



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Lesão aguda pulmonar induzida por choque séptico

A aplicação de células estaminais

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Ciências Farmacêuticas

Inês Jorge Voyce

Trabalho efetuado sob a orientação do Professor Doutor João Pedro

Fidalgo Rocha

Faro, Setembro de 2015



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Lesão aguda pulmonar induzida por choque séptico

A aplicação de células estaminais

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Ciências Farmacêuticas

Inês Jorge Voyce

Trabalho efetuado sob a orientação do Professor Doutor João Pedro

Fidalgo Rocha

Faro, Setembro de 2015

Lesão aguda pulmonar induzida por choque séptico

A aplicação de células estaminais

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Copyright© Inês Jorge Voyce

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Ao John, à Paula e à Sofia.

Agradecimentos

Esta dissertação não teria sido realizada sem o apoio incondicional de várias pessoas, pelo que não posso deixar de lhes agradecer pelo seu conhecimento e experiência.

Ao Professor Doutor João Pedro Fidalgo Rocha, sem o qual não me imaginava a escrever uma dissertação, quero deixar os meus mais sinceros agradecimentos por toda a orientação que me deu. Sempre me soube motivar, desde a primeira aula de Farmacologia que nos deu.

A todos os professores que contribuíram para o meu enriquecimento pessoal, e para que me tornasse a farmacêutica que sou agora, um genuíno “obrigada”. O conhecimento de nada serve se não o soubermos transmitir aos que nos seguem, e espero saber fazê-lo daqui em diante tão bem quanto o fizeram comigo.

À Universidade do Algarve e ao Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, que me deram 5 anos que mudaram a minha vida.

E por fim, não posso deixar de agradecer às pessoas que me acompanharam neste percurso.

À Real e à Ana, pelas irmãs que foram.

À Dani, ao Guarino, ao Rúben, ao Wilson, à Rita, à Isa, à Bruna e à Bárbara, por toda a amizade e companheirismo e pela turma unida que fomos.

À Sara, à Ana, à Margarete e ao João, pela sua amizade.

Aos meus pais, por me amarem e apoiarem incondicionalmente.

À minha irmã, pela paciência e amizade.

Resumo

Com cerca de 135000 casos por ano na Europa e 215000 casos por ano nos Estados Unidos, a sépsis permanece um dos maiores desafios médicos por resolver. Apesar do seu diagnóstico precoce e início de tratamento, as taxas de mortalidade nas unidades de cuidados intensivos permanecem de 32.2% para a sépsis grave e de 54.1% para o choque séptico. O Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda e Lesão Aguda Pulmonar (SDRA/LAP) são frequentes complicações de sépsis resultando frequentemente em ventilação mecânica prolongada com mortalidades de cerca de 30 a 50%. Esta monografia foca-se na lesão aguda pulmonar indireta, nomeadamente a induzida por sépsis, sendo esta a etiologia mais frequente responsável por este tipo de lesão. Será feita uma análise dos principais mecanismos fisiopatológicos envolvidos, suas consequências e estratégias terapêuticas.

Atualmente os procedimentos essenciais no tratamento de SDRA/LAP passam pelo controlo do fator precipitante/causal, nomeadamente a causa da infeção, e pelo suporte de disfunção de órgãos, como o suporte da função respiratória. Estratégias como a gestão de fluidos, uso de corticosteroides e de surfactante pulmonar são também importantes terapêuticas adjuvantes. Recentemente, vários avanços na investigação revelaram também o potencial do uso de células estaminais na reparação e regeneração de diversos tecidos, incluindo o pulmonar. Estas descobertas sugerem novas abordagens tanto de prognóstico como terapêuticas na sépsis e SDRA/LAP. Nesse sentido, serão abordadas as atuais opções terapêuticas na lesão aguda pulmonar induzida por sépsis, bem como as possíveis terapêuticas alternativas para o futuro, tendo por base os mecanismos fisiológicos subjacentes.

Ao longo dos anos têm-se verificado grandes progressos no tratamento de lesão aguda pulmonar. No entanto, novas estratégias são necessárias para reduzir a morbidade/mortalidade associada a este síndrome, e nesse sentido, esta monografia focar-se-á no estudo dos mecanismos fisiopatológicos da doença e nas diferentes abordagens a utilizar na sua terapêutica.

Palavras-chave: sépsis, lesão pulmonar, inflamação, células estaminais.

Abstract

With about 135000 cases per year in Europe and 215000 cases per year in the United States, sepsis remains one of the biggest medical challenges unresolved. In spite of its early diagnosis and start of treatment, mortality rates in the intensive care units are 32,2% for severe sepsis and 54,1% for septic shock. The Acute Respiratory Distress Syndrome and Acute Lung Injury are frequent complications that arise during sepsis, frequently causing prolonged mechanical ventilation with mortality rates from 30 to 50%. This dissertation is focused on the acute lung injury caused by sepsis, which is the most frequent cause of indirect acute lung injury. An analysis shall be made of the major pathophysiological mechanisms, its consequences and therapeutic strategies.

Currently, the main procedures in treating Acute Lung Injury/Acute Respiratory Distress Syndrome involve control of the precipitant factor, as is the cause of infection for instance, and the support of organ dysfunction, as is the respiratory support. Strategies as fluid management, corticosteroids and pulmonary surfactant are also important assisting techniques. Recently, several advances in investigation have revealed the potential of mesenchymal stem cell use in repairing and regenerating tissues, including pulmonary tissue. These discoveries suggest new approaches for treating sepsis and Acute Lung Injury / Acute Respiratory Distress Syndrome. As such, this dissertation shall consider the current treatment options, as well as the possible alternative treatments for the future.

Throughout the years there have been great progresses made in the treatment of pulmonary injury. However, new approaches are necessary to reduce the morbidity/mortality associated with this disease, and so this dissertation shall focus on the study of the pathophysiological mechanisms of the disease and the different approaches to use in its therapy.

Key words: sepsis, pulmonary injury, inflammation , stem cells.

Índice Geral

Agradecimentos.....	iv
Resumo.....	v
<i>Abstract</i>	vi
Índice Geral.....	vii
Índice de Figuras.....	ix
Índice de Tabelas.....	x
Lista de Abreviaturas, Siglas.....	xi
1. Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica.....	1
1.1. Definição.....	1
1.2. Etiologia.....	3
1.3. Mecanismos fisiopatológicos.....	4
1.4. Consequências fisiopatológicas.....	11
1.5. Estratégias terapêuticas.....	13
2. Lesão Aguda Pulmonar/Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda Induzida por Choque Séptico.....	19
2.1. Aspectos da anatomia e fisiologia pulmonar.....	19
2.2. Definição de Lesão Aguda Pulmonar/Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda.....	22
2.3. Etiologia.....	26
2.4. Mecanismos fisiopatológicos.....	26
2.5. Consequências fisiopatológicas.....	34
3. Estratégias terapêuticas.....	35
3.1. Controlo do fator precipitante ou causal.....	35
3.2. Ventilação mecânica.....	36
3.3. Posição de decúbito ventral.....	38

3.4. Reposição de surfactante	39
3.5. Gestão de fluidos.....	39
3.6. Inalação de Monóxido de Azoto	40
3.7. Corticosteróides	41
3.8. Outras terapêuticas	41
4. Papel das Células Estaminais na Lesão Aguda Pulmonar.....	43
4.1. Novas abordagens terapêuticas na LAP/SDRA e na sépsis	43
4.2. Fisiologia das Células Estaminais e seus efeitos protetores na lesão aguda pulmonar	45
4.3. A sua utilização no prognóstico da doença	47
4.4. A sua utilização na terapêutica: células mesenquimais do estroma	48
4.5. A sua utilização na terapêutica: células endoteliais progenitoras.....	54
Síntese e Conclusões	55
Bibliografia.....	57

Índice de Figuras

Figura 1-1- Esquema representando os diversos mecanismos que ocorrem na sépsis. Adaptado de Pop Began, 2014. ²¹	9
Figura 2-1- Esquema representando o sistema respiratório. Retirado de Charamlapidis, 2015. ²⁹	20
Figura 2-2 - Esquema representando a disrupção das ligações de VE-caderina. Retirado de Ware e Matthay, 2000. ⁴²	30
Figura 2-3 - Esquema representando as principais lesões na fase aguda de LAP/SDRA. Retirado de Ware e Matthay, 2000. ⁴²	32
Figura 2-4 - Esquema representando a resolução da fase aguda de LAP. Retirado de Ware e Matthay, 2000. ⁴²	33
Figura 4-1- Esquema representando o mecanismo de atuação do NFκB. Retirado de Klosterhalfen, 1998. ⁷⁹	44
Figura 4-2- Esquema representando os efeitos terapêuticos das MSCs. Retirado de Matthay, 2010. ⁸³	46
Figura 4-3- Esquema representando os mecanismos protetores das MSCs. Adaptado de Cárdenes, 2013 ⁹⁰	53

Índice de Tabelas

Tabelas

Tabela 1-1 - Critérios de diagnóstico de SRIS. Adaptado de Bone et al, 1992. ^{6,9}	2
Tabela 2-1- Índice de Agressão Pulmonar. Adaptado de Murray et al. ³⁴	25

Lista de Abreviaturas, Siglas

CEC - Células endoteliais circulantes

DMO - Disfunção múltipla orgânica

EPC - Células endoteliais progenitoras

IAP - Índice de Agressão Pulmonar

IFN- γ - Interferão- γ

IL- Interleucina

IL-1ra - Recetor antagonista para a IL-1

KGF - Fator de crescimento de queratinócitos

LAP - Lesão aguda pulmonar

LPS - Lipopolissacáridos

LBP – *Lipopolyssacharide binding protein*

MIF - Fator inibitório de macrófagos

MSC - Células mesenquimais do estroma

NF κ B - Fator de transcrição nuclear kappa B

NLR - *Nucleotide oligomerization domain-like receptors*

NOS - Sintase de monóxido de azoto

PAF - Fator de ativação de plaquetas

PMAAP - Padrões moleculares associados a agentes patogénicos

PEEP - Pressão expiratória final positiva

ROS - Espécies reativas de oxigénio

SIRS - Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica

TLR - Toll-like receptors

TNF - Fator de necrose tumoral

TSST-1 - *toxic shock syndrome toxin-1*

1. Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica

1.1. Definição

Para a sobrevivência de qualquer organismo é fundamental a sua capacidade de se libertar de invasores ou de tecidos danificados ou necróticos. O mecanismo através do qual o faz é o processo da inflamação.

A inflamação é uma reação complexa que ocorre nos tecidos, designada a eliminar do organismo tanto a causa inicial de lesão celular como os próprios tecidos e células lesadas. As principais defesas do organismo são proteínas plasmáticas e leucócitos circulantes, bem como macrófagos teciduais que derivam de células circulantes.¹

A resposta inflamatória coordena as reações dos vasos sanguíneos, leucócitos e proteínas plasmáticas de maneira a que estas defesas circulantes sejam rapidamente recrutadas para os locais extravasculares. Estas reações são postas em ação por fatores solúveis produzidos por diversas células ou derivados das proteínas plasmáticas, e que são gerados na presença de um estímulo como um microrganismo, células necróticas ou hipóxia.¹

A inflamação termina quando o agente nocivo é eliminado, havendo num organismo saudável um mecanismo anti-inflamatório que é ativado de maneira a controlar a resposta inflamatória e a prevenir que seja causado dano excessivo ao organismo.¹

Apesar de ser um importante mecanismo de proteção do organismo, a inflamação é prejudicial em certas situações, pelo que até já é apelidada de “silent killer” pelos *media* devido às suas vastas consequências nocivas.¹

Os mesmos mecanismos de defesa que são benéficos quando localizados poderão tornar-se prejudiciais quando ativados sistemicamente.²

É importante referir que a inflamação sistémica pode ser tanto consequência de uma infeção de qualquer parte do corpo, como de estados não-infeciosos como a pancreatite ou o Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda.³

As manifestações clínicas de uma inflamação sistémica contínua divergem de uma simples febre a choque e morte. É importante então definir os diferentes estados relacionados com a inflamação.

O termo sépsis é um dos conceitos mais antigos da prática médica, tendo a sua definição sofrido diversas alterações ao longo do tempo. Hipócrates assim chamou ao processo através do qual os tecidos apodreciam, Galeno o considerou necessário ao processo de cura, e com a

teoria do germe de Semmelweiss, a sépsis foi “redefinida” como uma infecção sistêmica, ou seja, o resultado de uma invasão por um organismo patogénico que se espalharia na corrente sanguínea.⁴

Por volta de 1879, Pasteur demonstrou pela primeira vez a presença de bactérias no sangue de doentes com septicémia.⁵ Com a morte de vários doentes sépticos mesmo após erradicação do organismo patogénico, foi sugerido ser o hospedeiro e não o germe, que originava a patogénese da sépsis.⁴

Como o termo sépsis implicava uma resposta clínica proveniente de uma infecção, mas sendo esta resposta também passível de ocorrer na ausência de infecção, tornou-se necessário uma revisão dos termos e critérios de diagnóstico utilizados.

Foi em 1991 que numa conferência entre a American College of Chest Physicians e a Society of Critical Care Medicine surgiu o termo de Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica.⁶ O diagnóstico de Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) ficou definido pela presença de pelo menos dois dos seguintes critérios: uma regulação de temperatura inadequada, taquicardia, hiperventilação e/ou alterações na contagem ou diferenciação de leucócitos, como está descrito na Tabela 1.^{3,6-8}

Critérios de diagnóstico de Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica	
Temperatura corporal	Acima dos 38°C ou abaixo dos 36°C
Pulsção	Acima dos 90 batimentos por minuto
Hiperventilação	Frequência respiratória acima das 20 inspições por minuto ou P_{CO_2} inferior a 32 mm Hg
Contagem de leucócitos	Superior a 12000 células por μ l ou inferior a 4000 células por μ l

Tabela 1-1 - Critérios de diagnóstico de SRIS. Adaptado de Bone et al, 1992.^{6,9}

Bone et al definiram uma série de termos relacionados com a resposta inflamatória. A **sépsis** passou a ser definida como a SIRS quando há clara evidência de infecção; a **sépsis grave** ficou definida como sépsis em associação com disfunção aguda de um ou mais órgãos ou hipotensão induzida por sépsis (na ausência de outras causas para hipotensão); e o **choque**

séptico foi definido como sépsis com hipotensão refratária a terapia de volume e com evidência de disfunção orgânica terminal.⁶

Estes termos tornaram-se, no entanto, tão utilizados pela comunidade científica que se tornou necessário uma revisão das definições de 1992 para melhor refletir o conhecimento acerca destes síndromes. Numa conferência para a definição da sépsis em 2001, tentou-se “redefinir” estes conceitos para melhor se adaptarem à realidade. Por exemplo, o termo sépsis descreve a existência de uma infecção bem como uma resposta inflamatória; contudo, é importante notar que muito frequentemente existe suspeita de uma infecção sem que esta seja confirmada microbiologicamente. Devido a estas limitações, foram criados uma série de critérios de diagnóstico para a sépsis que, embora não sejam específicos da patologia, ajudassem no seu diagnóstico *mesmo que* existisse apenas uma suspeita de infecção. São exemplos instabilidade hemodinâmica, hipoxemia arterial, oligúria, coagulopatia, testes de função hepática alterados¹⁰

A definição de **sépsis grave** permaneceu inalterada e é agora considerada a causa de morte mais comum em unidades de cuidado intensivo não-coronário. Neste caso, a disfunção aguda de órgãos poderia ser definida por lesão aguda pulmonar, alterações na coagulação, trombocitopenia, estado mental alterado, ou falência cardíaca, hepática ou renal.^{10,11}

O conceito de **choque séptico** ficou definido como um estado de falência circulatória aguda caracterizada por hipotensão não associada a outras causas e refratária a terapia de volume, sendo muitas vezes complicado pelo desenvolvimento de Síndrome de Disfunção Orgânica Múltipla, definido como uma disfunção orgânica num paciente em estado severo que requer intervenção para manter a homeostase.^{3,10,12}

1.2. Etiologia

O Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica pode ser originado, como já foi previamente mencionado, tanto por uma agressão infecciosa como por causas não-infecciosas, como são exemplos queimaduras, traumas, pancreatites, sendo a mais comum uma reação adversa cutânea.^{13,14}

Infeções no tórax, abdómen, sistema genitourinário e diretamente na circulação constituem a causa de mais de 80% dos casos de sépsis.⁵ Destas, a principal causa de sépsis tem sido documentada como sendo infeções do trato urinário.¹⁴ Apesar disto, tem-se

observado um decréscimo nas taxas de incidência de infeções genitourinárias como origem de sépsis ao longo dos anos, ao invés das taxas de incidência de bacteriemia e pneumonia onde se observa um grande aumento.⁵

A maioria (30-50%) dos casos de sépsis são causados por infeções por bactérias Gram-positivas, e infeções por múltiplos microrganismos constituem 25% dos casos. Contudo, o que mais tem preocupado os profissionais de saúde é o facto de bactérias resistentes a múltiplos fármacos e fungos serem agora a origem de cerca de 25% das infeções.⁵

As causas mais frequentes de evolução para sépsis grave são tanto as infeções relacionadas com cuidados de saúde como as adquiridas na comunidade. Pneumonia é responsável por metade dos casos, seguida de infeções intra-abdominais e do trato urinário. Os fatores de risco para sépsis grave estão relacionados tanto com a predisposição do doente para a infeção como para a probabilidade de disfunção orgânica múltipla caso desenvolva uma infeção. Entre estes destacam-se o síndrome de imunodeficiência adquirida, doença pulmonar obstrutiva crónica, múltiplas neoplasias e o uso de imunossupressores.^{4,14} Os mesmos fatores influenciam a progressão para choque séptico e possível morte.

