



## Revisión

## Hipercapnia permisiva o no permisiva: mecanismos de acción y consecuencias de altos niveles de dióxido de carbono

Arturo Briva<sup>a,\*</sup>, Emilia Lecuona<sup>b</sup> y Jacob I. Sznajder<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Medicina Intensiva, Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguay

<sup>b</sup> Department of Medicine, Pulmonary Division, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, Estados Unidos

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

## Historia del artículo:

Recibido el 6 de enero de 2010

Aceptado el 11 de enero de 2010

On-line el 19 de marzo de 2010

## Palabras clave:

Lesión pulmonar aguda

Hipercapnia

Daño pulmonar

## RESUMEN

La lesión pulmonar aguda es una enfermedad con alta mortalidad, que afecta a gran cantidad de pacientes y cuyo tratamiento continúa en debate. Recientemente, se ha postulado que la hipercapnia podría atenuar la respuesta inflamatoria durante la lesión pulmonar, lo que le otorgaría un papel específico dentro de las estrategias de protección pulmonar durante la asistencia respiratoria mecánica. En el presente trabajo revisamos la evidencia actual sobre el papel que altos niveles de CO<sub>2</sub> en sangre desempeñan en la lesión pulmonar. Concluimos que, si bien existen reportes que demuestran beneficios, evidencia más reciente sugiere que la hipercapnia puede ser nociva, contribuyendo a agravar el daño pulmonar.

© 2010 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Permissive and Non-permissive Hypercapnia: Mechanisms of Action and Consequences of High Carbon Dioxide Levels

## ABSTRACT

Acute lung injury is a disease with high incidence of mortality and its treatment is still controversial. Increasing the levels of CO<sub>2</sub> beyond the physiological range has been proposed as a potential protective strategy for patients on mechanical ventilation, as it could moderate the inflammatory response. In this article we review the published evidence on the role of CO<sub>2</sub> during acute lung injury. We conclude that although there are reports suggesting benefits from hypercapnia, more recent evidence suggests that hypercapnia could be deleterious, contributing to worsening of the lung injury.

© 2010 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Keywords:

Acute lung injury

Hypercapnia

Lung injury

## Introducción

Mil quinientos millones de años han pasado desde el origen del universo y desde ese momento hasta hoy, este se expande y enfría<sup>1</sup>. En sentido contrario, en los últimos años aumenta la evidencia sobre la tendencia al ascenso de la temperatura en nuestro planeta y esto se correlaciona con el aumento en los niveles atmosféricos de CO<sub>2</sub>, en lo que conocemos como fenómeno de «calentamiento global»<sup>2</sup>.

Este ascenso, directamente relacionado con la emisión de gases generados por la actividad industrial ya ha sido identificado como generador de efectos nocivos, tanto sobre la vegetación<sup>3</sup> como sobre los océanos<sup>4</sup>, 2 de los componentes fundamentales del ciclo del CO<sub>2</sub> en la naturaleza.

Los mamíferos, particularmente el hombre, conviven con la necesidad de generar compuestos de alta energía consumiendo oxígeno y produciendo, como contrapartida, anhídrido carbónico. La producción de CO<sub>2</sub> es reflejo de la actividad metabólica celular y, por lo tanto, variable en función del órgano estudiado<sup>5</sup>. Independientemente de estas diferencias, a nivel plasmático el CO<sub>2</sub> es mantenido dentro de un estrecho rango (40 ± 5 mmHg). Más aún, su acumulación genera rápidamente modificaciones del equilibrio ácido-base, por lo que existen múltiples mecanismos que mantienen los niveles de CO<sub>2</sub> plasmático en ese rango fisiológico. En líneas generales, el transporte de CO<sub>2</sub> desde su producción mitocondrial hasta su eliminación en el espacio alveolar pulmonar implica la acción de dos mecanismos: difusión simple y difusión facilitada debido a la acción de la anhidrasa carbónica que permite el transporte en paralelo de bicarbonato<sup>6</sup>. En este contexto, durante décadas ha prevalecido el concepto de que el CO<sub>2</sub> constituye un elemento de desecho que debe ser eliminado en función de los disturbios ácido-base que ocasiona pero que, en sí mismo, no es un elemento perjudicial para el

\* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: abriva@hc.edu.uy, arturo\_briva@yahoo.com (A. Briva).

organismo. De esta manera, ha sido clásicamente asociado a patologías respiratorias en las que existe una disminución de la renovación del gas alveolar (debilidad muscular, obstrucción pulmonar crónica, ataque agudo de asma, por citar algunos). Sin embargo, en los últimos años el anhídrido carbónico ha estado vinculado con diversos procesos biológicos diferentes al equilibrio entre ácidos y bases y, por lo tanto, ha surgido una importante cantidad de información novedosa al respecto.

