



[EBioMedicine](#) . 2015 oct; 2 (10): 1507–1512.

PMCID: PMC4634621

Publicado en línea el 10 de agosto de 2015

PMID: [26629546](#)

doi: [10.1016 / j.ebiom.2015.08.018](https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.08.018)

## La cisteamina como una futura intervención en la fibrosis quística contra los patógenos actuales y emergentes: un estudio *ex vivo* basado en el paciente que confirma su potencial antimicrobiano y mucoactivo en el esputo

[Graham Devereux](#) , <sup>a, \*</sup> [Douglas Fraser-Pitt](#) , <sup>b</sup> [Jennifer Robertson](#) , <sup>b</sup> [Edward Devlin](#) , <sup>a, b</sup> [Derry Mercer](#) , <sup>b</sup> y [Deborah O'Neil](#) <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Respiratory Group, University of Aberdeen, Aberdeen AB25 2ZG, UK

<sup>b</sup>NovaBiotics Ltd, Cruickshank Building, Craibstone, Aberdeen AB21 9TR, UK

Graham Devereux: [g.devereux@abdn.ac.uk](mailto:g.devereux@abdn.ac.uk)

\*Corresponding author at: Child Health, Royal Aberdeen Children's Hospital, Aberdeen AB25 2ZG, UK. Child Health Royal Aberdeen Children's Hospital AB25 2ZG Aberdeen UK [g.devereux@abdn.ac.uk](mailto:g.devereux@abdn.ac.uk)

Received 2015 Jul 7; Revised 2015 Aug 4; Accepted 2015 Aug 7.

[Copyright](#) © 2015 Los Autores. Publicado por Elsevier BV

Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### Resumen

---

#### Fondo

Recientemente se ha demostrado que la cisteamina tiene propiedades *in vitro* potencialmente terapéuticamente beneficiosas en la fibrosis quística (FQ). En este estudio investigamos la actividad antimicrobiana y mucolítica de la cisteamina contra la matriz biológica compleja del esputo con FQ.

#### Métodos

Se obtuvieron muestras de esputo de 23 adultos con FQ. El contenido polimicrobiano de esputo después de la exposición *in vitro* a cisteamina y antibióticos CF estándar se evaluó después de una sola exposición y después de 14 días de exposición a dosis bajas. Se evaluó el efecto de la cisteamina sobre el esputo spinnbarkeit.

#### Recomendaciones

La cisteamina redujo la carga polimicrobiana del esputo en 3,18 (IC 95% 2 · 30–4 · 07,  $p < 0,001$ )  $\log_{10}$  unidades después de 24 h de incubación. La combinación de cisteamina y tobramicina redujo la carga polimicrobiana en 3 · 75 (IC 95% 2 · 63–5 · 07,  $p < 0 \cdot 001$ )  $\log_{10}$  unidades superiores a las observadas con tobramicina. La dosis baja repetida con cisteamina redujo la carga polimicrobiana del esputo desde el día 10 en adelante ( $p = 0.032$ ). La cisteamina redujo la viscoelasticidad del esputo con FQ, la esputo spinnbarkeit cisteamina 11.1 mm / s (IC 95% 3.95–18.2) versus DNase 1.69 mm / s (IC 95% 0.73–2.65),  $p = 0.016$ . La cisteamina era activa contra *Mycobacterium abscessus* como monoterapia y también potenciaba los efectos de la amikacina y la azitromicina.

#### Conclusión

Se requiere más investigación sobre el potencial terapéutico de la cisteamina en la FQ para tratar los patógenos microbianos emergentes y establecidos y como agente mucolítico.

**Palabras clave:** cisteamina, fibrosis quística, *Mycobacterium abscessus*, *Pseudomonas aeruginosa*, esputo

## 1. Introducción

---

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad autosómica recesiva heredada más prevalente en las poblaciones caucásicas de origen europeo ( [Organización Mundial de la Salud, 2004](#) ). En el Reino Unido, alrededor de 10,000 personas tienen FQ, a nivel mundial alrededor de 70–100,000 personas están afectadas ( [Organización Mundial de la Salud, 2004](#) ). Aunque la FQ es una afección multisistémica, la mayoría de la morbilidad y mortalidad asociadas con la FQ es consecuencia de la enfermedad pulmonar supurativa crónica y, en última instancia, de la insuficiencia respiratoria ( [UK CF Registry, 2014](#) , [Goss y Quittner, 2007](#) ), actualmente mediana de edad de muerte (IC 95%) en el Reino Unido es 29 (27–31) ( [UK CF Registry, 2014](#) ). Infección de las vías aéreas inferiores por *Pseudomonas* ( [Emerson et al., 2002](#) ), y las especies de *Burkholderia* ( [Muhdi et al., 1996](#) , [Jones et al., 2004](#) ) afectan negativamente la morbilidad, la calidad de vida y la supervivencia, y hay una creciente preocupación por las consecuencias de la infección con especies patógenas emergentes ( [Lipuma, 2010](#) ) como como *Mycobacterium abscessus* ( [Esther et al., 2010](#) , [Hansen et al., 2006](#) ). En CF, *Pseudomonas* ( [Emerson et al., 2002](#) ) y *Burkholderia* ( [Muhdi et al., 1996](#) , [Jones et al., 2004](#) ) las especies crecen en biopelículas y, como tales, son mucho más resistentes a los antibióticos en comparación con las células que crecen planctónicas del mismo aislado ( [Stewart y Costerton, 2001](#) ). El uso agresivo de antibióticos para suprimir la infección crónica y tratar las exacerbaciones agudas ha contribuido a una mayor supervivencia de las personas con FQ. Sin embargo, el aumento de la resistencia a los antibióticos, la resistencia a múltiples antibióticos y la intolerancia a los medicamentos están surgiendo como problemas clínicos importantes. Estos problemas han llevado a la investigación de nuevos agentes antimicrobianos y nuevas estrategias de antibióticos para apuntar a la biopelícula y aumentar la efectividad de los antibióticos disponibles actualmente ( [Bals et al., 2011](#) ).

Anteriormente hemos descrito las propiedades antimicrobianas, anti-biopelículas y mucoactivas *in vitro* de la cisteamina como monoterapia y en combinación con los antibióticos recomendados por la guía de FQ ( [Charrier et al., 2014](#) ). La cisteamina se ha utilizado habitualmente para tratar la cistinosis durante más de 20 años y, por lo tanto, ya existe un importante conjunto de datos clínicos sobre sus características dentro de este grupo de pacientes. Los atributos antimicrobianos y mucoactivos de la cisteamina descritos hasta la fecha son potencialmente terapéuticamente beneficiosos en la FQ, no solo en el tratamiento de las exacerbaciones agudas sino también en el tratamiento crónico ( [Charrier et al., 2014](#) ) Una limitación inherente de los datos derivados hasta ahora es que se generaron a partir de monocultivos de bacterias aisladas con mayor frecuencia de personas con FQ y contra componentes individuales de la mucosidad. Para investigar el potencial de la cisteamina en la FQ en condiciones fisiológicamente más robustas, investigamos su actividad mucolítica y antimicrobiana contra el esputo de pacientes con FQ e informamos aquí por primera vez sobre sus propiedades reológicas y su acción antimicrobiana contra el contenido polimicrobiano del esputo con FQ. También informamos sobre la actividad de la cisteamina contra los aislamientos de *M. abscessus* de los participantes con FQ en este estudio.

