

## Modelos animales de EPOC

Germán Peces-Barba y Sara Heili

Servicio de Neumología. Fundación Jiménez Díaz-CAPIO. Madrid. España.

Las características clínicas y evolutivas de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), como enfermedad crónica, lentamente progresiva, de instauración lenta y que cursa con exacerbaciones, ha supuesto un difícil reto a la hora de establecer modelos animales que pudieran reproducir esta enfermedad. Por ello, inicialmente se prefería utilizar la expresión *modelos de enfisema*, basada en el producto final de una morfometría que reproducía las características de uno u otro tipo de enfisema. Los modelos animales de EPOC o de enfisema se han ido desarrollando bajo distintos objetivos, en unos casos dirigidos a estudiar características morfométricas, otras veces características funcionales o de aplicación de técnicas de diagnóstico, como banco de ensayos terapéuticos experimentales o, finalmente, como apoyo para estudios patogénicos de la enfermedad, mediante modelos de exposición crónica al humo del tabaco que intentan aproximarse a las condiciones por las que se desarrolla EPOC en los pacientes. En este artículo se repasan las principales características de cada uno de ellos con los resultados más significativos obtenidos.

**Palabras clave:** *modelo animal de EPOC, enfisema experimental, tabaco, proteasas.*

### Introducción

El desarrollo de modelos animales que pueden reproducir una enfermedad, bien sea parcialmente o en su totalidad, ha sido siempre una herramienta de trabajo imprescindible para profundizar en el conocimiento de los diferentes aspectos de ésta. Más aún, cuando se trata de reproducir enfermedades que se desarrollan en un período muy prolongado. En estos casos, el modelo cobra mayor interés por la potencialidad que ofrece, al favorecer disponibilidad y accesibilidad a los mecanismos que puedan participar en su desarrollo.

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) se caracteriza por la presencia de una obstrucción crónica y poco reversible del flujo aéreo, asociada a una reacción inflamatoria anómala, principalmente frente al humo del tabaco<sup>1</sup>, que cursa con disnea, tos, expectora-

Animal models of chronic obstructive pulmonary disease

Because chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a chronic progressive disorder characterized by slow onset and acute exacerbations, the design of animal models able to reproduce these characteristics is difficult. Therefore, the term emphysema models was initially preferred, based on the final result of a morphometry that would produce the characteristics of one or other type of emphysema.

Animal models of COPD or emphysema have been developed with distinct aims: to study morphometric characteristics, functional characteristics, or the application of diagnostic techniques, to serve as a bank for experimental therapeutic trials, and finally to support pathogenic studies of the disease through models of chronic tobacco smoke exposure aiming to simulate the conditions in which COPD is produced in patients. The present article reviews the characteristics of each of these models and the most significant results obtained.

**Key words:** *Animal COPD model, experimental emphysema, tobacco, proteases*

ción y aparición de exacerbaciones. Tiene una evolución progresiva y presenta la peculiaridad de que sólo una pequeña parte de la población de fumadores llega a desarrollar la enfermedad, aproximadamente entre el 15 y el 20%<sup>2</sup>, lo que indica que pueden haber factores genéticos participantes en la susceptibilidad individual de riesgo. Entendido como tal, no existe hasta la fecha ningún modelo de esta enfermedad que permita reproducir fielmente los aspectos que la definen. No se ha identificado un modelo que se acompañe de un descenso progresivo del valor del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV<sub>1</sub>), que se presente con tos y disnea, y que se acompañe de exacerbaciones. Por ello, los esfuerzos se han encaminado a abordar algunas de las características de esta enfermedad, en unas ocasiones para estudiar aspectos patogénicos, en otras para aspectos morfométricos y, en otras, para aspectos terapéuticos. Todos ellos son importantes y han servido para comprender mejor esta enfermedad, pero ninguno ha podido reproducirla; por ello, suele cambiarse el nombre del modelo, y en vez de EPOC se habla de modelos de enfisema, en un intento de justificarlo, sobre

Correspondencia: Dr. G. Peces-Barba.  
Servicio de Neumología. Fundación Jiménez Díaz-CAPIO.  
Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid. España.  
Correo electrónico: gpeces@fjd.es

la base de los hallazgos anatomopatológicos y ante la dificultad de reproducir los datos clínicos de la enfermedad.

Los diferentes mecanismos de abordaje existentes pueden clasificarse sobre la base del fin perseguido; en este sentido, existen modelos que podrían denominarse *morfométricos*, que tratan como objetivo final únicamente reproducir una anatomía patológica de enfisema, independientemente del método empleado. Suelen ser modelos de inducción rápida, producidos generalmente mediante la administración de proteasas, aisladas o en combinación con otros agentes tóxicos. Reproducen una macroscopia de enfisema, con predominios de uno u otro tipo, que puede servir de aplicación para estudiar la sensibilidad de pruebas diagnósticas, como las de imagen o determinadas pruebas funcionales acordes con el hallazgo morfométrico encontrado. Con diferente objetivo se plantean los modelos que podrían denominarse *patogénicos*, que tratan de explicar alguna de las vías patogénicas implicadas en el desarrollo de la enfermedad y que generalmente se basan en la exposición aguda o crónica al humo del tabaco. Sin embargo, hasta la fecha no se ha conseguido desarrollar verdaderos modelos de EPOC que incluyan características evolutivas y que permitan predecir o ayuden a estudiar el curso de esta enfermedad.

#### Modelo de EPOC por exposición a humo de tabaco

El modelo de EPOC producido mediante exposición a humo de tabaco se ha intentado aplicar a numerosas especies animales, como perros, cobayas, conejos, ratas y ratones. De ellas, los cobayas y los ratones se han mostrado las especies más susceptibles para desarrollar enfisema pulmonar tras exposiciones prolongadas<sup>3,4</sup>, aunque los ratones muestran una gran variabilidad en la susceptibilidad, que depende de la cepa, de modo que pueden encontrarse desde cepas muy resistentes a cepas muy susceptibles<sup>4</sup>. En cambio, las ratas son especialmente resistentes a desarrollar enfisema, incluso tras períodos prolongados de exposiciones. No obstante, esta especie animal puede llegar a presentar alteraciones morfométricas en la vía aérea periférica, con infiltrado inflamatorio y con un agrandamiento significativo del grosor de la pared de estas vías aéreas, en concordancia con una alteración en los parámetros funcionales específicos de la periferia pulmonar, como el nitrograma, sin otra alteración funcional ni evidencia morfométrica de enfisema<sup>5</sup> (fig. 1).