La lesión pulmonar aguda es una entidad grave, que requiere un sistema de atención y monitoreo complejos. Sus mecanismos de producción y estrategias terapéuticas están en constante revisión y recientemente, el CO<sub>2</sub> ha sido propuesto como una posible herramienta terapéutica<sup>7</sup>.

En el presente trabajo revisaremos cual es la evidencia científica sobre los efectos del CO<sub>2</sub> durante la lesión pulmonar aguda.

### Hipercapnia permisiva

El efecto deletéreo de la sobredistensión alveolar durante la ventilación mecánica se publicó en la década de los 60<sup>8</sup>, aunque no se reconoció como un problema clínico en ese momento. Más adelante, la utilización de imágenes tomográficas pulmonares permitió elaborar el concepto de *baby lung*<sup>9</sup> y demostrar cuán irregular es la distribución de la lesión pulmonar.

A mediados de los 80 es cuando surge el término «volutrauma», el cual jerarquizó el rol del volumen pulmonar máximo (y no la presión pulmonar máxima) como mejor equivalente de estrés mecánico y, por lo tanto, generador de la lesión parenquimato-sa<sup>10,11</sup>. No fue hasta fines de los 90 que se impuso la idea de «biotrauma» como mecanismo global de lesión pulmonar asociado a la ventilación mecánica<sup>12</sup> y, por lo tanto, la necesidad de optimizar el patrón ventilatorio como estrategia «protectora» del tejido pulmonar.

Este concepto se ha visto posteriormente consolidado con los resultados aportados por el ARDSnet en relación a la mortalidad en función del volumen corriente utilizado<sup>13</sup>.

Con esta visión de protección mecánica del tejido pulmonar, la ventilación con volumen corriente cercano a 6 ml/kg de peso ideal resultó en una reducción de la ventilación alveolar y la retención de niveles variables de CO<sub>2</sub> en plasma. El debate posterior a este ensayo multicéntrico se ha enfocado en desvelar los mecanismos involucrados en la reducción de la mortalidad más allá de la reducción del volumen corriente. Existen muchas áreas de incertidumbre a propósito del papel que juega la respuesta inflamatoria sobre la micromecánica pulmonar, la capacidad de reparación celular y la preservación de la interacción epitelio-endotelio alveolar en este contexto. La hipercapnia y la acidosis que ella determina han sido dos de los candidatos más intensamente evaluados como responsables, tanto del daño como de la protección, y los resultados, hasta ahora, no son definitivos.

### Inflamación y CO<sub>2</sub>

La inflamación genera marcados cambios a nivel celular y muchas veces las acciones terapéuticas determinan respuestas contradictorias e inesperadas.

Uno de los mecanismos más extensamente estudiados ha sido la generación de especies reactivas de oxígeno debido a su participación en la respuesta frente a la agresión, reparación y muerte celular<sup>14</sup>.

El anhídrido carbónico reacciona tanto con las especies reactivas de oxígeno como con las especies derivadas de nitrógeno. En un medio acuoso esta reacción se presenta como

protectora y reductora del daño oxidativo. Sin embargo, en un entorno no polar de membranas biológicas, el CO<sub>2</sub> forma parte de los mecanismos que conducen a nitración proteica y daño oxidativo<sup>15</sup>. Este rol dual podría explicar la aparente contradicción entre publicaciones que atribuyen al CO<sub>2</sub> tanto un papel protector<sup>16</sup> como lesivo<sup>17</sup> en modelos experimentales de daño pulmonar.

Los mediadores de la respuesta inflamatoria, particularmente las citoquinas, han sido objeto de múltiples estudios, tanto sobre el origen<sup>18,19</sup> como del tratamiento<sup>20</sup> de los estados de inflamación sistémica.

