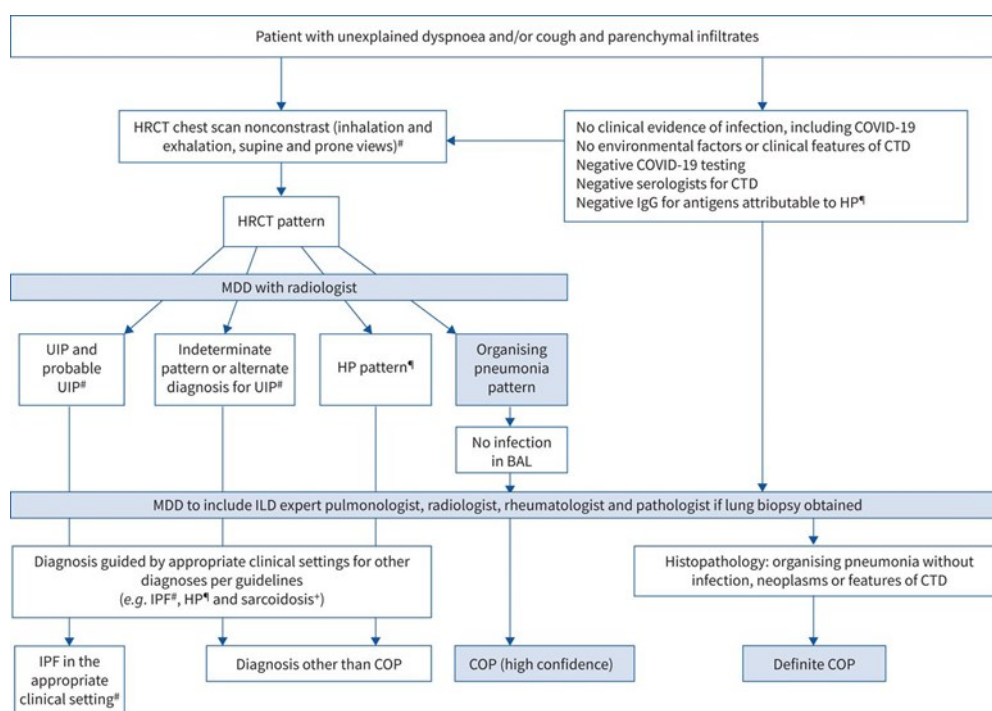


Figura 18. Algoritmo diagnostico della COP. MDD: discussione multidisciplinare; UIP: usual interstitial pneumonia; CTD: malattia del tessuto connettivo; HP: polmonite da ipersensibilità; Ig: immunoglobuline; ILD: malattia polmonare interstiziale; IPF: fibrosi polmonare idiopatica. [38]

1.5.5 Trattamento

Due caratteristiche tipiche della COP sono la notevole risposta al trattamento corticosteroidico e la forte tendenza alla recidiva, che avviene in circa la metà dei pazienti. Se questa avviene mentre il trattamento viene mantenuto o addirittura

aumentato è necessario pensare ad un'eventuale diagnosi differenziale con la OP secondaria. [48]

Lo standard di terapia è appunto rappresentato dai corticosteroidi che, generalmente, portano a una remissione clinica-strumentale in circa 3 mesi di trattamento con miglioramento dei sintomi associato a riduzione e scomparsa degli infiltrati visibili all'imaging. Nella previsione della risposta alla terapia si deve sapere che il pattern radiologico a vetro smerigliato è associato a maggior probabilità di risposta rispetto al pattern reticolo-nodulare. [49] Il regime tipico è il seguente: $0.75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{die}^{-1}$ di prednisone per 4 settimane, seguito da $0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{die}^{-1}$ per altre 4 settimane, continuando successivamente con $20 \text{ mg}\cdot\text{die}^{-1}$ per 4 settimane, da scalare a $10 \text{ mg}\cdot\text{die}^{-1}$ per 6 settimane concludendo alla fine con $5 \text{ mg}\cdot\text{die}^{-1}$ per 6 settimane. [38]

