

La elastasa granulocitaria como marcador de inflamación peritoneal

J. Teixidó *, J. Bonal *, M. C. Pastor **, A. Serra *, M. de Ramón **, R. Romero *, J. Bonet *, R. Lauzurica * y A. Caralps *

* Servei de Nefrologia. ** Laboratori. Hospital de Badalona Germans Trías i Pujol. Badalona (Barcelona).

RESUMEN

La elastasa granulocitaria es una proteasa neutra capaz de degradar sustratos biológicos como la elastina, el colágeno, los proteoglicanos y la fibronectina. Se halla en los macrófagos y en los granulocitos neutrófilos y eosinófilos.

Por enzimoimmunoensayo se ha determinado el complejo alfa-1-plasmainhibidor en plasma y en el efluente peritoneal de 10 pacientes estables en DPAC y cuando presentaron peritonitis neutrófila o eosinófila. También se determinó la elastasa plasmática en 30 sujetos normales.

La elastasa plasmática de los pacientes sin peritonitis fue $144 \pm 40 \mu\text{g/l}$. y no era diferente de la de los 30 sujetos normales ($122 \pm 57 \mu\text{g/l}$). La elastasa peritoneal en los 10 pacientes de DPAC sin peritonitis era $48 \pm 31 \mu\text{g/l}$.

En la peritonitis bacteriana la elastasa plasmática ($360 \pm 255 \mu\text{g/l}$) y la peritoneal ($2.079 \pm 1.945 \mu\text{g/l}$) se elevaron significativamente. Las cifras de elastasa peritoneal se correlacionaron con la celularidad peritoneal ($r = 0,9$, $p < 0,01$).

En la peritonitis eosinófila la elastasa peritoneal aumentó significativamente ($312 \pm 296 \mu\text{g/l}$) y se correlacionó con la celularidad peritoneal ($r = 0,7$, $p < 0,01$), pero no hubo aumento de la elastasa plasmática ($144 \pm 25 \mu\text{g/l}$).

En conclusión, la elastasa peritoneal aumenta en los pacientes de DPAC durante la peritonitis neutrófila o eosinófila. Esta elevación de elastasa puede afectar la membrana peritoneal y producir pérdida de ultrafiltración.

Palabras clave: **Elastasa. Membrana peritoneal.**

GRANULOCYTE ELASTASE AS MARKER OF PERITONEAL INFLAMMATORY

SUMMARY

Granulocyte elastase is a neutral protease, capable of degrading biological substrates such as elastin, collagen, proteoglycans and fibronectin. It is found in macrophages and in polymorphonuclear granulocytes either neutrophilic or eosinophilic.

Granulocyte elastase (alpha-1-plasma-inhibitor complex determined by enzyme-immunoassay) and white blood cell count were measured in plasma and peritoneal effluent in 10 stable CAPD patients without peritonitis. The same determinations were measured during an episode of neutrophilic or eosinophilic peritonitis.

Results: Basal peritoneal elastase in CAPD patients ($48 \pm 31 \mu\text{g/l}$) increases

Correspondencia: Josep Teixidó Planas.
Servei de Nefrologia.
Hospital de Badalona Germans Trías i Pujol.
Apartat de Correus 72.
08915 Badalona (Barcelona).

significantly in eosinophilic peritonitis ($312 \pm 296 \mu\text{g/l}$) ($p < 0.05$) and increases further in neutrophilic (bacterial) peritonitis ($2,079 \pm 1,945 \mu\text{g/l}$) ($p < 0.01$). These increments correlate with peritoneal cellularity.

Plasma elastase is not significantly different from healthy control subjects ($122 \pm 57 \mu\text{g/l}$) in patients on CAPD membrane peritoneal ($141 \pm 40 \mu\text{g/l}$) or in eosinophilic peritonitis ($144 \pm 25 \mu\text{g/l}$) but increases in neutrophilic peritonitis ($360 \pm 255 \mu\text{g/l}$) ($p < 0.01$).

In conclusion: peritoneal granulocyte elastase increases in CAPD patients during bacterial or eosinophilic peritonitis. This elastase generation could alter the peritoneal membrane and lead to loss of ultrafiltration.

Key words: **Elastase. Peritoneal membrane. Neutrophilic peritonitis. Eosinophilic peritonitis. CAPD.**

Introducción

La elastasa granulocitaria es una proteasa neutra que se halla en los lisosomas de los granulocitos, especialmente de los polimorfonucleares (PMN), capaz de degradar sustratos biológicos como la elastina, el colágeno fracciones I, II, III y IV, proteoglicanos y fibronectina¹⁻³, jugando un papel importante en la remodelación fisiológica y patológica del tejido conectivo⁴.