Existe un acuerdo bastante generalizado en que inicialmente son las citoquinas liberadas por el epitelio alveolar las que comandan la activación y reclutamiento de neutrófilos hacia el espacio alveolar, alterando la permeabilidad endotelial, amplificando la respuesta inflamatoria local e iniciando la etapa de edema pulmonar clínicamente aparente<sup>20</sup>. Si bien existe considerable evidencia sobre su efecto inmunosupresor (o al menos inmunomodulador)<sup>21</sup>, el anhídrido carbónico también ha sido reportado como parte de un mecanismo de activación de la respuesta inmune<sup>22</sup>. Aunque mayoritariamente se acepta su papel inhibidor de la respuesta inmunitaria, esto no resuelve el dilema debido a que mantener un estado de inmuno debilidad no parece la estrategia más razonable para una patología con un importante componente infeccioso<sup>23</sup>.

En el otro extremo, de confirmarse su rol pro inflamatorio, las consecuencias de la hipercapnia sobre la lesión pulmonar aguda serían un mayor deterioro anatómico y funcional del tejido pulmonar.

### Reparación celular y CO<sub>2</sub>

Existen innumerables publicaciones sobre los mecanismos de daño celular<sup>24-26</sup>, reparación<sup>27</sup> y fibrosis tisular<sup>28</sup> durante la lesión pulmonar. Sin embargo, el papel del CO<sub>2</sub> en estos mecanismos ha sido poco estudiado.

En estudios in vitro se ha observado que niveles elevados de CO<sub>2</sub> inhiben el crecimiento celular<sup>29</sup>. Más aún, se ha especulado con que la acumulación de ciertos aminoácidos intracelulares sería un mecanismo protector frente a la hipercapnia<sup>30</sup>. Esta inhibición del crecimiento celular ha llevado a explorar, entre otros fenómenos, cual es el efecto del CO<sub>2</sub> sobre la capacidad de reparación de la barrera epitelio-endotelial<sup>31</sup>.

En este sentido, es creciente la evidencia experimental sobre la disminución de la capacidad de reparación endotelial<sup>32</sup> y epitelial<sup>33</sup> frente a la agresión en presencia de altos niveles de anhídrido carbónico.

La mayoría de los autores consideran que la condición «sine qua non» para que ocurra remodelación y reparación tisular es la apoptosis<sup>20</sup>. Este mecanismo de muerte celular es inhibido durante la etapa exudativa del distress, permitiendo que la infiltración por neutrófilos se prolongue en el tejido pulmonar<sup>24</sup>. Al mismo tiempo, existe un estímulo para la apoptosis de las células epiteliales alveolares<sup>34,35</sup> configurando la imagen histopatológica del distress descrita hace muchos años caracterizada por persistente infiltrado inflamatorio junto a pérdida de epitelio alveolar<sup>36</sup>. Por ejemplo, en un modelo experimental de lesión pulmonar por inhalación, la remoción de CO<sub>2</sub> acumulado por la aplicación de un patrón ventilatorio protector redujo las modificaciones histológicas y disminuyó los niveles de marcadores de apoptosis celular<sup>37</sup>. Esta evidencia, si bien es experimental y limitada, reúne en un solo modelo animal parte de la información aportada previamente sobre el rol del anhídrido carbónico en los procesos de lesión y reparación que se desarrollan a lo largo del distress respiratorio. Más aún, abre

una interesante interrogante sobre la utilidad de los sistemas de remoción extracorpórea de CO<sub>2</sub> asociados a una estrategia de protección pulmonar en pacientes con distress como dirección a futuro.

### Edema pulmonar y CO<sub>2</sub>

El edema pulmonar es uno de los elementos más característicos de la lesión pulmonar aguda y el distress respiratorio<sup>38</sup>. En el origen del mismo se destaca el aumento de la permeabilidad capilar, aunque existe creciente evidencia sobre el papel preponderante de la disfunción del epitelio alveolar. Mientras que la disfunción del endotelio capilar es responsable del escape de líquido desde el espacio vascular, el epitelio disfuncional es responsable de la disminución de la reabsorción de líquido alveolar y la alteración del surfactante pulmonar.

Existen datos experimentales que apoyan los efectos beneficiosos del CO<sub>2</sub> sobre la vasculatura pulmonar y sistémica<sup>39</sup>. Sin embargo, también se ha observado una alteración de la relación ventilación-perfusión<sup>40,41</sup> que, sumado al deterioro de la capacidad de reparación endotelial<sup>32</sup>, ponen en duda que el CO<sub>2</sub> determine un mejor intercambio gaseoso durante la lesión pulmonar.

