

# Bases biofísicas e inmunomodulatorias que sustentan la terapia con surfactante pulmonar exógeno y la proteína SP-A en el síndrome de distrés respiratorio agudo

✉ Odalys Blanco<sup>1</sup>, Roberto Faure<sup>1</sup>, Janet Sánchez<sup>1</sup>, Elizabeth de Armas<sup>1</sup>, René Delgado<sup>2</sup>, Jesús Pérez<sup>3</sup>, Octavio Fernández<sup>1</sup>, Ana Gloria Romanes<sup>1</sup>, Ángel Catala<sup>3</sup>, Evangelina Marrero<sup>1</sup>, Gregorio Martínez<sup>5</sup>, Yamilka Riverón<sup>1</sup>, Vivian Molina<sup>6</sup>, Daysy Carvajal<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), CP 32 700, La Habana, Cuba  
E-mail: oblanco@censa.edu.cu

<sup>2</sup> Centro de Química Farmacéutica (CQF), CP 10 400, Ciudad de La Habana, Cuba

<sup>3</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Universidad Complutense de Madrid, España

<sup>4</sup> Cátedra de Bioquímica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, CC 296, B1900 AVW, La Plata, Argentina

<sup>5</sup> Centro de Investigaciones y Evaluaciones Biológicas, Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL), CP 10 400, Ciudad de La Habana, Cuba

<sup>6</sup> Centro de Productos Naturales (CPN), Ciudad de La Habana, Cuba

## RESUMEN

En Cuba no se dispone de un surfactante idóneo para el tratamiento del síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), y se desconoce si el SURFACEN<sup>®</sup> y la SP-A reúnen las cualidades que permitan formular un producto adecuado para tales fines. Por ello, se evaluaron las propiedades biofísicas, antiinflamatorias y antimicrobianas del SURFACEN<sup>®</sup>, así como la actividad antioxidante y antibacteriana de la SP-A, para determinar si constituyen bases farmacológicas para la nueva indicación terapéutica. Los resultados demostraron que el surfactante cubano presenta propiedades biofísicas similares al surfactante nativo. Se destaca por poseer propiedades interfasiales superior a CUROSURF<sup>®</sup>, y por sus características termotrópicas, cualitativamente diferentes en comparación con las preparaciones homólogas. Asimismo, su acción antiinflamatoria en modelos *in vivo* disminuye el edema pulmonar, la actividad mieloperoxidasa, las concentraciones de malondialdehído, las células inflamatorias totales y restablece la relación macrófago-polimorfonuclear. En un modelo de pleuresía, con una dosis de 100 mg/kg, disminuyó el grado de exudado pleural y mostró un efecto comparable con la indometacina. En ensayos *in vitro*, inhibió la producción de factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) en monocitos activados, así como la expresión de la molécula de adhesión ICAM-1 en células endoteliales. Los estudios con cinco cepas patógenas demostraron que posee actividad antibiótica frente a bacterias grampositivas y gramnegativas causantes de infecciones respiratorias. La SP-A porcina evidenció actividad secuestradora para el radical hidroxilo y el ácido hipocloroso, así como capacidad quelante de hierro, además de un efecto protector a mitocondrias y microsomas del pulmón expuestos al radical hidroxilo. A su vez, la SP-A protegió al SURFACEN<sup>®</sup> de la acción oxidativa generada por el ácido hipocloroso y por el radical hidroxilo. Esto se constató por la inhibición de la peroxidación lipídica y la menor modificación de las propiedades tensoactivas, así como por la protección de los ácidos grasos poliinsaturados de SURFACEN<sup>®</sup>. Las nuevas propiedades biofísicas y las inmunomodulatorias sirven de fundamento farmacológico para una futura formulación farmacéutica, a partir de este surfactante y de esa proteína, para el tratamiento del síndrome de distrés respiratorio agudo. Este estudio contribuye a la búsqueda y sustentación de una formulación farmacéutica que pueda constituir la terapia de elección a un problema no resuelto aún en nuestros días.

