

Oxidación celular y fármacos mucoactivos antioxidantes

N. González-Mangado^a y J. Morera Prat^b

^aJefe del Servicio de Neumología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

^bJefe del Servicio de Neumología. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

El oxígeno es un elemento imprescindible para la vida, pero es fuente de radicales libres, que si no se neutralizan de forma adecuada pueden tener efectos deletéreos sobre la función celular. Se dice que existe “estrés oxidativo” cuando existe una excesiva exposición a oxidantes y/o una capacidad antioxidante disminuida. En la actualidad no se discute la existencia de evidencias que relacionen la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) con el estrés oxidativo. El humo de tabaco, fuente de oxidantes y radicales libres, es una de las principales causas de EPOC. Estos oxidantes están implicados en el reclutamiento de las células inflamatorias pulmonares y en el secuestro pulmonar de los neutrófilos. A su vez, las mismas células pulmonares, cuando son estimuladas, liberan gran cantidad de oxidantes¹. Además, las infecciones pueden contribuir al estrés oxidativo en los pacientes con una EPOC, facilitando el reclutamiento y la activación de células fagocíticas en el pulmón².

Existen diversos mecanismos por los que los oxidantes pueden causar alteraciones en el pulmón. Los oxidantes reaccionan con muchos componentes celulares, oxidando proteínas, lípidos, ADN, enzimas y componentes de la matriz extracelular, como el colágeno³. El desequilibrio proteasas-antiproteasas ha sido la hipótesis más ampliamente reconocida como origen del enfisema del fumador. Este desequilibrio puede estar originado por un déficit congénito de α -1-antitripsina, pero los oxidantes del humo de tabaco también pueden inactivarla, llevando al pulmón a una situación de sobrecarga de elastasa. De hecho se ha observado que en algunos fumadores existen valores elevados de α -1-antitripsina oxidada y de elastasa de neutrófilo⁴.

La mayoría de los pacientes con una EPOC presenta inflamación en las vías aéreas y en el parénquima. Esta inflamación no sólo es responsable de la limitación al flujo espiratorio, sino que también puede causar fibrosis, hipertrofia de las glándulas y aumento del tono mus-

cular. La acumulación del tejido conectivo y la disminución de la estructura alveolar que rodea las pequeñas vías aéreas amplifican mecánicamente la limitación al flujo por deformación y estrechamiento del lumen. Las células inflamatorias implicadas en la EPOC, neutrófilos, macrófagos y linfocitos fundamentalmente, no son sólo mediadoras de la inflamación sino también fuente de radicales libres, que sumarán su daño oxidativo al producido por el humo de tabaco. Pero, además de los efectos lesivos directos, los oxidantes también promueven la producción de citocinas proinflamatorias, al menos en parte, a través de la activación del NF- κ B, factor de transcripción de numerosos genes de citocinas, y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Se ha visto que el humo del tabaco induce la activación del factor nuclear NF- κ B, de la expresión del colágeno pulmonar y del factor de crecimiento beta (TGF- β), un poderoso agente fibrogénico⁵. Asimismo, la estimulación del TNF- α parece inducir una debilidad muscular que puede repercutir clínicamente en un aumento de la disnea⁴.

La manera más convincente de demostrar la implicación del estrés oxidativo en la EPOC sería medir radicales de oxígeno directamente en el pulmón. Sin embargo, debido a que son altamente reactivos y de vida media corta, su medición directa es difícil y normalmente se valora cuantificando el daño de biomoléculas, como lípidos, proteínas y ADN. La medición de estos biomarcadores ha sugerido que el estrés oxidativo ocurre y causa daño en el pulmón. Existen diversos trabajos que han tratado de medir marcadores de estrés oxidativo en los fumadores. Uno de los más relevantes es el estudio de Dekhuijzen et al⁶, que observaron que durante las exacerbaciones los pacientes con EPOC exhalan más peróxido de hidrógeno (H₂O₂) que los sujetos con EPOC estables o que los sujetos normales. Pero, además, los mecanismos oxidantes están implicados en la patogenia de la fibrosis pulmonar, lo que ha llevado a iniciar estudios experimentales y clínicos en este sentido.

Las defensas antioxidantes del pulmón incluyen sistemas enzimáticos y no enzimáticos, y el glutatión es uno de los más importantes. Dentro del sistema enzimático también se cuenta con la superóxido dismutasa y la catalasa. Entre los antioxidantes no enzimáticos, las vitaminas E y C, los pro- β -carotenos y el ácido úrico son los más representativos. Entre los compuestos farmaco-

Correspondencia: Dr. N. González-Mangado.
Jefe del Servicio de Neumología. Fundación Jiménez Díaz.
Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid.
Correo electrónico: ngonzalez@fjd.es

Recibido: 23-4-01; aceptado para su publicación: 5-6-01.