1.3. Mecanismos fisiopatológicos

O fenómeno da inflamação é caracterizado por três grandes componentes: as alterações vasculares que levam a um aumento no afluxo sanguíneo do local; as alterações estruturais na microcirculação que permitem a saída de leucócitos e proteínas plasmáticas; e a própria migração destes da microcirculação, sua acumulação no local em questão e sua ativação para eliminar o agente ofensivo.¹

Esta reação pode ser ativada por diversos estímulos, nomeadamente através de moléculas libertadas por células em necrose, corpos estranhos ou até do próprio sistema imune (reações de hipersensibilidade), mas sendo o mais comum as infeções por microrganismos.¹

O processo é assim desencadeado através do reconhecimento de certos sinais de “perigo interno” por parte do sistema imunitário, e da conseqüente interação entre as células hospedeiras e estes estímulos. Por exemplo, a invasão bacteriana nos tecidos do organismo constitui a fonte de várias toxinas perigosas, que podem ou não ser neutralizadas pelo sistema imune, ou inclusive entrar na circulação sanguínea.^{7,15} Estes sinais de perigo podem ser tanto moléculas exógenas (as exotoxinas, produtos libertados pelo microrganismo, como o chamado

toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) ou a toxina A da *Pseudomonas*), como padrões moleculares associados a agentes patogénicos (os PMAAP ou endotoxinas, moléculas estruturais de superfície como os lipopolissacáridos, lipopoliproteínas, peptidoglicanos ou ácido lipopoteóico) ou “motivos” internos libertados durante a lise bacteriana, como fragmentos de ADN ou proteínas *heat-shock*.^{3,5}

Destes estímulos, aqueles considerados as causas mais comuns de SIRS são os componentes lipopolissacáridos (LPS) da parede celular das Gram-negativas. Estes apresentam uma estrutura composta por um componente sacarídeo que é variável, e um componente lipídico que parece ser sempre preservado, o lípido A. ³ Existe no organismo uma proteína solúvel que se liga ao LPS (LBP – lipopolysaccharide binding protein), formando um complexo que aumenta a resposta celular, nomeadamente macrófaga, ao LPS. Este complexo liga-se igualmente ao recetor CD14 dos monócitos e inicia a resposta inflamatória mediada pela libertação de citocinas. ³

Foi demonstrado que a infusão de LPS em humanos e animais duplica a maioria dos fenómenos que ocorrem na sépsis e choque séptico. O fenómeno descrito em humanos é uma doença semelhante à gripe, com dor de cabeça, mialgias e febre, associado por vezes a hipotensão.³

O reconhecimento destes sinais leva à ativação do sistema monócitos/macrófagos, causando a apresentação destes antigénios a outras células do sistema imunitário e à produção e secreção de uma variedade de fatores solúveis responsáveis pela ativação de outras células do sistema imune. Este sistema é o responsável pela secreção da maioria das citocinas importantes no fenómeno da inflamação. ¹⁵

Para além destes, também as células residentes nos tecidos desempenham uma importante função de defesa. Os mastócitos reagem aos estímulos referidos através da libertação de mediadores como a histamina, leucotrienos, enzimas e citocinas. ¹

Os linfócitos T-helpers (CD4+) presentes nos órgãos linfoides também fazem o reconhecimento dos antigénios apresentados pelos macrófagos e como resposta proliferam e diferenciam-se. Simultaneamente produzem uma variedade de citocinas pró-inflamatórias que, por sua vez, vão também estimular a atividade do sistema monócitos/macrófagos, bem como estimular a atividade de linfócitos T-citotóxicos e linfócitos B.^{15,16}

O reconhecimento é feito através de recetores específicos presentes na superfície destas células. Quatro famílias de recetores foram descritas até à data: toll-like receptors (TLR),

nucleotide oligomerization domain-like receptors (NLR), *C-type lectin receptors* (CLR) e RigI-helicases. A interação entre o recetor e o antigénio leva à ativação de uma série de cascatas de sinalização intracelulares que resultam na ativação do sistema imunitário.¹⁷

Numa fase inicial da infeção predomina a fase inflamatória, caracterizada pela produção e libertação de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF)- α , interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e interferão- γ (IFN- γ); e pela produção de quimiocinas, como fatores quimiotáticos para neutrófilos e macrófagos como o MCP-1 ou CXCL8 (ou interleucina-8). Estes mediadores pró-inflamatórios estimulam a atividade de neutrófilos, macrófagos e linfócitos T-helpers tipo 1, exacerbando a imunidade celular. Para além disto, alguns mediadores promovem a inflamação induzindo a libertação de monóxido de azoto, promovendo a adesão entre células endoteliais e leucócitos, ativando a cascata do complemento, e aumentando os níveis de fator de ativação de plaquetas (PAF), promovendo a coagulação.^{7,9,17}

Simultaneamente com a resposta pró-inflamatória, é gerada também uma reação anti-inflamatória, como um mecanismo de *feedback* negativo para modular os efeitos inflamatórios e prevenir danos teciduais colaterais. São produzidos mediadores anti-inflamatórios (IL-4, IL-10, IL-13 ou o antagonista do recetor da IL-1) que têm uma atividade inibitória sobre o TNF- α , o sistema de coagulação e os linfócitos-T.^{7,17}

A resposta pró-inflamatória excessiva causa um estado de SRIS, mas em contraste, uma excessiva resposta compensatória anti-inflamatória pode levar a um dano generalizado na função imunitária do organismo, um estado conhecido como “imunoparálise”. Este estado é caracterizado pela observação de um número de defeitos, incluindo respostas diminuídas de neutrófilos à quimiotaxia, expressão diminuída de recetores à superfície de monócitos (importantes na apresentação de antigénios) e apoptose leucocitária aumentada. Isto leva a uma vulnerabilidade aumentada a infeções oportunistas.^{7,17,18}

Como já foi mencionado, a libertação dos diversos mediadores tem então vários efeitos. Uma das primeiras manifestações da inflamação é a vasodilatação, induzida pela ação de mediadores como a histamina ou o monóxido de azoto no músculo vascular liso. Leva a um aumento do afluxo sanguíneo no local onde foram libertados os mediadores. A vasodilatação está associada a uma contração de células endoteliais, que resulta num aumento da permeabilidade da vasculatura, com perda de fluido rico em proteínas plasmáticas para o

espaço extravascular e consequente perda de volume sanguíneo e acumulação de células sanguíneas ao longo do endotélio vascular. ^{1,16,19}

O endotélio vascular acaba por ser o local de interação entre as diferentes células do sistema imune e como consequência, acaba por surgir lesão microvascular, trombose, e perda de integridade endotelial, resultado em isquemia dos tecidos afetados.¹¹

É a ativação do sistema endotelial e as moléculas que estas células produzem, nomeadamente as moléculas de adesão, os principais responsáveis pela formação de edema e infiltração celular massiva observada na sépsis e choque séptico. Promovem o recrutamento de linfócitos, neutrófilos e monócitos, bem como de outras células observadas nestas áreas, sendo a primeira destas moléculas a ser expressa a E-selectina (adesão aos neutrófilos), seguida da ICAM-1 (moléculas de adesão intercelular, responsáveis pela adesão a monócitos), e da VCAM-1 (moléculas de adesão celular vascular, que interagem com os linfócitos T).¹⁵

A sépsis está associada com a migração dos leucócitos da circulação para os tecidos inflamados, e com uma produção exacerbada de leucócitos que são libertados na circulação como recém-diferenciados ou imaturos.⁵

A migração dos leucócitos através do endotélio vascular (o processo chamado diapedese) é feita com adesão prévia a estas células, que são ativadas pelas citocinas (fator de necrose tumoral (TNF) ou a interleucina-1 (IL-1)) de forma a expressarem maior número de moléculas de adesão. Os leucócitos aderem ao endotélio e são estimulados por quimiocinas a migrarem através dos espaços entre células adjacentes, em direção ao local de lesão ou infeção. ¹

Já no espaço extravascular, o fenómeno de quimiotaxia leva à locomoção de leucócitos em direção ao local onde estarão a ser produzidas as quimiocinas, ou seja, o local infetado. Como já foi referido, através de diversos recetores expressos à sua superfície, como é o caso dos recetores Toll-like, o reconhecimento do agente invasor leva à ativação dos neutrófilos e monócitos, desencadeando uma série de mecanismos dentro destes que resultam na destruição do microrganismo. ¹

A fagocitose consiste no reconhecimento e ligação à partícula estranha, seu envolvimento e formação de um fagossoma que será posteriormente fundido com vesículas contendo enzimas e substâncias que o destruirão. Isto é conseguido maioritariamente através de espécies reativas de oxigénio (ROS) e de azoto (RNS), pois estas espécies são capazes de se ligar ao ADN e de o fragmentar. No entanto, estas substâncias são também libertadas para o

ambiente envolvente, danificando assim células saudáveis e endotélio vascular. No interior das células por exemplo, este dano oxidativo leva a alterações nas mitocôndrias que alteram a sua permeabilidade. Esta alteração leva a ativação da cascata de caspases por libertação do fator indutor de apoptose e causa por fim a morte celular. Quanto maior a quantidade de ROS e RNS, mais extenso o dano causado nas células e órgãos. ^{1,18,20}

Outro aspeto importante que ocorre nos doentes em sépsis é desenvolvimento de coagulação intravascular disseminada, cuja severidade tem sido demonstrada estar relacionada com mortalidade aumentada. Foi reportado em doentes com sépsis um aumento da atividade do fator ativador de plaquetas. Verificou-se que a sua infusão em animais causava muitas das alterações observadas no choque séptico, confirmando o seu papel neste fenómeno. Como já foi mencionado previamente, a cascata da coagulação é ativada e tem um papel significativo na evolução da resposta aguda inflamatória da sépsis. Através de vários mecanismos, os níveis de fatores anticoagulantes estão no geral reduzidos. Verifica-se a formação de trombos disseminados pela microcirculação, a chamada coagulação intravascular disseminada (CID). Assim, mesmo com um aporte de oxigénio adequado, acaba eventualmente por ocorrer isquemia e stress oxidativo em certas regiões do organismo, levando à falência de órgãos observada na sépsis grave. ^{3,9,16}

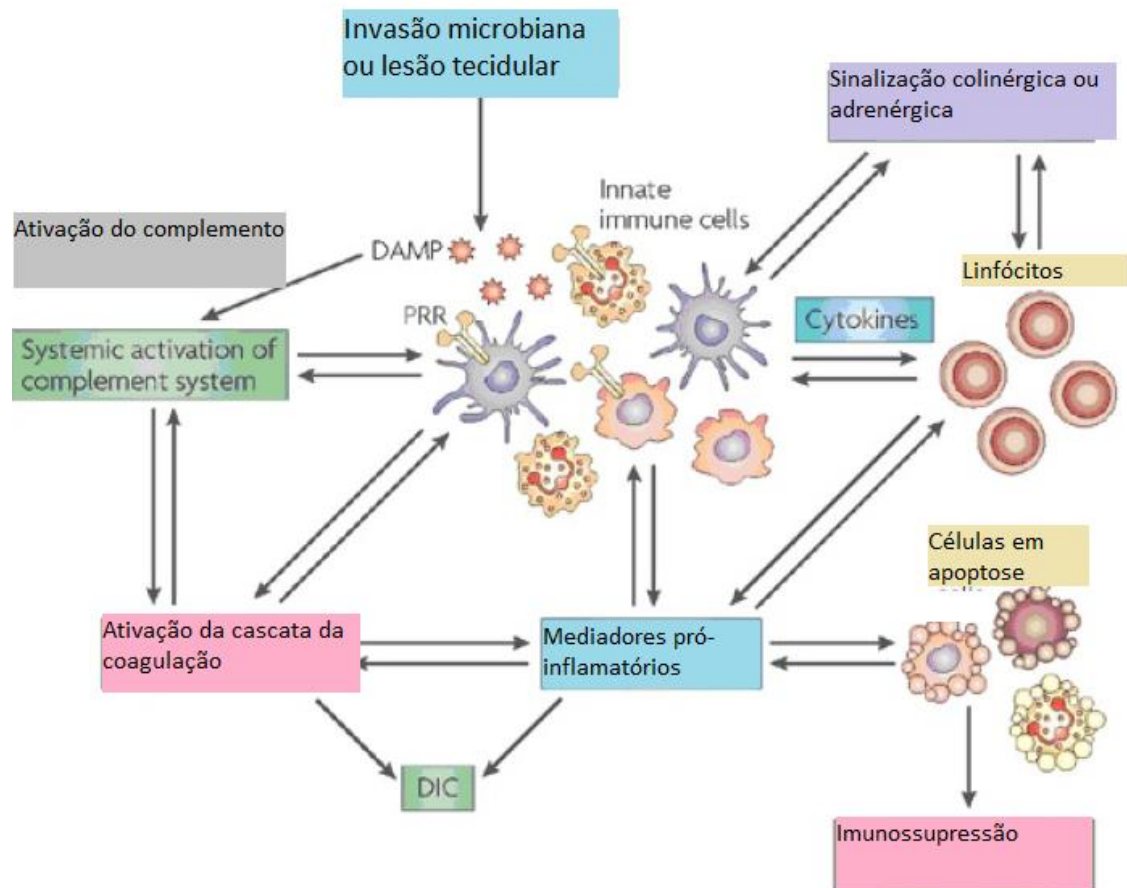


Figura 1-1- Esquema representando os diversos mecanismos que ocorrem na sépsis. Adaptado de Pop Began, 2014.²¹

Dos diversos mediadores envolvidos neste processo, aqueles com maior ação a nível dos vasos sanguíneos são a histamina e a serotonina. A histamina é libertada dos mastócitos, causando dilatação das arteríolas e aumento da permeabilidade das vénulas. Com uma ação semelhante à da histamina, a serotonina é libertada das plaquetas.¹

As prostaglandinas são produzidas por diversas células e têm também um grande papel na vasodilatação e aumento da permeabilidade das vénulas, potenciando a formação de edema (PGD₂ e PGE₂). Não obstante disso têm efeito de quimiotaxia (PGD₂), como também estão envolvidas no processo da dor e de febre na inflamação.¹

A infusão de TNF em animais também demonstrou causar alterações sistémicas que mimizam os fenómenos ocorridos na sépsis e no choque séptico. O fator de necrose tumoral é libertado por macrófagos em resposta a estímulos infecciosos. Os efeitos do TNF parecem ser mediados através de um recetor associado à membrana (TNF R1), cuja ligação ao TNF estimula

a libertação de outras citocinas. Verificou-se em particular um aumento nas concentrações séricas de IL-1, seguido de IL-6 e IL-8, que eram atenuados com a administração de um anticorpo contra o TNF. Outros efeitos provocados pelo TNF incluem a síntese de prostaglandinas no hipotálamo levando a hipertermia, produção de sintase de monóxido de azoto (NOS) no músculo liso vascular levando a relaxamento muscular, aumento de permeabilidade capilar pulmonar e promoção da expressão do fator tecidual nas células endoteliais, um potente pró-coagulante.^{3,5,16}

Como referido previamente, foram observados aumentos nas concentrações de IL-1 em casos de sépsis, e constatou-se que a sua infusão causava muitas das alterações associadas com choque séptico. Entre os efeitos desta citocina incluem-se, à semelhança do TNF, aumento das prostaglandinas no hipotálamo levando a hipertermia, e uma importante amplificação do efeito do TNF.^{3,5,16}

Embora não causem por si só as alterações hemodinâmicas típicas da sépsis, tanto a IL-6 e a IL-8 parecem ter um papel na cascata de fenómenos do síndrome. Foi demonstrada, para a IL-6, uma função mediadora na cascata de coagulação através de indução da expressão de fator tecidual nas células endoteliais; para além de um papel mediador da própria resposta inflamatória através da síntese de um recetor antagonista para a IL-1 (IL-1ra) e para o TNF (TNF sRp55).³ Para a IL-8 verificou-se um importante efeito na interação entre neutrófilos e o endotélio, levando a um aumento na expressão do recetor promotor da adesão CD11/CD18 e assim a um aumento da sua migração para o local de infeção.³

Para além das citocinas, também os tromboxanos e os leucotrienos se encontravam aumentados em casos de estados inflamatórios sistémicos, os segundos principalmente na Síndrome de Dificuldade Aguda Respiratória. Ambos promovem um aumento da permeabilidade vascular.³

Verifica-se numa fase inicial da sépsis uma ativação excessiva de células fagocitárias e dendríticas, mas à medida que a doença evolui ocorre uma deterioração progressiva da função destas células, que resulta numa imunidade debilitada. Estas alterações no estado do sistema imunitário têm implicações e devem ser considerados nas intervenções terapêuticas.

É importante notar a grande complexidade de interações que ocorrem entre os diferentes componentes da inflamação, que podem ter vários efeitos “downstream”, mas também potentes efeitos de feedback positivo ou negativo “upstream” da cadeia. Para além disto, as células envolvidas podem libertar mediadores com ação parácrina ou autócrina que

atuam sem existir em níveis detetáveis na circulação.³ É a soma dessas interações que determina as manifestações clínicas do Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica.

1.4. Consequências fisiopatológicas

Como já foi referido, as manifestações de SRIS ou sépsis e da sua evolução para sépsis grave e choque séptico são múltiplas e incluem sinais inespecíficos, manifestações que atestam a resposta inflamatória, manifestações hemodinâmicas, sinais e sintomas de disfunção de órgãos e manifestações de disóxia celular (ou seja, um desequilíbrio entre o aporte e o consumo de oxigénio nas células).¹³

A manifestação mais comum de SIRS é febre, originada pelo aumento da síntese de prostaglandinas no hipotálamo por ação do TNF, IL-1 e IL-6, que constituem “mensagens” pirogénicas para o cérebro. Como efeito secundário da temperatura no hipotálamo ou no corpo carotídeo pode advir hiperventilação. Contudo, esta também pode ser derivada do efeito direto estimulante destas citocinas no centro respiratório no hipotálamo ou na medula.^{3,15}

Um dos mais importantes eventos responsável por metade das mortes associadas a sépsis é o desenvolvimento de hipotensão, insuficiência cardiovascular e consequente hipóxia global dos tecidos.¹¹

Vários fatores influenciam a hemodinâmica da sépsis: permeabilidade capilar aumentada; vasodilatação venosa e arterial; redistribuição do fluxo para os órgãos nobres e taquicardia; heterogeneidade da distribuição do fluxo capilar (choque distributivo) e depressão do miocárdio.¹³

A primeira manifestação de disfunção cardio-circulatória é a incapacidade das células produzirem energia a partir da utilização de oxigénio. A função vascular deficiente que se desenvolve afeta a utilização de oxigénio nos doentes com sépsis. Nestes estados de doença, constatou-se que o consumo de oxigénio está aumentado mas que existem defeitos na sua extração dos tecidos. A hipóxia de tecidos ocorre quando há uma incapacidade do aporte de oxigénio sistémico aos tecidos de satisfazer a respetiva necessidade de oxigénio destes, resultando em acidose láctica.^{3,11,13}

Este deficiente aporte de oxigénio pode ocorrer mesmo antes do desenvolvimento de hipotensão e provir de diversos mecanismos. Para além das necessidades metabólicas aumentadas e deficiente uso tecidual de oxigénio mencionadas anteriormente, outros

mecanismos incluem um volume de pré-carga⁽¹⁾ diminuído, disfunção vaso-reguladora e depressão miocárdica com *output* sanguíneo diminuído. Verifica-se que apesar de a sépsis ser caracterizada por um estado hiperdinâmico, alguns doentes apresentam um volume de pré-carga diminuído por disfunção do ventrículo esquerdo e hipovolémia. No entanto, mesmo na presença de um *output* cardíaco normal podem existir anormalidades de hipoperfusão. O choque distributivo referido previamente refere-se a um estado de hipoperfusão regional como resultado de rearranjos na distribuição do fluxo sanguíneo e perda de controlo vascular em certas zonas, com depleção do volume vascular, pela fuga de fluidos através dos capilares.

3,11,13

Torna-se difícil quantificar as manifestações da sépsis na microcirculação, mas é conhecido que ocorre vasoconstrição local no choque séptico. Estudos realizados em vários animais demonstraram que os primeiros efeitos da sépsis incluem vasoconstrição arterial pulmonar, deficiente relaxamento das artérias mesentéricas com densidade capilar intestinal reduzida, e constrição do esfíncter da veia hepática.³

Complicações expectáveis da SIRS são lesão endotelial e disfunção orgânica, por ativação da complexa rede de citocinas. A ativação da cascata da coagulação pela IL-6 ou a expressão induzida de fator tecidual pelo PAF pode levar à formação de microtrombos e a coagulação intravascular disseminada (CID).³ O sequestro de neutrófilos pode também originar lesão endotelial local, e a própria lesão induzida por leucócitos pode resultar na ativação do complemento e agravar a inflamação.³

As ramificações clínicas da lesão endotelial incluem fuga capilar pulmonar com resultante síndrome de dificuldade respiratória aguda, falência renal, falência hepática e coagulação intravascular disseminada. É este espectro de complicações que constitui depois o síndrome de falência de múltiplos órgãos.³

Este síndrome é definido através de evidência de falência orgânica de três ou mais sistemas. É responsável pela morte de quase metade dos doentes que morrem de complicações da sépsis.³

Mais de metade dos casos de falência renal aguda encontrados na unidade de cuidados intensivos são provocados por sépsis. A falência renal é definida como uma diminuição súbita e sustentada da filtração glomerular, débito urinário ou de ambos. Para além do tradicional

¹ Volume de pré-carga é o volume de sangue existente dentro do ventrículo no final da diástole, ou seja antes da contração. É o sangue que será ejetado durante a sístole.¹³

motivo de falência renal ser a pobre perfusão renal na sépsis, outros mecanismos têm sido considerados mais importantes. A indução através de LPS para a produção de TNF nas células glomerulares tem sido apontado como o principal mecanismo, por induzir apoptose das células e causar lesão renal.^{4,9,13}

A lesão da barreira hematoencefálica leva à passagem de mediadores inflamatórios para o sistema nervoso central, que leva a encefalopatia caracterizada por confusão, agitação, e/ou níveis de consciência reduzidos.^{4,9}

O intestino é um dos órgãos mais atingidos pela sépsis, pois é normalmente dos órgãos mais perfundido para que possa cumprir a sua missão de absorção de nutrientes e para aportar ao fígado dois terços da sua necessidade de oxigénio. Com a hipoperfusão, isquemia e lesão endotelial, torna-se um dos órgãos mais propenso de agravar a sépsis, pois além da vasta população microbiana que se torna então suscetível de invadir a corrente sanguínea ou de chegar ao fígado (ativando ainda mais a resposta inflamatória), é por si só um órgão rico em células inflamatórias contribuindo para exacerbar a resposta pró-inflamatória. O fígado, para além de produzir proteínas de fase aguda e citocinas pró-inflamatórias, é um órgão cujas manifestações de falência podem matar o doente, entre as quais hipoglicemia, alterações da coagulação e edema cerebral.^{9,13}

As manifestações mais importantes da sépsis e choque séptico são relativas ao sistema respiratório, desenvolvendo-se frequentemente síndrome de dificuldade respiratória aguda e lesão aguda pulmonar, que serão discutidos mais pormenorizadamente no capítulo seguinte.

