

PATOGENIA DEL ENFISEMA PULMONAR

V. MARCO

Servicio de Neumología. Hospital La Fe. Valencia.

Aunque quedan muchas incógnitas por resolver, la teoría patogénica del enfisema pulmonar, generalmente aceptada, supone que las lesiones destructivas de las paredes de los bronquiolos respiratorios y de los alveolos que lo caracterizan, son consecuencia de la digestión proteolítica del tejido de sostén de estas estructuras por enzimas con capacidad elastolítica contenidos en los lisosomas de los leucocitos polinucleares (LPN). El papel que puedan jugar las elastasas de los macrófagos alveolares, de los monocitos de las células cebadas y de los fibroblastos, si es que lo tienen, está aún por dilucidar.

Esta teoría proteolítica del enfisema nace de dos descubrimientos casi simultáneos: uno, la producción por Gross et al¹, de lesiones alveolares destructivas semejantes a las del enfisema humano, en ratas a las que se les administraba intratraquealmente el potente enzima proteolítico papaína; estas lesiones pudieron ser provocadas también con papaína en otros animales de experimentación, demostrándose que el comportamiento fisiológico de sus pulmones era similar al del pulmón enfisematoso humano². Otro, el hallazgo de Eriksson³ de una elevada incidencia de enfisema en individuos con una deficiencia homocigótica de α -1-antitripsina, o mejor α -1-antiproteinasa ya que inhibe muchas otras esterasas además de la tripsina; a lo largo de este artículo utilizaremos para ella la PI (*proteinase inhibitor*) que es como habitualmente se la conoce. Posteriormente, Marco et al⁴ demostraron que, al igual que ocurría con el enzima exógeno papaína, proteinasas contenidas en los LPN del perro eran asimismo capaces de producir lesiones destructivas de tipo enfisematoso en este animal cuando se les administraba en aerosol. La identificación de los enzimas responsables la llevó a cabo sobre todo el grupo de Janoff⁵, demostrando que se trata, fundamentalmente, de la serin-proteinasa elastasa; otras esterasas, como la catepsina G y la collagenasa, tienen un papel mucho menos relevante.

En condiciones normales se mantiene en el alveolo un equilibrio proteolisis-antiproteólisis muy decantado hacia la inhibición proteolítica, lo que supone una gran reserva que le permitirá defenderse de la agresión alveolar de un aumento del

potencial proteolítico. Examinaremos a continuación, en primer lugar los componentes de la ecuación y cómo funcionan en el individuo normal; luego, cómo puede alterarse y en qué situaciones puede tener lugar.

En el intersticio pulmonar y espacios alveolares de un individuo no fumador, sin patología pulmonar, se encuentran muy pocos LPN. Existe una buena correlación entre el número de LPN presentes en el intersticio pulmonar y en los espacios alveolares, por lo que los hallazgos en el lavado broncoalveolar (LBA) reflejan con bastante aproximación lo que sucede en el intersticio pulmonar. Así pues, en el LBA de un individuo sano no fumador, los LPN suponen menos del 2 % de las células obtenidas; los macrófagos alveolares constituyen alrededor del 90 % y el resto son linfocitos. Proceden de la sangre circulante y, aunque inicialmente se pensó que eran secuestrados en el pulmón del mismo modo que sucede por ejemplo en el bazo, se pudo demostrar que esto no es así ni en el animal de experimentación⁶ ni en el hombre⁷, ya que no hay diferencia en el recuento de estas células en la sangre de la arteria pulmonar y en una arteria sistémica. Pasan al alveolo por acción de factores quimiotácitos que describiremos más adelante al hablar del aumento de LPN en los alveolos de los fumadores.

Como consecuencia de la fagocitosis de partículas, de microorganismos, o simplemente por muerte de los LPN, se vierten a los espacios alveolares —y se supone que también en el intersticio— proteinasas contenidas en el citoplasma que podrían atacar la elastina y demás componentes del tejido de sostén. Sin embargo, esto no sucede en condiciones normales; a ello se opone la PI que es el más importante, si no el único, inhibidor de la elastasa en los alveolos y vías aéreas terminales. Los otros dos inhibidores de la elastasa, la α -2-macroglobulina del plasma y el inhibidor de bajo peso molecular que se encuentra en el moco procedente de las glándulas serosas de la nasofaringe y de las vías aéreas centrales, no se han encontrado en el líquido alveolar. No obstante, no puede descartarse con absoluta seguridad el papel del inhibidor del moco bronquial en la protección del tracto respiratorio inferior, ya que se ha encontrado en

