

# OTTIMIZZAZIONE DEL LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE: LEZIONI DALLA CARENZA DI ALFA-1 ANTITRIPSINA

a cura della Redazione

Commento a: Herron M, Roche S, Fraughen DD, et al *Optimising bronchoalveolar lavage: lessons from alpha-1 antitrypsin deficiency* Thorax Published Online First: 25 November 2024. doi: 10.1136/thorax-2024-221797

## INTRODUZIONE

Il lavaggio broncoalveolare (BAL) è riconosciuto da tempo come uno strumento essenziale nella ricerca e nella pratica clinica per le malattie polmonari croniche. Questa tecnica permette di analizzare il fluido epiteliale (ELF) delle vie aeree inferiori, fornendo informazioni preziose sui processi infiammatori, sul microambiente polmonare e sulla risposta alle terapie. Grazie alla sua relativa non invasività, il BAL è stato ampiamente utilizzato per migliorare la comprensione di malattie complesse come la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) e la carenza di alfa-1 antitripsina (DAAT) (1-4).

Il ruolo cruciale del BAL emerge con particolare forza nel contesto della ricerca terapeutica, dove si è affermato come uno strumento chiave per valutare l'efficacia biochimica di trattamenti sperimentali, in particolare nel DAAT, una malattia genetica causata da mutazioni nel gene SERPINA1, che compromette la produzione di alfa-1 antitripsina (AAT), una glicoproteina ad azione antinfiammatoria e inibitrice della proteasi. Gli studi iniziali sulla terapia sostitutiva basata sull'infusione endovenosa settimanale di AAT purificata dal plasma di individui sani (genotipo MM), hanno utilizzato proprio il BAL per dimostrare la presenza di AAT nei polmoni e il miglioramento della capacità inibitoria contro l'elastasi neutrofila (ANEC). Le analisi dei campioni prelevati tramite BAL hanno fornito dati di *proof-of-concept* che sono stati determinanti per ottenere l'approvazione normativa del trattamento nel 1987 (5). Successivamente, ulteriori studi clinici (6-8) hanno confermato i benefici della terapia, dimostrando una migliore conservazione della densità polmonare, una riduzione del declino della funzione respiratoria, un'attenuazione dei sintomi clinici e un prolungamento della sopravvivenza nei pazienti affetti da DAAT. Questi risultati sottolineano quanto sia cruciale dimostrare l'efficacia biochimica sin dalle prime fasi dello sviluppo terapeutico, evidenziando il ruolo centrale del BAL nella ricerca traslazionale e nella valutazione delle nuove terapie.

Nonostante il BAL si sia dimostrato uno strumento di grande valore, presenta anche alcuni limiti signi-

ficativi che ne complicano l'applicazione standardizzata. Una delle principali criticità è la variabilità intrinseca del fluido recuperato durante la procedura. A differenza del plasma o del siero, il fluido epiteliale ottenuto tramite BAL non rappresenta una frazione pura, ma piuttosto una miscela diluita del fluido presente nelle vie aeree inferiori. Questo fenomeno rende complessa la quantificazione precisa dei marcatori biochimici e proteici, compromettendo la comparabilità diretta tra pazienti diversi. Inoltre, la diluizione variabile dell'ELF nel lavaggio broncoalveolare viene influenzata da fattori tecnici e biologici. Tra quelli tecnici figurano il volume di fluido instillato, il tipo di broncoscopio, il metodo di aspirazione e la scelta del lobo polmonare campionato. Dal punto di vista biologico, condizioni come la perdita di elasticità polmonare nella BPCO possono favorire il collasso delle vie aeree, riducendo il fluido recuperato. Anche parametri individuali come età, sesso e BMI incidono sui risultati (9-11). Questa complessità richiede protocolli standardizzati per garantire dati affidabili e comparabili. In questo contesto, lo studio condotto da Herron e colleghi propone un protocollo BAL migliorato, mirato a risolvere tale sfida. In particolare, i ricercatori hanno sviluppato un protocollo che si basa su tre elementi principali: l'uso di un broncoscopio pediatrico, un metodo di correzione basato sulle proteine totali e una procedura standardizzata di campionamento per minimizzare la variabilità tecnica.

## RISULTATI

L'utilizzo di un broncoscopio pediatrico, con un diametro inferiore rispetto a quello tradizionale per adulti, ha permesso di raggiungere le vie aeree più profonde, migliorando il recupero di fluido alveolare non contaminato dalle vie aeree superiori. Questo ha portato a un incremento del volume medio di ELF recuperato, che è aumentato fino a 1,1 mL rispetto ai 0,43 mL ottenuti con il broncoscopio tradizionale, con un miglioramento del 155%. Anche la qualità del campione è stata notevolmente migliorata, come mostra la Tabella 1: i livelli di surfattante D, marker specifico delle regioni alveolari, sono aumentati da 0,72 µg/mg a 1,2 µg/mg di proteine ( $p=0,01$ ), mentre la percentuale di neutrofili, indicatore di contaminazione del-



le vie aeree superiori, è diminuita dal 4,3% all'1,2% ( $p=0,02$ ). Questi dati confermano un campionamento più rappresentativo delle aree alveolari profonde, garantendo risultati più affidabili.

