

Importancia de la medición de la interleucina 6 en suero como mediador de inflamación sistémica en pacientes con deficiencia de alfa-1-antitripsina

S. Vilà, M. Miravittles, F. Campos^a, C. de la Roza, R. Segura^a, F. Morell y R. Vidal

Servicios de Neumología y ^aBioquímica. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

El objetivo de este estudio fue conocer si la actividad inflamatoria sistémica que presentan los enfermos con deficiencia de alfa-1-antitripsina (DAAT) puede estar condicionada en parte por concentraciones circulantes elevadas de interleucina (IL) 6 y/o de su receptor soluble (RSIL-6). Con este objetivo se cuantificaron las concentraciones de la IL-6 y del RSIL-6 en suero de 7 pacientes con DAAT en fase estable. La edad media de los pacientes era de 51 años (DE, 5,2) y el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) medio, del 35,5% (DE, 15%). La concentración de la IL-6 y de su RSIL-6 se comparó con las concentraciones de estas sustancias en un grupo de 23 pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) sin DAAT y con similar alteración funcional respiratoria (edad media, 63 años [DE, 10,1], FEV₁, del 38,3% [DE, 11%]).

Los pacientes con DAAT presentaron unos valores medios de IL-6 de 4,7 pg/ml (amplitud intercuartil [AI], 4,0) y de RSIL-6 de 29,1 ng/ml (AI, 31,5). Los pacientes con EPOC presentaron unos valores de IL-6 de 4,1 pg/ml (AI, 4,2) y de RSIL-6 de 140,8 ng/ml (AI, 71). No se observaron diferencias significativas entre las concentraciones halladas para ambas citocinas entre los pacientes con DAAT y el grupo EPOC (prueba no paramétrica de la U de Mann-Whitney; $p > 0,05$). Tan sólo un paciente con DAAT presentó concentraciones de IL-6 por encima de las consideradas normales.

En conclusión, las concentraciones séricas de IL-6 y RSIL-6 en pacientes con DAAT no son diferentes de las halladas en pacientes con EPOC con similar alteración funcional respiratoria y concentraciones normales de alfa-1-antitripsina (AAT). Estos resultados no apoyan el papel de dicha citocina en la estimulación inflamatoria sistémica en pacientes con DAAT.

Palabras clave: Deficiencia de alfa-1-antitripsina. Interleucina 6 (IL-6). Receptor soluble de la interleucina 6 (RSIL-6). Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

Importance of serum interleukin-6 as a mediator of systemic inflammation in patients with alpha-1 antitrypsin deficiency

The objective of this study was to determine whether high concentrations of circulating interleukin-6 (IL-6) and/or the soluble receptor of IL-6 (SRIL-6) may mediate systemic inflammatory activity in patients with alpha-1 antitrypsin deficiency (AATD). To that end we assessed serum concentrations of IL-6 and SRIL-6 for 7 patients with AATD in stable phase. The patients' mean age was 51 years (SD 5.2); mean FEV₁ was 35.5% (SD 15%). IL-6 and SRIL-6 concentrations were compared with those of 23 non-AATD patients with COPD but with similar changes in lung function (mean age 63 years, SD 10.1; FEV₁ 38.3%, SD 11%).

The AATD patients had mean IL-6 concentrations of 4.7 pg/mL (interquartile range [IR] 4.0) and SRIL-6 levels of 129.1 ng/mL (IR 31.5). The COPD patients had IL-6 concentrations of 4.1 pg/mL (IR 4.2) and SRIL-6 levels of 140.8 ng/mL (IR 71). No significant differences between the AATD group and the COPD group were observed for either cytokine (non-parametric Mann Whitney U test, $p > 0.05$). Only one AATD patient had an IL-6 concentration that was higher than normal.

In conclusion, the serum IL-6 and SRIL-6 concentrations of patients with AATD are not different from those of patients with COPD, similarly altered respiratory function and normal alpha-1 antitrypsin levels. These results do not point to a role for alpha-1 antitrypsin in systemic inflammatory stimulation in patients with AATD.