Se ha descrito que la elastasa lesiona diversos tejidos, como el pulmonar (elastina), tejido elástico de la pared arterial, membrana basal pulmonar y renal, y los cartílagos articulares y tendinosos⁵⁻⁷.

La elastasa granulocitaria también se halla unida a los macrófagos, internalizada por endocitosis. En el peritoneo los macrófagos peritoneales contienen una elastasa de características similares a la de los macrófagos alveolares^{6, 8}.

Las bacterias, inmunocomplejos, complemento y otros múltiples estímulos provocan la liberación de elastasa, la cual, si excede la concentración de sus inhibidores naturales, lesiona los tejidos y actúa de mediador en la inflamación, estimulando a su vez el quimiotactismo y activando el complemento^{9, 10}.

Hemos estudiado la elastasa peritoneal en la peritonitis bacteriana o neutrófila y la peritonitis eosinófila.

Material y métodos

En 10 pacientes estables en DPCA, tratados con lactato (Dianeal) y sistema UV-XD, se determinó la elastasa granulocitaria y el recuento leucocitario en plasma y en el efuente peritoneal, al realizar los controles analíticos habituales y al hacer el recambio de línea. Las mismas determinaciones se efectuaron

cuando estos pacientes presentaron peritonitis bacteriana o eosinófila. Asimismo, la elastasa granulocitaria plasmática fue determinada en 30 sujetos normales.

Métodos de laboratorio

Se cuantificó el complejo elastasa-alfa-1-plasmainhibidor (o elastasa-alfa-1-antiproteasa) por ensayo inmunoquímico según método de Neuman¹¹. El recuento leucocitario del efuente peritoneal se efectuó en cámara de Neubauer.

Resultados

La elastasa peritoneal en situación basal (sin peritonitis) en los pacientes de DPCA fue de $48 \pm 31 \mu\text{g/l}$. y aumentó significativamente en la peritonitis eosinófila ($312 \pm 296 \mu\text{g/l}$) ($p < 0,05$), así como en la peritonitis neutrófila (bacteriana) ($2.079 \pm 1.945 \mu\text{g/l}$) ($p < 0,01$) (tabla I) (fig. 1). Se halló correlación positiva entre la celularidad peritoneal y la elastasa en la peritonitis neutrófila ($r = 0,9$, $p < 0,01$) (fig. 2) y en menor grado en la peritonitis eosinófila ($r = 0,7$, $p < 0,01$) (fig. 3).

La elastasa plasmática en situación basal o en la peritonitis eosinófila no se diferenció significativamente de los 30 controles sanos. En cambio, se elevó significativamente en la peritonitis neutrófila ($p < 0,01$) (tabla I).

Discusión

La elevación de la elastasa en las peritonitis es un indicador del proceso inflamatorio en el que intervienen las células portadoras de esta enzima: leucocitos