La reabsorción del edema pulmonar es uno de los principales mecanismos que permiten mantener el espacio alveolar «seco». La misma es la consecuencia del transporte activo de sodio a través de la barrera epitelial gracias a la acción de la Na,K-ATPasa. Ha sido bien documentado como la disminución en la capacidad de reabsorción del fluido alveolar determina la mortalidad de pacientes con edema pulmonar<sup>42,43</sup>. Muchos de los elementos presentes durante la lesión y distress pulmonar deterioran la reabsorción del fluido alveolar como por ejemplo hipoxia<sup>44,45</sup>, activación endotelial<sup>46</sup> y el estrés mecánico<sup>47</sup>. Asimismo, la hipercapnia, independientemente de la acidosis, deteriora la reabsorción del fluido alveolar estimulando la endocitosis de la Na, K-ATPasa<sup>48,49</sup>.

Desde el punto de vista mecánico, la presencia de surfactante pulmonar es clave para disminuir la tensión superficial, aumentar la superficie de intercambio alveolar y reducir la tendencia al colapso del tejido pulmonar al final de la espiración.

Su síntesis, secreción y ensamblado en el espacio alveolar son procesos complejos, que requieren consumo de energía y la puesta en marcha de diferentes vías de señalización intracelular. En diferentes estudios, tanto básicos como clínicos, la pérdida de su capacidad tensoactiva se ha vinculado a la lesión pulmonar y al distress respiratorio. Sin embargo, su reposición con agentes semisintéticos no ha demostrado ser eficaz en la patología respiratoria de pacientes adultos.

En relación a la hipercapnia, la presencia de niveles altos de CO<sub>2</sub> en modelos experimentales disminuye la secreción de surfactante sin disminuir el metabolismo celular<sup>50</sup>. De esta manera se sugiere que la disminución de su producción no obedece a un mecanismo protector de la viabilidad celular por disminución del consumo energético, sino que agrega un nuevo mecanismo de estrés mecánico al tejido pulmonar. Aún más, cuando el tejido epitelial recurre a la conservación y compensación energética en respuesta a la hipoxia, se estimula la síntesis de anhidrasa carbónica IX, que aumenta la hidratación del CO<sub>2</sub> y estimula la producción de bicarbonato, como mecanismo regulador del pH intracelular<sup>51</sup>.

Si bien la hipercapnia ha demostrado tener aspectos prometedores como inmunomodulador y con capacidad de atenuar algunos marcadores de daño pulmonar, la combinación de lesión mecánica, hipoxia y activación inflamatoria como antesala de la hipercapnia como estrategia terapéutica ha llevado a que algunos

autores, promotores de su uso, planteen que es necesario explorar aun más antes de iniciar ensayos clínicos<sup>7</sup>.

### Estudios clínicos y CO<sub>2</sub>

Al momento actual, no tenemos estudios en humanos en los que se evalúe el efecto de altos niveles de CO<sub>2</sub> durante la lesión pulmonar aguda con protocolos específicamente diseñados a este fin.

La evidencia actual proviene de modelos animales en los que se intenta reproducir el escenario clínico, con resultados contradictorios, como hemos mencionado anteriormente. De todas maneras, los promotores de su uso como herramienta terapéutica se apoyan en evidencia indirecta aportada por el ARDSnet<sup>52</sup>. En este estudio los autores realizan un detallado análisis estadístico sobre factores asociados a mortalidad de los grupos originalmente distribuidos según el volumen corriente utilizado. Finalmente concluyen que los pacientes hipercápnicos ventilados con volumen corriente de 12 ml/kg presentaron menor mortalidad que aquellos con niveles normales de CO<sub>2</sub> e igual patrón ventilatorio. Si bien esto es estadísticamente correcto, en el grupo de pacientes ventilados con 6 ml/kg no se observaron diferencias de mortalidad en función de su CO<sub>2</sub> plasmático. De esta manera resulta difícil separar, en este diseño experimental no elaborado para este fin, si los niveles altos de CO<sub>2</sub> pudieran beneficiar a pacientes con distress respiratorio más allá de la protección aportada por el volumen corriente bajo.

Por otro lado, la hipercapnia ha sido reportada como un factor perjudicial en pacientes con obstrucción pulmonar crónica<sup>53</sup>, lesión pulmonar<sup>41</sup> y recién nacidos<sup>54</sup>.

