



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE

PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

TESINA:

“Modelos in vivo de deficiencia de surfactante pulmonar”

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

Presenta:

Brenda Elena Rodríguez Palacios

DIRECTORES

D. C. Luis Guillermo Vázquez de Lara Cisneros

D.C. Mario García Carrasco

Puebla, Pue.

Enero 2022

DIRECTORES DE TESIS



D. C. Luis Guillermo Vázquez de Lara Cisneros

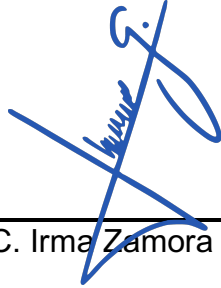


D.C. Mario Garcia Carrasco



MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

REVISORES DE TESIS



D.C. Irma Zamora Ginez



D.C. Maura Cárdenas García



M. Beatriz Tlatelpa Romero

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradezco a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) por haberme aceptado en la facultad de Medicina en la Maestría de Ciencias Médicas e Investigación, ser estudiante del posgrado, me abrió las puertas en el campo científico, permitiéndome desarrollar mi proyecto de investigación para obtener el grado de maestría, de igual manera agradezco a los diferentes docentes que brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día.

Agradezco también a mi asesor de tesis el D. C. Luis Guillermo Vázquez de Lara Cisneros por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimientos científicos, así como también haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo del proyecto de investigación.

Mi agradecimiento también va dirigido para CONACYT por el apoyo en concepto de beca de maestría en el periodo de 2019 – 2021 con el número de CVU: 998158

Por último, agradezco a mis compañeros por la oportunidad de compartir una nueva etapa en mi vida y el apoyo incondicional durante nuestra estancia.

DEDICATORIA

La presente tesina se la dedico con todo mi corazón principalmente a mi madre, Irma Palacios Olmos, ella fue un pilar fundamental en mi formación como profesional, siempre me brindó la confianza, me dio los consejos adecuados, la oportunidad y recursos para lograrlo, después de años de esfuerzo, sacrificios, dedicación y grandes alegrías a su lado, llego el día en que tuvo que partir de esta vida, a pesar de la dificultad sé que ella estará feliz y orgullosa de un logro más, su bendición a lo largo de mi vida me protege y me lleva por el camino del bien, a mi padre Maximo Rodríguez Rodríguez que siempre me ha apoyado en todo momento, él me ha enseñado a amar la ciencia y a mi hermano Carlos Leonel Rodríguez Palacios que ha sido un ejemplo a seguir, su amor incondicional ha sido un impulso en todos los aspectos de mi vida.

Por último, quiero agradecer a las personas cercanas que estuvieron en todo momento a mi lado, fue una situación bastante complicada pero siempre tuve su apoyo incondicional, el cual me motivó a seguir adelante y culminar mi proyecto.

ÍNDICE

DIRECTORES DE TESIS.....	I
REVISORES DE TESIS.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
DEDICATORIA.....	IV
ÍNDICE.....	V
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VIII
CAPITULO 1.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
SURFACTANTE PULMONAR.....	2
HISTORIA DEL DESCUBRIMIENTO DEL SURFACTANTE PULMONAR.....	2
COMPONENTES DEL SURFACTANTE PULMONAR.....	3
BIOSÍNTESIS DEL SURFACTANTE PULMONAR.....	4
PROTEÍNAS DEL SURFACTANTE PULMONAR.....	4
FOSFOLÍPIDOS DEL SURFACTANTE PULMONAR.....	6
ENSAMBLAJE DE LOS CUERPOS LAMELARES.....	7
EL METABOLISMO DEL SURFACTANTE PULMONAR.....	8
PROPIEDADES BIOFÍSICAS.....	8
TENSIÓN SUPERFICIAL EN LOS ALVÉOLOS PULMONARES.....	9
EL SURFACTANTE PULMONAR COMO AGENTE TERAPÉUTICO.....	10
TIPOS DE SURFACTANTE PULMONAR.....	11
ANIMALES DE LABORATORIO CON DEFICIENCIA DE SURFACTANTE PULMONAR.....	13

MODELO DE CORDERO	13
MODELO DE CERDO.....	16
MODELO DE CONEJO.....	20
MODELO DE BABUINOS	22
MODELO DE RATA.....	24
MODELO DE COBAYO	27
COMENTARIOS	32
METODOLOGÍA PARA LA BUSQUEDA DE ARTICULOS.....	33
METODOLOGÍA PARA EL OBJETIVO ESPECÍFICO 1	33
METODOLOGÍA PARA EL OBJETIVO ESPECÍFICO 2	36
METODOLOGÍA PARA EL OBJETIVO ESPECÍFICO 3	36
CAPÍTULO 2.....	37
OBJETIVOS	37
OBJETIVO GENERAL.....	37
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
UBICACIÓN ESPACIO - TIEMPO	37
CRITERIOS DE SELECCIÓN:	37
CRITERIOS DE INCLUSION:	38
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:	38
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:	38
CAPITULO 3.....	38
CONCLUSIÓN.....	38

LIMITACIONES	39
FORTALEZAS.....	39
PERSPECTIVAS A FUTURO	39
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	40
<i>ANEXOS.....</i>	51
<i>INFRAESTRUCTURA FÍSICA Y HUMANA.....</i>	51
LOGÍSTICA	51
RECURSOS HUMANOS	51
RECURSOS MATERIALES.....	51
RECURSOS FINANCIEROS	51

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
ARN	Ácido ribonucleico
BAL	Lavado broncoalveolar
CATII	Células pulmonares alveolares tipo II
CCT	Enzima colinfosfato – citidiltrasferasa
CETII	Células epiteliales tipo II
CL	Cuerpos lamelares
EMH	Enfermedad de Membrana Hialina
FL	Fosfolípidos
nCPAP	Ventilación presión aérea positiva continua nasal
NIPPV	Ventilación de la presión positiva intermitente
PEEP	Presión positiva al final de la espiración
PG	Fosfatidilglicerol
SP	Surfactante Pulmonar
SP-A	Proteína surfactante A
SP-B	Proteína surfactante B
SP-C	Proteína surfactante C
SP-D	Proteína surfactante D

CAPITULO 1

Introducción

El surfactante pulmonar (SP) es una sustancia compuesta de lípidos y proteínas, que reduce la tensión superficial para evitar el colapso alveolar y ayudar durante la respiración en el intercambio de gases de O₂ y CO₂. En este trabajo de investigación se describirá los aspectos más relevantes del SP que abarca desde su historia, composición, síntesis, biosíntesis de lípidos y proteínas, así como su metabolismo.

El SP es vital al inicio de la respiración durante el nacimiento, su deficiencia conlleva a patologías como el síndrome de distrés respiratorio (SDR), también conocido como la enfermedad de membrana hialina (EMH) y el síndrome de respiración aguda (SRA). En la actualidad la administración exógena de SP como medida terapéutica en humanos está bien establecida en el campo de la neonatología. Desde ya casi un siglo el SP ha sido estudiado por sus propiedades terapéuticas y además por ser la sustancia vital para la respiración. Por tal motivo se ha buscado la manera de determinar su efecto y su función en modelos animales desde la etapa prematura hasta los pocos días de nacido. Algunas especies de mamíferos son cercanamente parecidos en genética a los humanos como el cerdo y cordero que son especies medianas y permiten extrapolar los resultados obtenidos de ellos a los estudios clínicos. Otras especies como los conejos y ratas que son variedades de menor tamaño nos permiten tener resultados más inmediatos por su periodo de desarrollo. En este trabajo de investigación se describirá a detalle los aspectos más importantes del modelo como son: las características generales de la especie, el manejo durante el procedimiento, el número de lavados pulmonares y la cantidad de solución salina usada para el lavado, así como de la recolección de muestras y procesamiento, en mayor medida se describirá detalles de los objetivos del estudio y los hallazgos. Por lo tanto, en este estudio se describirán los modelos *in vivo* de deficiencia de SP.

Surfactante Pulmonar

El surfactante pulmonar (SP) está compuesto de fosfolípidos y proteínas, es básico para la función respiratoria, secretado y almacenado por las células alveolares tipo II (CATII) (1), su deficiencia ocasiona diversas patologías como: enfermedad de membrana hialina (EMH) en neonatos (2). El SP exógeno como terapia, ha obtenido resultados favorables ya que la principal función del SP es disminuir la tensión superficial de los alvéolos facilitando la respiración pulmonar (3).

Debido al potencial terapéutico del SP se sigue investigando sus efectos terapéuticos en el ramo de la farmacéutica. Por lo tanto, los investigadores buscan exhaustivamente el mejor modelo animal para simular la deficiencia del SP y personalizar tratamientos con SP exógeno (4).

Historia del descubrimiento del surfactante pulmonar

En 1929 el fisiólogo Kurt von Neegaard (5), realizó experimentos con pulmones de cerdo y observó que se requiere una tensión superficial baja para una adecuada mecánica pulmonar (6). Después, el patólogo Peter Gruen repitió los experimentos en 1947 con pulmones de bebés que nacían muertos, demostrando que las sustancias activas del SP reducen la tensión superficial durante la respiración (7). Años después se denominó a la deficiencia de SP en recién nacidos prematuros como EMH causada por la inmadurez pulmonar en los prematuros, esto fue descubierto por Mary Ellen Avery en 1955 (8).

Años posteriores el tercer hijo del presidente John F. Kennedy en 1963 nació prematuro a las 34 semanas de gestación, desafortunadamente falleció porque desarrollo insuficiencia respiratoria que se derivó a un diagnóstico con EMH. En aquella época la EMH afectaba a 25,000 bebés norteamericanos cada año, de los cuales más de la mitad morían y el resto sobrevivía con secuelas. A pesar de lo ocurrido al presidente Kennedy, apoyó económicamente a la investigación para

desarrollar la terapéutica para los niños que nacían con EMH, de esta manera se aceleró la investigación en el campo de la neonatología con deficiencia de SP (9).

En 1972 en Estocolmo, Goran Enhorning y Bengt Robertson aislaron SP de recién nacidos muertos y lo aplicaron a conejos prematuros de manera intratraqueal, los resultados mostraron que aumentaba la supervivencia de los conejos (9).

Dada la importancia que en aquella época se venía documentando del SP se necesitaban métodos de extracción accesible y no solo eso sino también realizar las pruebas necesarias de tensión superficial y probarlo en niños prematuros.

En años posteriores se han inventado nuevas técnicas de aislamiento para extraer SP de origen porcino y bovino. En 1980 el japonés Fujiwara uso pulmones de bovino para extraer el SP, el contenido extraído era rico en proteínas y lípidos, alto en dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) además, Fujiwara probó el SP extraído en niños prematuros con EMH (9).

Partiendo de estas evidencias la investigación se amplió y en 1988 iniciando en Japón y Norteamérica en 1990, el primer SP para uso en humanos fue aprobado por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos) (1). En México Vázquez de Lara y colaboradores en 1998, lograron aislar una sustancia tensioactiva pulmonar de porcino para su futuro uso en humanos, la cual se sometió a un análisis químico, asegurando la composición del SP, su efectividad fue probada *in vivo* en un modelo animal, dando resultados muy prometedores como terapéutica para bebés prematuros con EMH (10).

Desde 1929, se han hecho múltiples estudios con la finalidad de tener mayor eficacia en el uso de SP exógeno como terapia para niños prematuros con EMH.

Componentes del Surfactante Pulmonar

El surfactante pulmonar es una mezcla de fosfolípidos (FL) y proteínas, éstos se encuentran en un 90% de los componentes (11). Las proteínas se presentan en un 12 - 8 % variando entre especies de mamíferos (12). Existen cuatro proteínas

específicas del SP: la proteína del surfactante A (SP-A), la proteína del surfactante B (SP-B), la proteína del surfactante C (SP-C) y la proteína del surfactante D (SP-D) (1). Estas proteínas a su vez se clasifican en SP-A y SP-D que son hidrófilas y la SP-B y SP-C que son hidrofóbicas además de ser esenciales para la actividad biofísica de SP (1).

Biosíntesis del surfactante pulmonar

El alvéolo pulmonar, está constituido por células epiteliales tipo I y II, que tienen una interacción alveolar con macrófagos (3). Los neumocitos tipo II también llamados células epiteliales alveolares tipo II (CETII) son los encargados de sintetizar el SP, para ser almacenado en el citoplasma en forma de cuerpo laminar antes de su liberación en el espacio alveolar (13), parte del tensioactivo es reciclado al ejercer su función en la multicapa interfacial. Las CETII son las encargadas de reabsorber y reciclar los componentes del SP (11).