Los primeros modelos de enfisema inducidos por exposición a humo de tabaco se describieron en los cobayas, especie que desarrolló un incremento estable del tamaño de los espacios aéreos distales, correspondientes a enfisema, analizado mediante los correspondientes análisis morfométricos<sup>3</sup>. Posteriormente, este animal se ha seguido utilizando como modelo de EPOC para describir algunos aspectos patogénicos de la enfermedad, como la presencia de infiltrado inflamatorio de neutrófilos, linfocitos y macrófagos<sup>6</sup> o la presencia de alteraciones sistémicas en el músculo esquelético<sup>7</sup>. Más recientemente, se ha mostrado que el perfil de res-

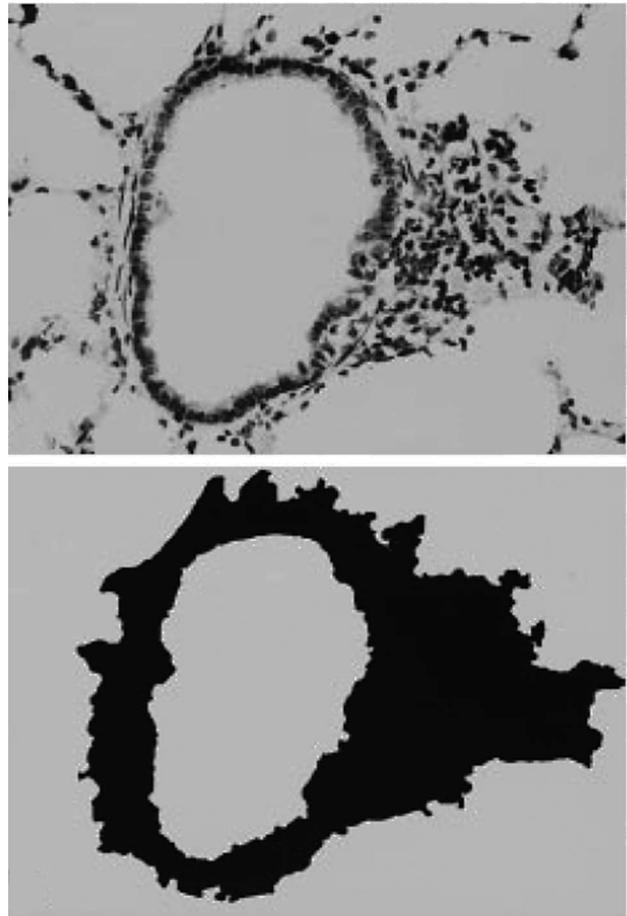


Fig. 1. Imagen de un bronquio de rata tras ser expuesta a humo de tabaco durante 10 semanas. El análisis morfométrico del grosor de la pared permite cuantificar un incremento de la misma, comparado con el grupo control (imagen  $\times 100$ )

puesta inflamatoria y de liberación de mediadores en cobayas expuestos crónicamente a humo de tabaco reproduce el perfil descrito en los pacientes con EPOC<sup>8</sup>.

Con todo, los animales más utilizados en los modelos de EPOC han sido los ratones, por la elevada susceptibilidad que tienen de desarrollar esta enfermedad algunas de las cepas existentes en esta especie animal<sup>9</sup>. Los datos encontrados en los modelos de EPOC inducidos en diferentes cepas de ratones por exposición a humo de tabaco y la amplia posibilidad de disponer de variantes genéticas han mostrado la potencialidad de esta especie. La EPOC es una enfermedad heterogénea con variabilidad de fenotipos morfológicos y fisiológicos; por ello, la caracterización fenotípica del modelo de EPOC, con definición del grado de obstrucción, de distensibilidad, de tipo morfológico de enfisema y de respuesta inflamatoria, deben estar presentes en el modelo. En este sentido, se ha podido diferenciar entre cepas resistentes, como la NZWLac/J, cepas moderadamente susceptibles, como las de C57BL6/J, A/J y SJ/L, y cepas muy susceptibles, como la AKR/J, que además de desarrollar mayor grado de enfisema, puede reproducir el patrón de infiltración de células inflamatorias

presente en los pacientes con EPOC y acompañarse de un comportamiento funcional con incremento de la distensibilidad, acorde con la presencia de enfisema<sup>4</sup>. La aplicación del modelo de exposición a humo de tabaco sobre los ratones y la disponibilidad actual existente para obtener múltiples variantes genéticas de cepas con ausencia de la expresión de algunos componentes, como factores, citocinas o receptores, ha facilitado el análisis de muchos de estos mediadores en lo que respecta a su posible participación durante la patogenia de la enfermedad. El perfil general de respuesta de los ratones a la exposición crónica al humo del tabaco ha sido bien definida<sup>10</sup>.

En ausencia de expresión del receptor CCR6, la capacidad de desarrollar enfisema en respuesta al humo del tabaco quedaba muy limitada por un menor desarrollo de la respuesta inflamatoria y de la presencia de proteasas, hecho que permitía concluir que la interacción del receptor CCR6 con su ligando participa en la patogenia de la EPOC<sup>11</sup>. Esta misma técnica se ha utilizado para estudiar la participación de los receptores *toll-like* en los modelos de exposición aguda y crónica al humo del tabaco, donde se demostraba su importancia en el desarrollo de la respuesta inflamatoria, pero no tanto en la del desarrollo del enfisema<sup>12</sup>. La participación del factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) en la patogenia de la EPOC también ha podido definirse, al menos parcialmente. En ausencia del receptor del TNF- $\alpha$ , los ratones no desarrollan infiltrado inflamatorio tras una exposición aguda al humo del tabaco, pero tras una exposición crónica la respuesta cambia, la inhibición ya no es completa y parte de la respuesta sigue estando presente, aunque se reduce muy significativamente el desarrollo de enfisema y la expresión de las proteasas de matriz (MMP)<sup>13</sup>. En esta misma línea, pero inhibiendo por separado los receptores R1 y R2 del TNF- $\alpha$ , pudo comprobarse que ambos receptores participan en el desarrollo de la EPOC, pero que el R2 tiene mayor participación en el desarrollo de los efectos sistémicos encontrados en el modelo<sup>14</sup>.