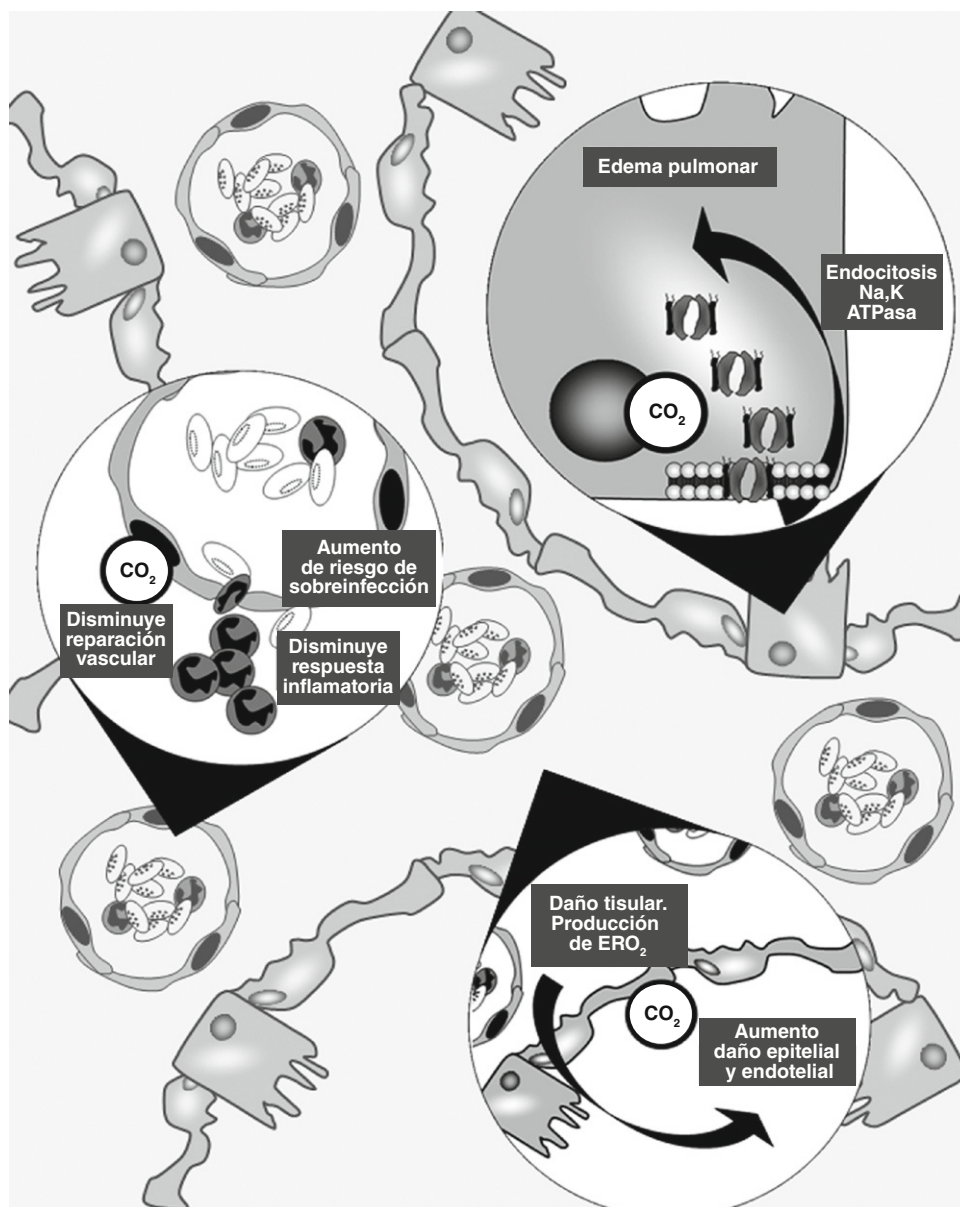
### Direcciones a futuro

La interacción del CO<sub>2</sub> con minerales, vegetales y mamíferos ha inducido cambios profundos en la naturaleza<sup>55</sup>. De hecho, aceptando que estructuras tan diversas pueden ser modificadas en este proceso por el CO<sub>2</sub>, muchos investigadores han explorado la posibilidad de que exista algún mecanismo «universal» que reconozca las variaciones en los niveles de anhídrido carbónico. Esa estructura o «sensor» de CO<sub>2</sub> no ha sido identificada aún pero son muy interesantes los datos aportados por la investigación básica. Específicamente, se han utilizado modelos experimentales con *Caenorhabditis elegans*<sup>56</sup> y *Drosophila*<sup>57</sup> que han identificado modificaciones inmunitarias, de desarrollo y supervivencia en estas especies, lo que sugiere la existencia de mecanismos de alto impacto biológico influenciados por el CO<sub>2</sub><sup>58</sup>. Desafortunadamente, todavía no han sido definidos los mecanismos que regulen estas modificaciones.

