

Propiedades antiinflamatorias del surfactante pulmonar y su aplicación en la clínica

Odalys Blanco Hidalgo

Grupo de Química-Farmacología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, CENSA
San José de Las Lajas, AP 10, CP 32 700, La Habana, Cuba
Fax: 064 98104; E-mail: oblanco@censa.edu.cu

RESUMEN

El surfactante pulmonar es una mezcla compleja de fosfolípidos y proteínas que cubre la superficie alveolar del pulmón. Su principal función es disminuir la tensión superficial y evitar el colapso alveolar. Actualmente se investiga en las propiedades inmunomodulatorias atribuidas al surfactante pulmonar. En esta revisión se abordan los principales resultados en cuanto a las propiedades antiinflamatorias de los surfactantes pulmonares *in vitro*, así como los resultados a nivel preclínico en modelos experimentales del Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo, se revisan además las nuevas preparaciones diseñadas y su status farmacológico. Las propiedades antiinflamatorias informadas demuestran un efecto inhibitorio en diferentes mediadores de la inflamación tales como el óxido nítrico, la fosfolipasa A₂ y el TNF alfa. Los resultados de la evaluación de los surfactantes pulmonares en los ensayos *in vitro* así como en los modelos *in vivo* evidencian que constituyen un candidato potencial para su uso en enfermedades pulmonares diferentes al Síndrome de Distrés Respiratorio del Neonato, tales como el Síndrome de Aspiración del Meconio y el Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo.

Palabras claves: surfactante pulmonar exógeno, sintético, recombinante, propiedades antiinflamatorias, daño pulmonar agudo, Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo

Biotecnología Aplicada 2004;21:70-76

REVISIÓN

ABSTRACT

Pulmonary Surfactant anti-inflammatory properties and Clinical Application. The pulmonary surfactant is a complex mixture of phospholipids and specific proteins that line the alveolar surface of the lung. Its major function is to reduce surface tension; thereby protecting the alveoli against collapse. At present is of a special interest the immunomodulatory properties attributed to pulmonary surfactant. In this review main results related with *in vitro* anti-inflammatory properties of the pulmonary surfactant are presented, as well as the results at preclinical level in experimental models of Acute Respiratory Distress Syndrome, besides the new surfactants formulations designed and pharmacological status. An accumulation of anti-inflammatory properties has been informed, pulmonary surfactant showed inhibitory effect on different inflammation mediators such as nitric oxide, phospholipase A₂ and TNF alpha. The pulmonary surfactant evaluation both *in vitro* assays and *in vivo* models show that it constitutes a potential candidate to use in other than Respiratory Distress Syndrome of Neonate such as Meconium Syndrome Aspiration and Acute Respiratory Distress Syndrome.

Key words: exogenous lung surfactant, synthetic, recombinant, anti-inflammatory properties, acute lung injury, Acute Respiratory Distress Syndrome

Introducción

El surfactante pulmonar es un complejo lipoproteico que es sintetizado y secretado por las células alveolares epiteliales tipo II (neumocitos tipo II) hacia la capa líquida que cubre el epitelio. La composición bioquímica del surfactante pulmonar obtenido por lavado broncoalveolar consiste aproximadamente en un 90% de lípidos y un 10% de proteínas. Los fosfolípidos constituyen la fracción mayoritaria dentro de los lípidos y en cantidades minoritarias están: colesterol, triacilglicerol y ácidos grasos libres. La fosfatidilcolina es el más abundante componente del surfactante y se encuentra en cantidades de 70-80% del total de lípidos. Aproximadamente del 50-70% de la fosfatidilcolina es saturada, especialmente en forma de dipalmitoil-fosfatidilcolina (DPPC), este alto por ciento de fosfatidilcolina disaturada es único del surfactante si se compara con otros órganos [1]. El fosfatidilglicerol aniónico representa aproximadamente el 8%. Otros lípidos son la fosfatidiletanolamina (5%), fosfatidilinositol (3%), fosfatidilserina

y lisofosfatidilcolina. El colesterol representa el 2.4% del peso total del surfactante [2]. Las proteínas del surfactante son 4, denominadas A, B, C y D (SP-A, B, C y D) según su orden de descubrimiento [3]. SP-A y SP-D son proteínas multiméricas, glicosiladas, solubles en agua, mientras que SP-B y SP-C son proteínas hidrófobas, de menor peso molecular que requieren de detergentes, solventes orgánicos o lípidos para su solubilización; constituyen el 1% de la masa del surfactante y participan en la extensión y adsorción de la DPPC en la interfase aire-líquido [4]. La SP-A mejora las propiedades de superficie y controla la secreción y reciclaje del surfactante por la célula alveolar [5]. Además de esta función la SP-A y la SP-D son importantes en la defensa del hospedero en el pulmón.

El surfactante lleva a cabo dos funciones bien distintas y definidas. Su primera función por la cual ha sido reconocido, es la de disminuir la tensión superficial en la interfase aire-líquido en el pulmón, la

1. Curstedt T. Biosynthesis of molecular species of phosphatidylcholines in bile, liver, plasma of rats given [1,1-²H₂] ethanol. *Biochim Biophys Acta* 1974; 369:198-208.

2. Creuwels LAJM, Van Golde LMG, Haagsman HP. The pulmonary surfactant system: Biochemical and clinical aspects (Review). *Lung* 1997;175:1-39.

3. Possmayer F. A proposed nomenclature for pulmonary surfactant-associated proteins. *Am. Rev. Dis* 1988;138: 990-8.

4. Johansson J, Curstedt T. Molecular structures and interactions of pulmonary surfactant components. *Eur. J. Biochem* 1997;244:675-93.

5. Wright JR, Youmans DC. Degradation of surfactant lipids and surfactant protein A by alveolar macrophages *in vitro*. *Am. J. Physiol* 1995;268:772-80.

cual requiere la presencia de los lípidos y las proteínas hidrófobas del surfactante (SP-B y SP-C) [6] y la segunda, está relacionada con el papel en la defensa del hospedero contra la infección y la inflamación.

El Síndrome de Distrés Respiratorio del Neonato (SDRN) se caracteriza por una inmadurez del neumocito tipo II, lo que provoca que el pulmón sea incapaz de sintetizar y secretar el surfactante pulmonar, es una complicación frecuente en la prematuridad del neonato [7]. El empleo del surfactante exógeno, como terapia de reemplazamiento resultó una terapia eficaz para el síndrome, revolucionando el tratamiento del SDRN [8].