Key words: Alpha-1 antitrypsin deficiency. Interleukin-6 (IL-6). Soluble receptor of IL-6 (SRIL-6). Chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

Introducción

La deficiencia de alfa-1-antitripsina (DAAT) es una enfermedad hereditaria caracterizada por una disminu-

ción de las concentraciones séricas de esta proteína que se manifiesta clínicamente por una predisposición elevada a desarrollar enfisema pulmonar en edades tempranas de la vida¹. Además, estudios realizados *in vivo* demuestran que enfermos con DAAT presentan una respuesta inmunitaria mediada por células aumentada que se manifiesta, entre otras, por una reacción exagerada y temprana a la prueba de la tuberculina². También se ha observado un mayor riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide, uveítis anterior o lupus eritematoso sistémico en los pacientes con defi-

Este trabajo ha sido financiado en parte con una beca de la Fundació La Marató de TV3. La Dra. Sara Vilà ha recibido una beca "Becario SEPAR" 1998-1999 y una beca de la Societat Catalana de Pneumologia (SOCAP) 1999.

Correspondencia: Dra. S. Vilà.
Servicio de Neumología. Hospital Universitario Vall d'Hebron.
P.º Vall d'Hebron, 119-129. 08035 Barcelona.
Correo electrónico: saravv@hg.vhebron.es

Recibido: 27-7-2001; aceptado para su publicación: 8-2-2002.

TABLA I
Características clínicas y analíticas del grupo de enfermos con deficiencia de alfa-1-antitripsina (DAAT)

Paciente	Edad (años)	Paquetes-años	FEV ₁ (ml)	FEV ₁ (%)	FEV ₁ /FVC	Alfa-1-antitripsina (mg/dl)	Fenotipo Pi	IL-6 (pg/ml)	RSIL-6 (ng/ml)
1	47	10	1.060	41	45	37	ZZ	2,6	120,5
2	51	32	2.200	58	45	31	ZZ	6,1	106,5
3	47	0	706	29	41	37	ZZ	5,6	133,5
4	49	8	1.630	50	55	35	ZZ	4,7	196,4
5	54	10	734	21	38	23	ZZ	12,8	138
6	51	33	607	16	29	25	ZZ	2	129,1
7	62	15	786	34	53	23	Mmaltón	2,1	87,6

ciencias graves de esta enzima, que pueden ser consecuencia de una alteración de la tolerancia inmunitaria³.

La actividad inflamatoria sistémica en pacientes con DAAT se ha atribuido en parte a la acción de la IL-6. Esta molécula actúa como mediador de la síntesis y liberación de AAT en el hígado⁴, así como en otros órganos y tejidos⁵. En pacientes con DAAT podría existir una concentración aumentada de IL-6 a consecuencia de una falta de inhibición debida a las bajas concentraciones de AAT circulante. Este mecanismo de regulación no ha sido estudiado previamente. El RSIL-6 actúa potenciando la acción de la IL-6, por lo que su determinación debe complementar la cuantificación de la IL-6 sérica⁶.

Mediante este estudio se pretendió comprobar si la actividad inflamatoria sistémica en los pacientes con DAAT podría estar desencadenada por concentraciones circulantes elevadas de IL-6 y/o su receptor soluble.

Método

Se trata de un estudio transversal dirigido a conocer la importancia de la IL-6 como marcador de inflamación sistémica en pacientes con enfisema por DAAT.

Se ha escogido para participar en el estudio a los 7 enfermos con DAAT que seguían controles en la consulta externa monográfica del servicio de neumología y que cumplían los siguientes criterios de inclusión: *a*) valores de AAT en plasma inferiores al 35% de la normalidad (< 50 mg/dl); *b*) fenotipo PiZZ o cualquier otro deficiente en su forma homocigota; *c*) evidencia de enfisema con una alteración funcional demostrada por un volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) < 80% del predicho más un cociente FEV₁/capacidad vital forzada (FVC) < 70%, y *d*) no estar siguiendo tratamiento sustitutivo con AAT intravenosa en el momento del estudio.

Los resultados se han comparado con los obtenidos en un grupo de 23 pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) sin DAAT que cumplían las siguientes características: *a*) edad superior a 40 años; *b*) obstrucción crónica al flujo aéreo demostrada por un FEV₁ < 80% más un cociente FEV₁/FVC < 70%; *c*) fumadores o ex fumadores con un consumo de tabaco acumulado superior a 15 paquetes-año; *d*) test broncodilatador negativo, y *e*) concentraciones de AAT dentro de los límites de la normalidad, así como fenotipo Pi (*proteinase inhibitor*) no deficitario.

