Rev. Chil. Pediatr. 58(6); 442-445, 1987

Alfa - 1 - antitripsina fecal en la lactante. Valores de referencia y en el síndrome diarreico agudo

Dr. Gastón Duffau T.; Dr. Agustín León C.; T.M. Pedro Fariás T.;
Dr. Gonzalo Urcelay M.¹

Fecal alpha-1-antitrypsin in infants. Reference values and in acute diarrhoeal disease

Alpha-1-antitrypsin (a-1-AT) was determined in faeces by agarose radial immunodiffusion plates in order to establish reference values in random faecal samples, and to determine the magnitude of intestinal protein loss in acute diarrhoea and its eventual association with the aetiology and clinical progress of the disturbance. Fifty three patients 1 to 11 months of age were studied. Fifteen infants admitted with acute respiratory disease, were investigated when fully recovered, just before discharge: reference values found were (mg/g dry weight): 4.80 to 50.80 ($x \pm 2 SD_{n-1}$). Thirty eight cases with acute diarrhoea were studied within 24 hours after admission: increased faecal a-1-AT loss was detected in 47.3% of these patients, with 3 cases showing losses greater than 100 mg/g. Severe malnutrition was not observed. Faecal a-1-AT loss was neither related to nutritional status nor to the aetiology of diarrhoea. However, increased loss was associated to watery stools, prolonged hospitalization and probably to protracted diarrhoea ($p = 0.05$).

(Key words: alpha-1-antitrypsin, infants, acute diarrhoea, reference values).

La pérdida enteral de proteínas plasmáticas es un factor reconocido en la tendencia a la hipoalbuminemia y desnutrición de una diversidad de trastornos gastrointestinales¹⁻⁵. Cabe señalar sin embargo, que hay poca información referente a este fenómeno en el síndrome diarreico-agudo del lactante^{6,7}.

En la cuantificación de proteínas séricas transfeidas al lumen enteral, la determinación de la concentración fecal de alfa-1- antitripsina ha demostrado ser un método confiable, con la ventaja de ser una técnica simple y no invasiva, en comparación con procedimientos usados previamente^{3,4,8}.

En la literatura nacional a nuestro alcance, no hemos encontrado estudios sobre este problema aunque el síndrome diarreico agudo es una importante causa de morbilidad y deterioro

nutricional en lactantes de nuestro medio⁹⁻¹¹. Por ello nos ha parecido necesario, en primer término, establecer valores de referencia de concentración fecal de alfa-1-antitripsina y luego, verificar si el paso excesivo de seroproteínas a través de la pared intestinal y ulterior pérdida es de relevancia en esta patología, intentando precisar con que frecuencia se da el fenómeno, su relación con la etiología de la diarrea y su ingerencia en el tipo de evolución, hipotetizando que la eliminación elevada de proteínas plasmáticas en las heces es un factor de riesgo de evolución prolongada.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron dos grupos de niños de 1 a 11 meses de edad, hospitalizados en la Unidad de Lactantes del Hospital Roberto del Río: Quince pacientes que proporcionarían los valores de referencia de alfa-1-antitripsina fecal, internados por enfermedades respiratorias, sin trastorno digestivo clínicamente pesquisable, en los que se obtuvo una muestra de deposición una vez asintomáticos, antes del alta y treinta y ocho niños con síndrome diarreico agudo, en los que se obtuvo una muestra de deposición dentro de las primeras 24 horas de hospitalización.

1. Departamento de Pediatría, División Ciencias Médicas Norte, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Roberto Roberto del Río. Financiado parcialmente por Grant N.N.R.G.P. 82/35.

La determinación de alfa-1-antitripsina se realizó de acuerdo al método de Crossley & Elliot³, usando placas de inmunodifusión radial dotadas de pocillos en agarosa impregnada con suero alfa-1-antitripsina humana. Las muestras recogidas fueron conservadas hasta la determinación a 4°C, sin preservar alguno. Homogenizada la muestra de deposición, se tomó una alícuota para establecer su peso seco mediante método de calentamiento hasta peso constante. Un gramo de deposición homogenizada, pesado en una balanza eléctrica con un grado de precisión que alcanzó al décimo de miligramo, fue diluido en agua destilada hasta un volumen aforado de 10 ml. Esta solución se centrifugó a 3.000 rpm. durante 30 minutos y del sobrenadante se depositaron 5 µl en los pocillos de agar. Después de 48 horas de incubación a temperatura ambiente, se midieron los halos de precipitación y se compararon con la curva patrón del método. Los resultados de concentración fecal de alfa-1-antitripsina se expresaron en mg/g de peso seco de deposición.