En el Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA) se plantea en Estados Unidos una mortalidad aproximada del 40% a pesar de la ventilación mecánica y el suplemento con oxígeno, con una prevalencia del 0.07% y con una incidencia, que es difícil de cuantificar debido a la variedad de causas del mismo, que se estimó de 1.5 a 77 casos en una población de 100 000 por año, aunque estimados iniciales planteaban 150 000 por año, por lo que aún en nuestros días es un fenómeno no resuelto [9]. En pacientes con SDRA hay evidencias de disfunción del surfactante, la actividad de superficie se encuentra dañada, un incremento en los agregados inactivos del surfactante y un efecto inhibitorio de las proteínas del suero en el sistema surfactante [10]. El SDRA es un proceso complejo de carácter inflamatorio donde el surfactante pulmonar es afectado por la inflamación y a su vez el surfactante afecta la inflamación del pulmón. La inactivación del surfactante ocurre a través de varios mediadores de la inflamación tales como las fosfolipasas, las proteasas y el óxido nítrico entre otros y esta puede ser revertida por varias vías entre ellas por el empleo de antagonistas de mediadores de la inflamación [11] y de surfactante activo de forma que se aumente la relación surfactante activo versus inactivo [12]. A su vez los componentes del surfactante suprimen varias rutas inflamatorias [13]. En esta revisión se abordan los principales resultados en cuanto a las propiedades antiinflamatorias de los surfactantes pulmonares *in vitro*, así como los resultados a nivel preclínico en modelos experimentales de SDRA; se revisan además las nuevas preparaciones diseñadas y su status farmacológico.

Propiedades antiinflamatorias del surfactante pulmonar

El pulmón es un órgano que se caracteriza por un área de superficie extensa de 70 m², si lo comparamos por ejemplo con la piel de alrededor de 1.7 m², al poseer una mayor área de superficie hace que el mismo sea más vulnerable a daños secundarios debido a una infección, inflamación y a otros agentes causantes de daños tales como exposición a gases oxidantes. Dado esta característica, el pulmón presenta mecanismos que le permiten una respuesta defensiva rápida a estos retos o agentes nocivos, manteniendo un balance entre la respuesta pro y antiinflamatoria.

Si bien el surfactante pulmonar es por excelencia conocido por su función de disminuir la tensión superficial, su función en la defensa al hospedero data desde hace tres décadas [14]. Un interés especial se acentuó en esta propiedad posteriormente, al descubrirse que dos de las proteínas del surfactante, SP-A y SP-D, poseen similitud estructural con la

familia de las colectinas, proteínas involucradas en la respuesta inmune innata no mediada por anticuerpos [15]. Estas proteínas unen, aglutinan y opsonizan una gran variedad de patógenos.

La temática del surfactante pulmonar incluye, además, investigaciones relacionadas con la obtención y diseño de surfactantes llamados naturales exógenos y sintéticos, para su aplicación en la práctica médica. Los surfactantes naturales exógenos son aquellos obtenidos por extracción con cloroformo-metanol a partir del surfactante natural endógeno y contiene el espectro completo de los fosfolípidos del surfactante, las proteínas hidrófobas del surfactante SP-B y SP-C pero no las proteínas hidrofílicas SP-A y SP-D. Los surfactantes sintéticos están constituidos por fosfolípidos y agentes que simulan las propiedades de las proteínas (Exosurf) o fosfolípidos en combinación con péptidos análogos sintéticos o proteínas recombinantes de la SP-B y SP-C. Los surfactantes usados en la clínica en el SDRN son presentados en la Tabla 1.

El surfactante pulmonar y los mediadores solubles de la inflamación

Los surfactantes naturales exógenos muestran numerosas propiedades inmunomodulatorias. El efecto del surfactante sobre la producción del óxido nítrico no se ha revisado tan ampliamente, el primer trabajo en conocer este efecto demostró que el surfactante pulmonar, en este caso el Survanta, es capaz de inhibir la producción de óxido nítrico en macrófagos alveolares estimulados con lipopolisacárido (LPS), componente presente en la membrana externa de bacterias Gram negativas, y que la SP-B es la responsable de esta propiedad ejerciendo su acción a nivel de la síntesis del óxido nítrico sintasa inducible [23].

El Curosurf inhibió la producción de óxido nítrico en macrófagos alveolares estimulados con *Streptococci* grupo B [24]. Los mediadores lipídicos de la inflamación tales como ecosanoides, lisofosfolípidos y el factor activador de plaquetas juegan un papel crucial en los eventos fisiopatológicos del SDRA. Un paso temprano en la liberación de estos mediadores es la fosfolipasa A₂. El Curosurf fue capaz de inhibir la expresión de la fosfolipasa A₂ de secreción y se demostró que el mecanismo involucrado es a través de la inhibición de la síntesis de esta enzima [25], y se encontró que específicamente el dioleilfosfatidilglicerol, es el responsable de este efecto [26]. A su vez, recientemente se demostró que el dioleilfosfatidilglicerol ejerce este efecto a través de la supresión de la activación del factor nuclear κB (factor relacionado con la regulación transcripcional de varias citoquinas) [27]. Los surfactantes exógenos naturales (Survanta) como los sintéticos (Exosurf) son capaces de inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias tales como el TNFα, la IL-1 y la IL-6 en macrófagos alveolares estimulados con endotoxinas, además se evidenció que los niveles de ARN mensajero para estas citoquinas fueron reducidos. Posteriormente se demostró por primera vez que los surfactantes pulmonares, en este caso el Exosurf y Survanta, son capaces de inhibir al factor nuclear κB en una línea de células monocíticas THP-1 [28]. En el caso del surfactante cubano Surfácen al evaluar su efecto en la producción de TNFα, se demostró que inhibió los

6. Possmayer F, Yu SH, Weber JM, Harding PG. Pulmonary surfactant. *Can. J. Biochem. Cell Biol* 1984;62:1121-31.

7. Avery ME, Mead J. Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. *Am. J. Dis. Child* 1959;97:517-23.

8. Fujiwara T, Maeta H, Chida S, Morita T, Watabe Y, Abe T. Artificial surfactant therapy in hyaline membrane disease. *Lancet* 1980;1:55-9.

9. Hudson LD, Steinberg KP. Epidemiology of Acute Lung Injury and ARDS. *Chest* 1999;116:74S-82S

10. Robertson B. Surfactant inactivation and surfactant therapy in acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Monaldi Arch Chest Dis* 1998;53:64-9

11. Khan AM, Shabarek FM, Kutchback JW, Lally KP. Effects of dexamethasone on meconium aspiration syndrome in newborn piglets. *Pediatr Res.* 1999;46:179-83

12. Amirkhanian JD, Bruni R, Waring AJ, Navar C, Taeusch HW. Full length synthetic surfactant proteins, SP-B and SP-C, reduce surfactant inactivation by serum. *Biochim Biophys Acta* 1993;1168:315-20.

