

L'épithélium alvéolaire lors des œdèmes pulmonaires

Georges Saumon

Lorsque la pression intracapillaire pulmonaire est très élevée, des brèches à distance des jonctions cellulaires ont pu être observées, attribuées à des ruptures mécaniques du tissu. Celles-ci pourraient, en fait, refléter une réponse adaptative cellulaire plutôt qu'une blessure mécanique. Le fluide de l'œdème fait irruption dans l'alvéole directement à travers la barrière épithéliale, s'accumulant d'abord dans les zones où la pression est la plus basse. Les cellules épithéliales de type I se détachent par endroits de la lame basale et leur membrane plasmique forme d'énormes expansions pour confiner le liquide de l'œdème et retarder l'entrée de protéines dans les alvéoles, préservant ainsi la fonction du surfactant. La résorption de l'œdème met en jeu les transports ioniques actifs des cellules épithéliales, sous le contrôle d'agonistes β -adrénergiques, de cytokines et de facteurs de croissance. La réabsorption liquidienne pourrait se faire au travers d'aquaporines. Le retour à la normale des propriétés de l'épithélium alvéolaire est la clé de la résolution de l'œdème.

ADRESSE

G. Saumon : directeur de recherche à l'Inserm.
Inserm U. 82, Faculté Xavier-Bichat, BP 416,
75877 Paris Cedex 18, France.

TIRÉS À PART

G. Saumon.

L'œdème pulmonaire est une complication fréquente de nombreux états pathologiques ou d'agressions liées à l'environnement comme l'inhalation de gaz toxiques. L'inondation alvéolaire en est l'évolution ultime. La présence de liquide en excès dans les espaces aériens distaux du poumon – alvéoles, sac alvéolaires et bronchioles – altère de façon considérable les échanges gazeux et peut mettre immédiatement la vie en danger. La compréhension des mécanismes de constitution et de résolution de l'œdème alvéolaire est indispensable pour l'éla-

boration de mesures thérapeutiques préventives ou curatives efficaces.

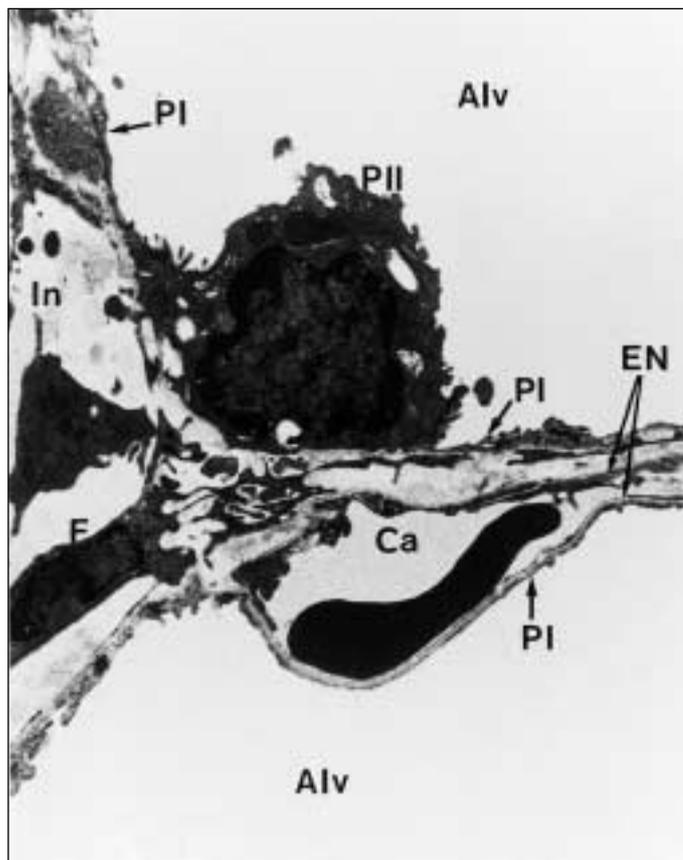
Formation des œdèmes pulmonaires

Le mode de formation de l'inondation alvéolaire ainsi que ses mécanismes de résolution ont reçu une attention particulière depuis une dizaine d'années. Trois notions ont été complètement reconsidérées : (1) l'absence d'anomalies cellulaires lors des œdèmes pulmonaires hémodynamiques, une caractéristique qui les différencie des œdèmes par trouble

de perméabilité; (2) la voie empruntée par le liquide d'œdème pour envahir les espaces aériens; et (3) les pressions de Starling comme moteur des échanges liquidiens alvéolaires. Au cœur des investigations ayant amené à ces révisions se trouvent les rôles de barrière et de transport de l'épithélium alvéolaire (figure 1).

L'œdème pulmonaire est la conséquence d'anomalies des échanges liquidiens entre espaces microvasculaire et extravasculaire pulmonaires qui aboutissent à une augmentation du volume de l'interstitium pulmonaire puis, lorsque la capacité d'hydratation de l'interstitium est épuisée, en une « noyade » venant de l'intérieur. Les mouvements liquidiens à travers la paroi microvasculaire sont régis par l'équation classique de Starling (figure 2). L'augmentation du flux sortant des vaisseaux est, soit la conséquence d'une augmentation de la pression hydrostatique (œdème hydrostatique ou hémodynamique, par exemple dans le cas de défaillance cardiaque gauche), soit de la diminution du pouvoir de restriction de la barrière endothéliale au passage des protéines (œdème par trouble de perméabilité ou lésionnel). Ce dernier type d'œdème se rencontre essentiellement dans un contexte inflammatoire plus ou moins intense (pneumopathies toxiques ou bactériennes, polytraumatismes, état de choc septique) avec cependant quelques exceptions (œdèmes neurogéniques, œdème d'hyperinflation lors de la ventilation mécanique). Ces deux types d'œdèmes se différencient par la concentration en protéines du liquide extravasé, faible dans le cas des œdèmes hydrostatiques, élevée dans le cas des œdèmes lésionnels du fait de la perte des propriétés de tamisage moléculaire de la barrière endothéliale. Cette distinction est moins nette en présence d'augmentations considérables de pression transmurale microvasculaire car la perméabilité aux macromolécules de la barrière endothéliale est alors altérée (phénomène du pore distendu, *stretched pore*). Dans ces conditions (soit 40 mmHg de pression intravasculaire), Pietra *et al.* [1] avaient pu mettre en évidence le passage d'hémoglobine, ajoutée comme traceur au liquide de perfusion de poumons isolés, vers l'intersti-