La técnica del estudio de los perfiles de expresión génica mediante *microarrays* en animales que son genéticamente uniformes<sup>15</sup>, como sucede con las diferentes cepas de ratones, abre una nueva posibilidad de estudio en los modelos de EPOC que permitirá describir los diferentes perfiles y susceptibilidades a la exposición al humo de tabaco. Utilizando esta técnica, se ha encontrado la existencia de una sobreexpresión de MMP12, una metaloproteasa de matriz, implicada en la degradación de tejido conectivo tras exponer la cepa AKR/J a humo de tabaco junto a LPS<sup>16</sup>.

Los modelos de EPOC inducidos por exposición a humo de tabaco llegan a reproducir muchas de las características de la EPOC en humanos, con una morfometría y una inflamación crónica similares, que están siendo útiles para estudiar algunos aspectos celulares y moleculares presentes en el desarrollo de la enfermedad. Los modelos de exposición a humo de tabaco en ratones también han mostrado el desarrollo de estrés oxidativo en el pulmón y en otros órganos, como el corazón y el hígado<sup>17</sup>.

### Modelos de EPOC por inhalación de gases irritantes:

Lejos de las posibilidades que ofrece la exposición crónica al humo del tabaco, existen otros productos que, administrados por inhalación, pueden reproducir la enfermedad. Gases irritantes, como el dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) o de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), pueden reproducir algunas de las características de la EPOC de manera aislada. La exposición crónica de ratas a SO<sub>2</sub> es capaz de producir un infiltrado inflamatorio polimorfonuclear y mononuclear en las vías aéreas, hipersecreción mucosa e hiperreactividad bronquial<sup>18</sup>. Sin embargo, el cuadro histopatológico que desarrolla es una destrucción intensa, más similar a la de un enfisema terminal que a una verdadera EPOC<sup>19</sup>. El NO<sub>2</sub> es otro gas irritante que puede reproducir algunas de las lesiones de la EPOC en exposiciones crónicas de baja intensidad, ya que su elevada toxicidad produce daño pulmonar agudo grave en exposiciones intensas<sup>20</sup>. Al igual que sucede con la exposición al humo de tabaco, el desarrollo de modelos de EPOC con NO<sub>2</sub> sigue también un comportamiento de susceptibilidad genética, con una mayor expresividad de la enfermedad en la cepa de ratones C57BL/6<sup>21</sup>.

### Modelos de EPOC por administración de proteasas

Desde los experimentos iniciales de Gross et al<sup>22</sup>, que demostraron la producción de enfisema mediante la instilación intratraqueal en ratas de la proteasa vegetal Papaína, los investigadores han instilado diversas enzimas elastolíticas, incluyendo elastasa pancreática, elastasa neutrofílica y proteinasa 3, que han dado lugar a un agrandamiento de los espacios aéreos por proteólisis, que seguida de reparación ineficaz reproduce un enfisema de tipo panacinar, muy parecido al que presentan los pacientes con déficit de alfa-1 antitripsina<sup>23,24</sup>. Este tipo de enfisema va acompañado, además, de metaplasia de las células secretoras, de anomalías de la función pulmonar y de hipoxemia e hipertrofia ventricular derecha, todas ellas características de la EPOC. Estos modelos pueden determinar si una determinada proteasa tiene la capacidad de causar enfisema, pero no pueden identificar qué proteasas están implicadas en la patogenia del enfisema producido por el consumo de cigarrillos, ni tampoco pueden ser usados para descifrar los episodios que ocurren antes de la liberación de estas proteasas. No obstante, el modelo de la elastasa sigue usándose por su simplicidad y porque es muy útil para el estudio de los mecanismos que tienen lugar después, fundamentalmente los mecanismos de reparación tisular, para la aplicación de diferentes métodos diagnósticos, el análisis de las correlaciones morfométricofuncionales y el desarrollo de diferentes ensayos terapéuticos.

### Modelos de EPOC por administración de agentes profibróticos

El cloruro de cadmio (CdCl<sub>2</sub>), constituyente del humo de los cigarrillos, da lugar en un principio a fibrosis intersticial peribronquiolar, que secundariamente

origina un agrandamiento de los espacios aéreos distales, que se asemejan al enfisema de tipo centroacinar<sup>25</sup>. Este agente también puede administrarse junto con el agente látrico  $\beta$ -aminopropionitrilo (BAPN), que actúa inhibiendo la maduración de las fibras de colágeno y elastina, limita la reparación que sigue al daño pulmonar y provoca un mayor aumento de los cambios que se producen en este tipo de enfisema centroacinar<sup>24,26,27</sup>.

#### Otros contaminantes

El polvo del carbón y del silicio también pueden dar lugar al desarrollo de enfisema de tipo focal, con un aumento de roturas del tejido conectivo y a un aumento también de células polimorfonucleares (PMN) y macrófagos<sup>28</sup>.

#### Modelos de EPOC por administración de toxinas bacterianas

La administración repetida de endotoxinas bacterianas, como lipopolisacáridos (LPS) por vía endotraqueal, provoca enfisema mediante el reclutamiento de neutrófilos y la activación de macrófagos<sup>29</sup>. Se trata de un modelo inflamatorio que actúa a través de los mediadores que liberan los neutrófilos y macrófagos que reclutan. La administración intratraqueal de lipopolisacáridos bacterianos (LPS) produce una respuesta inflamatoria que también se acompaña de fiebre, hipersecreción mucosa y broncoconstricción<sup>30</sup>. Se sabe, además, que la administración de LPS puede producir activación de mediadores, como TNF- $\alpha$ , interleucina (IL) 1, interferón (IFN)  $\gamma$ , MCP1 e IL-8, y potenciar la lesión tóxica del oxígeno en pulmones de la rata<sup>31</sup>. Recientemente, se ha descrito que los receptores de inmunidad innata *toll-like* de los linfocitos (TLR) podrían actuar como señalizadores de la activación de los LPS<sup>32</sup>. La administración crónica en hámsteres ha permitido producir enfisema a través de la infiltración de polimorfonucleares, que podía inhibirse administrando un inhibidor de la elastasa neutrofílica o anti-TNF- $\alpha$ , que podía reducir la presencia de estas células<sup>33</sup>. Si los lipopolisacáridos se administran de manera crónica junto al humo del tabaco se llega a potenciar la respuesta inflamatoria presente en el modelo, por lo que esta asociación se ha sugerido como posibilidad de reproducir modelos de EPOC con exacerbación<sup>34</sup>.

