

Bases biológicas, patobiológicas y bioclínicas del metabolismo del surfactante pulmonar en la especie humana

Biological, pathobiological and bioclinical bases of pulmonary surfactant metabolism in the human species

Grégory Alfonso García⁽¹⁾; Paulina Ojeda⁽²⁾

RESUMEN

El síndrome de disfunción en el metabolismo del surfactante pulmonar (SMPD), clásicamente denominado Proteínosis Alveolar Pulmonar (PAP), es un desorden respiratorio inusual, caracterizado por una acumulación excesiva y abundante de proteínas y fosfolípidos derivados del surfactante en el alveolo pulmonar y en las vías aéreas distales, con anormalidades asociadas secundarias del intercambio pulmonar gaseoso, que genera insuficiencia respiratoria. Al menos tres mecanismos patofisiológicos generales pueden seguir al desarrollo de los rasgos característicos de la PAP: primario (idiopático, esencial, adquirido o adulto), secundario y congénito.

Palabras claves: autoinmunidad, factor estimulante de colonias granulocito-monocito GMCSF, macrófago alveolar, proteínosis alveolar pulmonar (PAP), surfactante.

ABSTRACT

The surfactant metabolism dysfunction pulmonary (SMDP), classically termed as Pulmonary Alveolar Proteinosis (PAP) are a unusual respiratory disorder characterized by abundant and excessive accumulation of surfactant-derived phospholipids and protein components in the pulmonary alveoli and distal airways, with disturbances associated secondary of pulmonary gas exchange and engendering respiratory insufficiency. At least three general pathophysiologic mechanisms may lead to the characteristic feature of PAP: Primary (idiopathic, essential, acquired or adult), secondary and congenital.

Key words: Alveolar Macrophage, Autoimmunity, Granulocyte-monocyte colony-stimulating factor (GMCSF), Pulmonary Alveolar Proteinosis (PAP), Surfactant.

Rev. Colomb. Neumol. 2008; 20(3): 92-106

INTRODUCCIÓN

La disfunción en el metabolismo del surfactante pulmonar (DMSP), es un grupo de trastornos donde hay un anabolismo y/o catabolismo anormal del surfactante (1, 2). Estos trastornos se han denominado como proteínosis alveolar pulmonar (PAP), y son alteraciones que se caracterizan por la acumulación intra-alveolar de un material de naturaleza lipo-

proteínica, lo que da origen a un daño en el intercambio gaseoso y genera insuficiencia respiratoria. Algunos autores, dado que el problema no es solo de proteínas sino de lípidos o fosfolípidos, denominan a esta entidad como fosfolipoproteínosis, pero ya que en la mayoría de la literatura se habla de PAP, haremos juicio y uso de esta terminología. La PAP es una causa rarísima del síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (3-12).

- (1) Docente Experto en Genética, Bioquímica, y Biología Celular y Molecular Humana. Docente Experto Farmacología y Toxicología Humana. Unidad de Educación e Instituto de Investigación. Fundación Universitaria UNISANITAS(FUS). Docente. Área Bioclínica. Facultad de Medicina. Escuela Colombiana de Medicina. Universidad El Bosque. Docente Especialización Laboratorio de Inmunología Clínica. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.
- (2) Patólogo. Hospital Santa Clara. Profesora Asociada. Facultad de Medicina. Escuela Colombiana de Medicina. Universidad El Bosque. Instructora asociada. Facultad de Medicina. Universidad Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario.

Correspondencia: Correo electrónico: espauojed@intesesantaclara.gov.co, ikarosgreg@gmail.com

Recibido: Julio 6 de 2008. Aceptado: Agosto 18 de 2008

La radiografía de tórax es quizás la prueba más útil de elección, aunque es inespecífica. El patrón más frecuente de presentación es del tipo de infiltración alveolar bilateral y simétrica, que produce opacidad, dando un patrón distributivo en «alas de mariposa o murciélago», y con la presencia de broncograma aéreo. Es menos frecuente el patrón infiltrativo mixto del tipo alveolar-intersticial, o patrones nodulares o retículo-nodulares, e incluso mucho más rara la presentación unilateral. Es supremamente llamativa la discrepancia clínico-radiológica, donde la radiografía muestra un compromiso severo y difuso, pero la clínica del paciente no pasa de ser leve-moderada.

Otro hallazgo poco frecuente son las linfadenopatías, la lesiones pleurales, y las líneas de Kerley tipo B; estas últimas si bien ausentes inicialmente, pueden aparecer en la cronicidad de la enfermedad. La tomografía computarizada (TC) de tórax tiene una mayor especificidad diagnóstica, con patrones de consolidación alveolar con o sin broncograma aéreo, o en otros casos se nota solo o adicionalmente áreas extensas pulmonares bilaterales parcheadas en *ground glass* (vidrio esmerilado) de predominio en regiones superiores y medias, con engrosamiento de los septos interlobulares en las áreas afectas que en literatura inglesa aparece descrito como *crazy paving* (patrón en mosaico poligonal o de áreas geográficas) (foto 1). A pesar de todos estos hallazgos en la TC, éstas siguen siendo inespecíficas, puesto que se pueden detectar en otras entidades como el edema pulmonar, la hemorragia alveolar, la neumonía lipoidea y el síndrome de distress respiratorio agudo, aunque vale aclarar que estas entidades son mucho más frecuentes que el PAP y tienen incluso una clínica más definitiva (3-12,13-20).

Este trastorno se describió inicialmente en 1958, por tres patólogos reconocidos: Rosen, Castleman y Liebow (21); con ellos se origina la era inicial de descubrimiento hasta el año de 1964 y desde entonces hasta el presente hay cerca de medio millar de casos reportados en la literatura médica (22-37).



Foto 1. TAC de tórax de la PAP.

Se han reportado casos en todo el mundo; epidemiológicamente, su incidencia se ha estimado en 0,37/100 000 y su prevalencia en 3,7/millón de personas. La edad media de presentación y diagnóstico, en general, es en la cuarta década de la vida (rango 20-50 años), afectando más el sexo masculino y un 75% de estos tienen historial de fumadores. Es llamativo, pero aún no claramente explicado, que 17% de los casos reportados en Estados Unidos son afro-americanos.

El objetivo de esta revisión es mencionar los aspectos biológicos y patobiológicos de la PAP, los avances en este campo, y el lugar que ocupa dentro de los trastornos pulmonares (38-42). No haremos discusión de la clínica, la radiología, el manejo y abordaje del paciente, o la fármaco-terapéutica de esta entidad, sólo ofreceremos una visión fisiopatológica de la misma.

CLASIFICACIÓN FISIOPATOBIOLÓGICA, Y ESTUDIO DIFERENCIAL

Fisiopatológicamente se clasifican 3 tipos de PAP:

- PAP primaria congénita: da cuenta de aproximadamente un 2% de los casos.
- PAP adquirida también denominada PAP del adulto, que es la más frecuente, y se estima como un 90% de los casos.
- PAP secundaria (también denominado pseudoproteinosis) que es responsable de menos de 10% del total de los casos.

Autores que se especializan en el campo pediátrico dividen el cuadro en dos grandes grupos:

- PAP de presentación inmediata (o natal): coincide con la PAP primaria congénita mencionada anteriormente.
- PAP de presentación postnatal: puede ser tanto trastornos del tipo PAP primaria congénita como casos de PAP secundaria.

La PAP es vista en una amplia variedad de cuadros clínicos, tanto en humanos como en animales de experimentación, lo cual hace pensar que múltiples y diversos factores están relacionados con la patogénesis, y también hace pensar que los hallazgos histopatológicos y bioquímicos característicos de la PAP son, en verdad, una vía final común de una amplia gama de noxas pulmonares (3-12).

Congénita hereditaria o no hereditaria: anomalías del surfactante y otros genes

Estructura, síntesis y catabolismo del surfactante

La superficie alveolar de los pulmones normales está protegida por una fina capa de surfactante (película lipídica),

cuya función es reducir la superficie y así se evita que la tensión superficial alveolar colapse los pulmones. Su producción se da predominantemente por los neumocitos tipo II y en menor grado por las células de Clara. Aún se discute el papel de los lipofibroblastos pulmonares presentes en los septos interalveolares en la distribución y dirección de lípidos hacia los neumocitos tipo II, aunque en murinos parece ser así.

