

Deficiencia de Alfa- 1- antitripsina

Dra. Patricia Sorroche
Laboratorio Central
Hospital Italiano de Buenos Aires
bga@bganalizadores.com.ar

La deficiencia de Alfa-1-antitripsina (AAT), el más abundante inhibidor de proteasas del plasma humano, es una de las enfermedades genéticas más frecuentes en el mundo entero. Los pacientes con este defecto tienen bajas concentraciones séricas de AAT. Esta deficiencia conduce a enfermedad hepática crónica, enfermedad obstructiva pulmonar y, ocasionalmente, a desórdenes de la piel y vasculitis. Es también, la causa más común de trasplante hepático en niños. Recientemente, la Sociedad Americana Torácica y la Sociedad Europea de Enfermedades Respiratorias, establecieron los estándares para el diagnóstico de esta enfermedad (1), constituyendo las primeras guías detalladas para el manejo de una enfermedad genética.

Estructura y función de la AAT

La AAT es una glicoproteína altamente polimórfica sintetizada principalmente en los hepatocitos y los macrófagos alveolares. Su función más significativa es la protección de los tejidos del ataque proteolítico de un gran número de proteasas leucocitarias que se liberan en los procesos inflamatorios, siendo las principales la elastasa de los neutrófilos, la tripsina, la catepsina y la proteinasa 3 (PR3).

La AAT es un miembro de la súper familia de las “serpinas” (inhibidores de las proteasas serina). Esta familia de proteínas controla procesos claves, esenciales para la vida, regulando el fino balance entre los pasos proteolíticos. Todos los miembros de esta familia comparten la misma estructura, particularmente en las regiones móviles de la molécula. Las mutaciones que afectan estas regiones llevan a la pérdida de función de la proteína, y por ende, a la falta de función fisiológica del inhibidor (2,3). Por ejemplo, el déficit de AAT, conlleva una predisposición al enfisema, a anomalías del inhibidor del C1 (asociado a angioedema) o a mutaciones en la antitrombina que llevan a trombosis. Cada una de estas enfermedades está directamente relacionada a la pérdida específica de la capacidad inhibitoria de la proteasa. Pero en el caso de la AAT se agrega una complicación. El déficit no sólo puede producir enfisema sino

que lleva al desarrollo de cirrosis (4). Hoy no hay dudas de que el daño hepático se produce por la acumulación de la proteína, que se polimeriza antes de su secreción del hepatocito (5). Este hallazgo es el prototipo de lo que hoy se conoce como “enfermedad conformacional”(6), una categoría entera de enfermedades que se producen por la agregación intracelular de formas aberrantes de proteínas. Son ejemplos de estos desórdenes, enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y las encefalopatías espongiiformes(7).

La AAT es una proteína con un PM de 52 kDa, constituida por una única cadena polipeptídica de 394 aminoácidos. El centro reactivo de la proteasa (Met 358 –Ser 359) “asoma” de la superficie de la molécula como un lazo. La inhibición de las proteasas se inicia con el acoplamiento de la serpina con su respectivo blanco seguido de un cambio conformacional en la serpina que lleva a la destrucción de la misma proteasa(8).

El déficit de -1-antitripsina es el modelo de una enfermedad asociada con falta de actividad plasmática de la serpina (serpinopatía), pero en la cual el defecto es la inestabilidad conformacional de la proteína. El daño hepático se encuentra sólo en aquellos pacientes con variantes que se agregan en el hepatocito, coincidiendo la severidad de la enfermedad con la magnitud de la acumulación de polímeros conformacionalmente inestables. La variabilidad en la edad de comienzo de la enfermedad y la severidad de las manifestaciones hepáticas se explica por la variación individual en cantidad del número de episodios de inflamación y por consecuencia en el aumento de síntesis de la proteína (5). Además, la inestabilidad conformacional de la AAT es altamente sensible a cambios en la temperatura, probablemente por la aceleración de la velocidad de polimerización. En todo paciente con el déficit de AAT entonces, especialmente en niños, se deben minimizar los episodios de inflamación y pirexia.

Nomenclatura

La designación de las variantes de la AAT es alfabética y refleja la movilidad en la electroforesis de los diferentes tipos: se llama sistema fenotípico inhibidor de proteasa (Pi), PiF-fast, PiM-medium, PiS-slow, pero hay un alelo más lento designado como PiZ.

Algunas variantes raras han recibido el nombre del lugar de origen de la aparición del probando.

El Pi M es el alelo más común en todas las poblaciones

descriptas al presente. Existen subtipos M designados como M1, M2, M3, etc.