**Palabras claves:** surfactante pulmonar, síndrome de distrés respiratorio agudo, SURFACEN<sup>®</sup>, proteína del surfactante A, propiedades biofísicas, antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas

## Introducción

El surfactante pulmonar es una mezcla compleja de lípidos y proteínas específicas, conocidas como: SP-A, SP-B, SP-C y SP-D, que cubre el epitelio alveolar, cuya función fundamental es disminuir la tensión superficial en la interfase aire-líquido en el alvéolo, y así evitar el colapso alveolar y permitir una respiración adecuada [1]. Además, se le reconocen importantes funciones en la defensa del pulmón [2]. El surfactante pulmonar es imprescindible: cualquier deficiencia o inactivación puede ocasionar graves enfermedades pulmonares. El síndrome de distrés respiratorio del neonato (SDRN) se caracteriza por una inmadurez de los neumocitos tipo II, por lo que no pueden sintetizar y secretar las cantidades necesarias de surfactante pulmonar. En los años 80 del siglo XX, la

aplicación terapéutica de un surfactante pulmonar, obtenido de fuente animal, SURVANTA<sup>®</sup>, a pacientes con SDRN resultó eficaz [3]. Posteriormente, se han fabricado unas pocas preparaciones farmacéuticas, conocidas como surfactantes naturales modificados o surfactantes naturales exógenos, entre ellas, SURFACTANT TA<sup>®</sup> (Tokoyo Tanabe, Japón), ALVEOFACT<sup>®</sup> (Boehringer Ingelheim, Alemania), CUROSURF<sup>®</sup> (Chiesi Pharmaceuticals, Italia), INFASURF<sup>®</sup> (Laboratorios Forest, EE.UU.), BLES<sup>®</sup> (BLES Biochem, Canadá), que han mostrado su eficacia en este síndrome [4, 5]. Estas preparaciones se diferencian en su fuente y método de obtención, lo cual repercute en su función tensoactiva [6] y de defensa [7].

1. Lewis JF, Jobe AH. Surfactant and the Adult Distress Respiratory Syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:218-33.

2. Wright JR. Immunomodulatory functions of Surfactant. *Physiol Rev* 1997;77:931-62.

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

4. Zhang JP, Wang YL, Wang YH, Zhang R, Chen H, Su HB. Prophylaxis of neonatal respiratory distress syndrome by intra-amniotic administration of pulmonary surfactant. *Chin Med J (Engl)* 2004 117;1:120-4.

5. Wright JR. Immunoregulatory Functions of Surfactant Proteins. *Nature Reviews Immunology* 2005;5:58-68.

✉ Autor de correspondencia

El síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) se caracteriza por un daño en el parénquima pulmonar, que compromete la respiración normal en estos pacientes. Es un evento complejo, en el cual intervienen procesos inflamatorios, infecciosos y oxidativos. Ello representa un serio compromiso para la vida de estos pacientes; se trata de un problema no resuelto, con una mortalidad del 40% en países altamente desarrollados [8]. El surfactante pulmonar se afecta seriamente desde el punto de vista bioquímico y biofísico [9, 10], lo que a su vez, perturba la respuesta defensiva en el pulmón. Esto se debe a que los mediadores proinflamatorios y las proteínas plasmáticas asociadas al edema que se liberan a los espacios alveolares, así como los productos oxidativos, desencadenan una inhibición severa del sistema surfactante. Esto justifica la necesidad de una preparación de surfactante, capaz de solucionar esta afección. A pesar de que se han realizado algunos ensayos clínicos con las diferentes preparaciones, estas no han sido eficaces [8]. Recientes estudios han mostrado que muchas de las preparaciones de surfactante, utilizadas en ensayos clínicos, son marcadamente más susceptibles a la inhibición por componentes plasmáticos que el surfactante natural [11].