Il metodo di correzione basato sulle proteine totali ha rappresentato un'altra importante innovazione per ridurre l'effetto della diluizione variabile

dell'ELF. Questo approccio ha migliorato l'accuratezza, come dimostrato dalla correlazione tra i livelli di AAT misurati nel plasma e quelli nei polmoni, che ha raggiunto un coefficiente di correlazione pari a  $r^2=0,83$  rispetto al  $r^2=0,67$  ottenuto utilizzando il metodo dell'urea (Figura 1). Ciò ha permesso anche di ottenere dati più coerenti tra i diversi lobi polmonari.

Nei pazienti sottoposti a campionamento nei lobi superiore destro e inferiore sinistro, i livelli di AAT hanno mostrato un coefficiente di correlazione pari a  $r^2=0,76$ , eliminando la necessità di campionare più lobi per ottenere dati affidabili.

Infine, la standardizzazione del campionamento nei lobi polmonari ha contribuito a migliorare l'efficacia del BAL, riducendo la variabilità dei risultati. L'approccio ha permesso di ottenere volumi di fluido più consistenti e rappresentativi, minimizzando il rischio di raccolte insufficienti legate alla perdita di elasticità polmonare osservata nei pazienti con BPCO e DAAT.

## DISCUSSIONE

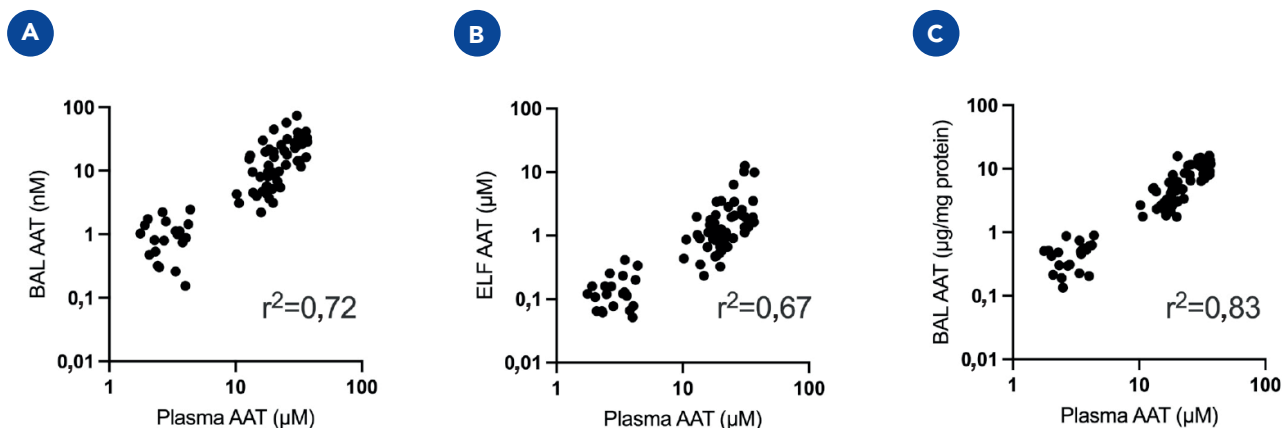
Lo studio condotto da Herron e colleghi offre una nuova prospettiva sul BAL, proponendo un protocollo migliorato che risponde alle criticità storiche legate alla diluizione variabile del fluido epiteliale e alla difficoltà di ottenere dati comparabili tra pazienti.

L'innovazione principale dello studio risiede nella combinazione di tecniche

	PB (n=39)	AB (n=14)	P value
FEV1 (%)	88	85	>0,99
BAL return (%)	46	36	<0,01
ELF (mL)	1,1	0,43	<0,01
Proteina ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	102	101	0,94
Conta cellulare totale ( $\times 10^6$ )	7,0	3,8	0,02
Macrofagi (%)	94,9	91,5	0,02
Neutrofili (%)	1,2	4,3	0,02
SLPI (non aggiustato nM)	4,3	7,9	0,09
SLPI ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	0,44	0,85	0,04
SLPI (ELF nM)	396	1598	<0,01
Surfattante D (non aggiustato nM)	3,9	3,0	0,22
Surfattante D ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	1,2	0,72	0,01
Surfattante D (ELF nM)	401	782	0,16

Abbreviazioni: ELF, epithelial lining fluid volume; FEV1 (%), forced expiratory volume in 1 s (%); SLPI, secretory leucocyte protease inhibitor

**Tabella 1** - Confronto del BAL eseguito con un broncoscopio pediatrico (PB) e un broncoscopio tradizionale per adulti (AB)