1.5. Estratégias terapêuticas

A terapia direcionada para a inflamação sistémica pode ser considerada primária (direcionada para remover o estímulo inflamatório) ou de suporte. A localização da infeção e aplicação da adequada antibioterapia é fundamental para a terapêutica, bem como o reconhecimento de condições refratárias à antibioterapia como é o caso de situações não-infecciosas (pancreatite, por exemplo).³

Um doente manifestando características de sépsis requer monitorização e uma abordagem terapêutica agressiva, principalmente quando já desenvolveu hipotensão refratária ou disfunção orgânica, para evitar a morte por colapso cardiovascular e/ou falência de múltiplos órgãos.

Segundo as normas da Campanha de Sobrevivência da Sepsis, deve-se iniciar imediatamente reanimação com terapia de fluidos, concentrado de eritrócitos e dobutamina até 20 µg/kg/min. A terapia antibiótica deve ser iniciada até uma hora após o diagnóstico de sepsis grave, sem esquecer de obter amostras para cultura e determinação do microrganismo **antes** de iniciar antibioterapia. Esta antibioterapia deve ser reavaliada diariamente, e deve-se tentar identificar o tipo de microrganismo e a fonte de infecção o mais rapidamente possível.^{9,13}

A rápida remoção dos tecidos infetados combinada com terapêutica antibiótica é uma estratégia-chave para assegurar a sobrevivência. A terapia antimicrobiana combinada é frequentemente utilizada por diversas razões: um agente pode não ser suficiente para cobrir todo o espectro de possíveis patógenos; infecções polimicrobianas podem não ser tratáveis com apenas um fármaco; combinações de antibióticos podem prevenir seleção de resistências e podem também ter sinergia contra um só agente patogénico.^{5,11}

A terapêutica antimicrobiana inicial acaba por ser empírica, tendo em conta sempre os microrganismos mais prováveis de acordo com a infecção. Por exemplo, na pneumonia grave adquirida na comunidade, admitem-se *Pneumococcus*, *H. influenzae*, *Legionella*, pelo que a escolha deve ser um β-lactâmico associado a um macrólido. Já na nosocomial, microrganismos mais resistentes como a *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina requerem a associação de um β-lactâmico com a ciprofloxacina ou um aminoglicosídeo, ou ainda a vancomicina ou linezolida. Já as infecções urinárias são geralmente causadas por Gram negativas e requerem cotrimoxazol, cefalosporinas de 3ª geração ou β-lactâmicos com inibidor das β-lactamases. As peritonites, também muito comuns em meio hospitalar, são provocadas por *Enterococcus* ou anaeróbios que podem ser já multirresistentes ou estar associadas a fungos, pelo que podem ser necessárias quinolonas ou cefalosporinas de 3ª e 4ª geração associadas a carbapenemos ou piperacilina/tazobactam.¹³

Em termos de suporte hemodinâmico e terapias adjuntivas, as normas da Campanha de Sobrevivência da Sepsis referem o início de ressuscitação de fluidos imediatamente em doente com hipotensão ou níveis de lactato elevados.⁹

No geral, os objetivos mais simples na terapia de suporte são a obtenção de uma pressão arterial média adequada (superior a 70mmHg) e um aporte de oxigénio que permita a reversão de disfunção orgânica ou de hipoperfusão de tecidos (através de reenchimento capilar periférico, e aumentando as diferenças de oxigénio entre sangue arterial e sangue venoso). A maximização do aporte de oxigénio tem no entanto os seus riscos, como a exacerbação do

síndrome de dificuldade respiratória aguda (por aumentar o volume de fluidos que aumenta o edema pulmonar), arritmias induzidas por catecolaminas, isquemia do miocárdio, entre outros.

3-5

Para tentar atingir os objetivos referidos anteriormente, terapia com fluidos (coloides ou cristaloides) é a intervenção mais prioritária para estabilizar doentes com sépsis grave, administrando-se grandes volumes através de múltiplos acessos intravenosos para ressuscitação do choque séptico. A permeabilidade capilar aumentada e a vasodilatação maciça provocam um enorme défice de volume sanguíneo vascular.^{3,13,22}

Entre os dois, tem havido estudos que revelam coloides (nomeadamente a albumina), mais eficazes que o uso de cristaloides. Verificou-se que um litro de soro fisiológico normal adicionava 275 mL ao volume do plasma, enquanto que um litro de albumina a 5% adicionava 500mL ao volume do plasma. Mesmo após estabilização, a fuga progressiva de fluidos através dos capilares requer ainda manutenção de fluidos. Complicações desta abordagem terapêutica incluem o agravamento da falência respiratória, formação de edema periférico e edema das mucosas intestinais, devendo-se então ter atenção ao ponto de término da terapêutica.^{3-5,11}

A transfusão sanguínea nem sempre é considerada, uma vez que os problemas de aporte de oxigénio aos tecidos em doentes sépticos não concernem tanto à capacidade transportadora dos eritrócitos, mas sim à desregulação microvascular e ao estado de trombose do síndrome. Para além disto, o risco de infeção acrescido também é considerado, pelo que a transfusão é avaliada caso-a-caso.³

Apesar da ressuscitação com fluidos, o restabelecimento da perfusão celular e a correção da pressão arterial exigem muitas vezes a utilização de agentes inotrópicos e vasoconstritores para compensar o efeito da libertação maciça de mediadores com propriedades vasodilatadoras.

A dopamina é administrada em baixas doses em doentes em choque séptico e oligúria, mas particularmente quando desenvolvem azotemia. Até doses de 2 µg/kg/min, a dopamina aumenta o fluxo sanguíneo renal e mesentérico, bem como a taxa de filtração glomerular e a produção de urina. Em doses superiores, tem um efeito inotrópico positivo.^{3,11}

A dobutamina é um agente inotrópico muito eficaz no choque séptico, permitindo a manutenção de um adequado output de aporte de oxigénio com baixos níveis de pressão diastólica e volume do ventrículo esquerdo. Isto é crucial para os doentes predispostos a

desenvolver edema pulmonar. Ao contrário da dopamina, a dobutamina não exerce qualquer efeito vasodilatador renal ou tubular.^{3,11}

A vasodilatação profunda pode resultar em hipotensão refratária ao aumento de volume e agentes inotrópicos, pelo que pode agravar a hipotensão existente e ser importante em alguns casos uma abordagem com agentes vasoconstritores.

O uso de noradrenalina permite obter valores de pressão arterial média adequados, pelo aumento na resistência vascular sistémica, sem alterações no *output* cardíaco. Isto é particularmente importante para doentes com hipertensão pulmonar significativa, na qual a perfusão coronária ventricular direita é dependente de uma pressão arterial sistémica adequada.^{3,11,13}

A fenilefrina também é utilizada pelo seu efeito agonista- α puro, aumentando a pressão arterial com um aumento da resistência vascular periférica, a produção de urina, e o aporte de oxigénio em doentes com choque séptico refratário à terapia com fluidos e suporte inotrópico.^{3,11,13}

A adrenalina em doses baixas possui um forte efeito inotrópico e em doses mais elevadas, um efeito vasoconstritor. Aumenta o *output* cardíaco em todos os casos, e a resistência vascular periférica em alguns. Apesar de melhorar o aporte de oxigénio, viu-se que simultaneamente induzia ou agravava o metabolismo anaeróbio nestes doentes, pelo que o seu uso permanece como último recurso na terapêutica.^{3,11,13}

A terapia previamente referida ainda resulta numa mortalidade significativa em doentes com sépsis grave e choque séptico. Existem já várias terapias experimentais para combater a inflamação desde imunossuppressores não-específicos a imunoterapia dirigida para produtos específicos dos microrganismos, ao uso de reguladores específicos da rede inflamatória.

Dos imunossuppressores não-específicos, tentativas iniciais foram levadas a cabo com corticosteroides, e foi demonstrado um efeito protetor da dexametasona em ratos. A sua utilização baseia-se na teoria de que a resposta fisiológica à sépsis é um aumento dos níveis de hormonas do stress como o cortisol, e da presença de uma resposta inflamatória inadequada em 55% a 76% dos doentes ventilados mecanicamente com choque séptico. Atualmente recomenda-se a administração de hidrocortisona em relação à dexametasona, no adulto em choque séptico que permanece hipotenso apesar de ressuscitação com fluidos e vasopressores.^{3,5,11,13,23}

A clivagem da proteína C pela trombina gera a proteína C ativada, com potentes ações anticoagulantes, anti-inflamatórias e anti-apoptóticas. Como tal, a proteína C humana recombinante ativada apresentava alguma eficácia pela sua ação nos mediadores da sépsis. Contudo, o elevado risco de hemorragias fez com que o uso deste fármaco fosse restrito a situações excecionais, sendo apenas administrado ao adulto que se apresentasse já com disfunção de órgãos induzida pela sépsis e alto risco de morte. Atualmente a Agência Europeia do Medicamento já retirou a indicação do seu uso nestas situações, por este não ter apresentado nenhuma relação benefício-risco positiva em estudos mais recentes.^{5,9,11,13,24}

Derivados e componentes do sangue como a hemoglobina são também utilizados para otimizar o fornecimento de oxigénio. Administram-se concentrados de eritrócitos para manter a hemoglobina dentro dos valores desejados ou plaquetas caso haja um risco significativo de hemorragia.¹³

A ventilação mecânica é a abordagem principal para doentes que tenham desenvolvido síndrome de dificuldade respiratória aguda ou lesão aguda pulmonar e será abordada mais pormenorizadamente no decorrer desta dissertação.

Em doentes em estado crítico são utilizados protocolos de sedação e tratamentos de hemodiálise para aqueles em falência renal. E como em todas as doenças, há doentes em que por todos os tratamentos e por não terem reserva fisiológica que os permita recuperar, é necessário impor um limite de intervenção.¹³

Existem ainda áreas e estratégias de intervenção que permanecem com potencial para o tratamento destes estados, embora sejam necessários mais estudos para que possam ser implementadas como terapêutica indicada.

São por exemplo substâncias endógenas que atuam como imunomoduladoras da resposta inflamatória, entre as quais os recetores solúveis para o TNF (TNF sRp55) e os antagonistas dos recetores da IL-1 (IL-1ra). Tanto o TNF sRp55 como o IL-1ra foram identificados em doentes com síndrome de resposta inflamatória sistémica. Estudos preliminares em animais mostravam algum efeito protetor, mas são necessários mais estudos para que qualquer destes compostos possa ser recomendado para terapia do SRIS.^{3,5}

A administração de antagonistas do PAF também revelou atenuar a hipotensão em modelos animais e em alguns ensaios clínicos demonstrou aumentar a sobrevivência tanto em doentes com sépsis como com choque séptico.³

Devido aos efeitos associados aos níveis aumentados de tromboxanos e de leucotrienos, moduladores do metabolismo do ácido araquidónico foram também considerados como terapias alternativas. O ibuprofeno, inibidor da ciclooxigenase, revelou atenuar a febre em humanos administrados com endotoxinas, mas não alterou a produção de TNF. O cetoconazole, inibidor da tromboxano sintase, permitiu reduzir a incidência de SDRA em doente com sépsis.^{3,5}

É no entanto importante referir que estas são apenas propostas de terapias alternativas e é necessário encontrar ainda suporte que justifique a sua utilização na prática clínica.

Duas importantes áreas de terapia experimental tentam reverter os efeitos de disfunção orgânica da SRIS. Devido aos seus efeitos bem documentados tanto no choque séptico como na hipotensão induzida por citocinas, a inibição do monóxido de azoto tem sido estudada como possível abordagem nestes estádios mais avançados. Apesar de experimentalmente ter sido demonstrado a reversão da hipotensão causada pela sépsis através do uso de inibidores da síntese de monóxido de azoto, os resultados em relação à função dos órgãos e à mortalidade têm sido negativos. Neste contexto, verificou-se um menor fluxo sanguíneo renal, um aumento de permeabilidade capilar, agravamento do miocárdio e do aporte de oxigénio, e aumento da mortalidade. Isto relaciona-se com a própria função fisiológico do monóxido de azoto no organismo. A sua inibição diminui o fluxo sanguíneo renal e a oxigenação mas aumenta a pressão arterial sistémica.^{3,25}

Os mecanismos da inflamação levam também muitas vezes à ativação de leucócitos e libertação de radicais livres, pelo que a terapia antioxidante é a outra área da terapia experimental. Várias classes de antioxidantes, como a superóxido dismutase e N-acetilcisteína estão em estudo atualmente.³

2. Lesão Aguda Pulmonar/Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda Induzida por Choque Séptico

2.1. Aspetos da anatomia e fisiologia pulmonar

A principal função do sistema respiratório é a troca de gases essenciais ao funcionamento do organismo: a extração do oxigénio e libertação de produtos gasosos como o dióxido de carbono. Isto é obtido através de um equilíbrio que se estabelece expondo os capilares sanguíneos ao ar alveolar e combinando a ventilação com o fluxo sanguíneo através dos capilares pulmonares.²⁶

Para que estas trocas fundamentais ocorram, é necessária a total integridade do sistema respiratório e da permeabilidade capilar pulmonar.

Para além desta, o aparelho respiratório tem também uma função de controlo do pH sanguíneo (através dos níveis de dióxido de carbono), permite a produção de sons e fala, confere o sentido de olfato e protege o corpo de organismos estranhos dificultando a sua entrada e expulsando-os da superfície das vias aéreas.²⁷

Os pulmões servem também como “reservatório” de sangue para o ventrículo esquerdo, sendo que os vasos pulmonares suportam à volta de 500 mL de sangue; para além de aprisionarem e assim “filtrarem” o sangue venoso de pequenos coágulos que poderiam de outra forma atingir a circulação sistémica e causar danos extensos.²⁸

Pelas razões acima referidas, é importante para o organismo a manutenção de um sistema respiratório completamente funcional.

O sistema respiratório é composto pelos pulmões e pelas estruturas que conduzem o ar até estes. Estas são chamadas as vias respiratórias e dividem-se frequentemente em vias aéreas superiores e vias aéreas inferiores. Fazem parte das vias aéreas superiores as fossa nasais, a faringe e a laringe e das vias aéreas inferiores a traqueia os brônquios e alvéolos.²⁷

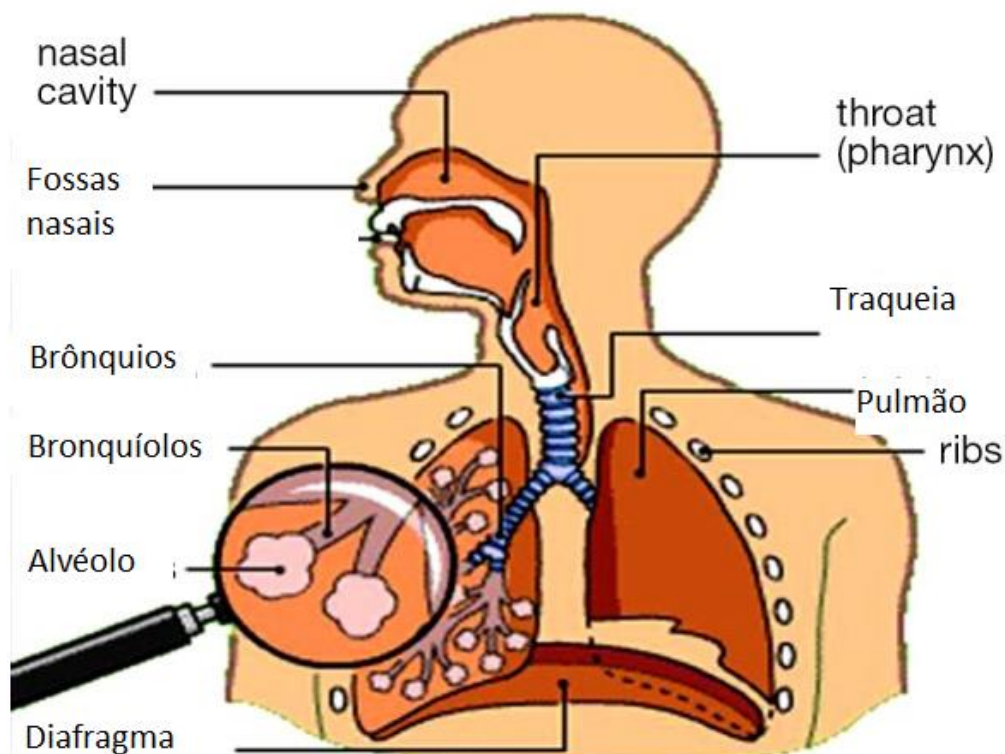


Figura 2-1- Esquema representando o sistema respiratório. Retirado de Charamlapidis, 2015.²⁹

As fossas nasais constituem a entrada do ar no nosso organismo e são revestidas de cílios que “filtram” o ar inspirado, sequestrando partículas em suspensão. Para além disto, a mucosa que reveste a sua superfície é composta por células caliciformes que segregam muco, também este capaz de captar detritos no ar.²⁷

A faringe e laringe conduzem depois o ar em direção à traqueia, um tubo membranoso constituído por tecido conjuntivo denso e reforçado por 15 a 20 cartilagens em forma de “C”. A parede posterior da traqueia não tem cartilagem e é constituída por músculo liso e membrana ligamentosa, que quando necessário pode contrair e diminuir o diâmetro deste órgão. Também a traqueia está revestida de cílios e células secretoras de muco que funcionam como uma defesa do organismo a partículas estranhas.²⁷

A traqueia divide-se posteriormente no brônquio esquerdo e brônquio direito, cada um conduzindo ao respetivo pulmão. O brônquio direito está posicionado de uma forma mais vertical que o esquerdo, pelo que torna mais provável que partículas inaladas se depositem no pulmão direito. À medida que se vão dividindo, estas vias tornam-se mais numerosas e estreitas, dividindo-se os brônquios posteriormente nos brônquios lombares e estes em

bronquíolos, estes últimos já mais no interior do pulmão e distinguindo-se dos brônquios pela ausência de cartilagem, uma camada muscular que se torna cada vez mais fina e células epiteliais produtoras de surfactante.²⁶

A porção final do bronquíolo, em conjunto com os canais alveolares e os sacos alveolares, forma o ácino respiratório, que constitui a unidade funcional do pulmão e é onde, no interior dos alvéolos, se dão as trocas gasosas.²⁶

Os alvéolos são estruturas cujo diâmetro abrange dos 75 aos 300 μm . Nos dois pulmões, os cerca de 300 milhões de alvéolos constituem uma área superfície combinada de 50 a 100 m^2 e um volume de 5 a 6 L. Ao contrário das vias respiratórias que são revestidas por células epiteliais ciliadas e células caliciformes produtoras de muco, nesta zona do sistema respiratório o epitélio vai-se tornando mais simples, sendo composto no alvéolo por dois tipos de células principais, pneumócitos do tipo I e tipo II. As células tipo II são responsáveis pela produção de surfactante e são as que mais proliferam e revestem o espaço alveolar numa lesão, pelo que parecem servir uma função de reparação.²⁸

A ventilação é o processo através do qual o ar se movimenta para dentro e fora dos pulmões. Os movimentos de ar requerem a existência de um gradiente de pressão, que faz com que o ar se movimente do local onde há maior pressão para onde há menor. A diferença de pressões entre a pressão atmosférica e a pressão alveolar gera o movimento necessário à respiração. Quando o diafragma contrai e o volume pulmonar aumenta, a pressão alveolar diminui e o ar flui para os pulmões. Na expiração pelo contrário, com o relaxamento do diafragma e a retração dos pulmões o volume alveolar diminui e a pressão conseqüentemente aumenta, levando o ar a fluir para fora dos pulmões.^{26,27}

O volume alveolar é condicionado por dois fatores: a retração pulmonar e a pressão intrapleural. A retração pulmonar tende a colapsar os pulmões devido às fibras elásticas presentes nas paredes dos alvéolos e à tensão superficial entre a película de fluido que reveste os alvéolos e o ar. As moléculas de água tendem a manter-se unidas e atraídas à superfície dos alvéolos, provocando o seu colapso, que é contrabalançado pela presença de surfactante lipoproteico que permite diminuir a tensão superficial e reduzir a tendência dos pulmões para colapsar.^{27,28}

A pressão intrapleural é a pressão existente na cavidade pleural, ou seja, entre o pulmão e a membrana que o reveste, a pleura. A retração pulmonar provoca um “efeito de sucção”

que gera uma pressão intrapleural inferior à pressão alveolar. Isto leva à expansão dos alvéolos, que é contrariada pela retração elástica dos pulmões.^{27,28}

