

Nuevas perspectivas del aclaramiento del edema pulmonar

J.I. Sznajder y W.G. Olivera*

Division of Pulmonary and Critical Care Medicine. Michael Reese Hospital. Illinois University. Chicago.

*CTI Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina. Montevideo. Uruguay.

Desde las primeras publicaciones hace cerca de 20 años, demostrando la importancia del epitelio alveolar en el aclaramiento del líquido intraalveolar¹, todavía no han aparecido aplicaciones significativas que hayan cambiado las estrategias de tratamiento clínico en pacientes con edema pulmonar². A pesar de haberse propuesto el efecto beneficioso que posee la preservación de la capacidad de aclaramiento porque mejora el pronóstico, no se han incorporado en la práctica clínica diaria los métodos terapéuticos capaces de modular el aclaramiento del edema pulmonar³. En forma experimental, se han logrado importantes avances en la descripción de los mecanismos que ejercen el aclaramiento del edema pulmonar por la posibilidad de medirlo con técnicas relativamente accesibles⁴⁻¹⁰. En cambio, en pacientes, a pesar de que el volumen de líquido alveolar absorbido por el epitelio quizá alcance los 5 l diarios, resulta muy difícil e inespecífica la cuantificación de la capacidad del aclaramiento pulmonar. La ausencia de un instrumento sencillo y válido de medición directa del aclaramiento con posibilidad de aplicación generalizada en todos los pacientes con edema pulmonar ha dificultado la valoración de técnicas terapéuticas orientadas a modular la capacidad de aclaramiento en la práctica clínica. Ésta parece ser la principal limitación que explica la falta de avances significativos en el tratamiento de los pacientes con edema pulmonar, a pesar de haberse obtenido en forma experimental importantes conocimientos básicos sobre los mecanismos de regulación del aclaramiento del agua pulmonar¹⁰⁻¹⁵.

De forma experimental, el aclaramiento del edema pulmonar ha sido inicialmente medido como transporte activo de Na⁺ en pulmones aislados al lograrse el equilibrio entre fuerzas pasivas hidrostáticas y coloidosmóticas a través de la membrana alveolocapilar¹⁶. Los resultados en estos modelos experimentales han coincidido con los obtenidos en animales vivos como perros, conejos y ratas anestesiadas; sin embargo, el avance más significativo en la descripción de las bases fisiológicas del aclaramiento del edema pulmonar surge tras el aisla-

miento y cultivo en forma de membrana de las células del epitelio alveolar reproduciendo experimentalmente a la membrana del epitelio alveolar: ha permitido estudiar in vitro los mecanismos que rigen el aclaramiento^{10,17}. Estos estudios han propuesto un modelo celular de transporte activo de Na⁺ a través de la membrana alveoloepitelial similar al descrito en otras barreras epiteliales como la del túbulo renal. El Na⁺ del líquido alveolar penetra en la célula epitelial por los canales apicales de Na⁺ siendo bombeado al intersticio pulmonar por la Na-K-ATPasa de la membrana basolateral y llevando tras de sí, por gradiente osmótico, el agua del líquido alveolar. El transporte activo de Na⁺ a través de la membrana alveoloepitelial se potencia por estímulos farmacológicos como el de la terbutalina, el isoproterenol y, más recientemente, se ha demostrado que la dopamina aumenta el AMP cíclico intracelular estimulando la Na-K-ATPasa al transportar Na⁺ y aclarar el edema pulmonar^{5,7,12-17}. De igual manera, estudios realizados en un modelo experimental de shock séptico sugieren que el incremento del aclaramiento del edema pulmonar podría estar provocado en esta situación clínica por el aumento de la secreción de catecolaminas endógenas⁹. A pesar de que tanto la terbutalina, la aminofilina, el isoproterenol y la dopamina como las catecolaminas endógenas son habitualmente utilizados en la práctica clínica, aún no se han hecho estudios para demostrar la eficacia de su utilización en el tratamiento de pacientes con edema pulmonar.

Recientemente, un grupo de trabajo ha estudiado el comportamiento de la capacidad de aclaramiento del edema en situaciones de daño pulmonar. Los resultados obtenidos en animales de experimentación expuestos a concentraciones elevadas de oxígeno sugieren que la capacidad de aclaramiento del edema se encuentra modulada por el epitelio alveolar en situaciones de daño pulmonar^{18,21}. Frente a una hiperoxia subletal, el epitelio alveolar responde incrementando la cantidad de Na-K-ATPasa en su membrana basolateral y aumentando la capacidad de aclaramiento del edema pulmonar¹⁸⁻²⁰. Si se trata de una exposición hiperóxica letal se aprecia una disminución de la capacidad de aclaramiento junto con el aumento de la permeabilidad provocado por la lesión de la membrana alveolocapilar²¹. Sin embargo, en la hiperoxia subletal los animales sobreviven quizá porque han aumentado su capacidad de aclaramiento junto con el incremento de la Na-K-ATPasa en sus pul-

Correspondencia: Dr. J.I. Sznajder, MD.
Division of Pulmonary and Critical Care Medicine. Michael Reese Hospital.
2929 S. Ellis Avenue, RC-216.
Chicago, Il. 60616.