En tal sentido, se plantea que estas preparaciones de surfactantes son «subóptimas», y se ha subvalorado la importancia de algunos componentes, así como la forma en que estos quedan ensamblados. Por tanto, un surfactante que se asemeje más al natural, tendrá mayores posibilidades de ser eficaz en el tratamiento del SDRA. Cuba dispone de un surfactante de origen natural, SURFACEN<sup>®</sup>, que ha demostrado ser eficaz en el SDRN [12] y que presenta peculiaridades en su composición bioquímica en relación con otros surfactantes, lo que hace suponer que pueda ser un buen candidato para el tratamiento del SDRA. Sin embargo, sus propiedades biofísicas no se han caracterizado detalladamente, sobre todo a concentraciones limitantes, como las que pueden estar disponibles en los espacios alveolares en condiciones de inactivación. Tampoco se han evaluado las propiedades antiinflamatorias y antibacterianas de SURFACEN<sup>®</sup>, las cuales son de vital importancia para su futura aplicación en el SDRA. Además, es necesario tener en cuenta el efecto de la adición de la proteína SP-A a las preparaciones de surfactante. Esta proteína no está en ninguna de las preparaciones de surfactantes comerciales, aunque realiza funciones esenciales en la defensa pulmonar: opsoniza, aumenta la fagocitosis y altera los mediadores de la respuesta inflamatoria [5]. Sus propiedades antioxidantes adquieren especial relevancia en el SDRA, aunque se han presentado resultados contradictorios en cuanto a su efecto en las especies reactivas del oxígeno [2]. El efecto de la SP-A, obtenida específicamente de pulmones porcinos, no se conoce. De ahí que entre los objetivos de esta investigación estuviera determinar las bases científicas que sustenten el empleo de un buen candidato terapéutico en el SDRA, ya que este reúne las mejores propiedades farmacológicas, de acuerdo con la fisiopatología del SDRA.

## Materiales y métodos

La definición de los modelos *in vitro* del estudio de la actividad biofísica, comprende la evaluación de las

características interfaciales y morfológicas, así como su comportamiento termotrópico, en comparación con otras preparaciones de surfactante homólogas. La definición de los modelos *in vitro* e *in vivo* del estudio de la actividad antiinflamatoria y antioxidante se fundamentó en la selección de aquellos relacionados con algunos de los mediadores proinflamatorios y prooxidantes de mayor potencialidad de daño.

### Propiedades biofísicas

Las propiedades interfaciales se realizaron mediante isoterma presión-área (*p-A*) en la balanza de Wilhelmy, en medio orgánico y acuoso [13]; las interfaciales-morfológicas, mediante isoterma *p-A* de compresión y obtención de las imágenes de transiciones de fases por microscopia de epifluorescencia [14]; las características termotrópicas (temperatura de transición de fase: *T<sub>m</sub>*), mediante calorimetría diferencial de barrido. Se emplearon los siguientes productos: surfactante pulmonar natural porcino (SPNP), extracto orgánico de surfactante pulmonar porcino (ESPNP), SURFACEN<sup>®</sup> y CUROSURF<sup>®</sup>.

### Efecto antiinflamatorio, antibacteriano y antioxidante de SURFACEN<sup>®</sup>

La determinación de las propiedades antiinflamatorias se realizó mediante un modelo de choque séptico por lipopolisacárido (LPS) en ratones Balb/c, y se valoró el edema pulmonar por el método gravimétrico. Se empleó un modelo de daño agudo pulmonar en ratas, inducido por LPS y se evaluaron los siguientes indicadores de daño: células totales, diferencial celular [15], actividad mieloperoxidasa (MPO) [16] y concentración de malondialdehído (MDA) [17]. Además, se determinó la concentración de TNF $\alpha$  en monocitos activados, mediante el ensayo de citotoxicidad en la línea celular L 929 [18], así como la expresión de la molécula de adhesión ICAM-1, por el método colorimétrico con 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) [19]. En la evaluación de la actividad antibacteriana, se determinó el crecimiento bacteriano por el método de suspensión cuantitativa por dilución y conteo [20, 21]. La actividad antioxidante se midió por el secuestro del anión superóxido, generado por el sistema xantina/xantina oxidasa [22].