(Arch Bronconeumol 2001; 37: 407-409)

lógicos antioxidantes, la N-acetil-cisteína (NAC) es el producto que ha tenido más relevancia en los últimos años. La NAC proporciona cisteína a las células, aumentando la producción de glutatión. Las propiedades antioxidantes de la NAC han sido probadas en numerosos estudios clínicos y experimentales. Se ha observado que *in vitro* disminuye el daño producido a las células epiteliales por H₂O₂, previene la inactivación oxidativa de la α -1-antitripsina y la activación del NF- κ B.

Aunque los estudios clínicos son imprescindibles, tienen múltiples problemas en este tipo de pacientes. Por ello, los estudios experimentales *in vivo* en animales pueden aportar información complementaria muy útil. En relación con el humo del tabaco se ha demostrado en ratas un efecto inhibitorio de la NAC sobre las lesiones en las pequeñas vías aéreas y alteraciones del mezclado pulmonar de gases inducidas por el humo de tabaco⁷. En distintos modelos de enfisema se ha observado un marcado incremento del colágeno pulmonar^{8,9} que está en concordancia con el aumento de la expresión de colágeno pulmonar^{8,9}, en concordancia con el aumento de la expresión de colágeno tipo I, tipo III y TGF- β , así como con la observada activación del NF- κ B por el humo del tabaco⁵. Este estudio demostró que en las ratas sometidas al humo del tabaco que además reciben NAC se produce una inhibición casi total de la activación o expresión de estas sustancias, sin presentar valores distintos a los del grupo control. Estos resultados indican que la NAC podría actuar modulando la producción de mediadores y regulando la inflamación y reparación tisular.

Asimismo, se están obteniendo resultados muy interesantes en los diferentes modelos de EPOC en ratas, tanto usando elastasa pancreática, para inducir enfisema panacinar, como usando cloruro de cadmio, para el centrolobulillar, con bloqueo de los mediadores inflamatorios con la NAC en la lesión enfisematosa inducida por elastasa y en las lesiones fibrogénicas inducidas por cloruro de cadmio (datos no publicados).

En los modelos de fibrosis pulmonar, los resultados son incluso más interesantes. Recientemente, diferentes estudios han demostrado que la NAC inhalada¹⁰ o administrada por vía sistémica¹¹ es capaz de inhibir casi por completo la lesión fibrogénica inducida por la bleomicina en ratones y en nuestro modelo experimental en ratas¹² (datos no publicados). También es capaz de inhibir la lesión fibrótica inducida por el cloruro de cadmio, tanto morfológica como funcionalmente.

En humanos se ha observado que la administración oral de NAC incrementa los valores de glutatión en el lavado bronquioloalveolar, suprime la exhalación de H₂O₂¹³ y reduce el número de infecciones virales y colonizaciones bacterianas¹⁴, además de contrarrestar las alteraciones eritrocitarias de los pacientes con una EPOC¹⁵.

Desde 1975 se ha llevado a cabo un buen número de ensayos clínicos que han explorado el efecto protector de la NAC sobre las exacerbaciones de los pacientes con EPOC. Varios metaanálisis, entre ellos la Cochrane Library, han revisado los ensayos clínicos, doble ciego con placebo que se han llevado a cabo¹⁶⁻¹⁹. Si bien la diversidad de los diseños dificultó su análisis, en todos

ellos se llegó a la conclusión de que se producía un beneficio al reducir en alrededor de un 25% el número de exacerbaciones en los pacientes que habían recibido NAC en relación con el placebo. Stey et al¹⁸ valoraron, además, el impacto sobre la sintomatología, confirmando también una reducción significativa de la intensidad de los síntomas en las reagudizaciones. El grupo "Bandolier"¹⁹ también valora los datos de forma positiva. Derivado de ello, se ha publicado un estudio de coste-efectividad con resultado positivo para la NAC, basado en la reducción del número de intensidad de reagudizaciones y de los días de hospitalización²⁰. En un estudio ulterior abierto²¹ se han publicado resultados parecidos corroborados en el último estudio doble ciego²², y se ha observado un retraso en la aparición de la primera exacerbación y un menor número global de exacerbaciones. En general, la mejoría sería más relevante en el subgrupo de pacientes con una EPOC no grave e hipersecretores.

