

# Aerosol de alfa-1-antitripsina en el tratamiento de la fibrosis quística

J. Ferrer Calvete, J. Aznar Lucea\*, P. Morales Marín, A. Pereda Pérez, R. Llopis Carles\*, C. Ribes Koninckx, P. Ferrer González, V. Marco Martínez

**Resumen.** La alfa-1 antitripsina (a,1AT) que existe en los pulmones es un inhibidor de la elastasa de los polimorfonucleares (PMN) y se produce en condiciones normales. En los pacientes con fibrosis quística (FQ), infectados crónicamente por *Pseudomonas aeruginosa*, se produce una degranulación aumentada de los neutrófilos que conduce a una mayor cantidad de elastasa en las secreciones de las vías aéreas. En esta situación, la a,1AT es incapaz de ejercer su acción inhibitoria, dando lugar a la destrucción del epitelio respiratorio y al aumento de las lesiones en la FQ. En este estudio preliminar se evalúan los resultados obtenidos en muestras de esputos en cuatro pacientes con FQ, tratados con aerosoles de a,1AT (Prolastina, Bayer). Valorando la a,1AT, elastasa-PMN, actividad antielastasa, IgG, albúmina y parámetros clínicos. En los resultados destaca el aumento de la a,1AT, con una  $p < 0,05$ , al comparar mediante la «t» de Student las medias antes y al octavo día del tratamiento. Así como la disminución de la elastasa-PMN, aunque al comparar las medias resultó una  $p = NS$ . Sin embargo, sí aumentó la actividad antielastasa con una  $p < 0,05$ . Estos resultados alentan a seguir este tratamiento con más pacientes y más prolongado, para prevenir las lesiones pulmonares en la FQ.

*An Esp Pediatr 1996;44:109-111.*

**Palabras clave:** Fibrosis quística; Alfa-1-antitripsina; Elastasa-PMN; Actividad antielastasa; *Pseudomonas aeruginosa*.

## AEROSOL ALPHA 1-ANTITRYPSIN IN THE TREATMENT OF CYSTIC FIBROSIS

**Abstract.** Alpha-1-antitrypsin (a-1AT) is a natural inhibitor of the elastase that is released physiologically by neutrophils in the lung. As a result of the increased neutrophil degranulation secondary to chronic epithelial inflammation in cystic fibrosis patients with chronic infections by *Pseudomonas aeruginosa*, there are larger amounts of elastase in airway secretions. This results in the a-1AT concentration being insufficient to inhibit the destructive proteolytic degradation, culminating in a chronic epithelial burden and a worsening of the cystic fibrosis pulmonary disease. In this preliminary study, we have evaluated the results obtained from the sputum of 4 cystic fibrosis patients treated with a-1AT (Prolastina, Bayer) in aerosol. The levels of a-1AT, neutrophil elastase, antineutrophil elastase activity, IgG, albumin and clinical parameters were measured. The concentration of sputum a-1AT was increased when compared to the same patient after 8 days with treatment (we compared means with Student's t-test and  $p < 0.05$  was considered significant). We did the same with the impairment of neutrophil elastase, although we found no significant results. Nevertheless, antineutrophil elastase activity increased ( $p < 0.05$ ). These results encourage us to continue the same treatment for a longer period of time to prevent pulmonary disease in CF subjects.

**Key words:** Cystic fibrosis. Alpha 1-antitrypsin. Neutrophil elastase. Antineutrophil elastase activity. *Pseudomonas aeruginosa*.

\*Laboratorio de Bioquímica (U. de proteínas). Hospital de Rehabilitación «La Fe». Unidad de Fibrosis Quística. Hospital «La Fe». Valencia.

Correspondencia: Dr. J. Ferrer Calvete.

Hospital «La Fe». Avda. Campanar, 21, 46009 Valencia.

Recibido: Octubre 1994

Aceptado: Marzo 1995

## Introducción

La afectación pulmonar que se origina en la mayoría de los pacientes afectados de fibrosis quística (FQ) infectados crónicamente por *Pseudomonas aeruginosa*, provoca un aumento de los leucocitos polimorfonucleares (PMN) en la pared del epitelio de las vías aéreas, secundario a la inflamación crónica.