El surfactante se compone en 90%-95% de lípidos (80% fosfolípidos y 5%-10% lípidos neutros, en particular el colesterol), y 8%-10% de proteínas. Estas proteínas son supremamente específicas de esta película biológica, e incluyen a la proteína surfactante A1 (SP-A1), SP-A2, SP-B, SP-C y SP-D. Las SPA y SPD son hidrofílicas y las SPB y SPC directamente afectan las propiedades biofísicas de los lípidos que constituyen el surfactante (43-45).

Otras proteínas asociadas como las secretoglobinas (46) y DMBT1 (*Deleted in Malignant Brain Tumors 1*) (47) son producidas principalmente por las células de Clara y forman parte del llamado surfactante bronquiolar. De estas proteínas, tres de ellas, SPA, SPB y SPC, unen a lípidos del surfactante. La SP-A1, SP-A2 y SP-D son adicionalmente «colectinas», proteínas con actividad reconocedora de patrones glucosídicos en antígenos, lo cual las posibilita para una función inmunológica en el brazo inmune innato, especialmente en el fenómeno denominado fagocitosis. Las colectinas son, como tal, una familia de proteínas que comparten de su propiedad de lecitinas, un tallo colágeno característico, por lo cual también pertenece a este grupo la proteína del complemento C1q. La SPA es una proteína ligando para el receptor de patrones moleculares TLR4 (del inglés- *Toll-like-receptor-4*). La presencia de todas estas proteínas también nos demuestra el papel inmunológico del surfactante (48).

El fosfolípido más significativo es un fosfolípido atípico y compuesto, denominado Dipalmitoil-Fosfatidil-colina (DPPC) y es probable que evolutivamente se haya conservado en muchas especies como componente, dado que a temperatura fisiológica las cadenas saturadas pueden ser empacadas a una muy alta densidad (43-45).

La biosíntesis, almacenamiento, secreción, reciclamiento y catabolismo del surfactante alveolar toma lugar en los neumocitos alveolares tipo II, los cuales tienen organelos característicos, llamados como cuerpos lamelares, mostrando una estructura bulbácea, similar o análoga a la forma que tienen una cebolla al corte transversal. Estos cuerpos lamelares también forman estructuras lipídicas llamadas cuerpos de mielina. En el metabolismo de recaptación parece ser muy importante el papel de transportadores de membrana del tipo activo (necesitan ATP) como el ABCA3 (*ATP-Binding Cassette, subfamily A, member 3*) e in-

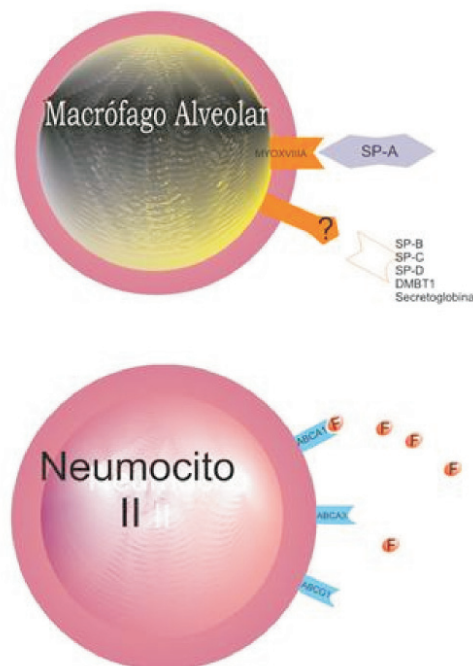


Figura 1. Recambio y reciclaje del surfactante pulmonar.

cluso en modelos murinos se han detectado otros como ABCA1 y ABCG1(49-53). Ver figura 1.

Hoy hay conocimiento de genes maestros pulmonares que rigen el control de la expresión de proteínas del surfactante como SPB, es así que 2 genes maestros que codifican factores de transcripción que se unen al promotor del gen de SPB y regulan positivamente su expresión son FOXF1 (*forkhead box F1-*) y PPBPL2 (*pro-platelet basic protein-like 2*); esta última es una proteína con funciones diversas tanto como componente plaquetario, la cual fue su función inicial descrita, y ahora como un factor de transcripción. Igualmente se ha identificado a TTF1 (*Thyroid Transcription Factor 1*), como un factor maestro pulmonar, que regula, entre varias cosas, la producción del surfactante. De una misma manera hormonal y regulando la transcripción están los glucocorticoides y su receptor nuclear (54-56). Ver figura 2.

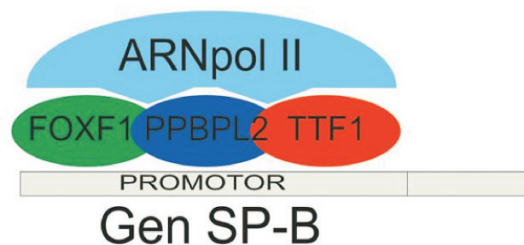


Figura 2. Regulación transcripcional por genes maestros del gen SP-B.

Los macrófagos alveolares median el catabolismo del surfactante y se han comenzado a describir los receptores específicos para endocitosis específica de las proteínas SP, como SPR210 (*Surfactant Protein A Receptor-210*), el cual corresponde bioquímicamente a la miosina isoforma XVIIIa (MYOXVIIIa), que es una proteína transmembranal (57). Ver figura 1.

En la tabla 1 se listan las diversas proteínas del surfactante, los genes maestros pulmonares y otras proteínas mencionadas en este aparte, junto con su genética y genómica.

Defectos genéticos en el metabolismo del surfactante y enfermedades relacionadas

Las metabolopatías del surfactante son de patrón autosómico recesivo, ligado a los genes SPB y SPD (58-67) y a un tipo de defecto (del tipo transporte de los aminoácidos: arginina, ornitina y lisina) denominada como intolerancia proteica lisinúrica (68). Los infantes con estas entidades mueren dentro del primer año de vida, a pesar de un agresivo manejo médico.

La mutación de los genes codificantes de SPB y SPD, ha mostrado que produce un cambio proamiloidogénico de estas proteínas, que explicaría el comportamiento anómalo de éstas y la disminución en su barrido fagocítico por parte de los macrófagos, así como por parte de la vía de reciclamiento dependiente de los neumocitos tipo II. Incluso los análisis en bioquímica y proteómica estructural demuestran que son verdaderos amiloides de difícil digestión, con capacidad de vulnerar la estructura de proteínas similares, lo cual hace definir al PAP causado por anomalías de las SP, como una verdadera amiloidosis (69-74).

En los que no se ha detectado genopatía de SPB y SPD, se ha encontrado mutación desfuncionalizante de la cadena beta común (β c) del receptor de GMCSF, la cual también forma parte de los receptores para IL3 e IL5. La mutación que afecta el gen codificante de β c, genera una pérdida del exón 5, produciéndose un receptor soluble que puede competir por GMCSF y evitar su acción fisiológica sobre el receptor de membrana. También se han detectado individuos con mutación del gen codificante del propio GMCSF, y espera también ser descubierto el posible papel de mutaciones en el gen codificante de la cadena alfa del receptor para GMCSF (75).

Otra variedad congénita, con carácter familiar o no, es la genopatía en el gen codificante de ABCA3, la cual parece relacionarse con el inadecuado reciclamiento y catabolismo por transporte activo, de los fosfolípidos del surfactante. Genopatías en ABCA3 se han asociado al síndrome disgenésico cerebro-

pulmonar. Esto también, en paralelo, explicaría los defectos observados en murinos con ABCA1 y ABCG1, que esperan su parangón en fisiología y fisiopatología humana (76-78).

Se ha detectado en un grupo de pacientes pediátricos y adultos que presentan la combinación inexplicable de corea, retardo mental, hipotiroidismo primario y enfermedad pulmonar crónica (PAP entre otras presentaciones), una mutación en el gen codificante del factor de transcripción TTF1, y se le ha denominado como síndrome cerebro-tiroides-pulmón (79). En este orden de ideas, cabría también esperar posibles polimorfismos génicos en FOXF1 y PPBPL2.

Igualmente, una forma familiar no caracterizada aún, ha sido descrita, en un área geográfica particular en la isla Reunión (un departamento francés en ultramar, en el océano Índico, al este de Madagascar) hacia el sur en la región denominada Circo de Cilaos. En esta isla la prevalencia es de 1 caso por diez mil recién nacidos.