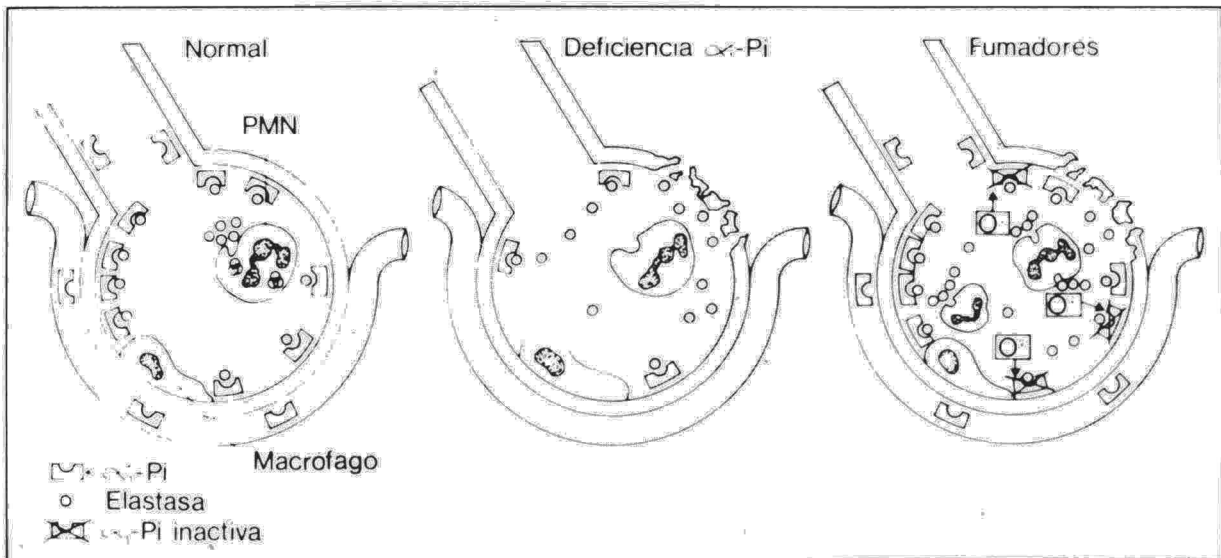
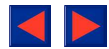


Figura 1

las vías aéreas pequeñas, posiblemente secretado por las células Clara⁸. En realidad parece que son dos y no uno los inhibidores de la elastasa en las secreciones de las vías aéreas, muy parecidos en su composición pero de distinta potencia antielastásica. Se ha especulado con la posibilidad de que actúen de forma coordinada con la PI para inhibir la elastasa neutrofílica; el, o los inhibidores del moco bronquial actuarían preferentemente inhibiendo la elastasa ya fijada a la elastina, mientras que la PI lo haría inhibiendo la elastasa libre⁹. La PI es una glicoproteína cuyo principal sitio activo para la inhibición proteolítica se encuentra a nivel del aminoácido metionina situado en la posición 358, en la secuencia metionina-serina. Actúa como un pseudosustrato para la elastasa que reconoce esta unión metionina-serina a la que atacando lugar a la formación de complejos muy estables; la unión se hace en una relación molar 1:1. La unión con la tripsina tiene lugar también en la misma proporción, pero es mucho menos estable y su disociación es fácil¹⁰. Recientemente ha sido posible cuantificar los complejos PI-elastasa en LBA de individuos sanos no fumadores, demostrándose que sólo un 0,3 % de la PI se encuentra en esta forma mientras que el resto se encuentra libre¹¹. Como no se detecta elastasa libre en el LBA de estos individuos, podemos concluir que el parénquima pulmonar posee una importante reserva antiproteolítica. De todas formas es inferior a la de la sangre, en la que sólo un 0,006 % se encuentra en forma de complejos con la elastasa de los neutrófilos¹¹. En condiciones normales, pues, el pulmón no sufrirá digestión proteolítica por la escasa cantidad de elastasa que se vierte en él procedente de los LPN y la relativa gran cantidad de PI presente en los alveolos. La situación de equilibrio

proteólisis-antiproteólisis, puede verse de forma gráfica en la figura 1 a.

Esta situación de equilibrio, en teoría, puede decantarse hacia la proteólisis por tres circunstancias: 1) disminución de la PI alveolar; 2) aumento en la cantidad o actividad de los enzimas elastolíticos leucocitarios; y 3) aumento del vertido de enzimas proteolíticos por incremento de LPN en el intersticio y espacios alveolares. Lógicamente también podría producirse por la combinación de algunas de ellas.

La primera de estas circunstancias se da en casos de deficiencia homocigótica de PI. En esta situación la concentración de PI en el plasma es alrededor de un 15 % de la de los individuos sin esta deficiencia. Lo mismo sucede en el LBA adonde llega la PI desde la sangre por simple difusión; se ha demostrado que la cantidad del inhibidor en estos casos es menos de un 10 % de la existente en individuos con fenotipos que se expresan con concentraciones normales de PI. La actividad antielastásica es asimismo casi nula y, concomitantemente, a diferencia de lo que ocurre en el individuo normal, puede detectarse elastasa libre en el líquido alveolar¹². En un estudio encaminado a demostrar si la terapéutica sustitutiva con PI en estos pacientes es capaz de elevar el nivel del inhibidor en el plasma y, lo que puede ser todavía más importante, en los alveolos, pudo demostrarse la desaparición de elastasa libre en el LBA tras la administración intravenosa de PI¹³. En esta situación, pues, el equilibrio proteólisis-antiproteólisis se inclina hacia la proteólisis, produciéndose las bien conocidas lesiones destructivas del enfisema panlobular, aún en ausencia de consumo de cigarrillos. Una representación gráfica de lo que sucede en estos casos puede verse en la figura 1 b.