### Efecto antioxidante y antibacteriano de la SP-A

La determinación de la actividad antioxidante se realizó mediante el ensayo de la 2-desoxi-D-ribosa [23], la peroxidación lipídica de mitocondrias, microsomas y SURFACEN<sup>®</sup> por el sistema Fenton [24], seguido por la extracción de lípidos, el análisis de ácidos grasos por cromatografía gaseosa, el secuestro de ácido hipocloroso (HOCL) [25], además de la actividad tensioactiva en el surfactómetro de burbuja pulsátil [26]. La determinación de la actividad antibacteriana se realizó mediante el ensayo del halo de inhibición del crecimiento microbiano [27].

### Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como la media y el error estándar de esta (EEM). Los datos se evaluaron estadísticamente por una prueba no paramétrica (Kruskal-Wallis). Las diferencias significativas se consideraron para *p* menor que 0.05 (paquete estadístico STATGRAPHICS, versión 3.1 para

6. Bernhard W, Mottaghian J, Gebert A, Rau G, Von der Hardt H, Poets Ch. Commercial versus native surfactants surface activity, molecular components, and the effect of calcium. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1524-33.

7. Tegtmeyer FK, Gortner L, Ludwig A y Brandt E. *In vitro* modulation of induced neutrophil activation by different surfactant preparations. *Eur Respir J* 1996;9:752-7.

8. Lewis JF, Veldhuizen R. The role of exogenous surfactant in the treatment of acute lung injury. *Annu Rev Physiol* 2003;65:613-42.

9. Griese M. Pulmonary surfactant in health and human lung diseases: state of the art. *Eur Respir J* 1999;13:1455-76.

10. Gunther A, Ruppert C, Schmidt R, Markart P, Grimminger F, Walmrath D, Seeger W. Surfactant alteration and replacement in acute respiratory distress syndrome. *Respir Res* 2001;2:353-64.

11. Tausch HW, De la Serna JB, Pérez-Gil J, Alonso C, Zasadzinski JA. Inactivation of pulmonary surfactant due to serum-inhibited adsorption and reversal by hydrophilic polymers: experimental. *Biophys J* 2005;89:1769-79.

12. Moreno O, Lee M, Domínguez F, Pascual MA, Alonso A, Jiménez G, Manzanera D. Estudio de la eficacia del SURFACEN<sup>®</sup> en el distrés respiratorio del recién nacido. *Rev Cubana de Pediatr* 1999;71:60-71.

13. Clements JA. Functions of the alveolar lining. *Am Rev Respir Dis* 1977;115:67-71.

14. McConnell H. Structures and transitions in lipid monolayers at the air-water interface. *Annu Rev Phys Chem* 1991;42:171-95.

15. Füll M, Garlt C, Lippman R. *Klinische Labor Diagnostik*. Hirsch Verlag Leipzig (Ed.) 1981:68-9.

16. Goldblum SE, Wu KM, Jay M, Lung. Myeloperoxidase as a measure of pulmonary leukostasis in rabbit. *J Appl Physiol* 1985;59:1978-85.

17. Gillard N, Heldt GP, Loredi J, Gasser H, Reel H, Merritt TA, Spragg RC. Exposure of hydrophobic components of porcine lung surfactant to oxidant stress alters surface tension properties. *J Clin Invest* 1994;93:2608-15.

18. Faggioni R, Gatti S, Dimitri MT, Delgado R, Echtenacher B, Gnocchi P, Heremans H, Ghezzi P. Role of xanthine oxidase and reactive oxygen intermediates in LPS- and TNF-induced pulmonary edema. *J Lab Clin Med* 1994;173:1305-10.

19. Crockett-Torab E. Selectins and mechanisms of signal transduction. *J Leukocyte Biol* 1998;63:1-13.

20. Rusell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ. *Desinfection, preservation and sterilization*. Ed. Blaskewell Scientific Publication. 1982;1:3-262.

21. 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. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000;7:817-22.

22. Imanari T, Hirota M, Miyazaki M, Hayakawa K, Tamura Z. Improve assay method for superoxide dismutase. *Igaku no Ayumi* 1977;101:496-7.