Figure 1. **L'anatomie cyto-
logique des
cloisons alvéo-
laires révélée
par le micro-
scope électro-
nique: les cel-
lules qui tapis-
sent en gran-
de partie les
alvéoles sont
si minces que
leur existence
échappe à l'ob-
servation
convention-
nelle. Les al-
véoles pulmo-
naires ressem-
blent à une grappe de
raisins appen-
dus à un axe
bronchovasculaire. Elles se
présentent en
coupe comme
des polygones. La plus grande
partie (> 95%)
de la lumière
alvéolaire (Alv)**



est couverte par les pneumocytes de type I (PI); très minces et couvrant chacun une grande surface (5 000 μm^2 environ). Dans les « coins », plus spécialement, on trouve les pneumocytes de type II (PII), qui ont une allure plus spécifiquement épithéliale, avec des microvillosités apicales et qui possèdent des capacités de sécrétion et de transport ionique. Les cellules de type II sécrètent le surfactant, un composé tensio-actif composé de lipides et de protéines spécifiques qui, notamment, stabilise l'architecture alvéolaire en diminuant les forces de rétraction produites par l'interface air-liquide. Le surfactant se présente comme une monocouche adsorbée à cette interface, flottant sur une phase aqueuse de 100 à 200 nm d'épaisseur. La barrière alvéolo-capillaire est constituée, dans sa partie la plus mince de l'accolement cellule endothéliale (EN), qui borde la lumière capillaire (Ca), membrane basale commune, cellule épithéliale de type I. Ailleurs, il existe un tissu interstitiel (In) avec divers types cellulaires, myofibroblastes, péricytes et fibroblastes (F), plus ou moins abondant, lieu d'accumulation du liquide extravasé lors des œdèmes pulmonaires, quel qu'en soit leur type. L'épithélium alvéolaire est peu perméable, à peu près 100 fois moins que l'endothélium pulmonaire. Cette faible perméabilité est en partie due à la grande surface couverte par chaque cellule de type I, ce qui raréfie les jonctions intercellulaires. Il a été calculé qu'alors que les jonctions intercellulaires des cellules endothéliales représentent 11-12 μm pour 100 μm^2 de surface cellulaire, cette valeur n'est que de 3-4 μm pour les cellules épithéliales alvéolaires. Cette barrière est une des raisons du confinement du liquide d'œdème dans l'interstitium en périphérie et de son évacuation vers un milieu interstitiel plus compliant et plus central, les axes péri-bronchovasculaires. Au cours d'un œdème pulmonaire, la diminution de la pression de cet interstitium central, par exemple par augmentation du volume pulmonaire, favorise le transfert du liquide extravasé vers ces régions, protégeant les espaces aériens. L'intégrité épithéliale est donc nécessaire pour préserver l'aération des alvéoles et les échanges gazeux. (Image fournie par Paul Soler.)

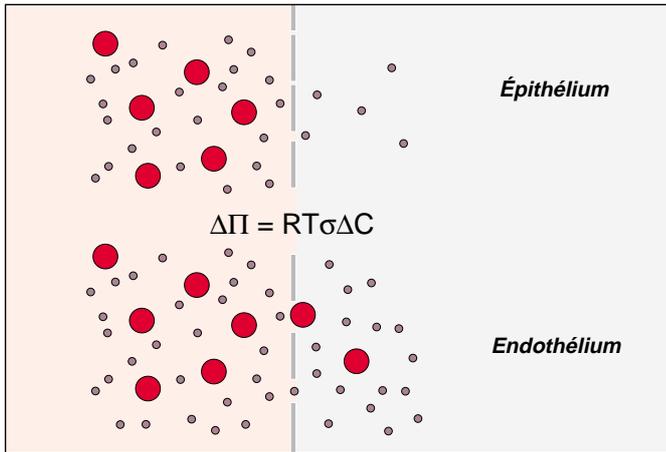


Figure 2. **Mouvements liquidiens à travers la paroi microvasculaire.** Les mouvements liquidiens (J_v) à travers les barrières endothéliales ou épithéliales sont régis par l'équation classique:
 $J_v = K_f \cdot P_f$
 $P_f = P_l - P_a - \sum \sigma_i$
 $(\pi_l - \pi_a)_i$
 où K_f est la conductance aqueuse de la

barrière (coefficient de filtration), P_f , la pression de filtration (la somme des forces de Starling), P_l et P_a , les pressions hydrostatiques des domaines lumineux et aluminaires, π_l et π_a les pressions osmotiques du soluté i et σ le coefficient de réflexion de la barrière pour ce soluté. En ce qui concerne l'endothélium, les σ des macromolécules sont voisins de 1 et ceux des petits solutés voisins de zéro. Seuls les σ des protéines sont suffisamment élevés pour qu'elles développent une différence de pression osmotique efficace. En revanche, le σ de l'épithélium pour les petits solutés est voisin de 1. Petits solutés et macromolécules vont donc être capables de développer une différence de pression osmotique efficace à travers la barrière épithéliale ($\Delta\pi = RT\sigma \Delta C$). Comme la concentration de NaCl est 50 fois plus élevée que celle des protéines, un transport transépithélial qui produira une différence de concentration de Na relativement peu importante, par exemple 1% de la concentration de NaCl, sera capable de développer une différence de pression osmotique efficace de 75 cmH₂O en face de laquelle celle produite par des différences de concentration de protéines, forcément limitées, seront de peu d'importance.

tium au travers des jonctions intercellulaires endothéliales, ce qui traduisait une « ouverture » de ces jonctions. Cependant, l'hémoglobine ne traversait pas les jonctions intercellulaires épithéliales et l'ultrastructure de la barrière alvéolo-capillaire était normale.

Les anomalies structurales

Il était donc admis que les œdèmes hémodynamiques ne s'accompagnent d'aucune anomalie structurale et en particulier d'aucune lésion épithéliale. En revanche, les œdèmes lésionnels s'accompagnent de nombreuses anomalies cellulaires. Les plus fréquentes sont des décollements de cellules endothéliales de leur membrane basale, qui forment des invaginations intraluminales en doigt de gant. Ces invaginations se présentent en coupe comme une ou parfois plusieurs « bulles » intracapillaires (figure 3). Ces anomalies endothéliales ne sont pas spécifiques et

peuvent se rencontrer dans différentes conditions pathologiques. Dans les œdèmes lésionnels, l'épithélium alvéolaire peut présenter des brèches et les pneumocytes (plus particulièrement les pneumocytes de type I apparemment plus fragiles) peuvent être lysés.

Défaillance tissulaire mécanique : le pore distendu

La présence de globules rouges dans le liquide d'inondation alvéolaire lors de certains œdèmes hémodynamiques (par exemple l'œdème d'altitude), dans lesquels les pressions vasculaires pulmonaires sont très élevées, ont suggéré à West *et al.* (San Diego, CA, USA) [2] que des lésions plus importantes qu'une simple « ouverture » des jonctions pourraient avoir échappé à l'investigation. Ils ont pu observer, dans des poumons isolés soumis de façon aiguë à des pressions intracapillaires supérieures à 30 mmHg, la présence par endroits de brèches perçant la barrière alvéolo-capillaire dans son entier, mettant

directement en relation lumière capillaire et alvéole, ainsi que des décollements des cellules épithéliales de type I de leur membrane basale. Ces brèches étaient observées à distance des jonctions intercellulaires ([3], figure 4). Il s'agissait donc d'un phénomène différent de l'ouverture des jonctions. Ils les interprétèrent comme des défaillances mécaniques (*stress failure*), les contraintes auxquelles capillaires et parois alvéolaires étaient exposées dépassant le point de rupture mécanique du tissu. Les mêmes anomalies étaient retrouvées chez des chevaux pur-sang souffrant d'hémorragies alvéolaires lors d'efforts intenses. La pression intravasculaire pulmonaire est alors considérable chez ces animaux, dépassant 100 mmHg. L'augmentation du volume pulmonaire entraîne un étirement de l'ensemble des structures pulmonaires et cette contrainte surajoutée potentialise les effets des hautes pressions transmurales microvasculaires et augmente la fréquence des brèches [4].