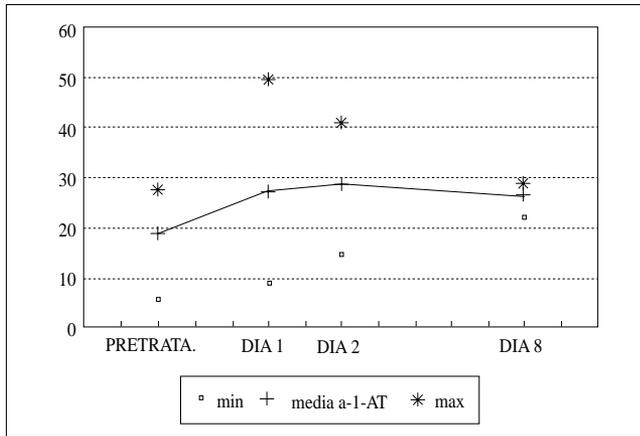
La alfa-1-antitripsina (a,1-AT) es una enzima producida en el pulmón, encargada de inhibir la elastasa liberada por los neutrófilos. A consecuencia del incremento en la degranulación de los neutrófilos se acumula una mayor cantidad de elastasa en las secreciones de las vías aéreas, lo cual origina que la a,1-AT sea insuficiente, y la acción de la elastasa de los neutrófilos destruya el epitelio de la pared de las vías aéreas, conduciendo al aumento de las lesiones pulmonares en los pacientes con FQ. La inactivación de la a,1-AT implica posiblemente, además modificaciones de los procesos oxidativos y proteolíticos en los pacientes con FQ<sup>(1-4)</sup>. La disponibilidad de la administración exógena de a,1-AT permite una nueva esperanza terapéutica en los pacientes afectados de FQ.

En este estudio preliminar se evalúan los resultados obtenidos en muestras de esputo de pacientes con FQ, tratados con aerosoles de alfa-1AT (Prolastina, Bayer) valorando parámetros bioquímicos: a,1-AT, elastasa-PMN, actividad antielastasa, inmunoglobulina IgG, albúmina y parámetros clínicos.

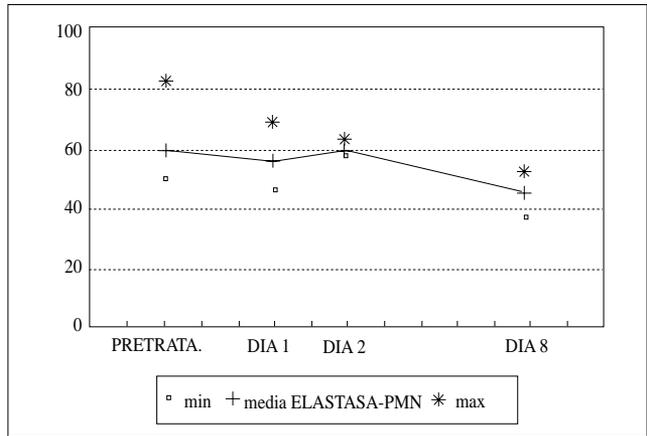
## Material y métodos

A cuatro pacientes afectados de FQ se les administró a,1-AT en aerosol, utilizando los compresores Pari Master y el CR-60, la dosis administrada fue de 3,0 mg/kg, dos dosis al día. Se utilizó Prolastina Bayer (alfa 1-proteinase inhibitor, código: 601-30), con actividad de a,1-AT = 500 mg, diluido en 20 ml (25 mg/ml) y administrado durante una semana.