## 2. Métodos y materiales

---

### 2.1. Asignaturas

Se invitó a los pacientes que asistían a la clínica de FQ para adultos en Aberdeen Royal Infirmary, Aberdeen, Reino Unido, a participar en un estudio transversal que investiga las propiedades antimicrobianas de la cisteamina en el esputo de personas con FQ. Los criterios de inclusión fueron: enfermedad pulmonar asociada a FQ diagnosticada y capaz de expectorar espontáneamente el esputo; 57 pacientes cumplieron los criterios de elegibilidad y fueron invitados a participar. Los participantes proporcionaron una muestra de esputo expectorado espontáneamente. Los datos clínicos recopilados incluyeron: edad, sexo, altura, peso, función ventilatoria (FEV<sub>1</sub>) y genotipo de FQ. También se

registraron las especies bacterianas que infectan el esputo ( [Lee et al., 2003](#) ) y si el participante estaba exacerbando, si tenía una exacerbación reciente (tratamiento completado <4 semanas antes) o si era clínicamente estable (exacerbación > 4 semanas antes). Se registró la terapia antimicrobiana en el momento del muestreo, por *ejemplo* , azitromicina, terapias inhaladas. El estudio recibió la aprobación ética (13 / NS / 0001) del Servicio de Ética de Investigación del Norte de Escocia y todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito.

## 2.2. Químicos y medios de crecimiento

La tobramicina se adquirió de Discovery Fine Chemicals (Reino Unido). Todos los demás productos químicos, medios de crecimiento y antibióticos se obtuvieron de Sigma-Aldrich (Reino Unido).

## 2.3. Efecto de la cisteamina y los antibióticos en la carga microbiana del esputo CF: exposición única

Las muestras de esputo se procesaron para determinar la actividad antimicrobiana dentro de las 4 h de la recolección. Para evaluar el impacto antimicrobiano de la cisteamina sola y la cisteamina junto con los antibióticos comúnmente utilizados para tratar las exacerbaciones infecciosas de la enfermedad pulmonar por FQ, se diluyeron 10 ml de cada muestra de esputo en solución salina tamponada con fosfato estéril (PBS) y se agitó en vórtex. Alícuotas (0 · 2 ml) de la muestra diluida homogeneizada se expusieron a cisteamina solamente (1 mg / ml) ( [Charrier et al., 2014](#) ), antibiótico (tobramicina [0 · 1 mg / ml] o ciprofloxacina, [0 · 1 mg / ml] solamente), cisteamina más antibiótico o vehículo (PBS) solamente, durante 4 h y 24 h a 37 ° C. Las muestras de esputo se diluyeron en serie diez veces ( $1 \times 10^{-1}$  a  $1 \times 10^{-8}$ ) y en placas de agar nutritivo no selectivo. Los cultivos se incubaron a 37 ° C y las unidades formadoras de colonias por ml (ufc / ml) de bacterias se cuantificaron a las 48 h.

## 2.4. Determinación de la carga microbiana del esputo CF: exposiciones múltiples

Para evaluar cualquier impacto de la cisteamina en la carga microbiana del esputo en la FQ a las concentraciones farmacológicas notificadas *in vivo* , se realizaron múltiples experimentos de dosificación. En estos ensayos, 0 · 2 ml de esputo se expusieron diariamente (primera dosis dentro de las 4 h posteriores a la recolección como se indicó anteriormente) a 2 µg / ml de cisteamina, o PBS como control, durante 14 días. 2 µg / ml es un nivel típicamente reportado cuando se dosifica con cisteamina en pacientes con cistinosis ( [Langman et al., 2012](#) ). En días alternos, se recuperaron 10 µl de cada muestra y se diluyeron en serie diez veces ( $1 \times 10^{-1}$  a  $1 \times 10^{-8}$ ) y se extendieron en placas de agar nutritivo no selectivo. Los cultivos se incubaron a 37 ° C y se cuantificaron ufc / ml de bacterias a las 48 h.

## 2.5. Cuantificación de las propiedades macrorreológicas del esputo CF (spinnbarkeit)

El análisis macrorreológico se realizó dentro de las 4 h de la recolección de muestras de esputo. Se incubaron alícuotas (0 · 2 ml) de esputo durante 1 hora a 37 ° C después de la adición de cisteamina (1 mg / ml), PBS o DNase (500 U / ml). Las muestras de esputo tratadas se transfirieron luego al extremo abierto de una pipeta graduada de 2 ml (Greiner, Reino Unido) que se aseguró verticalmente. Se permitió que cada muestra de esputo descendiera dentro de la pipeta por gravedad. Este proceso fue cronometrado y filmado, y la velocidad del esputo se calculó como la distancia recorrida en el tiempo tomada en mm / s.

## 2.6. Susceptibilidad antimicrobiana de *Micobacterias abscesos* aislados de esputo *in vitro*

El complejo *M. abscessus* (MAC) se aisló de tres pacientes participantes. La susceptibilidad de estos aislamientos, más la cepa de tipo MAC *M. abscessus* DSMZ44196 a los efectos antimicrobianos de la cisteamina sola y a la cisteamina combinada con antibióticos empleados en las estrategias de erradicación de MAC (amikacina, azitromicina y meropenem) se evaluó mediante un procedimiento de microdilución en caldo CLSI ( [clínico y Laboratory Clinical Institute, 2012](#) ) y ensayo de tablero de ajedrez respectivamente.

## 2.7. Consideraciones estadísticas

El VEF<sub>1</sub> se expresó como un porcentaje de predicción usando las ecuaciones de referencia GLI 2012 ([Quanjer et al., 2012](#)). La carga microbiana del esputo se expresó como unidades formadoras de colonias aproximadas a una distribución logarítmica normal y, por lo tanto, se expresó como el logaritmo medio<sub>10</sub> (intervalo de confianza del 95%). La carga microbiana de las muestras de esputo CF después de la incubación con cisteamina, tobramicina, ciprofloxacina o combinaciones de las mismas después de 4 y 24 h se modeló utilizando ANOVA de medidas repetidas de dos vías con pruebas post hoc utilizando el ajuste de Bonferroni. Los análisis se realizaron con IBM SPSS Statistics para Windows, v22.0 (Armonk, NY).

## 2.8. Rol de la Fuente de Financiamiento

Este estudio fue financiado por Scottish Enterprise. El financiador no contribuyó al diseño del estudio, la recopilación de datos, el análisis, este informe o la decisión de publicar.

## 3. Resultados

---

### 3.1. Poblacion de pacientes

Veintitrés de los 57 pacientes elegibles participaron en el estudio, cada uno proporcionó una muestra de esputo, sus características clínicas se resumen en la [Tabla 1](#). Los 15 pacientes infectados con *Pseudomonas aeruginosa* fueron infectados por al menos una cepa mucoide.

tabla 1

Características clínicas de los pacientes participantes.