Recibido: 8-10-96; aceptado para su publicación: 15-10-96.

Arch Bronconeumol 1997; 33: 207-209

mones. Estos resultados permiten comprender el comportamiento de la membrana alveoloepitelial frente al daño pulmonar. Cuando se trata de una lesión muy grave y extensa hay una disminución de la capacidad de aclaramiento que, junto con el aumento de la permeabilidad alveolocapilar, explica la progresión del edema pulmonar con compromiso del intercambio gaseoso y eventualmente muerte. Cuando se trata de una lesión subletal, que permite la adaptación del epitelio alveolar al daño, se aprecia una hiperproducción de la Na-K-ATPasa basolateral con el incremento de la capacidad de aclaramiento y supervivencia de los animales experimentales^{18,20}. Como conclusión de estos trabajos, el desafío reside en poder manipular el comportamiento del epitelio alveolar generando una respuesta adaptativa del epitelio alveolar que se anticipe a la instalación de la agresión letal ejerciendo un efecto protector sobre la evolución del edema pulmonar.

La respuesta proliferativa del epitelio alveolar que resulta de la exposición a concentraciones elevadas de oxígeno, con función protectora frente a la instalación y progresión del edema pulmonar, parecería ser consecuencia de la secreción autocrina de citocinas por fibroblastos activados en el intersticio pulmonar²². La posibilidad de controlar esta respuesta protectora del epitelio alveolar, orientada a aumentar la función de aclaramiento del edema pulmonar, requiere el descubrimiento tanto del tipo celular efector como de la isoenzima involucrada en el transporte vectorial de Na⁺. Si bien los trabajos previos muestran a las células epiteliales alveolares de tipo 2 como responsables del aclaramiento del edema pulmonar, no hay estudios realizados con células epiteliales de tipo 1 por la dificultad que ofrecen éstas para su aislamiento. El aclaramiento es consecuencia del transporte activo de Na⁺ efectuado por la enzima Na-K-ATPasa que se encuentra anclada en forma de dímero en las membranas basolaterales de las células epiteliales^{19,20}. La isoenzima $\alpha 1$ de la Na-K-ATPasa está propuesta como la fracción que ejerce el intercambio iónico mientras que la isoenzima $\beta 1$ sería la fracción reguladora, sensible a los estímulos hormonales²³. Los conocimientos actuales indican que el dímero $\alpha 1/\beta 1$, contenido en la membrana basolateral de las células alveolares de tipo 2, sería el responsable del aclaramiento del edema pulmonar. Sin embargo, estudios caracterizando la enzima por la sensibilidad al efecto inhibidor de la ouabaína, en cultivos celulares y en pulmones aislados, sugieren que el transporte activo de Na⁺ responsable del movimiento vectorial del agua intraalveolar sería efectuado por el dímero integrado en parte por la isoenzima $\alpha 2$ ²⁴. Esta $\alpha 2$ isoenzima no estaría exclusivamente localizada en las células alveolares de tipo 2, sino que también se alojaría en las células alveolares de tipo 1 (que cubren aproximadamente el 95% de la superficie alveolar) como lo demuestran estudios de cortes de pulmón con microscopía electrónica. Estas conclusiones sobre las bases citoenzimáticas del aclaramiento permiten una explicación más lógica de la función del epitelio alveolar, ya que parece más razonable que toda la superficie alveolar sea la que participe en el aclaramiento del edema pulmonar y no exclusivamente

el 5% de la misma, que es lo cubierto por las células alveolares de tipo 2.