13. Taeusch HW, Keough KMW. Inactivation of pulmonary surfactant and the treatment of acute lung injuries *Pediatric Pathology and Molecular Medicine* 2001;20:519-36.

14. Laforce FM, Kelly WJ, Huber GL. Inactivation of staphylococci by macrophages with preliminary observations on the importance of alveolar lining material. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1973;108:784-90.

15. Wright JR. Immunomodulatory Functions of Surfactant. *Physiol. Rev.* 1997;77:931-36.

16. Taeusch HW, Keough KMW, Williams M, Slavin R, Steele E, Lee AS, et al. Characterization of bovine surfactant for infants with respiratory distress syndrome. *Pediatrics* 1986;77:522-81.

17. Yu S, Harding P, Smith N, Possmayer F. Bovine pulmonary surfactant: chemical composition and physical properties. *Lipids* 1983;18:522-9.

18. Wauer R, Rogalski M, Schwerecke A, Schmalisch G. Prophylaxe und Therapie des neonatalen Atemnotsyndroms durch endotracheale application exogenen surfactants-eine literatursicht. *Klinische Medizin*, 1991;46:985-92.

19. Shapiro DL, Notter RH, Morin FC, Deluga KS, Goluk LM, Sinkin RA et al. Double-blind, randomized trial of calf lung surfactant extract administered at birth to very premature infants for prevention of respiratory distress syndrome. *Pediatrics* 1985;76:593-9

20. Robertson B, Curstedt T inventors; Robertson Bengt applicant. Natural pulmonary surfactant, method of preparation and pharmaceutical compositions. European Patent Application A 61K 37/02. 1988 April 7.

21. Manzanares D, Escobar A, Colome H, Noa M, Fernández-Regalado R, Alfonso W, et al. Surfactant from pig lungs for exogenous surfactant therapy. *Rev. Salud Anim.* 1994;16:51-8.

22. Clements JA, inventors; Regents of the University California, assignee. Lung surfactant compositions. US patent 4, 312, 860. 1982, January 26.

niveles de TNF α en monocitos humanos estimulados con LPS [29].

Los surfactantes pulmonares se evalúan además en las moléculas de adhesión, la evaluación de Curosurf y Exosurf mostró que fueron capaces de suprimir el número de células positivas a la L-selectina, sin embargo cuando se incubaron con Alveofact no se produjo ningún efecto [30]. A su vez se informó que el tratamiento con Survanta redujo la expresión de varias moléculas de adhesión, tales como CD2, CD11 α , CD58 y la molécula 1 de adhesión intracelular [15]. El Surfactén inhibió la expresión de ICAM-1 en células endoteliales estimuladas con TNF α e IL-1 β [29].

Las especies reactivas del oxígeno generadas en grandes cantidades por los neutrófilos activados en el SDRA, desempeñan una función crucial en el daño agudo pulmonar. El surfactante natural porcino modificado, Curosurf, inhibió la producción de aniones superóxidos por los monocitos estimulados con extracto bacteriano OM-85 [31], a su vez se informó que el surfactante exógeno, Surfactant TA, inhibe la producción de anión superóxido en neutrófilos [32] y se demostró que la preincubación de DPPC con una línea de células de monocitos estimuladas tanto con forbol 12-miristato de 13-acetato como con zimósán inhiben la respuesta oxidativa así como la liberación de TNF α , este efecto no se encontró para el palmitoilaraquidionil fosfatidilcolina [33]. Existen estudios que demuestran que cada fosfolípido tiene diferente actividad moduladora por ejemplo el dipalmitoilfosfatidilglicerol inhibe mientras la DPPC y la dioleilfosfatidilcolina incrementan la respuesta oxidativa producida por zimósán [15]. Las especies moleculares de fosfatidilcolina tales como la fosfatidilcolina 16:0/12:0 y la fosfatidilcolina 16:0/16:1, que presentan en la posición 2, ácidos grasos de longitud corta o insaturados son capaces de suprimir

la producción del anión superóxido en células fagocíticas más eficientemente que otros componentes como la fosfatidilcolina 16:0/18:1 y la fosfatidilcolina 16:0/16:0 [34, 35].

El surfactante pulmonar y los mediadores celulares de la inflamación

También se investiga la respuesta de las diferentes preparaciones de surfactante frente al crecimiento de bacterias que causan infecciones. Curosurf inhibe el crecimiento del *Streptococci* grupo B no así para el *Staphylococcus aureus* y la *Escherichia coli*. Sin embargo el Alveofact no inhibió el crecimiento del *Streptococci* grupo B y se observó el mismo comportamiento al Curosurf, cuando se enfrentó al *Staphylococcus aureus* y a la *Escherichia coli*. Se concluyó que este efecto observado depende del tipo de microorganismo y de la composición del surfactante y que se requieren estudios futuros para dilucidar el posible mecanismo [36].

La SP-B, al poseer 6 cisteínas conservadas de las 7 que presenta, se identifica como un miembro de la familia de péptidos de las saposinas, esta familia incluye a la lisina NK y a un péptido formador de poro de *Entamoeba histolytica* [37]. A su vez la SP-B presenta un 68% de homología estructural con un péptido con propiedades antibióticas y se demostró que inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* [38]. Recientemente se demostró que la SP-B inhibe la inflamación en el pulmón inducida por endotoxinas, para esto se utilizaron ratones transgénicos y se observaron que aquellos que tienen una sobreexpresión en los niveles de SP-B son los que tienen reducidos los niveles de células inflamatorias y de citoquinas proinflamatorias [39].

Con relación a la SP-C se observó que se une a la región del lípido A del LPS de esta forma la SP-C altera la accesibilidad de la unión del LPS al receptor

23. Miles PR, Bowman L, Rao KMK, Baatz JL, Huffman L. Pulmonary Surfactant inhibits LPS-induced nitric oxide by alveolar macrophages. *Am. J. Physiol.* 1999; 276:L186-99.

24. Bouhafs RKL, Jarstrand C. Interaction between lung surfactant and nitric oxide production by alveolar macrophages stimulated by group B *Streptococci*. *Pediatric Pulmonology* 2000;30:106-13.

25. Hidi R, Vidal D, Havet, N, Berger A, Vargafitg BB, Touqui L. Inhibition by pulmonary surfactant Curosurf of secretory phospholipase A₂ expression in guinea-pig alveolar macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 1997;54:1055-8.