**Figura 1** - Relazione tra i livelli plasmatici di AAT e quelli misurati nel fluido del lavaggio broncoalveolare (BAL) utilizzando diversi metodi di correzione



avanzate che ottimizzano il campionamento e l'analisi dei dati. La scelta di utilizzare un broncoscopio pediatrico non è solo una modifica tecnica, ma un cambiamento concettuale che sposta l'attenzione verso un approccio più mirato al campionamento delle vie aeree distali. Questo aspetto è particolarmente rilevante in condizioni croniche come il DAAT e la BPCO, in cui la degenerazione del tessuto alveolare richiede un'analisi dettagliata delle regioni polmonari più profonde. L'applicabilità clinica del protocollo, se estesa oltre la ricerca, potrebbe includere la gestione personalizzata delle terapie in pazienti affetti da malattie polmonari croniche. La possibilità di monitorare con precisione i livelli di proteine come l'AAT o altri marcatori biochimici polmonari aprirebbe la strada a trattamenti più mirati e personalizzati. Inoltre, la coerenza nei campionamenti ridurrebbe la necessità di procedure ripetute, abbattendo i costi e migliorando l'esperienza del paziente.

Nonostante le promettenti prospettive, l'implementazione clinica su vasta scala richiede ulteriori passaggi. L'uso del broncoscopio pediatrico richiede competenze specialistiche che potrebbero limitare l'applicazione del protocollo a centri altamente

qualificati. Inoltre, la procedura rimane semi-invasiva, e sebbene sia stata ben tollerata nello studio, il suo utilizzo regolare in pazienti fragili potrebbe essere condizionato dalla tollerabilità individuale e dalla gestione dei rischi.

Un'altra sfida riguarda la generalizzabilità del protocollo a malattie polmonari diverse dal DAAT e dalla BPCO. Condizioni come la fibrosi cistica o le polmoniti interstiziali potrebbero richiedere adattamenti specifici nella tecnica di campionamento e nell'interpretazione dei risultati. Sarà necessario sviluppare ulteriori studi clinici su pazienti affetti da queste patologie per testare l'efficacia e l'adattabilità del metodo.

## CONCLUSIONI

In conclusione, il protocollo proposto da Herron e colleghi rappresenta un importante passo avanti nella standardizzazione del BAL, con implicazioni potenzialmente rivoluzionarie per la ricerca clinica e la pratica medica. Sebbene restino alcune sfide tecniche e cliniche da affrontare, le innovazioni introdotte pongono solide basi per futuri sviluppi che potrebbero trasformare il BAL in uno strumento diagnostico e terapeutico fondamentale nel trattamento delle malattie polmonari croniche.

## Bibliografia

1. Reynolds HY, Newball HH. Analysis of proteins and respiratory cells obtained from human lungs by bronchial lavage. *J Lab Clin Med* 1974;84:559-73.
2. Lynn WS, Kylstra JA, Sahu SC, et al. Investigations of black bronchoalveolar human lavage fluid. *Chest* 1977;72:483-8. doi:10.1378/chest.72.4.483
3. Crystal RG, Reynolds HY, Kalica AR. Bronchoalveolar lavage. The report of an international conference. *Chest* 1986;90:122-31. doi:10.1378/chest.90.1.122
4. Reynolds HY. Bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:250-63. doi:10.1164/arrd.1987.135.1.25
5. Wewers MD, Casolaro MA, Sellers SE, et al. Replacement therapy for alpha 1-antitrypsin deficiency associated with emphysema. *N Engl J Med* 1987;316:1055-62. doi:10.1056/NEJM198704233161704
6. Ellis PR, Holm KE, Choate R, et al. Quality of Life and Mortality Outcomes for Augmentation Naïve and Augmented Patients with Severe Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Chronic Obstr Pulm Dis* 2023;10:139-47. doi:10.15326/jcopdf.2022.0339
7. McElvaney NG, Burdon J, Holmes M, et al. Long-term efficacy and safety of  $\alpha$ 1 proteinase inhibitor treatment for emphysema caused by severe 1 antitrypsin deficiency: an open-label extension trial (RAPID-OLE). *Lancet Respir Med* 2017;5:51-60. doi:10.1016/S2213-2600(16)30430-1
8. Fraughen DD, Ghosh AJ, Hobbs BD, et al. Augmentation Therapy for Severe Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Improves Survival and Is Decoupled from Spirometric Decline-A Multinational Registry Analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 2023;208:964-74. doi:10.1164/rccm.202305-0863OC
9. Rennard SI, Basset G, Lecossier D, et al. Estimation of volume of epithelial lining fluid recovered by lavage using urea as marker of dilution. *J Appl Physiol* 1986;60:532-8. doi:10.1152/jappl.1986.60.2.532
10. Shikano K, Abe M, Shiko Y, et al. What are the factors affecting the recovery rate of bronchoalveolar lavage fluid? *Clin Respir J* 2022;16:142-51. doi:10.1111/crj.13462
11. Koda K, Hozumi H, Yasui H, et al. Predictors for bronchoalveolar lavage recovery failure in diffuse parenchymal lung disease. *Sci Rep* 2021;11:1682. doi:10.1038/s41598-021-81313-5