Otro modelo de interés reciente ha sido el desarrollado mediante la administración intravascular de un inhibidor del receptor 2 del factor de crecimiento endotelial, que genera enfisema de tipo no inflamatorio, mediado por un proceso apoptótico que se acompaña de pérdida del lecho capilar pulmonar<sup>35</sup>.

#### Modelos transgénicos de EPOC

El ratón es un animal que puede desarrollar mutaciones espontáneas secundarias a anomalías genéticas que provocan el desarrollo de enfisema espontáneo. Algunas de estas mutaciones constituyen las líneas de ratones conocidas, entre otros, con los nombres de *tight skin*, que afecta al ensamblamiento de las fibras elásticas y de-

sarrolla agrandamientos en los espacios aéreos de una manera progresiva con la edad; *beige*, que ofrece unos resultados controvertidos acerca de si produce valores normales de proteasas séricas y de si tiene la capacidad de desarrollar enfisema; *blotchy*, que se acompaña de un proceso anormal del ARN del gen Menke del cromosoma X y causa enfisema por vías desconocidas, o *pallid*, que desarrolla enfisema leve y muy tardío, pero que se utiliza porque responde intensamente a la exposición al tabaco<sup>36</sup>. En estos casos, las anomalías genéticas se han determinado claramente; en cambio, no se conocen los mecanismos fisiopatológicos, por los que se desarrolla enfisema, aunque en el caso del ratón *pallid* se sabe que se debe al déficit de la enzima alfa-1 antitripsina.

Gracias a las posibilidades que ofrecen los ratones para la manipulación genética, se han podido desarrollar múltiples modelos, con deficiencias proteínicas concretas que han permitido conocer las funciones concretas de una determinada proteína en el desarrollo de una enfermedad. Existen numerosas variantes de déficit enzimáticos, algunas ya descritas previamente en los modelos de exposición crónica al humo del tabaco, y otras muchas, entre las que cabe destacar las de deficiencias en colagenasa, IL-11, PDGF-B, Klotho, PDGF-A, o FGFR-3 -/- XFGFR-4 -/-, entre otras<sup>36</sup>.

#### Modelos de EPOC como herramienta para estudios fisiológicos y de diagnóstico

Los modelos animales de enfisema tienen como ventaja que permiten obtener enfisema de tipo panacinar o centroacinar puro (fig. 2). Se ha visto que el enfisema panacinar inducido con elastasa y el centroacinar inducido con cloruro de cadmio y un inhibidor de la maduración del tejido conectivo presentan patrones de alteraciones funcionales distintos y característicos de estas 2 variantes de enfisema<sup>24</sup>, similares a los descritos para humanos<sup>37</sup>.

Las técnicas de imagen también han aprovechado las ventajas ofrecidas por los modelos de EPOC para evaluar la resolución en la capacidad de identificar lesiones. La resonancia magnética con <sup>3</sup>He hiperpolarizado permite estimar las medidas de los espacios aéreos distales, mediante el análisis de los coeficientes aparentes de difusión (ADC), una medida que depende del tamaño del espacio aéreo donde el gas se está difundiendo<sup>38</sup>. Aplicándolo a un modelo de enfisema leve inducido por elastasa en ratas, el mapa de valores de ADC mostró una resolución muy elevada, con una excelente correlación con los datos morfométricos medidos por microscopía óptica (fig. 3). Las técnicas de función pulmonar no han llegado, por ahora, a detectar el enfisema incipiente y la tomografía computarizada (TC), aunque proporciona excelentes imágenes, tiene por ahora una capacidad de resolución espacial limitada para la definición de los espacios aéreos más distales<sup>39,40</sup> y pierde sensibilidad en la detección del enfisema leve<sup>41</sup>. Sin embargo, se han publicado algunos datos experimentales realizados con micro-TC que ofrecen una calidad de imagen y una resolución excelente, aunque con sistemas no aplicables por ahora en la clínica<sup>42</sup>.

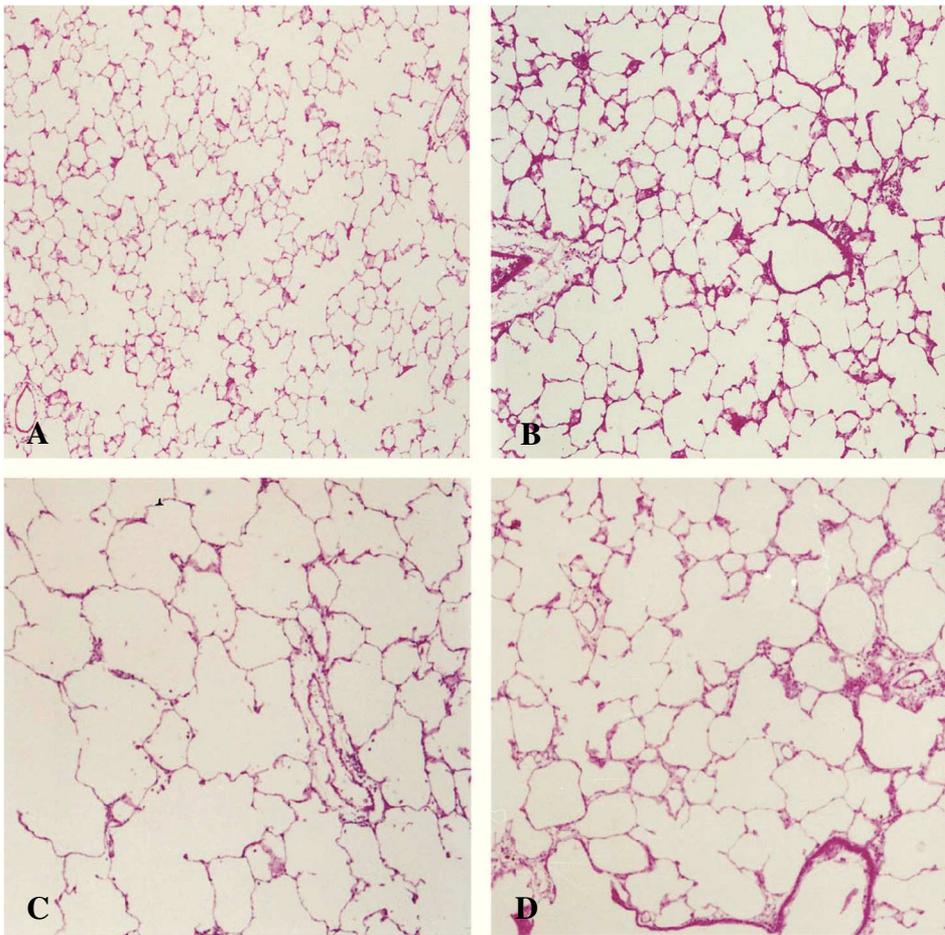


Fig. 2. Cortes histológicos con tinción de hematoxilina-eosina ( $\times 40$ ) de pulmones de rata control (A); modelo de efisema centrolobulillar mediante administración de Cloruro de Cadmio (B); modelo de efisema panacinar mediante instilación elastasa (C); y centrolobulillar intenso mediante la combinación de Cloruro de Cadmio y beta-amino-propionitrilo (D). (Tomado de Rubio et al<sup>24</sup>.)