A *compliance* pulmonar é uma medida da facilidade com que os pulmões e o tórax se expandem, ou seja, corresponde ao volume que estes aumentam com a modificação de cada unidade de pressão alveolar. Uma *compliance* inferior à normal (0,13 L/cm H₂O) significa que é mais difícil a expansão dos pulmões. É o que se verifica em pulmões com colapso alveolar, como ocorre no Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda.²⁸

2.2. Definição de Lesão Aguda Pulmonar/Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda

Em termos simples, edema pulmonar refere-se à acumulação de quantidades excessivas de fluido intersticial e alveolar. Contrariamente ao que se pensava antigamente, o espaço intersticial do pulmão não é “seco” no seu estado normal. Pelo contrário, existe um equilíbrio de fluidos entre a microvasculatura pulmonar e o espaço intersticial. Em condições normais, o sistema linfático tem capacidade de retornar o fluido ao sistema circulatório sem comprometer a funcionalidade dos pulmões.³⁰

Este equilíbrio entre o coração e os pulmões é tal que a disfunção de um pode perturbar o funcionamento do outro. No caso de falência do ventrículo esquerdo ou falha da válvula mitral causando um aumento da pressão na microvasculatura pulmonar, poderá surgir um edema pulmonar hidrostático. A situação inversa, ou seja, de uns pulmões tão danificados que oferecem tamanha resistência ao fluxo cardíaco que o output cardíaco fica comprometido também poderá ocorrer.³⁰

No entanto, o edema pulmonar pode surgir mesmo na presença de pressões microvasculares normais, mas com permeabilidades da microvasculatura pulmonar alteradas. Esta condição ficou referida como edema pulmonar de permeabilidade, edema pulmonar não-cardíaco ou se severo, síndrome de dificuldade respiratória aguda.³⁰

Foi em 1967 descrito por Ashbaugh e Petty um síndrome de disfunção respiratória, caracterizado por hipoxemia severa, infiltrados pulmonares bilaterais difusos visíveis nas radiografias ao peito e uma *compliance* pulmonar inferior à normal.³¹

De uma variedade de doentes, identificaram doze que possuíam a mesma instalação aguda de taquipneia e hipoxemia, com os infiltrados pulmonares e perda de *compliance*, e que

desenvolveram falência respiratória aguda, pelo que mais tarde designaram a este conjunto de sintomas o Síndrome de Dificuldade Respiratória no Adulto.^{32,33}

Mais tarde, Murray et al propuseram uma definição alargada do síndrome. Introduziram um método semi-quantitativo para definir a lesão pulmonar, ao qual chamaram Índice de Agressão Pulmonar (IAP). Este sistema de pontuação baseava-se em quatro pontos:

- A dificuldade na oxigenação era quantificada através do ratio entre a pressão parcial de oxigénio arterial e a fração de oxigénio inspirado (PA_{O_2}/FI_{O_2});
- A radiografia torácica era classificada de zero a quatro pontos consoante não apresentasse quaisquer infiltrados ou os apresentasse em um, dois, três ou todos os quadrantes;
- A *compliance* pulmonar era quantificada através de uma fórmula envolvendo a pressão expiratória final positiva (PEEP) e o volume tidal;
- O nível de pressão expiratória final positiva (PEEP), que dava também alguma indicação do nível de gravidade da falência respiratória.³¹

Este sistema de pontuação permitia classificar a lesão pulmonar como leve a moderada ou como severa, já considerado SDRA (Tabela 2).

Classificação da radiografia torácica	
Nenhuma condensação alveolar	0
Condensação alveolar em um quadrante	1
Condensação alveolar em dois quadrantes	2
Condensação alveolar em três quadrantes	3
Condensação alveolar em quatro quadrantes	4
Classificação da hipoxemia	
$PA_{O_2}/FI_{O_2} \geq 300$	0
PA_{O_2}/FI_{O_2} de 225-299	1
PA_{O_2}/FI_{O_2} de 175-224	2
PA_{O_2}/FI_{O_2} de 100-174	3
$PA_{O_2}/FI_{O_2} < 100$	4
Classificação da <i>compliance</i> pulmonar (quando ventilado)	
≥ 80 mL/cmH ₂ O	0
60-79 mL/cmH ₂ O	1
40-59 mL/cmH ₂ O	2
20-39 mL/cmH ₂ O	3
< 20 mL/cmH ₂ O	4
Classificação do PEEP (quando ventilado)	
≤ 5 cmH ₂ O	0
6-8 cmH ₂ O	1
9-11 cmH ₂ O	2
12-14 cmH ₂ O	3
≥ 15 cmH ₂ O	4
Classificação final (somatório de todos os componentes)	
Sem lesão pulmonar	0

Lesão leve a moderada	0,1-2,5
Lesão grave (SDRA)	>2,5

Tabela 2-1- Índice de Agressão Pulmonar. Adaptado de Murray et al. ³⁴

Devido às dificuldades em uniformizar os diagnósticos de SDRA, foram introduzidas novas definições em 1994 pelo comité da American-European Consensus Conference (AECC). Consideraram a variabilidade na gravidade da lesão pulmonar e separaram os doentes em dois grupos: aqueles com hipoxemia menos severa ($PA_{O_2}/FI_{O_2} < 300$) que eram categorizados como doentes com Lesão Aguda Pulmonar (LAP); e aqueles com hipoxemia severa ($PA_{O_2}/FI_{O_2} < 200$) categorizados como doentes com Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda.³⁵⁻³⁷

Ambas as situações são caracterizadas como sendo de instalação aguda, geralmente de 4 a 8 horas, com presença de infiltrados bilaterais na radiografia torácica, edema pulmonar não-cardiogénico (ou seja, pressão capilar pulmonar ≤ 18 mmHg ou nenhuma evidência de Insuficiência Cardíaca Congestiva) e hipoxemia refratária a oxigenoterapia. Estes 4 critérios refletem a fisiopatologia subjacente e a severidade da doença: são doenças pulmonares de carácter agudo, com uma componente inflamatória confirmada pela pressão capilar pulmonar normal e cujas infiltrações leucocitárias e exsudação de plasma são observadas na radiografia torácica. De facto, o elevado aumento da permeabilidade vascular é considerado um traço característico de SDRA.^{36,38-40}

A Lesão Aguda Pulmonar foi considerada uma forma menos grave mas com capacidade de evoluir para SDRA. No entanto, apesar das tentativas de definir ambos os síndromes, várias dificuldades permaneceram, como o facto de nenhuma das definições ter em conta os fatores precipitantes ou a presença de disfunção de outros órgãos, ambos influentes no prognóstico da doença; como também a variabilidade na interpretação das radiografias torácicas mesmo entre os mais experientes; e ainda as diferenças na evolução e fisiopatologia de SDRA atribuído a um insulto pulmonar direto como pneumonia e SDRA causado por insultos indiretos como a sépsis.^{32,41}

Um estudo recente, que é agora chamado como a definição de Berlim, sugere o uso de três categorias de SDRA, baseadas novamente no grau de hipoxemia: leve se o ratio de PA_{O_2}/FI_{O_2} estiver entre os 200 e os 300 mmHg; moderada se estiver entre os 100 e os 200 mmHg e severa se $PA_{O_2}/FI_{O_2} \leq 100$ mmHg. Se a estratificação nestes três níveis irá adicionar algo à eficácia na deteção e evolução da história natural de SDRA está ainda por determinar.⁴²

2.3. Etiologia

Existem já vários estudos que indicam que a evolução da doença é significativamente diferente considerando a sua origem, pelo que o conhecimento desta é fulcral na sua terapêutica. A LAP ou SDRA são então classificadas como diretas ou indiretas, consoante o fator agressor afeta diretamente o pulmão ou não.

A LAP direta (causada por pneumonia, aspiração de conteúdo gástrico, sépsis ou choque séptico de origem pulmonar, embolia pulmonar, lesão por inalação ou historial de afogamento) constitui cerca de 55% de todos os casos de LAP, enquanto que LAP indireta (originada por sépsis extrapulmonar, trauma, queimaduras, pancreatite aguda, sobredosagem ou múltiplas transfusões de hemoderivados) constitui cerca de 20% dos casos. Cerca de 21% dos casos de LAP devem-se a fatores mistos contribuintes para o seu desenvolvimento e os restantes 4% não têm uma patologia subjacente distintiva.⁴³⁻⁴⁵

A causa mais comum de desenvolvimento de LAP/SDRA é pneumonia primária, tanto bacteriana como viral como fúngica. A segunda causa mais comum apontada é sépsis grave, tanto associada a uma infeção pulmonar como uma infeção de fonte não-pulmonar, como a peritonite. A sépsis grave é apontada em alguns estudos como sendo a causa de 46% de todos os casos de LAP direta e 33% de LAP indireta.^{36,43,46}

Certas condições preexistentes como doença pulmonar crónica, alcoolismo, doença hepática crónica, imunossupressão, idade acima dos 65 anos e obesidade estão relacionadas com o desenvolvimento de LAP/SDRA, enquanto que a diabetes mellitus parece ser protetiva. É incerto se isto se deve à doença em si ou ao efeito anti-inflamatório da insulina.^{33,45,47,48}

Nesta monografia será dada maior relevância à LAP/SDRA de causa indireta, induzida por sépsis grave ou choque séptico, visto que cerca de 20 a 40 % dos doentes com sépsis grave desenvolvem SDRA, que é atualmente vista como a manifestação pulmonar da disfunção de órgãos que ocorre na evolução da sépsis.^{31,32}

2.4. Mecanismos fisiopatológicos

Os mecanismos fisiopatológicos que levam a LAP/SDRA não são ainda totalmente compreendidos. No entanto, ao que parece existem eventos fisiopatológicos que podem contribuir para as diferentes formas de LAP (direta ou indireta).

Independentemente do estímulo inicial, a resposta final parece ser o comprometimento da barreira alvéolo-capilar, levando à formação de edema no espaço intersticial e nos alvéolos. As trocas de gases encontram-se dificultadas e desenvolve-se falência respiratória. A avaliação de pulmões nestes estados revelou acumulação de células polimorfonucleadas ativadas (PMN), dano alveolar difuso incluindo perda da integridade epitelial e membranas basais “desnudadas”, bem como edema pulmonar e membranas ricas em fibrina. Microtrombos nos capilares pulmonares e danos no endotélio vascular, inflamação desregulada e alteração da permeabilidade das barreiras endoteliais e epiteliais alveolares estão também presentes.^{43,49}

Nos casos de LAP direta, a hipótese formulada é de que a agressão está confinada ao pulmão, e a doença desenvolve-se por estímulos mecânicos ou infecciosos ou outras interações diretas capazes de ativar o sistema imunitário e de induzir lesão às estruturas pulmonares. Quanto à LAP indireta, os estímulos são provenientes de outras partes do organismo, sendo que os agentes mediadores capazes de induzir um tão grande insulto extrapulmonar às estruturas pulmonares são de grande importância. Nestes agentes incluem-se então os mediadores solúveis como as citocinas ou quimiocinas, mas também os mediadores celulares do nosso organismo, como os neutrófilos por exemplo.⁴³

Sabe-se que as células endoteliais são diretamente estimuladas pela endotoxina, que se liga ao recetor Toll-like 4 (TLR-4), ativando a transcrição de uma série de genes que regulam a inflamação e a apoptose. Se a lesão pulmonar derivada de sépsis advém do efeito direto da endotoxina nas células endoteliais ou se é uma consequência da marginação e estimulação dos neutrófilos que ocorre também em estados inflamatórios, ainda não está completamente esclarecido. Pensa-se que será devido aos efeitos sinérgicos da endotoxina, da resposta humoral e da resposta celular do sistema imunitário.⁵⁰

A evolução de LAP/SDRA pode ser dividida em diferentes fases histológicas. A fase exsudativa ou aguda ocorre nas primeiras 48 horas e é caracterizada pelo desenvolvimento de edema intra-alveolar associado a lesão epitelial e endotelial. Após 24 horas é possível detetar a formação de membranas hialinas revestindo os ductos alveolares e os alvéolos, juntamente com pequenos trombos de fibrina. Estas membranas de hialina são um traço característico de SDRA em fase inicial, e são compostas por uma mistura de proteínas plasmáticas e detritos celulares. A sua presença limita as trocas gasosas.^{31,32}

Estão também presentes um grande número de células inflamatórias, nomeadamente neutrófilos, que ativados pelos macrófagos alveolares se infiltram rapidamente nos espaços de

ar e espaços intersticiais do pulmão e começam a libertar uma série de agentes pró-inflamatórios que contribuem para o dano epitelial. Para além destas células inflamatórias, verifica-se uma grande quantidade de fluido resultante do edema que se desenvolve. Este fluido contém uma elevada concentração de proteínas, característico de um edema pulmonar por permeabilidade alterada.^{31,32,35,51}

A lesão epitelial que se dá é também um importante componente do processo, em parte por facilitar a formação de edema e resultar numa significativa deterioração das trocas gasosas. Estudos sugerem que se nas primeiras 12 horas após o aparecimento de edema pulmonar o doente conseguir absorver o excesso de fluido alveolar, o epitélio alveolar mantém-se razoavelmente intacto e as perspectivas de recuperação são mais positivas.^{31,36,45}

Para além de contribuir para a formação de edema, os danos às células epiteliais do tipo I levam à exposição da membrana basal, potenciando a evolução para bacteriemia e sépsis. A lesão às células epiteliais do tipo II leva a uma deficiente produção de surfactante resultando num aumento da tensão superficial e ao colapso alveolar. O processo leva a que histologicamente o pulmão se apresente com danos alveolares difusos com infiltração de neutrófilos, hemorragias alveolares e formação de membranas hialinas.^{33,52}

A fase subaguda ou proliferativa que se segue entre os 7 a 14 dias seguintes é extremamente variável e caracteriza-se por uma tentativa de reparação pulmonar, em que parte do edema foi reabsorvido e há intensa proliferação de pneumócitos do tipo II, aparentemente em resposta à lesão ocorrida na fase aguda aos pneumócitos do tipo I. Para além disto, ocorre também infiltração e intensa proliferação de fibroblastos e deposição de colagénio no espaço intersticial.^{32,36,53}

É nesta fase que se verifica a maior diferença entre doentes na evolução de LAP/SDRA. Alguns recuperam neste período entre a primeira e a segunda semana, enquanto que outros evoluem num rumo mais difícil com ventilação mecânica prolongada. Morte por falência respiratória primária é incomum, mas a ventilação mecânica prolongada e o estado crítico em que estes doentes se encontram levam a que os riscos de infeção ou disfunção orgânica múltipla aumentem, aumentando também a mortalidade. O risco mais elevado de infeção parece ocorrer no sexto e décimo dia após o início de ventilação mecânica. A destruição de tecido pulmonar resulta numa deficiente drenagem de tanto sangue como líquido linfático, que acoplada a uma acumulação de detritos celulares e plasma nas vias aéreas contribuem para o desenvolvimento de uma pneumonia.^{31,35,44}

A última fase, fase crónica ou fibrótica, instala-se após cerca de 14 dias. Caso não tenha sido desenvolvido pneumonia nosocomial, ocorre resolução do infiltrado neutrófilo da fase aguda, existindo também mais células inflamatórias e macrófagos alveolares presentes nos alvéolos, e mais processo de fibrose na continuação da tentativa de reparação do epitélio alveolar. Em alguns doentes esta fase de resolução progride sem fibrose e apenas com resolução do edema e da inflamação. Outros progridem para uma destruição pulmonar de diversas gravidades, podendo desenvolver (acoplado à fibrose pulmonar) enfisema ou obliteração dos vasos pulmonares.^{31,36}

Como foi referido previamente, na LAP indireta, os estímulos que induzem a agressão pulmonar são provenientes de outras partes do organismo que não o pulmão. Os mediadores inflamatórios solúveis como as citocinas, que se encontram aumentados em estado de SRIS, induzem uma resposta inflamatória aguda no pulmão e noutros órgãos. Falando especificamente do pulmão, as células ativadas por este processo produzem ainda mais mediadores inflamatórios, levando a lesões celulares epiteliais e endoteliais, e a alterações estruturais que originam um aumento da permeabilidade da membrana capilar alveolar.⁵⁴

A lesão endotelial pulmonar é a mais importante causa inicial de LAP/SDRA. Existem já múltiplas evidências de que o aumento na permeabilidade vascular pulmonar ocorre primeiramente na microcirculação pulmonar, que por sua vez resulta na acumulação de edema pulmonar rico em proteínas, mesmo na presença de pressão vascular pulmonar normal.^{36,55}

Esta lesão ocorre por diversos mecanismos, se bem que a mediada por neutrófilos tem sido a mais bem documentada até ao momento. Nestas condições inflamatórias, os neutrófilos acumulam-se na microvasculatura pulmonar e tornam-se ativados. As células endoteliais por sua vez são também ativadas (na sépsis podem mesmo ser diretamente ativadas pela endotoxina) e produzem moléculas de adesão celular vascular (VCAM-1) e de adesão intercelular (ICAM-1 e ICAM-2), o que as faz retrair umas das outras e gerar espaços intercelulares. Para além disto, produzem também selectinas, que facilitam a adesão leucocitária, e fator de von Willebrand, que facilita a adesão plaquetária. Os neutrófilos ativados por sua vez expressam também moléculas de adesão denominadas as integrinas, entre as quais um complexo CD11/CD18 que determina a sua migração para o espaço intersticial.^{32,43}

A lesão dá-se não só pelo facto dos neutrófilos se tornarem rígidos e inibirem o fluxo nos capilares de menor calibre (ficam sequestrados nestes locais), como também pela adesão

às células endoteliais e libertação de uma série de mediadores tóxicos, que atuam tanto na dissolução de junções intercelulares como na indução de apoptose ou necrose das células alveolares do tipo I ou tipo II. Estes mediadores são por exemplo proteases, espécies reativas de oxigénio, citocinas pró-inflamatórias e moléculas pró-coagulantes. Estudos recentes indicam também que a ativação de neutrófilos é estimulada pela ligação a plaquetas com formação de um complexo que liberta posteriormente o tromboxano A₂, um mediador inflamatório, vasoconstritor e estimulador da permeabilidade.^{36,43,50}

Outra das causas do aumento na permeabilidade pulmonar, para além da migração de leucócitos para o espaço intra-alveolar e da libertação de mediadores tóxicos q causam danos às células que constituem a membrana alvéolo-capilar, tem sido apontada como a desestabilização das ligações homofílicas entre moléculas de caderina do endotélio vascular (VE-caderina). Estas são proteínas de aderência entre junções da barreira endotelial, pelo que a sua disrupção por agentes como o TNF, a trombina ou o fator de crescimento de endotélio vascular (VEGF) causa um “espaço” na barreira e contribui para a formação de edema pulmonar.^{42,56,57}

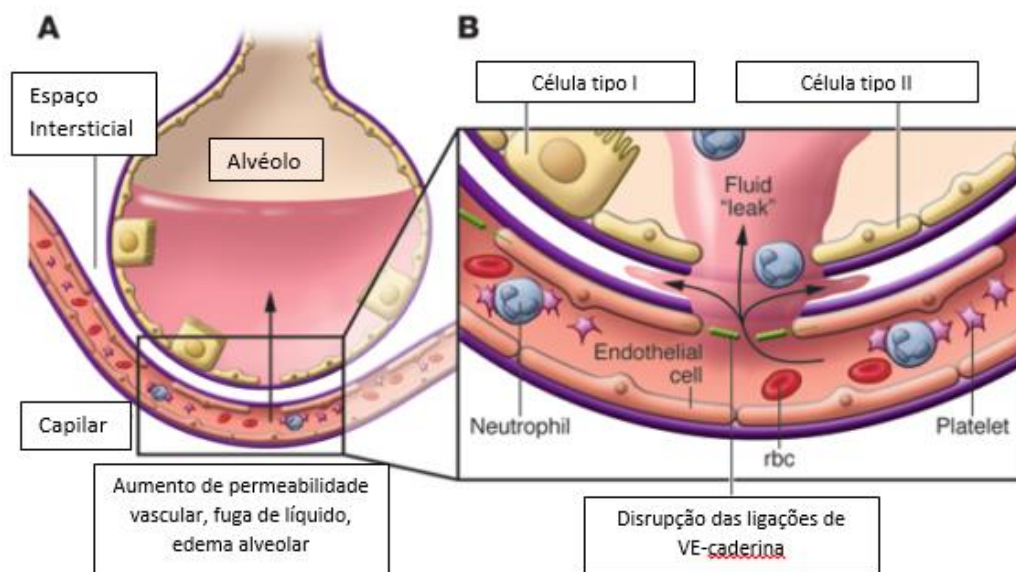


Figura 2-2 - Esquema representando a disrupção das ligações de VE-caderina. Retirado de Ware e Matthay, 2000.⁴²

