



Validation of a method for measuring the antielastolytic activity of human circulating alpha1-antitrypsin

Autora del comentario: Dra. Beatriz Martines Delgado. *Instituto de Salud Carlos III (Madrid).*

Magali Dechomet, Farid Zerimech, Colette Chapuis-Cellier, Christine Lombard, Malika Balduyck.

Ann Biol Clin (Paris). 2024 Aug 30;82(3):308-320. doi: 10.1684/abc.2024.1893.

El estudio se basa en la importancia que tiene para el DAAT el determinar la capacidad de la alfa-1 antitripsina (A1AT) de inhibir la elastasa del neutrófilo, una enzima liberada durante la inflamación. Esta inhibición es crucial para evitar la degradación del tejido pulmonar. En particular, la variante Z está relacionada con una disminución significativa en la actividad de la A1AT, lo que lleva a una mayor susceptibilidad a enfermedades pulmonares. La existencia de variantes de A1AT con fenotipo y concentración sérica aparentemente sin alteraciones, en contraste con un cuadro clínico sugestivo de la existencia de un déficit severo, llevó a los autores a investigar, en estos casos, una disminución o incluso una supresión de la capacidad de la A1AT para inhibir la elastasa.

Los autores desarrollaron una adaptación del método espectrofotométrico cinético de medición de la actividad anti-elastasa (PAES), originalmente descrito por Klumpp y Bieth. Este método se validó en dos laboratorios en Francia, en los hospitales de Lille y Lyon. A través de este proceso, se logró estandarizar el protocolo para medir la actividad de inhibición de la elastasa en el suero, garantizando la consistencia de los resultados entre los laboratorios.

El método desarrollado se basa en la capacidad de la A1AT para inhibir la actividad de la elastasa pancreática de cerdo (EPP), que se mide usando un sustrato cromogénico (SucAla3pNA). El ensayo mide la actividad restante de la EPP tras su exposición a la A1AT en el suero. Esta adaptación permitió determinar con precisión la funcionalidad de la A1AT en diferentes muestras de suero, lo que ofrece una herramienta clave para evaluar deficiencias funcionales, tanto genéticas como adquiridas. El estudio también aborda el impacto de factores externos, como los oxidantes y el humo del cigarrillo, que pueden reducir la función de la A1AT. Esto ocurre a través de la oxidación de la metionina en la posición 358 de la A1AT, lo que compromete su capacidad para inhibir la elastasa. Se analizaron muestras de suero de una población bruta de 9387 pacientes de entre 1 mes y 92 años, con un 76,4 % de sujetos con fenotipo M, 10,1 % con fenotipo MS, 8 % con fenotipo MZ, 0,6 % con fenotipo S (n = 59), 1,6 % con fenotipo SZ y 3,1 % con fenotipo Z.



DAATNEWS

AL DÍA EN ALFA-1-ANTITRIPSINA

El estudio validó el método siguiendo los estándares de calidad EN ISO 15189 y utilizando controles de calidad internos para garantizar la repetitividad y fidelidad de las mediciones. Ambos laboratorios mostraron resultados consistentes en la repetitividad y fidelidad de las mediciones del PAES. Además, los autores realizaron análisis estabilidad de reactivos y sensibilidad para asegurar que los resultados fueran consistentes y aplicables en diferentes entornos clínicos.

Uno de los resultados obtenidos fue la correlación entre la actividad anti-elastasa (PAES) y la concentración sérica de A1AT. Establecieron que existe una relación lineal que permite calcular la actividad anti-elastasa esperada en función de la concentración de A1AT, lo que ayuda a identificar pacientes con deficiencias funcionales. Además, se introdujo un índice de funcionalidad (IF) que compara la actividad medida con la actividad teórica, proporcionando una medida adicional para evaluar el desempeño de la A1AT en situaciones clínicas. De esta forma, un sujeto con fenotipo clínico pulmonar obstructivo, sin déficit de A1AT y con un IF por debajo del rango esperado, podría ser objeto de investigaciones complementarias para buscar la posible presencia de un variante disfuncional.

El estudio también exploró la influencia de factores como la hemólisis, o la ictericia, añadiendo a un pool de suero hemoglobina a diferentes concentraciones, determinando que, dentro de ciertos límites, estos no afectan significativamente los resultados. Asimismo, se evaluó la estabilidad de los reactivos y del PAES, encontrando que los sueros pueden ser almacenados durante varios días sin afectar la precisión de las mediciones.

Finalmente, los autores proponen la creación de un programa inter-laboratorio para asegurar la precisión continua de las mediciones de PAES. La implementación de este método y su validación permiten una evaluación más precisa de la funcionalidad de la A1AT en pacientes, lo que es crucial para el diagnóstico temprano y la evaluación de diferentes condiciones clínicas asociadas con la deficiencia de A1AT.

Este estudio ofrece una herramienta valiosa para determinar cuando existen deficiencias funcionales tanto genéticas como adquiridas. La validación de la metodología llevada a cabo garantiza que pueda ser aplicable en diferentes laboratorios.

Referencia

Klumpp T, Bieth JG. Automated measurement of the elastase- inhibitory capacity of plasma with a centrifugal analyzer. Clin Chem 1979 ; 25 : 969-72.