En todos los casos se realizó una investigación etiológica que incluyó: salmonella, shiguetta, parásitos intestinales y rotavirus, este último mediante la electroforesis del ácido nucleico viral¹².

En cada niño se consignó la información pertinente en un formulario especial que incluyó: datos de identificación, edad, sexo, estado nutricional evaluado según criterio de relación peso/talla¹³, diagnósticos de ingreso y egreso, duración anamnética e intrahospitalaria de la diarrea, características y porcentaje de humedad de las deposiciones, etiología encontrada del síndrome diarreico, duración de la hospitalización, intercorrientes y, finalmente, concentración de alfa-1-antitripsina en las heces.

Los resultados numéricos se expresaron en términos de promedio, desviación estándar y error estándar del promedio, en el grupo de referencia. La relación entre algunas variables clínicas y pérdida de alfa-1-antitripsina fecal se determinó utilizando esencialmente la prueba de Fisher y análisis de correlación¹⁴.

El nivel de error alfa establecido para este trabajo fue menor que 5% ($p < 0,05$).

Este estudio corresponde a un proyecto aprobado por el Comité de Investigación y Extensión del Departamento de Pediatría.

RESULTADOS

El grupo que generará los valores de referencia de alfa-1-antitripsina en heces, tuvo las siguientes características: Siete casos fueron mayores de 6 meses y los restantes de 1 a 6 meses de edad al ingreso; la edad promedio fue de 5,1 meses. Once niños eran de sexo masculino y el estado nutricional del conjunto era normal en 7, sobrepeso en 6 y desnutrición leve en 2 pacientes. El diagnóstico de admisión fue bronconeumonía en 5 y síndrome bronquial obstructivo en 4. Todos los niños tenían deposiciones normales y al

tomar la muestra para estudio estaban asintomáticos y en situación de egresar. Los valores encontrados de alfa-1-antitripsina, en mg/g de peso seco de deposiciones, fueron: $\bar{x} = 27,80$ con $DE_{n-1} \pm 11,50$, lo que indicó como límites de discriminación, ($\bar{x} \pm 2$ de n_{-1}), las cifras 4,80 y 50,80. No se encontró una correlación importante entre edad y concentración fecal de alfa-1-antitripsina, puesto que $r = 0,298$ ($p > 0,05$). Lo mismo se observó con el estado nutricional en el grupo ($r = 0,151$ y $p > 0,05$).

Por otra parte los niños hospitalizados por síndrome diarreico, mostraron los siguientes rasgos básicos: siete niños eran mayores de 6 meses y los restantes 31 tenían de 1 a 6 meses de edad. Eran de sexo masculino 23 enfermos y el estado nutricional del conjunto mostraba sobrepeso en 4, normalidad en 18, desnutrición leve en 11 y moderada en 4 lactantes. El diagnóstico de ingreso fue síndrome diarreico agudo en todos. En 18 ocasiones (47,3%), se evidenció un nivel de pérdida de alfa-1-antitripsina por deposiciones superior al límite de referencia. La intensidad de la pérdida se puede mostrar señalando que en estos niños el margen fue de 53,12 a 149,43 mg/g de peso seco de deposiciones, con tres casos en el nivel de excreción sobre 100 mg/g. Tampoco en este grupo se encontró una correlación importante entre edad y concentración fecal de alfa-1-antitripsina ($r = 0,304$ y $p > 0,05$). La investigación etiológica resultó positiva en 18 enfermos, mostrando rotavirus en 17 de ellos y quistes de giardia lamblia en el restante.

En la tabla es posible observar que el nivel de pérdida de alfa-1-antitripsina no se encuentra relacionado con el estado nutricional al ingreso o con la etiología de la diarrea al comparar los casos con hallazgo de rotavirus versus los restantes pacientes. Asimismo, se puede precisar que la presencia de deposiciones líquidas o semilíquidas se encuentra asociada a una excreción mayor de alfa-1-antitripsina. La duración de la diarrea es mayor entre aquellos con pérdida proteica más elevada, aunque en "p" límite. Sin embargo, en éstos la hospitalización tiene clara tendencia a ser más dilatada. Es interesante indicar que, si en el grupo con diarrea se excluyen los lactantes que durante su internación presentaron algún episodio de intercorriencia digestiva, la duración de la hospitalización se hace comparable entre aquellos con excreción dentro del margen de referencia y los restantes.

Tabla 1

Alfa-1-antitripsina en deposiciones y algunas variables clínicas en lactantes hospitalizados por síndrome diarreico agudo.