Os danos, no entanto, não se limitam apenas à membrana endotelial. A membrana epitelial alveolar é constituída em condições fisiológicas normais por 90% de células epiteliais do tipo I e apenas 10% de células epiteliais do tipo II, como já foi referido. Estas últimas no

entanto são essenciais para a produção de surfactante e para o transporte de iões. Esta barreira é por si só menos permeável que a barreira endotelial, pelo que a sua destruição promove um grande influxo de líquido rico em proteínas para o alvéolo. Para além disso, o seu comprometimento incapacita também o transporte transepitelial de fluido e dificulta assim a reabsorção do edema.⁴³

O mecanismo que tem sido apontado para a causa dos danos na membrana epitelial tem sido a indução de apoptose e morte celular. Em particular em estudos de LAP induzido por sépsis, tem sido verificado uma ativação dependente da severidade de infeção do sistema Fas-FasL. Este sistema consiste num recetor de superfície na membrana celular, Fas, cuja ligação ao seu ligando natural, FasL, induz uma série de alterações intracelulares como a ativação de caspases que levam à morte da célula em questão. Nestes estudos de LAP indireta, as concentrações de FasL encontram-se mais elevadas localmente ao invés de sistemicamente, sugerindo que a fonte do ligando sejam os monócitos infiltrados bem como os neutrófilos.^{43,58}

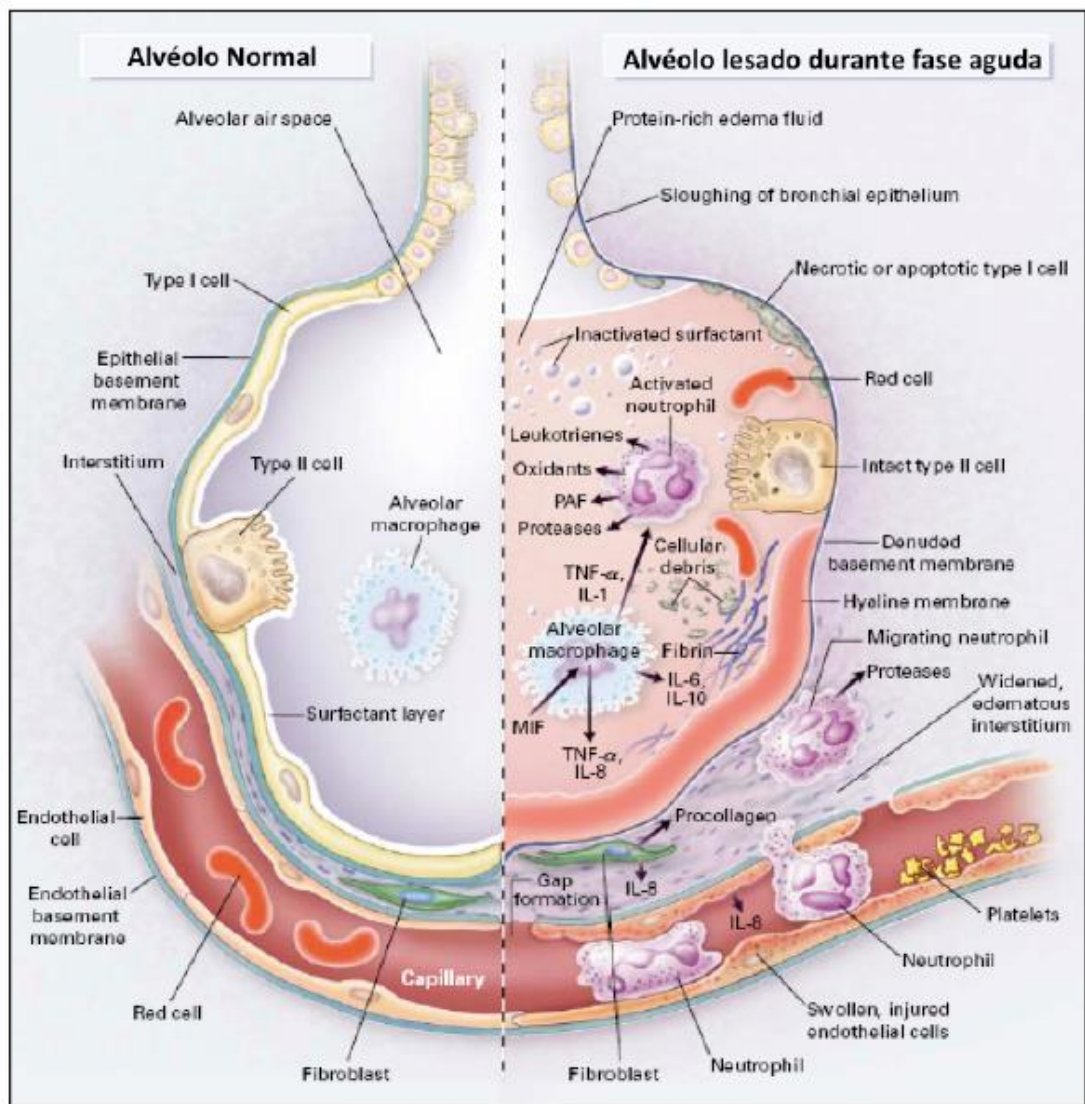


Figura 2-3 - Esquema representando as principais lesões na fase aguda de LAP/SDRA. Retirado de Ware e Matthay, 2000.⁴²

A resolução destas lesões causadas na fase aguda de LAP envolve a remoção dos neutrófilos em apoptose, remoção do fluido alveolar rico em proteínas, e remodelação da matriz. O edema alveolar é reabsorvido através de transporte ativo de sódio para o espaço intersticial, que é seguido pelo movimento de água através do epitélio. Este processo é auxiliado através da presença de canais transcelulares de água, as aquaporinas. As proteínas solúveis são removidas através de difusão passiva, ao invés das insolúveis que sofrem endocitose através das células epiteliais e são fagocitadas pelos macrófagos. A integridade epitelial é restaurada através da proliferação de células do tipo II, que posteriormente se

diferenciam em células do tipo I. o infiltrado celular acumulado é resolvido através de processos como a apoptose e fagocitose.^{32,35}

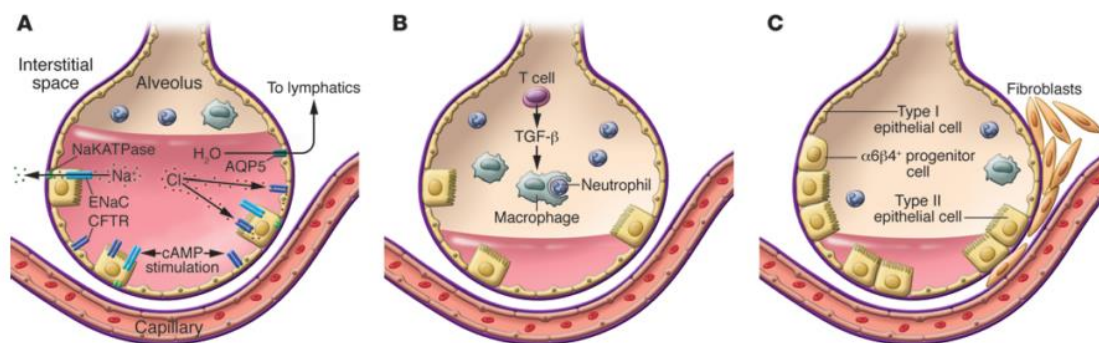


Figura 2-4 - Esquema representando a resolução da fase aguda de LAP. Retirado de Ware e Matthay, 2000.⁴²

Naqueles doentes onde não ocorra resolução do estado inflamatório, é inevitável a progressão para a última fase de SDRA, caracterizada por fibrose intra-alveolar e intersticial. Esta provém essencialmente dos fibroblastos, sendo que o colagénio também pode ser produzido pelas células epiteliais, endoteliais e do músculo liso. Os macrófagos são também uma importante fonte de fator de crescimento de tumor (TGF- β), fator de crescimento tipo insulina (IGF-1) e endotelina-1 (ET-1), todas citocinas pró-fibróticas.^{32,59}

Para além dos acontecimentos mencionados, outra das características de LAP/SDRA é a ativação da cascata da coagulação. A deposição de fibrina nos alvéolos e a presença de microtrombos na vasculatura pulmonar deve-se à preponderância dos fatores pró-coagulantes sobre os anticoagulantes, perturbando assim o equilíbrio que confere fluidez ao sangue. Citocinas libertadas como a IL-6 induzem a expressão do fator tecidual, enquanto que o TNF- α bloqueia mecanismos de inibição da coagulação e fibrinolíticos. A trombina atua nas células endoteliais provocando a sua contração e aumentando a sua permeabilidade, enquanto que por sua vez estas regulam a hemostase produzindo substâncias pro-trombóticas (fator de von Willebrand que já foi referido). As células endoteliais fazem assim a ligação entre as componentes inflamatórias e coagulantes da LAP/SDRA.^{50,55,60}

Apesar de tudo já referido previamente, os principais mediadores do início e da progressão de LAP/SDRA são os mediadores solúveis responsáveis pela ativação de neutrófilos, macrófagos, células endoteliais e outras células envolvidas no processo. O equilíbrio entre as citocinas pro-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IFN- γ , IL-8) e as citocinas anti-inflamatórias (IL-10, IL-

11, fator inibitório de macrófagos (MIF)) torna-se determinante para a progressão da doença.^{41,61}

2.5. Consequências fisiopatológicas

A ativação da inflamação, as alterações endoteliais, a libertação de citocinas pró-inflamatórias, a libertação de citocinas anti-inflamatórias com efeitos imunossupressores, a marginação de neutrófilos ativados, a ativação sistémica de monócitos e a lesão microcirculatória que leva à necrose tecidual são todos processos da LAP/SDRA que podem agravar a inflamação sistémica já existente na sépsis e levar à lesão de mais órgãos, a chamada Disfunção Múltipla Orgânica. De fato, a maioria dos doentes com LAP/SDRA acaba por falecer devido a DMO, e não por falência respiratória isolada.⁵³

Na LAP/SDRA, existe uma grande diferença entre diversas áreas do pulmão. Geralmente, aquelas dependentes da gravidade encontram-se mais agravadas pela inflamação e edema, enquanto que as restantes se mantêm relativamente normais. Isto gera a que, aquando da inspiração, o ar tenda a seguir o caminho menos impedido, levando a uma sobre-distensão dos alvéolos ditos normais, e a uma menor ventilação dos alvéolos agravados. Estes no entanto, continuam a ser perfundidos, o que leva a uma inadequada relação ventilação-perfusão.^{13,45}

Para além da inundação alveolar e colapso alveolar, a redistribuição do fluxo sanguíneo (motivado pela hipóxia e pelo colapso alveolar distal), a rigidez do pulmão (devido à inflamação e fibrose) e redução da sua *compliance* (por perda da elasticidade e distensibilidade do pulmão) contribuem todos para a maior consequência a nível pulmonar: trocas gasosas incapacitadas e hipoxemia severa. Estas condições podem aparecer no decorrer da doença falência respiratória.⁵³

Outro problema que pode acompanhar a LAP/SDRA é hipertensão pulmonar. Esta pode ser causada por diversos fatores, incluindo pela hipoxemia nos alvéolos não ventilados, pelos mediadores inflamatórios libertados no decorrer da doença e pelos possíveis microtrombos formados que podem obstruir a microvasculatura pulmonar. Esta hipertensão pode resultar num esforço acrescido no ventrículo direito e causar falência cardíaca.⁵³

3. Estratégias terapêuticas

Até recentemente, a mortalidade entre doentes que desenvolviam Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda e que necessitavam de ventilação mecânica prolongada tem permanecido inalterada (cerca de 30 a 50%), apesar do maior conhecimento da sua fisiopatologia e do uso de terapêuticas mais dirigidas a estes processos patológicos.⁶²

Apesar dos progressos feitos, ainda não existe uma terapêutica específica e universal para SDRA. Os procedimentos essenciais passam pelo controlo do fator precipitante ou causal, simultaneamente aplicando suporte para as disfunções de órgãos que se estabeleçam. Estes cuidados de suporte envolvem evitar complicações da doença e manter os níveis de oxigenação apropriados.¹³

O reconhecimento de que o uso de ventilação mecânica pode por si só causar lesão pulmonar e que poderá ter contribuído para taxas de mortalidade superiores ao longo dos anos levou a que se tenham desenvolvido estratégias de ventilação “protetoras” que resultaram num melhor prognóstico. Desde o reconhecimento da “lesão pulmonar induzida por ventilador”, os objetivos da ventilação mudaram de alcançar a máxima oxigenação para evitar esta lesão.⁶³

3.1. Controlo do fator precipitante ou causal

Como foi referido previamente, os procedimentos essenciais na terapêutica de SDRA passam pelo controlo do fator precipitante ou causal, simultaneamente aplicando suporte para as disfunções de órgãos que se estabeleçam. No caso de SDRA que se desenvolva no decurso de sépsis grave, como ocorre em cerca de 20% a 40% dos doentes, isto envolve duas intervenções fundamentais:

- A remoção ou prevenção da causa, ou seja a infeção, prevenindo também a possibilidade de reinfeção;
- A remoção de outros fatores precipitantes, principalmente a hipóxia e a hipoperfusão.¹³

Estes fatores são os principais agravantes da inflamação sistémica e pulmonar que ocorre nesta condição, pelo que a sua remoção é fundamental para a melhoria do doente. No

caso específico de SDRA induzida por sépsis grave, isto refere-se então à utilização de antibioterapia combinada adequada o mais rapidamente possível e à reanimação de fluidos, como já foi referido no capítulo do Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica.¹³

3.2. Ventilação mecânica

Como já foi explicado noutra capítulo desta dissertação, a ventilação pulmonar fisiológica faz-se gerando uma pressão intratorácica negativa que “aspira” o volume corrente de ar para dentro do pulmão. Não sendo possível fazer o mesmo artificialmente, a ventilação mecânica atua através de uma pressão positiva no exterior (ventilador) que insufla o ar sob pressão para as vias aéreas do doente.¹³

Apesar da intubação endotraqueal ser quase invariavelmente necessária a certa altura, ventilação através de pressão positiva através de uma máscara demonstrou ser um suporte eficaz da função respiratória em doentes em estados iniciais de falência respiratória aguda. Contudo, inevitavelmente introduz-se a ventilação mecânica endotraqueal.⁶⁴

Como já foi referido previamente, no SDRA as propriedades mecânicas do pulmão e as lesões são muito heterogéneas, o que faz com que hajam grandes diferenças na distribuição da ventilação. Acabam por existir no mesmo pulmão áreas de tecido normal e áreas extremamente afetadas, com grande inflamação, edema e colapsadas. Isto faz com que uma grande parte do pulmão não seja ventilada, pelo que a aplicação de volumes corrente de 10 a 15 mL/Kg (considerados adequados historicamente) levava a uma distensão exagerada dos alvéolos ventilados, ao mesmo tempo que falhava em alcançar os alvéolos afetados pela doença.^{63,65}

Esta distensão exagerada dos alvéolos ventilados causa o que se designou por volutrauma, uma lesão pulmonar induzida pelo excessivo volume pulmonar proveniente da ventilação mecânica. Esta lesão pulmonar induzida por ventilador está associada a uma resposta inflamatória no pulmão caracterizada pela infiltração de granulócitos, libertação de citocinas pró-inflamatórias e permeabilidade microvascular alterada, que pode até levar a efeitos sistémicos e SIRS. Os mecanismos exatos para este fenómeno ainda não são bem conhecidos, mas pensa-se que a distensão excessiva das paredes alveolares gera sinais sensitivos mecânicos que levam à libertação de uma série de citocinas pró-inflamatórias. Com

o reconhecimento desta lesão induzida por ventilador, passaram-se a adotar estratégias de ventilação mais protetoras do pulmão.^{42,63,66,67}

Devido à perda de área do pulmão ventilada e à redução ou mesmo depleção de surfactante, a distensão do pulmão é mais difícil e requer maior pressão para insuflar o mesmo volume corrente. Para além disto, tendo em conta que o número de unidades alveolares ventiladas pode estar reduzido para 30%, introduziu-se o conceito de “*baby lung*”: se o volume alveolar ventilável se encontra reduzido, devem-se utilizar **volumes correntes baixos**, de forma a limitar a pressão inspiratória alveolar e reduzir a distensão alveolar, ao invés de usar volumes correntes que normalizem os valores de gases sanguíneos. Estes volumes correntes situam-se à volta dos 6 a 8 mL/Kg de peso ideal do doente.^{13,33,64}

Como já foi mencionado, existem áreas do pulmão que estão severamente afetadas pela doença, inflamadas e colapsadas. Outra estratégia de ventilação protetora que se passou a adotar foi o uso de uma **pressão expiratória final positiva (PEEP)**. Verificou-se que a insuflação de ar por pressão positiva permitia recrutar alguns alvéolos colapsados. No entanto, no final da expiração, se a pressão intrapulmonar retornasse ao zero esses alvéolos com menor distensibilidade atingiam volumes críticos de encerramento e tornavam a colapsar. A reabertura dos mesmos durante a inspiração requer depois maiores pressões transpulmonares, e este ciclo torna-se nocivo para o tecido pulmonar. Para além disto, de cada vez que um alvéolo vizinho de um alvéolo em atelectasia é insuflado, sofre repuxamento pelo vizinho e corre risco de rutura da parede alveolar.^{13,63}

Assim sendo, se ao invés de retornar ao zero se mantiver uma pressão positiva no final da expiração, torna-se possível evitar o colapso alveolar e mantê-los abertos para nova inspiração. A técnica de PEEP permite assim prevenir a lesão alveolar decorrente do ciclo abertura-colapso alveolar, ao mesmo tempo que recruta mais unidades alveolares para ventilação, melhorando assim a relação ventilação-perfusão.^{44,63}

Ao utilizar então uma PEEP adequada para prevenir o colapso alveolar, as regiões não afetadas sofrem uma distensão moderada mesmo no final da expiração. Por esta razão, torna-se necessário conjugar com esta técnica volumes correntes baixos, de modo a evitar as lesões pulmonares decorrentes da distensão excessiva. Com esta técnica é também necessário estar atento aos possíveis efeitos hemodinâmicos que o aumento da pressão intratorácica poderá causar.^{13,63,68}

Atualmente, a estratégia recomendada é o uso de um valor de PEEP balanceado com uma pressão de insuflação de modo a que a pressão de planalto² se mantenha inferior a 30 cm de H₂O.^{13,69}

Para além das estratégias mencionadas acima, outras mais recentes têm sido desenvolvidas, como é o caso da **ventilação de alta frequência**. Nesta abordagem, uma bomba oscila entre frequências de 3 a 10 Hz, gerando alterações de pressão que levam a um volume corrente baixo, mas com alta frequência respiratória. O que esta técnica permite é um recrutamento alveolar continuado. No entanto, ainda há poucos estudos que comprovem o benefício do seu uso.^{33,70}

Outro método utilizado tem sido a **ventilação líquida**, em que os pulmões são parcialmente instilados com um líquido inerte de perfluorocarbono. Este possui maior solubilidade para oxigénio e dióxido de carbono, tem um efeito tipo-surfactante e funciona como um PEEP líquido uma vez que é mais denso que a água e aumenta a pressão transpulmonar preferencialmente nas zonas mais afetadas (dependentes da gravidade), evitando assim o seu colapso e melhorando as trocas gasosas.^{33,63}

3.3. Posição de decúbito ventral

Colocar um doente que esteja em falência respiratória na posição de decúbito ventral tem mostrado melhorias significativas na sua oxigenação. Os mecanismos que expliquem estas melhorias ainda não são claros, embora se pense que uma ventilação alveolar mais uniforme, o recrutamento de regiões dorsais em atelectasia, menos efeitos da pressão abdominal na cavidade torácica, melhor drenagem postural e remoção das secreções, e redistribuição da circulação sanguínea sejam todos relevantes para as melhorias observadas.⁶⁴

Embora não haja ainda muitos estudos que demonstrem melhorias a nível das taxas de sobrevivência ou de redução na duração da ventilação, Sud et al demonstraram uma melhoria na mortalidade em doentes de SDRA, quando era utilizada esta técnica em conjunto com ventilação protetora. As melhorias significativas na oxigenação levaram a que esta técnica seja considerada para todos os doentes em hipoxemia severa, incluindo aqueles com SDRA grave.