Windows). En el experimento de calorimetría se utilizó el programa Origin, versión 7. En el edema pulmonar se utilizó el Modelo Lineal General:  $PS_{(1-28)} = PH_{(1-28)} + T_{(1-5)} + E$ , donde: T es el tratamiento, PH es el peso húmedo, PS es el peso seco y E es el error. Para ello se utilizó el programa SAS, versión 8,02 TS nivel 02MO (de 1999 a 2001).

## Resultados y discusión

### Propiedades biofísicas

Los resultados de la evaluación de SURFACEN<sup>®</sup> mostraron que las isothermas *p*-A se caracterizan por curvas reproducibles, con mesetas de exclusión (compresión) y de reinserción (expansión) largas, similares al extracto orgánico y al surfactante natural, y con presiones de superficie máxima cercanas a 70 mN/m, similares al SN. Se destaca la superioridad de las isothermas *p*-A de SURFACEN<sup>®</sup> sobre las de CUROSURF (figura 1). Si se comparan las *p* máximas y las mínimas de cada ciclo de estas preparaciones, SURFACEN<sup>®</sup> fue significativamente superior al ESPNP ( $p = 0.002$ ), a pesar de que el comportamiento cualitativo de las isothermas cíclicas es más parecido e, incluso, mejor en el ESPNP. Estos datos mostraron la superioridad de SURFACEN<sup>®</sup> con respecto a CUROSURF<sup>®</sup> ( $p = 0.001$ ). A su vez, es necesario resaltar que al final de la expansión se logró obtener *p* mínimas sostenidas en SURFACEN<sup>®</sup>. Esta preparación presentó un comportamiento dinámico en compresión cualitativamente similar al del ESPNP (figura 2). Desde el punto de vista estructural, se comprobó que SURFACEN<sup>®</sup> muestra dominios condensados que se inician a la *p* 22 mN/m, lo que indica la presencia de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) en coexistencia con una fase fluida, los que desaparecen a la *p* de 40 mN/m. Presenta un comportamiento de coexistencia de fase gel-líquido cristalina, similar a las preparaciones homólogas ensayadas. Se determinó que las propiedades termotrópicas de SURFACEN<sup>®</sup> se caracterizan por poseer una fase de transición amplia entre 15 y 50 °C, con una *T*<sub>m</sub> de 28.05 °C. Estos resultados avalan que las películas de SURFACEN<sup>®</sup> muestran procesos de separación lateral de fases similares a los del surfactante nativo y propiedades termotrópicas consistentes en transiciones de fases complejas. En conjunto, estas características funcionales y estruc-

turales reproducen en gran medida el comportamiento del sistema surfactante nativo.

### Efecto antiinflamatorio, antibacteriano y antioxidante de SURFACEN<sup>®</sup>

Los resultados de la evaluación de SURFACEN<sup>®</sup> en el modelo de shock séptico por LPS en ratones Balb/c, mostraron que el tratamiento con SURFACEN<sup>®</sup> llevó a una disminución significativa del peso húmedo del pulmón [28]. La evaluación de SURFACEN<sup>®</sup> en un modelo de daño agudo pulmonar en ratas indicó que el tratamiento con SURFACEN<sup>®</sup>, una hora después de administrado el LPS, disminuyó el número de células inflamatorias y restableció la proporción de macrófagos y polimorfonucleares, inhibió la actividad de la enzima MPO y, además, disminuyó las concentraciones de MDA (Tabla 1). La evaluación de SURFACEN<sup>®</sup> en el modelo clásico de inflamación local aguda sistémica (pleuresía), indicó que a la dosis de 100 mg/kg disminuyó el grado de exudado pleural en ratas, al provocar un efecto comparable con la indometacina. Este resultado constituye la primera demostración del efecto antiinflamatorio del surfactante pulmonar fuera del pulmón [29]. SURFACEN<sup>®</sup> inhibió la producción de TNF  $\alpha$  en monocitos humanos estimulados con LPS, y disminuyó la expresión de ICAM-1, importante molécula de adhesión que interviene en la interacción de leucocitos con células endoteliales vasculares, paso esencial en el proceso inflamatorio [28]. La incubación de SURFACEN<sup>®</sup> con las bacterias grampositivas: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*, y con las bacterias gramnegativas: *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* provocó una disminución de las unidades formadoras de colonias dosis dependientes, expresada como un aumento en la reducción del crecimiento microbiano [30]. A la concentración de 2.5 mg/mL, SURFACEN<sup>®</sup> inhibió la producción de aniones superóxido en 61%.