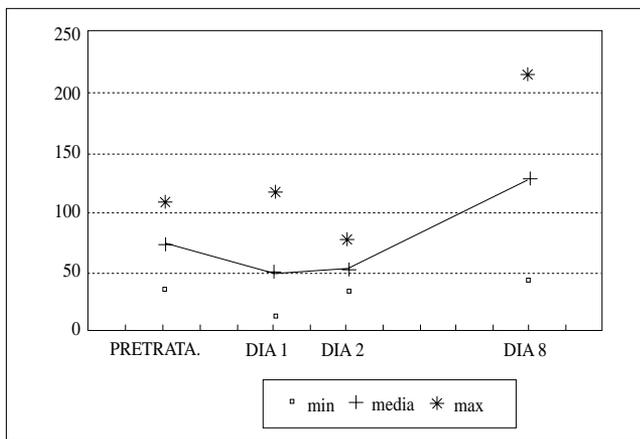
Todas las muestras de esputo se tomaron por la mañana después de realizar una pequeña sesión de fisioterapia respiratoria, rechazándose los primeros esputos. Las muestras se tomaron por duplicado, y se mantuvieron durante media hora con suero fisiológico, para facilitar su manejo. Todas las determinaciones analíticas se midieron por duplicado. La recogida de las muestras se efectuó de forma basal (pretratamiento), a las 24 h (día 1), a las 48 (día 2) y el día 8º del tratamiento. Las determinaciones fueron las siguientes: a,1-AT, elastasa-PMN, actividad antielastasa, albúmina, IgG y porcentaje de neutrófilos. Se controló aspectos clínicos: intensidad de la tos, cantidad de expectoración, colonización por *Pseudomonas aeruginosa*, valoración



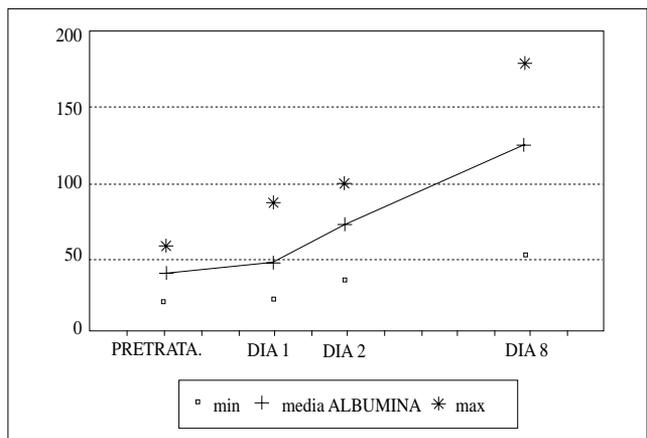
**Figura 1.** Evolución temporal de alfa-1AT en esputo de pacientes con FQ.



**Figura 2.** Evolución temporal de la elastasa-PMN en esputo de pacientes con FQ.



**Figura 3.** Evolución temporal de actividad antielastasa en esputo de pacientes con FQ.



**Figura 4.** Evolución temporal de albúmina en esputo de pacientes con FQ.

de Shwachman, valoración de Tausing y pruebas funcionales respiratorias (PFR).

En la determinación de la elastasa-PMN se utilizó la técnica de inmunoanálisis con reactivo «Elastas-PMN Merck 11332» automatizada en un RA-1000 Technicor. La actividad antielastasa se midió con la reacción enzimática utilizando como sustrato de reacción SAPNA (N-succinyl-trialanyl-p-nitroanilida, Sigma S-4760), y, como patrón, elastasa porcina pancreática (Sigma E-0127). La a,1-AT, albúmina e IgG se determinaron por la técnica nefelométrica, con nefelómetro y anticuerpos Behring I. Para el tratamiento estadístico de los resultados se utilizó la prueba de la «t» de Student.