El descubrimiento de las bases citoenzimáticas del aclaramiento permite diseñar un modelo de tratamiento genético del edema pulmonar. El objetivo del tratamiento genético es aumentar la capacidad de aclaramiento del epitelio alveolar mediante la regulación de la Na-K-ATPasa que efectúa el movimiento vectorial del agua hacia fuera del espacio alveolar por intermedio del transporte activo de Na⁺. En enfermedades congénitas pulmonares, las especies adenovirales han sido efectivos vehículos en modelos de tratamiento genético tanto de la fibrosis quística como del enfisema pulmonar por déficit de $\alpha 1$ -antitripsina. En ambas condiciones se ha logrado la expresión de genes deficitarios en las células de la mucosa de la vía aérea vehiculizados por especies adenovirales^{25,26}. Estudios recientes han demostrado que los adenovirus construidos con el gen de la Na-K-ATPasa son capaces de estimular tanto la hiperproducción como la hiperactividad enzimática en cultivos de células alveolares de tipo 2²⁷. La aerosolización de plásmidos conteniendo el gen con la secuencia opuesta al de la Na-K-ATPasa ha demostrado disminuir en forma transitoria la capacidad de aclaramiento y la función de la enzima en células aisladas alveolares de tipo 2²⁸. La posibilidad de administrar el material genético a nivel alveolar, así como la creación de especies adenovirales con capacidad de estimular la síntesis enzimática, permite anticipar en un futuro próximo la posibilidad de lograr la hiperproducción por vía genética de la Na-K-ATPasa en el epitelio alveolar generando el aumento de la capacidad de aclaramiento del edema pulmonar.

El aclaramiento del edema pulmonar se pudo cuantificar en pulmones humanos normales resecados por cirugía de cáncer, lo que permite inferir su importancia al ser comparado con otras especies. En ese trabajo se pudo, además, por primera vez en pulmones humanos, caracterizar el efecto de diferentes fármacos sobre el aclaramiento²⁹. En pacientes con edema pulmonar se ha estudiado el tema demostrando que el pronóstico mejora en aquellos que conservan la capacidad de aclaramiento pulmonar. La demostración experimental de una respuesta adaptativa protectora del epitelio alveolar frente al daño en asociación con los resultados obtenidos en humanos justifica el desarrollo de una estrategia de tratamiento genético orientada al incremento del aclaramiento. El control genético de la respuesta proliferativa del epitelio alveolar podrá asociarse con otros métodos de estimulación del aclaramiento del edema pulmonar como hormonas, fármacos o citocinas que potenciarían aún más sus efectos. Los resultados que provocarían el incremento del aclaramiento pulmonar por tratamiento genético permiten anticipar una extensa aplicación terapéutica dirigida a una gran población de pacientes. Por un lado, tanto el edema pulmonar de origen cardiogénico como el edema no cardiogénico por daño pulmonar se beneficiarían del tratamiento genético. Por otro lado, su indicación en forma preventiva abarcaría la población de pacientes en riesgo de presentar edema pulmonar, mientras que su indicación en forma curativa abarcaría a aquellos enfermos con edema

pulmonar con el objetivo de reducirlo y acortar los períodos de falla respiratoria hipoxémica. Dado que el pronóstico en pacientes críticos portadores de falla respiratoria hipoxémica es más grave que con otras disfunciones orgánicas, la implementación de la terapia genética del edema pulmonar con capacidad de prevenir o reducir la falla respiratoria augura un trascendente impacto en la evolución y en la morbimortalidad de los pacientes críticos.

Agradecimientos

Esta contribución fue financiada en parte por HL-48129. J.I. Sznajder es un Career Investigator de la American Lung Association.