### Efecto antioxidante y antibacteriano de la SP-A

La SP-A porcina inhibe, de forma dosis dependiente, la formación de especies reactivas en el ensayo de la 2-desoxi-D-ribose, al alcanzar el 75% de inhibición a la concentración de 1 mg/mL y mostró propiedades secuestradoras de radicales hidroxilo (OH) [31]. La SP-A porcina tuvo un efecto significativo en la reducción

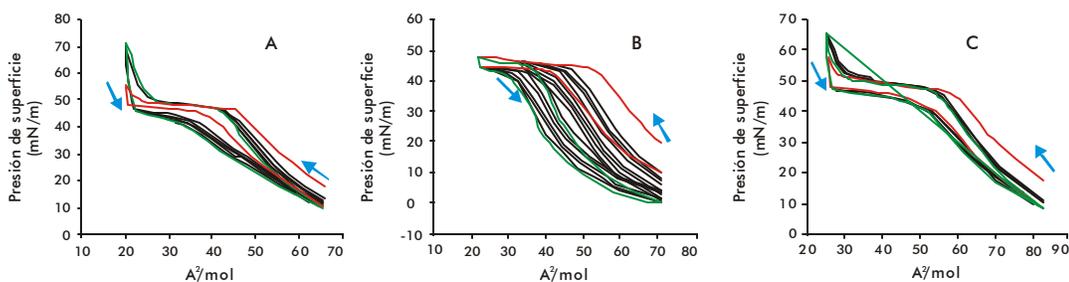


Figura 1. Isothermas de compresión-expansión cíclica de monocapas de SURFACEN<sup>®</sup> (A) y CUROSURF<sup>®</sup> (B) y ESPNP (C) en medio orgánico. Las monocapas se comprimieron y expandieron a temperatura constante (25 °C), durante 10 ciclos consecutivos, y se registraron los cambios de presión superficial en función del área. Las flechas con sentido hacia arriba o hacia abajo indican el comienzo de la compresión o expansión, respectivamente. La curva roja representa el primer ciclo y la verde el décimo ciclo. Las curvas son el promedio de tres repeticiones.

23. Aruoma OI. Deoxyribose assay for detecting hydroxyl radicals. *Methods Enzymol* 1994;23:57-66.

24. Wright JR, Rumbaugh RC, Colby HD, Miles PR. The relationship between chemiluminescence and lipid peroxidation in rat hepatic microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1979;192:344-51.

25. Payá M, Halliwell B, Hoult RS. Interactions of a series of coumarines with reactive oxygen species. *Biochem Pharmacol* 1992;44:205-14.

26. Enhornig G. Pulsating bubble technique for evaluating pulmonary surfactant. *J Appl Physiol* 1977;43:198-203.

27. Daguet GL, Chabbert VA. Técnicas en Bacteriología. Editorial JIMS 1977;3:135-53.

28. Blanco O, Beltrán A, González D, Fernández O, Faure R, Delgado R. Some anti-inflammatory properties of a natural pulmonary surfactant SURFACEN<sup>®</sup>. *Appl. Cardiopulmonary Pathophysiology* 2000;9:201-3.

29. Blanco O, Molina V, Carvajal D, Fernández O, Faure R. Effect of SURFACEN<sup>®</sup> in Carrageenan-Induced Pleurisy. *Applied Cardiopulmonary Pathophysiology* 2004;13:21-3.

30. Blanco O, Riverón Y, De Armas E, Sánchez J, Faure R, Fernández O. SURFACEN<sup>®</sup> inhibe el crecimiento de bacterias causantes de infecciones respiratorias. *Rev Biotecnología Aplicada* 2005;22:279-81

31. Sánchez J, Blanco O, Martínez G, De Armas E, Fernández O, Faure R. La proteína A del surfactante porcino (SP-A) exhibe propiedades antioxidantes en el sistema Fenton. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 2003;34:19-23.