En la tabla 2 se mencionan la genética y la genómica de la PAP, de acuerdo a lo discutido en esta parte del texto.

Variedad secundaria (pseudoproteinosis)

Ocurre en asociación con enfermedades:

- Neoplásicas del grupo de linfomas y leucemias (en especial las mielodisplasias, y leucemias mieloides, tanto agudas como crónicas). Incluso ha sido reportado el mieloma múltiple como causa.

- Inmunodeficiencias primarias o adquiridas

- Alinfoplasia tímica
- Deficiencia de IgA
- SIDA

- Post-quimioterapia

- Imatinib-mesilato
- Sirolimus
- Leflunomida

- Exposición a agentes químicos inhalados tipo microfibras y micropartículas, con potencial ferroaglomerante: formación de cuerpos ferruginosos, dentro de los cuales se incluyen aquellos formados a nivel pulmonar por exposición a asbesto, partículas de carbono, fragmentos de madera por cocina con leña o incendios, y fibras carbonáceas (80).

- Sílica o silicoproteinosis (en especial la forma aguda).
- Polvos metálicos (aluminio, titanio)
- Cemento
- Químicos irritantes inhalados (dióxido de nitrógeno)
- Material aislante de fibras de celulosa resistentes a incendio (fibras de insulación).

Tabla 1. Genómica y genética de las proteínas del surfactante, el receptor para SPA y genes maestros pulmonares (38-42)

Proteína del surfactante	Otros nominaciones	Código MIM	Localización cromosómica del gen codificante	Enfermedades asociadas
SFTPA1 (del inglés- <i>Surfactant, Pulmonary-Associated Protein A1-</i>)	-PSP-A, PSAP, SPA, SPA1(del inglés- <i>Pulmonary Surfactant Apoprotein-</i>) -SFTP1(del inglés- <i>Surfactant-Associated Protein, Pulmonary 1-</i>) -COLEC4(del inglés- <i>Colectin 4-</i>) -PSAP35(del inglés- <i>Pulmonary Surfactant-Associated Protein, 35-KD-</i>)	178630	10q22.2-q23.1	-Gen de susceptibilidad a síndrome de distress respiratorio en infantes prematuros (MIM267450),-Gen de susceptibilidad a la fibrosis pulmonar idiopática (MIM178500)
SFTPA2 (del inglés- <i>Surfactant Pulmonary-Associated Protein A2-</i>)	-SPAII o SPA2(del inglés- <i>Pulmonary Surfactant Protein AII-</i>) -COLEC5(del inglés- <i>Colectin 5-</i>)	178642	10q22-23	Aún no definido
SFTP B (del inglés- <i>Surfactant Pulmonary-Associated Protein B-</i>)	-SFTP3(del inglés- <i>Surfactant-Associated Protein, Pulmonary, 3-</i>) -PSPB o SPB o PSP-B(del inglés- <i>Pulmonary Surfactant Apoprotein-</i>) -PSAP18(del inglés- <i>Pulmonary Surfactant-Associated Protein, 18-KD-</i>)	178640	2p12-p11.2	-Síndrome de Distress Respiratorio en infantes prematuros (MIM267450). -Proteinosis Alveolar Pulmonar (MIM265120)
SFTPC (del inglés- <i>Surfactant Pulmonary-Associated Protein C-</i>)	-SFTP2(del inglés- <i>Surfactant-associated Protein, Pulmonary, 2-</i>) -PSP-C, SPCo PSP-C(del inglés- <i>Pulmonary Surfactant apoprotein Surfactant-</i>) -SPLpVAL(del inglés- <i>Surfactant Proteolipid-</i>) - PSP5 (del inglés- <i>Pulmonary Surfactant Protein 5-</i>)	178620	8p21	-Síndrome de distress respiratorio en infantes prematuros (MIM267450). - Proteinosis alveolar pulmonar (MIM265120)
SFTPD (del inglés- <i>Surfactant Pulmonary-Associated Protein D-</i>)	- PSPD,PSP o SPD-D(del inglés- <i>Pulmonary Surfactant apoprotein surfactant protein D-</i>) -SFTP4 (del inglés- <i>Surfactant-associated Protein, Pulmonary 4-</i>) -COLEC7(del inglés- <i>Collectin 7-</i>)	178635	10q23.3	Aún no definido

Tabla 1. continúa en la página 97

Tabla 1, viene de la página 96

Proteína del Surfactante	Otros nominaciones	Código MIM	Localización cromosómica del gen codificante	Enfermedades Asociadas
DMBT1 (del inglés- <i>Deleted in Malignant Brain Tumors 1-</i>)	-SPAPDBP (del inglés- <i>Surfactant, Pulmonary-Associated protein D-Binding Protein-</i>) -GP340 (del inglés- <i>glycoprotein 340-</i>)	601969	10q25.3-q26.1	Mutación somática en glioblastoma multiforme(MIM137800)
SCGB1A1 (del inglés- <i>Secretoglobin, family 1a, member 1-</i>)	-Blastokinin-CCSP(del inglés- <i>clara cell secretory protein-</i>) -CC10(del inglés- <i>Clara Cell-specific 10-kd protein-</i>) -CC16(del inglés- <i>Clara Cell-specific 16-kd protein-</i>)	192020	11q12.3-q13.1	Gen de susceptibilidad a asma (MIM600807)
SCGB3A2 (del inglés- <i>Secretoglobin, family 3a, member 2-</i>)	-UGRP1 (del inglés- <i>Uteroglobin-Related Protein 1-</i>)	606531	5q31-34	Gen de susceptibilidad a asma (MIM600807)
MYOXVIII (Miosina isoforma 18A)	-SPR210(del inglés- <i>Surfactant protein A Receptor-210-</i>) - MysPDZ	610067	17q11.2	Aún no definido
TTF1 (del inglés- <i>Thyroid Transcription Factor 1-</i>)	-NKX2-1-NKX2A-TEBP(del inglés- <i>Thyroid-specific Enhancer-Binding Protein-</i>)	600635	14q13	PAP Adquirida tipo síndrome cerebro-tiroides-pulmón (Coreo-atetosis-distress respiratorio-hipotiroidismo) (MIM610978)
FOXF1 (del inglés- <i>Forkhead box F1-</i>)	-FKHL5(del inglés- <i>Forkhead, drosophila, Homolog-like 5-</i>)- FREAC1(del inglés- <i>Forkhead-Related Activator 1-</i>)	601089	16q24	No definido aún
PPBPL2 (del inglés- <i>pro-platelet basic protein-like 2-</i>)	- <i>DNA-binding protein amplifying expression of surfactant protein B</i>	611591	4q13.3	No definido aún

Tabla 2. Genética y Genómica del PAP (38-42)

PAP	Código MIM de la enfermedad	Gen	Código MIM del gen	Localización cromosómica del gen
PAP tipo 1	265120	SP-B (Proteína B del surfactante)	178640	2p12-p11.2
PAP tipo 2	610913	SP-C (Proteína C del surfactante)	178620	8p21
PAP tipo 3 (incluye el síndrome disgenésico cerebro-pulmonar)	610921	ABCA3 (del inglés- <i>ATP-Binding Cassette transporter 3</i> -)	601615	16p13.3
PAP congénita secundaria a aminoaciduria dibásica tipo II autosómica recesiva (también denominada intolerancia protéica lisinúrica)	222700	SLC7A7 (del inglés- <i>solute Carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 7</i> -)	603593	14q11.2
PAP adquirida por mutación somática	610910	GMCSF(también denominado CSF2)	138960	5q31.1
		CD131(GM-CSF/IL-3/IL-5 receptor- cadena común beta). También se denominada CSF2RB.	138981	22q12.2-q13.1
PAP adquirida tipo síndrome cerebro-tiroides-pulmón(Coreo-atetosis-distress respiratorio-hipotiroidismo)	610978	TTF1. También denominado NKX2-1, NKX2A o TEBP(del inglés- <i>thyroid-specific Enhancer-Binding Protein</i> -)	600635	14q13
Otros genes que podrían estar ligados por mutación somática a PAP adquirido		¿PU.1(también denominado Spi1)?	165170	11p11.2
		¿PPARG(del inglés- <i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma</i> -)?	601487	3p25
		otros genes: ¿Cadena alfa(de baja afinidad) del receptor para GMCSF (también denominada CSF2RA), JAK2, STAT1, STAT3, STAT5, IL4, IL10, IL13, MYOXVIII, ABCA1, ABCG1, FOXF1, PPBPL2?-		

- Anemia sideroblástica
- Infecciones (Micobacterias, *Nocardia*, *Citomegalovirus*, *P. jiroveci*, *Nocardia spp.*, *Histoplasma spp.*, anaerobios)
- Dermatomiositis
- Rechazo de pulmón alogénico

Hay fuerte evidencia que muestra que es un defecto de naturaleza múltiple y adquirida, en el cual se ha demostrado que:

- Los macrófagos alveolares poseen un defecto que les imposibilita el catabolismo remodelador del surfactante pulmonar.
- El papel reciclador por parte de los neumocitos tipo II.
- Existe un posible papel de la composición alterada del surfactante.
- El problema radica en que hay una pérdida de la homeostasis de la barrera epitelial alveolar, que lleva a la generación de transudación patológica.
- Los macrófagos sufren un fenómeno de agotamiento tras la alta ingesta del material, lo cual lleva a que mueran y finalmente formen parte del material proteínico, formando debris celulares.
- Es plausible una disminución del aclaramiento dependiente de la vía vascular linfática y/o de la barrera mucociliar.