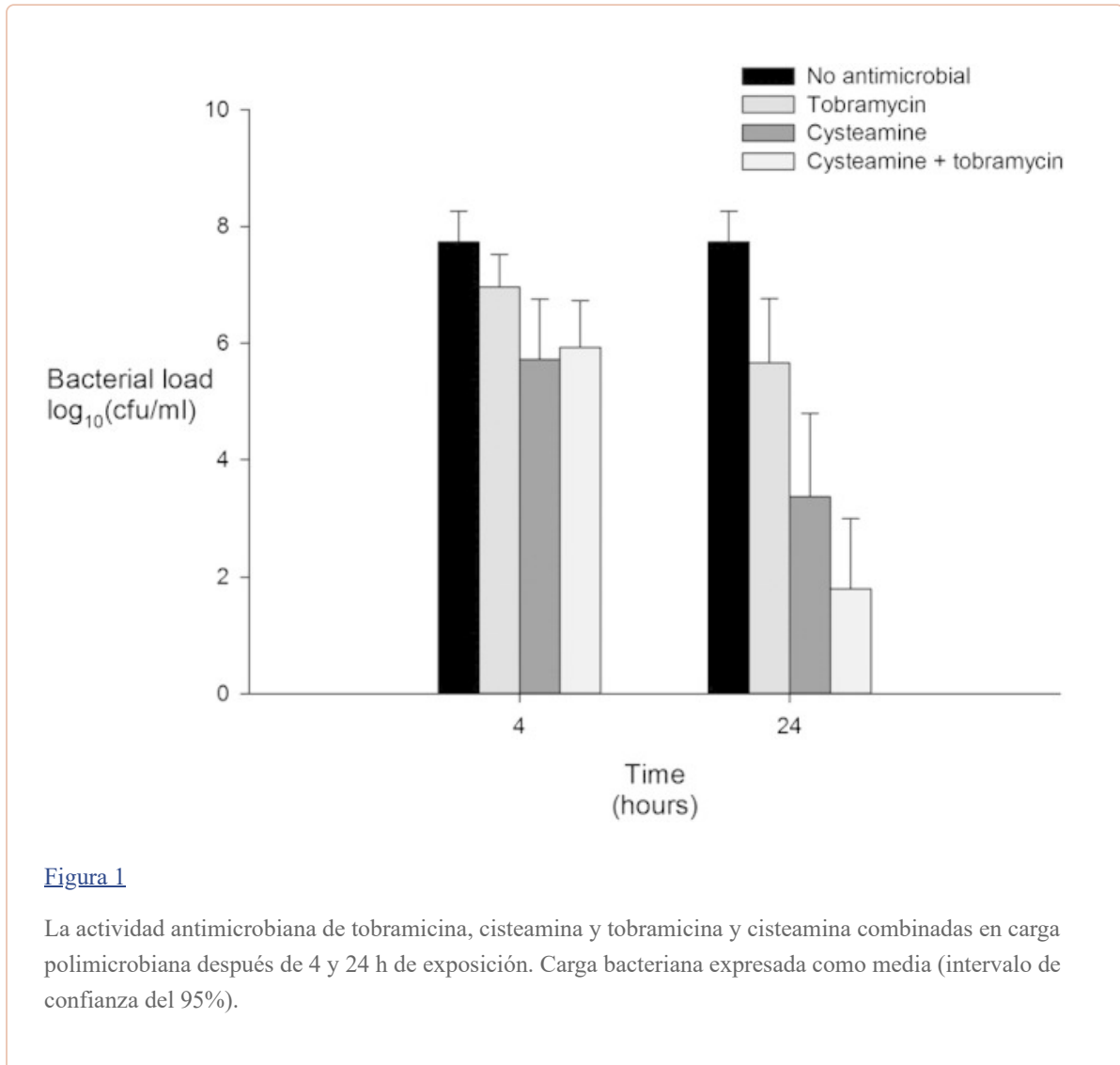
Edad (años) (mediana, IQR)	28 (19–36)	24 (19–37)	29 (19–36)	24 (19–45)
Mujer (n,%)	13 (57%)	6 (67%)	6 (46%)	
DF508 homocigoto (n,%)	16 (70%)	8 (89%)	9 (69%)	5 (83%)
DF508 heterocigotos	6 (26%)	1 (11%)	3 (23%)	1 (17%)
DF508 negativo	1 (4%)	0 0	1 (8%)	0 0
IMC (IC promedio del 95%)	22,1 (20,9–23,3)	22,0 (19.1–24.9)	22,4 (20.5–24.4)	22,3 (17.6–27.0)
FEV <sub>1</sub> % predicho (IC promedio del 95%)	62% (49–74)	54% (37–70)	69 (52–85)	53% (29–77)
Última exacerbación (n,%)				
Agudo	9 (39%)	5 (56%)	5 (39%)	3 (50%)
<4 semanas	8 (35%)	3 (33%)	6 (46%)	2 (33%)
> 4 semanas	6 (26%)	1 (11%)	2 (15%)	1 (17%)
Medicación concomitante				
Azitromicina (n,%)	20 (87%)	9 (100%)	11 (85%)	6 (100%)
Antibiótico inhalado (n,%)	20 (87%)	8 (89%)	12 (92%)	5 (83%)
Ivacaftor (n,%)	2 (9%)	0 0	0 0	0 0
Cultivo de esputo (n,%)				
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (17%)	1 (11%)	3 (23%)	1 (17%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15 (65%)	6 (67%)	8 (62%)	5 (83%)
Especies de <i>Burkholderia</i>	4 (17%)	2 (22%)	2 (15%)	0 0
<i>estenotrofomona maltofila</i>	2 (9%)	1 (11%)	2 (15%)	1 (17%)
Absceso de <i>Mycobacterium</i>	3 (13%)	0 0	0 0	0 0

[Abrir en una ventana separada](#)

### 3.2. Actividad antimicrobiana de la cisteamina contra la carga polimicrobiana en el esputo CF

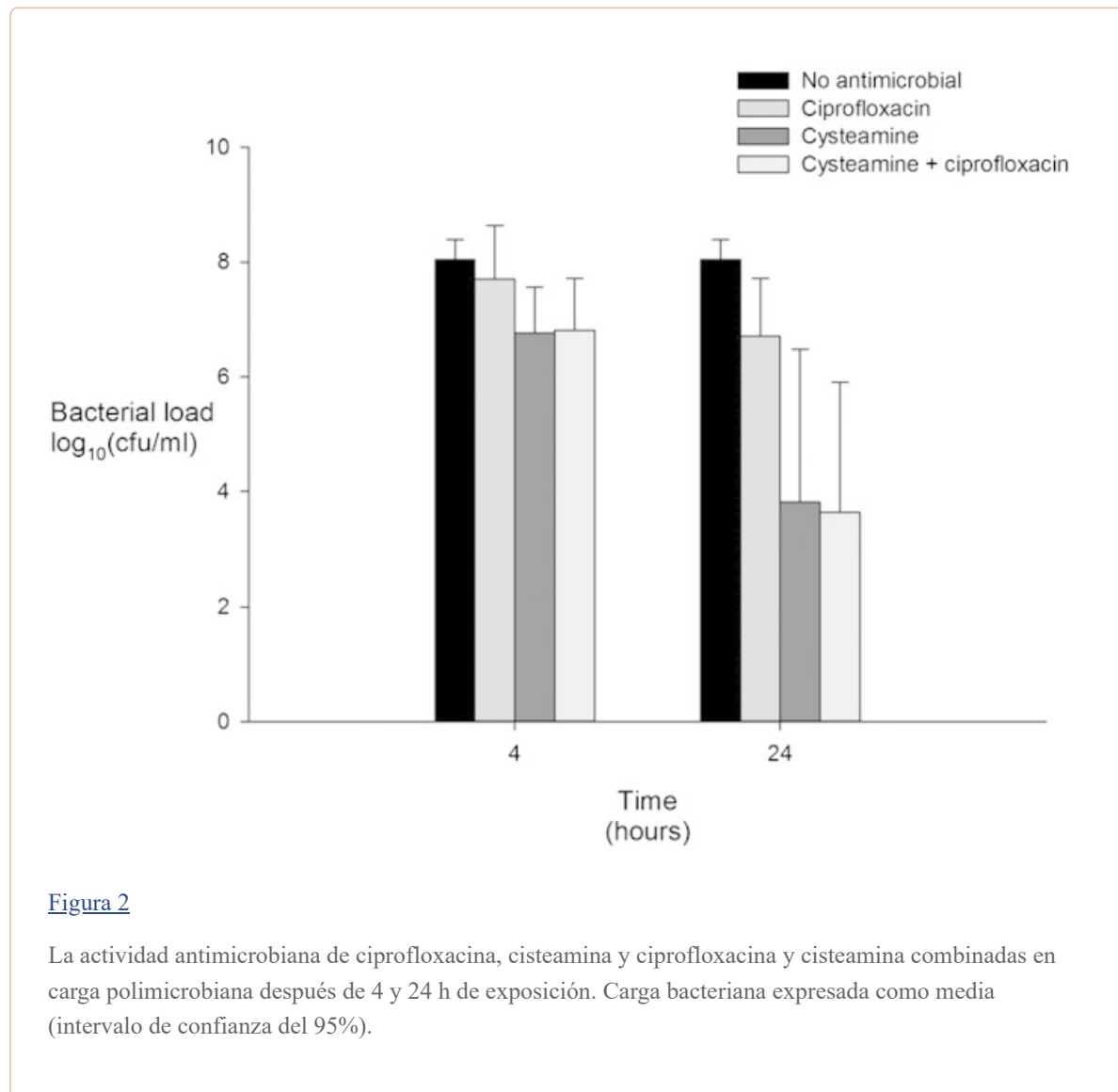
La actividad antimicrobiana de tobramicina, cisteamina y tobramicina / cisteamina combinadas se probaron en las 23 muestras y se presentan en la [figura 1](#). La cisteamina redujo la carga polimicrobiana del esputo después de 4 h en muestras de esputo de 20 pacientes y de 21 pacientes después de 24 h. En comparación con las muestras no tratadas, la tobramicina, la cisteamina y la cisteamina / tobramicina combinadas redujeron la carga polimicrobiana a las 4 h y las 24 h (todas  $p < 0,001$ ). En general,