² - Pressão medida no final da inspiração, com pausa, zero de fluxo e em condições estáticas, e é a pressão que melhor se correlaciona com a pressão transpulmonar e que melhor traduz o risco de lesão alveolar por distensão exagerada dos alvéolos.

O período de tempo em que o doente deverá permanecer nesta posição ainda não se encontra bem definido, embora estudos com períodos de 20 horas por dia tenham obtido melhores resultados.^{13,64,71}

3.4. Reposição de surfactante

O surfactante pulmonar é, como já tinha sido referido, essencial para o funcionamento pulmonar normal. É composto por uma mistura de fosfolípidos, lípidos e proteínas que no seu conjunto revestem a interface entre gás e líquido no interior do alvéolo e ajudam a reduzir a tensão superficial, evitando assim o colapso alveolar. Para além disto, tem um papel importante na defesa do organismo e na supressão do processo inflamatório.⁶³

No SDRA verifica-se que, para além de uma deficiente produção de surfactante (por danos às células epiteliais do tipo II), existe também produção de surfactante de composição anormal devido aos processos inflamatórios e inativação deste por proteínas do fluido edematoso e por espécies reativas de oxigénio.⁶³

A administração de surfactante exógeno parece uma abordagem que confere benefícios na terapêutica de SDRA; no entanto, até à data ainda não se conseguiu demonstrar benefícios na mortalidade desta doença. Contudo, os estudos efetuados apresentam diversas limitações, como é o exemplo de inadequado aporte de surfactante (por se utilizar aerossóis que vão depositar nas áreas não afetadas), ou uso de composição de surfactante com insuficiente teor de proteínas hidrofílicas. São necessários mais estudos antes que se possa utilizar esta abordagem na terapêutica habitual.^{33,72}

3.5. Gestão de fluidos

O desenvolvimento de edema pulmonar não-cardiogénico, rico em proteína, é um traço característico de SDRA. Há aproximadamente 30 anos atrás, foi demonstrado experimentalmente que reduzir as pressões hidrostáticas vasculares no pulmão levava a um menor edema pulmonar na situação de permeabilidade alterada.⁴²

Como já foi referido no capítulo de SIRS, a terapia com fluidos (coloides ou cristaloides) é a intervenção mais prioritária para estabilizar doentes com sépsis grave. Quando esta é agravada por SDRA, os objetivos na gestão de fluidos são de manter uma adequada perfusão

de órgãos sem agravar o edema pulmonar que por sua vez agrava as trocas gasosas. A administração de colóides (que apresentam maior retenção vascular que os cristaloides) em conjunto com diuréticos tem sido sugerida como uma estratégia para manter a hemodinâmica ao mesmo tempo que se remove o edema pulmonar.⁶⁹

Visto que a sépsis é das causas mais comuns de SDRA, a terapêutica de fluidos deve ter em conta que a fase de ressuscitação requer uma administração de fluidos mais agressiva para obtenção de uma pressão arterial adequada e um aporte de oxigénio aos tecidos adequado. Ultrapassada esta fase, a administração agressiva de fluidos já não é benéfica e deve-se passar para uma abordagem mais conservativa de fluidos de modo a obter pressões capilares mais reduzidas e a diminuir o gradiente hidrostático transcapilar.^{31,69}

Esta abordagem tem sido associada a menor duração de ventilação mecânica e menor permanência nas unidades de cuidados intensivos. No entanto, devido às potenciais complicações provenientes do uso de cateteres centrais venosos, e arteriais pulmonares, esta estratégia não é utilizada rotineiramente.⁴⁶

3.6. Inalação de Monóxido de Azoto

O monóxido de azoto é um potente vasodilatador endógeno, com múltiplas funções no organismo. Quando administrado por inalação em concentrações até 20 partes por milhão (ppm), tem um efeito significativo na oxigenação arterial, visto que provoca vasodilatação nos alvéolos ventilados e reduz a resistência vascular pulmonar. Quando atinge a circulação, é rapidamente inativado pela hemoglobina, tornando os seus efeitos sistémicos muito reduzidos.⁶⁴

Ao aumentar o fluxo sanguíneo nos alvéolos ventilados, esta terapêutica permite melhorar a relação ventilação-perfusão, sem grandes efeitos adversos em tecidos vizinhos. Embora um efeito anti-inflamatório também tenha sido postulado, e haja realmente uma melhoria temporária na oxigenação, esta abordagem não demonstrou ainda efeitos positivos na mortalidade, e os seus efeitos benéficos têm sido atribuídos às reduções na quantidade de suporte de ventilação mecânica necessário.^{64,73}

3.7. Corticosteróides

Visto que o SDRA é caracterizado por um intenso processo inflamatório seguido por alterações fibroproliferativas, a utilização de corticosteroides devido ao seu potente efeito anti-inflamatório era a abordagem óbvia para a terapêutica da doença. Os corticosteroides, para além da inibição de várias citocinas pró-inflamatórias e da inibição da transcrição de vários genes inflamatórios, também promovem os efeitos anti-fibróticos do cortisol (através da inibição de proliferação de fibroblastos e da deposição de colagénio).⁶⁹

No entanto, embora ideais em teoria, a sua utilização na prática tem sido difícil de implementar. Estudos de prevenção de SDRA em doentes de risco sugerem que não há nenhum efeito preventivo de ciclos de elevadas doses de corticosteroides. Para além disto, também não apresentaram nenhum benefício em termos de mortalidade em doentes em fases iniciais de SDRA.^{33,74}

Em contraste, houve estudos que mostraram um benefício na administração de baixas doses de corticosteroides nas fases iniciais de SDRA, nomeadamente na mortalidade, taxas de infeção e menor duração da ventilação mecânica. Estes estudos apresentavam várias limitações, pelo que é necessário um maior número de estudos para que se possa aferir os efeitos de baixas doses de corticosteroides nas fases iniciais de SDRA.³³

Para além disto, estudos cujo objetivo era averiguar os efeitos de corticosteroides nas fases tardias de SDRA, após os primeiros 7 dias, revelaram não haver nenhum benefício em termos de mortalidade. Determinou-se ainda uma maior mortalidade nos doentes tratados com corticosteroides após o décimo quarto dia.³³

Pelas razões mencionadas acima, o uso de corticosteroides deve apenas ser considerado nas fases iniciais de SDRA, não sendo recomendado a sua administração após o décimo quarto dia e tendo sempre em atenção os seus efeitos nocivos como são exemplos a hiperglicemia e propensão para infeções secundárias.³³

3.8. Outras terapêuticas

Outras abordagens terapêuticas têm sido desenvolvidas na tentativa de melhorar o prognóstico dos doentes afetados por esta doença. No entanto, a falta de estudos comprovando a sua eficácia dificultam a sua implementação na prática clínica.

Entre elas estão por exemplo o uso de outros fármacos, como é o caso do cetoconazol, um antifúngico que é conhecido por inibir a síntese do tromboxano A₂ (um potente vasoconstritor que está envolvido na agregação plaquetar e recrutamento de neutrófilos); ou do salbutamol ou outros agonistas β-2 que através da *up-regulation* dos mecanismos de transporte do sódio têm o potencial de melhorar a clearance do fluido edematoso alveolar.⁷³

O uso de anticorpos contra os mediadores inflamatórios é também uma área que está a ser estudada atualmente, nomeadamente contra o TNF-α (cujas ações não são só diretamente nas células como também induz outros mediadores pró-inflamatórios e promove o recrutamento de neutrófilos ativados) e contra a IL- 8 (uma potente quimiocina que atrai neutrófilos ativados e está também envolvida na apoptose celular).⁷³

A insulina quando administrada por inalação tem também sido estudada pelo seu potencial efeito anti-inflamatório nos neutrófilos e macrófagos no exsudado, como também nas células epiteliais e endotélio. No entanto isto permanece por enquanto como uma hipótese, não tendo sido demonstrada à data benefícios em ensaios pré-clínicos ou clínicos.⁷⁵

A superóxido dismutase e outros antioxidantes têm também sido alvos de estudos, pelo seu poder de atuar nas espécies reativas de oxigénio responsáveis pelo dano oxidativo na lesão pulmonar. No entanto, como todas as referidas acima, são necessários mais estudos para comprovar a sua eficácia na prática clínica.⁷³

4. Papel das Células Estaminais na Lesão Aguda Pulmonar

4.1. Novas abordagens terapêuticas na LAP/SDRA e na sépsis

Ao longo dos anos têm-se verificado grandes progressos no tratamento da lesão aguda pulmonar. No entanto, e apesar das estratégias apresentadas no capítulo anterior, novas abordagens são necessárias para reduzir a morbilidade/mortalidade associada a este síndrome.

Recentemente, avanços nas terapias envolvendo células estaminais e genómica têm sido alvo de interesse por parte de investigadores da área da lesão aguda pulmonar.

Terapia baseada em células estaminais

As células estaminais são células precursoras indiferenciadas que têm a capacidade de se auto-renovar e de se diferenciar em células de múltiplas linhagens. Podem ser classificadas pela sua capacidade de regenerar (pluripotentes ou multipotentes) ou pela sua origem (adulto ou embrião).⁷⁶

As células estaminais embrionárias são derivadas do blastocisto em desenvolvimento e são designadas como pluripotentes. Isto designa a sua capacidade de se proliferarem indefinidamente sem diferenciação em células mais específicas. Esta característica torna-se uma desvantagem quando se pensa em utilizar na prática clínica pois este crescimento não regulado pode levar à formação de neoplasias. As células estaminais derivadas do adulto já não apresentam este problema uma vez que são capazes de se diferenciar em diversos tecidos, mas o seu destino parece estar um pouco mais restrito. São estas últimas as mais estudadas para o seu uso na terapia.⁷⁷

Muito do interesse inicial nestas células para o seu uso na lesão pulmonar provinha das suas propriedades multipotentes, ou seja, a capacidade de uma única célula ser capaz de se proliferar levando a uma sucessão de células que têm progressivamente menos capacidade de se auto-renovar e cada vez mais se diferenciam em células de uma linhagem específica. Isto significava a sua capacidade de incorporação no tecido pulmonar e a reparação de zonas lesadas. Estudos mais recentes sugerem no entanto a existência de outros mecanismos envolvidos, como é exemplo a sua capacidade de libertar fatores parácrinos como fatores de crescimento, fatores de regulação da permeabilidade epitelial e endotelial, citocinas anti-inflamatórias e proteínas ou péptidos antimicrobianos.^{76,77}

Terapia baseada em métodos genômicos

Atualmente existe também um novo foco de atenção na área da genômica funcional para abordar as alterações nos fenótipos de células chave na LAP/SDRA. Entre várias estratégias, uma que se tem mostrado mais eficaz é a *up-regulation* da expressão de genes para mediadores anti-inflamatórios como a proteína inibitória do fator de transcrição nuclear kappa B (NFκB e sua proteína inibitória IκB), fator de crescimento de queratinócitos (KGF), e a angiopoietina-1.⁷⁸

Um importante regulador das respostas inflamatórias, e também das respostas imunitárias, é o fator de transcrição nuclear kappa B, que permanece normalmente inativado no citoplasma quando está em associação com as proteínas inibitórias, mas que quando ativado por um estímulo migra para o núcleo e inicia a transcrição de uma série de genes pró-inflamatórios. Com a sobre-expressão de proteínas inibitórias, este fator permanece inativado e previne-se assim a transcrição de uma série de genes que codificam para mediadores pró-inflamatórios, como o do TNF.⁷⁸⁻⁸⁰

27

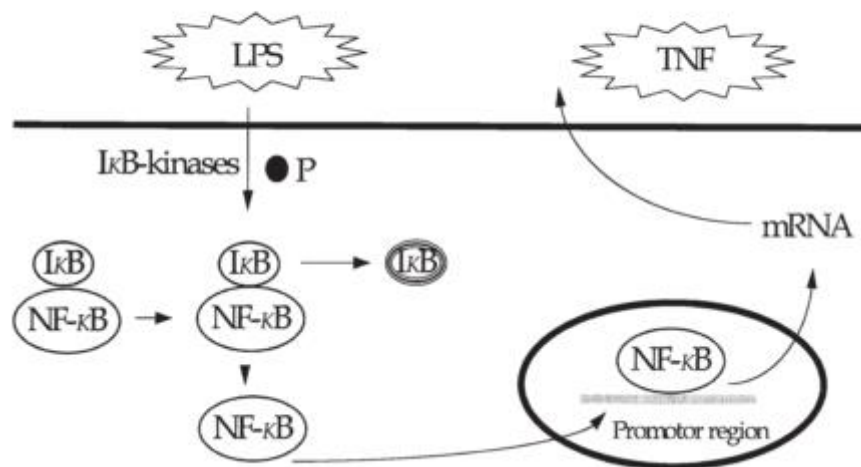


Figura 4-1- Esquema representando o mecanismo de atuação do NFκB. Retirado de Klosterhalfen, 1998.⁷⁹

O fator de crescimento de queratinócitos é secretado por fibroblastos e células do músculo vascular liso e foi recentemente apontado como o principal fator mitogénico para células alveolares do tipo II. Foi já demonstrado que a sobre-expressão de KGF nos pulmões

atenuava a lesão pulmonar por promover a proliferação de células epiteliais tipo II e assim aumentar a produção de surfactante.⁷⁸

Os fatores de crescimento endotelial angiopoietina-1 e angiopoietina-2 mantêm as condições de homeostase vascular. A angiopoietina-1 tem um papel crucial no desenvolvimento da vasculatura no embrião. Foi reportado em estudos experimentais que pode atuar como um fator anti-inflamatório ao reduzir a inflamação pulmonar, o extravasamento de plasma, e a liberação de citocinas e expressão de moléculas de adesão. A angiopoietina-2, pelo contrário, encontra-se elevada nas situações de lesão pulmonar, como foi demonstrado num modelo murino de LAP induzida por choque séptico em que o equilíbrio é perturbado pelas interações entre células endoteliais e neutrófilos ativados e ocorre a sua liberação.^{78,81}

Terapia baseada em células estaminais e métodos genómicos

A terapia baseada em métodos genómicos é já vastamente aceite como promissora tanto para doenças geneticamente determinadas como idiopáticas. No entanto, o uso de vetores virais sempre foi problemático, desde causar uma resposta imune no hospedeiro à formação de tumores. Uma nova abordagem para o aporte da terapia génica para o epitélio alveolar tem sido o uso de precisamente células estaminais.⁷⁸

Apesar das limitações de baixas percentagens retidas nos pulmões e da incerteza da resposta do hospedeiro, a ação sinérgica da terapia combinada de células estaminais e da terapia génica permite a focalização direta no pulmão para a intervenção clínica e proporciona uma fonte específica naquele tecido para liberação de proteínas terapêuticas ou outros produtos celulares.^{78,82}

4.2. Fisiologia das Células Estaminais e seus efeitos protetores na lesão aguda pulmonar

Como já foi referido, tanto células estaminais embrionárias como as derivadas do adulto apresentam um potencial notável para a reparação e regeneração de diversos órgãos, incluindo os pulmões. Por razões já mencionadas, são as células estaminais derivadas do adulto as mais estudadas para a aplicação na prática clínica, e destas, as que têm sido alvo de maior atenção são as células mesenquimais do estroma (MSCs) e células endoteliais progenitoras (EPCs).⁶²

As MSCs podem ser isoladas de múltiplos tecidos; contudo, a fonte melhor caracterizada tem sido a medula óssea. Os critérios para definir MSCs humanas incluem a expressão de moléculas de superfície como CD105, CD73 e CD90, a ausência de expressão de CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 α , CD19 ou HLA-DR e a capacidade de se diferenciarem em adipócitos, osteócitos e condrócitos *in vitro*.⁶²

No pulmão, MSCs são capazes de se diferenciar em células epiteliais tipo I e tipo II, fibroblastos, células endoteliais e células epiteliais dos brônquios. Para além de se incorporarem no tecido pulmonar, estas células têm fortes características imunomoduladoras que promovem a reparação deste tecido. Entre elas incluem-se a capacidade de modular a resposta e função de linfócitos T e B, neutrófilos, macrófagos ativado e células dendríticas, através da libertação de citocinas e mediadores lipídicos, como a prostaglandina E₂. Para além disto, produzem angiopoietina-1 (cujas propriedades foram referidas previamente), e fatores de crescimento com propriedades citoprotetoras e reparadoras, como o fator de crescimento de endotélio vascular e o fator de crescimento de queratinócitos.⁸³

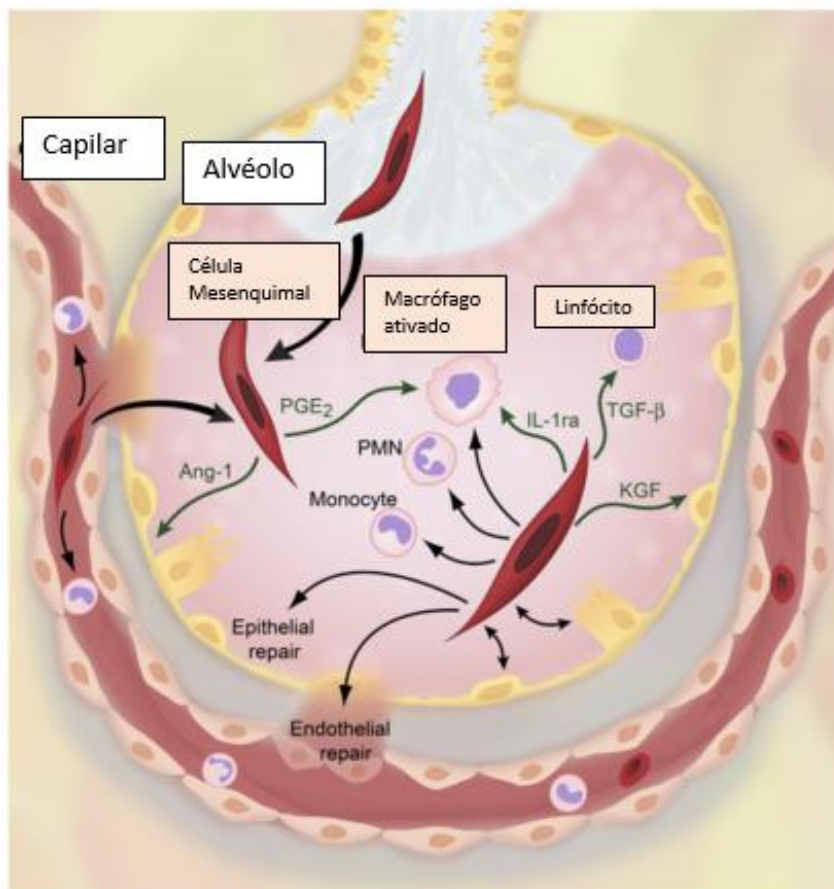


Figura 4-2- Esquema representando os efeitos terapêuticos das MSCs. Retirado de Matthay, 2010.⁸³

Outra característica importante é o fato de não serem imunogênicas: o sistema imunitário do hospedeiro não as deteta como “estranhas” ao organismo e não provocam assim qualquer resposta imunitária. Estas células expressam baixos níveis de moléculas do complexo major de histocompatibilidade I e não expressam moléculas do complexo major de histocompatibilidade de classe II, o que as torna passíveis de transplantação mesmo entre indivíduos não compatíveis.⁷⁷

Devido a esta capacidade de “fugir” ao sistema imunitária, as MSCs têm sido também utilizadas como vetores para terapia gênica, como foi mencionado anteriormente. Para além disto, estão agora a ser estudadas pelos seus efeitos benéficos numa série de doenças, desde a doença de Crohn a traumatismo cerebral.⁸⁴ Para efeitos desta dissertação, será dada maior relevância aos seus efeitos na lesão pulmonar de diversos tipos, mais especificamente na sépsis.