Se discute si las infecciones son la causa o una consecuencia de un daño inmunológico secundario del macrófago alveolar y las proteínas de función inmunitaria del surfactante (3-12).

También hay evidencia de que normalmente dentro del microambiente citocínico pulmonar alveolar, existe una balanza entre GMCSF y el factor estimulante de colonia para el linaje monocito-macrófago (MCSF), de tal forma que cuando se neutraliza por autoanticuerpos la actividad de GMCSF, prima la de MCSF, la cual potencia la acción neutrofílica. El neutrófilo es una excelente fábrica y almacenamiento de proteasas, las cuales pueden anormalmente degradar las proteínas del surfactante (81). En un paciente con PAP secundario a mielodisplasia se encontraron niveles ligeramente elevados de MCSF y GMCSF, con un incremento en una subpoblación monocitaria específica (CD16+ CD14dim), lo cual muestra, indirectamente, una hiper-responsividad del linaje monocito-macrófago a estas citocinas en este contexto patológico (82).

Variedad idiopática(esencial, primaria, adquirida o del adulto) de la PAP

Como se había mencionado previamente, anomalías en la dinámica del GMCSF en el ámbito tisular en el parénquima pulmonar, se relacionan con esta variedad. Sin embargo, hoy hay un razonamiento para una etiología presuntamente autoinmune, secundaria a la formación de anticuerpos IgG dirigidos y neutralizantes del GMCSF (83-88). Sin embargo, un reciente reporte muestra la positividad de estos anticuerpos naturales en personas normales, y abre la brecha para buscar mayor sustento patobiológico a este hallazgo (89).

Esta variedad del adulto se presenta con disnea lentamente progresiva (80%) y tos (60%). Menos comúnmente (20-30%) se evidencia fiebre, hemoptisis (3%-24%), cianosis (20%), acropaquias (29%-40%) pérdida de peso, fatiga, dolor torácico y hemoptisis. Mucho más raro es la cianosis y el *cor pulmonale*. El patrón espirométrico es restrictivo. La enfermedad ocurre predominantemente en hombres, con un ratio 3:1 en relación a mujeres. Hay mayor incidencia en fumadores. Se desconoce la prevalencia, dados los cerca de 500 casos reconocidos. Se detecta un pico de presentación entre la tercera y quinta década de vida, pero hay casos reportados en la infancia (3-12). En Colombia sólo existe el reporte del internista neumólogo Doctor Ricardo Durán Acuña, quien hizo una revisión y reporte de casos retrospectivo de 12 años (septiembre de 1991-septiembre de 2003) en el Hospital San José de la ciudad de Santafé de Bogotá (90).

La remisión espontánea sucede en más de un tercio de los pacientes. El pronóstico para pacientes adultos con PAP varía, pero se ha estimado que está por encima de 80% en los siguientes 5 años posteriores al diagnóstico, en especial en los últimos años, dados los avances en diagnóstico temprano y agudo, y el manejo. El paradigma ha mejorado considerablemente con la introducción del lavado terapéutico, el cual casi siempre es efectivo. Dado que en la actualidad no existe un tratamiento docto, sólo el lavado pulmonar es la técnica terapéutica curativa, haciendo un uso secuencial de la misma. Este avance lo hizo el Dr. Ramírez Raya Rivera en la década de los sesenta (1963-1967) (91-99). Este lavado se efectúa bajo anestesia general, y se hace intubación orotraqueal con tubo de doble luz, intubación confirmada por broncoscopia. El tratamiento está indicado cuando los síntomas respiratorios dañan la calidad de vida o cuando la función pulmonar se deteriora. En la era del lavado broncoalveolar terapéutico, las complicaciones son raras.

El ambroxol, un metabolito de la bromhexina, estimula la acción mucociliar y ha sido también utilizado

en la terapéutica (100). Dentro de las alternativas en diversos reportes está la plasmaféresis (101), la inmoglobulina intravenosa (102) y el trasplante de células madre de cordón, en casos particulares donde el PAP es secundario a síndrome mielodisplásico (103).

El tratamiento con el Factor estimulante de colonias de granulocitos – monocitos (GMCSF) se considera aun experimental, y el trasplante pulmonar puede ser una opción para estos pacientes, aunque hay reporte de recurrencia (101, 104-108).

LA PAP EN EL CONTEXTO DE LAS ENFERMEDADES PULMONARES

Dentro de las enfermedades metabólicas de los pulmones, fuera del grupo de los defectos del metabolismo del surfactante pulmonar (DMSP) otros trastornos de naturaleza metabólica en el campo neumológico son:

- Amiloidosis pulmonar (tranqueobronquial, nodular parenquimatosa y difusa intersticial)
- Calcificación metastásica pulmonar
- Osificación pulmonar (2 patrones: dendrítico y nodular circunscrito)
- Microlitiasis pulmonar alveolar
- Enfermedades sistémicas de almacenamiento lipídico: tesaurismosis como Gaucher, Niemann-Pick y Fabry.

Así mismo, la PAP primaria se puede decir que forma parte del grupo denominado como «raras enfermedades infiltrativas pulmonares», dado que al igual que todas ellas, es un desafío clínico, radiológico y patológico; las acciones terapéuticas son empíricas y muchas basadas sobre el uso de glucocorticoides y los eventos patogénicos y fisiopatológicos no son siempre conocidos y fácilmente concatenables con la realidad. Estas enfermedades son:

- Lipidosis hereditarias
- Amiloidosis
- Síndrome de Hermansky-Pudlak
- Osificación pulmonar (predominantemente el tipo dendrítico)
- Microlitiasis alveolar pulmonar
- Neumonía eosinofílica aguda

Concluyendo, es clave recalcar que comparando ambas listas, tanto las enfermedades infiltrativas como las enfermedades metabólicas, puede concluirse que hay entidades sobrelapadas, con comportamiento me-

tabólico e infiltrativas, lo que permite deducir que hay unas historias naturales de la enfermedad pulmonar, con unas respuestas finales patológicas (109-110).

El factor estimulante de colonias granulocito-monocito (GMCSF) y el PAP

El GMCSF es un factor de crecimiento hematopoyético que estimula la supervivencia, la proliferación, la diferenciación y la función de las células mieloides y sus precursores, en particular de los linajes neutrófilo y monocito-macrófago. Fue descubierto y descrito en 1977 y fue la primera citocina clonada en 1984. Clásicamente se ha caracterizado por ser un factor de crecimiento leucopoyético para la célula madre granulocito-monocito derivada a partir de la célula madre mieloides con marcadores de superficie CD34(+) CD33(+). En laboratorios de experimentación con ratones *knockout* para el gen codificante para GMCSF, hubo una feliz coincidencia: los ratones deficientes en esta citocina desarrollaban un patrón histológico llamativo de infiltración peribronquiovascular extensiva con linfocitos (en especial del tipo linfocitos B) y los alveolos contenían un material granular eosinofílico y cuerpos lamelares, indicando acumulación de surfactante. Curiosamente, en los ratones no se producen alteraciones hematológicas, pero abrió la posibilidad a una explicación más, y es el hecho de que GMCSF es un factor clave inmunoregulatorio del macrófago alveolar y por ende, de la inmunidad local pulmonar.