La espirometría y la prueba broncodilatadora se realizaron según la normativa SEPAR⁷, siempre en fase estable y transcurridas al menos 4 semanas después de la última agudización. La prueba broncodilatadora se consideró negativa si la diferencia entre el FEV₁ antes y después de realizar 2 inhalaciones de salbutamol vía MDI con cámara inhalatoria era inferior a 200 ml y al 12%. Los valores de referencia utilizados en la espirometría fueron los de Roca et al⁸.

También en fase estable se obtuvo una muestra de sangre periférica para cuantificar la concentración de AAT mediante nefelometría y el fenotipo Pi según técnica de isoelectroenfoque tal como se ha descrito previamente⁹. Las concentraciones normales de la AAT en nuestro laboratorio se encuentran entre 95 y 200 mg/dl.

La concentración de la IL-6 así como la del RSIL-6 se cuantificaron en suero. La determinación de ambas moléculas se realizó por duplicado mediante una técnica de ELISA (Bender Medsystems). El coeficiente de variación de la técnica para la cuantificación de la concentración de la IL-6 fue del 8,8% para una concentración de 5,6 pg/ml y el del RSIL-6 fue del 8,9% para una concentración de 146 pg/ml¹⁰. Los valores de referencia se obtuvieron de un grupo de 15 controles sanos y los valores medios hallados fueron de 5,3 pg/ml (desviación estándar [DE], 2,6) para la IL-6 y de 144 ng/ml (DE, 39,8) para el RSIL-6.

Se han calculado las medias y desviaciones estándar de las distintas variables en los grupos de estudio. Las variables cuantitativas entre los grupos se han comparado mediante la prueba de la *t* de Student y las variables cualitativas mediante la prueba de la χ^2 . Como las concentraciones de la IL-6 y del RSIL-6 no seguían una distribución normal se han calculado las medianas y la amplitud intercuartil. La comparación de estas variables entre los pacientes con EPOC y el grupo con DAAT se realizó mediante la prueba de la *U* de Mann-Whitney. Se ha considerado significativa una *p* < 0,05.

Resultados

El grupo de enfermos con DAAT estaba compuesto por 7 pacientes, cuatro eran varones y tres eran mujeres. Seis enfermos presentaban el fenotipo PiZZ y una enferma presentaba el fenotipo deficiente Pi Mmaltón que condiciona una deficiencia grave con concentraciones de AAT en sangre similares a las de los pacientes con fenotipo PiZZ. La edad media de los pacientes del grupo DAAT fue de 51 años (DE, 5,2) y el FEV₁ posbroncodilatador del 35,5% (DE, 15). En la tabla I se detallan las características clínicas y funcionales de cada uno de los pacientes con DAAT.

El grupo de enfermos con EPOC sin DAAT estaba compuesto por 23 pacientes, de los que 22 (95%) fueron varones. La edad media de los pacientes fue de 63 años (DE, 10,1) y el FEV₁ posbroncodilatador del 38,3% (DE, 11). Como era de esperar, destaca que los pacientes con DAAT fueron significativamente más jóvenes y menos fumadores, a pesar de lo cual presentaban una alteración similar en su función pulmonar (tabla II). El tratamiento administrado a los pacientes así como las concentraciones medianas de IL-6 y de RSIL-6 en el

grupo de pacientes con DAAT y en los pacientes con EPOC se exponen en la tabla II. No se hallaron diferencias significativas entre los valores mostrados por ambos grupos.

Discusión

Los pacientes con DAAT presentaron unas concentraciones séricas de IL-6 y RSIL-6 similares a las obtenidas en un grupo de pacientes con EPOC, con una gravedad similar de su afección pulmonar pero sin DAAT. Estos resultados sugieren que en pacientes con DAAT la IL-6 no es un mediador importante de inflamación sistémica.