Ao contrário das MSCs, as células endoteliais progenitoras são um subtipo de células hematopoiéticas com a capacidade de se diferenciarem apenas em células endoteliais maduras. Foram descobertas por volta de 1997 quando ao se purificar uma população de células se observou que estas possuíam propriedades de tanto células endoteliais como células progenitoras. Estas células migram da medula óssea para a circulação periférica, nomeadamente locais isquémicos, onde contribuem para a reparação vascular e formação de novos vasos sanguíneos. A sua caracterização fenotípica ainda é incerta, pelo que ainda se confundem muitas vezes com outras células endoteliais circulantes (CEC).⁷⁷

Desde a sua descoberta que têm sido estudadas como biomarcadores de doença cardiovascular e como terapia celular para a reparação de vasculatura lesada.⁷⁷

4.3. A sua utilização no prognóstico da doença

O aumento de células endoteliais circulantes em doentes em sépsis ou choque séptico quando comparados com indivíduos sãos já há algum tempo que é associado à lesão endotelial que ocorre nestes estados. Para além disto, o seu aumento em doentes em sépsis que ainda não estão em choque séptico levou à conclusão de que o dano endotelial ocorre mesmo antes de se estabelecer falência de órgãos.⁷⁷

Estudos considerando os valores de EPCs na sépsis só emergiram nos últimos anos, mas foram observados valores superiores de EPCs em doentes em sépsis, em comparação com indivíduos sãos. Para além disto, verificou-se que os níveis de EPCs eram superiores nos doentes que sobreviviam à sépsis e foi demonstrado que o número de EPCs circulantes estava inversamente correlacionado com a gravidade de falência de órgãos.⁷⁷

Assim, surgiu a hipótese de que a lesão endovascular induzia a libertação destas células da medula óssea mas que estes valores também permitiam prever o desfecho clínico da doença. Neste sentido, os valores de EPCs revelam-se como um promissor biomarcador para o prognóstico de doentes em falência de órgãos derivada de sépsis, e suporta a hipótese de que a mobilização destas células da medula óssea contribui para a reparação do endotélio vascular e dos órgãos lesados.⁷⁷

Também em doentes com LAP/SDRA foram verificados níveis superiores de EPCs quando comparados a indivíduos controlo. Estes valores estavam também mais elevados nos indivíduos que apresentavam sobrevivência após os 28 dias, sugerindo novamente que a sua mobilização para o pulmão contribuía para a reparação e regeneração do endotélio pulmonar.⁷⁷

4.4. A sua utilização na terapêutica: células mesenquimais do estroma

Devido às suas propriedades fisiológicas já mencionadas, as células mesenquimais do estroma têm sido alvo de vários estudos no que concerne ao seu efeito em diversos modelos de lesão aguda pulmonar.

Diversos estudos mimizando a lesão pulmonar que ocorre na sépsis grave revelaram que o uso de MSCs nestes modelos permitiu reduzir os valores de citocinas pró-inflamatórias e inibir a resposta inflamatória aguda que se desenvolve. Verificou-se também que os efeitos benéficos desapareciam quando se utilizavam modelos animais sem monócitos ou macrófagos, sugerindo uma interação entre as MSCs e estas células no mecanismo de proteção pulmonar.^{62,85}

Num modelo de sépsis por ligação e punção do ceco, observou-se que os efeitos benéficos das MSCs não se limitavam aos pulmões, que apresentavam menos infiltrados pulmonares e edema intersticial reduzido. Observou-se neste caso que o uso de MSCs resultou

numa redução das células em apoptose renais e valores de creatinina sérica normais, estimando-se uma melhoria na mortalidade de 50% neste modelo de sépsis.⁸⁴

Apesar das perspectivas promissoras das MSCs na terapia de LAP/SDRA e sépsis, muito há ainda para esclarecer. A sua via de administração preferencial ainda não está definida, visto que elas têm a capacidade de migrar e de se alojar em zonas lesadas. No entanto, de momento, tudo indica que a via intravascular é tao eficaz como a intra-alveolar. Contudo, tem sido mais utilizada a via intravascular devido à natureza heterógena da própria doença no pulmão.⁸³

A dose e altura de administração também não estão consensualmente definidas, se bem que se recomenda um tratamento de pelo menos três dias consecutivos na fase aguda da LAP, sendo que os seus efeitos benéficos, como por exemplo a libertação de fatores solúveis, demoram a aparecer e tendem a diminuir depois com o tempo.^{76,83}

Uma grande variedade de mecanismos foram apontados para explicar os efeitos das MSCs na resolução da lesão pulmonar.

Mecanismo: Incorporação no tecido pulmonar (“Engraftment”)

O interesse inicial nas células estaminais derivava da sua natureza multipotente. Verificou-se que uma única célula estaminal derivada da medula óssea poderia dar origem a células de diversos órgãos incluindo o pulmão, e foi reportada a incorporação no pulmão de até 20% de células derivadas da medula óssea, incluindo células epiteliais, todas provenientes de um único precursor hematopoiético.⁸⁶

A proteção que este mecanismo conferia estava associada à diferenciação destas células incorporadas em células específicas e distintas pulmonares. Este mecanismo foi contestado por diversos estudos que reportaram baixas taxas de incorporação e sugeriram novos mecanismos.⁸⁷

O interesse neste mecanismo desvaneceu um pouco após a formulação de outros mecanismos como a capacidade de deslocamento até zonas lesadas, interação com células hospedeiras lesadas, secreção de fatores parácrinos que regulam as respostas inflamatórias e regulação das alterações no endotélio e epitélio através da libertação de fatores de crescimento e péptidos antimicrobianos.⁸⁸

No entanto, o papel da incorporação das MSCs na lesão pulmonar requer maior investigação, pois houve estudos recentes que mostraram o potencial destas células de se especializarem e expressarem importantes marcadores de células do epitélio alveolar, e foram

também identificadas células estaminais dentro do próprio pulmão adulto, com algumas das características de MSCs, capazes de se diferenciar em células do tipo I ou II em resposta a lesão pulmonar.^{86,88}

Mecanismo: Imunomodulação

A principal característica das MSCs tem sido a sua capacidade de modular a resposta imunitária do hospedeiro. Diversos estudos demonstraram já que as MSCs apresentam potentes efeitos imunossuppressores mediados por mecanismos dependentes de contacto célula-a-célula ou independentes através da libertação de fatores solúveis.⁷⁶

Em termos celulares, as MSCs revelaram capacidade de suprimir a proliferação de linfócitos T, influenciar a maturação de células dendríticas, supressão da proliferação e diferenciação de linfócitos B e modular as atividades de outras células como os *Natural Killer* e macrófagos.⁸⁷

Entre os mediadores libertados ou cuja produção é induzida pelas MSCs estão a prostaglandina E₂ (PGE₂), IL-10 e IL-1RA. Um mecanismo importante parece ser a interação entre MSCs, ativadas por LPS ou TNF- α , e macrófagos alveolares. A secreção de PGE₂ pelas MSCs leva à “reprogramação” de macrófagos alveolares para a secreção de IL-10, uma citocina que, para além de reduzir a libertação de citocinas pró-inflamatórias, também leva à redução da apresentação de antigénios pelas moléculas do MHCII e co-estimulação dos macrófagos. Para além disto, foi reportado também um efeito inibitório por parte da IL-10 na adesão e migração transepitelial dos neutrófilos.⁸⁸

Outro efeito das MSCs, a secreção de IL-1RA, uma citocina que compete com a IL-1 β (uma das maiores citocinas pró-inflamatórias) pelo seu recetor, leva a uma redução na acumulação de colagénio, fibrose e edema pulmonar, contribuindo para o seu grande efeito anti-inflamatório na LAP/SDRA.^{87,88}

Apesar dos efeitos imunossuppressores bem documentados destas células, foi descoberto também recentemente um efeito imunoestimulador das MSCs. Observou-se que, quando expostas a baixos níveis de inflamação, as MSCs podiam aumentar a sua expressão de moléculas do MHCII e funcionar como células apresentadoras de antigénios, estimulando o sistema imunitário celular. Para além disto, conseguem também secretar IL-6 e induzir a produção de imunoglobulinas pelos linfócitos B. Outro efeito observado *in vitro* foi a sua

capacidade de inibir a apoptose e desgranulação de neutrófilos sem inibir as suas competências fagocíticas ou quimiotáticas.⁸⁸

Este novo conhecimento é benéfico quando se pensa na principal questão de segurança em relação ao uso de MSCs: o seu efeito na defesa do organismo contra infeções bacterianas. Visto que na sépsis existe o componente da invasão bacteriana do organismo, uma das questões preocupantes seria de que o efeito imunossupressor tao forte das MSCs incapacitasse o organismo de destruir a infeção. No entanto, à luz do que foi mencionado acima, esta preocupação pode mesmo ser desnecessária, e existem já estudos que descrevem um efeito protetor de MSCs administradas sistemicamente em modelos murinos de sépsis, com redução do número de bactérias vivas.⁸⁸

Mecanismo: clearance do fluido alveolar

Uma deficiente *clearance* do fluido alveolar, ou seja a não resolução do edema pulmonar, é comum em doentes com LAP/SDRA. O fluido do edema pulmonar nestes doentes contém uma série de citocinas pró-inflamatórias que através de diversos mecanismos incapacitam a resolução do edema.

Foi demonstrado que, de entre todos os fatores solúveis libertados pelas MSCs, está também o fator de crescimento de queratinócitos (KGF). É em parte a este fator que é atribuída a capacidade das MSCs de restaurarem a clearance de fluido alveolar na lesão pulmonar. Os seus efeitos incluem a indução da proliferação de células epiteliais do tipo II, a estimulação da síntese de surfactante, a redução da apoptose e aumento da transcrição/tradução das principais proteínas de transporte de sódio e cloro. É a este último mecanismo que é atribuído o efeito benéfico do KGF, visto que leva a um aumento do transporte de fluido através do epitélio alveolar.^{76,88}

A administração de KGF exógeno, embora levasse a uma melhoria transiente na lesão pulmonar, está limitada pela sua rápida degradação no organismo e pouca duração de ação. A utilização de MSCs transplantadas que expressassem de uma forma estável e em grandes quantidades o gene do KGF é um exemplo da terapia combinada de células estaminais e terapia génica que foi mencionado anteriormente. As MSCs mobilizam-se para as áreas de lesão pulmonar e aí tornavam-se uma fonte de KGF estável, ultrapassando os obstáculos da

degradação desta proteína quando administrado de outras formas. Este é um dos exemplos da utilização de MSCs como vetores de terapia gênica.⁸⁹

Mecanismo: restauração da permeabilidade pulmonar

A integridade do endotélio microvascular é essencial para prevenir o influxo de fluido rico em proteínas do plasma para o espaço alveolar, bem como para prevenir a infiltração de células inflamatórias.

As MSCs secretam fatores como o KGF (referido previamente) e a angiopoietina-1, um fator de estabilização vascular que reduz a permeabilidade vascular e inibe as interações entre leucócitos e células endoteliais vasculares através da modificação de moléculas de adesão e de aderência entre junções.^{86,90}

Um dos alvos do stress oxidativo são precisamente as mitocôndrias das células endoteliais e epiteliais, que por alterações na sua permeabilidade levam à indução da apoptose celular. No que concerne a este processo, foi também reportada a transferência de mitocôndrias das MSCs para as células epiteliais, restaurando a sua função nas células lesadas.^{20,90}

Mecanismo: propriedades antibacterianas

Uma questão que “confundia” os investigadores da área era o fato de que as MSCs pudessem apresentar efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores tão potentes e no entanto levassem à mesma a grandes melhorias na sobrevivência de doentes em sépsis (ou seja, com infeção subjacente).⁸⁴

Isto foi esclarecido quando foi demonstrado que os macrófagos e monócitos eram um dos alvos principais dos efeitos das MSCs. Demonstrou-se em modelos murinos tratados com MSCs uma atividade fagocítica aumentada de monócitos e macrófagos. Este processo foi explicado através de uma cultura *in vitro* de MSCs em conjunto com macrófagos, onde se verificou que as MSCs causavam um estado alternativo de ativação de macrófagos, caracterizado por propriedades anti-inflamatórias e atividade fagocítica mais potente.⁸⁶

Para além disto, as MSCs têm a capacidade de inibir o crescimento bacteriano diretamente, através da secreção de um péptido antimicrobiano LL-37, que foi associado a uma maior redução dos níveis bacterianos.⁸⁷

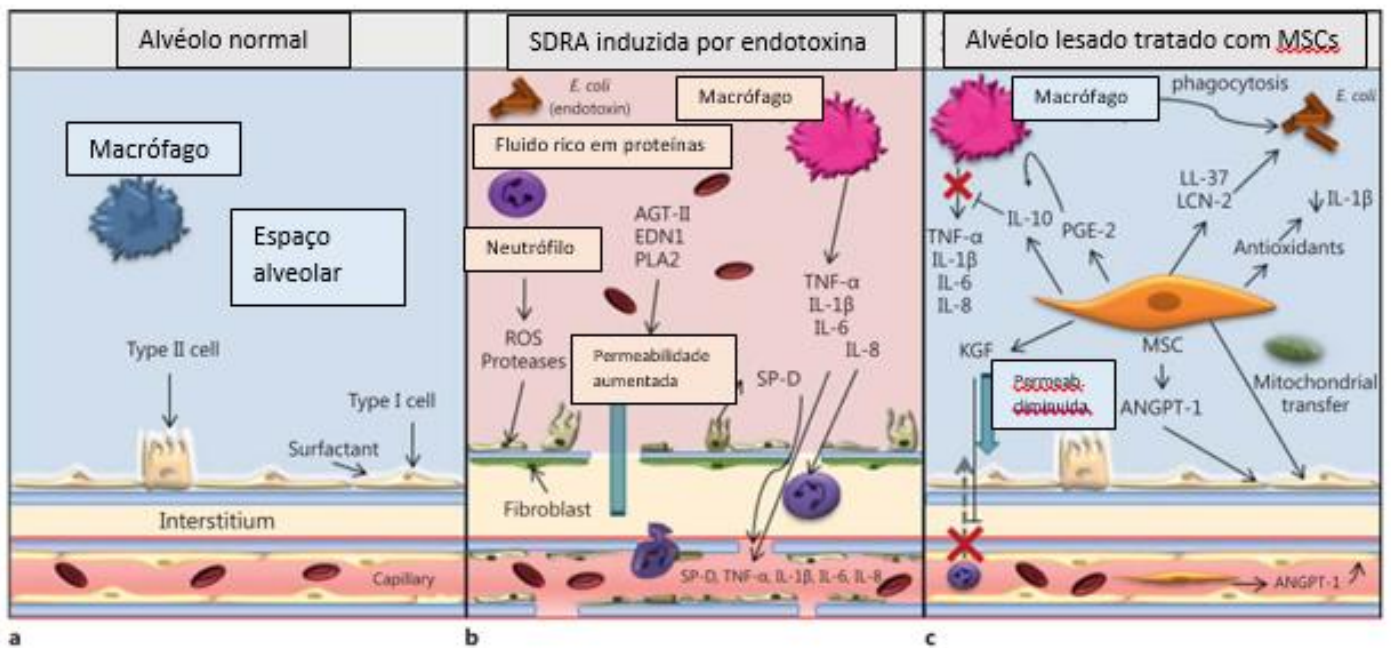


Figura 4-3- Esquema representando os mecanismos protetores das MSCs. Adaptado de Cárdenas, 2013⁹⁰

Outros mecanismos: utilização como vetores

Já foi previamente abordada a utilização de MSCs como vetores para a liberação de KGF no pulmão. Outros estudos abordaram já a utilização destas células como fonte de outros fatores.

Um deles é o antagonista solúvel da IL-33 (sST2), uma citocina envolvida na indução e amplificação das respostas inflamatórias mediadas por linfócitos T-helpers tipo I e II. A sobre-expressão do gene que codifica para este antagonista em MSCs levou à sua acumulação e liberação nos locais de lesão pulmonar, potenciando os seus efeitos imunomoduladores e anti-inflamatórios. Foi observada uma redução na inflamação pulmonar e na fuga capilar, caracterizada por concentrações inferiores de proteínas, neutrófilos, e citocinas pró-inflamatórias como a IL-33, o TNF- α , a IL-6, entre outras, naqueles modelos tratados com as MSCs expressando o sST2. É assim mais um exemplo das vantagens da terapia combinada de células estaminais e terapia gênica.⁹¹

Min et al demonstraram o potencial terapêutico da utilização de MSCs expressando o gene da enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2). A ACE2 está envolvida na degradação da

angiotensina 2, que foi reconhecida em estudos de lesão pulmonar como tendo um papel promotor da fibrose. A ACE2 por sua vez, tem sido reportada como tendo um papel “protetor” do tecido pulmonar, reduzindo a deposição de colagénio e prevenindo a formação de fibrose pulmonar. Neste estudo, a ação sinérgica das MSCs e da ACE2 mostrou reduzir significativamente os níveis de espécies reativas de oxigénio no tecido pulmonar, bem como de fatores pró-fibróticos (TNF- α , IFN- γ , TGF β) e pró-inflamatórios (IL-1, IL-2, IL-6). Consequentemente, também se observou um grau de fibrose e deposição de colagénio inferior quando comparado aos tecidos controlo, e aos tecidos tratados apenas com MSC ou apenas com ACE2.⁶¹

A facilidade em obter um grande número elevado destas células a partir de uma só isolada, o fato de não serem imunogénicas, a sua migração e retenção em locais de lesão e a sua estabilidade em se auto-renovar, incorporar em tecidos do hospedeiro e expressar estavelmente genes que apresentem efeito terapêutico torna as células estaminais os vetores ideais e uma estratégia a considerar e a aprofundar ainda mais no futuro.

4.5. A sua utilização na terapêutica: células endoteliais progenitoras

Menos estudadas, as células endoteliais progenitoras são um subtipo de células hematopoiéticas com a capacidade de se diferenciarem em células endoteliais maduras. Estudos demonstraram a integração de EPCs no endotélio vascular de um pulmão com LAP, enquanto que estavam ausentes num pulmão saudável, sugerindo que as EPCs possam migrar para locais de lesão e aí contribuir para o processo de reparação.⁷⁷

No local de lesão vascular, as EPCs incorporam-se no endotélio vascular e diferenciam-se em células endoteliais, para além de secretarem fatores de crescimento e citocinas que induzem a neovascularização e de modularem a resposta inflamatória reduzindo citocinas pró-inflamatórias e inibindo o influxo de células, nomeadamente neutrófilos.⁷⁶

A sua utilização requer no entanto maiores conhecimentos acerca dos seus mecanismos protetores, antes que se possa considerar implementá-la na prática clínica.

Síntese e Conclusões

A sépsis é um dos maiores desafios médicos, não só no que toca à sua terapêutica, mas no que toca à compreensão dos seus mecanismos fisiopatológicos. A enorme complexidade da doença leva a que todos os dias sejam feitas novas descobertas quanto à sua ocorrência no organismo humano, e assim, novos alvos potenciais para a sua terapêutica. Também a enorme complexidade da doença leva a que “cada doente seja um doente”, ou seja, a sua heterogeneidade de sinais e sintomas dificultam ainda mais o seu tratamento. As diversas complicações que podem advir resultam frequentemente em taxas de mortalidade elevadas, como é o Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda e Lesão Aguda Pulmonar.

Após cerca de 35 anos de investigação, os mecanismos fundamentais que levam e agravam a lesão pulmonar ainda não são totalmente compreendidos. Quanto mais tem sido revelado, mais a comunidade científica se apercebe de que os mediadores responsáveis pela lesão fazem parte de um delicado equilíbrio, cuja ligeira disrupção pode pender para um ou outro lado que levem a danos no organismo. Como dizia Antoine Lavoisier, “na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”.

Com as dificuldades na compreensão dos complexos mecanismos que causam a doença, torna-se difícil encontrar terapêuticas que de fato sejam diretos e eficazes. Como se demonstrou nesta dissertação, os procedimentos utilizados atualmente no tratamento de SDRA/LAP são ainda muito pouco “inovadores”. Estes passam pelo controlo do fator precipitante/causal, nomeadamente a causa da infeção, e pelo suporte de disfunção de órgãos, como o suporte da função respiratória.

Não há grandes medidas de suporte da função respiratória, como foi demonstrado, sendo que a mais eficaz é mesmo o uso de “função respiratória artificial”, ou seja, estratégias de ventilação mecânica que não agravem a lesão pulmonar. Isto, claro, não é nenhuma “cura” para a doença, mas sim apenas a manutenção de funções essenciais ao organismo, enquanto este se regenera e possivelmente se cura.

Ao longo do tempo, têm sido adotadas novas estratégias a utilizar em adição a esta, como a gestão de fluidos, o uso de corticosteroides, terapia de surfactante, inalação de monóxido de azoto, mas nenhuma delas tem sido considerada a terapia ideal para esta lesão

pulmonar e tornou-se cada vez mais necessária encontrar uma terapia mais direcionada e eficaz.

Como foi demonstrado, os avanços na investigação revelaram o potencial do uso de células estaminais na reparação e regeneração de diversos tecidos, incluindo o pulmonar. A capacidade destas células se multiplicarem e diferenciarem em tecidos específicos por si só já era bastante atrativa, mas com a descoberta de que estas células libertam fatores parácrinos que modulam a resposta inflamatória a atração tornou-se maior.