### Modelos de EPOC como desarrollo de ensayos terapéuticos

Las características propias de la EPOC, como enfermedad de desarrollo muy lento producida por una respuesta inflamatoria anómala y continuada frente al humo del tabaco<sup>1</sup>, dificulta el estudio de ensayos terapéuticos que, de plantearse, debe hacerse bajo el concepto de un seguimiento muy prolongado. Ello ha favorecido que los modelos de EPOC también se hayan desarrollado para la aplicación de diferentes pruebas terapéuticas.

El tratamiento de la EPOC debe plantearse como un fenómeno que debe ir más allá del mero efecto antiinflamatorio y debe plantearse también para contrarrestar las consecuencias de esta inflamación continuada, como los fenómenos de remodelado y de destrucción asociados. El desarrollo de antagonistas de la respuesta inflamatoria tiene por tanto elevado interés y, por ahora, sólo son aplicables en estos modelos. Los inhibidores de las proteasas y los activadores de las antiproteasas serían potencialmente útiles en restaurar el equilibrio proteasa-antiproteasa y, por tanto, útiles en el tratamiento de la EPOC, aunque conservando similares limitaciones a las de los antiinflamatorios en cuanto a que estarían potencialmente actuando sobre el desarrollo de la enfermedad, no sobre su regeneración. La enzima alfa-1 anti-

tripsina tiene un efecto sólo parcial en pacientes con déficit congénito de esta enzima<sup>43</sup> y no hay evidencia de eficacia en pacientes con concentraciones normales de ésta. Existen, sin embargo, algunos datos experimentales que aplicados sobre modelos de EPOC podrían estar apuntando hacia una posible restitución del parénquima pulmonar como el ácido retinoico, los antioxidantes y algunos factores de crecimiento, entre otros.

### Ácido retinoico

Tras las primeras evidencias de que el ácido retinoico era capaz de prevenir la reducción del número de alvéolos en ratas recién nacidas tratadas con dexametasona, que actuaba como inhibidor de la formación de alvéolos<sup>44</sup>, este producto se utilizó como prueba terapéutica en el modelo de enfisema panacinar inducido en ratas con elastasa<sup>45</sup>. En este primer estudio, se demostró que la administración de ácido retinoico restituía las anomalías anatómicas del enfisema reduciendo el tamaño de los espacios aéreos distales e incrementando el número de alvéolos de tamaño normal. Estos cambios indujeron a la interpretación por parte de los autores de la existencia de una regeneración del pulmón enfisematoso. Estudios posteriores no han demostrado la misma eficacia y, en cambio, evidencian una completa ausen-

cia de mejoría funcional en los flujos, distensibilidad o capacidad de difusión, esperables si realmente hubiera regeneración alveolar<sup>46</sup>. Incluso estudios experimentales posteriores, aplicados sobre modelos murinos de enfisema inducido con elastasa, llegaron a encontrar un empeoramiento provocado por el tratamiento con ácido retinoico<sup>47</sup>.

#### Antioxidantes

La N-acetilcisteína es un precursor del glutatión y tiene propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Se ha probado como agente terapéutico en pacientes con fibrosis pulmonar<sup>48</sup> y en modelos animales de fibrosis pulmonar. También ha sido demostrada su capacidad de atenuar la infiltración celular y la deposición de colágeno en el modelo de fibrosis inducida por bleomicina<sup>49</sup>. En el modelo de enfisema pulmonar inducido con elastasa, este antioxidante produjo una mejoría que pudo cuantificarse en términos morfométricos de medida de los espacios aéreos distales y en términos funcionales, con mejoría de los flujos espiratorios forzados<sup>50</sup>.

También se han probado otros antioxidantes, como la superóxido dismutasa humana, cuya sobreexpresión inducida genéticamente en ratones previene la respuesta inflamatoria y el desarrollo de enfisema en el modelo de exposición crónica a humo de tabaco<sup>51</sup>.

#### Factores de crecimiento

Tras una neumonectomía se desarrolla un fenómeno de crecimiento en el pulmón contralateral, que se acompaña de incremento de masa, de volumen y de área de intercambio<sup>52</sup>. El factor de crecimiento del hepatocito (HGF) se ha implicado como uno de los principales causantes de esta respuesta, porque se acompaña de un incremento temporal de su expresión en el pulmón, el incremento de sus valores en suero, la inhibición del crecimiento por anticuerpos anti-HGF y la aceleración de la respuesta con su administración exógena<sup>53</sup>. El factor de crecimiento de transformación  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) es, en cambio, un inhibidor de su expresión. El TGF- $\beta$  es un potente factor fibrogénico, también presente en el enfisema y posiblemente causante del componente fibrótico que acompaña a esta enfermedad. Existen también otros factores de crecimiento, como el factor de crecimiento epidérmico y el factor de crecimiento similar a la insulina, que también se han implicado en otros estudios en el crecimiento compensatorio posneumonectomía<sup>54</sup>. El factor de crecimiento de hígado (LGF), distinto del HGF, compuesto por un complejo albúmina-bilirrubina<sup>55</sup> tiene gran capacidad antifibrótica y regenerativa. Su actividad como LGF ha sido bien corroborada, y sus receptores se han encontrado, además de en el hígado, en otros órganos, incluido el pulmón<sup>56</sup>. El efecto del LGF se ha estudiado en el modelo de cloruro de cadmio, administrando el tratamiento una vez que la lesión se hubo establecido. De esta manera, pudo encontrarse una mejoría que se hizo manifiesta en los parámetros de función pulmonar, de morfometría y en la reducción de la presencia de fibrosis<sup>57</sup>.