Proteínas del surfactante pulmonar

La proteína SP-A es la más abundante en el SP, es una glicoproteína multimérica, pertenece a la familia de las colectinas de tipo C, que contiene dominios de reconocimiento de carbohidratos de tipo colágeno y dependientes de calcio (14). Su peso molecular es de 26 a 38 kDa. En humanos es codificada por dos genes (SFTPA1 y SFTPA2) del brazo largo (brazo q) del cromosoma 10 (10q22.3). En el lumen del retículo endoplásmico sufre una glicosilación para finalmente ser ensamblada como multímero, partiendo hacia el Golgi hasta que está correctamente oligomerizada (15). Su papel en el ensamblaje y mantenimiento de la monocapa alveolar es esencial ya que controla la captación del SP por las CETII, también inhibe la secreción de PC, facilitando la captación de FL (16).

La proteína SP-D esta codificada por un gen (SFTPD) que se encuentra en el cromosoma 10 (10q22.3), su procesamiento es similar a la SP-A, pertenece a la

familia de las colectinas de tipo C, dando lugar a una proteína madura, con un peso molecular de 43 kDa (17). Su principal función es participar en el sistema de defensa pulmonar, se encuentra en la primera línea de defensa contra una amplia variedad de patógenos potenciales: virus, bacterias y hongos, regulando la actividad de los macrófagos alveolares (18).

La proteína tensioactiva hidrófoba SP- B. Esta codificada por el gen SFTPB localizada en el cromosoma 2 (2p11.2) (19). Tiene un peso molecular de 7 a 8 kDa, está formada por un péptido señal de 20 a 23 aminoácidos y 3 dominios tipo saposina, se secreta independiente de los CL, desde el retículo la SP-B es transportada al aparato de Golgi para que su procesamiento proteolítico tenga lugar en los cuerpos multivesiculares, con ayuda de las enzimas napsina A, catepsina H y pepsinógeno C (12). Su principal función es promover la adsorción de los FL desde la hipofase acuosa a la interfase aire-líquido en el interior del alvéolo, para así asegurar el empaquetamiento adecuado de las proteínas del SP recién sintetizadas, promueve la formación de la película tensioactiva en la interfaz alveolar aire-líquido, manteniendo su estructura adecuada a lo largo de la dinámica respiratoria, y por último es la encargada de activar la vía de señalización purinérgica que desencadena la exocitosis de los cuerpos lamelares (CL) (12).

La proteína SP-C es una proteína de membrana integral. Se codifica con el gen SFTPC se localiza en el cromosoma 8 (8p21.3) (20). Tiene una masa molecular de 21 kDa. Esta proteína se dispone de una manera transmembranal en el retículo endoplásmico. Esta proteína está formada por un propéptido N-terminal de 23 aminoácidos, el péptido maduro de 35 y un propéptido C. terminal de 139 aminoácidos, después de sufrir palmitoilación en las cisteínas 5 y 6, se generan diversos péptidos hasta liberar la proteína madura, el procesamiento proteolítico tiene lugar en los cuerpos multivesiculares con la ayuda de la capticina H (21). Su principal función es la participación en la adsorción de los FL a la interfase y en aumentar la resistencia a la inhibición del SP frente a proteínas plasmáticas (22)

Las proteínas pulmonares se sintetizan como propéptidos para luego ser almacenadas en los CL y después se transporta por medio de exocitosis a la capa líquida del alvéolo, formando parte de la estructura que lleva como nombre “mielina tubular”, principal componente de la monocapa, permitiendo a los grupos acilo grasos hidrofóbicos de los FL dirigirse hacia el aire alveolar mientras que la parte hidrofílica se dirige hacia el agua (23)

Las proteínas del SP tiene una importante función para que se lleve a cabo la correcta función respiratoria. Algunas de estas proteínas son vitales para la vida; sin embargo, si alguna proteína presentara alguna mutación considerable se daría el caso de desarrollar una patología ya sea durante el desarrollo o durante la etapa adulta.

Fosfolípidos del surfactante pulmonar

El SP está compuesto de un 90% de lípidos de los cuales la mayoría son FL. Es importante señalar que la síntesis de los lípidos del SP es la misma para sintetizar el resto de los lípidos que necesita la célula para formar la membrana mitocondrial, la membrana citoplasmática y el resto de las membranas de los organelos (24).

Los FL son un tipo de lípidos anfipáticos compuestos por una molécula de glicerol, a la que se le unen dos ácidos grasos (1- 2 diacilglicerol) y un grupo fosfato. El fosfato regularmente se une mediante un enlace fosfodiéster a un grupo de átomos que contienen nitrógeno, como colina, serina o etanolamina (25).

El punto de partida para sintetizar los FL es el ácido fosfatídico, su vía sintetiza fosfatidilglicerol (PG). La síntesis de los lípidos del SP inicia en el retículo endoplasmático. Los FL son transportados mediante distintas vías como: a) la del transporte vesicular, b) el transporte no vesicular y c) la difusión directa entre el retículo endoplásmico y los CL (24)

Las enzimas necesarias para la síntesis de FL se encuentran en las microsomas y en el citosol de los CETII. Hay dos mecanismos para la síntesis de dipalmitoilfosfatidilcolina a) la síntesis *de novo* por medio de diacilgliceroles saturados y b) la deacilación y reacilación de fosfatidilcolina 1-saturada – 2 – insaturada, involucrando a la fosfolipasa A2 y a las aciltransferasas (25).

La enzima colinafosfato – citidiltransferasa (CCT), está regulada por procesos de fosforilación – desfosforilación dependientes de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) y por mecanismos propios de proteína quinasa C, estas sustancias aumentan y estimulan la secreción de CL, sintetizándose en las mitocondrias (26).

La síntesis de fosfatidilcolina (PC) se lleva a cabo por medio de dos vías diferentes: la ruta de Kennedy o de la transcolinación y la ruta de Bremen o de la transmetilación (27).

La síntesis de la lecitina puede ser por dos mecanismos la vía de la fosfocolintransferasa; la cual utiliza ATP para fosforilar la colina, el segundo mecanismo es la vía de la transferasa de metilo (28)

La síntesis de lípidos y en especial de FL del SP requiere de diversas enzimas y precursores para su ensamblaje.

Ensamblaje de los cuerpos lamelares

Los componentes del SP son empaquetados en los CL hasta su secreción a la fase aire-líquido (23). Los CL son estructuras subcelulares, en las CETII en promedio contiene 30-150 CL, son las estructuras especializadas para almacenar y empaquetar el SP (29). Para una correcta biogénesis de los CL es necesaria la existencia de la proteína SP-B, de manera que a su deficiencia propicia acumulación de cuerpos multivesiculares precursores de los CL. Para el transporte de lípidos a través de la membrana a los CL es indispensable la presencia del casete de unión a A3 (ABCA3) (Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas., 1982). La falta de ABCA3 tiene como consecuencia la deficiencia de SP en recién nacidos (14).

La secreción del SP ocurre por exocitosis de los CL, iniciando por la fusión de membranas, interviniendo el calcio para el acoplamiento entre el estímulo y la secreción, y en el mecanismo de exocitosis de los CL, también hay una recuperación de las proteínas de la membrana hacia el interior de las CETII, para llevar a cabo el reciclaje de los componentes del SP es de suma importancia el transporte vesicular que se lleva a cabo por medio de la ruta endocítica, iniciando en los espacios alveolares dirigiéndose a los CL, confluyendo así el reciclaje con la ruta biosintética (6).

El SP tiene un ciclo complejo en que se lleva a cabo simultáneamente la secreción, su extensión en el espacio alveolar y el reciclaje de sus componentes y para esto se requiere de proteínas de transporte, enzimas y organelos especializados.

El metabolismo del surfactante pulmonar

Las CETII están altamente especializadas para la síntesis y almacenamiento del SP (30). En los CL intracelulares los FL destinados a la secreción del SP son secretados al espacio aire-líquido del alvéolo. En el espacio aéreo el SP es desempaquetado para llevar a cabo su función tensioactiva, después de que el SP haya cumplido su función es reabsorbido en la interfase aire-líquido por las CETII; sin embargo, no todos sus componentes son reciclados, los detritos celulares son fagocitados por los macrófagos (31). Los componentes reabsorbidos por las CETII que son vueltos aprovechar son desensamblados e incorporados a los CL (12).

Propiedades biofísicas

La principal función del SP es disminuir la tensión superficial del alvéolo (3). Además, se le atribuye el aumento de la distensibilidad pulmonar (11), estabilización del alvéolo (19), prevención de colapso alveolar, facilita la expansión de la inspiración (32), favorece la ventilación/perfusión (3), mantiene la superficie alveolar

sin líquido (Kresch et al., 1996.), modula algunos mediadores de respuesta inflamatoria (11) y mejora el transporte mucociliar (21), facilitando la remoción de partículas fuera del alvéolo durante la espiración (32). Sus propiedades son explicadas y atribuidas por medio de la biofísica, entendiendo que la tensión superficial de un líquido es la energía necesaria para disminuir su superficie por unidad de área (19). De esta manera impide el colapso de los alvéolos durante la espiración. Esto se expresa por medio de la ley de la Laplace para una superficie esférica:

$$P = \frac{2\gamma}{r}$$

Donde γ representa la tensión superficial. Por medio de esta ecuación podemos entender la dinámica de los movimientos respiratorios; durante la inspiración el radio del alvéolo aumenta y con ello disminuye la presión (34). Por lo tanto, en cada ciclo existe una mayor presión intraalveolar antes de llevarse a cabo la inspiración, así como también para los alvéolos más pequeños (21). Gracias a las propiedades del SP esta presión se reduce y se evita el colapso alveolar (34).

Tensión superficial en los alvéolos pulmonares

La tensión superficial hace referencia a la fuerza cohesiva de las moléculas existentes en la superficie de una película de todos los líquidos la cual tiende a contraer la superficie (11), es decir, la tendencia de una burbuja a colapsar es una función inversa de su radio, por consecuencia, cuanto menor es la burbuja, mayor es la presión que soportan sus paredes (Mederos & Velasco, 2018). Por ejemplo, si dos burbujas están conectadas la más pequeña colapsaría vaciándose dentro de la más grande. Por lo tanto, podría esperarse que los alvéolos, que son como burbujas y tienen un radio muy pequeño, exhiban una gran tendencia intrínseca a colapsar. Esta tendencia disminuye debido a la presencia de paredes internas con una sola capa de SP demostrando notablemente que la tensión superficial de los alvéolos se

reduce bastante cuando el tamaño del alvéolo disminuye, esta reducción de la tensión superficial evita el colapso de los alvéolos pequeños cuando se vacían hacia otros de mayor tamaño (12)

El surfactante pulmonar como agente terapéutico

La administración exógena de SP como medida terapéutica en humanos está bien establecida en la enfermedad de membrana hialina; desafortunadamente, su utilidad en otras patologías no está suficientemente demostrada (32). En recién nacidos prematuros, la administración de surfactante es utilizada con éxito (Chattás, 2011), ya que se ha demostrado científicamente, que el tratamiento con tensioactivos mejora la condición respiratoria (37) disminuyendo la mortalidad en neonatos.

En México al año nacen aproximadamente de 145 -150 mil recién nacidos pretérmino, registrando una incidencia de prematuros de 19.7%, lo que se relaciona con un 38.4% de muertes neonatales, posicionando a la patología como la primera causa de mortalidad perinatal en nuestro país. La OMS reportó que en 2019 murieron en el mundo 2.4 millones de niños en su primer mes de vida por el desarrollo del síndrome de distrés respiratorio (SDR) (29).

Los tensioactivos están disponibles en el mercado con distintas composiciones y clasificaciones (Jiménez, 2009). Son derivados de animales y tienen diferencias bioquímicas, lo cual puede influir en los resultados clínicos (Hamm et al., 1996). La edad gestacional se asocia significativamente con el tamaño del efecto que puede causar el SP como agente terapéutico (1).

Se realizó un estudio donde se comparó el efecto de un tensioactivo comercial derivado de pulmones de cerdo, poractant-alfa y el tensioactivo derivado de pulmones de bovinos, Beractante; los hallazgos muestran una tendencia a la reducción de la mortalidad y una incidencia significativamente reducida en la hemorragia pulmonar y la necesidad de un retratamiento en neonatos tratados con poractant-alfa a 200 mg/kg en comparación con el SP bovino, se demostró el efecto

en la EMH. Lo que se concluyó en este estudio fue que es necesario el tratamiento inmediato de SP, ya que su deficiencia predisponía a desarrollar complicaciones. Recién nacidos tratados con Poractant–alfa parecen tener mejores resultados respiratorios a corto plazo, menor incidencias de fugas de aire y hemorragia pulmonar (38), es importante hacer mención que Poractant-alfa es de origen porcino. Los investigadores concluyeron que Poractant – alfa puede estar relacionado con dos factores de suma importancia 1) los FL que lo caracterizan, 2) el contenido de proteína hidrofóbica (38).