La posibilidad de un aumento de la concentración de elastasa en los LPN como determinante de la aparición de lesiones elastolíticas, es más teórica que real. Se basa en un estudio, poco convincente, en el que se observaba una mayor obstrucción al flujo aéreo en individuos deficientes de PI cuando la concentración de enzimas proteolíticos en los LPN era mayor¹⁴. El estudio no ha podido ser corroborado por otros autores. Queda, pues, como simplemente una posibilidad, en todo caso, como un factor contribuyente cuando se dieran otras circunstancias.

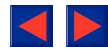
La tercera posibilidad, la de un incremento de LPN en el intersticio pulmonar y en los espacios alveolares, es la que tiene lugar en los fumadores.

Es bien conocido, desde el trabajo inicial de Howell¹⁴, que los fumadores tienen un número mayor de leucocitos en sangre periférica que los no fumadores. El aumento afecta por igual a todos los elementos de la fórmula leucocitaria. Aunque como ya dijimos con anterioridad, los leucocitos llegan al intersticio y espacios alveolares por la acción de sustancias quimiotácticas y no por un simple mecanismo de secuestro, parece lógico que un aumento de LPN en sangre tenga que influir de algún modo en el paso de un mayor número de estas células al pulmón; es por ello, una opinión generalizada. Además, ha podido demostrarse que la cifra de leucocitos en sangre guarda una relación inversa con la FVC y el FEV₁, independientemente de la magnitud del consumo de cigarrillos¹⁵.

El mecanismo por el cual aumenta el número de leucocitos en la sangre de los fumadores no está completamente aclarado. Desde el trabajo de Scheer¹⁶ en el que observó un aumento transitorio del número de leucocitos en la sangre periférica de una parte de un grupo de individuos tras fumar uno o varios cigarrillos, ha sido atribuido a la acción de la nicotina. Es conocido que la nicotina libera epinefrina y norepinefrina de la médula adrenal y de las terminaciones simpáticas postganglionares respectivamente y que la administración de estas aminas simpaticomiméticas origina una leucocitosis transitoria, probablemente por demarginación de los leucocitos que constituyen el *pool* marginal en los vasos. Los resultados posteriores a las experiencias de Scherer han sido contradictorios: mientras Winkel et al¹⁷ han confirmado el incremento agudo de leucocitos tras fumar cigarrillos, nosotros¹⁸ no pudimos corroborarlo. Con objeto de aclarar esta discrepancia, en una nueva serie de experimentos, determinamos el recuento y fórmula leucocitarios en un grupo de fumadores durante 3 días consecutivos tras dejar de fumar¹⁹; pensamos que, teniendo en cuenta que la vida media de la nicotina en el organismo es muy corta y no se produce una acumulación apreciable de un día para otro, que las catecolaminas son metabolizadas muy rápidamente y que la vida de los leucocitos polinucleares no excede las 7 horas, el recuento

leucocitario de estos individuos debería descender en este espacio de tiempo. No sucedió así y concluimos que éste no debe ser el mecanismo responsable del aumento de leucocitos en sangre periférica, por lo menos de forma apreciable. Recientemente, utilizando cultivos de células germinales de la granulopoyesis, hemos podido demostrar que las células germinales pertenecientes a fumadores proliferan más que las de los no fumadores y, además, que, en ocasiones, el suero de fumadores es capaz de inducir la proliferación de células germinales de individuos no fumadores. De ello hemos concluido que, si esto sucede también «in vitro», éste podría ser el mecanismo responsable del aumento de leucocitos en la sangre periférica del fumador²⁰. La naturaleza de la substancia, o substancias, presentes en el suero de los fumadores que inducen la proliferación de las células germinales de la granulopoyesis está todavía por dilucidar, pero una posibilidad es que se trate de CSF (*colony stimulation factor*) segregado por los macrófagos alveolares por acción del tabaco; no obstante, en este momento se trata sólo de una hipótesis.

Los LPN, que como dijimos no sobrepasan un 2 % de las células obtenidas en el LBA de los no fumadores, aumentan unas 2-4 veces más en el de los fumadores; en una proporción similar aumentan también los macrófagos alveolares. El mecanismo de atracción de los LPN a los alveolos es complejo y supone la acción de una serie de substancias quimiotácticas, algunas conocidas y otras no bien aclaradas. Aunque su conocimiento se derive fundamentalmente de estudios *in vitro*, no siempre extrapolables a la situación *in vivo*, parece ser que el macrófago alveolar es la fuente principal de substancias o factores quimiotácticos que son liberados al ser estimulado por componentes del humo de tabaco. Una, descrita simultáneamente por Hunninghake et al²¹ y por Reynolds et al²², es un producto del metabolismo del ácido araquidónico por la vía de la lipooxigenasa, con toda posibilidad el leucotrieno LTB₄, que como es bien conocido no tiene efecto contracturante sobre el músculo liso bronquial. Otros, péptidos de bajo peso molecular²¹ y otros péptidos derivados del complemento, bien a partir del componente C₃ por la vía clásica²³, o bien por la modificación del componente C₃ activando de este modo la vía alternativa²⁴. También es posible que la nicotina pueda actuar como factor quimiotáctico, bien por sí sola o, como parece lo más probable, aumentando la respuesta de los LPN a la acción quimiotáctica del componente C_{5a} del complemento²⁵. Es posible que a estos factores hasta ahora descritos se añadan otros en el futuro. Por otro lado, productos de degradación del colágeno y de la elastina por la acción de las proteinasas de los LPN, son asimismo potentes factores quimiotácticos para los LPN y monocitos (que posteriormente se transformarán