Los estudios en la biología y patobiología humana de esta entidad, han mostrado que realmente se puede hacer una extrapolación de estos hallazgos en ratones. En ese orden de ideas, los macrófagos alveolares tomados a partir de pacientes con formas idiopáticas, presentan daño en la actividad quimiotáctica, adhesión reducida en pruebas de vidrio y pobre fagocitosis.

Siguiendo nuestra historia, una segunda feliz coincidencia es que en algunos pacientes se encontró la presencia de autoanticuerpos bloqueadores o neutralizantes contra GMCSF. Partiendo de los hallazgos mencionados, diversos grupos de investigadores han estudiado tanto pacientes con el cuadro clínico y el diagnóstico de PAP, al igual que sus macrófagos alveolares, comparando la semiología clínica y radiológica antes y después del uso de GMCSF, y en definitiva una disfunción del macrófago alveolar es la implicada, secundaria a un daño en el eje GMCSF y su receptor (GMCSF-R) (111).

Esto es realmente llamativo, cuando se conoce hoy que el síndrome de distress respiratorio neonatal po-

see como causa y a su vez cursa con una insuficiencia de las proteínas del surfactante, y que la terapia de reemplazo sigue a una dramática mejoría. En conclusión la PAP y el síndrome de distress respiratorio neonatal con los dos polos opuestos en la patología del surfactante (Surfactantopatías).

Todo indica que una citopatía existe y que el macrófago alveolar es el sindicado. Es por eso que se decidió investigar más sobre la génesis, diferenciación y maduración del macrófago alveolar, y el gen codificante del factor de transcripción PU.1 parece ser el principal factor involucrado en la maduración terminal del linaje mieloide-monocítico y, muy especialmente, con la maduración y diferenciación terminal post-útero de los macrófagos alveolares. La experimentación adicional actual muestra que en macrófagos alveolares de pacientes con PAP tras la exposición a GMCSF restauran la expresión de PU.1 (112).

Otro factor de transcripción en el que se ha demostrado ser expresión anómala, corregible con GMCSF, corresponde al factor de transcripción PPAR γ (del inglés- *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-gamma*) (113).

Tres citocinas que también podrían estar involucradas en esta patogenia son las Interleucinas 4, 10 y 13 (IL4, IL10, IL13); la IL10 inhibe la actividad fagocítica del macrófago alveolar, incluso en algunos casos se han encontrado altos niveles de IL10 en líquido de lavado broncoalveolar (114). La IL4 ha mostrado que actúa directamente sobre las células de Clara (115) y la IL13 sobre los neumocitos tipo II, aumentando la biosíntesis de proteínas del surfactante, como se ha encontrado en modelos murinos (116). Así mismo otro hallazgo llamativo es la detección de baja o nula Activina A, un factor de crecimiento miembro de la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), la cual normalmente regula el linaje linfocitario B y es un factor anti-formador de macrófagos espumosos (117).

Explicaciones fisiopatológicas adicionales provienen del descubrimiento de un eje contraregulador de doble vía entre el GMCSF y el MCSF, que explica por qué en la PAP por déficit de GMCSF neutralizado por auto-anticuerpos, el exceso de MCSF puede colaborar a la sobreproducción de metaloproteasas como MMP2 y MMP9, que desencadenan inflamación y lesión parenquimatosa en la cronicidad de la PAP (118).

PATOLOGÍA

La biopsia transbronquial, abierta o por toracoscopia, es la base del diagnóstico y subclasificación de la PAP.



Foto 2. Anatomía patológica macroscópica de la PAP.

Macroscópicamente, los pulmones muestran zonas en parche o difusas de consolidación de color amarillento (foto 2) por la presencia de un líquido aceitoso amarillo, lo que se correlaciona histológicamente con la presencia de un material lipoproteínico que ocupa la luz de los alveolos y de los bronquiolos (foto 3) y que se caracteriza porque:

- Tiñe de rosado intenso con la coloración de ácido peryódico de Schiff (PAS) diastasa resistente (foto 4).
- Es negativo para la coloración de azul de alcian.
- Tiñe basofílico con la tinción de May-Grünwald-Giemsa.

La estructura del alveolo es conservada, al igual que la de las vías aéreas, con una arquitectura intersticial preservada y, en ocasiones, dada ya la cronicidad se instaura la presencia de un moderado engrosamiento interlobular septal secundario a edema o infiltración linfocítica. Es rara la presencia de fibrosis intersticial, excepto en la forma de diagnóstico tardío o final. Los neumocitos tipo II pueden presentarse hiperplásicos y hay presencia de neumonitis inespecífica. También se puede efectuar inmunohistoquímica para las proteínas SP, en búsqueda de las formas congénitas heredofamiliares o no (3-12, 109-110).

Otro elemento que debe buscarse cuando se tiene o no la presunción es la presencia de cuerpos ferruginosos mediante tinción para ferritina y/o la tinción de Perl, lo que indica la presencia de toxicidad ambiental por fibras y partículas (80).

Diagnóstico por patología clínica

Hay diversas pruebas tanto a nivel sérico como en fluido de lavado broncoalveolar. Estos son los hallazgos más representativos:

- El análisis bioquímico del fluido de lavado broncoalveolar ha sido realizado en adultos compro-

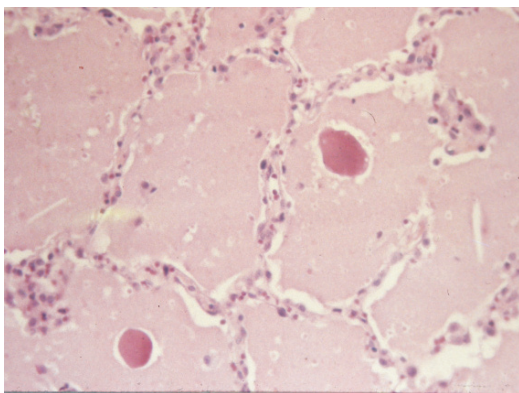


Foto 3. Neumohistopatología de la PAP en tinción hematoxilina-eosina.

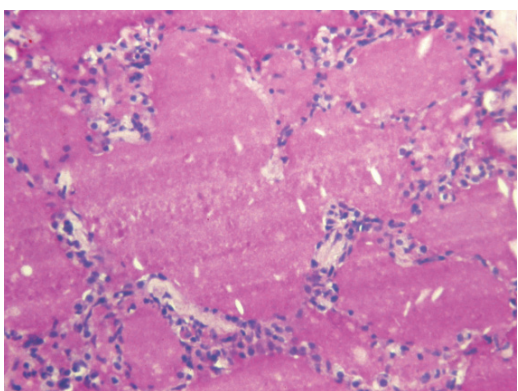


Foto 4. Neumohistopatología de la PAP en coloración de ácido peryódico de Schiff (PAS).

metidos, y revela un fluido de lavado broncoalveolar «lechoso», (foto 5) por la presencia de material flocular blanco y denso, granular, acelular y eosinofílico con tinción de PAS y con reacción diastasa negativa (descarta la presencia de almidón o ciertos azúcares complejos). La tinción con Papanicolau revela glóbulos que tiñen verde, naranja o glóbulos de centro naranja con halo verde (119-120).

- El análisis citológico del fluido de lavado broncoalveolar, fuera de ser estéril, muestra un apariencia «sucia» debida a la presencia de pocos macrófagos de tipo célula espumosa (*foamy cell*), grandes cantidades de detritos celulares (derivados tanto de neumocitos tipo II como de macrófagos alveolares), y material lipoproteínico, y no revela algo en particular, aunque son comunes la hiper celularidad y la linfocitosis (119-120).

- Es valioso el examen por microscopía electrónica, que muestra cuerpos lamelares concéntricamente laminados, denominada como estructuras de «pseudo-mielina», cuando existe un núcleo denso, o «mielina tubular», cuando se disponen en forma de grilla o parrilla (119-120).

- Bioquímicamente el contenido total de fosfolípidos está aumentado, con una disminución relativa en fosfatidilcolina y fosfatidilglicerol, y un incremento relativo en esfingomielina y fosfatidilinositol. Hay diversos estudios que muestran el cálculo total o los radios de relación con respecto a lípidos totales, fosfolípidos, proteínas totales y SP en fluido de lavado broncoalveolar, todos ellos con resultados variables pero que muestran un defecto en la composición (119-120).