26. Berger A, Havet N, Vial D, Arbibe L, Dumarey C, Watson M et al. Dioleilphosphatidylglycerol inhibits the expression of type II phospholipase A₂ in macrophages. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 159: 613-8.

27. Wu YZ, Medjane S, Chabot S, Kubrusly FS, Raw I, Chignard M et al. Surfactant protein-A and phosphatidylglycerol suppress type IIA phospholipase A₂ synthesis via nuclear factor-kappaB. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003;168:692-9.

28. Antal JM, Devis LT, Erzarum SC, Winedemann HP, Thomasse MJ. Surfactants suppress NF-KB activation in human monocytes cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1996;14:374-9.

29. Blanco O, Beltran A, Gonzalez D, Sánchez J, Fernández O, Faure R et al. Some anti-inflammatory properties of a natural pulmonary surfactant: Surfacten. *Applied Cardiopulmonary Pathophysiology* 2000; 9:201-3.

30. Reiss I, Tegtmeier FK, Ziesenitz S, Moller JC, Gortner L. Influence on L-selectine and PMN-inhibition on activated neutrophils by different surfactant preparations. *Applied Cardiopulmonary Pathophysiology* 1995;53 Suppl. 3:98-9.

Tabla 1. Surfactantes utilizados en la clínica

Nombre Genérico/Autor	Nombre de la marca	Fuente	Composición	Dosis	Método de suministro	Firma comercializadora
Beractant/ Fujiwara y col. 1980 [8]	Survanta	Tejido pulmonar bovino	SP-B, SP-C y FL	100 mg FL/kg hasta 3 dosis	Instilación intratraqueal	Laboratorios Abbot, (EE.UU.)
Surfactant-TA Taeusch y col 1986 [16]	Surfactén	Tejido pulmonar bovino	SP-B, SP-C y FL	100 mg FL/kg hasta 3 dosis	Instilación intratraqueal	Tokoyo Tanabe (Japón)
Surfactante Bovino/ Yu y col 1983 [17]	bLES	Lavado pulmonar bovino	SP-B, SP-C y FL	100 mg/kg	Instilación intratraqueal	BLES Biochem (Canadá)
SF-RI 1/ Wauer y col 1991 [18]	Alveofact	Lavado de pulmón bovino	SP-B, SP-C y FL	50 mg FL/kg	Instilación intratraqueal	Boehringer Ingelheim (Alemania)
Surfactante de Ternero (CLSE)/ Shapiro y col. 1985 [19]	Infasurf	Lavado de pulmón de ternero	SP-B, SP-C y FL	100 mg FL/kg	Instilación intratraqueal	Laboratorios Forest (EE.UU.)
Surfactante Porcino/ Robertson y Curstedt 1988 [20]	Curosurf	Tejido pulmonar porcino	SP-B, SP-C y FL	200 mg FL/kg inicial y dos dosis adicionales de 100 mg/Kg	Instilación intratraqueal	Chiesi Pharmaceuticals (Italia)
Surfactante porcino/ Manzanares y col 1994 [21]	Surfactén	Lavado pulmonar porcino	SP-B, SP-C y FL	100 mg FL/kg hasta 2 veces	Instilación intratraqueal	CENSA (Cuba)
Palmitato de colfosceril/John Clements 1982 [22]	Exosurf	Sintético	DPPC, alcohol cetílico y tiloxapol	67.5 mg de Palmitato de colfosceril/kg	Instilación intratraqueal	Glaxo-Wellcome (Reino Unido)

SP-B: Proteína del surfactante B FL: Fosfolípidos

SP-C: Proteína del surfactante C DPPC: Dipalmitoilfosfatidilcolina

celular presente en los macrófagos denominados CD14 [40, 41]. A su vez este mismo colectivo de autores demuestra que la SP-C interacciona con el CD14 [42], por lo tanto al ser una molécula que interactúa con un patrón de reconocimiento hace que se pueda extender su uso inmunológico a otros microorganismos que invaden el pulmón y además demuestran que la SP-C cuando se asocia a vesículas de DPPC, es capaz de inhibir la unión del LPS a macrófagos RAW 264.7, a su vez inhibe la producción de óxido nítrico en esta línea de macrófagos e inhibe la producción de TNF α en macrófagos alveolares y peritoneales [43]. En la Tabla 2 se resumen las nuevas propiedades informadas recientemente para la SP-B y la SP-C.

Las proteínas del plasma ejercen un fuerte efecto inhibitorio en el surfactante pulmonar endógeno en un experimento realizado donde se evalúan diferentes preparaciones de surfactante frente a las proteínas del plasma, se observó un comportamiento diferencial, Curosurf y Survanta fueron fuertemente inhibidos por fibrinógeno, hemoglobina y la albúmina, sin embargo Infasurf y Alveofact fueron moderadamente inhibidos por el fibrinógeno, y a su vez no fueron inhibidos por la hemoglobina y la albúmina [44]. Otro estudio informa que el Surfaxín y el Venticute (Tabla 3) fueron más resistentes a la inhibición por meconio que Curosurf, Alveofact y Survanta [45]. Esto demuestra como con el diseño de nuevos surfactantes sintéticos o recombinantes se pueden lograr surfactantes más resistentes a los inhibidores de su función.

Evaluación preclínica de surfactantes en modelos de daño agudo pulmonar

En 1959 Avery y Mead informaron por primera vez que la deficiencia de surfactante está relacionada con el Síndrome de Membrana Hialina o SDRN [7], y no es hasta la década de los 80 donde revoluciona por completo la práctica médica neonatal [8]. El Síndrome de Distrés Respiratorio del recién nacido, presenta como etiología primaria la deficiencia del surfactante pulmonar endógeno debido a la inmadurez del pulmón y la aplicación clínica del surfactante pulmonar exógeno tomó tiempo en constituir un tratamiento por excelencia para este síndrome, por tanto el hecho de dirigirlo a otras enfermedades respiratorias cuya etiología primaria no es la deficiencia del mismo, requiere de mucha investigación ya que son procesos más complejos y de carácter inflamatorio.

Tabla 2. Nuevas propiedades no tensoactivas de las proteínas hidrófobas del surfactante pulmonar

Proteínas Hidrófobas	Nuevas propiedades no tensoactivas
SP-B	1-Inhíbe la producción de óxido nítrico. 2-Inhíbe el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> 3-Reduce los niveles de células inflamatorias y citoquinas pro-inflamatorias.
SP-C	1-Se une a la región del lípido A del LPS 2-Interactúa con el CD14

SP-B: Proteína del surfactante B

SP-C: Proteína del surfactante C

LPS: Lipopolisacárido.