Si bien este efecto beneficioso sobre el número de exacerbaciones se ha atribuido a su efecto antioxidante, no podría descartarse que en parte respondiera a otros efectos, como el mucolítico²³, sobre todo teniendo en cuenta el papel pronóstico que actualmente se le atribuye a la hipersecreción. Asimismo, es interesante observar el efecto de la NAC *in vitro* inhibiendo la adherencia bacteriana¹⁴ o *in vivo* ejerciendo un efecto protector sobre la colonización bacteriana, que podría también explicar en parte este efecto beneficioso sobre la reducción del número de exacerbaciones, teniendo en cuenta el riesgo que representa la colonización bacteriana para los pacientes estables y con exacerbaciones²⁴. Es menos probable que influya una posible acción sobre la función diafragmática²⁵. Este efecto antiinfeccioso puede explicar por qué en los pacientes no respiratorios se ha descrito una reducción del número de episodios de gripe, además de una atenuación de los síntomas clínicos, en individuos que habían virado para la cepa A/H.N. Singapore²⁶.

Existen algunas discrepancias en las normativas internacionales en cuanto a la valoración del efecto de la NAC sobre las exacerbaciones. Sin embargo, recomendaciones recientes lo destacan²⁷ y la normativa GOLD, recientemente publicada²⁸, considera el efecto positivo sobre las exacerbaciones como de evidencia B, además de haber incorporado un nuevo grupo terapéutico para el tratamiento de la EPOC: los antioxidantes, entre los que ha incluido la NAC. La importancia de las exacerbaciones de la EPOC se ha enfatizado suficientemente²⁹, así como la necesidad de intervenir sobre ellas³⁰ y, por tanto, continúa explorándose el efecto de la NAC sobre ellas.

Varios proyectos están en marcha para evaluar el efecto clínico de este fármaco. Un estudio a medio plazo, multicéntrico, doble ciego y muy riguroso, está efectuándose en Europa (proyecto BRONCUS)³¹ para evaluar el efecto de este tratamiento en las exacerbaciones, la función pulmonar, la calidad de vida y el coste económico de la EPOC y, por otro lado, el proyecto CO-OPT trata de evaluar la eficacia-coste del tratamiento con NAC frente a la de los corticoides inhala-

dos.

Asimismo, en relación con la fibrosis pulmonar la confirmación de la implicación del estrés oxidativo en el desarrollo de la enfermedad y los prometedores resultados obtenidos con la NAC^{10,32} han hecho que se ponga en marcha el estudio JFIGENJA, para evaluar el efecto de la NAC en la progresión de esta enfermedad.

Es muy probable que en 2-3 años se tengan interesantes resultados, pero posiblemente se debe seguir investigando para conocer con mayor profundidad los mecanismos etiopatogénicos implicados y el efecto de los antioxidantes en el deterioro funcional a largo plazo y en la morbimortalidad de la EPOC.