en macrófagos alveolares)²⁶. En la actualidad prosigue el estudio y caracterización de todas estas sustancias con capacidad quimiotáctica para los LPN. Es importante, entre otras cosas, por la posibilidad futura de desarrollar otras que se opongan a la acción de estos factores quimiotácticos, disminuyendo de este modo la cantidad de células inflamatorias en el intersticio pulmonar y en los alveolos y, por tanto, el vertido de proteinasas que puedan dañar el tejido de sostén ya que, generalmente, las sustancias quimiotácticas no sólo atraen a las células inflamatorias sino que las estimulan aumentando el vertido de enzimas y otros componentes citoplásmicos.

Otras posibles fuentes de enzimas con potencial elastolítico, aunque su papel en la destrucción de la matriz pulmonar está por demostrar, son el macrófago alveolar, el monocito, las células cebadas, el fibroblasto, las células musculares lisas y las plaquetas. El más estudiado es el macrófago alveolar que, al parecer, secreta una metalo-proteasa y la serin-proteasa catepsina B, ambos con capacidad elastolítica²⁷. De particular importancia sería la metalo-proteasa ya que este enzima no es inhibido por la PI; su existencia real es todavía objeto de controversia. Una elastasa idéntica a la de los LPN se encuentra también en estas células, pero pronto se demostró que no es fabricada por el macrófago sino que se trata de elastasa de los LPN, fagocitada por los macrófagos alveolares como mecanismo de defensa. La elastasa de los monocitos, de las células musculares lisas y de las plaquetas, en muy pequeña cantidad, no se cree que pueda jugar ningún papel en el desarrollo de las lesiones destructivas; la de las plaquetas, en teoría, sería liberada en los capilares pulmonares, extremo éste que no ha podido ser demostrado. Un papel más importante podría jugar la elastasa de los fibroblastos que, aunque en pequeña cantidad, por la situación estratégica de estas células en el intersticio pulmonar y su intervención en los procesos de reconstrucción del parénquima tras diversas lesiones, sí podría jugar un papel importante. Las células cebadas contienen una considerable cantidad de elastasa, por lo que se piensa podrían contribuir al potencial proteolítico pulmonar. De todas formas, no hay que olvidar que el conocimiento de todas estas elastasas se deriva exclusivamente de estudios *in vitro*.

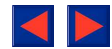
Por todo lo que hemos visto hasta ahora, en el fumador se dan las condiciones de aumento de vertido de proteinasas que podrían dañar el tejido de sostén pulmonar dando lugar a las lesiones destructivas del enfisema. Sin embargo, esto, por sí solo, no es suficiente para producir lesiones parenquimatosas. La reserva de PI es más que suficiente para inhibir toda la elastasa que se vierte; solamente un 0,34 % de la PI obtenida en el LBA de fumadores se encuentra formando complejos con la elastasa¹¹ de forma que, incluso en los grandes

fumadores, nos encontramos con una gran reserva de PI para proteger al parénquima de una sobrecarga de enzimas proteolíticos. Esto ha llevado a investigar los posibles mecanismos por los que pueda producirse la proteólisis a pesar de existir un exceso de PI. Podemos adelantar que la opinión más extendida es que, en estos casos, como consecuencia de la acción directa del humo del tabaco y sobre todo por su acción sobre las células inflamatorias que les hace generar diversos oxidantes, la PI sufre una inactivación oxidativa con lo que ya no es capaz de inhibir adecuadamente los enzimas proteolíticos de los LPN. Se darían, pues, dos de las condiciones que comentábamos anteriormente: una disminución (funcional) de la PI y un aumento del vertido de proteinasas. Analizaremos a continuación la posible inactivación de la PI en los fumadores; constituye la llamada *teoría oxidativa del enfisema pulmonar*, que nace de los trabajos *in vitro* del grupo de Janoff en los que demostraron que el humo de cigarrillos disminuía apreciablemente la capacidad de la PI para inhibir la elastasa²⁸.

Todas las células inflamatorias presentes en los alveolos, monocitos, macrófagos alveolares y LPN entre los que se encuentran los eosinófilos, son capaces de generar sustancias oxidantes cuando son estimuladas. Esto juega un papel primordial en la defensa del pulmón frente a los microorganismos. Sin embargo, también pueden ser generadas por estímulos no infecciosos como el humo de cigarrillos y, en este caso, su efecto en lugar de ser beneficioso resulta deletéreo. En general las sustancias quimiotácticas, además de atraer a los LPN, los estimulan con lo que liberan oxidantes. Estos consisten en especies reactivas del oxígeno, radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidróxilo (OH^-) y, secundariamente, por la acción de las peroxidasas de las células inflamatorias sobre el H_2O_2 , aniones hipohalogenados, particularmente el ácido hipoclorítico y la yodina. Si se tiene en cuenta el gran número de células inflamatorias presentes en el intersticio y alveolos de los fumadores, hay que suponer la existencia de un importante potencial oxidante en estas localizaciones.