Tipos de surfactante pulmonar

Existen dos tipos de SP el natural y el sintético que son administrados de manera exógena (37)

El SP natural es obtenido de pulmones de bovino, de cerdo y de ovino (39) que son obtenidos por medio de lavados pulmonares o extractos de pulmón picado (Jiménez, 2009). En los extractos de pulmones picados contienen menos de 10% de la proteína SP-B en comparación al SP extraído por medio de lavado pulmonar (40).

Todos los SP naturales en su composición tienen SP-C y SP-B, pero carecen de SP-A (Jiménez, 2009), debido a la manera en cómo son extraídos ya que se usan solventes orgánicos para la extracción de la mayoría de los componentes del SP que son lípidos (41).

Los SP sintéticos están compuestos por una mezcla de FL tensioactivos que contienen un 85 % de DPPC, 9% de hexadecanol para darle la consistencia espesa (11) y 6% de tiloxapol que se agrega para que la mezcla tenga la capacidad de reducir la tensión superficial (40). La composición de los distintos surfactantes pulmonares disponibles en el mercado se encuentra en el cuadro no. 1 (38)

Tabla 1. Tipos de surfactantes pulmonares aprobados por la Food and Drug Administration (FDA)

	Nombre	Método de preparación	Total PL (mg/mL)	Fosfolípidos °	SP-B] (mg/mL)	SP-C] (mg/mL)	Dosis (mg/mL)	Volumen (mL/kg)
Bovino	Beractante (Survanta®)	Lavados pulmonares†	25	DPPC (70%) y PS (4%)	0.03	0.3	100	4
	BLES (Neosurf® or Liposurf®)		27	DPPC (42%) y PG (11%)	0.17	0.49	135	5
	Bovactant (Alveofact®)	Lavados pulmonares	45	DPPC (39%) y PG (8.5%)	0.3	0.7	50	1.2
	Calfactant (Infasurf®)	Lavados pulmonares	35	DPPC (41%) y PG (6%)	0.26	0.36	105	3
	Surfactante pulmonar (Kelisu®) \$	Lavados pulmonares	30	DPPC 48%	0.2	0.25	100	3.3
	Surfactante coreano bovino (Newfactan®)	Pulmón picado	25	DPPC (60%) y PG (6%)	-	-	120	4.8
	Surfactante TA (Surfacten®)	Pulmón picado enriquecido	25	DPPC (65%)	n.a.	n.a.	120	4.8
Porcino	Butantan	Pulmón picado	25	DPPC (76%) y PE (7%)	.	-	100	4
	Poractant-a (Curosurf®)	Pulmón picado modificado	80	DPPC (46%) y PE (6%)	0.45	0.9	100 or 200	1.25 or 2.5
	Surfacen	Lavados pulmonares	25	DPPC (45%) y PI (12%)	-	-	100	4

Pie de tabla 1. Esta información fue obtenida del (38)

ANIMALES DE LABORATORIO CON DEFICIENCIA DE SURFACTANTE PULMONAR

El SP es un componente vital para la función respiratoria desde las primeras etapas de la vida, ya que disminuye la tensión superficial, disminuye el trabajo respiratorio y su presencia constituye un estado de salud favorable. Su deficiencia causa el desarrollo de la enfermedad del SDR. Previamente se ha analizado que el tratamiento oportuno genera un mejor pronóstico en prematuros que nacen con la deficiencia del SP, para seguir realizando investigaciones terapéuticas se utilizan modelos animales que simulen la deficiencia del SP. Los modelos animales de laboratorio incluyen una variedad de especies de mamíferos: ratas, conejos, cobayos, babuinos, cerdos y corderos. Los modelos de animales se clasifican: como modelos de animales prematuros de deficiencia de SP y animales adultos a los cuales se les realiza lavados pulmonares para provocarles la deficiencia de SP. En esta revisión se describirán las características, posibles aplicaciones, resaltando sus ventajas y desventajas.

MODELO DE CORDERO

El cordero es un mamífero rumiante de la familia Bovidae de la especie *Ovis orientalis* que se caracteriza por poseer cuernos curvos del género *Ovis* (Martínez, 2018). Los corderos prematuros y a término desarrollan síntomas clínicos como los humanos, el modelo de cordero es útil para estudiar enfermedades respiratorias, ya que los corderos tienen una estructura pulmonar similar que incluye ramificaciones de las vías respiratorias, células exocrinas bronquiales, CETII, glándulas submucosas y sistema oxidativo Duox/lactoperoxidasa (LPO) y alveologénesis prenatal (43). Los corderos prematuros como a término desarrollan síntomas clínicos como los humanos: fiebre, taquipnea y malestar, así como lesiones macroscópicas e histológicas de leves a moderadas que incluyen bronquiolitis con lesión epitelial, infiltración de neutrófilos y formación de células sinciciales (44).

Los corderos pueden nacer prematuros con un 90% de gestación y sobrevivir para la experimentación (43). El tiempo de gestación normal de los corderos es de

5 meses y se considera corderos prematuros a los 4 meses, estos corderos prematuros nacen con una deficiencia considerable de SP (Kresch et al., 1996). Algunos estudios reportan haber realizado el procedimiento de recepción del cordero prematuro a los 105 días de gestación lo que equivaldría a 3.5 meses (45). Sin embargo, hay estudios en los que se utilizan corderos con más días de gestación, pero a nivel intrauterino.

Para la obtención de corderos prematuros en laboratorio se realizó un monitoreo constante del producto, además de las semanas de gestación para determinar el tiempo de prematurez. Las corderas preñadas son anestesiadas para la recepción del producto, similar a un procedimiento de cesárea (46). Es importante hacer mención que se debe aspirar el líquido amniótico antes de exponer la cabeza fetal, que se exterioriza a través de una incisión en la línea media en el abdomen de la cordera (47). Por lo tanto, en esta etapa será posible realizar las maniobras experimentales requeridas por el investigador, ya que este modelo es bueno y con alta demanda para el estudio de la fisiopatología respiratoria y para estudios de virología por ejemplo para estudios con el virus sincicial respiratorio (48).

En un estudio realizado por Beth J Allison en el 2008 se investigaron las causas de la lesión pulmonar inducida por la ventilación, en este modelo animal se utilizó la ventilación *in útero* en corderos premiadas con 110 días de gestación. Los corderos *in útero* fueron sometidos a ventilación mecánica por 5 días y además fueron conectados a un catéter en la carótida para la toma de muestras. La ventilación *in útero* ofreció un método para desarrollar lesión pulmonar inducida por la ventilación. En este modelo se hizo hincapié que los pulmones muy inmaduros y la ventilación contribuyen a desarrollar patologías pulmonares (49). En un modelo reportado por Bjorklund y colaboradores en el 2001, se obtuvieron corderos de 127 días después de la concepción por medio de cesárea para probar el efecto del reclutamiento pulmonar en el nacimiento en la respuesta repetida de la instilación de SP. En este estudio se evaluaron 10 corderos, cuatro fueron controles, dos recibieron SP *in útero* y dos más se les dio el SP inmediatamente después de la primera respiración. Después de dichas maniobras los corderos fueron mantenidos

con ventilación mecánica por cuatro horas. En este estudio se evaluaron los gases sanguíneos, la mecánica pulmonar *in vivo* y el estudio *post mortem*. Los hallazgos concluyen que el reclutamiento pulmonar al nacer no mejora la respuesta al SP en cordero inmaduros, pero puede tener un efecto adverso sobre la función y morfología pulmonar (50)

En un modelo de cordero con 3±4 días de nacido se les evaluó el impacto de la ventilación líquida total sobre la función diastólica del ventrículo izquierdo en un modelo de dificultad respiratoria neonatal. La deficiencia de SP fue inducida mediante lavados pulmonares repetidos con solución salina 0.9% usando 10 ml/kg por cada lavado, aproximadamente se les realizaron 10 lavados con intervalos de 5 minutos entre cada lavado, antes de este procedimiento los corderos fueron intubados, anestesiados y paralizados. En este estudio se concluyó que la ventilación líquida total fue bien tolerada en el modelo de cordero neonatal de SDR grave y tuvo un impacto limitado en la función diastólica del ventrículo izquierdo en comparación con la ventilación mecánica convencional (51)

En un estudio realizado por Torsten R. y colaboradores se utilizaron 7 corderos adultos de peso corporal de 22,4 - 27.3 kg. Los animales fueron anestesiados, paralizados con un volumen de ventilación mecánica de 8 ml/kg, 1:2, fracción de oxígeno inspirado y una presión positiva al final de la espiración de 5 cm H₂O. se colocó una vía arterial y un catéter de Swan – Ganz,. Después de la recopilación de los datos fisiológicos el pulmón fue sometido a lavados con solución salina al 0.9%, mediante instilación. Los investigadores concluyeron que efectivamente la posición del animal modifica el intercambio de gases, mostrando una mejoría en posición prona (52).

La desventaja del modelo de cordero prematuro se debe a que se necesita un personal altamente especializado y capacitado en el manejo de animales de tamaño medio, además, se requiere de una infraestructura para su montaje y manejo (47).

Se considera el modelo de cordero prematuro apto para realizar experimentaciones a nivel pulmonar, ya que este modelo ofrece una alta similitud con la fisiología pulmonar humana, además, de tener una sintomatología similar a la de los humanos, por tal motivo su uso es indispensable en la investigación respiratoria. Este tipo de modelos puede ser elegido según el día de gestación y de esto dependerá el objetivo de la investigación y también la etapa de desarrollo pulmonar en la que se encuentre el cordero.

MODELO DE CERDO

El lechón o cerdo neonatal es la cría porcina, es un mamífero de la familia: Suidae y de la especie: *Sus scrofa* doméstico. El lechón se caracteriza por un cuerpo redondeado, hocico largo y patas cortas con pezuñas (Alarcón et al., 2005). En comparación con otras especies domesticadas, el cerdo se reproduce rápido, generalmente tiene grandes tamaños de camada (12-16 crías) (54), su periodo de gestación es de 40-60 días (55) y son fáciles de alimentar, estas características de los cerdos tiene un alto valor económico a nivel global para la ganadería y la industria alimentaria (56). Los cerdos y humanos son muy similares en varios aspectos en su anatomía, bioquímica, fisiología y patología (57). El modelo de cerdo neonatal es similar en filogenia y ontogenia al desarrollo fetal del humano durante las semanas 36-38 (58). Los cerdos son un excelente modelo para entender varias enfermedades en humanos como la obesidad, la salud reproductiva, la diabetes, el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y enfermedades infecciosas (59). Gracias a la similitud que tiene el cerdo con el humano se pueden realizar estudios en distintos sistemas como el urinario, cardiovascular, digestivo y pulmonar (60).

A continuación se explicará el modelo de cerdo neonatal con deficiencia de SP. El modelo de cerdo neonatal con un tamaño de cría de 2 kg permite una monitorización de diferentes variables fisiológicas tanto de forma invasiva como no invasiva (61). Existen una variedad de estudios que han utilizado el cerdo neonatal para determinar la respuesta a fármacos en la terapéutica pulmonar. En un estudio realizado para determinar la respuesta de las dosis de SP nebulizado combinada

con la ventilación presión aérea positiva continua nasal (nCPAP) y la respiración espontánea en un modelo de cerdo neonatal. Este trabajo de investigación se realizó de acuerdo con las normas de protección de animales de experimentación de España y Europa (UE2010/63, RD53/2013). En este estudio se describió la maniobra experimental para provocarles una lesión pulmonar a los lechones recién nacidos con lavados pulmonares y después darles tratamiento con distintas dosis de SP. Se describió que los lechones de 2-4 días después de nacidos fueron sedados con ketamina, diazepam y atropina, y además fueron anestesiados con sevoflurane, esto debido a la naturaleza de la especie y al tiempo de experimentación de 180 minutos. La deficiencia del SP fue realizada por medio de lavados pulmonares con solución salina al (0.9%) (30 ml/kg, a 37°C) con 10 repeticiones cada 5 minutos hasta obtener una $P_{aO_2} < 100$ mm Hg, para mantener este modelo los lechones, se estabilizan después de 30 minutos con una dosis de 20 mg/kg de citrato de cafeína para mantener respiraciones espontáneas (62). Después de los lavados la presión final espiratoria positiva fue incrementada a 5 cm H₂O, y la presión positiva inspiratoria y la frecuencia respiratoria fueron ajustadas a un máximo de 25 cm H₂O y a 45 latidos por minuto (63). Este experimento brinda datos importantes para la implementación del manejo de este modelo y la toma de muestras y datos para experimentos futuros, además, es útil para realizar la recolección de lavados broncopulmonares y realizar estudios que analicen los fosfolípidos del SP y para evaluar la dinámica de la tensión superficial. También se pueden realizar estudios para valorar distintos modos ventilatorios como por ejemplo con presión aérea positiva continua nasal (nCPAP) y con la ventilación de la presión positiva intermitente (NIPPV) entre otros modos respiratorios, para valorar el impacto que tiene estos modos ventilatorios en un modelo de deficiencia de SP en lechones recién nacido a los cuales se les utiliza como modelo para desarrollar el síndrome de distrés respiratorio. También, este modelo puede ser utilizado para evaluar distintas dosis de SP nebulizado en los lechones a los cuales se les ha realizado lavados pulmonares, realizar valoración de la dinámica respiratoria y análisis histopatológico.