Altri farmaci che ricoprono un ruolo rilevante nell'attuale pratica clinica sono i macrolidi, tra cui si ricorda l'eritromicina e la claritromicina, che vengono utilizzati soprattutto nei pazienti con malattia lieve-moderata e sembrano avere buoni risultati (ancora da confermare con trials clinici randomizzati). Vengono inoltre utilizzati associati ai corticosteroidi in caso di recidiva severa di malattia. [50]

Numerose altre molecole sono state utilizzate soprattutto nell'approccio alla malattia severa quali azatioprina, ciclofosfamide e ciclosporina ma anche il loro utilizzo non è ancora supportato da evidenze forti.

2. SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo di questo studio è quello di verificare la prevalenza dell'interessamento delle piccole vie aeree tramite una metodica ancora poco usata in questo setting quale l'Oscillometria ad impulsi (IOS) in pazienti affetti da GVHD polmonare dopo trapianto di cellule staminali emopoietiche (HSCT) ed identificare eventuali associazioni del parametro di interesse con determinate caratteristiche cliniche e funzionali di malattia. A questo si è cercato di aggiungere la verifica della concordanza tra risultati funzionali spirometrici ed oscillometrici.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Disegno di studio

Studio osservazionale cross-sectional monocentrico (SOD di Pneumologia, Ospedali Riuniti di Ancona) per la valutazione della prevalenza del coinvolgimento delle piccole vie aeree tramite IOS.

3.2 Endpoints

Principale: valutare la prevalenza dell'interessamento delle piccole vie aeree tramite IOS in pazienti con GVHD polmonare.

Secondario: valutare la concordanza tra IOS e parametri spirometrici nella stima del coinvolgimento polmonare di questi pazienti (la diagnosi è stata precedentemente effettuata su criteri ben definiti spirometrici che ancora mancano, espressi chiaramente, in ambito oscillometrico). Inoltre si è cercato di identificare eventuali associazioni tra valori oscillometrici e risultati al questionario di St. George.

3.3 Popolazione in studio

Pazienti affetti da GVHD polmonare dopo HSCT in cura presso la SOD di ematologia degli ospedali Riuniti di Ancona che hanno ricevuto il trapianto tra Febbraio 2015 e Giugno 2021.

3.4 Pneumotocografo

I valori oscillometrici ricavati derivano dallo studio dei pazienti mediante strumento Pneumotocografo MasterScreen IOS (CareFusion®).

3.5 Procedure

I soggetti arruolati nello studio sono stati sottoposti ai seguenti accertamenti:

1. **IOS:** Dei parametri oscillometrici sono stati valutati le resistenze a bassa frequenza R5 (5 Hz), le resistenze ad alta frequenza R20 (20 Hz), gli indici di reattanza (X5), la frequenza di risonanza alla frequenza intermedia a cui la reattanza è pari a 0 (Fres) e l'area di reattanza (Ax), proposto come indice di limitazione nell'efflusso espiratorio. I parametri ritenuti suggestivi di alterazione funzionale delle vie aeree distali sono considerati $\Delta R5-R20$ e AX. Il test è stato condotto con il paziente seduto di fronte alla macchina, con schiena bene appoggiata allo schienale, busto e collo in posizione verticale, gambe non accavallate e mani appoggiate sulla guance. Successivamente si è posizionato uno stringi-naso ed è stato chiesto al paziente di introdurre in cavità orale il "boccaglio" del macchinario. Sono state effettuate diverse misurazioni da cui poi, il sistema, automaticamente, seleziona le tre più significative che saranno utili per la media. Durante la misurazione il paziente effettua respirazioni a volume corrente per alcuni secondi, facendo attenzione a non far uscire aria né dal naso (stringi-naso) né dal boccaglio (si chiede al paziente di serrare le labbra intorno allo stesso). Alla fine di una misurazione il paziente si stacca dal boccaglio e attende il ciclo successivo.