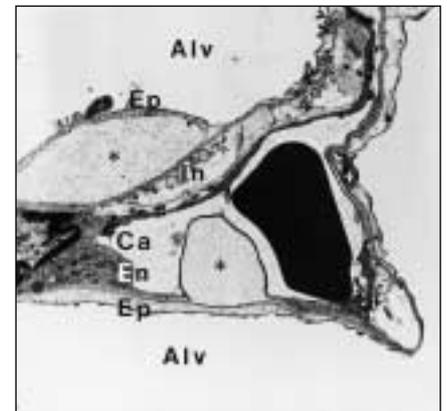


Figure 3. « **Bulles** » endothéliale (En) et épithéliale (Ep) observées lors d'un œdème par trouble de perméabilité chez le rat. La partie mince de la cellule endothéliale est complètement détachée de la membrane basale et forme une expansion qui obstrue partiellement la lumière capillaire. La partie détachée est emplie de liquide interstitiel (astérisque). Une invagination emplie du même liquide s'est formée à l'intérieur d'une cellule épithéliale de type I (astérisque). Comparez ces images à celles de la figure 6. Alv : alvéole ; Ca : lumière capillaire ; In : interstitium œdémateux. (Image fournie par Paul Soler.)

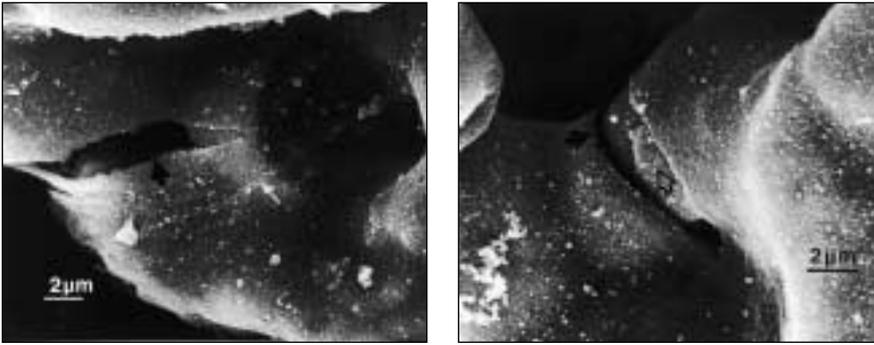


Figure 4. **Rupture de la barrière alvéolo-capillaire.** A. Dans un poumon de lapin perfusé avec une pression capillaire transmurale de 52,5 cmH₂O vue en microscopie en balayage depuis la lumière alvéolaire. Ces ruptures (flèche noire) surviennent à distance des jonctions intercellulaires (flèche blanche). B. Autre exemple (flèche pleine: épithélium et flèche vide: endothélium) avec une hématie en regard de cette ouverture (astérisque). (Reproduit de [3], avec autorisation.)

Implication de l'épithélium

La distension pulmonaire par elle-même augmente la perméabilité microvasculaire pulmonaire et peut être cause d'un œdème lésionnel, sujet de préoccupation chez les malades ventilés artificiellement [5]. Ainsi, le phénomène du pore distendu recevait une nouvelle attention et s'enrichissait de nouvelles descriptions anatomiques. Il est vraisemblable que ces anomalies ne sont pas (au moins dans un premier temps) la conséquence directe de la réponse du tissu, en tant que matériau, à l'augmentation des contraintes mécaniques mais reflètent des réponses cellulaires plus ou moins adaptées à ces conditions extrêmes. Dans des poumons isolés, l'augmentation du coefficient de filtration (un index de la perméabilité à l'eau de l'endothélium, *figure 2*) produite par la distension pulmonaire est inhibée par le gadolinium, un agent qui bloque les canaux activés par l'étirement de la membrane plasmique, notamment dans les cellules endothéliales [6]. Cette observation est à mettre en relation avec le fait que l'augmentation de la phosphorylation des résidus tyrosine (par inhibition des tyrosine phosphatases) augmente le coefficient de filtration [7] probablement en favorisant la phosphorylation des complexes d'adhérence focale, phénomène qui accompagne le détachement de la cellule endothéliale de la matrice extracellulaire (dont les bulles sont la traduction structurale). De même, un agoniste

β-adrénergique réduit l'augmentation du coefficient de filtration qui accompagne l'augmentation des pressions transmursales microvasculaires, probablement par inhibition de la contraction cellulaire endothéliale qui fait suite à une élévation de l'AMPc intracellulaire [8]. Plutôt que de simples ruptures mécaniques (*stress failure*), ces anomalies de perméabilité reflètent peut-être la mise en jeu de voies de transmission de signaux servant d'autres processus physiologiques (comme la croissance ou la migration cellulaire).

Passage du liquide d'inondation alvéolaire

Les décollements des cellules épithéliales alvéolaires observés lors de ces œdèmes hémodynamiques sont à mettre sur le compte d'une augmentation brutale de la pression interstitielle, le liquide en excès ne pouvant s'évacuer par les voies physiologiques habituelles (comme le drainage lymphatique, particulièrement dans le cas des poumons isolés). Des images spectaculaires de ce phénomène ont été apportées par des études visant à élucider la voie empruntée par le liquide interstitiel pour inonder les alvéoles lors de l'œdème hémodynamique, voie qui est longtemps restée énigmatique. Le liquide d'inondation alvéolaire possède la même composition que le liquide d'œdème interstitiel [9]. Autrement dit, tout se passe comme si, au moment de l'écoulement de ce liquide d'un com-

partiment vers l'autre, les protéines passaient librement, l'épithélium à cet endroit devenant même plus perméable que l'endothélium (qui, dans le cas des œdèmes hémodynamiques habituels, restreint le passage des protéines)! Ce phénomène est transitoire et il a été possible de montrer que la perméabilité à l'albumine dans le sens contraire, alvéole vers interstitium, reste très faible au moment même où se produit l'inondation [10]. Le chemin emprunté par ce flux liquidien est longtemps resté une énigme, l'hypothèse la plus couramment admise, en l'absence de démonstration d'une perte d'intégrité de la barrière épithéliale alvéolaire, étant que l'effraction se produisait au niveau bronchique, inondant les alvéoles par voie rétrograde [11]. Cette interprétation fut d'abord mise en doute parce que de l'albumine rendue fluorescente pouvait être retrouvée dans les alvéoles lors d'un œdème expérimental sans que l'on trouve trace de son passage dans les bronchioles terminales [12]. La démonstration histologique de ce lieu de passage a pu se faire dans des poumons isolés perfusés avec une solution à forte concentration en albumine [13]. Cette solution a pour intérêt de pouvoir être fixée et visualisée. Après création d'un œdème hydrostatique, il a été ainsi possible de mettre en évidence l'apparition du liquide en provenance de l'interstitium dans les espaces aériens distaux. Le liquide d'inondation remplit progressivement les alvéoles, avec des points d'accumulation dans les zones où le rayon de courbure est moindre et la pression liquidienne la plus infratmosphérique, « coins » et espaces intercapillaires (*figure 5*). La concentration en albumine du liquide d'inondation alvéolaire parfois diffère à l'intérieur d'un même alvéole, des liquides de densités variées étant séparés par une bi-couche lipidique émanant des pneumocytes de type I (*figure 6*). Cela suggère l'existence d'une hétérogénéité, à la fois dans le temps et dans l'espace, des coefficients de réflexion de la barrière épithéliale pour l'albumine. Ces bulles épithéliales reflètent le détachement transitoire (qui expliquerait la présence de ces différentes concentrations d'albumine à l'intérieur d'un

même alvéole) des pneumocytes de leur lame basale avec incorporation active de nouveaux matériaux dans la membrane plasmique pour en augmenter l'étendue [14]. Cette étonnante plasticité de l'épithélium est probablement un moyen de préserver son intégrité et peut faciliter le confinement du liquide d'œdème,

préservant ainsi les propriétés tensioactives du surfactant qui sont altérées par les protéines plasmatiques. Le retour à la normale se fait probablement rapidement, les propriétés de barrière de l'épithélium restant intactes au décours des œdèmes hémodynamiques qui guérissent régulièrement sans séquelles.