CD14: Receptor celular denominado CD14 presente en el macrófago alveolar.

El sistema de surfactante endógeno de pacientes con daño agudo pulmonar y SDRa está comprometido por varias vías: daño directo al surfactante, producción de formas anormales de surfactantes, las proteínas del plasma en el fluido del edema pulmonar inhiben las propiedades del surfactante y los productos de inflamación interfieren con la función del surfactante y el metabolismo del surfactante en el alvéolo [46].

La evaluación de los surfactantes pulmonares en los modelos de daño agudo pulmonar, constituye un paso esencial. En la literatura se describen diferentes modelos que mimetizan o simulan los principales aspectos fisiopatológicos presentes en el daño agudo pulmonar y en el SDRa, que comprende desde lavados pulmonares hasta el empleo de diferentes agentes tales como ácido clorhídrico, endotoxinas, N-nitroso-N-metil-uretano (NNNMU) e hipoxia.

La eficacia terapéutica de los surfactantes pulmonares en estos modelos depende de dos aspectos fundamentales: de las características del surfactante y del ambiente alveolar que se genere con el empleo de los diferentes agentes inductores de la lesión pulmonar. Con relación al primer aspecto los surfactantes exógenos naturales producen una respuesta mejor que los surfactantes sintéticos sin proteínas, por otra parte los surfactantes que tienen mayor contenido de SP-B y SP-C así como mayor proporción de determinadas especies fosfolípicas, producen una mejor respuesta. En el caso del segundo aspecto el empleo del agente causal determina el grado del daño, de manera que por ejemplo, los modelos donde se emplea lavado pulmonar ocurre una deficiencia de surfactante, es decir un proceso patofisiológico más fácil de revertir y es por eso que, la mayoría de estos modelos responden favorablemente al tratamiento con surfactante que cuando se emplean agentes más agresivos como el ácido clorhídrico.

Los modelos que mejor reproducen los eventos que ocurren en pacientes con SDRa son aquellos que emplean como agentes inductores de la lesión el ácido clorhídrico [47-49], el ácido oleico [50], el NNMU [51], la hipoxia [52, 53] y las endotoxinas [54-58]. El empleo del ácido clorhídrico produce un daño pulmonar muy severo donde hay un elevado incremento de la permeabilidad que resulta en una entrada de proteínas del plasma y una inactivación del surfactante, los autores plantean que es probable que algunos pacientes que desarrollen el SDRa por una aspiración ácida, no respondan a la estrategia de tratamiento con las preparaciones de surfactantes y que sea necesario además el empleo de estrategias de ventilación tales como un oscilador de alta frecuencia [49]. El empleo de endotoxinas reproduce muy bien los eventos patofisiológicos que ocurren en el SDRa y es uno de los más utilizados debido a que la sepsis es la causa más común de SDRa y presenta una mayor mortalidad comparado con otras etiologías que lo provocan [59].

Con relación a la composición bioquímica de los surfactantes empleados, independientemente de la composición general existen diferencias en cuanto a las especies moleculares de la fosfatidilcolina de los surfactantes naturales exógenos. Estudios dirigidos a conocer los efectos de las especies moleculares de fosfatidilcolina de cuatro preparaciones de surfac-

31. Walti H, Polla BS, Bachelet, M. Modified natural porcine surfactant inhibits superoxide anions and proinflammatory mediators released by resting and stimulated human monocytes. *Pediatr Res* 1997;4:114-9.

32. Suwabe A, Otake K, Yakuwa N, Suzuki H, Ito M, Tomoike H et al. Artificial surfactant (Surfactant TA) modulates adherence and superoxide production of neutrophils. *Am. J. Respir Crit Care Med.* 1998;158:1890-9.

33. Tonks A, Morris, RH, Price AJ, Thomas AW, Jones KP, Jackson SK. Dipalmitoylphosphatidylcholine modulate inflammatory functions of monocytic cells independently of mitogen activated protein kinases. *Clin Exp Immunol.* 2001;124:86-94.

34. Ahuja A, Oh N, Chao W, Spragg RG, Smith RM. Inhibition of the human neutrophil respiratory burst by native and synthetic surfactant. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1996;14:496-503.

35. Smith R. M., Spragg R., Connor J. Surfactant phospholipids inhibit neutrophil NADPH oxidase activity in a cell free system. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999;159(Suppl.):A894.

36. Rauprich P, Möller O, Walter G, Herting E, Robertson B. Influence of Modified Natural or Synthetic Surfactant Preparations on Growth of Bacteria Causing Infections in the Neonatal Period. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2000;7:817-22.

37. Weaver TE., Johnson J. Function of surfactant proteins B and C. *Annu. Rev. Physiol.* 2001;63:555-78.

38. Kaser MR, Skouters GG. Inhibition of bacterial growth by synthetic SP-B1-78 peptides. *Peptides* 1997;18:1441-4.

39. Epaud R, Ikegami M, Whitsett JA, Jobe AH, Weaver TE, Akinbi HT. Surfactant protein B inhibits endotoxin-induced lung inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003;28:373-8.

40. Augusto LA, Blay KL, Auger G, Blanot D, Chaby R. Interaction of bacterial lipopolysaccharide with mouse surfactant protein C inserted into lipid vesicles. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;281:L776-85.

41. Augusto LA, Li J, Synguelakis M, Johansson J, Chaby R. Structural basis for interactions between lung surfactant protein C and bacterial lipopolysaccharide. *J. Biol. Chem.* 2002;277:23484-92.

42. Augusto LA, Synguelakis M, Johansson J, Pedron T, Girard R., Chaby R. Interaction of Pulmonary Surfactant Protein C with CD14 and Lipopolysaccharide. *Infection and Immunity* 2003;71:61-7.

43. Augusto LA, Synguelakis M, Espinassous Q, Lepoivre M, Johansson J, Chaby R. Cellular antiendotoxin activities of lung surfactant protein C in lipid vesicles. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003;168:335-41.

44. Seeger W, Grube C, Gunther A., Schmidt R. Surfactant inhibition by plasma proteins: differential sensitivity of various surfactant preparations. *Eur Respir J.* 1993;6:971-7.