En los últimos años se ha reconocido que el anhídrido carbónico es mucho más que un producto de desecho del metabolismo celular. De hecho, se han identificado múltiples efectos de su interacción con estructuras y vías intracelulares, alguna de las cuales son francamente lesivas para el tejido pulmonar (fig. 1).

En este camino se han recorrido diferentes etapas: desde la hipercapnia permisiva a la terapéutica y desde la protección hasta la lesión mediada por CO<sub>2</sub>. ¿Será esta la etapa de la hipercapnia no permisiva?

Sin lugar a dudas que el papel del anhídrido carbónico en el escenario de la lesión pulmonar aguda no está todavía definido. Sin embargo, en función de su importancia a nivel de la biosfera y su capacidad de modular la señalización intracelular, la investigación en esta área está asegurada para el futuro.



**Figura 1.** Esquema de los principales mecanismos de lesión pulmonar en los que el  $\text{CO}_2$  ha sido vinculado. 1) Endocitosis de la Na,K-ATPasa con disminución de la reabsorción de fluido alveolar. 2) Disminución de la respuesta inflamatoria con menor capacidad de reparación tisular y aumento del riesgo a sobre infecciones. 3) Aumento del daño tisular mediado por especies reactivas de  $\text{O}_2$ .

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Bibliografía

- Gamow GE, Teller E. The Expanding Universe and the Origin of the Great Nebulae. *Nature*. 1939;143.
- Zwiers FW, Weaver AJ. CLIMATE CHANGE: The Causes of 20th Century Warming. *Science*. 2000;290:2081-3.
- Watling JR, Press MC, Quick WP. Elevated  $\text{CO}_2$  induces biochemical and ultrastructural changes in leaves of the C(4) cereal sorghum. *Plant Physiol*. 2000;123:1143-52.
- Hall-Spencer JM, Rodolfo-Metalpa R, Martin S, Ransome E, Fine M, Turner SM, et al. Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature*. 2008;454:96-9.
- Cherniack NS, Longobardo GS. Oxygen and carbon dioxide gas stores of the body. *Physiol Rev*. 1970;50:196-243.
- Geers C, Gros G. Carbon dioxide transport and carbonic anhydrase in blood and muscle. *Physiol Rev*. 2000;80:681-715.
- Kregenow DA, Swenson ER. Therapeutic hypercapnia: are we in "stasis" or moving forward? *Crit Care Med*. 2008;36:2473-4.
- Greenfield IJ, Ebert PA, Benson DW. Atelectasis and Surface Tension Properties of Lung Extracts Following Positive Pressure Ventilation and Overinflation. *Surg Forum*. 1963;14:239-40.
- Gattinoni L, Pesenti A. The concept of "baby lung". *Intensive Care Med*. 2005;31:776-84.
- Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis*. 1998;137:1159-64.
- Corbridge TC, Wood LD, Crawford GP, Chudoba MJ, Yanos J, Sznajder JI. Adverse effects of large tidal volume and low PEEP in canine acid aspiration. *Am Rev Respir Dis*. 1990;142:311-5.
- Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc Assoc Am Physicians*. 1998;110:482-8.
- Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med*. 2000;342:1301-8.
- Wartha F, Henriques-Normark B. ETosis: a novel cell death pathway. *Sci Signal*. 2008;1:pe25.
- Vesela A, Wilhelm J. The role of carbon dioxide in free radical reactions of the organism. *Physiol Res*. 2002;51:335-9.