El Pi Z es el alelo más común relacionado con la deficiencia. El 95% de los deficientes resultan de la presencia de 2 alelos Z (resultante de la mutación p.E342K).

El Pi S (p.E264V) alcanza frecuencias altas en algunas poblaciones, particularmente en Italia, y es de interés clínico solo cuando está asociado a una variante que produce deficiencia y disminuye la concentración de AAT a menos de un 40% del normal. El fenotipo más frecuente asociado a este alelo es el MS (aproximadamente el 8% de la población caucásica).

Existen otros alelos que producen enfermedad como el Pi Mmalton (p.F52del) y el Pi Siiyama (p.S53F).

Se ha descrito un alelo "null" muy raro (con niveles indetectables de proteína, que produce enfisema pero no enfermedad hepática), y más de 90 variantes fenotípicas que no son clínicamente relevantes.

Prevalencia

Las mutaciones (habitualmente heterocigotas) más frecuentes en el gen SERPINA 1, localizado en el cromosoma 14, son: PiS (Glu264Val) (con una frecuencia de 1:9 – 1:12 entre Caucásicos) y el PiZ (Glu342Lys) (con una frecuencia de 1:30 – 1:40 entre Caucásicos). La frecuencia de los

diferentes fenotipos varía considerablemente en los diversos grupos poblacionales. Así por ejemplo, en la península Escandinava el desorden afecta a 1 de cada 1500 - 3000 individuos, pero es poco común en Asia y en la población negra. En América del Norte, la deficiencia afecta 1 de cada 5000 - 7000 personas. En el ámbito científico, los datos actuales de prevalencia refuerzan la impresión de que el déficit de AAT no es una enfermedad rara sino que es raramente diagnosticada (9).

Manifestaciones Clínicas

La enfermedad fue descubierta por dos científicos suecos en 1963(10). La herencia del gen de AAT es autosómica codominante con igual contribución de ambos alelos al fenotipo. La deficiencia está causada por la homocigocidad del alelo PiZ, cuya característica clínica más común en el adulto es, como dijimos, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), específicamente el enfisema. Otras presentaciones pulmonares son, el asma, bronquitis crónica y bronquiectasis. La segunda manifestación más frecuente es la enfermedad hepática en niños, cirrosis, hepatocarcinoma y falla hepática. El hábito de fumar y la exposición al polvo constituyen los factores con mayor influencia en el desarrollo del EPOC. El desarrollo de enfermedad respiratoria en fumadores con deficiencia de AAT



RELAJESE...

ACL TOP, el sistema de mayor capacidad, velocidad, simplicidad e inteligencia en pruebas de hemostasia.

Ejecuta análisis de rutina y test especiales de coagulación. Funciona rápida, fácil y en forma continua, con resultados en tiempo real.

Reduce el trabajo y aumenta su productividad.

ACL TOP, es el equipo mas completo de la familia ACL.

...NOSOTROS NOS OCUPAMOS.

CONFIANZA
Y SEGURIDAD
EN TODOS SUS
RESULTADOS.



WM ARGENTINA SA

mejorando la vida a cada instante

WERFEN
MEDICAL

Carlos Pellegrini 1141, 7º piso. Bs. As., Argentina
Tel.: 54 11 4327 0099 / Fax: 54 11 4322 0834
info@werfen.com.ar / www.werfen.com.ar



Instrumentation
Laboratory

se anticipa diez años (40-50 años) con respecto a no fumadores (60 años). Los no fumadores tienen una vida normal. El enfisema en niños es raramente observado.

La enfermedad hepática asociada al déficit de AAT, se observa sólo en una pequeña porción de los homocigotas PiZ (10 al 20% de los neonatos con deficiencia homocigota). El signo predominante de enfermedad hepática es el síndrome de hepatitis neonatal, caracterizado por aumento de los niveles de aminotransferasas, prurito, hepatomegalia y destrucción de los ductos biliares al examen histológico. Los signos de la colestasis empiezan entre los 4 días y 2 meses del nacimiento y pueden persistir hasta los 8 meses. La regresión clínica es espontánea y comúnmente ocurre antes de los 6 meses de vida (sólo una minoría progresa a cirrosis y falla hepática) (11). La manifestación hepática de la enfermedad, en el adulto, se manifiesta como una cirrosis y fibrosis y no necesariamente está asociada a una historia de colestasis neonatal. Tanto en adultos como en niños, los varones tienen doble chance de desarrollar enfermedad hepática.