En otro estudio realizado por Ulrich Merz en el 2001, se reportó que utilizó el modelo de cerdo neonatal, a los animales les causó deficiencia de SP. El objetivo del estudio fue comparar la eficacia de una sola y múltiples aplicaciones continuas de perfluorocarbono FC-77 durante la respiración. Este estudio se realizó con 21 cerdos neonatales con un peso promedio de 1.94 kg. Los cerdos neonatales fueron anestesiados con halotano inhalado. Después se les insertó un catéter en la vena auricular para la toma de muestras sanguíneas, además, se les aplicó Ketamina (2 mg/kg) y midazolam (0.2 mg/kg) para su intubación endotraqueal. Los cerdos neonatales fueron mantenidos en ventilación a 6 L/min, una vez estabilizados se les realizaron los ciclos de 30 lavados pulmonares con 1800 mL de solución salina para provocarles la deficiencia de SP. Después de los lavados se procedió a darles el tratamiento con perfluorocarbono. En este estudio se concluyó que la deficiencia de SP, la dosis única o múltiples aplicaciones de perfluorocarbono mejoran la oxigenación transitoria (64).

En otro estudio realizado por Atle Moen en 1997 en cerdos prematuros con deficiencia de SP provocada por lavados pulmonares. El objetivo del estudio fue investigar si la instilación de SP puede afectar la hemodinamia del sistema pulmonar. En este estudio se utilizaron cerdos de 3-5 días de nacidos a los cuales se les realizaron lavados pulmonares con solución salina al 0.9% con un volumen de 20 mL/kg a una temperatura de 38°C. Los lavados fueron repetitivos hasta mantener una PaO₂ <10.0 kPa con una PaCO₂ >4.0 kPa, antes de este procedimiento fueron anestesiados con pentobarbital 20 mg/kg, petidina 2.5 mg/kg y durante el procedimiento se aplicó continuamente la infusión de pentobarbital (6 mg/kg/h), para la toma de muestras se utilizó un catéter de polietileno de 0.58 mm colocado en la arteria femoral izquierda. Este trabajo concluyó que el SPP causa una disminución en la resistencia vascular sistémica, lo que resulta en una disminución de la presión arterial media en lechones recién nacidos a los cuales se les realizó la deficiencia de SP con lavados, esto no se observó en los lechones a los cuales se les instiló solución salina (65).

Una desventaja es que requiere demasiado tiempo para llevar a cabo los procedimientos, además de entrenamiento previo para el manejo del animal, ya que en algunas ocasiones llegan a mostrarse agresivos por el estrés generado. Este modelo requiere cuidado durante la anestesia, pues son receptivos al dolor durante los procedimientos experimentales (66).

En un modelo experimental de lesión pulmonar realizado por Joao Batista Borges se utilizaron 11 lechones de 2 – 3 meses de edad con un peso de 30.7 – 32.2 kg para medir los efectos en tiempo real de la presión positiva al final de la espiración (PEEP) y el volumen corriente con ventilación regional y ventilación. En este experimento al igual que los anteriores para provocarles la lesión pulmonar de deficiencia de SP se les realizaron lavados pulmonares repetitivos. Para realizar la maniobra los cerdos fueron colocados en posición decúbito supino bajo anestesia general con xilazina intramuscular 2 mg/kg, ketamina 20 mg/kg y midazolam 0,5 mg/kg. con modo de ventilación mecánica proporcionada a través de traqueotomía. La oreja de los lechones fue canulada con ketamina intravenosa 32 mg/ kg/ h, fentanilo 4 mcg/kg/h y 0,16 mg/ kg/ h de midazolam. La relajación muscular fue lograda mediante la infusión continua de rocuronio. Después de que se estableció, se procedió a la lesión pulmonar, es decir a los lavados pulmonares. Fueron realizados con solución salina isotónica a (30 ml/kg) hasta llegar a una presión de O₂ y relación de fracción de oxígeno inspirado (PaO₂/FIO₂) de 200 mmHg. Durante todo el procedimiento de lavados, la ventilación mecánica fue establecida a modo de presión controlada con FIO₂ 1.0, RR 30, PEEP 5, la presión resultante fue en un VT de 6 ml/kg. El grupo control fue cerditos sin lavados de solución salina isotónica. Este estudio se utilizó la tomografía por impedancia electrónica para el monitoreo *in vivo*. Este trabajo concluyó que los niveles elevados de PEEP y VT se asocian con una mejor ventilación pulmonar de la región pulmonar dependiente en la lesión pulmonar experimental. Mientras que afectan la perfusión pulmonar de todas las regiones pulmonares tanto en el grupo de control como en los grupos de lesión pulmonar experimental (67).

MODELO DE CONEJO

El nombre científico del conejo es *Oryctolagus cuniculus* de familia Leporidae (68). El conejo es un mamífero pequeño que se caracteriza por su pelaje pardo-grisáceo en su vida silvestre mientras que los de laboratorio son de pelaje blanco, posee potentes extremidades adaptadas para la carrera y grandes orejas. Su periodo de gestación es de 30-31 días, el número de crías es de 3-6 siendo el valor modal de 3 (69).

El modelo de conejo prematuro con deficiencia de SP es obtenido a través de conejas premiadas con 27 días de gestación. Los conejos prematuros de 27 días son obtenidos por medio de una cesárea. Después del procedimiento los conejos prematuros son pesados y anestesiados con Lidocaína al 1% (0.1 ml vía intraperitoneal). A los conejos prematuros se les realiza una traqueostomía e intubación intratraqueal con una cánula delgada y corta de metal de (18G, 1.2 mm de diámetro, 10-12 mm de longitud) y son conectados a través de un tubo a un sistema de ventilador (multi-pletismógrafo). La presión liberada a cada conejo es medida por un transductor a presión y el volumen corriente (V_T) es grabado por un neumotacómetro. Ambos equipos son conectados a un sistema de monitoreo fisiológico automatizado (70).

Los autores Audrey J Davis y colabores realizaron un estudio demostrando la respuesta de la función pulmonar en conejos prematuros tratados con un SP enriquecido con SP- C recombinante. Utilizaron conejos prematuros blancos de 27 días de gestación. Los animales fueron anestesiados con pentobarbital y también se les administro anestesia espinal, utilizando 1.5 ml de lidocaína al 2%, después, se les fijó una cánula de acero en la tráquea de 18 mm, una vez establecidos se procedió a administrar el SP a distintas concentraciones de manera intratraqueal. Los investigadores concluyeron que el SP con SP-C recombinante fue efectivo en los animales prematuros con deficiencia de SP (71).

En otro estudio realizado por Jefferson Piva y colaboradores, utilizaron conejos adultos con un peso de 2,8 – 3 kg. Su estudio fue respaldado por las normas

de bioseguridad de la National Institute of Health en Canadá. Los animales son sedados por vía intramuscular con acepromacina (0.5mg/ kg) y anestesiado por vía intravenosa con pentobarbital sódico (10 mg/ml), adicionando pentobarbital sódico (10- 20 mg/kg/h) para mantener la anestesia. A los conejos, se les colocó un acceso venoso y la arteria auricular fue cateterizada para monitorización y de esta manera permitir la recolección de muestras de sangre para realizar gasometría arterial, se les colocó un tubo endotraqueal con un diámetro de 3.5 mm. Después de la traqueotomía los animales fueron sometidos a distintos modos de ventilación, posteriormente fueron inducidos a depleción de SP por medio de lavados pulmonares con alícuotas de 25 ml/kg de solución salina al 0.9% administrada a través del tubo traqueal, la maniobra se repitió de 4 a 6 veces hasta alcanzar una saturación de hemoglobina al 90% y una PaO₂ menor de 100 mmHg con una FiO₂ de 100%. Los investigadores concluyeron que la ventilación protectora promueve una rápida y persistente mejora en la oxigenación en comparación con la ventilación mecánica convencional asociada a la reposición de SP (Piva et al., 2002).

En un estudio realizado para evaluar el efecto del SP enriquecido con un péptido sintético en el cambio respiratorio de gases y la mecánica pulmonar de deficiencia de SP en un modelo de conejo. Los conejos fueron de un peso de 2.5-3.75 kg \pm 0.39 kg fueron premedicados con ketamina (25-50 mg/kg), se mantuvieron anestesiados con pentobarbital a una dosis de 6 mg/kg/hora. En la carótida izquierda se le colocó un catéter para tomar muestras de sangre arterial para medición de gases y monitoreo hemodinámico. Los animales fueron sometidos a lavados repetitivos de solución salina al 0.9% a (37°C) con un volumen de (20mL/kg) por medio de un tubo colocado en la vía endotraqueal. Durante los lavados se monitorio la tensión de oxígeno y la disminución de la distensibilidad respiratoria dinámica. Se concluyó que la terapia de reemplazo de SP en los conejos no restauró completamente el pulmón a su condición previa del lavado.(73)

En otro estudio aprobado por el Instituto de cuidado Animal en Japón, se utilizaron conejos adultos con un peso de 2.5 – 3.5 kg. Los animales fueron premedicados por vía intramuscular con ketamina con una dosis de 10 mg/kg y

xilazina con una dosis de 5mg/kg. La vena periférica de la oreja se canuló con un angiocatéter de calibre 24 para anestesia venosa e infusión de medicamentos. Los animales se colocaron en posición decúbito supino durante todo el experimento. Después, se colocó un tubo endotraqueal de 3.5 mm y se canuló la arteria carótida con un angiocatéter de calibre 22 conectado a un monitor de presión arterial para su control y la frecuencia del pulso. Posteriormente se realizaron los lavados pulmonares de solución salina al 0.9%, durante 4 – 5 veces, con alícuotas de 30 ml/kg de solución. Después de la inducción de una lesión pulmonar, los animales fueron asignados a diferentes grupos para la condición experimental. Los investigadores lograron concluir que la ventilación líquida parcial con perfluoro de dosis baja mejora la oxigenación y la distensibilidad pulmonar en recién nacidos (74).

La ventaja del modelo en conejos es que tiene un buen tamaño, son dóciles para manejarlos dentro del laboratorio y accesibles ya que presentan una rápida y efectiva reproducción dentro de los bioterios. Los animales tienen un parecido en la fisiología pulmonar al humano. Los científicos consideran que el modelo es fácil de reproducir y accesible.

MODELO DE BABUINOS

Los babuinos son mamíferos primates del género *Cercopithecidae* su nombre científico es *Papio papio*. Esta especie de babuino puede llegar a medir de 50 a 83 cm de largo y pesar de 13 a 26 kg. Los babuinos poseen largos colmillos y fuertes mandíbulas (75).

Los babuinos prematuros son muy útiles para estudiar la EMH por tener una gestación incompleta (76). Para obtener el modelo de babuino prematuro con deficiencia de SP se comienza con la obtención de babuinas gestantes a las cuales se les realizará una cesárea en determinados días de gestación para obtener a los babuinos prematuros aproximadamente a los 125 días de gestación lo que condiciona que tengan un 69% de su término gestacional, después del procedimiento las babuinos prematuros son sometidas a ventilación positiva (48).

A continuación, se procederá a la descripción de los estudios experimentales de modelo de babuino prematuro.

En un estudio se utilizaron babuinos prematuros con 120 días de gestación, al entregarlos los animales fueron mantenidos durante 24 horas en un entorno de cuidados intensivos neonatales, brevemente los recién nacidos fueron intubados con un tubo endotraqueal de 2.5 colocado con ventilación de presión positiva estándar, las concentraciones de gases fueron registradas con intervalos de 2 horas junto con los signos vitales. En total se ocuparon 9 babuinos en el estudio, cinco fueron tratados con Survanta y cuatro fueron tratados dentro del útero con solución salina normal a 0.9%. Los investigadores concluyeron que un solo tratamiento con SP en el útero mejoro significativamente la clínica, en un modelo de animal establecido (77).