45. Herting E, Rauprich P, Stichtenoth G, Walter G, Johansson J, Robertson B. Resistance of Different Surfactant Preparations to Inactivation by Meconium. *Pediatr Res* 2001;50:44-9.

tantes, Alveofact, Curosurf, Exosurf y Survanta demostraron que los surfactantes bovinos contienen menos dipalmitoilfosfatidilcolina y más palmitoiloleoilfosfatidilcolina que los porcinos y esto explica las diferencias observadas en la tensión superficial mínima y las propiedades de adsorción entre Alveofact y Curosurf, donde Curosurf logra valores de tensión superficial mínima a menores concentraciones que Alveofact [60]. Además se observaron diferencias entre Alveofact y Survanta, dos surfactantes bovinos. Survanta presenta menores niveles de palmitoilmiristoilfosfatidilcolina y palmitoiloleoilfosfatidilcolina en comparación con Alveofact y a su vez con Curosurf [61]. Como analizamos anteriormente las especies moleculares de la fosfatidilcolina y otras especies de fosfolípidos ejercen su influencia en las propiedades antiinflamatorias [15, 33-35].

Los resultados mencionados anteriormente son observados bajo condiciones *in vitro*, con relación a la relevancia clínica de estos surfactantes los cuales se utilizan con éxito en la clínica (dirigidos al SDRN), se deduce que la actividad intrínseca no es predominante sino que involucra a otros mecanismos endógenos que ocurren durante el procesamiento de los fosfolípidos del surfactante [62]. No obstante manteniendo esto como válido y teniendo en cuenta las variaciones en cuanto a las especies fosfolípicas de los diferentes surfactantes, tendrá su influencia en las nuevas aplicaciones terapéuticas.

Un trabajo muy interesante donde se emplearon tres agentes causales de daño (lavado con solución salina, ácido clorhídrico y NNNMU) y dos preparaciones diferentes de surfactante (bLES y Venticute), obtienen como resultados en el caso de Venticute que no hubo una mejora en los parámetros de oxigenación e incluso en el grupo con ácido clorhídrico hay deterioro de los parámetros ventilatorios. En el caso del surfactante bLES, en el grupo de lavado con solución salina hay un incremento muy rápido en la oxigenación pero este efecto se deteriora en el tiempo, en el grupo del NNNMU resulta en un gradual pero persistente incremento de la oxigenación y en el grupo con ácido clorhídrico hay una disminución de los parámetros respiratorios después de un incremento transitorio. De forma general los resultados obtenidos con el bLES son superiores a los obtenidos con el Venticute y cuando se usa ácido clorhídrico es más difícil revertir el daño [63].

En un estudio donde se comparan tres preparaciones de surfactantes usados clínicamente (Alveofact, Exosurf y Survanta) en un modelo de deficiencia de surfactante en ratas confirma que los surfactantes naturales (Alveofact y Survanta) fueron más eficaces en mejorar el intercambio gaseoso que los sintéticos (Exosurf) y demostró que el Survanta fue superior al Alveofact en restablecer los valores de oxigenación arterial [64].

Los surfactantes evaluados en los modelos animales mostraron ser eficaces, por ejemplo utilizando un modelo de daño agudo pulmonar inducido por LPS o endotoxina se demostró que el Curosurf disminuye las células totales, el contenido de proteínas y el edema pulmonar [56], otro estudio donde se utiliza el mismo surfactante en un modelo de daño agudo pulmonar inducido también por LPS o endotoxina, demostró que

el Curosurf es capaz de disminuir diferentes parámetros inflamatorios tales como células totales, disminución del polimorfonuclear (PMN) y por tanto restablecimiento de la relación macrófago: PMN, e inhibición de la fosfolipasa A₂ [58]. En el caso del Surfactén su evaluación en un modelo de shock séptico mostró una inhibición del edema pulmonar [29].

Si bien existe una amplia gama de resultados con relación a la evaluación de los surfactantes en modelos animales, no ocurre igual en los ensayos clínicos donde se requiere de más información. Un estudio inicial con el empleo de surfactante exógeno, basándose en su actividad tensoactiva, en el tratamiento complementario del SDR, mostró mejorías en los parámetros ventilatorios y una ligera disminución de la mortalidad [65], este trabajo pionero sirvió de pauta para la realización de otros estudios clínicos pilotos [66-68], donde quedó demostrado que la terapia complementaria con surfactante puede ser eficaz para el tratamiento del SDR. Es necesario destacar que un problema crucial que enfrenta la terapia con surfactante en el SDR es la gran cantidad de surfactante suministrado a estos pacientes (dosis de hasta 300 mg/kg) para contrarrestar el efecto inhibitorio presente en el pulmón, lo cual hace extremadamente caro el tratamiento y las altas dosis no se justifican desde el punto de vista fisiológico. Aunque esta terapia es complementaria y no directamente dirigida a la etiología de esta enfermedad, es cuestionable las dosis elevadas que se suministran debido a que se requiere de mucho fluido a suministrar y por otra parte el surfactante endógeno humano oscila alrededor de 700 miligramos de fosfolípidos totales una cantidad pequeña si lo comparamos con un suministro de hasta 21 g de fosfolípidos totales en una aplicación elevándose a 63 g cuando se realiza el tratamiento 3 veces. En estudios más recientes con el empleo de surfactantes sintéticos (ver nuevos surfactantes) las cantidades de fosfolípidos suministrados disminuyeron a 3.5 g en una aplicación siendo de 16 g de fosfolípidos totales en el caso que se necesiten 4 aplicaciones.

Nuevos surfactantes

En la actualidad se trabaja intensamente en la farmacología preclínica y clínica de tres relativamente nuevas preparaciones de surfactantes, dos obtenidas por vía sintética o recombinante, estos son el Surfaxín y el Venticute y una de origen natural denominada HL-10 (Tabla 3) para su aplicación además del SDRN en el SDR y el Síndrome de Aspiración del Meconio (SAM).

La obtención de surfactantes por vía sintética tiene un auge muy acelerado por las bondades que esto ofrece, dado porque esta vía elimina la variabilidad entre lotes de los productos obtenidos a partir de la fuente animal con extracciones químicas que implica un rango amplio en sus especificaciones de calidad, por otro lado los niveles de proteínas son mucho menores que en los surfactantes nativos [60], los costos de producción son elevados y, por tanto, la producción de grandes cantidades es limitada y es difícil reformularlo para ser suministrado como aerosol.

El surfactante KL₄ o Surfaxín es el ejemplo por excelencia de pensamiento innovador, contiene un

46. Lewis JF, Jobe AH. Surfactant and the adult respiratory distress syndrome. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993;147:218-33.

47. Lamm WJE, Albert RK. Surfactant replacement improves lung recoil in rabbit lungs after acid aspiration. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990;142:1279-83.

48. Lewis JF, Tabor B, Ikegami M, Jobe AH, Joseph M, Absalom D. Lung function and surfactant distribution in saline-lavaged sheep given instilled vs nebulized surfactant. *J. Appl. Physiol.* 1993;74:1256-64.