- Los niveles de lactato-deshidrogenasa (LDH) se encuentran elevados, tanto séricamente como en fluido de lavado broncoalveolar (119-120).

- Elevación de alfa- y beta-defensinas en fluido de lavado broncoalveolar (121).

- Los niveles séricos de KL-6 (un epítipo extracelular de la glicoproteína denominada Mucina 1-*MUC1*), han sido encontrados significativamente altos en la PAP, más que en otras enfermedades intersticiales pulmonares (122).

- Los niveles séricos elevados de marcadores tumorales como el antígeno carcinoembrionario (CEA del sistema antigénico CEA/CD66/CD67), y antígenos de naturaleza glucídica como el sialil-Lewis (CA 19-9) y el sialil-SSEA-1 (SLX). Este hallazgo es bastante interesante en la medida en que los antígenos y glicoproteínas embrionarias como estos, los cuales se detectan en sangre de mujeres gestantes y en pacientes con ciertas neoplasias, han mostrado que desempeñan papeles como inmunomoduladores e inmunosupresores, y esto mostraría que es un tipo de retrocontrol negativo para neutralizar la inflamación consecuente (123).

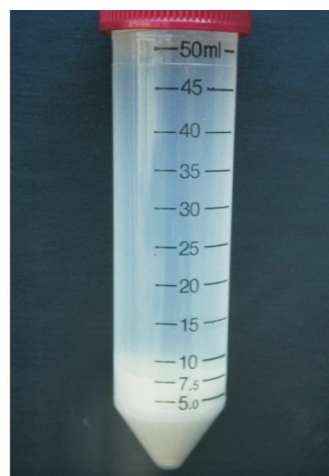


Foto 5. Fluido de lavado broncoalveolar de la PAP.

- Los niveles séricos de SPA y SPD están elevados, al igual que en la fibrosis pulmonar idiopática y edema pulmonar (124).

- La prueba «de oro» y altamente específica es la evaluación cuantitativa de anticuerpos anti-GMCSF en fluido de lavado broncoalveolar y en suero, en laboratorios de referencia. De tal forma que no es rutinaria y será una excelente alternativa en el futuro (124).

- Como la PAP es considerada en algunos casos como un problema del surfactante secretado por los neumocitos tipo II y como las proteínas citoesqueléticas citoqueratinas están presentes en el tejido epitelial alveolar, se ha indagado sobre la medición sérica del valor de fragmentos de citoqueratina 19 (-CYFRA19-del inglés-*Cytokeratin 19 Fragment*-), y éste se encuentra elevado en la PAP (125).

- Proteínas quimiotácticas del grupo de las quemocinas como MCP1, MCP2 y MCP3 se hayan elevadas en el BAL de pacientes con PAP, y la expresión de receptores para estas moléculas como el CCR2 sobre los macrófagos alveolares y linfocitos periféricos está disminuida (126).

- Se han encontrado niveles elevados de IL10 en fluido de lavado broncoalveolar de pacientes con PAP (114).

BIBLIOGRAFÍA

- Snider GL. Only cell and molecular biology can lead to an understanding of pathogenesis of lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:i-ii.
- Autores no listados. *New Aspects in Pulmonary Surfactant Biology and Disease. Proceedings of the 3rd Conference in the Japanese Surfactant Molecular Pathophysiology Meetings Series, 12-13 November 2004, Osaka, Japan.* *Respirology* 2006;11 (Suppl):S1-77.
- Ayadi H, Ayoub AK. Familial alveolar proteinosis. *Rev Pneumol Clin* 2002;58:245-8.
- Seymour JF, Presneill JJ. Pulmonary alveolar proteinosis: progress in the first 44 years. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:215-35.
- Trapnell BC, Whitsett JA, Nakata K. Pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 2003;349:2527-39.
- Akin MR, Nguyen GK. Pulmonary alveolar proteinosis. *Pathol Res Pract.* 2004;200:693-8; discussion 699-700.
- de Blic J. Pulmonary alveolar proteinosis. *Paediatr Respir Rev* 2004;5:340-2.
- de Blic J. Pulmonary alveolar proteinosis in children. *Paediatr Respir Rev* 2004;5:316-22.
- Presneill JJ, Nakata K, Inoue Y, et al. Pulmonary alveolar proteinosis. *Clin Chest Med* 2004;25:593-613.
- Venkateshiah SB, Thomassen MJ, Kavuru MS. Pulmonary alveolar proteinosis. Clinical manifestations and optimal treatment strategies. *Treat Respir Med* 2004;3:217-27.
- Ioachimescu OC, Kavuru MS. Pulmonary alveolar proteinosis. *Chron Respir Dis* 2006;3:149-59.
- Blasco-Navalpoto MA, Guadaño-Salvadores V, Abad-Santamaría N, et al. Pulmonary alveolar proteinosis. *Med Clin (Barc)* 2008;131:160.
- Holbert JM, Costello P, Li W, et al. CT features of pulmonary alveolar proteinosis. *AJR Am J Roentgenol* 2001;176:1287-94.
- Nowers K, Rasband JD, Berges G et al. Approach to ground-glass opacification of the lung. *Semin Ultrasound CT MR* 2002;23:302-23.
- Kjeldsberg KM, Oh K, Murray KA et al. Radiographic approach to multifocal consolidation. *Semin Ultrasound CT MR* 2002;23:288-301.
- Rossi SE, Erasmus JJ, Volpacchio M et al. «Crazy-paving» pattern at thin-section CT of the lungs: radiologic-pathologic overview. *Radiographics* 2003;23:1509-19.
- Pipavath S, Godwin JD. Imaging of interstitial lung disease. *Clin Chest Med* 2004;25:455-65.
- De Arriba C, Antón C, Arreche E et al. Pulmonary alveolar proteinosis and crazy paving pattern in high resolution CT. *An Sist Sanit Navar* 2006;29:127-30.
- Frazier AA, Franks TJ, Cooke EO et al. From the archives of the AFIP: pulmonary alveolar proteinosis. *Radiographics* 2008;28:883-99.
- Vrielynck S, Mamou-Mani T, Emond S et al. Diagnostic value of high-resolution CT in the evaluation of chronic infiltrative lung disease in children. *AJR Am J Roentgenol* 2008;191:914-20.
- Rosen SH, Castleman B, Liebow AA. Pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 1958;258:1123-42.
- Friedman B, Strickland CE. Pulmonary alveolar proteinosis. *J Tn State Med Assoc* 1958;51:507-9.
- Payseur CR, Konwaler BE, Hyde L. Pulmonary alveolar proteinosis; a progressive, diffuse, fatal pulmonary disease. *Am Rev Tuberc* 1958;78:906-15.
- Carabasi RJ, Barta LL. Atypical pneumonitis with interstitial fibrosis: an unusual case receiving prolonged corticosteroid therapy; pulmonary alveolar proteinosis. *Dis Chest* 1959;36:209-14.
- Katz S. Pulmonary alveolar proteinosis. *GP* 1959;20:165.
- Landis FB, Rose HD, Sternlieb RO. Pulmonary alveolar proteinosis: a case report with unusual clinical and laboratory manifestations. *Am Rev Respir Dis* 1959;80:249-54.
- Lull GF Jr, Beyer JC, Maier JG et al. Pulmonary alveolar proteinosis: report of two cases. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1959;82:76-83.
- Mahaffey DE, Rush EN, Allen JD. Pulmonary alveolar proteinosis treated with varidase. *J Ky Med Assoc* 1959;57:1230-1.
- McDowell C, Williams SE, Hinds JR. Pulmonary alveolar proteinosis; report of a case. *Australas Ann Med* 1959;8:137-42.
- MoerteL CG, Woolner LB, Bernatz PE. Pulmonary alveolar proteinosis; report of case. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1959;34:152-7.
- Sieracki JC, Horn RC Jr, Kay S. Pulmonary alveolar proteinosis: report of three cases. *Ann Intern Med* 1959;51:728-39.
- Burbank B, Morrione TG, Cutler SS. Pulmonary alveolar proteinosis and nocardiosis. *Am J Med* 1960;28:1002-7.
- Carlson DJ, Mason EW. Pulmonary alveolar proteinosis. Diagnosis of probable case by examination of sputum. *Am J Clin Pathol* 1960;33:48-54.