Otro estudio realizado por el investigador Yoder y colaboradores donde pretenden demostrar la comparación de dos ventiladores neonatales diferentes. Se utilizaron babuinos hembras preñadas las cuales fueron tratadas con 6 mg de betametasona vía IM a las 48 h y 24 h antes de la histerotomía, las gestaciones cronometradas se determinaron observando cambios característicos de la piel del sexo y confirmados por un examen fetal de ultrasonido a los 110 – 115 días de gestación. Los animales del estudio se extrajeron a los 125 – 127 días de gestación (67% de la gestación a término). Al nacer los productos fueron pesados e intubados con un tubo endotraqueal de 2,0 a 2,5 mm. Los animales fueron tratados con tensioactivo profiláctico antes del inicio del soporte del ventilador. La ventilación mecánica se realizó por medio de ventiladores neonatales limitados y con ciclos de tiempo. Los investigadores llegaron a concluir que el ventilador VIP – Bird a comparación que el InfantStar, se asoció con un aumento significativo en la resistencia de las vías respiratorias espiratorias, e índices de ventilación deteriorada, pero no de oxigenación (78).

Se llevo a cabo un experimento en el suroeste de San Antonio aprobado por la Fundación para la Investigación Biomédica. Se obtuvieron babuinos prematuros

con 125 días de gestación de madres babuinos previamente tratadas con betametasona a las 24 y 48 horas antes de la cesárea. Cada producto al nacer fue pesado y sedado vía intramuscular con ketamina a una dosis de 5 mg/kg intubados con un tubo endotraqueal de 2.0 mm y tratado con tensioactivo exógeno, se les colocó una ventilación infantil humidificada, con presión limitada y ciclada por tiempo. Los investigadores lograron concluir que el tratamiento temprano con terapia profiláctica con SP combinado con cafeína, demostró un mejor funcionamiento pulmonar durante las 24 horas de vida en animales inmaduros con SDR (79).

En otro estudio experimental utilizaron babuinos adultos con un peso de 13 – 18 kg. Los animales fueron anestesiados con ketamina, se les colocó un catéter en la carótida además de ser intubados vía endotraqueal, paralizados con pancuronio y conectados a un ventilador con ciclos de volumen. El lavado broncoalveolar se realizó utilizando tres muestras alícuotas de (30 mL/kg) solución salina al 0.9%. Los investigadores concluyeron que efectivamente una exposición del 100% de oxígeno provocó un marcado cambio fisiológico en pacientes con SDRA (De los Santos et al., 1987).

El modelo de babuino ha demostrado una similitud con el humano en un 90% siendo el modelo con mayor parecido a la fisiología del humano. Los animales deben de ser manejados por un experto siendo una de sus mayores desventajas, teniendo en cuenta que es necesaria una infraestructura especial para este tipo de especies medianas. Sin embargo, en la bibliografía esta descrito que los resultados de los experimentos utilizando el modelo de babuinos, han sido de mayor eficacia, respondiendo al tratamiento de surfactantes pulmonares exógenos, determinando al modelo de babuino como un modelo ideal para futuras investigaciones.

MODELO DE RATA

La rata de laboratorio pertenece a la subespecie de *Rattus norvegicus doméstica*. Las ratas provienen de Asia central, en el siglo XVII la rata emigró hacia Europa, originando a la rata noruega, su domesticación en el laboratorio comenzó

en Inglaterra en el siglo XIX, donde se originaron los primeros criaderos. Las ratas de laboratorio como la de *Sprague Dawley* se caracteriza por ser albina, larga, con cabeza más estrecha y larga cola a comparación de las ratas Winstar. El tamaño promedio de la camada de la rata *Sprague Dawley* es de 10, su peso corporal en adultos es de 250 - 300 g para hembra y 450 – 500 g en machos. La vida útil es de 2.5 años (81).

El científico Mauricio Cereda y colaboradores llevaron a cabo un experimento para comprobar que el agotamiento de SP y atelectasias contribuyen a una mayor distensión pulmonar provocando lesión de ciertas regiones pulmonares. Se utilizaron ratas de la cepa *Sprague Dawley*, machos, sanas con un peso de 420 – 480 g. se les indujo anestesia general y se mantuvo con pentobarbital intraperitoneal con una dosis de 40 – 60 mg/kg, la tráquea fue intubada con un catéter de calibre 14, y la glotis sellada, para evitar fugas de gas. Los animales fueron paralizados con bromuro de pancuronio 1 mg/kg vía IV, después fueron conectados a un ventilador mecánico. Las ratas recibieron lavados con solución salina al 0.9%, con 30 ml/kg a 37 grados centígrados, repitiéndolos 3 veces con intervalos de 5 minutos, seguido de un periodo de estabilización de 20 minutos, para después ser instiladas con SP y se obtuvieron las imágenes. Los investigadores concluyeron que la sobre distensión del pulmón ocurre durante la atelectasia, es detectable usando tecnología de resonancia magnética y podría ser un factor clave en la generación de lesión pulmonar durante la ventilación mecánica. Por último también mencionan que la administración de SP reduce la distensión del espacio aéreo (82).

Se llevo a cabo una investigación aprobada por la Universidad de Pensilvania, donde se utilizaron ratas macho *Sprague Dawley* de 350 – 400 g de peso corporal. Los animales fueron anestesiados con 50 mg/kg de pentobarbital vía intraperitoneal y manteniendo la anestesia con un tercio de la dosis inicial inyectándolo cada 60 minutos. Después, se intubaron con un tubo de calibre de 14,2 pulgadas y se les colocó un catéter en la carótida. Las ratas fueron conectadas a un ventilador para animales pequeños hecho a la medida con volumen corriente de 10 ml/kg, una frecuencia respiratoria de 60 rpm y una PEEP de 5 cm H₂O. Se procedió

a realizarles los lavados pulmonares con solución salina al 0.9% a una temperatura de 37°C, con muestras alícuotas de 10 ml/kg. Al agotar el SP procedieron a la toma de imágenes. Los investigadores llegaron a la conclusión que su metodología de estudio es viable como método de análisis para rastrear la progresión de la patología respiratoria (81).

En un estudio experimental se utilizaron 144 ratas de la cepa *Sprague Dawley* con un peso de 230 – 270 g, los animales fueron anestesiados con halotano y óxido nítrico, también se les colocó un catéter en la arteria carótida. Para realizar la traqueotomía las ratas recibieron una inyección vía intraperitoneal de pentobarbitona a una dosis de 1ml/kg, se les colocó un tubo en la tráquea, antes de iniciar la ventilación artificial, para mantener relajados a los animales se les colocó una inyección vía intramuscular de bromuro de pancuronio a una dosis de 1 ml/kg. Los animales se sometieron a múltiples lavados pulmonares con solución salina al 0.9%, a temperatura corporal, con un volumen en cada lavado de 10 ml/kg, la toma de muestra para gasometría fue tomada enseguida de terminar los lavados pulmonares. Los investigadores lograron concluir que este modelo imita muy de cerca la situación clínica de la lesión pulmonar aguda en humanos, la aplicación de SP con proteína reactiva SP- C mostró ser útil como tratamiento para el SDRA (83).

En un estudio realizado por Franck J. y colaboradores, desarrollaron un excipiente mejorado de SP en polvo administrado por medio de aerosol. Los científicos ocuparon ratas de la cepa *Sprague Dawley* con un peso de 0.3 – 0.5 kg. Los animales fueron anestesiados con 60 mg/kg de pentobarbital sódico, para provocar el agotamiento de SP se realizaron lavados pulmonares con solución salina al 0.9%, con alícuotas de 10ml/kg, la mecánica pulmonar fue medida antes y después del agotamiento de SP y por su puesto después del tratamiento en aerosol y líquido. Los resultados obtenidos permiten llegar a la conclusión de que el SP en polvo administrado por aerosol es un método prometedor de terapia de reemplazo de SP líquido administrado intratraquealmente (4).

Los modelos de rata son muy bien empleados en ciencia básica, por su fácil acceso, también es importante resaltar lo dóciles que son para el manejo dentro del laboratorio. Su mayor desventaja es el tamaño que tienen, no siempre son accesibles para toma de muestra continua.

MODELO DE COBAYO

El cobayo conocido por su nombre científico *Cavia porcellus*, es un animal de origen sudamericano. Su género es *Cavia* de especie *Cavia aparea apareia*; son fáciles a la reproducción teniendo hasta 4 partos por año, su gestación tiene una duración de 59 y 72 días un promedio de 9 semanas y pueden tener hasta 5 crías por camada (84).

El estudio realizado por B. Lachmann y colaboradores describen un experimento donde desarrollaron el modelo con cobayos adultos. Los animales tenían un peso de 250 - 440g, los cobayos fueron anestesiados con hidrato de cloral al 5% con una dosis de 4.0 – 5.0 ml/kg, también se les inyectó vía intramuscular de diazepam dosis única de 10 mg/kg, se les realizó traqueotomía, insertándoles catéteres en la arteria carótida izquierda. Los animales fueron ventilados con oxígeno puro con un respirador especial permitiendo la ventilación paralela de múltiples animales, después de 5 – 10 minutos, fueron sometidos a lavados pulmonares bilaterales con solución salina al 0.9% con una temperatura de 37 grados centígrados, el volumen de solución salina utilizado para cada lavado fue de 35 ml/kg, la cantidad de lavados fue de 10 lavados con intervalos de 5 minutos entre cada lavado. Los investigadores lograron concluir que el procedimiento de lavado realizado con los cobayos induce una condición similar a la dificultad respiratoria del adulto, la cual puede ser utilizada para la evaluación de agentes farmacológicos (63).

Otro experimento se llevó a cabo por el Dr. Vázquez de Lara y colaboradores, donde utilizaron el modelo de lavado de pulmón en cobayo. El peso de los animales fue de 400 g. los cobayos se anestesiaron con ketamina a una dosis de 100 mg/kg, xilocaína subcutánea de incisión y diazepam intraperitoneal a una dosis de 200 –

400 ug/kg. Se canulo la tráquea y la carótida. Los animales fueron conectados a un ventilador neonatal limitado por presión y de flujo continuo. La deficiencia de SP fue producida por medio de lavados con solución salina al 0.9% a 37 grados centígrados con por medio de la cánula endotraqueal. Los investigadores tenían como objetivo comprobar si el SP que aislaron tenía efectividad ante una deficiencia de SP *in vivo*, concluyendo que efectivamente era un buen candidato como SP exógeno para aplicarlo en pacientes con EMH (10).

En otra investigación realizada en el Hospital de Estocolmo Suecia. Los investigadores sugieren que el SP tiene un efecto terapéutico en el SDR clínico en cobayos adultos. Se utilizaron 41 cobayos con un peso corporal de 283 – 301 g, los animales fueron anestesiados con uretano por vía intraperitoneal con una dosis de 200 mg/kg y traqueotomizados, se les colocó un catéter para la recolección de muestras de sangre. Los cobayos por cada experimento fueron conectados a un ventilador mecánico. Después de la toma de muestras los cobayos fueron sometidos a repetidos lavados pulmonares con solución salina al 0.9% a 37°C con un volumen de 40 ml/kg, los lavados se repitieron 7 veces con intervalos de 5 minutos entre cada lavado, implicando un total de 320 ml para cada animal. Para después ser administrados con SP. Los investigadores lograron probar su hipótesis exitosamente (85).

Los cobayos son un modelo muy útil, sin embargo, en ellos solo se han realizado experimentos en su etapa adulta, a pesar de eso los cobayos son fáciles de mantener en condiciones de bioterio y para estudios experimentales cortos.

Los modelos animales con deficiencia de SP son muy útiles para probar el efecto del SP exógeno como terapia de reemplazo, así como la prueba de nuevos fármacos inhalados para neonatos. Por lo tanto, en la siguiente tabla se va a resumir los modelos animales prematuros con deficiencia de SP, indicando la especie, el modelo, la edad del modelo (Tabla2.). Los animales que nacen por parto natural se les induce la deficiencia del SP por medio de lavados broncopulmonares con la ayuda de cánulas y ventiladores para mantener su saturación de oxígeno y

mantenerlos con vida durante los procedimientos. En la tabla 3 se resumen los modelos de animales a término y adultos con deficiencia de SP.