49. Brackenburg AM, Puligandla PS, McCaig LA, Nikore V, Yao L, Veldhuizen RW *et al.* Evaluation of Exogenous Surfactant in HCl-induced Lung Injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001;163:1135-42.

50. Zelter M, Escudier BJ, Hoeffel J M, Murray JF. Effects of aerosolized artificial surfactant on repeated oleic acid injury in sheep. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1990;141:1014-9.

51. Harris JD, Jackson F, Moxley MA, Longmore WJ. Effect of exogenous surfactant instillation on experimental acute lung injury. *J. Appl. Physiol.* 1989;66:1846-51.

52. Engstrom PC, Holm BA, Matalon S. Surfactant replacement attenuates the increase in alveolar permeability in hypoxia. *J. Appl. Physiol.* 1989;67:688-93.

53. Huang YT, Caminiti SP, Fawcett TA, Moon RE, Fracica PJ, Miller FJ *et al.* Natural surfactant and hyperoxic lung injury in primates. I. Physiology and biochemistry. *J. Appl. Physiol.* 1994;76:991-1001.

54. Tashiro K, Yamada K, Li WZ, Matsumoto Y, Kobayashi T. Aerosolized and instilled surfactant therapies for acute lung injury caused by intratracheal endotoxin in rats. *Crit. Care Med.* 1996;24:488-94.

55. Picone A, Gatto LA, Nieman GF, Paskanik AM, Lutz C. Pulmonary surfactant function following endotoxin: effects of exogenous surfactant treatment. *Shock* 1996;5:304-10.

56. Van Helden HPM, Kuijpers WC, Langerwerf PEJ, Langen RCJ, Haegsman HP, Bruijnzeel PLB. Efficacy of Curosurf in a rat model of acute respiratory distress syndrome. *Eur. Respirat. J.* 1998;12:1-7.

57. Lutz C, Carney D, Finck C, Picone A, Gatto LA, Paskanik A *et al.* Aerosolized Surfactant Improves Pulmonary Function in Endotoxin-induced Lung Injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998;158:840-5.

58. Wu Y, Singer M, Thouron F, Alaoui-el-azher M, Touqui L. Effect of surfactant on pulmonary expression of type IIA PLA2 in an animal model of acute lung injury. *Am. J. Physiol Lung Cell Mol. Physiol.* 2002;282:L743-50.

59. Sachdeva RC, Guntupalli KK. Acute Respiratory Distress Syndrome. *Critical Care Clinics* 1997;13:503-21.

60. Bernhard W, Mottaghian J, Gebert A, Rau GA, Hardt H, Poets CF. Commercial versus Native Surfactants Surface Activity, Molecular Components, and the Effect of Calcium. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000;162:1524-33.

Tabla 3. Nuevas preparaciones de surfactantes en ensayos clínicos

Nombre genérico	Nombre de la marca	Fuente	Composición	Dosis	Aprobación por la FDA (estimado)	Método de suministro	Firma Comercializadora
KL ₄	Surfaxin	Sintético	DPPC, POPG, PA, KL ₄ -péptido	10 mg FL/mL vía lavado	SDRN en el 2004 SAM: en el 2005 SDRA: en el 2006	Lavado broncoalveolar	Laboratorios Discovery (EE.UU.)
SP-C recombinante	Venticute	Sintético	DPPC, POPG, PA, SP-C r	1mg rSP-C/kg, 50 mg FL/kg hasta 4 veces	no se dispone de los datos	Instilación intratraqueal	Altana Pharmaceuticals (Alemania)
Surfactante porcino	HL-10	Tejido pulmonar porcino	SP-B, SP-C y FL	100-200mg FL/kg hasta 4 veces	no se dispone de los datos	Instilación intratraqueal	Leo Pharmaceutical (Dinamarca)

DPPC: Dipalmitoilfosfatidilcolina
 POPG: Palmitoiloleifosfatidilglicerol
 PA: ácido palmítico
 KL₄-péptido: péptido de K (lisina) y de L (leucina)
 SP-Cr: Proteína del surfactante C recombinante
 SDRN: Síndrome de Distrés Respiratorio del Neonato
 SDRA: Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo
 SAM: Síndrome de Aspiración del Meconio
 FDA: Food Drug Administration (EE.UU)

péptido de 21 aminoácidos donde la combinación de una lisina (K) con 4 leucinas (L) mimetiza un patrón de cargas positivas y negativas presentes en la región N-terminal de la SP-B de origen nativo [69]. El surfactante KL₄ contiene DPPC, POPG, PA y el péptido KL₄. Su situación actual es la siguiente: 1) ensayo clínico fase III para el SDR en neonatos, 2) ensayo clínico fase III para el SAM en infantes, 3) ensayo clínico fase II en ALI/ARDS en adultos. Los resultados son favorables, por ejemplo, se realizó un ensayo clínico no controlado en neonatos con SDR y resultó en un mejoramiento importante en la oxigenación arterial similar a los efectos observados con un surfactante natural [70]. Por otra parte el Surfaxin se evaluó en un estudio piloto con 12 pacientes para el tratamiento del SDRA administrado por lavados secuenciales (surfactante diluido) con el empleo del broncoscopio y los resultados obtenidos fueron beneficiosos [71]. Además se encuentra en fase de ejecución un ensayo clínico fase III para el SAM en neonatos a término. Algunos de estos estudios se caracterizan por combinar lavados con Surfaxin (surfactante diluido) y dosis con Surfaxin, usando un broncoscopio, el pulmón es lavado sección por sección, las sustancias inflamatorias y el debris celular son removidos mientras que simultáneamente el pulmón es bañado con Surfaxin.

El Venticute está constituido por SP-C recombinante, DPPC, POPG, PA. Se realizó un ensayo clínico fase II en pacientes con SDRA y mejoró el intercambio gaseoso, la necesidad de soporte ventilatorio mecánico y la sobrevivencia [72]. Un estudio en fase III con SP-C recombinante en pacientes con SDRA demostró que los pacientes que reciben este surfactante mejoran significativamente los parámetros ventilatorios, aunque no se detectó diferencia en la mortalidad [73]. Se realizaron dos ensayos clínicos fase III cuyos resultados no fueron positivos [74], estos estudios tuvieron la característica de ser aleatorizados, controlados y multicéntricos que involucró cerca de 220 pacientes con SDRA en cada grupo, el Venticute se suministró por vía endotraqueal, los resultados obtenidos mostraron que no hubo mejora en la oxigenación ni en la sobrevivencia, no obstante un análisis *post hoc* detectó una mejoría en la oxigenación y en la sobrevivencia de pacientes con SDRA con causa primaria, ejemplo con neumonía.