No se demostró ningún otro factor predisponente para la hepatopatía. Ni el alcoholismo, ni las hepatitis o la presencia de marcadores autoinmunes tienen una relación sistemática con el desarrollo de la enfermedad. Los estudios basados en autopsias de pacientes PiZ homocigotos, han demostrado claramente una predisposición a la transformación maligna de la cirrosis asociada al déficit de AAT (12). Los estudios demuestran que un 15-19% de los individuos con más de 50 años con el PiZ desarrollan cirrosis, mientras que el riesgo disminuye al 2% a los 20-40 años (13). La enfermedad es infrecuente en heterocigotos, excepto en algunos fumadores.

Diagnóstico clínico del déficit de AAT

Las guías recientemente publicadas establecen directamente a qué pacientes testear y por qué (1). Ellas recomiendan que en toda persona con EPOC, enfisema, enfermedad hepática de origen indeterminado a cualquier edad, paniculitis necrosante, vasculitis y bronquiectasis, se debe sospechar la presencia de deficiencia de AAT. Los estudios genéticos son recomendados para la identificación de individuos asintomáticos, pero con alto riesgo de padecer la enfermedad, la deficiencia. Un ejemplo claro son los familiares de pacientes con déficit de AAT o aquellos con una historia familiar de EPOC o de enfermedad hepática inexplicable. Esto permite que se administre tratamiento que prevenga o retrase la puesta en marcha de la enfermedad. En países con alta prevalencia de la deficiencia, se aconseja además, realizar screening de portadores.

El diagnóstico de la enfermedad se apoya en:

- Demostración de una concentración disminuida de AAT.
- Observación de una variante deficiente de la AAT por fenotipificación con la técnica de isoelectroenfoque.
- Detección de mutaciones en ambas copias del gen SERPINA1 por testeo genético molecular.

Dosaje de alfa-1-antitripsina

La concentración de AAT promedio en individuos sanos (PI M) T es de 130 mg/dL (rango: 106-158) (14). Sin embargo, la concentración varía de acuerdo al fenotipo. Hoy existen en el mercado métodos accesibles como la turbidimetría y la nefelometría para realizar el screening de la deficiencia.

Como la AAT es una proteína de fase aguda, su concentración puede elevarse en un gran número de condiciones inflamatorias, infecciones, cáncer, enfermedades hepáticas. El aumento correlaciona con el grado de inflamación. Además, se encuentra aumentada durante el embarazo y en pacientes con terapia con contraceptivos orales.

Un nivel sérico de AAT inferior a 50 mg/dL sugiere fuertemente deficiencia Pi Z y se debe solicitar la fenotipificación(15).

Fenotipificación de PI

La tipificación fenotípica actualmente se realiza en suero, por isoelectroenfoque (IEF) en agarosa utilizando un estrecho rango de pH (4,2-4,9).

La nomenclatura estándar para los alelos fue originalmente dada con letras del alfabeto de acuerdo a la movilidad electroforética de la proteína (16).

El IEF es una técnica electroforética especial, por la cual las proteínas se separan de acuerdo a su pI (punto isoeléctrico) en un gradiente continuo y estable de pH. Las ventajas de esta técnica son, que es menos costosa que el diagnóstico molecular y que utiliza el suero que se usa para el dosaje cuantitativo de AAT. Además, un gran número de variantes pueden ser observadas (aunque no las nulas) en una sola corrida, y en un único gel. Actualmente, hay en el mercado un kit comercial para la investigación de fenotipos de AAT por IEF, que en nuestras manos ha probado ser muy confiable(17). La mayor desventaja de la IEF es quizás la interpretación de los patrones de bandas obtenidos, que requiere una notable experiencia por parte del profesional que lo realiza.

Testeo genético molecular

La mayoría de los kits comerciales para el diagnóstico genético de la deficiencia son enfoques basados en PCR desarrollados para la detección de las mutaciones S y Z. (Análisis de mutaciones blanco).

Para la detección de mutaciones raras y nulas en el gen SERPINA1, se usan los análisis de secuenciación. El uso clínico de este testeo se reduce al presente a la confirmación del diagnóstico cuando el IEF es ambiguo, o cuando se sospecha una rara variante que no es observada por IEF, para el screening de portadores; y finalmente en el diagnóstico genético prenatal o preimplante.

Wiener lab. Counter 19



Wiener lab. Counter 19^{CP}



Contar es simple

Wiener lab. presenta el nuevo **contador hematológico Wiener lab. Counter 19**, y su **versión para tubos perforables 19 CP**.

Quienes nunca tuvieron un **contador hematológico** notarán que silencioso es el laboratorio sin el zumbido de la microcentrífuga, y que descansada está la vista sin el abuso del microscopio.