Además de los oxidantes procedentes de las células inflamatorias, el humo de cigarrillos contiene asimismo importantes cantidades de oxidantes, tanto en su parte gaseosa como en las partículas en suspensión, lo que contribuye a aumentar el potencial oxidativo en los fumadores. Otros oxidantes presentes en el aire ambiental, particularmente el dióxido de nitrógeno (NO_2) y el ozono (O_3) pueden producir lesiones enfisematosas en el animal de experimentación, aunque no parece que la polución atmosférica juegue un papel importante en la patogenia del enfisema pulmonar.

Como es lógico, el tracto respiratorio inferior dispone de sustancias antioxidantes que se opon-



drán a los efectos nocivos de los oxidantes. Están localizadas tanto en el interior de las células como en la membrana de las mismas y en el líquido que recubre los alveolos. Las más importantes son la catalasa y la ceruloplasmina. La catalasa se encuentra en el citoplasma de los neumocitos y, asimismo, en el líquido alveolar al ser liberado por las células. Actúa catalizando la conversión del peróxido de hidrógeno a agua. La ceruloplasmina es un antioxidante extracelular, el más importante en el sistema antioxidante de la sangre, que impide la formación del altamente tóxico radical hidroxilo a partir del peróxido de hidrógeno. Otros antioxidantes, cuyo papel *in vivo* está menos aclarado, son: el sistema del glutatión, de localización intracelular y en menor proporción extracelular, la vitamina E en la membrana celular y la vitamina A, la metionina y la bilirrubina en el espacio extracelular. La superóxido dismutasa, aunque no sea realmente un antioxidante, indirectamente, actuando en conjunción con la catalasa y el glutatión ayuda a la detoxificación del peróxido de hidrógeno²⁹. Debe tenerse en cuenta, que casi todo el conocimiento que tenemos de la interacción oxidantes—antioxidantes en el pulmón, deriva de experimentación *in vitro* y alguna en individuos normales, por lo que es posible que no sea extrapolable a la situación que se presenta en el individuo fumador.

Teóricamente, un exceso de oxidantes en el parénquima pulmonar podría, por sí solo, producir lesiones celulares y del tejido de sostén y así ha podido comprobarse *in vitro*. Sin embargo, la elastina cuya degradación es fundamental para la producción de lesiones enfisematosas, no se afecta por la oxidación. Por otro lado, el resultado de una sobrecarga de oxidantes en los alveolos, en el animal de experimentación, es una fibrosis pulmonar y no la destrucción alveolar³⁰. Así pues, los oxidantes actuarían, no directamente sobre las estructuras del parénquima, sino disminuyendo la capacidad funcional de la PI para inhibir la elastasa. De este modo, el exceso de proteinasas presente en las vías aéreas terminales y alveolos de los fumadores no podría ser inhibido por una PI parcialmente inactivada por los oxidantes.

La oxidación de la PI tiene lugar a nivel del aminoácido metionina situado en la posición 358 de la molécula de PI que, como dijimos anteriormente, es el lugar donde interacciona con la elastasa, resultando en la inhibición del enzima. En condiciones normales, la constante de asociación de la PI con la elastasa es muy elevada de forma que ésta resulta inhibida antes de que pueda dañar las estructuras alveolares. Tras su oxidación, la constante de asociación disminuye unas 2.000 veces con lo que su acción protectora de la proteólisis ya no puede realizarla adecuadamente. Además, los complejos PI—elastasa ya no son tan estables como los que forma la PI no oxidada. La capaci-

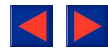
dad de inhibición de la tripsina y otras proteinasas como la quimotripsina, resulta mucho menos afectada.

La pregunta es ahora: ¿tiene lugar en los alveolos del fumador esta inhibición oxidativa de la PI? La respuesta afirmativa la dieron simultáneamente Janoff et al³¹ en el animal de experimentación y Crystal et al en el hombre³². El segundo grupo encontró, tanto en la sangre como en el LBA de fumadores, una disminución significativa de la actividad inhibitoria de la PI que consideraron suficiente para explicar el desarrollo de lesiones proteolíticas. A conclusiones similares llegaron los investigadores del primer grupo. Sin embargo, estos resultados no han podido ser corroborados por otros grupos.

Stone et al³³, por ejemplo, no pudieron demostrar una disminución funcional de la PI obtenida de los LBA de individuos fumadores. Hay trabajos publicados en la literatura en ambos sentidos y, en mi opinión, no se puede dar todavía una respuesta definitiva. Aunque se haya podido demostrar la presencia de residuos de metionina oxidados en LBA de fumadores³⁴, esto no es suficiente para poder afirmar categóricamente que se produzca en el alveolo un desequilibrio proteólisis-antiproteólisis como consecuencia de una inactivación oxidativa de la PI.

Así pues, tal como se formula actualmente la teoría proteolítica, el enfisema pulmonar del fumador, que es el habitual, ya que el debido a una deficiencia congénita homocigótica de PI no supone más de un 2 % de los enfisemas, sería la consecuencia de dos factores: 1) un acúmulo de células inflamatorias, sobre todo LPN, productoras de proteinasas, fundamentalmente elastasas, en los espacios alveolares y, lo que posiblemente sea más importante, en el intersticio pulmonar, que al ser estimuladas directamente por componentes del humo de tabaco e indirectamente por factores quimiotácticos, liberarían estos enzimas; 2) una inactivación oxidativa de la PI y del inhibidor del moco bronquial por las sustancias oxidantes del humo de cigarrillo y las generadas por las células inflamatorias por la acción de éste. Se produciría de este modo una deficiencia de PI similar a la que tiene lugar en la forma genética, que en este caso sería funcional y adquirida. De forma esquemática, esta posibilidad se representa en la figura 1 c.