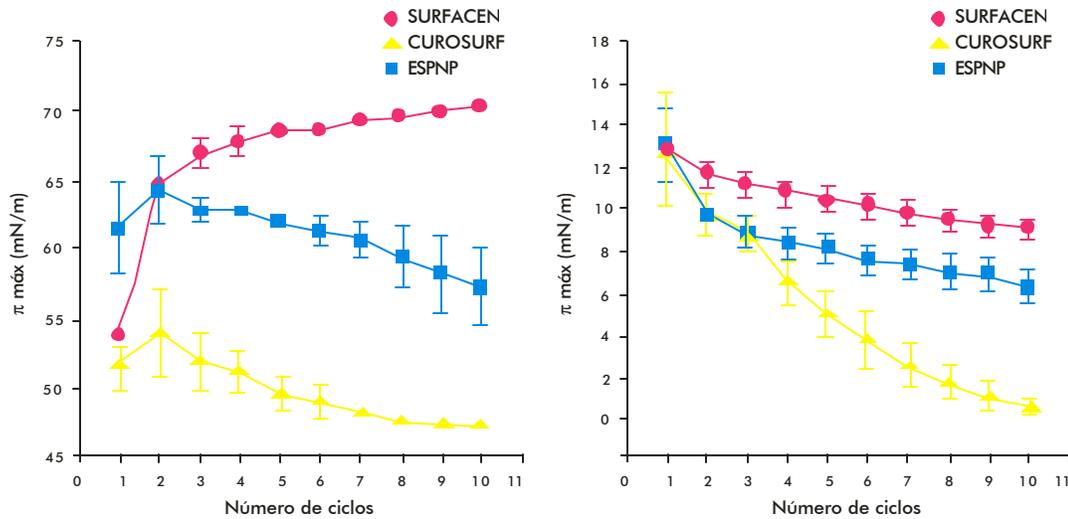


Figura 2. Valores de presión de superficie máxima (p) y mínima de ESPNP, SURFACEN® y CUROSURF® en solución orgánica, obtenidos a partir de las isotermas p-A en función del número de ciclos. Los datos se expresan como la media ± EEM de tres experimentos independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05).

de la generación de OH a partir de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dependiente de iones, probablemente por quelación de hierro [31]. Además, fue capaz de revertir el daño ocasionado por el ácido hipocloroso en el SURFACEN<sup>®</sup>, que provocó un aumento en la tensión superficial, al restablecerla a los valores normales presentes en SURFACEN<sup>®</sup> [32]. Estos resultados contribuyen a la comprensión de los mecanismos de acción de la SP-A al sugerir que la proteína actúa como secuestrador de radicales hidroxilo e hipocloroso y que presenta una posible actividad quelante de hierro, teniendo en cuenta que el mecanismo por el cual la SP-A reduce la peroxidación lipídica no está bien establecido.

La SP-A porcina inhibe la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (peroxidación lipídica) presentes en SURFACEN<sup>®</sup>, principalmente el ácido araquidónico, en forma dosis dependiente. De manera que se obtuvo el 60% de inhibición a la concentración de 2.0 µg/mL y el 73.6 % de inhibición a la concentración de 4.0 µg/mL, lo que se evidenció en la inhibición de la emisión de la luz (figura 3) y en el análisis de la composición de ácidos grasos [33]. Estos resultados demostraron que la SP-A porcina protege los fosfolípidos del surfactante del daño oxidativo; ejerce un efecto inhibitorio en la peroxidación de membranas celulares (mitocondrias y microsomas), con un efecto dosis dependiente y logra los mayores valores en mitocondrias. De manera que 5 mg de SP-A provocan el 100% de inhibición y con 7.5 mg de SP-A se produce el 51.2 ± 3.48% en

microsomas [34]. Estos resultados sugieren que la SP-A porcina puede ejercer protección no solamente al sistema surfactante, sino que, potencialmente, puede ampliar su acción a las mitocondrias y los microsomas del pulmón.