La IL-6 ha demostrado ser un factor decisivo en la liberación de AAT por el hepatocito. Tras la estimulación con IL-6 de células Hep G2 (línea celular derivada de carcinoma hepático) se produce un aumento en la transcripción para la AAT⁴. Diversos investigadores han postulado que la IL-6 actuaría como mediador en la liberación aumentada de AAT que ocurre en situaciones de estrés, como en las agudizaciones de la EPOC¹¹. En efecto, un estudio reciente demostró concentraciones superiores de IL-6 en esputo en pacientes con EPOC que sufrían más agudizaciones comparado con aquellos que sufrían menos episodios¹². También el RSIL-6 ha demostrado ser un factor que incrementa la expresión del gen de la AAT¹³.

Los pacientes con DAAT presentan una reacción inflamatoria exagerada a diversos estímulos e incluso presentan un riesgo superior de padecer enfermedades autoinmunes³. Fundamentalmente se ha descrito una alteración en los mecanismos inflamatorios y de la inmunidad celular, mientras que la inmunidad humoral se encuentra conservada¹⁴. Estos procesos inflamatorios han sido poco estudiados y la conexión entre la deficiencia y el incremento de las concentraciones sistémicas es aún desconocida. Una posibilidad sería que las concentraciones séricas bajas de AAT no fueran capaces de inhibir la producción de IL-6 y las concentraciones elevadas de esta citocina justificaran una mayor activi-

dad inflamatoria en pacientes con DAAT. Si esta hipótesis fuera cierta, los pacientes con DAAT deberían tener concentraciones séricas elevadas de IL-6 y/o RSIL-6. En el presente trabajo no hemos podido demostrar que los pacientes con DAAT presenten concentraciones de IL-6 y/o RSIL-6 superiores a las de los pacientes con EPOC sin DAAT. Además, las concentraciones halladas se encuentran en el intervalo de valores observado en nuestro laboratorio en individuos sanos. Estos hallazgos están en contra de atribuir un papel a la IL-6 como mediador responsable del incremento en la actividad inflamatoria en individuos con DAAT.

El presente estudio tiene algunas limitaciones, en primer lugar el número de pacientes con DAAT estudiado es reducido, aunque debido a la baja prevalencia de esta enfermedad es muy difícil poder estudiar con detalle grupos más amplios¹⁵. El hallazgo de que uno de los 7 pacientes presentó concentraciones elevadas de IL-6 sugiere que en poblaciones más amplias un subgrupo de pacientes con DAAT podría tener concentraciones elevadas de IL-6. Solamente con el estudio de grupos más amplios podría confirmarse esta hipótesis, de significado incierto si afectara sólo a pocos casos. En segundo lugar, podría ocurrir que la IL-6 actuara como mediador en fases de agudización, para demostrarlo se debería ampliar el estudio incluyendo a pacientes en fase agudizada. Sin embargo, la similitud en las concentraciones de IL-6 y RSIL-6 entre pacientes con DAAT y pacientes con EPOC hace suponer que tampoco existirían diferencias importantes entre ambos grupos de estudio en períodos de agudización.

En resumen, por los resultados del presente estudio no parece que la IL-6, a pesar de su función como activador de la transcripción de AAT, tenga un papel en el incremento de la actividad inflamatoria inespecífica que se observa asociada a la deficiencia de AAT. Si estos resultados se confirmaran en series más amplias, supondrían que el posible tratamiento de las alteraciones inflamatorias en pacientes con DAAT con inhibidores de IL-6 no sería de utilidad.

TABLA II
Comparación entre las características clínicas y analíticas de los dos grupos de estudio

	EPOC (n = 23)	DAAT (n = 7)	p
Edad, años	63 (10,1)	51 (5,2)	0,006
Paquetes-años	50 (22,8)	10 (12,4)	0,001
FEV ₁ (ml)	1.139 (464)	1.103 (594)	0,86
FEV ₁ (%)	38,3 (11)	35,5 (15)	0,61
Tratamiento, n (%)			
β ₂ adrenérgicos	20 (87%)	6 (85,7%)	0,07
Bromuro de ipratropio	23 (100%)	7 (100%)	NA
Corticoides inhalados	22 (95,6%)	7 (100%)	NA
Teofilinas	6 (26%)	3 (42,8%)	0,6
Alfa-1-antitripsina (mg/día)	169 (38,8)	31 (6,4)	< 0,001
IL-6 (pg/dl)	4,1 (4,2)	4,7 (4)	0,47
RSIL-6 (ng/dl)	140,8 (71)	129,1 (31,5)	0,38