	Concentración fecha de alfa-1-antitripsina		p ^o
	En margen de referencia	Elevada	
	(n=38)*		
Estado nutricional**			
Al ingreso			
N o SP	12	11	
D ₁ o D ₂	8	7	0,30
Etiología de la diarrea:			
Rotavirus	10	7	0,20
Otra	10	11	0,20
Carácter de las heces***			
al ingreso:			
D	11	1	0,0011
SL.L	9	17	0,0011
Duración de la diarrea:			
≤ 10 días	15	8	
> 10 días	5	10	0,025
Duración de la hospitalización			
≤ 14 días	14	6	
> 14 días	6	12	0,025
Duración de la hospitalización excluidas interurrencias digestivas, (n=9):			
≤ 14 días	12	5	
> 14 días	5	7	0,12

* Excepto en el último rubro, en que n = 29.

** Catalogado según criterio peso/talla, con niño hidratado. N, SP, D₁, D₂: normal, sobrepeso, desnutrición de primer y segundo grado, respectivamente.

*** D, SL, L: disgregado, semilíquido y líquido

^o Por prueba de Fisher, de probabilidades exactas.

COMENTARIO

Alfa-1-antitripsina es una proteína presente en el plasma, sintetizada en el hígado, inhibidora de proteasa, resistente a la proteólisis y consecuentemente no degradada por la enzimas pancreáticas, lo que la hace detectable en forma inalterada en las heces^{3,8,15,16}. Por otra parte, esta antienzima no se encuentra en la alimentación y es una glicoproteína de peso molecular similar al de la albúmina, por lo que se admite que encontrarla en concentración aumentada en las deposiciones necesariamente traduce una permeabilidad elevada para las proteínas plasmáticas,

fundamentalmente albúmina, hacia el lumen enteral^{8,17}.

En este estudio se cumplieron dos etapas muy claras, puesto que en primer término se establecieron valores de referencia de alfa-1-antitripsina en heces de lactantes, para analizar posteriormente la situación de niños del mismo grupo etario, hospitalizados por síndrome diarreico agudo. En el primer aspecto, cabe señalar que, empleando como marcador la mencionada proteína, se han sugerido diversas formas de medir y expresar la pérdida que afectan desde el proceso de homogenización-extracción hasta la forma de presentar los hallazgos, sea esto último en términos de depuración de alfa-1-antitripsina, concentración en mg/10 mg/g de peso seco o como velocidad de excreción en mg/día o como relación de concentración heces/suero¹⁸. En este sentido los niveles de referencia encontrados por nosotros son claramente más alto que los publicados en otros medios⁴. Si bien la explicación de ello pudiera depender de alguna variante metodológica, no nos es evidente.

El hallazgo de pérdida exagerada de proteínas por las heces en 47,3% de los niños con diarrea, difiere substancialmente de lo encontrado por algunos en la misma afección y en diarrea crónica⁴, pero coincide con lo comunicado por otros⁶.

La pérdida de proteína endógena contribuye a explicar el deterioro del estado nutricional que sufren los lactantes internados por síndrome diarreico¹⁹. A este factor deben sumarse naturalmente otros, entre los cuales se ha visto sobresalir la anorexia¹¹.

Es importante señalar que aún cuando una concentración alta de alfa-1-antitripsina en las deposiciones parece indicar la existencia de daño en la mucosa, no establece su extensión o severidad⁴.

En la detección de pacientes con enteropatía perdedora de proteínas, la sensibilidad de alfa-1-antitripsina fecal es mayor que la proporcionada por la medición de albúmina sérica, por cuanto el hígado puede inicialmente, compensar la pérdida de ésta última⁴.

Ni la edad o el estado nutricional, o aún la etiología de la diarrea, en los términos planteados mostró relacionarse con un patrón determinado de excreción de alfa-1-antitripsina. Cabe indicar que en otras series la variable etiología aparece determinante^{7,19}. El carácter de las deposiciones

indicó que las heces más líquidas se asociaban a mayor pérdida. Por otra parte, la duración de la hospitalización fue mayor en aquellos con eliminación elevada de la proteína y, en "p" límite, ocurría algo similar con la duración del cuadro diarreico. Aparentemente, la más dilatada internación en aquellos con excreción alta de alfa-1-antitripsina en deposiciones se debería a que éstos se verían afectados más frecuentemente por incurencias de tipo digestivo.