tobramicina, cisteamina y cisteamina / tobramicina combinadas redujeron significativamente ( $p < 0 \cdot 001$ ) la carga polimicrobiana en  $1 \cdot 42$  (IC 95%  $0 \cdot 92-1 \cdot 92$ ),  $3 \cdot 18$  (IC 95%  $2 \cdot 30-4 \cdot 07$ ), y  $3 \cdot 86$  (IC 95%  $3 \cdot 11-4 \cdot 61$ )  $\log_{10}$  unidades respectivamente. En comparación con la tobramicina, la cisteamina redujo aún más la carga polimicrobiana en  $1 \cdot 76$  (IC 95%  $0 \cdot 89-2 \cdot 63$ ,  $p < 0 \cdot 001$ )  $\log_{10}$  unidades. En comparación con la tobramicina, a las 4 h combinadas cisteamina / tobramicina redujo la carga polimicrobiana en  $1.03$  (IC 95%  $-0 \cdot 50-1 \cdot 56$ ,  $p = 0 \cdot 001$ )  $\log_{10}$  unidades por encima de lo observado con tobramicina. Después de 24 h de exposición, la cisteamina / tobramicina redujo aún más la carga polimicrobiana en  $3 \cdot 75$  (IC 95%  $2 \cdot 63-5 \cdot 07$ ,  $p < 0 \cdot 001$ )  $\log_{10}$  unidades superiores a las observadas con tobramicina (5.65, IC 95% 4.46– 6.80).



Había suficiente esputo para evaluar la actividad antimicrobiana de ciprofloxacina, cisteamina y ciprofloxacina / cisteamina combinadas en nueve muestras, las características clínicas de este subgrupo se presentan en la [Tabla 1](#) y los resultados se presentan en la [Fig.2](#) . En comparación con las muestras no tratadas, la cisteamina y la cisteamina / ciprofloxacina combinadas redujeron la carga polimicrobiana a las 4 h y 24 h (todas  $p < 0,005$ ), la ciprofloxacina redujo la carga polimicrobiana a las 24 h ( $p = 0,001$ ) pero no a las 4 h ( $p = 0,234$ ). La ciprofloxacina, la cisteamina y la cisteamina / ciprofloxacina combinadas redujeron significativamente la carga polimicrobiana en  $0 \cdot 84$  (IC 95%  $0 \cdot 29-1 \cdot 39$ ,  $p = 0 \cdot 008$ ),  $2 \cdot 76$  (IC 95%  $1 \cdot 32-4 \cdot 20$  ,  $p = 0 \cdot 002$ ) y  $2 \cdot 86$  (IC 95%  $1 \cdot 68-3 \cdot 98$ ,  $p < 0 \cdot 001$ )  $\log_{10}$  unidades respectivamente. En comparación con la ciprofloxacina, la cisteamina redujo aún más la carga polimicrobiana en  $1 \cdot 92$  (IC 95%  $0 \cdot 85-3 \cdot 00$ ,  $p = 0 \cdot 003$ )  $\log_{10}$  unidades. En general, en comparación con la ciprofloxacina, la combinación de cisteamina / ciprofloxacina redujo aún más la

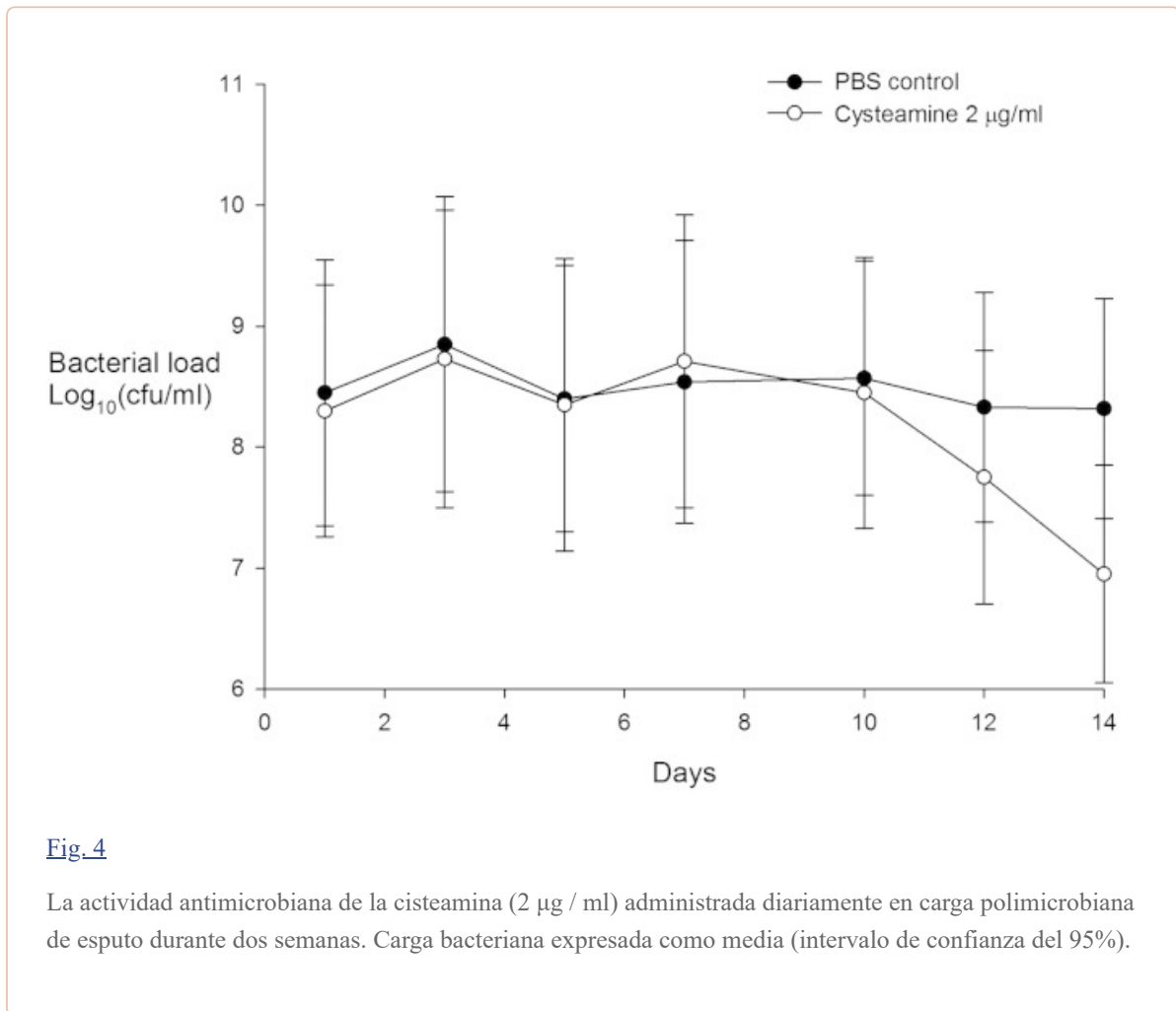
carga polimicrobiana en  $1 \cdot 99$  (IC 95%  $1 \cdot 02$ – $2 \cdot 96$ ,  $p < 0 \cdot 001$ )  $\log_{10}$  unidades, sin embargo, la combinación de cisteamina / ciprofloxacina no redujo la carga polimicrobiana sobre y por encima de lo logrado por la cisteamina sola.