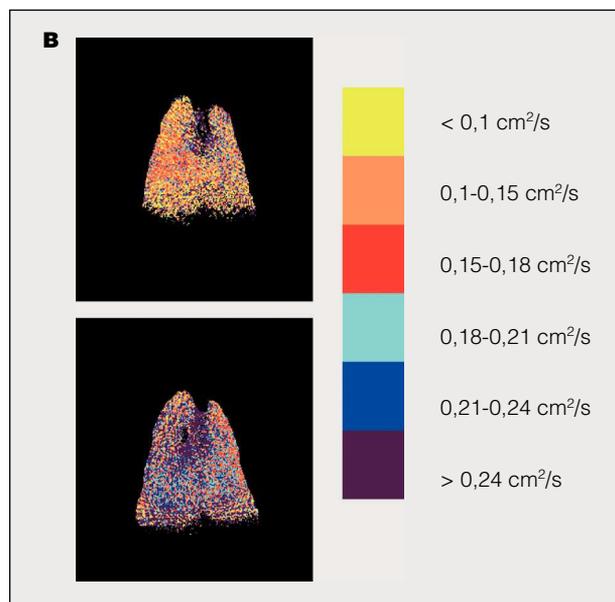
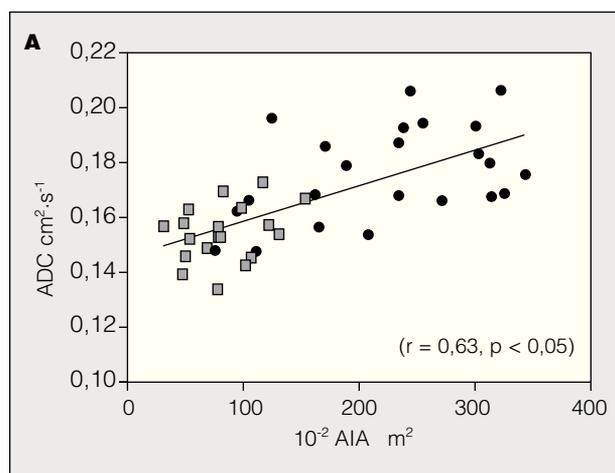


Fig. 3. A) Correlación entre el área alveolar (A/A) medido por morfometría y los valores de ADC, calculados por resonancia magnética de helio-3 en un modelo de enfisema panacinar leve, inducido con bajas dosis de elastasa. B) Representación del mapa de valores de ADC, determinados píxel a píxel en un caso de pulmón normal (arriba), y de pulmón con enfisema inducido con elastasa. Puede apreciarse la predominancia de píxeles de mayor tamaño en el modelo de enfisema.

Otros factores de crecimiento, como el factor de crecimiento del queratocito y los factores de crecimiento del fibroblasto (FGF-7 y 10) también pueden estimular la proliferación de células epiteliales alveolares y de células endoteliales, sin estimular la proliferación de fibroblastos<sup>58</sup>. La regeneración del enfisema requiere de la formación de estructuras alveolares y de la eliminación del componente de fibrosis depositado. Partiendo de acciones en otros ámbitos, estos factores plantean un hipotético efecto terapéutico regenerador del enfisema pulmonar que, por ahora, no ha podido establecerse, pero la potencialidad que ofrecen los modelos animales de EPOC puede permitir avanzar en estas aplicaciones.

### Ácido hialurónico

Administrado por vía inhalada en un modelo de EPOC inducido por tabaco en ratones, el ácido hialurónico fue capaz de reducir el tamaño de los espacios aéreos y la destrucción de fibras elásticas, cuantificado por la reducción de la presencia de desmosina e isodesmosina, en el lavado broncoalveolar, lo que proporciona un potencial uso terapéutico de este fármaco en el futuro<sup>59</sup>.

### Antagonistas

Administrando un antagonista específico de CXCR2 en un modelo de exposición aguda a humo de tabaco en ratas, se pudo comprobar que se reducía la respuesta inflamatoria neutrofílica<sup>60</sup>. También se ha comprobado a nivel experimental que un inhibidor de amplio espectro de las metaloproteasas de matriz pudo inhibir parcialmente las lesiones destructivas inducidas por la exposición crónica al humo del tabaco en cobayas<sup>61</sup>. El roflumilast, un inhibidor de la fosfodiesterasa 4, también ha demostrado ser eficaz en la prevención del desarrollo del enfisema inducido por exposición crónica al humo del tabaco en ratones<sup>62</sup>.