16. Laffey JG, Tanaka M, Engelberts D, Luo X, Yuan S, Tanswell AK, et al. Therapeutic hypercapnia reduces pulmonary and systemic injury following in vivo lung reperfusion. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:2287–94.
17. Lang JD, Figueroa M, Sanders KD, Aslan M, Liu Y, Chumley P, et al. Hypercapnia via reduced rate and tidal volume contributes to lipopolysaccharide-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:147–57.
18. Frank JA, Parsons PE, Matthay MA. Pathogenetic significance of biological markers of ventilator-associated lung injury in experimental and clinical studies. *Chest.* 2006;130:1906–14.
19. Dreyfuss D, Ricard JD, Saumon G. On the physiologic and clinical relevance of lung-borne cytokines during ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:1467–71.
20. Oeckler RA, Hubmayr RD. Ventilator-associated lung injury: a search for better therapeutic targets. *Eur Respir J.* 2007;30:1216–26.
21. Coakley RJ, Taggart C, Greene C, McElvaney NG, O'Neill SJ. Ambient pCO<sub>2</sub> modulates intracellular pH, intracellular oxidant generation, and interleukin-8 secretion in human neutrophils. *J Leukoc Biol.* 2002;71:603–10.
22. Liu Y, Chacko BK, Ricksecker A, Shingarev R, Andrews E, Patel RP, et al. Modulatory effects of hypercapnia on in vitro and in vivo pulmonary endothelial-neutrophil adhesive responses during inflammation. *Cytokine.* 2008;44:108–17.
23. Frutos-Vivar F, Nin N, Esteban A. Epidemiology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Crit Care.* 2004;10:1–6.
24. Chopra M, Reuben JS, Sharma AC. Acute lung injury: apoptosis and signaling mechanisms. *Exp Biol Med (Maywood).* 2009;234:361–71.
25. Matute-Bello G, Liles WC, Steinberg KP, Kiener PA, Mongovin S, Chi EY, et al. Soluble Fas ligand induces epithelial cell apoptosis in humans with acute lung injury (ARDS). *J Immunol.* 1999;163:2217–25.
26. Gajic O, Lee J, Doerr CH, Berrios JC, Myers JL, Hubmayr RD. Ventilator-induced cell wounding and repair in the intact lung. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:1057–63.
27. Lucas R, Verin AD, Black SM, Catravas JD. Regulators of endothelial and epithelial barrier integrity and function in acute lung injury. *Biochem Pharmacol.* 2009;77:1763–72.
28. Leask A, Abraham DJ. TGF- $\beta$  signaling and the fibrotic response. *Faseb J.* 2004;18:816–27.
29. Schmelzer AE, Miller WM. Hyperosmotic stress and elevated pCO<sub>2</sub> alter monoclonal antibody charge distribution and monosaccharide content. *Biotechnol Prog.* 2002;18:346–53.
30. deZengotita VM, Abston LR, Schmelzer AE, Shaw S, Miller WM. Selected amino acids protect hybridoma and CHO cells from elevated carbon dioxide and osmolality. *Biotechnol Bioeng.* 2002;78:741–52.
31. Doerr CH, Gajic O, Berrios JC, Caples S, Abdel M, Lymp JF, et al. Hypercapnic Acidosis Impairs Plasma Membrane Wound Resealing in Ventilator Injured Lungs. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005.
32. Doerr CH, Gajic O, Berrios JC, Caples S, Abdel M, Lymp JF, et al. Hypercapnic acidosis impairs plasma membrane wound resealing in ventilator-injured lungs. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:1371–7.
33. O'Toole D, Hassett P, Contreras M, Higgins B, McKeown ST, McAuley DF, et al. Hypercapnic acidosis attenuates pulmonary epithelial wound repair by an NF- $\kappa$ B dependent mechanism. *Thorax.* 2009.
34. Albertine KH, Soulier MF, Wang Z, Ishizaka A, Hashimoto S, Zimmerman GA, et al. Fas and fas ligand are up-regulated in pulmonary edema fluid and lung tissue of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Am J Pathol.* 2002;161:1783–96.
35. Lang Jr JD, Chumley P, Eiserich JP, Estevez A, Bamberg T, Adhami A, et al. Hypercapnia induces injury to alveolar epithelial cells via a nitric oxide-dependent pathway. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000;279:L994–1002.
36. Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000;342:1334–49.
37. Vertrees RA, Nason R, Hold MD, Leeth AM, Schmalstieg FC, Boor PJ, et al. Smoke/burn injury-induced respiratory failure elicits apoptosis in ovine lungs and cultured lung cells, ameliorated with arteriovenous CO<sub>2</sub> removal. *Chest.* 2004;125:1472–82.
38. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet.* 1967;2:319–23.