La inclusión de factores clínicos en las medidas repetidas El análisis ANOVA demostró que el sexo, el genotipo CF, el FEV<sub>1</sub>, el estado de exacerbación o el uso concomitante de azitromicina, antibióticos inhalados o ivacaftor no modificaron los efectos antimicrobianos informados anteriormente.

### 3.3. Actividad antimicrobiana de cisteamina en una concentración farmacológica en esputo CF

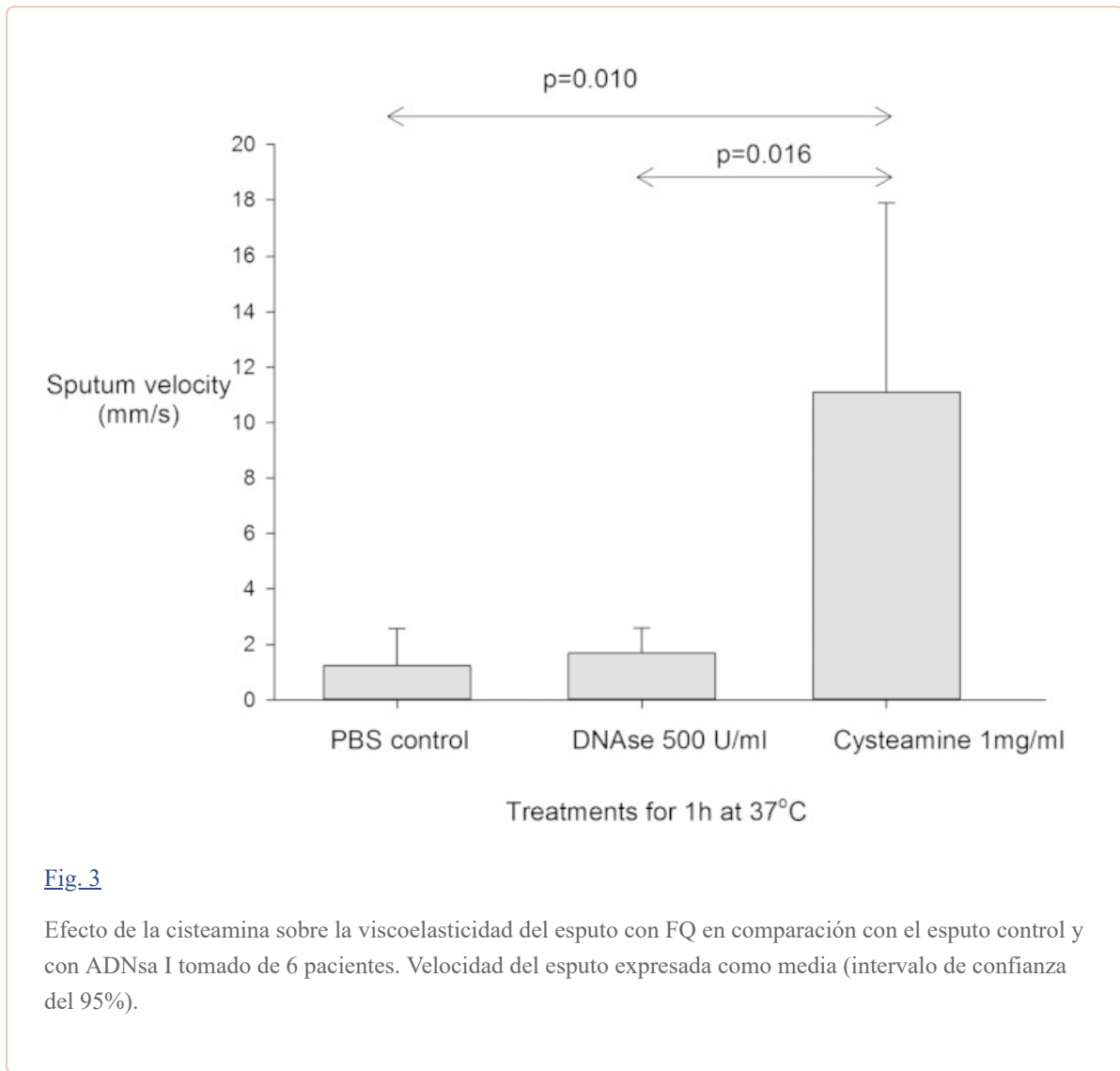
Los efectos de la dosificación diaria *in vitro* de esputo de 13 pacientes con FQ con 2  $\mu\text{g}$  / ml de cisteamina y PBS durante un período de dos semanas se presentan en la [Fig. 4](#), las características clínicas de este subgrupo se presentan en la [Tabla 1](#). Esta dosis de cisteamina es típica de los niveles plasmáticos observados en pacientes con cistinosis después de la administración de cisteamina ([Clinical and Laboratory Clinical Institute, 2012](#)). La cisteamina redujo significativamente la carga polimicrobiana en el esputo de la FQ (Greenhouse-Geisser corrigió  $p = 0 \cdot 032$ ) desde aproximadamente el día 10 en adelante. La carga microbiana del esputo después de 10 días de tratamiento fue menor con cisteamina, pero esto solo fue significativo para el día 10 ( $p = 0 \cdot 044$ ) pero no para el día 14 ( $p = 0 \cdot 088$ ).



### 3.4. Macrorreología del esputo / spinnbarkeit

El efecto de la cisteamina en el esputo spinnbarkeit se probó en muestras de seis participantes donde el volumen de esputo permitió un análisis permitido, las características clínicas de este subgrupo se presentan en la [Tabla 1](#) . La cisteamina fue un potente mucolítico en todas las muestras de esputo con FQ analizadas, superando a la ADNsa I recombinante humana ( $p = 0 \cdot 016$ ), un mucolítico ampliamente utilizado en el campo de la FQ ( [Bilton y Stanford, 2014](#) ), en su reducción de la viscoelasticidad del esputo después de 1 h tratamiento a 37 ° C ( [Fig. 3](#) ). El efecto sobre el spinnbarkeit de esputo después de 1 h se demuestra en el [video clip Fig. 5](#) , pero las mejoras en la viscosidad del esputo tratadas con cisteamina fueron rápidas y notables incluso después de 5 min (datos no mostrados).





### 3.5. Susceptibilidad antimicrobiana de los *aislados de esputo de Mycobacterium Abscessus in vitro*

El *M. abscessus* aislado de tres de los sujetos del estudio (en cuyas muestras de esputo se produjo una reducción significativa de la carga polimicrobiana con la exposición a cisteamina y cisteamina más tobramicina o ciprofloxacina), todos fueron sensibles a los efectos antimicrobianos de la cisteamina (rango de MIC  $62 \cdot 5$ –250  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) cuando se probaron *in vitro*, al igual que la cepa tipo DSMZ44196 (Tabla 2). Además, la cisteamina potencia el impacto de la amikacina en cepas clínicas y de tipo, y azitromicina en todas las cepas clínicas excepto una, con índices de concentración inhibitoria fraccional (FICI) (Vanhoof et al., 1978, Choi et al., 2012) demostrando el potencial más que aditivo o sinérgico de la terapia combinada. La cisteamina tuvo efectos dependientes de la concentración sobre la sensibilidad al meropenem en los aislamientos clínicos y la cepa tipo de *M. abscessus* analizada, mostrando cierto antagonismo específico de la concentración.