34. Frainow W, Cathcart RT, Kirshner JJ et al. Pulmonary alveolar proteinosis. A correlation of pathological and physiological findings in a patient followed up with serial biopsies of the lung. *Am J Med* 1960;28:458-67.
35. Pitt LP. Pulmonary alveolar proteinosis. Review of the literature and report of a case. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1960;39:252-7.
36. Rosen SH. Pulmonary alveolar proteinosis. *U S Armed Forces Med J* 1960;11:1507-15.
37. McLaughlin JS, Ramirez J. Pulmonary alveolar proteinosis. treatment by pulmonary segmental flooding. *Am Rev Respir Dis* 1964;89:745-52.
38. IUBMB [base de datos en Internet]. London : international Union of Biochemistry and Molecular Biology;1977- [fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/jcbn/index.html#2>
39. PubMed [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; 1966- [fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>
40. EMBASE [base de datos en Internet]. Holanda: Excerpta Medica-Elsevier; 1974-[fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: <http://www.embase.com>
41. OMIM [base de datos en Internet]. Baltimore: Johns Hopkins University; 1966- [fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim>
42. HUGO [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine and others(exp.: Celera Genomics and the Sanger Center); 1989- [fecha de acceso 15 de octubre del 2008]. Disponible en: <http://www.hugo-international.org/index.html>
43. Enhorning G. Surfactant in airway disease. *Chest* 2008;133:975-80.
44. Halliday HL. Surfactants: past, present and future. *J Perinatol*. 2008 May;28 Suppl 1:S47-56.
45. Pérez-Gil J. Structure of pulmonary surfactant membranes and films: the role of proteins and lipid-protein interactions. *Biochim Biophys Acta* 2008;1778:1676-95.
46. Shijubo N, Kawabata I, Sato N et al. Clinical aspects of Clara cell 10-kDa protein/ uteroglobin (secretoglobin 1A1). *Curr Pharm Des* 2003;9:1139-49.
47. Ligtenberg AJ, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV et al. Salivary agglutinin/glycoprotein-340/DMBT1: a single molecule with variable composition and with different functions in infection, inflammation and cancer. *Biol Chem* 2007;388:1275-89.
48. Haagsman HP, Hogenkamp A, van Eijk M et al. Surfactant collectins and innate immunity. *Neonatology* 2008;93:288-94.
49. Bates SR, Tao JQ, Collins HL et al. Pulmonary abnormalities due to ABCA1 deficiency in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;289:L980-9.
50. van der Deen M, de Vries EG, Timens W et al. ATP-binding cassette (ABC) transporters in normal and pathological lung. *Respir Res* 2005;6:59.
51. Thomassen MJ, Barna BP, Malur AG et al. ABCG1 is deficient in alveolar macrophages of GM-CSF knockout mice and patients with pulmonary alveolar proteinosis. *J Lipid Res* 2007;48:2762-8.
52. Wenzel JJ, Piehler A, Kaminski WE. ABC A-subclass proteins: gatekeepers of cellular phospho- and sphingolipid transport. *Front Biosci* 2007;12:3177-93.
53. Epaud R, Feldmann D, Guillot L et al. Lung diseases associated with inherited disorders of surfactant metabolism. *Arch Pediatr*. 2008 Sep 18. [Epub ahead of print].
54. Luzi P, Strayer DS. DNA binding proteins that amplify surfactant protein B gene expression: isolation and characterization. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 208: 153-160.
55. Whitsett JA, Matsuzaki Y. Transcriptional regulation of perinatal lung maturation. *Pediatr Clin North Am* 2006;53:873-87,
56. Maeda Y, Davé V, Whitsett JA. Transcriptional control of lung morphogenesis. *Physiol Rev* 2007;87:219-44.
57. Yang CH, Szeliga J, Jordan J et al. Identification of the surfactant protein A receptor 210 as the unconventional myosin 18A. *J Biol Chem* 2005;280:34447-57.
58. Tredano M, De Blic J, Griese M, Fournet JC, Elion J, Bahuau M. Clinical biological and genetic heterogeneity of the inborn errors of pulmonary surfactant metabolism. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:90-108.
59. Garcia CK, Raghu G. Inherited interstitial lung disease. *Clin Chest Med* 2004;25:421-33.
60. Mallory GB Jr. Surfactant protein B deficiency as a prototype. *Pediatr Pulmonol Suppl* 2004;26:180-2.
61. Tredano M, Griese M, Brasch F et al. Mutation of SFTPC in infantile pulmonary alveolar proteinosis with or without fibrosing lung disease. *Am J Med Genet A* 2004;126A:18-26.
62. Brasch F, Griese M, Tredano M et al. Interstitial lung disease in a baby with a de novo mutation in the SFTPC gene. *Eur Respir J* 2004;24:30-9.
63. Clark H, Clark LS. The genetics of neonatal respiratory disease. *Semin Fetal Neonatal Med* 2005;10:271-82.
64. Stevens PA, Pettenazzo A, Brasch F et al. Nonspecific interstitial pneumonia, alveolar proteinosis, and abnormal proprotein trafficking resulting from a spontaneous mutation in the surfactant protein C gene. *Pediatr Res* 2005;57:89-98.
65. Nogee LM. Genetics of pediatric interstitial lung disease. *Curr Opin Pediatr* 2006;18:287-92.
66. Whitsett JA. Genetic disorders of surfactant homeostasis. *Paediatr Respir Rev*. 2006;7 Suppl 1:S240-2.
67. Hamvas A, Cole FS, Nogee LM. Genetic disorders of surfactant proteins. *Neonatology* 2007;91:311-7.
68. Ceruti M, Rodi G, Stella GM et al. Successful whole lung lavage in pulmonary alveolar proteinosis secondary to lysinuric protein intolerance: a case report. *Orphanet J Rare Dis* 2007;2:14.
69. Dluhy RA, Shanmukh S, Leopard JB et al. Deacylated pulmonary surfactant protein SP-C transforms from alpha-helical to amyloid fibril structure via a pH-dependent mechanism: an infrared structural investigation. *Biophys J* 2003;85:2417-29.
70. Johansson J. Molecular determinants for amyloid fibril formation: lessons from lung surfactant protein C. *Swiss Med Wkly* 2003 May;133:275-82.
71. Gustafsson M, Thyberg J, Näslund J et al. Amyloid fibril formation by pulmonary surfactant protein C. *FEBS Lett* 1999;464:138-42.
- 72-Gustafsson M, Griffiths WJ, Fursjö E et al. The palmitoyl groups of lung surfactant protein C reduce unfolding into a fibrillogenic intermediate. *J Mol Biol* 2001;310:937-50.
73. Casals C, Johansson H, Saenz A et al. C-terminal, endoplasmic reticulum-luminal domain of prosurfactant protein C - structural features and membrane interactions. *FEBS J* 2008;275:536-47.
74. Nerelius C, Martin E, Peng S et al. Mutations linked to interstitial lung disease can abrogate anti-amyloid function of prosurfactant protein C. *Biochem J* 2008 Jul 22 [Epub ahead of print].
75. Wang X, Liu F, Bewig B. Analysis of the GM-CSF and GM-CSF/IL-3/IL-5 receptor common beta chain in a patient with pulmonary alveolar proteinosis. *Chin Med J (Engl)* 2002;115:76-80.