Tabla 2. Información recopilada de los modelos de animales prematuros con deficiencia de surfactante pulmonar

Especie	Modelo	Características	Semanas de gestación	Maniobra para obtener el modelo	Ventajas	Desventajas	Autor
<i>Ovis orientalis</i>	Cordero prematuro	Estructura anatómica pulmonar similar al humano	4 meses	Cesárea	Síntomas clínicos como los humanos Nacimientos gemelares	Personal e infraestructura especializada	(Derscheid & Ackermann, 2012)
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Conejo prematuro	Lesiones pulmonares similares a las del humano	27 días	Cesárea	Fácil acceso Tamaño manejable	Las lesiones pueden llegar a confundirse	(Kresch, Lin, & Thrall, 1996)
<i>Papio papio</i>	Babuino prematuro	Similitud en un 90% con el humano	4 meses	Cesárea	Responde adecuadamente al tratamiento con SP exógeno	Personal especializado	(Awasthi, Coalson, Crouch, Yang, & King, 1999)
<i>Sus scrofa</i>	Cerdo neonatal o Lechón	Estructura anatómica pulmonar y digestiva similar al feto humano	40 días	Natural	Tamaño adecuado permite una buena monitorización	Personal especializado por su alta agresividad	(Moen, Xiang-Qing, Rootwelt, & Saugstad, 1997)

Tabla 3. Modelos de animales a término y adultos con deficiencia del surfactante pulmonar

Especie	Modelo	Características	Peso	Edad	Número de lavados broncopulmonares	Cantidad de solución salina (mL/kg)	Autor
<i>Ovis orientalis</i>	Modelo de cordero	Estructura anatómica pulmonar similar a humanos	4 – 5 kg	4 días	10	10	(Sage et al., 2018)
	Modelo de cordero adulto	La posición prono permite una mejora en el intercambio de gases	22 – 27 kg	----	10	10	(52).
<i>Sus scrofa</i>	Modelo de cerdo	Estructura anatómica pulmonar y digestiva similar al feto humano	30 – 32 kg	3 meses	8 – 10	30	(Borges et al., 2020)
	Modelo de cerdo a término	Permite una buena monitorización de diferentes variables fisiológicas	2 kg	2- 4 días	10	30	(Rey Santano et al.; 2018)
	Modelo de cerdo neonatal	La depleción de SP es similar a la EMH en humanos	1.94 kg	1 día	30	18	(Merz et al.; 2011)
	Modelo de cerdo neonatal	La terapia con SP tiene una respuesta favorable en este modelo	2 – 3 kg	3 – 5 días	15	20	(Moen et al.;1997)
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Modelo de conejo	Lesiones pulmonares similares a las del humano	2 – 3 kg	3 meses	4 – 6	20	(Van Zyl et al., 2013)
	Modelo de conejo adulto	La ventilación protectora en este modelo promueve una mejora en la oxigenación	2 – 3 kg	4 meses	4-6	25	(Piva et al.; 2002)
	Modelo de conejo adulto	El tamaño del modelo es bueno, son dóciles y permiten una buena toma de muestra	2.5 – 3.5 kg	4 meses	4.5	30	(Wakabayashi et al. ; 2006)
<i>Papio papio</i>	Modelo de babuino	Similitud en un 90% con el humano	13 -18 Kg	4 meses	3	30	(De los Santos et al., 1987)
<i>Rattus norvegicus domestica</i> *Sprague Dawley	Modelo de rata	Lesiones pulmonares similares a la EMH en humanos	300 – 500 g	28-30 días	3 – 5	10	(Kamga Gninzeko et al., 2020)
	Modelo de rata adulto	El agotamiento de SP provoca una mayor distensión pulmonar	420 – 480 g	29 días	3	30	(Cereda et al.: 2013)
	Modelo de rata macho	La metodología de depleción de SP es adecuada para evaluar patología pulmonar	350 – 400 g	28 días	----	10	(Xin et al.:2015)
	Modelo de rata adulto	La administración de SP es efectiva en la EMH.	230 – 270 g	25 días	5	10	(83)
<i>Apare apare</i>	Modelo de Cobayo	Tamaño ideal y lesiones pulmonares similares a las que se presentan en humanos	250 – 440 g	28-30 días	10	40	(Lachmann et al., 1980)
	Modelo de cobayo adulto	Modelo ideal para simular la EMH	400 g	----	10	----	(10)
	Modelo de cobayo adulto	El SP tiene un efecto terapéutico en la EMH	283 – 301 g	28 días	7	40	(85)

COMENTARIOS

En la actualidad existen diversos modelos de animales de especies pequeñas y medianas, para simular la enfermedad como el SDR, con la finalidad de esta revisión se han dividido en dos grupos: los modelos con animales prematuros y los modelos con animales a término a los cuales se les induce el daño pulmonar en este último se incluye los animales adultos.

Los modelos con animales prematuros son aquellos obtenidos por medio de cesárea, además, presentan cierto grado de similitud con los humanos, por ser mamíferos, un buen ejemplo es el modelo de cordero prematuro, anteriormente se describió que los nacimientos de cordero son en pares con la finalidad de tener un animal como control y otro para experimentación, además, de que el tamaño es bastante adecuado para ser monitorizado fácilmente, permitiendo tomar suficientes muestras para observar resultados, es importante tener en cuenta que es necesario realizarles una cesárea a las especies preñadas y mantener a los productos en una sala de monitorización especializada que no cualquier laboratorio tiene a disposición.

Los modelos a término son aquellos obtenidos por parto natural, a los cuales se les induce el daño pulmonar una vez que nacen, son sometidos a lavados pulmonares, provocando la deficiencia de SP. Los lavados son realizados con solución salina al 0.9%, técnica que se encuentra en distintas condiciones para cada especie, son modelos con deficiencias en tamaño, similitudes y propiamente en la obtención de resultados; sin embargo, son los modelos más utilizados por parte de la comunidad científica.

Los modelos animales son la parte fundamental en la ciencia, representan el aprendizaje y entrenamiento tanto de técnicas y modelos quirúrgicos. Los investigadores antes de llevar a cabo un experimento deben de hacer una búsqueda exhaustiva de estos teniendo presente su propósito de investigación y objetivos, para no tener problemas en el experimento y por consiguiente obtener resultados inadecuados quedándose trunca su investigación.

METODOLOGÍA PARA LA BÚSQUEDA DE ARTICULOS

Metodología para el objetivo específico 1

1) Objetivo específico 1: Realizar la búsqueda en bases de datos con las palabras claves

- a) Se realizó la búsqueda de la información en la página web Pubmed (Fig.1)

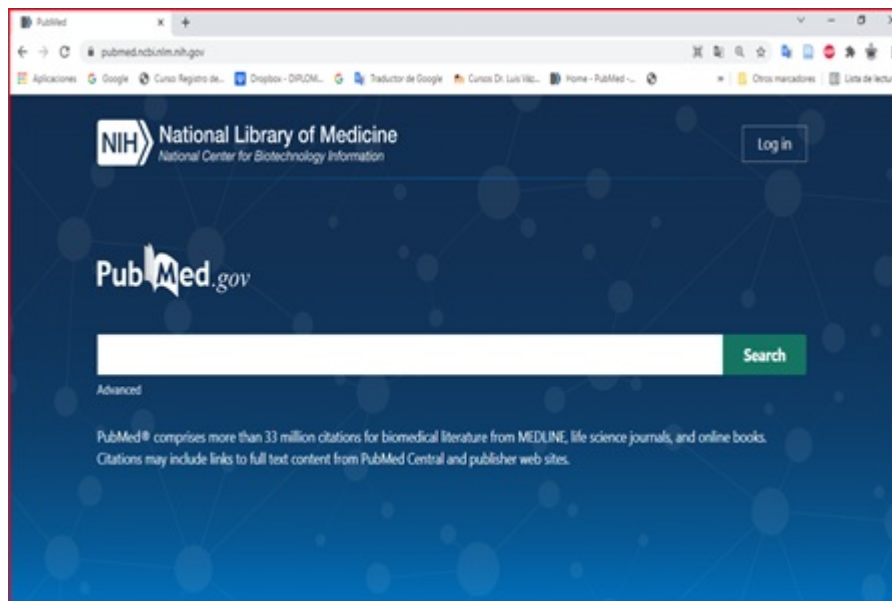


Figura 1. Pagina web utilizada para la búsqueda de información

- b) Se utilizó el recurso Mesh de Pubmed para la búsqueda e inserción de las palabras clave

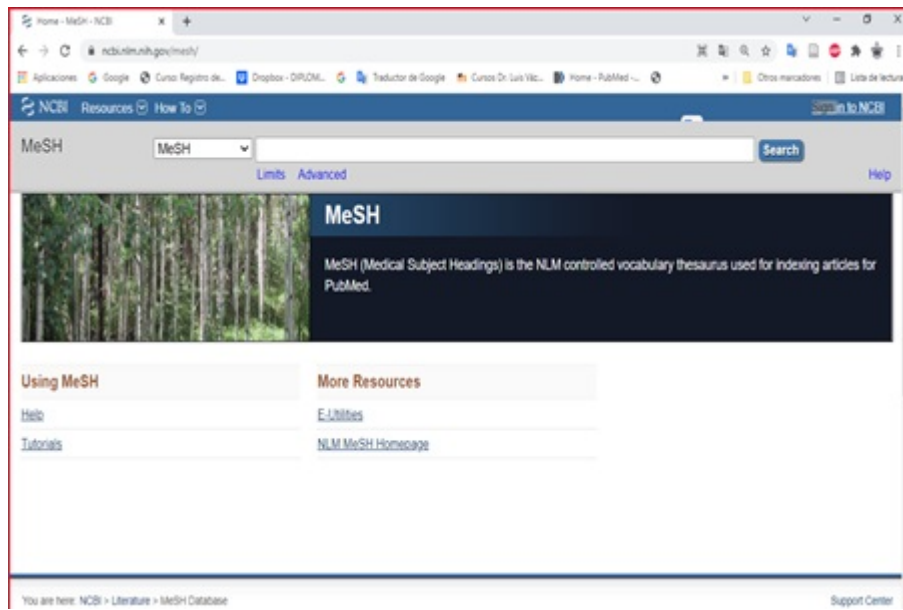


Figura 2. Recurso Mesh de Pubmed para la búsqueda de palabras claves

- c) Búsqueda de la palabra clave de referencia “Pulmonary surfactant”, “Pulmonary surfactant deficiency”, “Animal models” y “Bronchoalveolar lavage” (Fig.3)

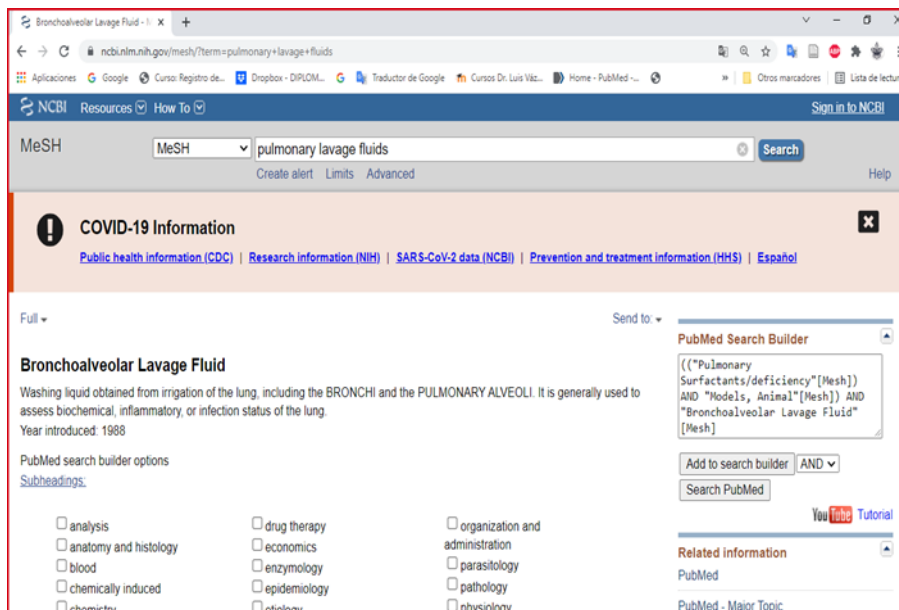


Figura 3. Búsqueda de las palabras claves con Mesh

- d) La búsqueda dio como resultado 6 artículos indexados con las palabras claves antes mencionadas (Fig.4)

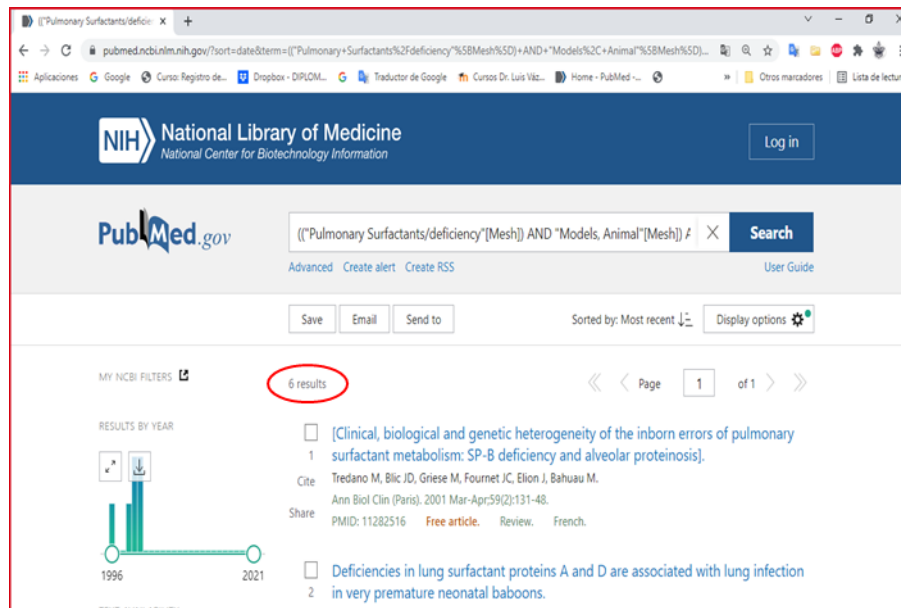


Figura 4. Resultado de la búsqueda de artículos con las palabras claves: “pulmonary surfactant deficiency”, “model animal” y “bronchoalveolar lavage”.