39. Laffey JG, Croinin DO, McLoughlin P, Kavanagh BP. Permissive hypercapnia—role in protective lung ventilatory strategies. *Intensive Care Med.* 2004;30:347–56.
40. Feihl F, Eckert P, Brimiouille S, Jacobs O, Schaller MD, Melot C, et al. Permissive hypercapnia impairs pulmonary gas exchange in the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:209–15.
41. Pfeiffer B, Hachenberg T, Wendt M, Marshall B. Mechanical ventilation with permissive hypercapnia increases intrapulmonary shunt in septic and nonseptic patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2002;30:285–9.
42. Ware LB, Matthay MA. Alveolar fluid clearance is impaired in the majority of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:1376–83.
43. Sznajder JI. Alveolar edema must be cleared for the acute respiratory distress syndrome patient to survive. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:1293–4.
44. Dada LA, Sznajder JI. Mechanisms of pulmonary edema clearance during acute hypoxemic respiratory failure: role of the Na,K-ATPase. *Crit Care Med.* 2003;31(4 Suppl):S248–52.
45. Litvan J, Briva A, Wilson MS, Budinger GR, Sznajder JI, Ridge KM. Beta-adrenergic receptor stimulation and adenoviral overexpression of superoxide dismutase prevent the hypoxia-mediated decrease in Na,K-ATPase and alveolar fluid reabsorption. *J Biol Chem.* 2006;281:19892–8.
46. Comellas A, Briva PA, Dada LA, Butti ML, Trejo HE, Yshii C, et al. Endothelin-1 impairs alveolar epithelial function via endothelial ETB receptor. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:113–22.
47. Lecuona E, Saldias F, Comellas A, Ridge K, Guerrero C, Sznajder JI. Ventilator-associated lung injury decreases lung ability to clear edema in rats. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;159:603–9.
48. Briva A, Vadasz I, Lecuona E, Welch LC, Chen J, Dada LA, et al. High CO<sub>2</sub> levels impair alveolar epithelial function independently of pH. *PLoS ONE.* 2007;2:e1238.
49. Vadasz I, Dada LA, Briva A, Trejo HE, Welch LC, Chen J, et al. AMP-activated protein kinase regulates CO<sub>2</sub>-induced alveolar epithelial dysfunction in rats and human cells by promoting Na,K-ATPase endocytosis. *J Clin Invest.* 2008;118:752–62.
50. Dixon DL, Barr HA, Bersten AD, Doyle IR. Intracellular storage of surfactant and proinflammatory cytokines in co-cultured alveolar epithelium and macrophages in response to increasing CO<sub>2</sub> and cyclic cell stretch. *Exp Lung Res.* 2008;34:37–47.
51. Aragones J, Fraisl P, Baes M, Carmeliet P. Oxygen sensors at the crossroad of metabolism. *Cell Metab.* 2009;9:11–22.
52. Kregenow DA, Rubenfeld GD, Hudson LD, Swenson ER. Hypercapnic acidosis and mortality in acute lung injury. *Crit Care Med.* 2006;34:1–7.
53. Connors Jr AF, Dawson NV, Thomas C, Harrell Jr FE, Desbiens N, Fulkerson WJ, et al. Outcomes following acute exacerbation of severe chronic obstructive lung disease. The SUPPORT investigators (Study to Understand Prognoses and Preferences for Outcomes and Risks of Treatments). *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154(4 Pt 1):959–67.
54. Garland JS, Buck RK, Allred EN, Leviton A. Hypocarbica before surfactant therapy appears to increase bronchopulmonary dysplasia risk in infants with respiratory distress syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1995;149:617–22.
55. Cerling TE, Ehleringer JR, Harris JM. Carbon dioxide starvation, the development of C4 ecosystems, and mammalian evolution. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1998;353:159–70. discussion 170–1.
56. Sharabi K, Hurwitz A, Simon AJ, Beitel GJ, Morimoto RI, Rechavi G, et al. Elevated CO<sub>2</sub> levels affect development, motility, and fertility and extend life span in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:4024–9.
57. Helenius IT, Krupinski T, Turnbull DW, Gruenbaum Y, Silverman N, Johnson EA, et al. Elevated CO<sub>2</sub> suppresses specific *Drosophila* innate immune responses and resistance to bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009.
58. Sharabi K, Lecuona E, Helenius IT, Beitel G, Sznajder JI, Gruenbaum Y. Sensing, physiological effects and molecular response to elevated CO<sub>2</sub> levels in eukaryotes. *J Cell Mol Med.* 2009.