BIBLIOGRAFÍA

- Haugen TS, Skjonsberg OH, Kähler H, Lyberg T. Production of oxidants in alveolar macrophages and blood leukocytes. *Eur Respir J*, 1999; 14: 1100-1105.
- Rahman I, MacNee W. Role of oxidants/antioxidants in smoking induced lung diseases. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 669-681.
- Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 341-357.
- Barnes JP. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 269-280.
- Rubio ML, Ortega M, Sánchez-Cifuentes MV, Martín Mosquero MC, Peces-Barba G, González Mangado N. Expression of extracellular matrix proteins and transforming growth factor- β in rats following exposure to cigarette smoke role of n-acetylcysteine. *Eur Respir J* 1999; 14 (Supl 30): S297.
- Dekhuijzen PN, Aben KK, Dekker J, Aarts LP, Wielders PL, Van Herwaarden CL et al. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 813-816.
- Rubio ML, Sánchez-Cifuentes MV, Ortega M, Escolar J, Peces-Barba G, González Mangado N. N-acetylcysteine prevents cigarette smoke-induced small airways alterations in rats. *Eur Respir J* 2000; 15: 505-511.
- Rubio ML, Sánchez-Cifuentes MV, Escolar J, Peces-Barba G, González Mangado N. Pulmonary collagen quantified in situ in two models of induced emphysema in rats. *Eur Respir J* 1996; 9 (Supl 23): S332.
- Rubio ML, Sánchez-Cifuentes MV, Peces-Barba G, Verbanck S, Paiva M, González Mangado N. Intrapulmonary gas mixing in panacinar and centriacinar induced emphysema in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 237-245.
- Hagiwara SI, Ishii Y, Kitamura S. Aerosolized administration of N-acetylcysteine attenuates lung fibrosis induced by bleomycin in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 225-231.
- Cortijo J, Cerdá-Nicolás M, Serrano A, Bioque G, Estrela JM, Santangelo F et al. Attenuation by oral N-acetylcysteine of bleomycin-induced lung injury in rats. *Eur Respir J* 2001. En prensa.
- Ortega M, Rubio ML, Martín Mosquero MC, Sánchez-Cifuentes MV, Peces-Barba G, González Mangado N. Kinetics of extracellular matrix proteins expression after instillation of cadmium chloride into the rat lung *Eur Respir J* 1999; 14 (Supl 30): S297.
- Kasielski M, Antezak A, Król M, Nowak D. Long-term treatment with N-acetylcysteine suppresses H₂O₂ exhalation in subjects with COPD. *Eur Respir J* 1999; 14 (Supl 30): S253.
- Riise GC, Qvarfordt I, Larsson S, Eliasson V, Andersson BA. Inhibitory Effect of N-acetylcysteine on adherence of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* to human oropharyngeal epithelial cells in vitro. *Respiration* 2000; 67: 552-558.
- Straface E, Matarrese P, Gambardella L. N-acetylcysteine counteracts erythrocyte alterations in chronic obstructive pulmonary disease. *Biochem Biophys Res Comm* 2000; 279: 552-556.
- Poole PJ, Black PN. Mucolytic agents for chronic bronchitis. *The Cochrane Library* 1999; 3: 1-17.
- Grandjean EM, Berthet Ph, Ruffmann R, Leuenberger Ph. Efficacy of oral long-term N-acetylcysteine in chronic bronchopulmonary disease: A meta-analysis of published double-blind, placebo-controlled clinical trials. *Clin Ther* 2000; 22: 209-221.
- Stey C, Steurer J, Bachmann S, Medici TC, Tramèr MR. The effect of oral N-acetylcysteine in chronic bronchitis: a quantitative systematic review. *Eur Respir J* 2000; 16: 253-262.
- Bandolier. N-acetylcysteine in chronic bronchitis. <http://www.jr2.ox.ac.uk/Bandolier/index.html>. Allergy, Asthma, Respiratory, 20 de noviembre de 2000.
- Grandjean EM, Berthet Ph, Ruffmann R, Leuenberger PH. Cost-effectiveness analysis of oral N-acetylcysteine as a preventive treatment in chronic bronchitis. *Pharmacol Res* 2000; 42: 39-50.
- Pela R, Calcagni AM, Subiaco S, Isidori P, Tubaldi A, Sanguinetti CM. N-acetylcysteine reduces the exacerbation rate in patients with moderate to severe COPD. *Respiration* 1999; 66: 495-500.
- Nowak D, Carati L, Pirozynski M. Long-term administration of N-acetylcysteine reduces the number of acute exacerbation episodes in subjects with chronic obstructive pulmonary disease: report of the breathe study. *Eur Respir J* 1999; 14 (Supl 30): S381.
- Houtmeyers E, Gosselink R, Gayan-Ramirez G, Decramer M. Effects of drugs on mucus clearance. *Eur Resp J* 1999; 14: 452-467.
- Monsó E, Ruiz J, Rosell A, Manterola J, Fiz J, Morera J, et al. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1316-1320.
- Travaline JM, Sudarshan S, Roy BG, Cordova F, Leyenson V, Criner GJ. Effect of N-acetylcysteine on human diaphragm strength and fatigability. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1567-1571.
- De Flora S, Grassi C, Carati L. Attenuation of influenza-like symptomatology and improvement of cell-mediated immunity with long-term N-acetylcysteine treatment. *Eur Respir J* 1997; 10: 1535-1541.
- Madison JM, Irwin RS. Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 1998; 352: 467-473.
- Pauwels RA, Buist AS, Calverley PM, Jenkins CR, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. Nhlbi/who global initiative for chronic obstructive lung disease (gold) workshop summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1256-1276.
- Rodríguez-Roisin R. Toward a consensus definition for COPD exacerbations. *Chest* 2000; 117: S398-S401.
- García-Aymerich J, Barreriro E, Farrero E, Marrades RM, Morera J, Antó JM, y the EFRAM investigators. Patients hospitalized for COPD have a high prevalence of modifiable risk factors for exacerbation (EFRAM study). *Eur Respir J* 2000; 16: 1037-1402.
- Decramer M, Dekhuijzen PNR, Troosters T, van Herwaarden C, Rutten-van Mólken, van Scjajck CPO et al. The bronchitis randomised on NAC cost-utility study (BRONCUS). hypothesis and design. *Eur Respir J* 2001; 17: 329-336.
- Behr J, Maier J, Degenkolb B, Krombach F, Vogelmeier C. Antioxidative and clinical effects of high-dose N-acetylcysteine in fibrosing alveolitis. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997; 156: 1897-