## Resultados

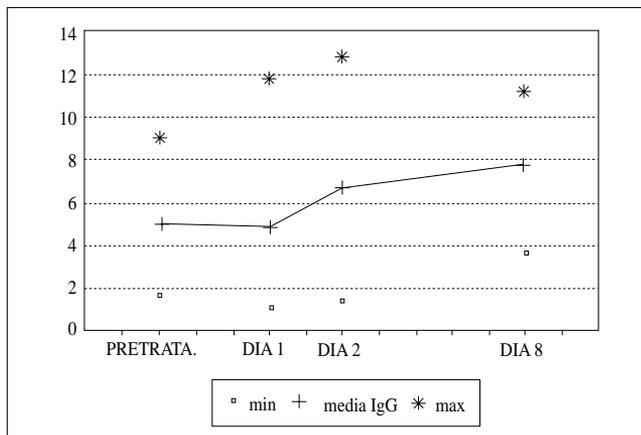
La evolución temporal de la a,1AT en el esputo de los pacientes con FQ estudiados fue la siguiente: pretratamiento con una media de 19,03 mg/dl (DS: 9,95); día 1: media de 27,13 mg/dl (DS: 17,69); día 2: media 28,60 mg/dl (DS: 13,83); día 8: media 26,13 mg/dl (DS: 2,83). La aplicación del test de la «t» de Student entre las medias del pretratamiento y día 8 resultó con una  $p < 0,05$  (Fig.

1).

La evolución temporal de la elastasa-PMN en el esputo de los pacientes con FQ estudiados fue la siguiente: pretratamiento, media 59,66 mg/dl (DS: 15,50); día 1: media 55,59 mg/dl (DS: 9,65); día 2: media 59,80 mg/dl (DS: 2,43); día 8: media 43,92 mg/dl (DS: 7,61). La aplicación de la «t» de Student a las medias del pretratamiento y día 8 resultó una  $p = NS$  (Fig. 2).

La evolución temporal de la actividad antielastasa en el esputo de los pacientes con FQ estudiados fue la siguiente: pretratamiento, media 74,38 mg/dl (DS: 36,54); día 1: media 49,75 mg/dl (DS: 47,15); día 2: media 52,38 mg/dl (DS: 19,27); día 8: media 126,25 mg/dl (DS: 72,43). La aplicación del test de la «t» de Student entre las medias del pretratamiento y día 8 presentó una  $p < 0,05$  (Fig. 3).

La evolución temporal de la albúmina en el esputo de los pacientes con FQ estudiados fue la siguiente: pretratamiento con una media de 40,63 mg/dl (DS: 16,99); día 1: media 48,0 mg/dl (DS: 27,14); día 2: media 72,0 mg/dl (DS: 26,58); día 8: media 124 mg/dl (DS: 57,66). La aplicación de la «t» de Student entre los resultados del pretratamiento y día 8 fue de una  $p = NS$  (Fig. 4).



**Figura 5.** Evolución temporal de la IgG en esputo de pacientes con FQ.

La evolución temporal de la IgG en el esputo de los pacientes con FQ estudiados fue la siguiente: pretratamiento, media 4,98 mg/dl (DS: 3,36); día 1: media 6,43 mg/dl (DS: 5,16); día 2: media 6,55 mg/dl (DS: 4,74); día 8: media 7,55 mg/dl (DS: 3,40). La aplicación de la «t» de Student entre los resultados del pretratamiento y día 8 presentó una  $p = NS$  (Fig. 5).

La evolución temporal del ratio a,1AT/actividad antielastasa x 100 del esputo de pacientes con FQ fue la siguiente: pretratamiento, media 27,38 (DS: 8,86); día 1: media 79,75 (DS: 54,35); día 2: media 53,88 (DS: 12,68); día 8: media 30,13 (DS: 23,36). La aplicación de la «t» de Student entre el pretratamiento y día 8 resultó una  $p = NS$ .

No ocurrieron reacciones adversas después de los aerosoles de a,1AT en ninguno de los pacientes estudiados.

Los resultados en la valoración de los aspectos clínicos se reflejan en la tabla I. La intensidad de la tos disminuyó en un paciente, aumentó en otro y persistía sin cambios en dos pacientes.