2. Saint George Respiratory Questionnaire (SGRQ): è un test di 50 domande in grado di valutare l'impatto dei disturbi respiratori sulla salute del paziente. Il questionario di viene utilizzato soprattutto per pazienti affetti da asma e BPCO, ma è stato validato anche per altre patologie ad interessamento respiratorio e anche nell'impatto della BOS post HSCT sulla qualità di vita dei pazienti. [51]

È suddiviso in due parti: la parte 1 da cui si ricava il parametro misurato Symptoms Score e la parte 2 da cui sono stati valutati i parametri misurati Activity Score e Impacts Score. Da questi viene derivato il Total Score.

Tutti i valori misurati con il St. George sono stati confrontati con i seguenti parametri derivanti dai valori attribuiti a popolazioni di soggetti nei limiti di norma: 9-15 per il Symptoms Score, 7-12 per l'Activity Score, 1-3 per l'Impacts Score e 5-7 per il Total Score .

3.6 Scheda raccolta dati (CRF)

I Seguenti dati sono stati inseriti nella scheda raccolta dati:

- dati demografici, abitudine tabagica, malattia che ha richiesto il trapianto
- data del trapianto, data di sviluppo della cGVHD, tipo di cGVHD, familiarità per patologie polmonari
- parametri funzionali spirometrici (FEV1, FEV1/FVC, DLCO, RV, FEF25-75%, TLC) entro i tre mesi precedenti l'arruolamento
- parametri funzionali oscillometrici (R5, R20, R5-R20, AX, Fres e X5)

- score del questionario di St. George

3.7 Valutazione degli outcomes

La presenza di un interessamento delle piccole vie all'IOS è stata definita come $R5-R20 \geq 0.07$ kPa/L/sec.

Endpoint primario: presenza di coinvolgimento delle piccole vie aeree all'IOS

Endpoint secondario: concordanza tra pattern spirometrico e oscillometrico tramite valutazione dei rispettivi parametri funzionali (FEV1 – FEV1/FVC – FEF27-75% - DLCO - $\Delta R5-R20$ – Ax). Associazione tra valori di $\Delta R5-R20$ e Ax all'IOS e punteggio del questionario di St. George.

4. RISULTATI

4.1 Caratteristiche dei pazienti in studio

Sono stati inseriti nello studio 9 pazienti affetti da cGVHD (M/F 3/6, età media 64,7 anni).

Le principali caratteristiche demografiche e cliniche di tali pazienti sono riassunte in Tabella 1.

I valori medi riscontrati all'IOS sono riassunti in Tabella 2.

TOTALE PAZIENTI	9
Maschi / Femmine	3 / 6
Età (anni) media \pm DS (anni)	64,7 \pm 6,4
BOS / COP	5 / 3
Fumatori / Non fumatori / Ex fumatori	0 / 5 / 4
FEV1 media basale (%) \pm DS	84,4 \pm 30,2
FEV1/FVC media basale (%) \pm DS	67 \pm 10,2
FEF 25-75% media basale (%) \pm DS	49,4 \pm 34
DLCO media basale (%) \pm DS	70,8 \pm 17,8
TLC media basale (%) \pm DS	96,7 \pm 16
RV media basale (%) \pm DS	101,8 \pm 26,6

Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti in studio.

R5 [kpa (L/s)] ± DS	0,40 ± 0,11
R20 [kpa (L/s)] ± DS	0,30 ± 0,05
R5-R20 [kpa (L/s)] ± DS	0,10 ± 0,07
X5 [kpa (L/s)] ± DS	-0,16 ± -0,1
Fres [kpa (L/s)] ± DS	19,3 ± 7,2
Ax [kpa (L/s)] ± DS	1,19 ± 1,18

Tabella 2. Valori medi (± DS) dei principali parametri IOS.

Symptoms score ± DS	30,7 ± 17,8
Activity score ± DS	44,1 ± 17,8
Impact score ± DS	14,6 ± 10,9
Total score ± DS	26 ± 9,5

Tabella 3. Valori medi (± DS) dei risultati del questionario di St. George.

4.2 Endpoints primario e secondari

Il parametro $R5-R20 \geq 0.07$ kPa/L/sec è stato riscontrato in 6 soggetti (60 %).