La résolution de l'œdème pulmonaire

Il y a quelques années l'opinion prévalait que l'irruption du liquide d'œdème dans les alvéoles et sa résorption obéissaient aux mêmes lois. Les mouvements liquidiens entre capillaires, interstitium et lymphatiques sont gouvernés par des forces purement passives. Au cours de la résolution de l'œdème pulmonaire, la résorption du liquide d'inondation alvéolaire était expliquée par la diminution de la pression hydrostatique interstitielle et par la force de pompage de la pression oncotique capillaire. Cela supposait que les protéines quittaient les espaces aériens assez rapidement, probablement par la même voie que celle qui avait conduit à leur irruption, c'est-à-dire à travers une barrière peu sélective. Ce ne pouvait être l'épithélium alvéolaire adulte, très imperméable. Celui-ci était, tout au plus, considéré comme une barrière et doté de propriétés de sécrétion, comme cela est le cas dans la vie fœtale. Les cellules épithéliales respiratoires sécrètent en effet alors du chlore, et ce transport ionique est à l'origine du liquide présent dans les alvéoles qui est résorbé à la naissance. On a depuis montré qu'à la naissance l'épithélium respiratoire sécrétoire se transforme en un épithélium absorbant et que cette transition est sous la dépendance de la pression partielle d'oxygène [15]. La vision d'une résorption de nature purement passive de l'œdème alvéolaire chez l'adulte a été remise en cause par deux observations. Du fait de l'architecture complexe du poumon, les propriétés de transport de l'épithélium alvéolaire ont longtemps échappé à l'investigation. L'étude de cet épithélium inaccessible est devenue possible quand des pneumocytes de type II ont pu être isolés et cultivés. Ces cellules en culture transportent du Na^+ du côté apical vers le pôle basolatéral entraînant un flux liquidien [16, 17]. L'autre observation fondamentale a été faite *in vivo*: après instillation de sérum dans les voies aériennes de moutons, Matthay *et al.* [18] ont observé que les protéines n'étaient absorbées des espaces aériens que lentement, leur concentration dans le liquide instillé

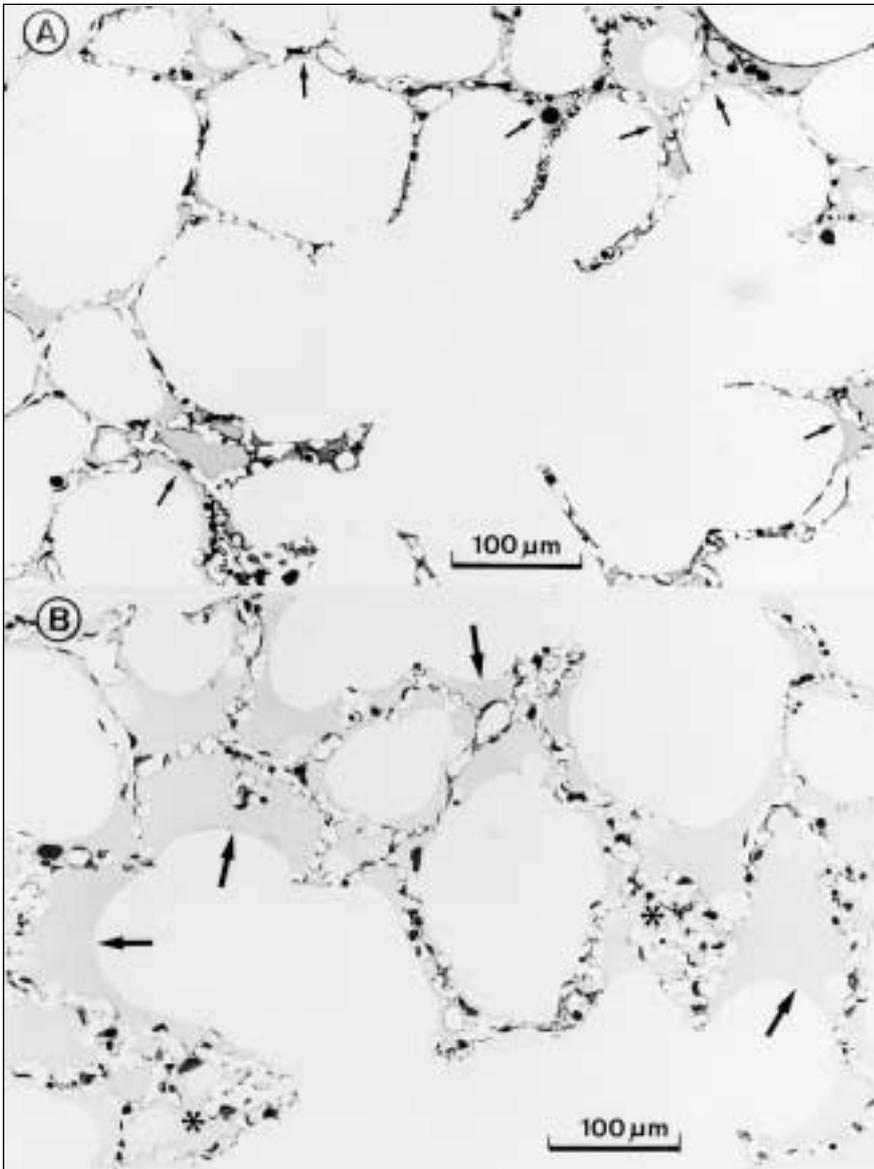


Figure 5. **Œdème alvéolaire.** A. Débutant: le liquide d'œdème, riche en albumine ce qui explique sa coloration, est confiné dans les « coins » alvéolaires de moindre rayon de courbure et entre les capillaires qui font saillie dans la lumière alvéolaire (flèches). B. À un stade plus avancé: le liquide emplit plus ou moins complètement les espaces alvéolaires. L'interface air-liquide est très régulière et couvre pratiquement toute la surface d'échange alvéolo-capillaire. Là où l'accumulation de liquide est la plus importante, les alvéoles ont tendance à se replier et leurs parois ont un aspect irrégulier (astérisque). (Reproduit de [13], avec autorisation.)