### Conclusiones

En conclusión, no podemos decir que se disponga de verdaderos modelos de EPOC, porque hasta la fecha ninguno de ellos ha permitido reproducir todas las características de esta enfermedad. Sin embargo, dentro de las limitaciones existentes, los modelos descritos están ayudando a comprender la participación de algunos mediadores en la patogenia de la enfermedad, sirven para la aplicación de nuevas pruebas diagnósticas y permiten aplicar nuevos ensayos terapéuticos que serían impracticables sin la ayuda de estos modelos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Barbera JA, Peces-Barba G, Agusti AG, Izquierdo JL, Monso E, Montemayor T, et al. Guía clínica de diagnóstico y tratamiento de la EPOC. Arch Bronconeumol. 2001;37:297-31.
- Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. BMJ. 1977;1:1645-8.
- Wright JL, Churg A. Cigarette smoke causes physiologic and morphologic changes of emphysema in the guinea pig. Am Rev Respir Dis. 1990;142:1422-8.
- Guerassimov A, Hoshino Y, Takubo Y, Turcotte A, Yamamoto M, Ghezzi H, et al. The development of emphysema in cigarette smoke-exposed mice is strain dependent. Am J Respir Crit Care Med. 2004;170:974-80.
- Rubio ML, Sánchez-Cifuentes MV, Ortega M, Peces-Barba G, Escolar JD, Verbanck S, et al. N-acetylcysteine prevents cigarette smoke induced small airways alterations in rats. Eur Respir J. 2000;15:505-11.
- Meshi B, Vitalis TZ, Ionescu D, Elliott WM, Liu C, Wang XD, et al. Emphysematous lung destruction by cigarette smoke. The effects of latent adenoviral infection on the lung inflammatory response. Am J Respir Cell Mol Biol. 2002;26:52-7.
- Ardite E, Peinado VI, Rabinovich RA, Fernández-Checa JC, Roca J, Barbera JA. Systemic effects of cigarette smoke exposure in the guinea pig. Respir Med. 2006;100:1186-94.
- Kubo S, Kobayashi M, Masunaga Y, Ishii H, Hirano Y, Takahashi K, et al. Cytokine and chemokine expression in cigarette smoke-induced lung injury in guinea pigs. Eur Respir J. 2005;26:993-1001.
- Shapiro SD. Animal models for chronic obstructive pulmonary disease: age of klotho and marlboro mice. Am J Respir Cell Mol Biol. 2000;22:4-7.
- Guerassimov D, D'hulst AI, Vermaelen KY, Brusselle GG, Joos GF, Pauwels RA. Time course of cigarette smoke-induced pulmonary inflammation in mice. Eur Respir J. 2005;26:204-13.
- Bracke KR, D'hulst AI, Maes T, Moerloose KB, Demedts IK, Lebecque S, et al. Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and emphysema are attenuated in CCR6-deficient mice. J Immunol. 2006;177:4350-9.
- Maes T, Bracke KR, Vermaelen KY, Demedts IK, Joos GF, Pauwels RA, et al. Murine TLR4 is implicated in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation. Int Arch Allergy Immunol. 2006;141:354-68.
- Churg A, Wang RD, Tai H, Wang X, Xie C, Wright JL. Tumor necrosis factor-alpha drives 70% of cigarette smoke-induced emphysema in the mouse Am J Respir Crit Care Med. 2004;170:492-8.
- D'hulst AI, Bracke KR, Maes T, De Bleecker JL, Pauwels RA, Joos GF, et al. Role of tumour necrosis factor-alpha receptor p75 in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and emphysema. Eur Respir J. 2006;28:102-12.
- Ning W, Li CJ, Kaminski N, Feghali-Bostwick CA, Alber SM, Di YP, et al. Comprehensive gene expression profiles reveal pathways related to the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101:14895-900.
- Meng QR, Gideon KM, Harbo SJ, Renne RA, Lee MK, Brys AM, et al. Gene expression profiling in lung tissues from mice exposed to cigarette smoke, lipopolysaccharide, or smoke plus lipopolysaccharide by inhalation. Inhal Toxicol. 2006;18:555-68.
- Howard DJ, Briggs LA, Pritsos CA. Oxidative DNA damage in mouse heart, liver, and lung tissue due to acute side-stream tobacco smoke exposure. Arch Biochem Biophys. 1998;352:293-7.
- Shore S, Kobzik L, Long NC, Skornik W, Van Staden CJ, Boulet L, et al. Increased airway responsiveness to inhaled methacholine in a rat model of chronic bronchitis. Am J Respir Crit Care Med. 1995;151:1931-8.
- Groneberg DA, Chung KF. Models of chronic obstructive pulmonary disease. Respir Res. 2004;2:5-18.
- Rombout PJ, Dormans JA, Marra M, Van Esch GJ. Influence of exposure regimen on nitrogen dioxide-induced morphological changes in the rat lung. Environ Res. 1986;41:466-80.
- Wegmann M, Renz H, Herz U. Long-term NO2 exposure induces pulmonary inflammation and progressive development of airflow obstruction in C57BL/6 mice: a mouse model for chronic obstructive pulmonary disease? Pathobiology. 2002;70:284-6.
- Gross P, Babyak MA, Tolker E, Kashak M. Enzymatically produced pulmonary emphysema: A preliminary report. J Occup Med. 1964;6:481-4.
- Snider GL, Lucey EC, Stone PJ. Animals models of emphysema. Am Rev Respir Dis. 1986;133:149-69.
- Rubio ML, Sánchez-Cifuentes MV, Peces-Barba G, Verbanck S, Paiva M, González Mangado N. Intrapulmonary gas mixing in pancreatic and centriacinar induced emphysema in rats. Am J Respir Crit Care Med. 1998;157:237-45.
- Snider GL, Lucey EC, Farris B, Jung-Legg Y, Stone PJ, Franzblau C. Cadmium-chloride-induced air-space enlargement with interstitial pulmonary fibrosis is not associated with destruction of lung elastin. Implications for the pathogenesis of human emphysema. Am Rev Respir Dis. 1988;137:918-23.
- Niewoehner DE, Hoidal JR. Lung fibrosis and emphysema: divergent responses to a common injury? Science. 1982;217:359-60.
- Hoidal JR, Niewoehner DE, Rao NV, Hibbs MS. The role of neutrophils in the development of cadmium chloride-induced emphysema in lathyrogen-fed hamsters. Am J Pathol. 1985;120:22-9.
- Li K, Keeling B, Churg A. Mineral dusts cause elastin and collagen breakdown in the rat lung: a potential mechanism of dust-induced emphysema. Am J Respir Crit Care Med. 1996;153:644-9.
- Wittels EH, Coalson JJ, Welch MH, Guenter CA. Pulmonary intravascular leukocyte sequestration. A potential mechanism of lung injury. Am Rev Respir Dis. 1974;109:502-9.
- Spond J, Billah MM, Chapman RW, Egan RW, Hey JA, House A, et al. The role of neutrophils in LPS-induced changes in pulmonary function in conscious rats. Pulm Pharmacol Ther. 2004;17:133-40.