Sin embargo, aún admitiendo esta posibilidad en el desarrollo del enfisema pulmonar en los fumadores, que insisto en que se basa ampliamente en observaciones *in vitro* y en muchas ocasiones pendientes de confirmar, no contestaría satisfactoriamente a todas las incógnitas que rodean a la patogenia del enfisema. En primer lugar, no todos los individuos con una deficiencia homocigótica de PI desarrollan un enfisema. Tampoco lo hacen todos los fumadores; por el contrario son los menos. Otro dato realmente inquietante para la teoría



proteolítica es el reciente hallazgo de Ludwig et al³⁵ en un cuidadoso estudio morfológico, de un número similar de LPN en el parénquima pulmonar de fumadores, tanto si tenían enfisema como si no lo tenían. Todo ello hace pensar en que debe existir algún otro u otros factores que hagan posible el desarrollo de las lesiones; lo que sin saber en realidad a qué nos referimos podemos englobar como «susceptibilidad» de estos individuos. ¿Podría tratarse de algún defecto constitucional en la síntesis, o en la resíntesis tras su destrucción, de alguno de los componentes del tejido de sostén del parénquima pulmonar? A priori resulta una teoría atractiva que sólo en los últimos años ha comenzado a estudiarse.

Uno de los caminos que están siguiéndose en la actualidad, es el estudio del desarrollo de los diversos componentes celulares y no celulares del pulmón durante la vida fetal: cuando aparecen, cómo se organizan y, un aspecto muy importante, cómo interaccionan unos con otros, particularmente las interacciones entre las células mesenquimales —como los fibroblastos— y las células epiteliales y los diversos sistemas enzimáticos implicados. Podría demostrarse cómo alguna anomalía, que suceda espontáneamente o inducida en el animal de experimentación, es capaz de hacer el pulmón más vulnerable a la destrucción por un mecanismo proteolítico o de otra índole. Una vez conocido el desarrollo normal del pulmón, posiblemente podría averiguarse también el o los mecanismos por los que se lleva a cabo la reconstrucción de su arquitectura tras diversos tipos de lesiones y las anomalías que conducen a un curación defectuosa con las secuelas de lesiones destructivas, fibróticas o de otro tipo. En este sentido, ha podido demostrarse en el animal de experimentación que tras la inducción del enfisema, el humo de cigarrillo produce una disminución de la actividad del enzima lisil-oxidasa pulmonar, fundamental para la neosíntesis de la elastina y de la colágena³⁶.

Otro camino, en cierto modo paralelo, es el aislamiento de los genes correspondientes con los que sintetizar los componentes del tejido de sostén, lo que permitirá analizar los mecanismos por los que pueden alterarse y hacerse más vulnerables. Recientemente Joel Rosenbloom ha podido aislar el gen de la elastina (comunicación personal).

Paralelamente a todas estas investigaciones sobre la etiología y la patogenia del enfisema pulmonar, se están desarrollando importantes trabajos encaminados a su tratamiento patogénico. Creo conveniente siquiera mencionarlos, ya que de ellos se derivarán a su vez en un futuro importantes avances en el conocimiento de la patogenia del enfisema.

El primero de estos estudios fue llevado a cabo por el grupo de Crystal en los «National Institutes of Health» (Bethesda, EEUU) a principios de esta

década de los 80. La administración de PI obtenida del plasma de individuos con concentraciones normales de este inhibidor a sujetos con una deficiencia homocigótica de PI, era capaz de elevar su concentración sérica hasta niveles propios de deficientes heterocigóticos que son suficientes, en ausencia de hábito tabáquico, para evitar el desarrollo de enfisema pulmonar. Concordantemente, desaparecía la elastasa libre en el LBA¹³. Como consecuencia de estos estudios se iniciaron otros dos: 1) la obtención industrial de PI a partir del plasma, lo que se ha conseguido utilizando la fracción IV-1 de Cohn, que es uno de los productos que suelen desecharse en el proceso de obtención de albúmina y de inmunoglobulinas; 2) la utilización de la ingeniería genética para producir grandes cantidades de PI que, además, mediante la sustitución del aminoácido metionina en posición 358 por otro (generalmente valina) resistente a la oxidación impediría la inactivación oxidativa del inhibidor. El gen de la PI ha sido clonado tanto en bacterias (*E. coli*) como en levaduras³⁷. Aunque existen problemas de antigenicidad y algunos otros, como su menor permanencia en sangre que la PI de origen humano, no cabe duda de que no tardarán en ser resueltos.