76. Kaminski WE, Piehler A, Wenzel JJ. ABC A-subfamily transporters: structure, function and disease. *Biochim Biophys Acta* 2006;1762:510-24.
77. Albrecht C, Viturro E. The ABCA subfamily—gene and protein structures, functions and associated hereditary diseases. *Pflugers Arch* 2007;453:581-9.
78. Shanklin DR, Mullins AC, Baldwin HS. Cerebropulmonary dysgenetic syndrome. *Exp Mol Pathol* 2008 May 28 [Epub ahead of print].
79. Willemsen MA, Breedveld GJ, Wouda S et al. Brain-Thyroid-Lung syndrome: a patient with a severe multi-system disorder due to a de novo mutation in the thyroid transcription factor 1 gene. *Eur J Pediatr* 2005;164:28-30.
80. Ghio AJ, Chung A, Roggli VL. Ferruginous bodies: implications in the mechanism of fiber and particle toxicity. *Toxicol Pathol* 2004;32:643-9.
- 81- Bonfield TL, Swaisgood CM, Barna BP et al. Elevated gelatinase activity in pulmonary alveolar proteinosis: role of macrophage-colony stimulating factor. *J Leukoc Biol* 2006;79:133-9.
82. Yoshioka Y, Ohwada A, Harada N et al. Increased circulating CD16+ CD14dim monocytes in a patient with pulmonary alveolar proteinosis. *Respirology* 2002;7:273-9.
83. Bonfield TL, Kavuru MS, Thomassen MJ. Anti-GM-CSF titer predicts response to GM-CSF therapy in pulmonary alveolar proteinosis. *Clin Immunol* 2002;105:342-50.
84. Costabel U, Guzman J. Pulmonary alveolar proteinosis: a new autoimmune disease. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2005;22 Suppl 1:S67-73.
85. Lin FC, Chang GD, Chern MS et al. Clinical significance of anti-GM-CSF antibodies in idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. *Thorax* 2006;61:528-34.
86. Nakata K, Kanazawa H, Watanabe M. Why does the autoantibody against granulocyte-macrophage colony-stimulating factor cause lesions only in the lung? *Respirology* 2006;11 Suppl:S65-9.
87. Busch T, Bercker S, Kaisers U. GM-CSF autoantibodies in pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 2007;356:2001-2.
88. Uchida K, Beck DC, Yamamoto T et al. GM-CSF autoantibodies and neutrophil dysfunction in pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 2007;356:567-79.
89. Uchida K, Nakata K, Suzuki T et al. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor autoantibodies and myeloid cell immune functions in healthy individuals. *Blood* 2008 Oct 9 [Epub ahead of print].
90. Durán Acuña R. Fosfolipoproteinosis alveolar(10 casos 12 años de experiencia). *Revista Colombiana de Neumología* 216;1: 8-13.
91. Ramirez J, Nyka W, McLaughlin J. Pulmonary alveolar proteinosis. Diagnostic technics and observations. *N Engl J Med* 1963;268:165-71.
92. Ramirez J, Schultz RB, Dutton RE. Pulmonary alveolar proteinosis: a new technique and rationale for treatment. *Arch Intern Med* 1963;112:419-31.
93. Ramirez J. Pulmonary alveolar proteinosis. *Biochem Clin* 1964;4:165-74.
94. Ramirez J. Pulmonary alveolar proteinosis: a roentgenologic analysis. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1964;92:571-7.
95. Ramirez J, Campbell GD. Pulmonary alveolar proteinosis. endobronchial treatment. *Ann Intern Med* 1965;63:429-41.
96. Ramirez J, Kieffer RF Jr, Ball WC Jr. Bronchopulmonary lavage in man. *Ann Intern Med* 1965;63:819-28.
97. Ramirez J. Bronchopulmonary lavage. New techniques and observations. *Dis Chest* 1966;50:581-8.
98. Ramirez J, Savard EV, Hawkins JE. Biological effect of pulmonary washings from cases of alveolar proteinosis. *Am Rev Respir Dis* 1966;94:244-6.
99. Ramirez J. Pulmonary alveolar proteinosis. Treatment by massive bronchopulmonary lavage. *Arch Intern Med* 1967;119:147-56.
100. Hashizume T. Pulmonary alveolar proteinosis successfully treated with ambroxol. *Intern Med* 2002;41:1175-8.
101. Kavuru MS, Bonfield TL, Thomassen MJ. Plasmapheresis, GM-CSF, and alveolar proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:10361.
102. Cho K, Nakata K, Ariga T et al. Successful treatment of congenital pulmonary alveolar proteinosis with intravenous immunoglobulin G administration. *Respirology* 2006;11 Suppl:S74-7.
103. Fukuno K, Tomonari A, Tsukada N et al. Successful cord blood transplantation for myelodysplastic syndrome resulting in resolution of pulmonary alveolar proteinosis. *Bone Marrow Transplant* 2006;38:581-2.
104. Barraclough RM, Gillies AJ. Pulmonary alveolar proteinosis: a complete response to GM-CSF therapy. *Thorax* 2001;56:664-5.
105. de Vega MG, Sánchez-Palencia A, Ramírez A et al. GM-CSF therapy in pulmonary alveolar proteinosis. *Thorax* 2002;57:837.
106. Tazawa R, Nakata K, Inoue Y et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor inhalation therapy for patients with idiopathic pulmonary alveolar proteinosis: a pilot study; and long-term treatment with aerosolized granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: a case report. *Respirology* 2006;11 Suppl:S61-4.
107. Venkateshiah SB, Yan TD, Bonfield TL et al. An open-label trial of granulocyte macrophage colony stimulating factor therapy for moderate symptomatic pulmonary alveolar proteinosis. *Chest* 2006;130:227-37.
108. Wylam ME, Ten R, Prakash UB et al. Aerosol granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respir J* 2006;27:585-93.
109. Poletti V, Costabel U, Casoni GL et al. Rare infiltrative lung diseases: a challenge for clinicians. *Respiration* 2004;71:431-43.
110. Chung MJ, Lee KS, Franquet T et al. Metabolic lung disease: imaging and histopathologic findings. *Eur J Radiol* 2005;54:233-45.
111. Juvet SC, Hwang D, Waddell TK et al. Rare lung disease II: pulmonary alveolar proteinosis. *Can Respir J* 2008;15:203-10.
112. Bonfield TL, Raychaudhuri B, Malur A et al. PU.1 regulation of human alveolar macrophage differentiation requires granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;285:L1132-6.
113. Bonfield TL, Farver CF, Barna BP et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is deficient in alveolar macrophages from patients with alveolar proteinosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29:677-82.
114. Thomassen MJ, Raychaudhuri B, Bonfield TL et al. Elevated IL-10 inhibits GM-CSF synthesis in pulmonary alveolar proteinosis. *Autoimmunity* 2003;36:285-90.

115. Ikegami M, Whitsett JA, Chroneos ZC et al. IL-4 increases surfactant and regulates metabolism in vivo. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278:L75-80.
116. Homer RJ, Zheng T, Chupp G et al. Pulmonary type II cell hypertrophy and pulmonary lipoproteinosis are features of chronic IL-13 exposure. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;283:L52-9.
117. Bonfield TL, Barna BP, John N et al. Suppression of activin A in autoimmune lung disease associated with anti-GM-CSF. *J Autoimmun* 2006;26:37-41.
118. Bonfield TL, Swaisgood CM, Barna BP et al. Elevated gelatinase activity in pulmonary alveolar proteinosis: role of macrophage-colony stimulating factor. *J Leukoc Biol* 2006;79:133-9.
119. Maygarden SJ, Iacocca MV, Funkhouser WK, Novotny DB. Pulmonary alveolar proteinosis: a spectrum of cytologic, histochemical, and ultrastructural findings in bronchoalveolar lavage fluid. *Diagn Cytopathol* 2001;24:389-95.
120. Costabel U, Guzman J, Bonella F, Oshimo S. Bronchoalveolar lavage in other interstitial lung diseases. *Semin Respir Crit Care Med* 2007;28:514-24.
121. Mukae H, Ishimoto H, Yanagi S et al. Elevated BALF concentrations of alpha- and beta-defensins in patients with pulmonary alveolar proteinosis. *Respir Med* 2007;101:715-21.
122. Nara M, Sano K, Ogawa H et al. Serum antibody against granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and KL-6 in idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. *Tohoku J Exp Med* 2006;208:349-54.
123. Hirakata Y, Kobayashi J, Sugama Y et al. Elevation of tumour markers in serum and bronchoalveolar lavage fluid in pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respir J* 1995;8:689-96.
124. Seymour JF, Doyle IR, Nakata K et al. Relationship of anti-GM-CSF antibody concentration, surfactant protein A and B levels, and serum LDH to pulmonary parameters and response to GM-CSF therapy in patients with idiopathic alveolar proteinosis. *Thorax* 2003;58:252-7.
125. Minakata Y, Kida Y, Nakanishi H et al. Change in cytokeratin 19 fragment level according to the severity of pulmonary alveolar proteinosis. *Intern Med* 2001;40:1024-7.
126. Bonfield TL, John N, Malur A et al. Elevated monocyte chemotactic proteins 1, 2, and 3 in pulmonary alveolar proteinosis are associated with chemokine receptor suppression. *Clin Immunol* 2005;114:79-85.