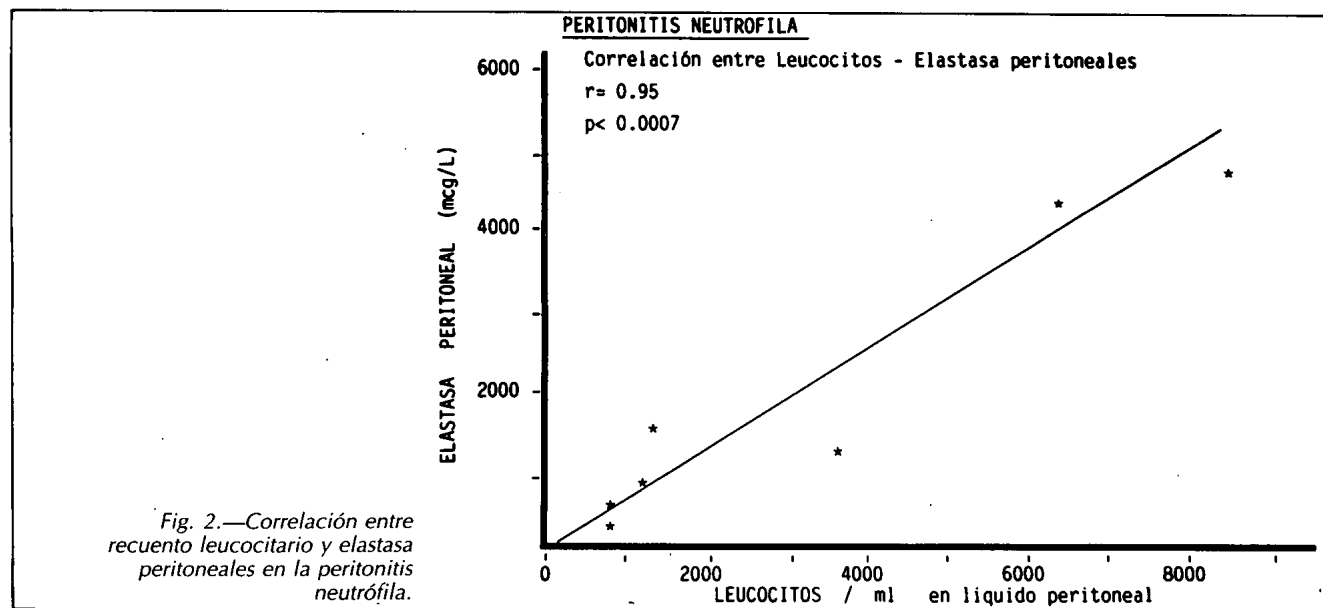
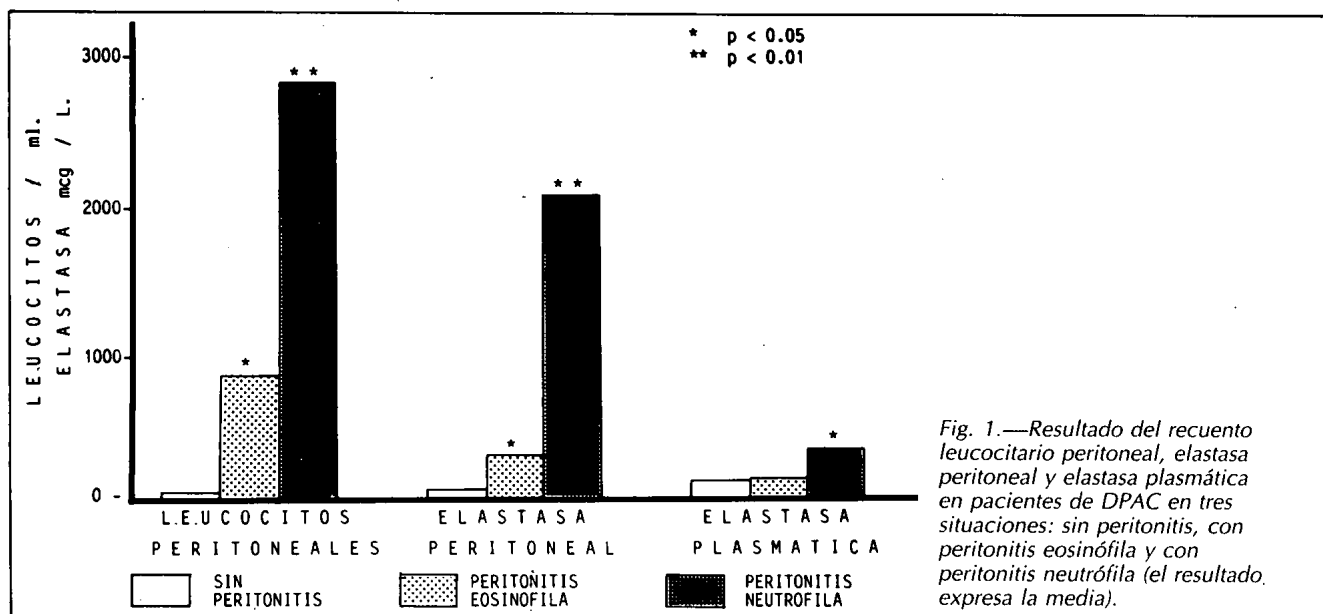
Tabla I