Tabla 2

La actividad de cisteamina contra un panel de cepas de *M. abscessus*, la sinergia con los antibióticos clínicamente relevantes, la amikacina y la azitromicina se demuestran mediante experimentos en tablero de ajedrez y el cálculo del índice de concentración inhibitoria fraccional (FICI).

Tensión	MIC 100						Meropenem / cisteamina (FICI)	Amikacina / cisteamina (FICI)	
	Cisteamina [µg / ml]	Meropenem [µg / ml]	Amikacina [µg / ml]	Azitromicina [µg / ml]	Meropenem / cisteamina (FICI)	Amikacina / cisteamina (FICI)			
DSM44196 (tipo)	62 · 5–125	64	4–8	1–2	32–64	Neutral	1–4	Aditiv	
					62 · 5 (1 · 5–2)		15		
							75		
MR313292 (clínico)	125-250	16-64	4 4	8	32–64	Neutral-antagonista	<1 / <15	Sinerg	
					250 (2 · 5)		125–31 · 25 (0 · 375)		
MR27419N (clínico)	125	64	dieciséis	1	64/125	Neutral	4/62	Aditiv	
					(2)		5 (0 · 75)		
MR313367D (clínico)	62 · 5–125	16-64	dieciséis	1	64/125	Neutral-antagonista	15/4	Sinerg	
					(2 · 5)		625–31 · 25 (0 · 75)		

[Abrir en una ventana separada](#)

Todos los resultados presentados representan la media de muestras triplicadas de experimentos realizados tres veces.

Los valores mostrados en la tabla son MIC<sub>100</sub>. Cuando los antibióticos se han usado en combinación, las cifras no resaltadas muestran el rango MIC<sub>100</sub> para cada antibiótico, y las cifras resaltadas en negrita son el rango del índice de concentración inhibitoria fraccional (FICI). Los valores ≤ 0,5 se interpretan como sinergia.

## 4. Discusión

La cisteamina es un aminotiol ( $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ) presente de forma endógena a niveles muy bajos como consecuencia del metabolismo de la coenzima A ( [Besouw et al., 2013](#) , [Orloff et al., 1981](#) ). En los Estados Unidos y la UE, la cisteamina ha sido autorizada para el tratamiento de la cistinosis nefropática durante más de 20 años. En este estudio observacional, se probaron las propiedades antimicrobianas y mucoactivas *in vitro* de la cisteamina en muestras de esputo de adultos con FQ infectados con bacterias típicas de las reportadas en la población de FQ del Reino Unido ( *Staphylococcus aureus* , *P. aeruginosa* , especies de *Burkholderia* y *Stenotrophomonas maltophilia* ) La cisteamina redujo la carga polimicrobiana del esputo *ex vivo* y a las dosis analizadas este efecto antimicrobiano fue mayor que el observado para tobramicina y ciprofloxacina. La combinación de cisteamina con tobramicina pareció ser más que aditiva después de 24 h de incubación, siendo mayor que los efectos individuales de cisteamina o tobramicina. La combinación de cisteamina / ciprofloxacina parecía no ser más antimicrobiana que la cisteamina sola, aunque previamente hemos demostrado una interacción sinérgica para estos dos compuestos *in vitro* ( [Charrier et al., 2014](#) ) Si bien la falta de sinergia entre la cisteamina y la ciprofloxacina puede ser simplemente una consecuencia del pequeño número de muestras de esputo analizadas ( $n = 9$ ), puede ser que en la matriz de esputo la combinación de cisteamina / ciprofloxacina no pueda ejercer el efecto aditivo presente cuando se cultiva en condiciones de medios estándar, se requiere trabajo adicional para investigar si *en vivo* existe sinergia entre cisteamina y ciprofloxacina. En nuestro presente estudio, también demostramos que *M. abscessus* es sensible a la cisteamina; más que para otras bacterias CF cuando se prueba *in vitro* como monoterapia. La cisteamina también potencia la actividad de otros agentes antimicrobianos. Además de los efectos antimicrobianos de la cisteamina, *in vitro*, la cisteamina tuvo efectos mucolíticos, reduciendo la viscosidad del esputo 8–9 veces, notablemente la cisteamina tuvo un efecto mucolítico más potente (6–7 veces) que la ADNsa recombinante. Demostramos que los efectos antimicrobianos de la cisteamina no se modificaron por factores clínicos, *por ejemplo* , sexo, función pulmonar, estado de exacerbación ni por medicación concurrente, *por ejemplo* , azitromicina, antibióticos inhalados o ivacaftor. Sin embargo, estos análisis fueron de pequeños números de pacientes y carecían de poder estadístico, se requiere más trabajo para determinar si los efectos antimicrobianos de cisteamina son modificados por medicaciones concurrentes, u otros factores *por ejemplo*, gravedad de la enfermedad, el sexo, la edad.

Estudios previos *in vitro* utilizando cepas tipo y monocultivos de patógenos bacterianos han demostrado que la cisteamina tiene actividad antimicrobiana directa con  $\text{MIC}_{100}$  a concentraciones en el rango de 250-500  $\mu\text{g} / \text{ml}$  (en medios ricos en nutrientes) contra *P. aeruginosa* y otros patógenos de la FQ, incluidos *Burkholderia cepacia* complex, *S. aureus* y también patógenos emergentes, incluidos *Achromobacter xylosoxidans* y *Stenotrophomonas* ( [Charrier et al., 2014](#) ). El estudio actual es una investigación clínicamente más relevante porque la cisteamina fue expuesta a poblaciones polimicrobianas de patógenos asociados a la FQ en su matriz clínica natural. *es decir*; esputo de pacientes con FQ. Los datos derivados son una progresión de, y coinciden con los efectos antimicrobianos y mucolíticos *in vitro* observados previamente .

El presente estudio demuestra que la cisteamina es antimicrobiana y mucoactiva dentro del esputo con FQ. También se ha demostrado que la cisteamina rescata la expresión funcional del regulador de conductancia transmembrana F508del CF (CFTR) en ratones homocigotos CFTR F508del. En un estudio de 10 pacientes homocigotos F508del con FQ de 8 a 25 años de edad, la administración secuencial de cisteamina oral y el galato de epigallocatequina flavonoide del té verde (EGCG) mejoró la función CFTR, disminuyó las concentraciones de cloruro en el sudor y redujo los niveles de proteína TNF y CXCL8 en el esputo ( [De Stefano et al., 2014](#) ) En el presente estudio, los efectos de la cisteamina son independientes del genotipo CFTR, lo que sugiere que los ensayos futuros de la cisteamina como antimicrobiano-mucolítico no deberían limitarse a los pacientes homocigotos F508del con FQ. Los tioles como la cisteamina y la N-acetilcisteína tienen muchas propiedades biológicas, los efectos mucolíticos de la cisteamina probablemente sean una consecuencia de que el resto tiol reduzca los enlaces disulfuro en las proteínas mucosas, interrumpiendo su unión y estructura de ligando (

[Samuni et al., 1830](#) ). También se ha demostrado que la N-acetilcisteína tiene actividad antimicrobiana y antibiofilm y se ha informado de manera inconsistente con la ciprofloxacina contra *P. aeruginosa* ([Zhao y Liu, 2010](#)) La actividad antibiofilm de la N-acetilcisteína se ha atribuido a la interrupción por tiol de los enlaces disulfuro en las enzimas involucradas en la síntesis de biopelículas, es posible que efectos similares sobre las proteínas involucradas en la expresión génica, la señalización y el ciclo celular subyazcan a los efectos antimicrobianos de la cisteamina.