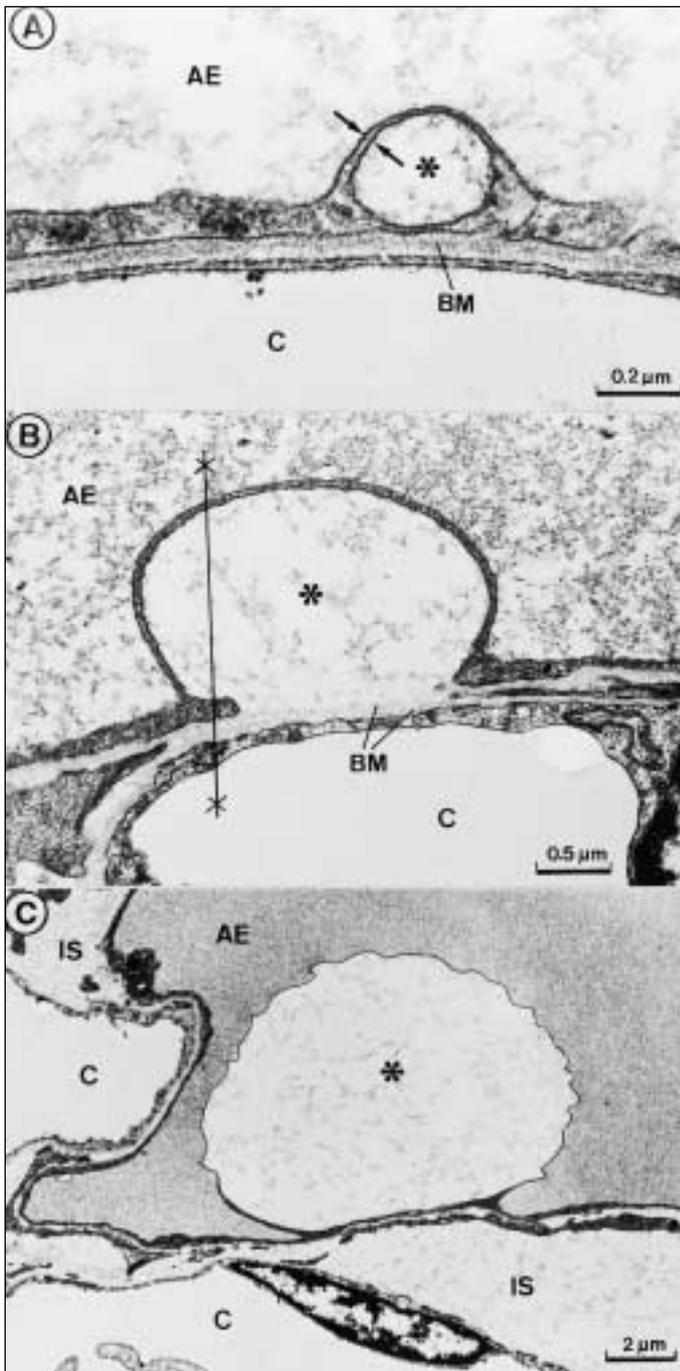


Figure 6. **Aspect des bulles épithéliales observées dans un poumon isolé de lapin dans une zone d'œdème alvéolaire produit expérimentalement par perfusion à pression élevée (pression veineuse 25 mmHg). Les bulles sont produites par des décollements locaux de la cellule épithéliale de sa membrane basale d'où partent des invaginations en doigt de gant intracytoplasmiques. A. Aspect d'une invagination intracellulaire (astérisque) emplies de liquide d'œdème et bordée par la membrane plasmique (flèches). B. Détachement bulleux (astérisque) de la cellule de sa membrane basale dans une région où membranes basales épithéliales et endothéliales ne sont pas complètement fusionnées.**

Une coupe faite selon le segment x-x produirait une image de bulle entourée par des extensions cytoplasmiques. C. Volumineuse bulle avec une paroi apparemment continue. Le liquide contenu dans la bulle (astérisque) a la même composition que le liquide d'œdème interstitiel mais diffère du liquide d'inondation alvéolaire ce qui suggère qu'il n'ont pas été produits de la même façon ou n'ont pas suivi la même voie. AE: espace alvéolaire; C: lumière capillaire; IS: espace interstitiel; BM: membrane basale. (Reproduit de [14], avec autorisation.)

chait toutefois pas la résorption de se poursuivre. Parce qu'aucune force passive connue extra-alvéolaire n'était suffisante pour entretenir un flux liquidien face à cette contre pression oncotique, la résorption devait en fait être un mécanisme actif, probablement une différence de pression osmotique résultant d'un transport d'ions par les cellules épithéliales bordant les espaces aériens.

Les transports actifs

La participation de transports actifs de solutés dans la résorption de l'œdème alvéolaire n'a pas été si aisée à démontrer: les transports ioniques et liquidien alvéolaires sont de faible amplitude (moins que 1/1000 de ceux du tubule proximal rénal pour la même surface d'échange) et le développement d'un œdème même minime en cours d'expérience peut naturellement fausser les observations. Les poumons (isolés pour la mesure des flux liquidien ou ioniques ou *in vivo* chez des animaux anesthésiés pour la simple mesure de la résorption du liquide alvéolaire) sont plus ou moins remplis par voie trachéale avec une solution semblable à celle qui sert à leur perfusion ou proche du plasma. La vitesse de disparition du liquide instillé est habituellement déduite des variations de concentration d'un traceur de haut poids moléculaire. Il a ainsi été possible de montrer que la résorption du liquide alvéolaire est en grande partie consécutive à un transport transépithélial de Na^+ , comme cela est le cas dans nombre d'épithéliums absorbants.

Chez le rat, le transport de Na^+ à travers la membrane apicale des cellules épithéliales alvéolaires se fait par deux voies principales: l'une sensible à l'amiloride, et qui consiste en des canaux épithéliaux à Na^+ [19] et l'autre insensible à l'amiloride, qui a été identifiée comme un cotransporteur Na^+ -glucose [20], probablement l'isoforme SGLT1. Ce dernier ne semble pas participer de façon appréciable à l'absorption du liquide d'œdème alvéolaire chez certaines espèces comme le hamster, la souris ou le lapin. Ce cotransport est aussi présent dans les voies aériennes. Le rôle précis du cotransport Na^+ -glucose alvéolaire n'est pas définitivement établi. En revanche,

augmentant lors de sa résorption jusqu'à des valeurs correspondant à une pression osmotique de plus de 50 cm H_2O après quelques heures.

Cette contre-pression (qui s'opposait à la pression oncotique capillaire ou interstitielle sensée être à l'origine de ces mouvements liquidien) n'empê-

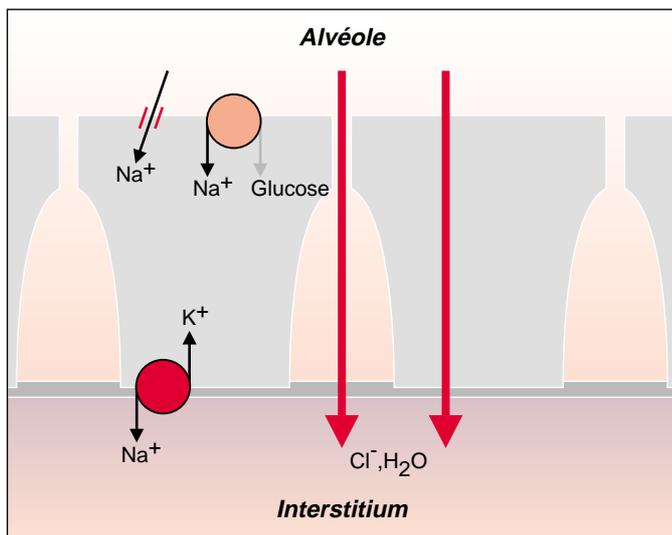


Figure 7. **Mécanismes de l'absorption du liquide d'œdème alvéolaire chez le rat.** La pompe basolatérale (Na^+, K^+ -ATPase) produit une différence de concentration de Na^+ entre milieux intra- et extracellulaires favorable à l'entrée du Na^+ dans les cellules. Cette entrée se fait au pôle apical par l'intermédiaire de deux voies : des canaux à Na^+ et

un cotransport Na^+ -glucose. S'ensuit un transport transépithélial de Na^+ . Le chlore suit, par une voie non identifiée, pour garantir l'électroneutralité. Ce transport de sel entraîne un déplacement d'eau du milieu alvéolaire vers l'interstitium. Ne sont pas figurés d'autres canaux (notamment à K^+) et transporteurs dont l'activité peut influencer les potentiels électro-chimiques des principaux ions. Le transport de Na^+ est électrogénique, mais d'un niveau très faible par unité de surface épithéliale. En dépit de l'importante résistance ohmique de l'épithélium (plusieurs milliers d'ohms. cm^2), la différence de potentiel transépithélial qui en résulte n'est que de quelques mV.