La cantidad de esputo se mantuvo igual entre el pretratamiento y día 8 en los cuatro pacientes. El porcentaje de neutrófilos en el esputo se encontraba disminuido en tres pacientes y aumentado en uno, entre el pretratamiento y día 8. La celularidad se mantuvo igual en los cuatro pacientes en todos los períodos. Las pruebas funcionales respiratorias (PFR) efectuadas en el pretratamiento y día 8, presentaron una FVC discretamente mejorada en tres pacientes y uno no colaboró en la realización de las mismas (tabla I). La valoración de Shwachman fue de 95 en el paciente número 1, 65 en el 2, 45 en el 3 y 35 en el 4. La valoración de Tausing fue de 77 en el paciente número 1, 57 en el 2, 55 en el 3 y no valorable en el paciente número 4, por falta de colaboración para realizar PFR. Todos los pacientes presentaban colonización por *Pseudomonas aeruginosa*.

Las mutaciones genéticas de los pacientes estudiados fueron las siguientes: Delta-F508/OTRA en tres pacientes y R334W/N1303K en un paciente.

## Discusión

La valoración de los resultados con un número tan pequeño de pacientes no tiene significado estadístico, solamente se comprue-

**Tabla I** Diferencias entre el período pretratamiento y día 8 de los aspectos clínicos

Paciente	Nº 1	Nº 2	Nº 3	Nº 4
Intensidad tos	SC	SC	A	D
Cantidad esputo	SC	SC	SC	SC
(%) neutrófilos	D	D	D	A
Celularidad esputo	SC	SC	SC	SC
PFR: FVC	A	A	A	*
Valor. Shwachman	SC	SC	SC	SC
Valor. Tausing	SC	SC	SC	*
Colonización con PA	SC	SC	SC	SC

SC: sin cambios; A: aumenta; D: disminuye; \*: no colaboración.

ba que la metodología utilizada puede ser útil para realizar un estudio posterior con mayor número de pacientes.

Sin embargo, es evidente que se produce un aumento de la a,1-AT en esputo, desde que se inicia la administración de la prolantina en aerosol, debiendo, pues, estar aumentada en las paredes del epitelio pulmonar, con lo cual se puede llegar a conseguir en efecto la inactivación de la elastasa producida por los polimorfonucleares por esta a,1-AT, pues la medida de la elastasa-PMN en el pretratamiento (59,66 mg/dl) disminuyó al día 8 (43,92 mg/dl), aunque no fue significativa estadísticamente.

Por otra parte, el aumento de la actividad antielastasa en el esputo, respecto al del período pretratamiento (74,38 mg/dl) al día 8 (126,25 mg/dl), sugiere que la administración de prolantina mejora la situación de defensa ante la infección por *Pseudomonas aeruginosa* del tracto respiratorio, semejante a los hallazgos de otros autores<sup>(5)</sup>.

En resumen, estos resultados alentan a que el tratamiento con prolantina en aerosol podría prevenir las lesiones del tejido respiratorio producidas por la elastasa-PMN e incrementaría los mecanismos defensivos del tracto respiratorio, evitando el progreso de las lesiones pulmonares en los pacientes con FQ.

## Bibliografía

- Bruce MC, Poncz L, Klinger JD, Stern RC, Tomashefski JF, Dearborn DF. Biochemical and pathological evidence for proteolytic destruction of lung connective tissue in cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1985;**132**:529-535.
- Suter S, Schaad UB, Tegner H, Ohlsson K, Desgrandchamps D, Walvogel FA. Levels of free granulocyte elastase in bronchial secretions from patients with cystic fibrosis: effects of antimicrobial treatment against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis* 1986;**143**:902-909.
- Goldstein W, Döring G. Lysosomal enzymes from polymorphonuclear leukocytes and protease inhibitors in patients with cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1986;**134**:49-56.
- Vogelmerier C, Hubbard RC, Fells GA, Schnebli HP, Thompson RC, Fritz H, Crystal RG. Anti-neutrophil elastase defense of the normal human respiratory epithelial surface provided by the secretory leukoprotease inhibitor. *J Clin Invest* 1991;**87**:482-488.
- Birrer P. Proteases and antiprotease in CF: Pathogenetic considerations and therapeutic strategies. EN: Book of Abstracts. 19th European Cystic Fibrosis Conference. París, 29 mayo - 3 junio 1994 (L20).