Di questi, tutti avevano un FEV1 < 80% e un indice di tiffenau < 0.7. Un parametro che è invece risultato alterato nella totalità dei pazienti è stato il FEF25-75 a conferma dell'interessamento delle piccole vie, anche se con i limiti precedentemente

riportati, ovvero come sia gravato da una certa variabilità intra-soggetto, per cui è generalmente considerato poco affidabile e riproducibile nella valutazione sistematica delle piccole vie aeree.

I 4 soggetti con FEV1 e FEV1/FVC nella norma erano anche gli unici ad avere valori oscillometrici normali. Non è invece confermata l'associazione tra peggiori parametri di funzionalità respiratoria e valori peggiori (quindi maggiori) al questionario di St. George tant'è che il paziente che aveva ottenuto i migliori valori sia alla spirometria che all'IOS ha totalizzato un total score al SGRQ di 26,82 (vn 7-12).

È molto interessante notare che i 5 pazienti reclutati che hanno risultati più bassi di FEV1 e FEV1/FVC (ad eccezione di un solo paziente) hanno, linearmente, anche valori più alti di R5-R20 e Ax, a testimoniare una buona concordanza tra IOS e spirometria (viene inserita una tabella esplicativa).

	FEV1	FEV1/FVC	R5-R20	Ax
Pz. 1	44	47	0,19	3,9
Pz. 2	63	63	0,18	2
Pz. 3	62	68	0,18	1,5
Pz. 4	74	57	0,11	0,92
Pz. 5	79	61	0,11	0,82

Tabella 4. Concordanza dei valori spirometrici ed oscillometrici.

Il parametro Ax è risultato concorde al valore di R5-R20 e ai parametri spirometrici quali FEV1 e FEV1/FVC, dimostrando una riduzione nella compliance polmonare nei pazienti con particolari difficoltà ventilatorie.

La DLCO è invece risultata $< 80\%$ in 7 pazienti (70%) ed è questo il parametro che sembra invece correlare meglio con i punteggi al SGRQ dove pazienti con una riduzione della DLCO avevano punteggi più alti al total score del questionario di St. George.

C'è stata una relativa concordanza tra valori più bassi di FEF25-75 e valori più alti di $\Delta R5-R20$ in 5 dei 6 pazienti (83%) con $\Delta R5-R20 \geq 0.07$ kPa/L/sec.

Per quanto riguarda l'associazione del parametro principale con le variabili analizzate, è stata riscontrata una correlazione con l'abitudine tabagica, infatti dei 5 soggetti che non hanno mai fumato nella vita 4 erano coloro che avevano parametri oscillometrici nella norma e tiffenau normale.

5. DISCUSSIONE

Il presente studio ha documentato la presenza di un coinvolgimento delle piccole vie aeree, espressa come incremento delle resistenze all'IOS, in pazienti affetti da GVHD polmonare, fornendone una stima della prevalenza.

La GVHD è una patologia, che, a seguito del costante aumento del trapianto di cellule emopoietiche e della migliore definizione diagnostica, risulta aumentare costantemente di incidenza. Il comparto polmonare è frequentemente interessato nella forma cronica della malattia (in particolare le vie aeree distali) e si rende responsabile di un importante peggioramento della qualità di vita dei pazienti. Come è stato precedentemente spiegato, si rivela difficile e poco pratico effettuare una biopsia in tutti i pazienti in cui si sospetta una GVHD, e pertanto le prove di funzionalità respiratoria sono uno strumento diagnostico fondamentale per evidenziare eventuali alterazioni. Ad oggi, invece, l'IOS non è incluso come esame di routine in questo setting, data la limitata disponibilità dello strumento.

L'obiettivo di questo studio, è stato infatti, quello di valutare l'interessamento della piccole vie aeree in corso di GVHD polmonare attraverso questa metodica. La numerosità del campione presa in considerazione nello studio è ridotta e questo non permette di avere risultati facilmente estensibili alla pratica clinica, ma, permette comunque di avere un'idea su quelli che erano gli endpoints dello studio. Un altro fattore che ha inciso nei risultati è sicuramente la difficoltà nell'inquadrare bene ed isolare la patologia GVHD dal contesto del quadro polmonare dei pazienti, alcuni ex fumatori e altri con alcune comorbidità respiratorie.