la présence de canaux à Na^+ est indispensable à la résorption du liquide alvéolaire fœtal à la naissance (*m/s 1994, n° 3, p. 365*) : les souris dont le gène codant pour la sous-unité α du canal à Na^+ épithélial a été inactivé meurent peu après leur naissance de détresse respiratoire, par défaut de résorption du liquide alvéolaire fœtal [21]. Comme cela est habituel dans les épithéliums absorbants, le Na^+ quitte les cellules au pôle basolatéral par une Na^+, K^+ -ATPase (figure 7). Ce transport transépithélial de Na aboutit à une absorption iso-osmotique de liquide : la concentration des principaux cations et anions dans le liquide alvéolaire ne varie pratiquement pas au cours de l'absorption. La voie empruntée par le chlore pour accompagner le sodium n'a pas été élucidée ; tous les inhibiteurs des canaux ou des transporteurs de chlore testés restent sans effet sur l'absorption alvéolaire. Pendant l'absorption du liquide alvéolaire, les mouvements de K^+ paraissent complexes, sécrétion et absorption pouvant avoir lieu simultanément [20]. L'absorption semble active, proba-

blement du fait de l'activité d'une H^+, K^+ -ATPase dans la membrane apicale des cellules alvéolaires et prévaut sur la sécrétion, ce qui assure la constance de la concentration alvéolaire de potassium alors que le volume de liquide présent dans les alvéoles diminue.

Réabsorption de l'eau

La perméabilité passive de l'épithélium alvéolaire est très faible (figure 1). Cette propriété de barrière joue probablement un rôle important dans l'équilibre hydrique du poumon profond. La production d'un mouvement appréciable d'eau par transport transépithélial de Na^+ (qui comme exposé plus haut est d'un niveau relativement faible) dépend du coefficient de réflexion de l'épithélium pour le Na^+ (figure 2). Ce coefficient est très proche de l'unité, ce qui signifie qu'une différence de concentration transépithéliale de Na^+ de seulement 1 mmol/l se traduira par une différence de pression de près de 25 cmH_2O , qui correspond approximativement à la pression osmotique maximum que peuvent développer les protéines présentes dans le plasma ou l'interstitium. Il

n'est donc pas surprenant que les macromolécules n'influencent que très modérément les mouvements liquidiens transépithéliaux alvéolaires. La voie empruntée par l'eau à la suite du transport de sodium n'a pas été identifiée. Plusieurs isoformes de canaux aqueux de la famille des aquaporines (AQP1, AQP4 et AQP5) ont été mises en évidence dans le poumon [22, 23]. AQP4 est présente au niveau des épithéliums bronchiques. AQP1 est suffisamment abondante dans la région alvéolaire pour être visualisée par immunofluorescence mais semble essentiellement localisée au niveau des cellules endothéliales [24]. La conductance aqueuse des pneumocytes de type I est particulièrement remarquable, probablement du fait de la présence de AQP5 dans la membrane apicale de ces cellules. Ces canaux aqueux expliquent l'impressionnante perméabilité à l'eau de la barrière alvéolaire. Dès 1873, Colin observait que plusieurs litres d'eau douce introduits dans les poumons d'un cheval étaient absorbés en quelques heures. De considérables différences de pression osmotique peuvent donc se dissiper rapidement sans léser de façon notable la barrière alvéolo-capillaire. De fait, l'équilibration de l'eau de mer avec le plasma lors d'une noyade se fait rapidement sans lésions [22]. Ces données contrastent avec les anomalies épithéliales observées lors de la constitution des œdèmes alvéolaires hémodynamiques. Il est vraisemblable que ces lésions soient très transitoires, ce qui expliquerait l'absence de séquelles chez des patients guérissant (souvent rapidement) d'œdèmes alvéolaires d'origine hémodynamique. La relation précise entre sites de transport de Na^+ et canaux aqueux n'est pas élucidée.

L'œdème pulmonaire en pathologie humaine

La connaissance des capacités de résorption de l'épithélium alvéolaire dans des conditions pathologiques, notamment infectieuses, est d'un grand intérêt thérapeutique. Au cours de l'instillation aiguë intratrachéale d'une importante charge bactérienne, dans le but de reproduire une pneumopathie, la résorption du liquide alvéolaire est fonction de la

sévérité de l'atteinte pulmonaire [25]. Si la perméabilité épithéliale alvéolaire aux protéines est augmentée de façon sensible, l'épithélium est incapable de réabsorber le liquide alvéolaire; en revanche, si cette perméabilité n'est pas altérée, on observe plutôt une stimulation de la résorption. La perméabilité passive de la barrière épithéliale alvéolaire peut affecter les mouvements liquidiens de différentes façons, qui dépendent du degré et des modalités de son accroissement et surtout de la préservation de l'intégrité épithéliale et particulièrement du coefficient de réflexion pour le Na^+ . Des études récentes suggèrent que des accroissements considérables ($\times 50$) de la perméabilité à de petits solutés comme le mannitol et une augmentation d'environ 5 fois de la perméabilité à l'albumine peuvent aller de pair avec une préservation de l'absorption liquidienne [26]. Une augmentation de perméabilité de ce type peut même, théoriquement, avoir un effet bénéfique sur la résorption de l'œdème alvéolaire en accélérant l'absorption des protéines en excès dans la lumière des voies aériennes. En revanche, si la perméabilité de la barrière épithéliale est augmentée par des destructions cellulaires, cela peut faciliter l'irruption du liquide d'œdème interstitiel dans les espaces aériens. A quantité d'eau extravasculaire similaire, un œdème avec destructions épithéliales présente plus de zones d'inondation alvéolaire et moins d'œdème interstitiel qu'un œdème pulmonaire hydrostatique dans lequel l'épithélium n'est pas altéré [27].

L'hyperoxie prolongée

Un type d'agression qui a été très étudié est l'hyperoxie prolongée qui entraîne des atteintes pulmonaires et neurologiques parfois sévères. L'hyperoxie augmente la production de radicaux libres dans les poumons, un œdème et des destructions épithéliales alvéolaires, essentiellement des pneumocytes de type I. Lors de la phase de réparation des lésions pulmonaires induites par l'hyperoxie, on observe une hyperplasie des pneumocytes de type II qui vont régénérer l'épithélium, mais aussi une augmentation des transports transépithéliaux de sodium et de la vitesse de résorp-

tion du liquide alvéolaire [28]. Cette augmentation du transport de Na^+ n'est pas seulement le fait de l'hyperplasie: il y a en même temps expression et activité accrues des canaux à Na^+ et de la Na^+, K^+ -ATPase [29]. Il pourrait s'agir d'un mécanisme de protection des espaces alvéolaires contre un excès de liquide dans une situation pouvant conduire à un œdème chronique. Par exemple, Berthiaume *et al.* [30] ont montré que l'activité de la Na^+, K^+ -ATPase dans le poumon entier mais aussi la quantité d'enzyme dans des pneumocytes de type II fraîchement isolés étaient considérablement augmentées chez des rats se rétablissant d'un œdème pulmonaire lésionnel.