Metodología para el objetivo específico 2

- 2) **Objetivo específico 2:** Seleccionar los artículos de acuerdo con los criterios de inclusión

Metodología: En el primer filtro de la investigación, los artículos se seleccionaron manualmente para obtener artículos relevantes de acuerdo con los criterios de selección. Se seleccionaron aquellos que estaban escritos en inglés y en español.

Metodología para el objetivo específico 3

- 3) **Objetivo específico 3:** Realizar el escrito recopilando la información

Metodología: Se realizó una selección de los artículos, realizando un segundo filtro, donde se descartaron los modelos repetidos, escogiendo el que mejor describía el procedimiento. Se conjunto la información de interés

en nuestra investigación para ofrecerle un escrito adecuado a los investigadores que desean recrear un modelo experimental de acuerdo con sus limitaciones, presupuesto y objetivos que requieran.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Recapitular y describir la información de los diferentes modelos *in vivo* de deficiencia de surfactante pulmonar.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Realizar la búsqueda en bases de datos con las palabras claves
- 2) Seleccionar los artículos de acuerdo con los criterios de inclusión
- 3) Realizar el escrito recapitulando la información

MATERIALES Y MÉTODOS

UBICACIÓN ESPACIO - TIEMPO

El estudio se llevó a cabo por medio de las plataformas que ofrece la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), durante el periodo agosto 2019 – noviembre 2021

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Artículos originales y de revisión de 1980-2021

Artículos en inglés y español

Artículos que cuenten con las palabras claves: deficiencia de SP, modelo experimental, mamífero, modelo prematuro, depleción de SP, lavados broncopulmonares.

CRITERIOS DE INCLUSION:

Artículos que expliquen la maniobra experimental de deficiencia de SP

Artículos que especifiquen el número de lavados broncopulmonares y la cantidad de solución salina empleada

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Artículos que no describan el procedimiento de deficiencia de SP

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

Artículos que refirieran en su bibliografía otro artículo con el procedimiento

Artículos que describieran otro tipo de daño pulmonar inducido por sustancias químicas.

CAPITULO 3

CONCLUSIÓN

Se realizó la búsqueda de información en la base de datos de PudMed

Se seleccionaron los artículos de acuerdo con los criterios de inclusión: que fueron artículos originales y de revisión, así como experimentales

Se realizó el escrito recapitulando la información encontrada en la base de datos

LIMITACIONES

La limitación presente en este trabajo de revisión bibliográfica fue utilizar solo una base de datos (Pubmed) para la búsqueda de información, se requiere en un futuro que se analice otras bases de datos como: Scopus, Cochrane library, EBSCO, Science direct y Nature.

FORTALEZAS

Se realizó el análisis y la conjunción de la información en este trabajo de revisión narrativa, con la finalidad de documentar sobre los modelos con deficiencia de SP. De esta manera se permitirá valorar en tiempo real las variables involucradas con el tensioactivo pulmonar *in vivo*, ayudando al investigador del área a elegir un modelo de acuerdo con los objetivos del proyecto.

PERSPECTIVAS A FUTURO

Se han hecho múltiples estudios con la finalidad de tener mayor eficacia en el uso de surfactante exógeno en humanos, afortunadamente se pueden observar resultados prometedores para otras patologías pulmonares las cuales se encuentran demostradas *in vitro*, los investigadores del área buscan modelos de animales que permitan demostrar la viabilidad de nuevas terapéuticas para una esperanza de vida mejor, calidad de vida y menor mortalidad neonatal mundial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akella A, Deshpande SB. Pulmonary surfactants and their role in pathophysiology of lung disorders. *INDIAN J EXP BIOL.* 2013;19.
2. Stevenson CS, Docx C, Webster R, Battram C, Hynx D, Giddings J, et al. Comprehensive gene expression profiling of rat lung reveals distinct acute and chronic responses to cigarette smoke inhalation. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol.* noviembre de 2007;293(5):L1183-93.
3. Erpenbeck VJ, Krug N, Hohlfeld JM. Therapeutic use of surfactant components in allergic asthma. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* marzo de 2009;379(3):217-24.
4. Kanga Gninzeko FJ, Valentine MS, Tho CK, Chindal SR, Boc S, Dhapare S, et al. Excipient Enhanced Growth Aerosol Surfactant Replacement Therapy in an *In Vivo* Rat Lung Injury Model. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 1 de diciembre de 2020;33(6):314-22.
5. Goerke J. LUNG SURFACTANT. 1974;
6. Carrillo-Esper R, Vázquez-De Anda GF, Mejía-Pérez CI, Delaye-Aguilar MG, Pérez-Castañeda AI, Briones-Garduño JC, et al. A 50 años de la descripción del síndrome de insuficiencia respiratoria aguda. *Gac M□xico.* 28 de octubre de 2019;154(2):724.
7. Gruenwald P. Surface Tension as a Factor in the Resistance of Neonatal Lungs to Aeration. *Am J Obstet Gynecol.* junio de 1947;53(6):996-1007.
8. Desai SR. Chromosome Numbers in the Rutaceae. *Nature.* junio de 1955;175(4469):1125-1125.
9. Halliday HL. The fascinating story of surfactant: Fascinating story of surfactant. *J Paediatr Child Health.* abril de 2017;53(4):327-32.

10. Lara-Cisneros LGV, Iturbide-Flores V. 1998_mi articulo boletin infantil (1).pdf. Bol Med Hosp Infant Mex. 1998;55(1):7.
11. Franceschi K, Pereira JC. Pulmonary Surfactant. State of the art and fundamental aspects. 2016;23(3):11.
12. Perez-Gil J, Weaver TE. Pulmonary Surfactant Pathophysiology: Current Models and Open Questions. Physiology. junio de 2010;25(3):132-41.
13. Brown LM, Duck-Chong CG, Nelson GH. Methods of Evaluating Fetal Lung Maturity. CRC Crit Rev Clin Lab Sci. enero de 1982;16(2):85-159.
14. Awasthi S, Coalson JJ, Yoder BA, Crouch E, King RJ. Deficiencies in Lung Surfactant Proteins A and D Are Associated with Lung Infection in Very Premature Neonatal Baboons. Am J Respir Crit Care Med. febrero de 2001;163(2):389-97.
15. for the PROVE Network Investigators, Algera AG, Pisani L, Chaves RC de F, Amorim TC, Cherpanath T, et al. Effects of peep on lung injury, pulmonary function, systemic circulation and mortality in animals with uninjured lungs—a systematic review. Ann Transl Med. enero de 2018;6(2):25-25.
16. Quirós AB. Deficiencia genética de proteínas surfactantes y patología pulmonar. 2007;47:12.
17. Crouch EC. Surfactant protein-D and pulmonary host defense. Respir Res. agosto de 2000;1(2):6.
18. Raghu G, Remy-Jardin M, Myers JL, Richeldi L, Ryerson CJ, Lederer DJ, et al. Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. Am J Respir Crit Care Med. septiembre de 2018;198(5):e44-68.
19. Lopez-Rodriguez E, Boden C, Echaide M, Perez-Gil J, Kolb M, Gauldie J, et al.

Surfactant dysfunction during overexpression of TGF- β 1 precedes profibrotic lung remodeling in vivo. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. 1 de junio de 2016;310(11):L1260-71.

20. Jordanova A, Georgiev GAs, Alexandrov S, Todorov R, Lalchev Z. Influence of surfactant protein C on the interfacial behavior of phosphatidylethanolamine monolayers. *Eur Biophys J*. abril de 2009;38(4):369-79.

21. Autilio C, Pérez-Gil J. Understanding the principle biophysics concepts of pulmonary surfactant in health and disease. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. 14 de diciembre de 2018;fetalneonatal-2018-315413.

22. Alzina de Aguilar V, Gaboli M, Bastero Miñon P, Romero Montero A, de Álava E. Insuficiencia respiratoria neonatal asociada a mutación en el gen de la proteína C del surfactante. *An Pediatría*. marzo de 2005;62(3):210-4.

23. Jiménez JRJ. Desarrollo científico del surfactante pulmonar (Scientific development of pulmonary surfactant). diciembre de 2009;76(6):6.

24. Sorrell JM, Caplan AI. Chapter 4 Fibroblasts—A Diverse Population at the Center of It All. En: *International Review of Cell and Molecular Biology* [Internet]. Elsevier; 2009 [citado 20 de septiembre de 2021]. p. 161-214. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1937644809760046>

25. Torres García J. FOSFOLÍPIDOS: PROPIEDADES Y EFECTOS SOBRE LA SALUD. *Nutr Hosp*. 1 de enero de 2015;(1):76-83.

26. Harris TE, Finck BN. Dual function lipin proteins and glycerolipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. junio de 2011;22(6):226-33.

27. Calzada E, Onguka O, Claypool SM. Phosphatidylethanolamine Metabolism in

- Health and Disease. En: International Review of Cell and Molecular Biology [Internet]. Elsevier; 2016 [citado 20 de septiembre de 2021]. p. 29-88. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1937644815000970>
28. Gibellini F, Smith TK. The Kennedy pathway-De novo synthesis of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine. *IUBMB Life*. 2010;n/a-n/a.
29. Navarro-Romero A, Martínez-Félix NS, Peraza-Garay F de J, Soto-Castellanos IA, García-Vázquez RA. Cuantificación de cuerpos lamelares en líquido amniótico por aspiración de jugo gástrico para determinar síndrome de dificultad respiratoria en recién nacidos Quantification of lamellar bodies in amniotic fluid by aspiration of gastric juice to determine respiratory distress syndrome in newborns. 2021;11(2):12.
30. Mahavadi P, Henneke I, Ruppert C, Knudsen L, Venkatesan S, Liebisch G, et al. Altered Surfactant Homeostasis and Alveolar Epithelial Cell Stress in Amiodarone-Induced Lung Fibrosis. *Toxicol Sci*. 1 de noviembre de 2014;142(1):285-97.
31. Cutts S, Talboys R, Paspula C, Prempeh E, Fanous R, Ail D. Adult respiratory distress syndrome. *Ann R Coll Surg Engl*. enero de 2017;99(1):12-6.
32. Zambelli V, Bellani G, Amigoni M, Grassi A, Scanziani M, Farina F, et al. The Effects of Exogenous Surfactant Treatment in a Murine Model of Two-Hit Lung Injury. *Anesth Analg*. febrero de 2015;120(2):381-8.
33. Kresch MJ, Lin WH, Thrall RS. Surfactant replacement therapy. *Surfactant Replace Ther*. :20.
34. Lopez-Rodriguez E, Pérez-Gil J. Structure-function relationships in pulmonary surfactant membranes: From biophysics to therapy. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr*. junio de 2014;1838(6):1568-85.