La SP-A porcina (0.25; 0.5 y 1 mg/mL) ocasionó, en forma dosis dependiente, un halo de inhibición de 22, 26 y 31 mm, respectivamente, frente a *Escherichia coli*.

### Conclusiones

Los estudios básicos del producto cubano SURFACEN<sup>®</sup> permitieron aportar una caracterización, en detalle, de las propiedades biofísicas de SURFACEN<sup>®</sup>, demostrar por primera vez las propiedades antiinflamatorias. Es necesario destacar que este es el primer resultado internacional del efecto antiinflamatorio del surfactante pulmonar fuera del pulmón, así como el amplio espectro de acción antibacteriano que posee con respecto a otros surfactantes. Además, se demostraron las propiedades antioxidantes de la SP-A porcina, cuyos datos

32. Sánchez J, Blanco O, De Armas E, Martínez G, Faure R, Fernández O. Efecto protector de la proteína SP-A porcina sobre el SURFACEN<sup>®</sup> expuesto a ácido hipocloroso. Revista Cubana de Farmacia 2002;36:58-60.

33. Blanco O, Catalá A. Surfactant protein A inhibits the non enzymatic lipid peroxidation of porcine lung surfactant. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 2001;65:185-90.

34. Terrasa A, Guajardo M, De Armas E, Catalá A. Pulmonary surfactant protein A inhibits the lipid peroxidation stimulated by linoleic acid hydroperoxide of rat lung mitochondria and microsomes. Biochimica et Biophysica Acta 2005;1735: 101-10.

Tabla 1. Conteo de células totales, actividad MPO y concentración de MDA en el modelo de daño agudo pulmonar. Efecto del SURFACEN<sup>®</sup>

	Células totales • 10 <sup>6</sup> /mL	MPO U/mL	MDA, nmol/L
Solución salina	36.67 ± 4.56 <sup>a</sup>	0.006 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.045 ± 0.006 <sup>a</sup>
LPS	938.10 ± 211.60 <sup>b</sup>	0.412 ± 0.120 <sup>b</sup>	0.070 ± 0.005 <sup>b</sup>
LPS+	388.96 ± 101.44 <sup>c</sup>	0.134 ± 0.020 <sup>c</sup>	0.060 ± 0.003 <sup>c</sup>
SURFACEN <sup>®</sup>			

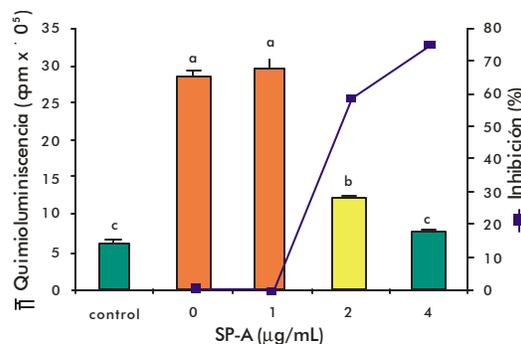


Figura 3. Quimioluminiscencia total (cpm x 10<sup>5</sup>) producida en SURFACEN<sup>®</sup> (3 mg/mL) por el sistema Fe<sup>+++</sup>-ascorbato y el porcentaje de inhibición (—) en función de la concentración de SP-A. Los datos se expresan como la media ± EEM de tres experimentos independientes. Letras diferentes indican diferencias significativas, p < 0.05.

experimentales contribuyen a la comprensión de su mecanismo de acción. Los resultados de este trabajo, tanto las propiedades biofísicas como las antiinflamatorias y antibacterianas, hacen de SURFACEN® una preparación potencialmente útil para el tratamiento de pacientes con SDRA. Su enriquecimiento con SP-A permitirá disponer de una preparación farmacéutica más

eficiente. Todos estos datos son de mucha importancia ya que internacionalmente no se dispone de una terapia definitiva y, por tanto Cuba se ubica entre los pocos países del mundo que posee este tipo de preparación farmacéutica. Esta constituye un reclamo estatal, lo cual servirá, sin duda, como una terapia complementaria, necesaria para estos pacientes.