No obstante, la administración de PI sólo beneficiaría a deficientes homocigóticos de PI en los que podría prevenirse el desarrollo de un enfisema. Sin embargo, la mayoría de enfisemas, los asociados al consumo de cigarrillos sin una deficiencia asociada de PI no se beneficiarían de este tratamiento. Para estos casos, los esfuerzos se han dirigido a la elaboración de inhibidores sintéticos de la elastasa, como derivados de la cloro metil-cetona. Aunque son efectivos *in vitro* su toxicidad, particularmente hepática, impide su utilización humana. Es una investigación que ha perdido pujanza en los últimos años, entre otras cosas, porque antes de lanzarse a este tipo de estudios a gran escala deberá estar verdaderamente comprobada la teoría proteolítica del enfisema. Por último, se están comenzando a utilizar, a mi juicio todavía sin suficientes fundamentos científicos, las llamadas sustancias antioxidantes como la acetil-cisteína y otras. Supone aceptar como válida la teoría oxidativa del enfisema pulmonar y, en la actualidad, no está bien demostrada. Serán necesarios estudios bien controlados para demostrar su utilidad, que se deberían realizar antes de lanzarse a un tratamiento muy costoso que puede resultar de dudosa o nula utilidad.

En resumen, pues, parece que las lesiones destructivas del enfisema pulmonar son de naturaleza proteolítica. En la deficiencia de PI, al faltar una cantidad adecuada de este inhibidor enzimático, la producción de lesiones destructivas por enzimas con capacidad elastolítica parece lógica. No está tan clara la patogenia del enfisema habitual, el que se produce en fumadores con una cantidad normal



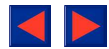
de PI en el parénquima pulmonar. Para explicarlo se ha recurrido a la teoría oxidativa según la cual se produciría una deficiencia funcional de PI con lo que, a fin de cuentas, se daría una situación similar a la que se produce en la deficiencia homocigótica de PI. No obstante, que esto sea así no está suficientemente demostrado en la actualidad, aunque bien podría estarlo en el futuro. En cualquier caso, la patogenia del enfisema no tiene porqué ser unitaria en ambos casos. El estudio del desarrollo fetal de los diferentes componentes del tejido de sostén del pulmón, su relación con las células epiteliales y su comportamiento durante el período de reconstrucción subsiguiente a una lesión, puede arrojar mucha luz para entender tanto la patogenia del enfisema pulmonar como de los procesos conducentes a una fibrosis. El conocimiento de la patogenia de estas lesiones conducirá, sin duda, a un correcto tratamiento o prevención de las mismas. No obstante, no debemos olvidar que la prevención más eficaz es abstenerse de fumar.

Por supuesto, en este artículo no he pretendido hacer una revisión exhaustiva de la patogenia del enfisema pulmonar, sino dar una visión personal de cómo están las cosas en el momento actual. El lector interesado, puede encontrar una información muy completa en dos «State of the Art» y un suplemento, aparecidos en los últimos cinco años en la revista *American Review of Respiratory Diseases*, cuyas citas bibliográficas añado a la bibliografía de este artículo con los números 38, 39 y 40.

BIBLIOGRAFIA

1. Gross P, Babyak MA, Tolker E, Kaschac M. Enzymatically produced pulmonary emphysema. A preliminary report. *J Occup Med* 1964; 6:481-484.
2. Marco V, Meranze DR, Yoshyda M, Kimbel P. Papain-induced experimental emphysema in the dog. *J Appl Physiol* 1972; 33:293-299.
3. Eriksson S. Pulmonary emphysema and alpha 1-antitrypsin deficiency. *Acta Med Scand* 1964; 175:197-205.
4. Marco V, Mass B, Meranze DR, Weinbaum G, Kimbel P. Induction of experimental emphysema in dogs using leukocyte homogenates. *Am Rev Respir Dis* 1971; 104:595-598.
5. Janoff A, Sloan B, Weinbaum G et al. Experimental emphysema induced with purified human neutrophil elastase. Tissue localization of the instilled protease. *Am Rev Respir Dis* 1977; 115:461-478.
6. Cohen A, Batra G, Petersen R, Podany J, Nuguen E. The size of the pool of alveolar neutrophils in normal rabbit lungs. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1979; 47:440-444.
7. Marco V, Marco J, Ocio G. Lung sequestration of polymorphonuclear leukocytes and proteolysis. Influence of tobacco. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123(suppl):220.
8. Dijkman JH, Franken C, Kramps JA, Meijer CJLM. Enzymes and enzyme-inhibitors in the small airways. *Eur J Respir Dis* 1982; 121(suppl):53-59.
9. Gauthier F, Frykmark V, Ohlson K, Bieth JG. Kinetics of the inhibition of leukocyte elastase by the bronchial inhibitor. *Biochim Biophys Acta* 1982; 700:178-183.