31. Kohno M, Ishizaka A, Sawafuji M, Koh H, Hirayama Y, Ikeda E, et al. Hyperoxia-induced emphysematous changes in subacute phase of ET induced. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004;287:L184-90.
32. Ruetz CR, Whitfield C. Lipopolysaccharide ET. *Annu Rev Biochem*. 2002;71:635-700.
33. Stolk J, Rudolphus A, Davies P, Osinga D, Dijkman JH, Agarwal L, et al. Induction of emphysema and bronchial mucus cell hyperplasia by intratracheal instillation of LPS in the hamster. *J Pathol*. 1992;167:349-56.
34. Lee KM, Renne RA, Harbo SJ, Clark ML, Johnson RE, Gideon KM. 3-week inhalation exposure to cigarette smoke and/or lipopolysaccharide in mice AKR/J. *Inhal Toxicol*. 2007;19:23-35.
35. Kasahara Y, Tudor RM, Taraseviciene-Stewart L, Le Cras TD, Abman S, Hirth PK, et al. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest*. 2000;106:1311-9.
36. Kim WD, Eidelman DH, Izquierdo JL, Ghezzi H, Saetta M, Cosio MG. Centriobular and panlobular emphysema in smokers. Distinct morphologic and functional entities. *Am Rev Respir Dis*. 1991;144:1385-90.
37. Peces-Barba G, Ruiz-Cabello J, Cremillieux Y, Rodriguez I, Dupuich D, Callot V, et al. Helium-3 MRI diffusion coefficient: correlation to morphometry in a model of mild emphysema. *Eur Respir J*. 2003;22:14-9.
38. Mayo JR, Hayden ME. Hyperpolarized helium-3 diffusion imaging of the lung [editorial]. *Radiology*. 2002;222:8-11.
39. King GG, Muller NL, Pare PD. Evaluation of airways in obstructive pulmonary disease using high-resolution computed tomography. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:992-1004.
40. Remy-Jardin M, Remy J, Gosselin B, Copin MC, Wurtz A, Duhamel A. Sliding thin slab, minimum intensity projection technique in the diagnosis of emphysema: histopathologic-CT correlation. *Radiology*. 1996;200:665-71.
41. Postnov AA, Meurrens K, Weiler H, Van Dyck D, Xu H, Terpstra P, et al. In vivo assessment of emphysema in mice by high resolution X-ray microtomography. *J Microsc*. 2005;220:70-5.
42. Seersholm N, Wencker M, Banik N, Viskum K, Dirksen A, Kok-Jensen A, et al. Does alpha1-antitrypsin augmentation therapy slow the annual decline in FEV1 in patients with severe hereditary alpha1-antitrypsin deficiency? Wissenschaftliche Arbeitsgemeinschaft zur Therapie von Lungenerkrankungen (WATL) alpha1-AT study group. *Eur Respir J*. 1997;10:2260-3.
43. Massaro GD, Massaro D. Postnatal treatment with retinoic acid increases the number of pulmonary alveoli in rats. *Am J Physiol*. 1996;270:L305-10.
44. Massaro GD, Massaro D. Retinoic acid treatment abrogates elastase-induced pulmonary emphysema in rats. *Nat Med*. 1997;3:675-7.
45. Tepper J, Pfeiffer J, Aldrich M, Tumas D, Kern J, Hoffman E, et al. Can retinoic acid ameliorate the physiologic and morphologic effects of elastase instillation in the rat? *Chest*. 2000;117 5 Suppl 1:S242-4.
46. Fujita M, Ye Q, Ouchi H, Nakashima N, Hamada N, Hagimoto N, et al. Retinoic acid fails to reverse emphysema in adult mouse models. *Thorax*. 2004;59:224-30.
47. Demedts M, Behr J, Buhl R, Costabel U, Dekhuijzen R, Jansen HM, et al; IFIGENIA Study Group. High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*. 2005; 24;353:2229-42.
48. Cortijo J, Cerdá-Nicolás M, Serrano A, Bioque G, Estrela JM, Santangelo F, et al. Attenuation by oral N-acetylcysteine of bleomycin-induced lung injury in rats. *Eur Respir J*. 2001;17:1228-35.
49. Rubio ML, Martin-Mosquero MC, Ortega M, Peces-Barba G, Gonzalez-Mangado N. Oral N-acetylcysteine attenuates elastase-induced pulmonary emphysema in rats. *Chest*. 2004;125:1500-6.
50. Foronjy RF, Mirochnitchenko O, Propenko O, Lemaitre V, Jia Y, Inouye M, et al. Superoxide dismutase expression attenuates cigarette smoke- or elastase-generated emphysema in mice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173:623-31.
51. Takeda S, Hsia CC, Wagner E, Ramanathan M, Estrera AS, Weibel ES. Compensatory alveolar growth normalizes gas-exchange function in immature dogs after pneumonectomy. *J Appl Physiol*. 1999;86:1301-10.
52. Sakamaki Y, Matsumoto K, Mizuno S, Miyoshi S, Matsuda H, Nakamura T. Hepatocyte growth factor stimulates proliferation of respiratory epithelial cells during postpneumonectomy compensatory lung growth in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002;26:525-33.
53. Kaza AK, Laubach VE, Kern JA, Long SM, Fiser SM, Tepper JA, et al. Epidermal growth factor augments postpneumonectomy lung growth. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2000;120:916-21.
54. Díaz Gil JJ, Gavilanes JG, Sánchez G, García-Carrero R, García-Segura JM, Santamaría L, et al. Identification of a liver growth factor as an albumin-bilirubin complex. *Biochem J*. 1987;243:443-8.
55. Díaz Gil JJ, Rúa C, Machín C, et al. Improvement of liver cirrhosis (bile duct ligation) in rats after injection of the liver growth factor. Possible mediation by TNF. *Hepatology*. 2000;32:462A.
56. Moroianu J, Hillebrand A, Smionescu M. Albumin binding proteins are highly expressed in actively proliferating fetal and adult tissues. *Eur J Cell Biology*. 1990;53:20-6.
57. Martínez-Galan L, Peces-Barba G, Puerto-Nevaldo L, Heili S, Díaz-Gil JJ, González-Mangado N. Liver growth factor (LGF) partially reverts the established lung fibrosis induced by cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>) in rats. *Respir Research*. En prensa.
58. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol*. 2000; 32 (Suppl. 1):19-31.
59. Cantor JO, Cerreta JM, Ochoa M, Ma S, Chow T, Grunig G, et al. Aerosolized hyaluronan limits airspace enlargement in a mouse model of cigarette smoke-induced pulmonary emphysema. *Exp Lung Res*. 2005;31:417-30.
60. Stevenson CS, Coote K, Webster R, Johnston H, Atherton HC, Nicholls A, et al. Characterization of cigarette smoke-induced inflammatory and mucus hypersecretory changes in rat lung and the role of CXCR2 ligands in mediating this effect. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005;288:L514-22.
61. Selman M, Cisneros-Lira J, Gaxiola M, Ramirez R, Kudlacz EM, Mitchell PG, et al. Matrix metalloproteinases inhibition attenuates tobacco smoke-induced emphysema in Guinea pigs. *Chest*. 2003; 123:1633-41.
62. Martorana PA, Beume R, Lucattelli M, Wollin L, Lungarella G. Roflumilast fully prevents emphysema in mice chronically exposed to cigarette smoke. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172: 848-53.