Além disso, a sua capacidade de migrarem para tecidos onde tenha ocorrido lesão, e de permanecerem lá retidas torna-as também excelentes vetores para outros fármacos, para que possam ser continuamente libertados no local de ação, sem haver a preocupação de metabolização ou biodisponibilidades.

Com o uso de vetores levantava-se sempre a questão da incerteza da resposta do hospedeiro, mas como estas células apresentam reduzidos níveis de moléculas do Complexo Major de Histocompatibilidade à sua superfície, conseguem escapar ao sistema imunitário do hospedeiro e essa dificuldade encontra-se logo à partida ultrapassada.

Para além disto, estas células apresentam não só propriedades imunossupressoras como também imunoestimuladoras, pelo que são praticamente ideais para o seu uso na lesão pulmonar induzida por sépsis, onde ambos os componentes são fundamentais à resolução da doença.

Posto isto, é crucial continuar a investigação nesta área, tanto de terapias baseadas em células estaminais como em terapias génicas, veiculadas por estas células ou não, para que se possam observar taxas de mortalidade nas unidades de cuidados intensivos mais reduzidas. Este é um exemplo de uma doença da qual pouco ou nada se conhecia, mas que com o conhecimento e a compreensão dos seus mecanismos se foi aos poucos especificando as abordagens terapêuticas para que se tornem cada vez mais eficazes.

Bibliografia

1. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Acute and Chronic Inflammation. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, eds. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010:43 - 78.
2. Seeley EJ, Matthay MA, Wolters PJ. Inflection points in sepsis biology: from local defense to systemic organ injury. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2012;303(5):L355-63. doi:10.1152/ajplung.00069.2012.
3. Lewis T, Murray P. Pharmacology of Sistemic Critical Illness. In: Leff AR, ed. *Pulmonary and Critical Care Pharmacology and Therapeutics*. McGraw-Hill Companies; 1996:971 - 986.
4. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N. Engl. J. Med.* 2013;369(9):840-51. doi:10.1056/NEJMra1208623.
5. Annane D, Bellissant E, Cavaillon J-M. Septic shock. *Lancet* 2005;365(9453):63-78. doi:10.1016/S0140-6736(04)17667-8.
6. Bone RC, Balk; RA, Cerra; FB, et al. accp/sccm consensus conference for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* 1992;101(20):864-74. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1303622>. Accessed February 17, 2015.
7. Sagy M, Al-Qaqaa Y, Kim P. Definitions and pathophysiology of sepsis. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care* 2013;43(10):260-3. doi:10.1016/j.cppeds.2013.10.001.
8. Abraham E, Matthay MA, Dinarello CA, et al. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. *Crit. Care Med.* 2000;28(1):232-5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10667529>. Accessed January 28, 2015.
9. Dickson S. Sepsis and multiple organ failure. *Anaesth. Intensive Care Med.* 2009;10(4):165-168. doi:10.1016/j.mpaic.2009.01.008.
10. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med.* 2003;29(4):530-8. doi:10.1007/s00134-003-1662-x.
11. Nguyen HB, Rivers EP, Abrahamian FM, et al. Severe sepsis and septic shock: review of the literature and emergency department management guidelines. *Ann. Emerg. Med.* 2006;48(1):28-54. doi:10.1016/j.annemergmed.2006.02.015.
12. Sagy M, Al-Qaqaa Y, Kim P. Definitions and pathophysiology of sepsis. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care* 43(10):260-3. doi:10.1016/j.cppeds.2013.10.001.

13. Carneiro AH, ed. *Manual Do Curso de Sépsis E Infecção Grave Para Médicos*. Porto: Reanima- Associação para Formação em Reanimação e Medicina do Doente Crítico; 2011.
14. Cao Z, Robinson RAS. The role of proteomics in understanding biological mechanisms of sepsis. *Proteomics. Clin. Appl.* 2014;8(1-2):35-52. doi:10.1002/prca.201300101.
15. Dehesa Z, Reyes-tera G, Lo LN. Molecular Mechanisms Involved in the Pathogenesis of Septic Shock. 2004;35:465-479.
16. King EG, Bauzá GJ, Mella JR, Remick DG. Pathophysiologic mechanisms in septic shock. *Lab. Invest.* 2014;94(1):4-12. doi:10.1038/labinvest.2013.110.
17. Leentjens J, Kox M, van der Hoeven JG, Netea MG, Pickkers P. Immunotherapy for the adjunctive treatment of sepsis: from immunosuppression to immunostimulation. Time for a paradigm change? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013;187(12):1287-93. doi:10.1164/rccm.201301-0036CP.
18. Bosmann M, Ward PA. The inflammatory response in sepsis. *Trends Immunol.* 2013;34(3):129-36. doi:10.1016/j.it.2012.09.004.
19. Chatterjee A, Catravas JD. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascul. Pharmacol.* 2008;49(4-6):134-140. doi:10.1016/j.vph.2008.06.008.
20. Galley HF. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *Br. J. Anaesth.* 2011;107(1):57-64. doi:10.1093/bja/aer093.
21. Pop-Began V, Păunescu V, Grigorean V, Pop-Began D, Popescu C. Molecular mechanisms in the pathogenesis of sepsis. *J. Med. Life* 2014;7 Spec No.:38-41. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4391358&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accessed September 8, 2015.
22. Liu W, Shan LP, Dong XS, Liu XW, Ma T, Liu Z. Effect of early fluid resuscitation on the lung in a rat model of lipopolysaccharide-induced septic shock. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2013;17(2):161-9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23377803>.
23. Andersen TH, Jensen TH, Andersen LW. Adjunctive therapy of severe sepsis and septic shock in adults. *Curr. Anaesth. Crit. Care* 2009;20(5-6):254-258. doi:10.1016/j.cacc.2009.07.006.
24. European Medicines Agency. *Press Release: Xigris (Drotrecogin Alfa (Activated)) to Be Withdrawn due to Lack of Efficacy.*; 2011.
25. Kristof a S, Goldberg P, Laubach V, Hussain SN. Role of inducible nitric oxide synthase in endotoxin-induced acute lung injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998;158(6):1883-9. doi:10.1164/ajrccm.158.6.9802100.

26. Kumar P, Clark M. *Kumar & Clark's Clinical Medicine*. Elsevier Ltd.; 2009.
27. Seeley RR, Stephens TD, Tate P. *Anatomia E Fisiologia*. 6th ed. McGraw-Hill Companies; 2003.
28. Boron WF, Boulpaep EL. *Medical Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Ltd.; 2009.
29. Charalampidis C, Youroukou A, Lazaridis G, et al. Pleura space anatomy. *J. Thorac. Dis.* 2015;7(Suppl 1):S27-32. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2015.01.48.
30. Bernard GR, Brigham KL. Pulmonary edema. Pathophysiologic mechanisms and new approaches to therapy. *Chest* 1986;89(4):594-600. doi:10.1378/chest.89.4.594.
31. Cunningham a. J. Acute respiratory distress syndrome--two decades later. *Yale J. Biol. Med.* 1991;64(4):387-402. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2589549&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accessed July 11, 2015.
32. Wort J, Evans T. Pathophysiology of Acute Lung Injury. In: Davidson C, Treacher D, eds. *Respiratory Critical Care*. Arnold Publishers; 2002:138 - 151.
33. Dushianthan A, Grocott MPW, Postle AD, Cusack R. Acute respiratory distress syndrome and acute lung injury. *Postgrad. Med. J.* 2011;87(1031):612-22. doi:10.1136/pgmj.2011.118398.
34. Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988;138(3):720-3. doi:10.1164/ajrccm/138.3.720.
35. Tsushima K, King LS, Aggarwal NR, De Gorordo A, D'Alessio FR, Kubo K. Acute Lung Injury Review. *Intern. Med.* 2009;48(9):621-630. doi:10.2169/internalmedicine.48.1741.
36. Matthay MA, Zemans RL. The acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and treatment. *Annu. Rev. Pathol.* 2011;6:147-63. doi:10.1146/annurev-pathol-011110-130158.
37. Levitt JE, Matthay MA. The utility of clinical predictors of acute lung injury: towards prevention and earlier recognition. *Expert Rev. Respir. Med.* 2010;4(6):785-97. doi:10.1586/ers.10.78.
38. Reiss LK, Uhlig U, Uhlig S. Models and mechanisms of acute lung injury caused by direct insults. *Eur. J. Cell Biol.* 2012;91(6-7):590-601. doi:10.1016/j.ejcb.2011.11.004.
39. Bauer TT, Ewig S, Rodloff AC, Müller EE. Acute respiratory distress syndrome and pneumonia: a comprehensive review of clinical data. *Clin. Infect. Dis.* 2006;43(6):748-756. doi:10.1086/506430.

40. Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011;44(5):725-38. doi:10.1165/rcmb.2009-0210ST.
41. Gattinoni L, Pelosi P, Suter PM, Pedoto A, Vercesi P, Lissoni A. Acute Respiratory Distress Syndrome Caused by Pulmonary and Extrapulmonary Disease . Different Syndromes? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998;158(1):3-11. Available at: <http://ajrccm.atsjournals.org/cgi/content/abstract/158/1/3>.
42. Ware L, Matthay M. The acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest* 2000;122(8):2731-2740. doi:10.1172/JCI60331.on.
43. Perl M, Lomas-Neira J, Venet F, Chung C-S, Ayala A. Pathogenesis of indirect (secondary) acute lung injury. *Expert Rev. Respir. Med.* 2011;5(1):115-26. doi:10.1586/ers.10.92.
44. Pelosi P, D'Onofrio D, Chiumello D, et al. Pulmonary and extrapulmonary acute respiratory distress syndrome are different. *Eur. Respir. J. Suppl.* 2003;42(1):48s-56s. doi:10.1183/09031936.03.00420803.
45. Perret CH. Acute respiratory distress syndrome. *N. Engl. J. Med.* 1995;332(24):1649; author reply 1650. doi:10.1016/j.mpaic.2013.07.008.
46. Saguil A, Fargo M. Acute respiratory distress syndrome: Diagnosis and management. *Am. Fam. Physician* 2012;85(4):352-358. doi:10.1017/CBO9780511584251.005.
47. Rocco PRM, Zin W a. Pulmonary and extrapulmonary acute respiratory distress syndrome: are they different? *Curr. Opin. Crit. Care* 2005;11(1):10-17. doi:10.1183/09031936.03.00420803.
48. Mikkelsen ME, Shah C V, Meyer NJ, et al. The epidemiology of acute respiratory distress syndrome in patients presenting to the emergency department with severe sepsis. *Shock* 2013;40(5):375-81. doi:10.1097/SHK.0b013e3182a64682.
49. Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. Review series The acute respiratory distress syndrome. 2012;122(8):2731-2740. doi:10.1172/JCI60331.The.
50. Maniatis NA, Kotanidou A, Catravas JD, Orfanos SE. Endothelial pathomechanisms in acute lung injury. *Vascul. Pharmacol.* 49(4-6):119-33. doi:10.1016/j.vph.2008.06.009.
51. Venet F, Huang X, Chung C-S, Chen Y, Ayala A. Plasmacytoid dendritic cells control lung inflammation and monocyte recruitment in indirect acute lung injury in mice. *Am. J. Pathol.* 2010;176(2):764-73. doi:10.2353/ajpath.2010.090765.
52. Luh S, Chiang C. Acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS): the mechanism, present strategies and future perspectives of therapies. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 2007;8(1):60-69. doi:10.1631/jzus.2007.B0060.

53. Luh S, Chiang C. Acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS): the mechanism, present strategies and future perspectives of therapies. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 2007;8(1):60-9. doi:10.1631/jzus.2007.B0060.
54. Cesar L, Azevedo P De, Park M, et al. Characterization of an animal model of severe sepsis associated with respiratory dysfunction. *Clinics (Sao Paulo)*. 2007;62(4):491-8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17823713>. Accessed January 27, 2015.
55. Bastarache J a, Blackwell TS. Development of animal models for the acute respiratory distress syndrome. *Dis. Model. Mech.* 2009;2(5-6):218-23. doi:10.1242/dmm.001677.
56. Lucas R, Verin AD, Black SM, Catravas JD. Regulators of endothelial and epithelial barrier integrity and function in acute lung injury. 2009;77:1763-1772. doi:10.1016/j.bcp.2009.01.014.
57. Angelini DJ, Hyun S-W, Grigoryev DN, et al. TNF-alpha increases tyrosine phosphorylation of vascular endothelial cadherin and opens the paracellular pathway through fyn activation in human lung endothelia. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2006;291(6):L1232-45. doi:10.1152/ajplung.00109.2006.
58. Chuang C-Y, Chen T-L, Cherg Y-G, Tai Y-T, Chen T-G, Chen R-M. Lipopolysaccharide induces apoptotic insults to human alveolar epithelial A549 cells through reactive oxygen species-mediated activation of an intrinsic mitochondrion-dependent pathway. *Arch. Toxicol.* 2011;85(3):209-18. doi:10.1007/s00204-010-0585-x.
59. Wanecek M, Weitzberg E, Rudehill A, Oldner A. The endothelin system in septic and endotoxin shock. *Eur. J. Pharmacol.* 2000;407(1-2):1-15. doi:10.1016/S0014-2999(00)00675-0.
60. Finigan JH. The coagulation system and pulmonary endothelial function in acute lung injury. *Microvasc. Res.* 2009;77(1):35-38. doi:10.1016/j.mvr.2008.09.002.
61. Min F, Gao F, Li Q, Liu Z. Therapeutic effect of human umbilical cord mesenchymal stem cells modified by angiotensin-converting enzyme 2 gene on bleomycin-induced lung fibrosis injury. *Mol. Med. Rep.* 2014. doi:10.3892/mmr.2014.3025.
62. Cribbs SK, Matthay M a, Martin GS. Stem cells in sepsis and acute lung injury. *Crit. Care Med.* 2010;38(12):2379-85. doi:10.1097/CCM.0b013e3181f96f5f.
63. Hickling KG, Bernsten A. Management of Acute Lung Injury. In: Davidson C, Treacher D, eds. *Respiratory Critical Care*. Arnold Publishers; 2002:153 - 169.
64. Wyncoll DL, Evans TW. Acute respiratory distress syndrome. *Lancet (London, England)* 1999;354(9177):497-501. doi:10.1016/S0140-6736(98)08129-X.

65. Villar J, Blanco J, Zhang H, Slutsky AS. Ventilator-induced lung injury and sepsis: two sides of the same coin? *Minerva Anestesiol.* 2011;77(6):647-53. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21617628>. Accessed July 24, 2015.
66. Carrasco Loza R, Villamizar Rodríguez G, Medel Fernández N. Ventilator-Induced Lung Injury (VILI) in Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): Volutrauma and Molecular Effects. *Open Respir. Med. J.* 2015;9:112-9. doi:10.2174/1874306401509010112.
67. Müller-Redetzky HC, Will D, Hellwig K, et al. Mechanical ventilation drives pneumococcal pneumonia into lung injury and sepsis in mice: protection by adrenomedullin. *Crit. Care* 2014;18(2):R73. doi:10.1186/cc13830.
68. Fan E, Villar J, Slutsky AS. Novel approaches to minimize ventilator-induced lung injury. *BMC Med.* 2013;11:85. doi:10.1186/1741-7015-11-85.
69. Shafeeq H, Lat I. Pharmacotherapy for acute respiratory distress syndrome. *Pharmacotherapy* 2012;32(10):943-57. doi:10.1002/j.1875-9114.2012.01115.
70. Moloney ED, Griffiths MJD. Protective ventilation of patients with acute respiratory distress syndrome. *Br. J. Anaesth.* 2004;92(2):261-70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14722180>. Accessed July 11, 2015.
71. Sud S, Friedrich JO, Adhikari NKJ, et al. Effect of prone positioning during mechanical ventilation on mortality among patients with acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis. *CMAJ* 2014;186(10):E381-90. doi:10.1503/cmaj.140081.
72. Sun Y, Yang R, Zhong J, et al. Aerosolised surfactant generated by a novel noninvasive apparatus reduced acute lung injury in rats. *Crit. Care* 2009;13(2):R31. doi:10.1186/cc7737.
73. Raghavendran K, Pryhuber GS, Chess PR, Davidson BA, Knight PR, Notter RH. Pharmacotherapy of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Curr. Med. Chem.* 2008;15(19):1911-24. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2636692&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Accessed July 24, 2015.
74. Lamontagne F, Brower R, Meade M. Corticosteroid therapy in acute respiratory distress syndrome. *CMAJ* 2013;185(3):216-21. doi:10.1503/cmaj.120582.
75. Shapiro H, Kagan I, Shalita-Chesner M, Singer J, Singer P. Inhaled aerosolized insulin: A “topical” anti-inflammatory treatment for acute lung injury and respiratory distress syndrome? *Inflammation* 2010;33(5):315-319. doi:10.1007/s10753-010-9187-2.
76. Zhu Y-G, Hao Q, Monsel A, Feng X-M, Lee J-W. Adult stem cells for acute lung injury: remaining questions and concerns. *Respirology* 2013;18(5):744-56. doi:10.1111/resp.12093.

77. Cribbs SK, Martin GS. Stem cells in sepsis and acute lung injury. *Am. J. Med. Sci.* 2011;341(4):325-332. doi:10.1097/MAJ.0b013e3181f30dee.
78. Qu JM, Zhu YG, Zhang J, Jiang HN, Xu JF. Novel interventional approaches for ALI/ARDS: Cell-based gene therapy. *Mediators Inflamm.* 2011;2011. doi:10.1155/2011/560194.
79. Klosterhalfen B, Bhardwaj RS. Septic Shock. *Gen. Pharmacol. Vasc. Syst.* 1998;31(1):25-32. doi:10.1016/S0306-3623(97)00424-2.
80. Parikh SM, Mammoto T, Schultz A, et al. Excess circulating angiopoietin-2 may contribute to pulmonary vascular leak in sepsis in humans. *PLoS Med.* 2006;3(3):e46. doi:10.1371/journal.pmed.0030046.
81. Lomas-Neira J, Venet F, Chung C-S, Thakkar R, Heffernan D, Ayala A. Neutrophil-endothelial interactions mediate angiopoietin-2-associated pulmonary endothelial cell dysfunction in indirect acute lung injury in mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2014;50(1):193-200. doi:10.1165/rcmb.2013-0148OC.
82. Brody AR, Salazar KD, Lankford SM. Mesenchymal stem cells modulate lung injury. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2010;7(2):130-133. doi:10.1513/pats.200908-091RM.
83. Matthay M a, Thompson BT, Read EJ, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells for severe acute lung injury. *Chest* 2010;138(4):965-72. doi:10.1378/chest.10-0518.
84. Gotts JE, Matthay MA. Mesenchymal stem cells and acute lung injury. *Crit. Care Clin.* 2011;27(3):719-33. doi:10.1016/j.ccc.2011.04.004.
85. Matthay M a, Goolaerts A, Howard JP, Lee JW. Mesenchymal stem cells for acute lung injury: preclinical evidence. *Crit. Care Med.* 2010;38(10 Suppl):S569-73. doi:10.1097/CCM.0b013e3181f1ff1d.
86. Lee JW, Fang X, Krasnodembskaya A, Howard JP, Matthay MA. Concise review: Mesenchymal stem cells for acute lung injury: role of paracrine soluble factors. *Stem Cells* 2011;29(6):913-9. doi:10.1002/stem.643.
87. Wang Y-Y, Li X-Z, Wang L-B. Therapeutic implications of mesenchymal stem cells in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Stem Cell Res. Ther.* 2013;4(3):45. doi:10.1186/scrt193.
88. Lee JW, Gupta N, Serikov V, Matthay MA. Potential application of mesenchymal stem cells in acute lung injury. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2009;9(10):1259-70. doi:10.1517/14712590903213651.
89. Chen J, Li C, Gao X, et al. Keratinocyte growth factor gene delivery via mesenchymal stem cells protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *PLoS One* 2013;8(12):e83303. doi:10.1371/journal.pone.0083303.

90. Cárdenes N, Cáceres E, Romagnoli M, Rojas M. Mesenchymal stem cells: a promising therapy for the acute respiratory distress syndrome. *Respiration*. 2013;85(4):267-78. doi:10.1159/000347072.
91. Martínez-González I, Roca O, Masclans JR, et al. Human mesenchymal stem cells overexpressing the IL-33 antagonist soluble IL-1 receptor-like-1 attenuate endotoxin-induced acute lung injury. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2013;49(4):552-62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23656573>. Accessed October 14, 2014.