35. Mederos L, Velasco E. Surfactante pulmonar. ¿Qué puede aportar la Física? :10.
36. Chattás LG. Administración de surfactante exógeno. :9.
37. Sanchez Ramírez C, Torres Torretti J. surfactante_pulmonar.pdf. Rev Ped Elec. 2004;1(1).
38. Tridente A, De Martino L, De Luca D. Porcine vs bovine surfactant therapy for preterm neonates with RDS: systematic review with biological plausibility and pragmatic meta-analysis of respiratory outcomes. Respir Res. diciembre de 2019;20(1):28.
39. Harwood JL, Desai R, Hext P, Tetley T, Richards R. Characterization of pulmonary surfactant from ox, rabbit, rat and sheep. Biochem J. 1 de diciembre de 1975;151(3):707-14.
40. Kesecioglu J, Beale R, Stewart TE, Findlay GP, Rouby J-J, Holzapfel L, et al. Exogenous Natural Surfactant for Treatment of Acute Lung Injury and the Acute Respiratory Distress Syndrome. Am J Respir Crit Care Med. 15 de noviembre de 2009;180(10):989-94.
41. Han S, Mallampalli RK. The Role of Surfactant in Lung Disease and Host Defense against Pulmonary Infections. Ann Am Thorac Soc. mayo de 2015;12(5):765-74.
42. Martínez JR. UNIDAD 4 ZOOTECNIA DE OVINOS. :31.
43. De Las Heras Guillamón M, Borderías Clau L. La oveja como modelo experimental de animal grande en la investigación de patologías respiratorias. Arch Bronconeumol. octubre de 2010;46(10):499-501.
44. Derscheid RJ, Ackermann MR. Perinatal Lamb Model of Respiratory Syncytial Virus (RSV) Infection. Viruses. 23 de octubre de 2012;4(10):2359-78.
45. O'Reilly M, Hooper SB, Allison BJ, Flecknoe SJ, Snibson K, Harding R, et al. Persistent bronchiolar remodeling following brief ventilation of the very immature ovine lung. Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol. noviembre de 2009;297(5):L992-1001.

46. Sato A, Ikegami M. SP-B and SP-C Containing New Synthetic Surfactant for Treatment of Extremely Immature Lamb Lung. Rogers LK, editor. PLoS ONE. 13 de julio de 2012;7(7):e39392.
47. Mazela J, Merritt TA, Terry MH, Gregory TJ, Blood AB. Comparison of poractant alfa and lyophilized lucinactant in a preterm lamb model of acute respiratory distress. *Pediatr Res.* julio de 2012;72(1):32-7.
48. Bachurski CJ, Ross GF, Ikegami M, Kramer BW, Jobe AH. Intra-amniotic endotoxin increases pulmonary surfactant proteins and induces SP-B processing in fetal sheep. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol.* 1 de febrero de 2001;280(2):L279-85.
49. Allison BJ, Crossley KJ, Flecknoe SJ, Davis PG, Morley CJ, Harding R, et al. Ventilation of the Very Immature Lung In Utero Induces Injury and BPD-Like Changes in Lung Structure in Fetal Sheep. *Pediatr Res.* octubre de 2008;64(4):387-92.
50. Björklund LJ, Ingimarsson J, Curstedt T, Larsson A, Robertson B, Werner O. Lung recruitment at birth does not improve lung function in immature lambs receiving surfactant: Lung recruitment at birth in preterm lambs. *Acta Anaesthesiol Scand.* septiembre de 2001;45(8):986-93.
51. Sage M, Nadeau M, Forand-Choinière C, Mousseau J, Vandamme J, Berger C, et al. Assessing the impacts of total liquid ventilation on left ventricular diastolic function in a model of neonatal respiratory distress syndrome. Lionetti V, editor. PLOS ONE. 29 de enero de 2018;13(1):e0191885.
52. Richter T, Bellani G, Harris RS, Melo MFV, Winkler T, Venegas JG, et al. Effect of Prone Position on Regional Shunt, Aeration, and Perfusion in Experimental Acute Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 de agosto de 2005;172(4):480-7.

53. Alarcón CGG, Ronquillo JCC, Sánchez JG. PRODUCCIÓN DE CERDOS. :83.
54. Rutherford K, Baxter E, D'Eath R, Turner S, Arnott G, Roehe R, et al. The welfare implications of large litter size in the domestic pig I: biological factors. *Anim Welf.* 1 de mayo de 2013;22(2):199-218.
55. Zhao W, Liu F, Bell AW, Le HH, Cottrell JJ, Leury BJ, et al. Controlled elevated temperatures during early-mid gestation cause placental insufficiency and implications for fetal growth in pregnant pigs. *Sci Rep.* diciembre de 2020;10(1):20677.
56. Yang W, Zhao F, Chen M, Li Y, Lan X, Yang R, et al. Identification and characterization of male reproduction-related genes in pig (*Sus scrofa*) using transcriptome analysis. *BMC Genomics.* diciembre de 2020;21(1):381.
57. Perleberg C, Kind A, Schnieke A. Genetically engineered pigs as models for human disease. *Dis Model Mech.* 1 de enero de 2018;11(1):dmm030783.
58. Andersen MD, Alstrup AKO, Duvald CS, Mikkelsen EFR, Vendelbo MH, Ovesen PG, et al. Animal Models of Fetal Medicine and Obstetrics. En: Bartholomew I, editor. *Experimental Animal Models of Human Diseases - An Effective Therapeutic Strategy* [Internet]. InTech; 2018 [citado 9 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/experimental-animal-models-of-human-diseases-an-effective-therapeutic-strategy/animal-models-of-fetal-medicine-and-obstetrics>
59. Bassols A, Costa C, Eckersall PD, Osada J, Sabrià J, Tibau J. The pig as an animal model for human pathologies: A proteomics perspective. *PROTEOMICS - Clin Appl.* octubre de 2014;8(9-10):715-31.
60. Moen A, Yu X-Q, Almaas R, Curstedt T, Saugstad O. Acute effects on systemic circulation after intratracheal instillation of Curosurf or Survanta in surfactant-depleted

newborn piglets. *Acta Paediatr.* 2 de enero de 2007;87(3):297-303.

61. Rey-Santano. Early cerebral hemodynamic, metabolic, and histological changes in hypoxic–ischemic fetal lambs during postnatal life. *Front Neurosci* [Internet]. 2011 [citado 20 de septiembre de 2021]; Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2011.00111/abstract>

62. Rey-Santano C, Mielgo VE, Gomez-Solaetxe MA, Ricci F, Bianco F, Salomone F, et al. Non-invasive ventilation and surfactant treatment as the primary mode of respiratory support in surfactant-deficient newborn piglets. *Pediatr Res.* abril de 2018;83(4):904-14.

63. Lachmann B, Robertson B, Vogel J. In Vivo Lung Lavage as an Experimental Model of the Respiratory Distress Syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand.* junio de 1980;24(3):231-6.

64. Merz U, Klosterhalfen B, Kellinghaus M, Peschgens T, Pluschke S, Hoernchen H. Effects of single and multiple doses of perfluorocarbon in comparison with continuous partial liquid ventilation on gas exchange and lung pathology in newborn surfactant-depleted pigs: *Crit Care Med.* marzo de 2001;29(3):645-51.

65. Moen A, Yu X-Q, Rootwelt T, Saugstad OD. Acute Effects on Systemic and Pulmonary Hemodynamics of Intratracheal Instillation of Porcine Surfactant or Saline in Surfactant-Depleted Newborn Piglets. *Pediatr Res.* abril de 1997;41(4):486-92.

66. Rey-Santano C, Mielgo V, Gomez-Solaetxe MA, Ricci F, Bianco F, Salomone F, et al. Dose-Response Study on Surfactant Nebulization Therapy During Nasal Continuous Positive Airway Pressure Ventilation in Spontaneously Breathing Surfactant-Deficient Newborn Piglets*. *Pediatr Crit Care Med.* julio de 2020;21(7):e456-66.

67. Borges JB, Cronin JN, Crockett DC, Hedenstierna G, Larsson A, Formenti F. Real-time effects of PEEP and tidal volume on regional ventilation and perfusion in experimental

lung injury. *Intensive Care Med Exp.* diciembre de 2020;8(1):10.

68. Lo Valvo M, La Scala A, Scalisi M. Biometric characterisation and taxonomic considerations of european rabbit *Oryctolagus Cuniculus* (Linnaeus 1758) in Sicily (Italy). *World Rabbit Sci.* 29 de septiembre de 2014;22(3):207.

69. Bravo LG. Conejo – *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758). 2017;35.

70. Guo X, Luo S, Amidani D, Rivetti C, Pieraccini G, Pioselli B, et al. In vitro characterization and in vivo comparison of the pulmonary outcomes of Poractant alfa and Calsurf in ventilated preterm rabbits. Simeoni U, editor. *PLOS ONE.* 13 de marzo de 2020;15(3):e0230229.

71. Davis AJ, Jobe AH, Häfner D, Ikegami M. Lung Function in Premature Lambs and Rabbits Treated with a Recombinant SP-C Surfactant. *Am J Respir Crit Care Med.* febrero de 1998;157(2):553-9.

72. Piva DJ, Chatrkaw P, Choong K, Frndova H, Cox P. Ventilación de alta frecuencia por oscilación comparada a la ventilación mecánica convencional asociada a reposición de surfactante en conejos. :9.

73. van Zyl JM, Smith J, Hawtrey. The effect of a peptide-containing synthetic lung surfactant on gas exchange and lung mechanics in a rabbit model of surfactant depletion. *Drug Des Devel Ther.* marzo de 2013;139.

74. Wakabayashi T, Tamura M, Nakamura T. Partial Liquid Ventilation with Low-Dose Perfluorochemical and High-Frequency Oscillation Improves Oxygenation and Lung Compliance in a Rabbit Model of Surfactant Depletion. *Neonatology.* 2006;89(3):177-82.

75. Stabler SP, Morton RL, Winski SL, Allen RH, White CW. Effects of parenteral cysteine and glutathione feeding in a baboon model of severe prematurity. *Am J Clin Nutr.*

1 de diciembre de 2000;72(6):1548-57.

76. Awasthi S, Coalson JJ, Crouch E, Yang F, King RJ. Surfactant Proteins A and D in Premature Baboons with Chronic Lung Injury (Bronchopulmonary Dysplasia): Evidence for an Inhibition of Secretion. *Am J Respir Crit Care Med.* septiembre de 1999;160(3):942-9.

77. Galan HL, Cipriani C, Coalson JJ, Bean JD, Collier G, Kuehl TJ. Surfactant replacement therapy in utero for prevention of hyaline membrane disease in the preterm baboon. *Am J Obstet Gynecol.* octubre de 1993;169(4):817-24.

78. Yoder BA, Martin H, McCurnin DC. Lung function measurements in a preterm animal model of respiratory failure: Comparison of two different neonatal ventilators. *Pediatr Pulmonol.* noviembre de 2006;41(11):1069-76.

79. Yoder B, Thomson M, Coalson J. Lung function in immature baboons with respiratory distress syndrome receiving early caffeine therapy: A pilot study: Early caffeine therapy and premature lung function. *Acta Paediatr.* 2 de enero de 2007;94(1):92-8.

80. de los Santos R, Seidenfeld JJ, Anzueto A, Collins JF, Coalson JJ, Johanson WG, et al. One Hundred Percent Oxygen Lung Injury in Adult Baboons. *Am Rev Respir Dis.* agosto de 1987;136(3):657-61.

81. Xin Y, Song G, Cereda M, Kadlecsek S, Hamedani H, Jiang Y, et al. Semiautomatic segmentation of longitudinal computed tomography images in a rat model of lung injury by surfactant depletion. *J Appl Physiol.* 1 de febrero de 2015;118(3):377-85.

82. Cereda M, Emami K, Xin Y, Kadlecsek S, Kuzma NN, Mongkolwisetwara P, et al. Imaging the Interaction of Atelectasis and Overdistension in Surfactant-Depleted Lungs*: *Crit Care Med.* febrero de 2013;41(2):527-35.

83. Häfner D, Germann P-G. A rat model of acute respiratory distress syndrome (ARDS)

Part 2, influence of lavage volume, lavage repetition, and therapeutic treatment with rSP-C surfactant. *J Pharmacol Toxicol Methods*. abril de 1999;41(2-3):97-106.

84. Vivas Tórres JA, Carballo D. Manual de crianza de cobayos (*Cavia porcellus*). 2009.

85. Berggren P, Lachmann B, Curstedt T, Grossmann G, Robertson B. Gas exchange and lung morphology after surfactant replacement in experimental adult respiratory distress syndrome induced by repeated lung lavage. *Acta Anaesthesiol Scand*. mayo de 1986;30(4):321-8.

ANEXOS

INFRAESTRUCTURA FÍSICA Y HUMANA

LOGÍSTICA

RECURSOS HUMANOS

Se contó con el apoyo de investigadores especialistas en su área y la alumna de maestría:

D. en C. Luis Guillermo Vázquez de Lara Cisneros

D.C. Mario García Carrasco

M.C.M. Beatriz Tlatelpa Romero

Q.F.B. Brenda Elena Rodríguez Palacios

RECURSOS MATERIALES

Recursos propios del Laboratorio de Medicina Experimental de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

RECURSOS FINANCIEROS

Recursos propios del Laboratorio de Medicina Experimental de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.