Quello che è emerso è che la IOS sembra essere una metodica sensibile e riproducibile e nella maggior parte dei casi concorde alla spirometria. Il vantaggio che offre è che attraverso il $\Delta R5-R20$ dà la possibilità di ascrivere l'ostruzione alle vie aeree distali (nel caso in cui fossero ostruite le prossimali si avrebbe un R20 elevato e quindi un $\Delta R5-R20$ inferiore a 0.07 kPa/L/sec), in maniera più sensibile. Inoltre grazie al parametro Ax dà delle indicazioni riguardo l'elasticità del polmone e della sua compliance, il che risulta sicuramente utile nella pratica clinica. Il questionario è servito per capire quale fosse l'impatto della GVHD polmonare sulla qualità di vita dei pazienti ed è risultato che a parte un caso isolato, che infatti aveva anche valori spirometrici e oscillometrici normali, tutti i pazienti hanno degli score più elevati rispetto alla norma.

È stato inoltre appurato che lo svolgimento delle misurazioni risulta di facile esecuzione sia per il paziente che per il personale addetto, richiedendo una semplice respirazione a volume corrente.

Da ciò emerge la possibilità, in futuro, di allargare il campo di applicazione di questo strumento, che rivela avere grandi potenzialità diagnostiche.

5.1 Limiti dello studio

I limiti di questo studio si sono rivelati essere la piccola numerosità del campione e l'interferenza dell'abitudine tabagica in quella che è la funzionalità ventilatoria.

Altro limite è rappresentato dall'assenza di un gruppo di controllo. Infatti il cut-off di positività del $\Delta R5-R20 > 0.07$ kPa/L/sec per definire il coinvolgimento delle piccole vie, seppur sempre più diffuso, necessita ancora di una condivisa definizione. D'altra

parte, però, bisogna sottolineare come l'IOS si sia dimostrata una metodica di rilevamento affidabile, standardizzata, e più sensibile delle prove di funzionalità respiratoria nel rilevare i danni alle strutture più periferiche del polmone.

6. CONCLUSIONI

In conclusione, esiste un significativo interessamento patologico delle piccole vie aeree in corso di GVHD, con una prevalenza che è superiore al 60%. La metodica IOS è in grado di evidenziare in maniera più sensibile, rispetto alla spirometria, la disfunzione a carico delle vie aeree più distali in questi pazienti, con possibili implicazioni in ambito terapeutico. Seppur ancora poco diffusa, questa metodica, potrà rappresentare in futuro un importante ausilio nell'approccio a diverse patologie polmonari e permetterà, attraverso i diversi parametri analizzati, una definizione diagnostica precisa del quadro nosologico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] N. Giuliani and A. Olivieri, *Ematologia per medicina - scienze biologiche - biotecnologie mediche*. NAPOLI, 2020.
- [2] G. C. Hildebrandt *et al.*, “Diagnosis and treatment of pulmonary chronic GVHD: Report from the consensus conference on clinical practice in chronic GVHD,” *Bone Marrow Transplantation*, vol. 46, no. 10. 2011. doi: 10.1038/bmt.2011.35.
- [3] M. Cottini *et al.*, “Small Airways: The ‘Silent Zone’ of 2021 GINA Report?,” *Frontiers in Medicine*, vol. 9. 2022. doi: 10.3389/fmed.2022.884679.
- [4] P. T. Macklem, “The physiology of small airways,” *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 157, no. 5 II SUPPL. 1998. doi: 10.1164/ajrccm.157.5.rsaa-2.
- [5] P. Modi and M. Cascella, “Diffusing Capacity Of The Lungs For Carbon Monoxide (DLCO),” *StatPearls*, 2020.
- [6] S. Bickel, J. Popler, B. Lesnick, and N. Eid, “Impulse oscillometry: Interpretation and practical applications,” *Chest*, vol. 146, no. 3, 2014, doi: 10.1378/chest.13-1875.
- [7] S. P. Galant, H. D. Komarow, H. W. Shin, S. Siddiqui, and B. J. Lipworth, “The case for impulse oscillometry in the management of asthma in children and adults,” *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, vol. 118, no. 6. 2017. doi: 10.1016/j.anai.2017.04.009.