10. Johnson D, Travis J. The oxidative inactivation of human alpha 1-proteinase inhibitor: further evidence for methionine at the reactive center. *J Biol Chem* 1979; 254:4022-4026.
11. Jochum M, Pelletier A, Boudier C, Pauli G, Bieth JG. The concentration of leukocyte elastase-alpha 1-proteinase inhibitor complex in alveolar lavage fluids from healthy human subjects. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:913-914.
12. Janoff A, Raju L, Dearing R. Levels of elastase activity in bronchoalveolar lavage fluids of healthy smokers and nonsmokers. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:540-544.
13. Gadek JE, Hunninghake GW, Fells GA et al. Validation of the alpha 1-antitrypsin hypothesis: recovery of active, connective tissue-specific proteases from the lung of PiZ patients and reversal with alpha 1-antitrypsin replacement therapy (abstract). *Clin Res* 1981; 49:550.
14. Galdston M, Jannoff A, Davis AL. Familial variation of leukocyte lysosomal protease and serum alpha 1-antitrypsin as determinants in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1973; 107:718-727.
15. Howell RW. Smoking habitats and laboratory tests. *Lancet* 1971; ii:152.
16. Sparrow D, Glynn RJ, Cohen M, Weiss ST. The relationship of the peripheral leukocyte count and cigarette smoking to pulmonary function among adult men. *Chest* 1984; 86:383-386.
16. Scheer P. Über den Einfluss des Nicotins auf das leukocytaire Blutbild des Menschen. *Z Gesamte Exp Med* 1940; 107:219-227.
17. Winkel P, Statland BE. The acute effect of cigarette smoking on the concentrations of blood leukocyte types in healthy young women. *Am J Clin Pathol* 1981; 75:781-785.
18. Marco V, Nauffal D, Gil J et al. Polymorphonuclear leukocytes do not rise acutely in response to cigarette smoke inhalation. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131(suppl):A213.
19. Nauffal D, Gil J, Marco V. Elevated blood leukocytes in smokers do not decrease in the days following stopping smoking. *Eur J Respir Dis* 1986; 69(suppl No 146):A117.
20. Marco V, Arriaga F, Gil J et al. Bone-marrow germinal cells are stimulated in smokers: a possible mechanism of leukocyte elevation. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133(suppl):A54.
21. Hunninghake G, Gadek J, Crystal R. Human alveolar macrophage neutrophil chemotactic factor: stimuli and partial characterization. *J Clin Invest* 1980; 66:473-483.
22. Merrill WW, Naegel GP, Matthey RA, Reynolds HY. Alveolar macrophage-derived chemotactic factor. Kinetics of in vitro production and partial characterization. *J Clin Invest* 1980; 65:268-276.
23. Kazmierowski JA, Gallin JI, Reynolds HY. Mechanism for the inflammatory response in primate lungs. *J Clin Invest* 1977; 5:273-281.
24. Kew RR, Ghebrehwet B, Janoff A. Cigarette smoke can activate the alternative pathway of complement in vitro by modifying C3. *J Clin Invest* 1985; 75:1000-1007.
25. Totti N, McCusker KT, Campbell EJ, Griffen GL, Senior RM. Nicotine is chemotactic for neutrophils and enhances neutrophil responsiveness to chemotactic peptides. *Science* 1984; 233:169-171.
26. Senior RM, Griffen GL, Mecham RP. Chemotactic activity of elastin-derived peptides. *J Clin Invest* 1980; 66:859-862.
27. Orlowski M, Orlowski J, Lesser M, Kilburn KH. Proteolytic enzymes in bronchopulmonary lavage fluids: cathepsin B-like activity and prolyl endopeptidase. *J Lab Clin Med* 1981; 97:467-476.
28. Janoff A, Carp H. Possible mechanism of emphysema in cigarette smokers: cigarette smoke condensate suppresses proteinase inhibitors «in vitro». *Am Rev Respir Dis* 1977; 116:65-72.
29. Cantin A, Crystal RG. Oxidant, antioxidants and the pathogenesis of emphysema. *Eur J Respir Dis* 1985; 66(suppl):7-17.
30. Johnson KJK, Fantone JC, Kaplan J, Ward PI. In vivo damaged rat lungs by oxygen metabolites. *J Clin Invest* 1981; 67:983-993.
31. Janoff A, Carp H, Lee DK, Drew RT. Cigarette smoke inhalation decreases alpha 1-antitrypsin activity in rat lung. *Science* 1979; 206:1313-1314.



32. Gadek JE, Fells GA, Crystal RG. Cigarette smoking induces functional antiprotease deficiency in the lower respiratory tract of humans. *Science* 1979; 206:1315-1316.
33. Stone PJ, Calore JD, McGowan SE, Bernado J, Snider GL, Franzblau C. Functional alpha 1-protease inhibitor in the lower respiratory tract of cigarette smokers is not decreased. *Science* 1983; 221:1187-1189.
34. Carp H, Miller F, Hoidal J, Janoff A. Alpha 1-proteinase inhibitor purified from lungs of cigarette smokers contains oxidized methionine and has decreased elastase inhibitory capacity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 779:2041-2045.
35. Ludwig PW, Schwartz BA, Hoidal JR, Niewoehner DE. Cigarette smoking causes accumulation of polymorphonuclear leukocytes in alveolar septum. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131:828-830.
36. Osman M, Cantor JO, Roffman S, Keller S, Turino GM, Mandl I. Cigarette smoke impairs elastin resynthesis in lungs of hamsters with elastase-induced emphysema. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:640-643.
37. Cabezon T, DeWilde M, Herion P, Loriau R, Bollen A. Expression of human alpha 1-antitrypsin cDNA in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81:6594-6598.
38. Snider GL. The pathogenesis of emphysema. Twenty years of progress. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124:321-324.
39. Cohen AB, ed. Supplement: proteases and antiproteases in the lung. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127(Part 2):S2-S58.
40. Janoff A. Elastases and emphysema. Current assessment of the protease-antiprotease hypothesis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:417-433.