BIBLIOGRAFÍA

- Olver RE, Strang LB. Ion fluxes across the pulmonary epithelium and the secretion of lung liquid in the foetal lamb. *J Physiol Lond* 1974; 241: 327-357.
- Sznajder JL, Wood LDH. Beneficial effects of reducing pulmonary edema in patients with hypoxemic respiratory failure. *Chest* 1991; 100: 890-892.
- Matthay MA, Kronish JP. Intact epithelial barrier function is critical for the resolution of alveolar edema in humans. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 1.250-1.257.
- Rutschman DH, Olivera W, Sznajder JI. Active transport and passive liquid movement in isolated perfused rat lungs. *J Appl Physiol* 1993; 75: 1.574-1.580.
- Effros RM, Mason GR, Hukkanen J, Silverman P. New evidence of active sodium transport in fluid filled rat lungs. *J Appl Physiol* 1989; 66: 906-919.
- Olivera W, Ridge K, Wood LDH, Sznajder JI. ANF decreases active sodium transport and increases alveolar epithelial permeability in rats. *J Appl Physiol* 1993; 75: 1.581-1.586.
- Berthiaume Y, Broaddus VC, Gropper MA, Tanita T, Matthay MA. Alveolar liquid and protein clearance from normal dog lungs. *J Appl Physiol* 1988; 65: 585-593.
- Smedira N, Gates L, Hastings R, Jayr T, Sakuma J, Pittet F et al. Alveolar and lung liquid clearance in anesthetized rabbits. *J Appl Physiol* 1991; 70: 1.827-1.835.
- Pittet JF, Wiener-Kronish JP, McElron MC, Folkesson HG, Matthay MA. Stimulation of lung epithelial liquid clearance by exogenous release of catecholamines in septic shock in anesthetized rats. *J Clin Invest* 1994; 94: 663-671.
- Goodman BE, Fleishner R, Crandall ED. Evidence for active Na⁺ transport by cultured monolayers of pulmonary alveolar epithelial cells. *Am J Physiol* 1983; 245: 78-83.
- Matalon S, Kirk K, Bubien J, Oh Y, Hu P, Yue G et al. Immunocytochemical and functional characterization of Na⁺ conductance in adult alveolar pneumocytes. *Am J Physiol* 1992; 262: 1.228-1.238.
- Crandall DE, Heming TA, Palombo RL, Goodman BE. Effect of terbutaline on sodium transport in isolated perfused rat lung. *J Appl Physiol* 1986; 60: 289-294.
- Berthiaume Y. Effect of exogenous cAMP and aminophylline on alveolar and lung liquid clearance in anesthetized sheep. *J Appl Physiol* 1991; 70: 2.490-2.497.
- Saumon G, Basset G, Bouchoune F, Crone C. cAMP and β -adrenergic stimulation of rat alveolar epithelium. Effects of fluid absorption and paracellular permeability. *Pfleugers Arch Eur J Physiol* 1987; 410: 464-470.
- Barnard ML, Ridge KM, Olivera W, Rutschman DH, Sznajder JI. Dopamine increases lung liquid clearance in rats. *FASEB J* 1996; 10: 349.
- Sznajder JI, Zucker AR, Wood LDH, Long GR. Effects of plasmapheresis and hemofiltration on canine acid aspiration pulmonary edema. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 222-228.
- Filippatos GS, Hughes F, Qiao R, Sznajder JI, Uhal BD. Mechanisms of liquid flux across pulmonary alveolar epithelial cell monolayers. *Cell Dev Biol* 1997. En prensa.
- Sznajder JI, Olivera W, Ridge K, Rutschman DH. Mechanisms of lung liquid clearance during hyperoxia in isolated rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1.519-1.525.
- Nici L, Dwin R, Gilmore M, Jamieson JD, Ingbar DH. Upregulation of rat lung Na-K-ATPase during hyperoxic injury. *Am J Physiol* 1991; 261: 307-314.
- Olivera W, Ridge K, Wood LDH, Sznajder JI. Active sodium transport and alveolar epithelial Na-K-ATPase increase during subacute hyperoxia in rats. *Am J Physiol* 1994; 266: 577-584.
- Olivera W, Ridge K, Sznajder JI. Lung liquid clearance and Na-K-ATPase during acute hyperoxia and recovery in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1.229-1.234.
- Han R, Shilpa N, Freeman B, Post M, Transwell K. Platelet derived growth factor and growth-related genes in rat lung. II. Effect of exposure to 85% O₂. *Am J Physiol* 1992; 262: 140-146.
- Lescalle-Matys L, Hensley C, Crnkovic-Markovic R, Putnam D, McDonough A. Low K⁺ increases Na-K-ATPase abundance in LLC-PK1/C14 cells by differentially increasing β , and not α , subunit mRNA. *J Biol Chem* 1990; 29: 17.935-17.940.
- Ridge K, Olivera W, Mercer RW, Rutschman DH, Uhal B, Horowitz S et al. Role of Na-K-ATPase α 2 isozyme in alveolar epithelial cells contributing to lung liquid clearance. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 4: 505.
- Setoguchi Y, Jaffe HA, Chu C, Crysta R. Intraperitoneal in vivo gene therapy to deliver α -1 antitrypsin to the systemic circulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994; 10: 369-377.
- Crystal R, Jaffe A, Brody S, Mastrangeli A, Rosenfeld M, Danel C et al. A phase I study in cystic fibrosis patients of the safety, toxicity, and biological efficacy of a single administration of a replication deficient recombinant adenovirus carrying the cDNA of the normal cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in the lung. *Human Gene Therapy* 1995; 6: 643-665.
- Factor P, Senne C, Ridge K, Gao ZC, Jaffe HA, Mutlu G et al. Overexpression of the Na-K-ATPase α 1-subunit increases Na-K-ATPase function in A549 cells. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 4: 509.
- Olivera W, Ilekis J, Yates D, Sznajder JI. Aerosolization of a recombinant plasmid for the expression of antisense RNA to the α 1-subunit of the Na-K-ATPase reduces lung liquid clearance. *Faseb J* 1992; 6: 1.769.
- Sakuma T, Okaniwa G, Nakada T, Nishimura T, Fujimura S, Matthay MA. Alveolar fluid clearance in the resected human lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 305-310.