El HL 10, denominado así porque proviene de las empresas Hallas Pharma y Pharma Leo, consiste en una preparación de surfactante natural de origen porcino que contiene las proteínas hidrófobas y los fosfolípidos, surge a partir de una novedosa tecnología

de producción denominada en inglés New and Emerging Technology Briefing, la cual optimiza el proceso de obtención del surfactante pulmonar a partir de la fuente natural. Se encuentra en ensayo clínico fase II, en Europa con pacientes con daño agudo pulmonar y SDRA, y dió como resultado que los pacientes que reciben HL 10 son retirados más rápido del ventilador y disminuye la mortalidad comparada con el grupo control [75].

Conclusiones

El surfactante pulmonar es una mezcla compleja de fosfolípidos y proteínas reconocido por su función de disminuir la tensión superficial en la interfase aire-líquido en el alvéolo. Su éxito en el SDRN representó un nivel superior en la práctica médica neonatal. Además de su función tensoactiva, el surfactante pulmonar presenta propiedades antiinflamatorias demostrado en experimentos *in vitro*, que incluyen la inhibición de la fosfolipasa A₂, el óxido nítrico y el TNF α , entre otros mediadores de la inflamación. Evaluaciones *in vivo* en los modelos de daño agudo pulmonar demuestran que a mayor grado de daño pulmonar la respuesta al tratamiento con surfactante es menor, a su vez los surfactantes naturales exógenos dan respuestas mejores que los surfactantes libres de proteínas, por otra parte hay que seguir de cerca la evaluación de los surfactantes pulmonares en cuanto a la influencia que ejercen las diferentes especies de fosfatidilcolina presentes en los surfactantes naturales exógenos en su eficacia en los modelos *in vivo*, de forma general los resultados obtenidos son beneficiosos. El empleo de la terapia con surfactante pulmonar en pacientes con SDRA se encuentra en ensayo clínico fase II y III y resulta promisorio.

Actualmente se investiga en el diseño de nuevas preparaciones de surfactantes que se obtienen por vía sintética o recombinante por las bondades que esto ofrece sobre los naturales, ejemplo de ellas son el Surfaxin y el Venticute. También se investiga en la optimización de la obtención del surfactante pulmonar a partir de la fuente natural, ejemplo de esto es el HL 10. Estas nuevas preparaciones son evaluadas a nivel preclínico y clínico en SDRN, SDRA y MAS y los resultados son satisfactorios.

Los resultados promisorios obtenidos en la preclínica, así como en la clínica marcan pautas para continuar las investigaciones en el campo del surfactante pulmonar y sus aplicaciones en otros desórdenes respiratorios, donde los investigadores

61. Holm BA, Wang Z, Egan EA, Notter RH. Content of dipalmitoylphosphatidylcholine in lung surfactant: ramifications for surface activity. *Pediatr. Res.* 1996;39:805-11.

62. Hallman M, Merritt TA, Bry K. The fate of exogenous surfactant in neonates with respiratory distress syndrome. *Clin. Pharmacokinet* 1994;26:215-32.

63. Puligandla PS, Gill T, McCaig LA, Yao L, Veldhuizen RAW, Possmayer F et al. F Alveolar environment influences the metabolic and biophysical properties of exogenous surfactants. *J. Applied of Physiology* 2000;88:1061-71.

64. Häfner D, Beume R, Kilian U, Krasznai G, Lachmann B. Dose-response comparisons of five lung surfactant factor (LSF) preparations in an animal model of adult respiratory distress syndrome (ARDS). *Br. J. Pharmacology* 1995;115:451-8.

65. Gadek JE, Gregory TJ, Hyers TM, Longmore WJ, Spragg R, Steinberg KP. Pattern of improvement of gas exchange during treatment of patient with the adult respiratory distress syndrome with a bovine derived surfactant. *Applied Cardiopulmonary Pathophysiology* 1995;5:36-7.

66. Waltmuth D, Gunther A, Ghofrani HA, Schermuly R, Schneider T, Grimminger F et al. Bronchoscopic surfactant administration in patients with severe adult respiratory distress syndrome and sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 154:57-62.

67. Willson DF, Jiao JH; Bauman LA, Zaritsky A, Craft H, Dockery K, Conrad D, Dalton H. Calf lung surfactant extract in acute hypoxemic respiratory failure in children. *Crit. Care Med.* 1996;24:1316-22.

68. Lewis J, Dhillon RS, Singh RS, Johnson CC, Frewen TC Exogenous surfactant therapy from pediatric patients with the acute respiratory distress syndrome. *Can. Respir. J.* 1997;4:21-6.

69. Cochrane CG, Revak SD. *Science* 1991;254:566-8.

70. Cochrane CG, Revak SD, Merritt TA, Heldt GP, Hallman M, Cunningham MD et al. The efficacy and safety of KL4-surfactant in preterm infants with respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir Crit Care Med* 1996;153:404-10.

71. Wiswell TE, Smith RM, Katz LB, Mastroianni L, Wong DY, Willms D et al. Bronchopulmonary segmental lavage with Surfaxin (KL (4)-surfactant) for acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 1999;160:1188-95.

72. Spragg RG, Lewis J, Wurst W, Rathgeb F. Treatment of ARDS with r SP-C surfactant. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2000;61:A47.

enfrentan un reto importante en cuanto a lograr preparaciones de surfactantes que sean resistentes a la inhibición que ocurre en estos síndromes, así como obtener más información de los eventos fisiopatológicos que ocurren en los mismos.

73. Spragg RG, Lewis JF, Rathgeb F, Häfner D, Seeger W. Intratracheal instillation of r SP-C surfactant improves oxygenation in patients with ARDS. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2002; 165:A22.

74. Seeger W, Spragg RG, Taut FJH, Häfner D, Lewis JF. Treatment with r SP-C surfactant reduces mortality in ARDS due to primary pulmonary events. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2002;165:A219.

75. Kesecioglu J, Schultz MJ, Lundberg D, Lauven PM, Lachmann B. European HL10 group. Treatment of acute lung injury (ALI/ARDS) with surfactant. Poster presented at the 97th International Conference of the American Thoracic Society in San Francisco 2001.

Agradecimientos

Agradezco los valiosos criterios técnicos y de redacción de los doctores Octavio Fernández Limia y Roberto Faure García del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria.

Recibido en febrero de 2004. Aprobado en marzo de 2004.