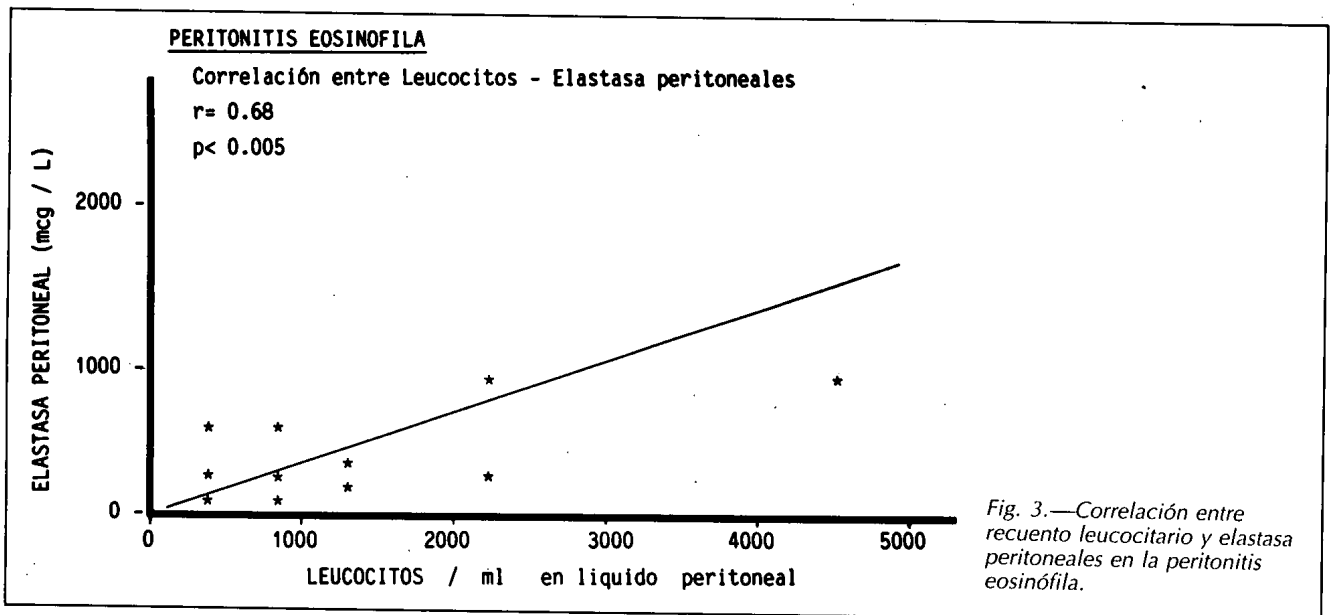
	Sujetos normales	Pacientes de DPCA		
		Basal	P. eosinófila	P. bacteriana
Sujetos	30	10	3	7
Muestras	30	36	11	7
Leucocitos peritoneales (cél/ml.)	—	18 (± 11)	833 (± 732) *	2.805 (± 2.815) **
Elastasa peritoneal (µg/l.)	—	48 (± 31)	§ (± 296) *	§§ (± 1.945) **
Elastasa plasmática (µg/l.)	122 (± 57)	141 (± 40)	144 (± 25)	360 (± 255) **

NOTAS: Los resultados expresan la media ± desviación típica.

* = p < 0,05, ** = p < 0,01 (t de Student).

§ = r = 0,7, p < 0,01; §§ = r = 0,9, p < 0,01 (coeficiente de correlación de Spearman).





neutrófilos, eosinófilos y en menor grado los macrófagos peritoneales. La correlación existente entre los niveles de elastasa y el recuento leucocitario confirma este hecho. Así, aunque la elevación de la elastasa peritoneal es muy precoz en la peritonitis y disminuye rápidamente al mejorar el proceso, no aporta ventajas diagnósticas o de control evolutivo sobre el recuento leucocitario.

Sin embargo, la elastasa es una enzima proteolítica capaz de lesionar tejidos, y su liberación en la peritonitis puede jugar un papel importante en la pérdida de ultrafiltración y en las alteraciones de la transferencia de masas.

Se ha comprobado que en la fase aguda de la peritonitis hay necrosis extensa de las células mesoteliales, quedando el tejido conectivo directamente expuesto a la cavidad abdominal, y sólo algunos fragmentos de células permanecen adheridos a la membrana basal¹².

Los macrófagos peritoneales liberan elastasa no inhibida ante la presencia de estímulos como bacterias o partículas.

Además, la elastasa de los granulocitos neutrófilos, junto con otras proteasas neutras, es vertida a la vacuola fagocítica y digiere la bacteria o partícula sin lesionar la propia célula. Sin embargo, cuando hay gran cantidad de material para digerir, la vacuola puede permanecer abierta, liberando su carga enzimática, la cual —si supera la concentración de sus inhibidores naturales— puede atacar a los tejidos del huésped y aumentar así la reacción inflamatoria^{10, 13, 14}.

De este modo la elastasa liberada en exceso por nos neutrófilos, junto con la elastasa de los macrófagos, puede afectar a la membrana basal, lisando los proteoglicanos, inhibiendo su síntesis¹⁵ y solubili-

zando el colágeno¹⁻³, sustancias que con el ácido hialurónico forman una red de cadenas poliméricas que actúa como filtro y regulan el transporte tanto de disolventes como de solutos¹⁶.