Los valores corresponden a la media. Entre paréntesis las desviaciones estándar. Los valores de IL-6 y de RSIL-6 se presentan como mediana y amplitud intercuartil. NA: prueba de χ^2 no aplicable. EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; DAAT: deficiencia de alfa-1-antitripsina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Stockley RA. Alpha-1-antitrypsin deficiency: what next? *Thorax* 2000;55:614-8.
2. Breit SN, Robinson JP, Luckhurst E, Clark P, Penny R. Immunoregulation by alpha 1 antitrypsin. *J Clin Lab Immunol* 1982;7:127.
3. Breit SN, Wakelfield D, Robinson JP, Luckhurst E, Clark P, Penny R. The role of alpha-1-antitrypsin deficiency in the pathogenesis of immune disorders. *Clin Immunol* 1985;35:363-80.
4. Hafeez W, Ciliberto G, Perlmutter DH. Constitutive and modulated expression of the human alpha-1-antitrypsin gene-different transcriptional initiation sites used in three different cell types. *J Clin Investig* 1992;89:1214-22.
5. Cichy J, Potempa J, Travis J. Biosynthesis of alpha-1-proteinase inhibitor by human lung-derived epithelial cells. *J Biol Chem* 1997;272:8250-2.
6. Jones SA, Horiuchi S, Topley N, Yamaamoto N, Fuller GM. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *FASEB J* 2001;15:43-58.
7. Grupo de Trabajo de la SEPAR para la Práctica de la Espirometría en Clínica. Normativa para la práctica de la espirometría forzada. *Arch Bronconeumol* 1989;25:132-42.

VILÀ S, ET AL. IMPORTANCIA DE LA MEDICIÓN DE LA INTERLEUCINA 6 EN SUERO COMO MEDIADOR DE INFLAMACIÓN SISTÉMICA EN PACIENTES CON DEFICIENCIA DE ALFA-1-ANTITRIPSINA

8. Roca J, Sanchis J, Agusti-Vidal A, Segarra F, Navajas D, Rodríguez-Roisín R, et al. Spirometric reference values from a Mediterranean population. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1986;22:217-24.
9. Vidal E, Miravittles M, Jardí R, Torrella M, Rodríguez-Frías F, Moral P, et al. Estudio de la frecuencia de los diferentes fenotipos de la alfa-1-antitripsina en una población de Barcelona. *Med Clin (Barc)* 1996;107:211-4.
10. Helle M, Boeiije L, De Groot E, De Vos A, Aarden L. Sensitive ELISA for interleukin-6. Detection of IL-6 in biological fluids: synovial fluids and sera. *J Immunol Methods* 1991;138:47-56.
11. Morgan K, Scobie G, Marsters P, Kalsheker NA. Mutation in an α_1 -antitrypsin enhancer results in an interleukin-6-deficient acute-phase response due to loss of cooperativity between transcription factors. *Biochim Biophys Acta* 1997;1362:67-76.
12. Bhowmik A, Seemungal TAR, Sapsford RJ, Wedzicha JA. Relation of sputum inflammatory markers to symptoms and lung function changes in COPD exacerbations. *Thorax* 2000;55:114-20.
13. Cichy J, Rose-John S, Travis J. Oncostatin-M, leukaemia-inhibitory factor and interleukin-6 trigger different effects on α_1 -proteinase inhibitor synthesis in human lung derived epithelial cells. *Biochem J* 1998;329:335-9.
14. Miravittles M, De Gracia J, Rodrigo M, Cruz MJ, Vendrell M, Vidal R, et al. Specific antibody response against the 23-valent pneumococcal vaccine in patients with alpha(1)-antitrypsin deficiency with and without bronchiectasis. *Chest* 1999;116:946-52.
15. Miravittles M, Vidal R, Barros-Tizón JC, Bustamante A, España PP, Casas F, et al. Usefulness of a national Registry of alpha-1-antitrypsin deficiency. The Spanish experience. *Respir Med* 1998;92:1181-7.