- [8] Y. Shi, A. S. Aledia, A. V. Tatavoosian, S. Vijayalakshmi, S. P. Galant, and S. C. George, "Relating small airways to asthma control by using impulse oscillometry in children," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 129, no. 3, 2012, doi: 10.1016/j.jaci.2011.11.002.
- [9] H. D. Komarow, I. A. Myles, A. Uzzaman, and D. D. Metcalfe, "Impulse oscillometry in the evaluation of diseases of the airways in children," *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, vol. 106, no. 3. 2011. doi: 10.1016/j.anai.2010.11.011.
- [10] S. J. Kligerman, T. Henry, C. T. Lin, T. J. Franks, and J. R. Galvin, "Mosaic attenuation: Etiology, methods of differentiation, and pitfalls," *Radiographics*, vol. 35, no. 5, 2015, doi: 10.1148/rg.2015140308.
- [11] F. zattar Piazero, A. Nonino, R. D. S. Vasconcelos, A. L. S. Cunha, J. V. Pinto, and M. Profiro, "A Comparison of the Effect of Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) in Chemotherapy Versus Plerixafor for Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) and Mobilization," *Blood*, vol. 134, no. Supplement_1, 2019, doi: 10.1182/blood-2019-129523.
- [12] A. Gratwohl *et al.*, "Hematopoietic stem cell transplantation: A global perspective," *JAMA*, vol. 303, no. 16, 2010, doi: 10.1001/jama.2010.491.
- [13] L. Dekker, E. Sanders, C. A. Lindemans, C. de Koning, and S. Nierkens, "Naive T Cells in Graft Versus Host Disease and Graft Versus Leukemia: Innocent or Guilty?," *Frontiers in Immunology*, vol. 13. 2022. doi: 10.3389/fimmu.2022.893545.

- [14] E. Aladağ, E. Kelkitli, and H. Göker, “Acute graft-versus-host disease: A brief review,” *Turkish Journal of Hematology*, vol. 37, no. 1. 2020. doi: 10.4274/tjh.galenos.2019.2019.0157.
- [15] A. Ramadan and S. Paczesny, “Various forms of tissue damage and danger signals following hematopoietic stem-cell transplantation,” *Frontiers in Immunology*, vol. 6, no. JAN. 2015. doi: 10.3389/fimmu.2015.00014.
- [16] P. Häusermann *et al.*, “Cutaneous graft-versus-host disease: A guide for the dermatologist,” *Dermatology*, vol. 216, no. 4. 2008. doi: 10.1159/000113941.
- [17] K. C. Meyer *et al.*, “An international ISHLT/ATS/ERS clinical practice guideline: Diagnosis and management of bronchiolitis obliterans syndrome,” *European Respiratory Journal*, vol. 44, no. 6, 2014, doi: 10.1183/09031936.00107514.
- [18] A. R. Glanville *et al.*, “Bronchiolitis obliterans syndrome after lung or haematopoietic stem cell transplantation: current management and future directions,” *ERJ Open Research*, vol. 8, no. 3. 2022. doi: 10.1183/23120541.00185-2022.
- [19] M. H. Jagasia *et al.*, “National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group Report,” *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, vol. 21, no. 3, 2015, doi: 10.1016/j.bbmt.2014.12.001.