Las dosis de cisteamina aplicadas para los experimentos de exposición única en el presente estudio fueron cuatro veces la mediana de MIC<sub>100</sub> establecida previamente para la cisteamina contra los patógenos asociados a la FQ en medios ricos en nutrientes ([Charrier et al., 2014](#) ). Actualmente, no sabemos qué niveles locales de cisteamina, si los hay, pueden alcanzarse en el esputo de los pacientes con FQ después del parto oral o en aerosol. Sin embargo, se sabe que en pacientes con cistinosis, después de una dosis estándar única de cisteamina en estado estacionario, la concentración plasmática máxima es de 2 a 3 µg / ml ([Langman et al., 2012](#) ). En un intento de evaluar *ex vivo* Debido a los efectos de la cisteamina a estas concentraciones mucho más bajas, las muestras de esputo se expusieron diariamente a 2 µg / ml de cisteamina durante 14 días. Los datos de estos experimentos sugieren que es probable que se logren reducciones significativas en la carga microbiana total del esputo si la cisteamina se usara como complemento de la terapia antimicrobiana convencional para el curso típico de 14 días utilizado para tratar las exacerbaciones infecciosas agudas de la enfermedad pulmonar por FQ. La consideración de las propiedades físicas de la cisteamina predice que *in vivo* el efecto antimicrobiano de la cisteamina oral de 14 días es probable que sea mayor que el observado en el estudio actual. Con una constante de disociación ácida (pKa) de 10.4 y un coeficiente de partición (logP) de 0.01 ([Drugbank](#)), es probable que la cisteamina pase de la circulación sistémica a las secreciones bronquiales ácidas (pH 6.0–6.9) ([Palmer et al., 2007](#) ) de modo que la concentración de cisteamina será mayor en las secreciones bronquiales que en la circulación sistémica.

Una consideración clave al desarrollar cualquier nueva estrategia antimicrobiana potencial, particularmente una basada en un agente de amplio espectro, es su impacto en la resistencia y si la modificación del microbioma existente crea nichos para patógenos emergentes adicionales. Será muy difícil establecer hasta la introducción en la práctica clínica si este es el caso de la cisteamina, pero ahora hay evidencia *in vitro* y *ex vivo* de que la cisteamina es activa contra los patógenos emergentes. Ya hemos reportado actividad antimicrobiana contra especies como las especies *Achromobacter* y *Stenotrophomonas* ([Charrier et al., 2014](#)) y en el presente estudio hemos promovido este trabajo al investigar si la cisteamina tiene actividad antimicrobiana contra el patógeno emergente *M. abscessus* . La prevalencia de la infección por *absceso M* en pacientes con FQ está aumentando y existe una gran preocupación clínica ya que este microorganismo es resistente a múltiples fármacos y se ha demostrado recientemente la transmisión de paciente a paciente ([Bryant et al., 2013](#) ). Tres de los participantes en este estudio estaban infectados con *M. abscessus* y sus aislamientos eran claramente sensibles a la cisteamina cuando se probaron *in vitro*., no solo como monoterapia sino particularmente en combinación con amikacina y azitromicina. Aunque las cepas probadas ya eran sensibles a la amikacina según lo definido por los puntos de corte de CLSI, esta sensibilidad aumentó notablemente en cada una de las cepas probadas. Lo mismo fue cierto para la cepa de tipo *M. abscessus* . De hecho, el MIC<sub>100</sub> para la cisteamina contra *M. abscessus* fue más bajo de lo que informamos previamente para las especies de *Pseudomonas* y todos los demás patógenos de la FQ. La identificación de un agente oralmente activo contra *M. abscessus* podría ser potencialmente útil, la sinergia entre cisteamina y amikacina y azitromicina podría ser ventajosa en la fase de continuación prolongada de *M. abscessus* Sin embargo, el antagonismo dependiente de la dosis de meropenem puede impedir el uso de cisteamina en la fase intensiva inicial del tratamiento. Aunque este estudio ha identificado un fármaco potencialmente útil para el tratamiento de pacientes con FQ infectados con *M. abscessus* , solo se analizaron cuatro aislamientos en un contexto extracelular *in vitro*, por lo que se requiere claramente más trabajo.

El estudio que presentamos aquí respalda aún más el desarrollo continuo de cisteamina como un novedoso tratamiento de FQ candidato "rediseñado" al confirmar la actividad y el potencial terapéutico en la matriz biológica (esputo de FQ) y aumenta la posibilidad de que se use cisteamina para tratar *M. abscessus* . Sin embargo, queda por confirmar la medida en que la cisteamina oral se absorbe y entra en

las secreciones bronquiales de los pacientes con FQ. La tolerabilidad de la cisteamina cuando se usa en pacientes con FQ también debe determinarse porque la terapia crónica con cisteamina oral (en la cistinosis) está asociada con efectos secundarios que podrían ser perjudiciales para la salud general a largo plazo de los pacientes con FQ, *p*. Ej. anorexia, náuseas, olor al aliento, letargo, osteopenia y estrías cutáneas. Es posible que estos efectos secundarios no impidan el uso de cisteamina oral como complemento del tratamiento antimicrobiano convencional de las exacerbaciones infecciosas agudas de la enfermedad pulmonar por FQ. Sin embargo, podrían ser problemáticos a largo plazo, pero superados por el desarrollo de una forma inhalada de cisteamina para la administración crónica.

Los siguientes son los datos complementarios relacionados con este artículo.

#### Video clip Fig. 5:

Efectos comparativos del tratamiento con ADNsa I y cisteamina (durante 1 ha 37 ° C) sobre el spinnbarkeit de esputo tomado de un voluntario con fibrosis quística.

[Haga clic aquí para ver.](#) (61K, jpg)

Los datos complementarios de este artículo se pueden encontrar en línea en <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.08.018>.

### Contribuciones de autor

---

GD como Jefe de Investigaciones Clínicas contribuyó al inicio del estudio, obtuvo fondos, contribuyó al reclutamiento de pacientes, la recolección de muestras, el análisis de datos y la preparación de manuscritos.

DFP, JR, ED, DM realizó los aspectos microbiológicos del estudio y contribuyó al análisis de datos y la preparación de manuscritos.

DO'N contribuyó al inicio del estudio, obtuvo financiación y contribuyó al análisis de datos y la preparación de manuscritos.

### Declaración de Intereses

---

GD informa de subvenciones de Scottish Enterprise durante la realización del estudio.

DFP informa subvenciones de Scottish Enterprise, durante la realización del estudio; honorarios personales de NovaBiotics Ltd, fuera del trabajo presentado; DFP tiene una patente Tratamiento de infecciones por *M. abscessus* GB14832P pendiente.

JR informa subvenciones de Scottish Enterprise, durante la realización del estudio; honorarios personales de NovaBiotics Ltd, fuera del trabajo presentado.

ED informa subvenciones de Scottish Enterprise, durante la realización del estudio; subvenciones de NovaBiotics Ltd, fuera del trabajo presentado.

DM informa subvenciones de Scottish Enterprise, durante la realización del estudio; honorarios personales de NovaBiotics Ltd, fuera del trabajo presentado.

DO'N informa subvenciones de Scottish Enterprise, durante la realización del estudio; honorarios personales y otros de NovaBiotics Ltd, de nulo, fuera del trabajo presentado; DO'N tiene una patente Biofilms PCT / GB2010 / 000631 emitida, una patente Cisteamina y antibióticos PCT / GB2011 / 001721 emitida, una patente Cisteamina para el tratamiento de levaduras y mohos B1416727.4, US62 / 053,523 pendiente, y una patente Tratamiento de *M. abscessus* infecciones GB14832P pendiente.