RESUMEN

Se cuantificó alfa-1-antitripsina (a-1-AT) en deposiciones, usando placas de inmunodifusión radial con agarosa, con el objeto de establecer valores de referencia en muestras aisladas de heces, precisar la frecuencia e intensidad de la pérdida proteica en el síndrome diarreico agudo, su relación con la etiología y su influencia en la evolución clínica. Se estudiaron 53 niños de 1 a 11 meses de edad: En el Hospital Roberto del Río, quince niños ingresados por enfermedades respiratorias fueron investigados después de hacerse asintomáticos, antes del alta. Los valores de referencia encontrados fueron (mg/g de peso seco): 4,80 a 50,80 ($\bar{x} \pm 2 DE_{n-1}$). Treinta y ocho pacientes con síndrome diarreico agudo fueron estudiados en las 24 horas siguientes a la admisión: en 47,3% de ellos se detectó excreción elevada de a-1-AT, con 3 casos sobre 100 mg/g. En ningún grupo hubo desnutridos severos. La pérdida aumentada de a-1-AT no se relacionó con el estado nutricional o la etiología de la diarrea, al comparar aquellos con rotavirus y los restantes, sin embargo se asoció a deposiciones líquidas o semilíquidas, hospitalización más dilatada y en valores límites de significación ($p = 0,05$) a diarrea prolongada. La eliminación elevada de proteínas plasmáticas en lactantes hospitalizados por síndrome diarreico agudo es común y a veces severa, es esperable en cuadros con heces más líquidas y a-1-AT sería un indicador de duración de la hospitalización y probablemente del tipo evolutivo del síndrome diarreico.

REFERENCIAS

1. Waldmann TA, Wochner R., Strober.: The role of

- the gastrointestinal tract in plasma protein metabolism. *Am J Med* 1969; 46: 275-285.
2. Waldmann TA.: Protein losing enteropathy. *Gastroenterology* 1966; 50: 422-433.
3. Crossley J.R., Elliot R.B.: Simple method for diagnosing protein losing enteropathies. *Br Med J* 1977; 1: 428-429.
4. Thomas D.W., Sinatra F.R., Merrit R.J.: Random fecal alpha-1-antitrypsin concentration in children with gastrointestinal disease. *Gastroenterology* 1981; 80: 776-782.
5. Beeken W.L., Buch H.J., Sylvester D.L.: Intestinal protein loss in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1972; 62: 207-215.
6. Maki M., Harmoinen A., Vesikari T., Visakorpi J.K.: Fecal excretion of alpha-1-antitrypsin in acute diarrhoea. *Arch Dis Child* 1982; 57: 154-156.
7. Chen L.C., Scrimshaw N.S.: Diarrhea and malnutrition, interactions. mechanism and interventions. New York: Plenum Press, 1983: 155-156.
8. Butler H.L., Isenberg J.N., Somerset J.S., Barnett D.R.: Quantitative fecal alpha-1-antitrypsin to measure gastrointestinal protein loss. *Pediatr Res* 1981; 15: 527.
9. Duffau G.: Síndrome diarreico agudo del lactante. Santiago de Chile: Editorial Andrés Bello, 1978: 29-34.
10. Radrigan M.E.: Temas de nutrición y alimentación en pediatría. Santiago de Chile: Editorial Andrés, 1985: 59-96.
11. Duffau G., Faúndez J.C., Osorio A.: Estado nutricional del lactante hospitalizado por patología respiratoria y digestiva. Estudio prospectivo. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1986; 43: 11-23.
12. Avendaño L.F., Ojeda J.M., Calderón M.A., et al: Detección de rotavirus en lactantes hospitalizados por diarrea. *Rev Med Chil* 1980; 108: 210-214.
13. Aguiló C., Emparanza E., Rizzardini M.: Normas de atención pediátrica. Santiago de Chile: Editorial Andrés Bello, 1984: 1-17.
14. Siegel S.: Nonparametric statistics. New York: Mc Graw-Hill Book Co., 1956: 96-103.
15. Hill R.E., Herez A., Corey M.L., et al: Fecal clearance of alpha-1-antitrypsin: a reliable measure of enteric protein loss in children. *J Pediatr* 1981; 99: 416-418.
16. Sharp H.L.: The current status of alpha-1-antitrypsin, a protease inhibitor, in gastrointestinal disease. *Gastroenterology* 1976; 70: 611-621.
17. Crawford I.P.: Purification and properties of normal human alpha-1-antitrypsin. *Arch Biochem Biophys* 1973; 215: 222.
18. Keaney N.P., Kelleher J.: Fecal excretion of alpha-1-antitrypsin in protein losing enteropathy. *Lancet* 1980; 1: 711.
19. Bellanti J.A.: Acute diarrhoea: its nutritional consequences in children. Nestlé nutrition workshop series Nº 2, Vevey/New York: Raven Press, 1983: 89-90.