Le stress

Libérées au cours des situations de stress et responsables en partie de la résorption du liquide pulmonaire fœtal à la naissance, les catécholamines augmentent le transport de Na^+ et doublent la vitesse de résorption du liquide alvéolaire chez l'adulte [20]. Cette stimulation est rapide (en quelques minutes) et complètement expliquée par une augmentation du transport de Na^+ par la voie sensible à l'amiloride. Selon les espèces, la stimulation s'effectue *via* des récepteurs $\beta 1$ ou $\beta 2$ -adrénergiques. Chez l'homme, l'épithélium alvéolaire semble sensible aux agonistes $\beta 2$ -adrénergiques, ce qui ouvre des perspectives thérapeutiques intéressantes [31]. Il est vraisemblable que le relais intracellulaire se fasse par activation de l'adénylyl cyclase et l'augmentation de l'AMPc intracellulaire. Cette stimulation du transport transépithélial de Na^+ est probablement à mettre sur le compte d'un effet direct de l'AMPc sur le canal à Na^+ , dont il augmente la probabilité d'ouverture [32], plutôt qu'à une stimulation primaire de l'activité de la Na^+, K^+ -ATPase. Dans des conditions de stress comme une hémorragie brutale suivie d'une réanimation liquidienne, la sécrétion spontanée d'adrénaline est suffisante pour obtenir une telle stimulation [33].

Les œdèmes lésionnels

D'autres médiateurs humoraux (cytokines, facteurs de croissance...) présents dans le poumon lors de la constitution ou de la résolution d'œdèmes lésionnels affectent aussi le

transport de Na^+ et la résorption du liquide alvéolaire. L'instillation *in vivo* de concentrations très élevées de $\text{TNF}\alpha$ dans les alvéoles s'accompagne d'un accroissement immédiat de l'absorption du liquide instillé chez le rat anesthésié [34] par un mécanisme qui n'a pas été élucidé mais qui ne semble pas être une sécrétion simultanée de catécholamines car insensible au propranolol. La stimulation de la résorption du liquide alvéolaire a été retrouvée à la suite d'inoculations intratrachéales de quantités massives de *Pseudomonas aeruginosa* (un modèle cependant fort éloigné des pneumopathies bactériennes car n'entraînant pas de lésions pulmonaires, [34]) ou d'endotoxine [35] pourrait être liée à la libération de $\text{TNF}\alpha$. Des facteurs de croissance sont impliqués dans les processus de réparation pulmonaire au décours du syndrome de détresse respiratoire aiguë chez l'homme. La présence de $\text{TGF}\alpha$ a été rapportée, très précocement, dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire de ces malades [36]. L'instillation expérimentale de $\text{TGF}\alpha$ [37] entraîne une augmentation de la résorption alvéolaire chez des animaux intacts qui est d'amplitude comparable à celle obtenue avec les β -adrénergiques. Cette stimulation est déprimée par l'inhibition de tyrosine kinases et ne semble pas accompagnée d'une augmentation de l'activité de l'adénylyl cyclase. Le KGF (*keratinocyte growth factor*) stimule la multiplication de pneumocytes de type II mais augmente aussi l'expression et l'activité de la Na^+, K^+ -ATPase dans les pneumocytes en culture [38] et diminue, peut-être par ce biais, la sévérité d'un œdème toxique chez le rat [39]. Les pneumocytes de type II possèdent des récepteurs de l'EGF (*epidermal growth factor*) et, *in vitro*, répondent à ce facteur notamment par un accroissement à moyen terme du transport de Na^+ [40]. L'effet de l'EGF n'a pas été évalué en terme de transport liquidien *in vivo*. L'ensemble de ces observations suggère que lors de la réparation des lésions pulmonaires, il soit nécessaire d'éliminer rapidement le liquide alvéolaire en excès pour restituer une interface air-liquide normale. *In vitro*, la différenciation des pneumocytes est modulée par la présence d'une interface air-liquide [41]. Il est maintenant admis que l'épithé-

lium alvéolaire joue un rôle crucial lors de l'installation et la résolution de l'inondation alvéolaire. La préservation (jusqu'à un point qui reste à déterminer) de ses propriétés de barrière et de transport va de pair avec l'amélioration clinique observée chez des patients souffrant de divers types d'œdème pulmonaire [42] ■