### Reconocimiento

---

Este estudio fue financiado por Scottish Enterprise Encompass Kick Start Award KSB001.

### Referencias

---

1. Bals R., Hubert D., Tümmler B. Tratamiento antibiótico de la enfermedad pulmonar por FQ: desde el banco hasta la cama. *J. Cyst. Fibros* 2011; 10 (Supl. 2): S146 – S151. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
2. Besouw M., Masereeuw R., van den Heuvel L., Levtchenko E. Cisteamina: un fármaco antiguo con nuevo potencial. *Drug Discov. Hoy.* 2013; 18 (15-16): 785-792. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
3. Bilton D., Stanford G. El creciente arsenal de medicamentos para ayudar a la eliminación del esputo: ¿cómo deberían usarse para optimizar la atención? *Curr. Opin. Pulm. Medicina.* 2014; 20 : 601–606. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
4. Bryant JM, Grogono DM, Greaves D., Foweraker J., Roddick I., Inns T., Reacher M., Haworth CS, Curran MD, Harris SR, Peacock SJ, Parkhill J., Floto RA Secuenciación de todo el genoma para identificar transmisión de *Mycobacterium abscessus* entre pacientes con fibrosis quística: un estudio de cohorte retrospectivo. *Lanceta.* 2013; 381 (9877): 1551-1560. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
5. Charrier C., Rodger C., Robertson J., Kowalczyk A., Shand N., Fraser-Pitt D., Mercer D., O'Neil D. Cysteamine (Lynovex®), un nuevo agente antimicrobiano y antibiótico mucoactivo para el Tratamiento de la fibrosis quística. *Orphanet J. Rare Dis.* 2014; 9 : 189. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
6. Choi GE, Min KE, Won CJ, Jeon K., Shin SJ, Koh WJ Actividades de moxifloxacina en combinación con macrólidos contra aislados clínicos de *Mycobacterium abscessus* y *Mycobacterium massiliense* . *Antimicrob Agentes Chemother.* 2012; 56 : 3549–3555. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
7. Instituto Clínico Clínico y Laboratorio. Novena edición: Norma aprobada M07-A9. CLSI; Wayne, PA, EE. UU. : 2012. Métodos para la dilución de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana para bacterias que crecen aeróbicamente. [ [Google Scholar](#) ]
8. De Stefano D., Vilella VR, Esposito S., Tosco A., Sepe A., De Gregorio F., Salvadori L., Grassia R., Leone CA, De Rosa G., Maiuri MC, Pettoello-Mantovani M., Guido S., Bossi A., Zolin A., Venerando A., Pinna LA, Mehta A., Bona G., Kroemer G., Maiuri L., Raia V. Restauración de la función CFTR en pacientes con fibrosis quística portadora del F508del -CFTR mutación. *Autofagia* 2014; 10 : 2053-2074. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
9. Banco de drogas cisteamina. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00847> (consultado en julio de 2015)
10. Emerson J., Rosenfeld M., McNamara S., Ramsey B., Gibson RL *Pseudomonas aeruginosa* y otros predictores de mortalidad y morbilidad en niños pequeños con fibrosis quística. *Pediatra Pulmonol* 2002; 34 : 91–100. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
11. Esther CR, Jr., Esserman DA, Gilligan P., Kerr A., Noone PG infección crónica por *absceso de Mycobacterium* y disminución de la función pulmonar en la fibrosis quística. *J. Cyst. Fibros* 2010; 9 : 117-123. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
12. Goss CH, Quittner AL Resultados informados por el paciente en la fibrosis quística. *Proc. A.m. Thorac Soc.* 2007; 4 : 378–386. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
13. Hansen CR, Pressler T., Høiby N., Gormsen M. Infección crónica con *Achromobacter xylosoxidans* en pacientes con fibrosis quística; Un estudio retrospectivo de casos y controles. *J. Cyst. Fibros* 2006; 5 : 245-251. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
14. Jones AM, Dodd ME, Govan JR, Barcus V., Doherty CJ, Morris J., Webb AK *Burkholderia cenocepacia* y *Burkholderia multivorans*: influencia en la supervivencia en la fibrosis quística. *Tórax.* 2004; 59 : 948-951. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
15. Langman CB, Greenbaum LA, Sarwal M., Grimm P., Niaudet P., Deschênes G., Cornelissen E., Morin D., Cochat P., Matossian D., Gaillard S., Bagger MJ, Rioux P. A aleatorizado ensayo cruzado controlado con bitartrato de cisteamina de liberación retardada en la cistinosis nefropática: efectividad en los niveles de cistina de glóbulos blancos y comparación de seguridad. *Clin. Nephrol.* 2012; 7 : 1112–1120. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
16. Lee TW, Brownlee KG, Conway SP, Denton M., Littlewood JM Evaluación de una nueva definición para la infección crónica por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística. *J. Cyst. Fibros* 2003; 2 : 29–34. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

17. Lipuma JJ La epidemiología microbiana cambiante en la fibrosis quística. *Clin. Microbiol Rev.* 2010; 23 : 299–323. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
18. Muhdi K., Edenborough FP, Gumery L., O'Hickey S., Smith EG, Smith DL, Stableforth DE Resultado para pacientes colonizados con *Burkholderia cepacia* en una clínica de fibrosis quística adulta de Birmingham y el final de una epidemia. *Tórax.* 1996; 51 : 374–377. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
19. Orloff S., Butler JD, Towne D., Mukherjee AB, Schulman JD Actividad de panteteinasa y contenido de cisteamina en fibroblastos y leucocitos cistinóticos y normales. *Pediatra Res.* 1981; 15 : 1063-1067. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
20. Palmer KL, Aye LM, Whiteley M. Control de señales nutricionales *Pseudomonas aeruginosa* comportamiento multicelular en el esputo de fibrosis quística. *J. Bacteriol.* 2007; 189 : 8079–8087. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
21. Quanjer PH, Stanojevic S., Cole TJ, Baur X., Hall GL, Culver BH, Enright PL, Hankinson JL, Ip MS, Zheng J., Stocks J., ERS Global Lung Function Initiative Valores de referencia multiétnicos para espirometría para el rango de edad de 3 a 95 años: la función pulmonar global 2012 ecuaciones. *EUR. Respir J.* 2012; 40 : 1324-1343. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
22. Samuni Y., Goldstein S., Dean OM, Berk M. La actividad química y biológica de la N-acetilcisteína. *Biochim Biophys Acta* 1830; 2013 : 4117–4129. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
23. Stewart PS, Costerton JW Resistencia a antibióticos de bacterias en biopelículas. *Lanceta.* 2001; 358 (9276): 135–138. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
24. UK CF Registry, informe anual de datos 2013. 2014. <http://www.cysticfibrosis.org.uk/media/598466/annual-data-report-2013-jul14.pdf> (consultado en junio de 2015)
25. Vanhoof R., Vanderlinden MP, Hubrechts JM, Butzler JP, Yourassowski E. Actividad *in vitro* de agentes antimicrobianos contra *Neisseria gonorrhoeae* en Bruselas. *Br. J. Vener. Dis.* 1978; 54 : 309-315. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
26. Organización Mundial de la Salud . Informe de una reunión conjunta de OMS / ECFTN / ICF (M) A / ECFS. WHO / HGN / CF / WG / 04.02. OMS / HGN / CF / WG; Ginebra: 2004. La epidemiología genética molecular de la fibrosis quística. [ [Google Scholar](#) ]
27. Zhao T., Liu Y. La N-acetilcisteína inhibe las biopelículas producidas por *Pseudomonas aeruginosa* . *BMC Microbiol.* 2010; 10 : 140. [ [Artículo gratuito de PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

---

Los artículos de EBioMedicine se proporcionan aquí por cortesía de **Elsevier**