Di Paolo y cols. describen que entre uno y cuatro meses después de un episodio de peritonitis hay zonas del peritoneo en que aún falta el mesotelio, se ha engrosado el tejido conectivo subyacente y pueden verse extensas áreas de fibrosis¹². La pérdida de ultrafiltración definitiva y/o la esclerosis peritoneal desarrollada por algunos pacientes de DPCA se ha relacionado con episodios múltiples o recurrentes de peritonitis, sea de naturaleza infecciosa, aséptica o química¹⁷.

Así, nuestros datos relacionados con los hallazgos de otros autores sugieren la hipótesis de que en la inflamación aguda la elastasa puede lesionar el tejido conectivo de la membrana peritoneal y alterar sus propiedades, produciendo pérdida de ultrafiltración y alteraciones en la transferencia de solutos. La repetición de múltiples episodios puede conducir a la fibrosis peritoneal.

Bibliografía

1. Starkey PM, Barrett AJ y Burleigh MC: The degradation of a articular collagen by neutrophilic proteinases. *Biochim Biophys Acta* 483:386-397, 1977.
2. Starkey PM: The effect of human neutrophil elastase and cathepsin G on the collagen of the cartilage tendon and cornea. *Acta Biol Med Ger* 36:1549-1554, 1977.
3. Mainardi CL, Hasty DL, Seyer JM y Kaug H: Specific cleavage of human type II collagen by human polymorphonuclear leucocyte elastase. *J Biol Chem* 255:12006-12010, 1980.
4. Pastor MC: Elastasa, fisiopatología e interés diagnóstico. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia, Barcelona, 1986.

5. Menninger H, Burkhardt H, Roske W y cols.: Lysosomal elastase: effect on mechanical properties of normal cartilage, inhibition by polysulfonated glycosaminoglycan, and binding to chondrocytes. *Rheumatol Int* 1:73-81, 1981.
6. McGovan SE, Stone PJ, Calore DJ, Snider GL y Franzblau C: The fate of neutrophil elastase incorporated by human alveolar macrophages. *Am Rev Respir Dis* 127:449-485, 1983.
7. Janoff A, Sloon B, Weinbaum G y cols.: Experimental emphysema induced with purified human neutrophil elastase: tissue localization of the instilled protease. *Am Rev Respir Dis* 115:461-478, 1977.
8. Campbell EJ, White RR, Senior RM, Rodríguez RJ y Kuhn C: Receptor mediated binding and internalization of leukocyte elastase by alveolar macrophages in vitro. *J Clin Invest* 64:824-833, 1979.
9. Janoff A: At least three human neutrophil lysosomal proteases are capable of degrading joint connective tissues. *Ann NY Acad Sci* 256:402-408, 1975.
10. Zurier RB, Haoffstein S y Weissmann GJ: Mechanisms of lysosomal enzyme release from human leucocytes. I. Effect on cyclic nucleotides and colchicine. *J Cell Biol* 58:27-41, 1973.
11. Neumann S, Gunzer G, Hennrich H y Lang J: «PMN-elastase assay»: enzyme immunoassay for human polymorphonuclear elastase complexed with alpha 1-proteinase inhibitor. *Clin Chem Biochem* 22:693-697, 1984.
12. Di Paolo N, Sacchi G, De Mia M y cols.: Does dialysis modify the peritoneal structure? In: La Greca G, Chiaramonte S, Fabris A, Feriani M y Ronco C, eds: *Peritoneal dialysis*. Proceedings of second International Course on Peritoneal Dialysis: Wichtig Editore, Milano, 11-24, 1986.
13. Henson PM: The immunologic release of constituents from neutrophil leukocytes. I. The role of antibody and complement on nonphagocytosable surfaces or phagocytosable particles. *J Immunol* 107:1536-1546, 1971.
14. Weissmann G, Zurier RB, Spieler PJ y Goldstein IM: Mechanism of lysosomal enzyme release from leukocytes exposed to immune complexes (falta original).
15. Bartholomew JJ, Lowther DA y Handley CJ: Changes in proteoglycan biosynthesis following leukocyte elastase treatment of bovine articular cartilage in culture. *Arthritis Rheum* 27:905-912, 1984.
16. Gotloib L: Anatomical basis of peritoneal permeability. In: La Greca G, Chiaramonte S, Fabris A, Feriani M y Ronco C, eds: *Peritoneal dialysis*. Proceedings of second International Course on Peritoneal Dialysis, Wichtig Editore, Milano, 3-10, 1986.
17. Ing TS, Daugirdas JT y Gandhi VC: Peritoneal sclerosis in peritoneal dialysis patients. *Am J Nephrol* 4:173-176, 1984.