RÉFÉRENCES

- Pietra G, Szidon J, Leventhal M, Fishman A. Hemoglobin tracer in hemodynamic pulmonary edema. *Science* 1969; 166: 1643-6.
- Tsukimoto K, Mathieu-Costello O, Prediletto R, Elliott AR, West JB. Ultrastructural appearances of pulmonary capillaries at high transmural pressures. *J Appl Physiol* 1991; 71: 573-82.
- Costello ML, Mathieu-Costello O, West JB. Stress failure of alveolar epithelial cells studied by scanning electron microscopy. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 1446-55.
- Fu Z, Costello ML, Tsukimoto K, Prediletto R, Elliott AR, Mathieu-Costello O, West JB. High lung volume increases stress failure in pulmonary capillaries. *J Appl Physiol* 1992; 73: 123-33.
- Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 294-323.
- Parker JC, Ivey CL, Tucker JA. Gadolinium prevents high airway pressure-induced permeability increases in isolated rat lungs. *J Appl Physiol* 1998; 84: 1113-8.
- Parker JC. Phosphotyrosine phosphatase inhibition increases susceptibility of rat lungs to airway pressure-induced injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: A88.
- Parker JC, Ivey CL. Isoproterenol attenuates high vascular pressure-induced permeability increases in isolated rat lungs. *J Appl Physiol* 1997; 83: 1962-7.
- Vreim CE, Snashall PD, Staub NC. Protein composition of lung fluids in anesthetized dogs with acute cardiogenic edema. *Am J Physiol* 1976; 231: 1466-9.
- Egan EA, Nelson RM, Gessner IH. Solute permeability of the alveolar epithelium in acute hemodynamic pulmonary edema in dogs. *Am J Physiol* 1977; 233: H80-6.
- Staub N, Gee M, Vreim C. Mechanism of alveolar flooding in acute pulmonary edema. In: *Lung liquids*. Ciba Foundation Symposium. Amsterdam: Elsevier, 1976: 255-62.
- Conhaim RL. Airway level at which edema liquid enters the air space of isolated dog lungs. *J Appl Physiol* 1989; 67: 2234-42.
- Bachofen H, Schurch S, Michel RP, Weibel ER. Experimental hydrostatic pulmonary edema in rabbit lungs. Morphology. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 989-96.
- Bachofen H, Schurch S, Weibel ER. Experimental hydrostatic pulmonary edema in rabbit lungs. Barrier lesions. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 997-1004.
- Barker PM, Gatzky JT. Effect of gas composition on liquid secretion by explants of distal lung of fetal rat in submersion culture. *Am J Physiol* 1993; 265: L512-7.
- Mason RJ, Williams MC, Widdicombe JH, Sanders MJ, Misfeldt DS, Berry LC, Jr. Transepithelial transport by pulmonary alveolar type II cells in primary culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 6033-7.
- Goodman BE, Fleischer RS, Crandall ED. Evidence for active Na⁺ transport by cultured monolayers of pulmonary alveolar epithelial cells. *Am J Physiol* 1983; 245: C78-83.
- Matthay MA, Landolt CC, Staub NC. Differential liquid and protein clearance from the alveoli of anesthetized sheep. *J Appl Physiol* 1982; 53: 96-104.
- Matalon S, Benos DJ, Jackson RM. Biophysical and molecular properties of amiloride-inhibitable Na⁺ channels in alveolar epithelial cells. *Am J Physiol* 1996; 271: L1-22.
- Saumon G, Basset G. Electrolyte and fluid transport across the mature alveolar epithelium. *J Appl Physiol* 1993; 74: 1-15.
- Hummler E, Barker P, Gatzky J, Beermann F, Verdumo C, Schmidt A, Boucher R, Rossier BC. Early death due to defective neonatal lung liquid clearance in alpha-ENaC-deficient mice. *Nat Genet* 1996; 12: 325-8.
- Matthay MA, Folkesson HG, Verkman AS. Salt and water transport across alveolar and distal airway epithelia in the adult lung. *Am J Physiol* 1996; 270: L487-503.
- Benoit E, Méry P, Tacnet F, Tell F. Histories d'aquaporines: des canaux qui font couler beaucoup d'eau. *Med Sci* 1996; 12: 787-94.
- Effros RM, Darin C, Jacobs ER, Rogers RA, Krenz G, Schneeberger EE. Water transport and the distribution of aquaporin-1 in pulmonary air spaces. *J Appl Physiol* 1997; 83: 1002-16.
- Pittet JF, Wiener Kronish JP, Serikov V, Matthay MA. Resistance of the alveolar epithelium to injury from septic shock in sheep. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1093-100.
- Saumon G, Martet G. Spermine increases alveolar fluid clearance and paracellular permeability in isolated rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: A647.
- Montaner JS, Tsang J, Evans KG, Mullen JB, Burns AR, Walker DC, Wiggs B, Hogg JC. Alveolar epithelial damage. A critical difference between high pressure and oleic acid-induced low pressure pulmonary edema. *J Clin Invest* 1986; 77: 1786-96.
- Olivera WG, Ridge KM, Sznajder JI. Lung liquid clearance and Na,K-ATPase during acute hyperoxia and recovery in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1229-34.
- Haskell JF, Yue G, Benos DJ, Matalon S. Upregulation of sodium conductive pathways in alveolar type II cells in sublethal hyperoxia. *Am J Physiol* 1994; 266: L30-7.
- Zuege D, Suzuki S, Berthiaume Y. Increase of lung sodium-potassium-ATPase activity during recovery from high-permeability pulmonary edema. *Am J Physiol* 1996; 271: L896-909.
- Sakuma T, Folkesson HG, Suzuki S, Okaniwa G, Fujimura S, Matthay MA. Beta-adrenergic agonist stimulated alveolar fluid clearance in *ex vivo* human and rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 506-12.
- Yue G, Shoemaker RL, Matalon S. Regulation of low-amiloride-affinity sodium channels in alveolar type II cells. *Am J Physiol* 1994; 267: L94-100.
- Modelska K, Matthay MA, McElroy MC, Pittet JF. Upregulation of alveolar liquid clearance after fluid resuscitation for hemorrhagic shock in rats. *Am J Physiol* 1997; 273: L305-14.
- Rezaiguia S, Garat C, Delclaux C, Meignan M, Fleury J, Legrand P, Matthay MA, Jayr C. Acute bacterial pneumonia in rats increases alveolar epithelial fluid clearance by a tumor necrosis factor-alpha-dependent mechanism. *J Clin Invest* 1997; 99: 325-35.
- Garat C, Rezaiguia S, Meignan M, D'Ortho MP, Harf A, Matthay MA, Jayr C. Alveolar endotoxin increases alveolar liquid clearance in rats. *J Appl Physiol* 1995; 79: 2021-8.
- Chesnutt AN, Kheradmand F, Folkesson HG, Alberts M, Matthay MA. Soluble transforming growth factor-alpha is present in the pulmonary edema fluid of patients with acute lung injury. *Chest* 1997; 111: 652-6.
- Folkesson HG, Pittet JF, Nitenberg G, Matthay MA. Transforming growth factor-alpha increases alveolar liquid clearance in anesthetized ventilated rats. *Am J Physiol* 1996; 271: L236-44.
- Borok Z, Danto SI, Dimen LL, Zhang XL, Lubman RL. Na(+)-K(+)-ATPase expression in alveolar epithelial cells: upregulation of active ion transport by KGF. *Am J Physiol* 1998; 274: L149-58.
- Guery BP, Mason CM, Dobard EP, Beaucaire G, Summer WR, Nelson S. Keratinocyte growth factor increases transalveolar sodium reabsorption in normal and injured rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1777-84.
- Borok Z, Hami A, Danto SI, Lubman RL, Kim KJ, Crandall ED. Effects of EGF on alveolar epithelial junctional permeability and active sodium transport. *Am J Physiol* 1996; 270: L559-65.
- Alcorn JL, Smith ME, Smith JF, Margraf LR, Mendelson CR. Primary cell culture of human type II pneumonocytes: maintenance of a differentiated phenotype and transfection with recombinant adenoviruses. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17: 672-82.
- Matthay MA, Wiener-Kronish JP. Intact epithelial barrier function is critical for the resolution of alveolar edema in humans. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 1250-7.

Summary

Role of alveolar epithelium during pulmonary edema

The specific role of alveolar epithelium during the constitution and the resolution of alveolar edema has been the subject of numerous studies during the past decade that have conducted to complete reappraisal. Three notions that received general agreement have been reconsidered: the absence of lesions of the alveolo-capillary barrier during hemodynamic edema, the retrograde pathway taken by the edema fluid to flood alveoli and the role of Starling forces in governing alveolar liquid resorption. Extensive electron microscopy studies have shown that large increases in transmural capillary pressure may completely disrupt the alveolo-capillary barrier, a phenomenon called «stress failure». Stress failure may explain the occurrence of alveolar haemorrhage during heavy exercise in thoroughbred horses and the microvascular permeability alterations observed in some forms of pulmonary edema such as that produced by high volume ventilation.

Recent works suggest that stress failure may reflect a preservative cellular response rather than a direct mechanical injury. The way alveolar edema develops has been clarified using a refined histological preparation. Edema fluid appears to make irruption into airspaces directly through the alveolar epithelial barrier, first accumulating in zones of low pressure such as the alveolar corners before completely filling distal airspaces. Alveolar epithelial type I cells display considerable plasticity during this transfer of liquid between the interstitial and alveolar compartments: epithelial type I cells detach by places from their basement membrane; their plasma membrane is deformed by huge expansions that confine edema fluid. This may be a way to delay the irruption of plasma proteins in the alveolar-airway lumen and to preserve surfactant activity. The mechanisms of alveolar edema resolution have received considerable attention. Alveolar liquid is absorbed fol-

lowing active transepithelial sodium transport by alveolar cells. In most species, the main pathway taken by sodium to enter cells at the apical membrane is constituted by epithelial sodium channels. Inactivation of these channels in a knock-out mouse model results in respiratory distress and early death. Transepithelial sodium transport and the clearance of alveolar fluid is positively modulated by hormones such as β -adrenergics, cytokines such as tumour necrosis factor- α and growth factors such as keratinocyte growth factor. Maintenance of alveolar epithelial barrier integrity is also a key factor. The efficiency of active transepithelial sodium transport in driving water depends on the preservation of the epithelium barrier properties. There is evidence that the ability of the alveolar epithelium to concentrate proteins within airspaces is correlated with clinical improvement in patients suffering from various forms of pulmonary edema.