- [20] J. Pham *et al.*, “Updated prevalence, predictors and treatment outcomes for bronchiolitis obliterans syndrome after allogeneic stem cell transplantation,” *Respir Med*, vol. 177, 2021, doi: 10.1016/j.rmed.2020.106286.
- [21] K. Bando *et al.*, “Obliterative bronchiolitis after lung and heart-lung transplantation. An analysis of risk factors and management,” *J Thorac Cardiovasc Surg*, vol. 110, no. 1, 1995, doi: 10.1016/S0022-5223(05)80003-0.
- [22] L. D. Sharples, K. McNeil, S. Stewart, and J. Wallwork, “Risk factors for bronchiolitis obliterans: A systematic review of recent publications,” *Journal of Heart and Lung Transplantation*, vol. 21, no. 2. 2002. doi: 10.1016/S1053-2498(01)00360-6.
- [23] L. Gazourian *et al.*, “Factors associated with bronchiolitis obliterans syndrome and chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation,” *Am J Hematol*, vol. 89, no. 4, 2014, doi: 10.1002/ajh.23656.
- [24] G. S. Cheng *et al.*, “Lung function trajectory in bronchiolitis obliterans syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplant,” *Ann Am Thorac Soc*, vol. 13, no. 11, 2016, doi: 10.1513/AnnalsATS.201604-262OC.
- [25] O. Efrati *et al.*, “Pulmonary function studies in children treated by chemoradiotherapy and stem cell transplantation,” *Pediatr Blood Cancer*, vol. 51, no. 5, 2008, doi: 10.1002/pbc.21722.
- [26] V. N. Lama *et al.*, “Prognostic value of bronchiolitis obliterans syndrome stage 0-p in single-lung transplant recipients,” *Am J Respir Crit Care Med*, vol. 172, no. 3, 2005, doi: 10.1164/rccm.200501-097OC.

- [27] K. M. Williams, “How I treat bronchiolitis obliterans syndrome after hematopoietic stem cell transplantation,” *Blood*, vol. 129, no. 4, 2017, doi: 10.1182/blood-2016-08-693507.
- [28] R. Rabanus, J. Hahn, R. Andreesen, E. Holler, and G. C. Hildebrandt, “11: Risk Factor Analysis for the Development of Restrictive and Obstructive Pulmonary Function Changes After Allogeneic Stem Cell Transplantation,” *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, vol. 14, no. 2, 2008, doi: 10.1016/j.bbmt.2007.12.019.
- [29] S. Yoshihara, G. Yanik, K. R. Cooke, and S. Mineishi, “Bronchiolitis Obliterans Syndrome (BOS), Bronchiolitis Obliterans Organizing Pneumonia (BOOP), and Other Late-Onset Noninfectious Pulmonary Complications following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation,” *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, vol. 13, no. 7, 2007. doi: 10.1016/j.bbmt.2007.05.001.
- [30] A. N. Leung *et al.*, “Bronchiolitis obliterans after lung transplantation: Detection using expiratory HRCT,” *Chest*, vol. 113, no. 2, 1998, doi: 10.1378/chest.113.2.365.
- [31] A. Van Herck *et al.*, “Chest CT Has Prognostic Value at BOS Diagnosis after Lung Transplantation,” *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, vol. 38, no. 4, 2019, doi: 10.1016/j.healun.2019.01.024.
- [32] H. H. Uhlving *et al.*, “Biopsy-Verified Bronchiolitis Obliterans and Other Noninfectious Lung Pathologies after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell

- Transplantation,” *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, vol. 21, no. 3, 2015, doi: 10.1016/j.bbmt.2014.12.004.
- [33] J. M. Magnusson *et al.*, “Involvement of IL-26 in bronchiolitis obliterans syndrome but not in acute rejection after lung transplantation,” *Respir Res*, vol. 23, no. 1, 2022, doi: 10.1186/s12931-022-02036-3.
- [34] R. Vos *et al.*, “Long-term azithromycin therapy for bronchiolitis obliterans syndrome: Divide and conquer?,” *Journal of Heart and Lung Transplantation*, vol. 29, no. 12, 2010, doi: 10.1016/j.healun.2010.05.023.
- [35] S. Osaki, J. D. Maloney, K. C. Meyer, R. D. Cornwell, N. M. Edwards, and N. C. De Oliveira, “Redo lung transplantation for acute and chronic lung allograft failure: long-term follow-up in a single center,” *European Journal of Cardiothoracic Surgery*, vol. 34, no. 6, 2008, doi: 10.1016/j.ejcts.2008.07.052.
- [36] C. Kloth *et al.*, “The many faces of cryptogenic organizing pneumonia (COP),” *J Clin Imaging Sci*, vol. 12, 2022, doi: 10.25259/JCIS_208_2021.
- [37] B. J. Doolan, W. C. Cranwell, J. Nicolopoulos, and C. Dolianitis, “Secondary organizing pneumonia (bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia) associated with adalimumab for treatment of chronic plaque psoriasis,” *Dermatol Online J*, vol. 25, no. 10, 2019, doi: 10.5070/D32510045830.
- [38] G. Raghu and K. C. Meyer, “Cryptogenic organising pneumonia: Current understanding of an enigmatic lung disease,” *European Respiratory Review*, vol. 30, no. 161, 2021. doi: 10.1183/16000617.0094-2021.

- [39] H. Nakasone *et al.*, “Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/ bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation,” *Bone Marrow Transplant*, vol. 48, no. 10, 2013, doi: 10.1038/bmt.2013.116.
- [40] O. A. Sveinsson, H. J. Isaksson, A. Sigvaldason, F. Yngvason, T. Aspelund, and G. Gudmundsson, “Clinical features in secondary and cryptogenic organising pneumonia,” *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, vol. 11, no. 6, 2007.
- [41] J. F. Cordier, V. Cottin, R. Lazor, and F. Thivolet-Béjui, “Many Faces of Bronchiolitis and Organizing Pneumonia,” *Semin Respir Crit Care Med*, vol. 37, no. 3, 2016, doi: 10.1055/s-0036-1582013.
- [42] I. Y. Nizami, D. G. Kissner, D. W. Visscher, and B. A. Dubaybo, “Idiopathic bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia: An acute and life-threatening syndrome,” *Chest*, vol. 108, no. 1, 1995, doi: 10.1378/chest.108.1.271.
- [43] F. Drakopanagiotakis *et al.*, “Cryptogenic and secondary organizing pneumonia: Clinical presentation, radiographic findings, treatment response, and prognosis,” *Chest*, vol. 139, no. 4, 2011, doi: 10.1378/chest.10-0883.
- [44] J. F. Cordier, “Cryptogenic organising pneumonia,” *European Respiratory Journal*, vol. 28, no. 2. 2006. doi: 10.1183/09031936.06.00013505.
- [45] T. V. Colby, “Pathologic aspects of bronchiolitis obliterans organizing pneumonia,” *Chest*, vol. 102, no. 1, 1992, doi: 10.1378/chest.102.1.38s.

- [46] V. Cottin and J. F. Cordier, "Cryptogenic organising pneumonia," *Semin Respir Crit Care Med*, 2012.
- [47] J. F. Cordier, "Cryptogenic organising pneumonia," *European Respiratory Journal*, vol. 28, no. 2. 2006. doi: 10.1183/09031936.06.00013505.
- [48] A. U. Wells and N. Hirani, "Interstitial lung disease guideline: The British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and the Irish Thoracic Society," *Thorax*, vol. 63, no. SUPPL. 5, 2008, doi: 10.1136/thx.2008.101691.
- [49] B. J. Robertson and D. M. Hansell, "Organizing pneumonia: A kaleidoscope of concepts and morphologies," *Eur Radiol*, vol. 21, no. 11, 2011, doi: 10.1007/s00330-011-2191-6.
- [50] Y. Ichikawa, H. Ninomiya, M. Katsuki, M. Hotta, M. Tanaka, and K. Oizumi, "Low-dose/Long-term Erythromycin for Treatment of Bronchiolitis Obliterans Organizing Pneumonia (BOOP)," *Kurume Medical Journal*, vol. 40, no. 2, 1993, doi: 10.2739/kurumemedj.40.65.
- [51] E. N. Amin, G. S. Phillips, P. Elder, S. Jaglowski, S. M. Devine, and K. L. Wood, "Health-related quality of life in patients who develop bronchiolitis obliterans syndrome following allo-SCT," *Bone Marrow Transplant*, vol. 50, no. 2, 2015, doi: 10.1038/bmt.2014.264.