Por supuesto, emplearán sólo un minuto por hemograma!

Los que tenían un contador del siglo pasado, descubrirán una pantalla color de 25 cm, teclado externo, interface con LIS, lector de código de barras, completos programas de Control de Calidad y posibilidad de almacenar hasta 35.000 resultados.

Todos dispondrán de **reactivos originales** y la **más completa red de distribución y soporte técnico de toda Latinoamérica**.

Definitivamente...

Contar es simple!

Investigación y tecnología al servicio de la salud

WIENER LABORATORIOS S.A.I.C.

Riobamba 2944, S2003GSD Rosario, Argentina - Tel.: (54 341) 4329191/6

Moreno 1850, 2° piso, C1094ABB Buenos Aires, Argentina - Tel.: (54 11) 43754151/54

E-mail: marketing@wiener-lab.com.ar - www.wiener-lab.com.ar

 **Wiener lab**
G R O U P

Tratamiento

Se están produciendo avances de importancia en el tratamiento de una patología genética, cuyo principal problema es el subdiagnóstico.

Como dijimos anteriormente, el hábito de fumar en estos pacientes induce el daño pulmonar, por ello el abandono del cigarrillo retarda el desarrollo de enfisema y es, actualmente, la mejor medida preventiva para prolongar la supervivencia de los deficientes.

El trasplante pulmonar podría ser una alternativa en pacientes menores de 60 años que tienen enfermedad pulmonar terminal, pero la supervivencia a 5 años no es mayor que los que no se transplantan.

Con respecto a la enfermedad hepática, en niños con enfermedad avanzada, el trasplante hepático es el tratamiento de elección, y es la cura, ya que el hígado del donante produce AAT normal (18).

Existen al presente opciones terapéuticas farmacológicas, con AAT purificada intravenosa u oral, que podrían teóricamente, reemplazar la función de la proteína deficiente.

Bibliografía

- (1) American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Standards for the Diagnosis and Management of individuals with Alpha-1-Antitrypsin Deficiency. Am J Respir Crit Care Med. 2003;168(7):818-900
- (2) Huber R, Carrell RW. Implications of the three dimensional structure of alpha-1-antitrypsin for structure and function of serpins. Biochemistry 1989;28:8951-66
- (3) Stein P, Chothia C. Serpin tertiary structure transformation. J Mol Biol 1991;221:615-21
- (4) Qu D, Teckman JH, Perlmutter DH. Alpha-1-antitrypsin deficiency associated liver disease. J Gastroenterology Hepatol 1997;12:404-16
- (5) Lomas DA, Evans DL, Finch JT, Carrell RW. The mechanism of Z¹-antitrypsin accumulation in the liver. Nature 1992;357:605-7
- (6) Potempa J, Korzus E, Travis J. The serpin superfamily of proteinase inhibitors: structure, function, and regulation. J Biol Chem 1994;269:15957-60
- (7) Walker LC, LeVine H. The cerebral proteopathies. Neurobiol Aging 2000;21:559-61
- (8) Huntington JA, Read RJ, Carrell RW. Structure of a serpin-protease complex shows inhibition by deformation. Nature 2000;407:923-6
- (9) de Serres FJ. Worldwide racial and ethnic distribution of alpha-1-antitrypsin deficiency: summary of an analysis of published genetic epidemiologic surveys. Chest 2002;122(5):1818-1829
- (10) Laurell C and Eriksson S. The electrophoretic α_1 -globulin pattern of serum in α_1 -antitrypsin deficiency. Scandinavian J of Clin and Lab Investigation 1963;15:132-40
- (11) Sveger T and Eriksson S. The liver in adolescents with alpha-1-antitrypsin deficiency. Hepatology 1995;22:514-517
- (12) Eriksson S, Carlson J, Velez R. Risk of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in alpha-1-antitrypsin deficiency. N England J Med 1986;314:736-9
- (13) Cox DW and Smyth S. Risk for liver disease in adults with alpha 1 antitrypsin deficiency. Am J Med 1983;74:221-7
- (14) Whitcher JT, Ritchie RF et al. New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS) Clin Chem 1994; 40:934-8
- (15) Sorroche P, Legal S, Duca P, Ousset C, Busoni V y D Agostino D. Alfa-1-antitripsina sérica en niños con enfermedad hepática crónica. Datos en prensa.
- (16) Fagerhol MK and Braend M. Serum prealbumin polymorphism in man. Science 1965;149:986-7
- (17) HYDRAGEL 18A1AT ISOFUCUSING. Sebia Ref 4356
- (18) Francavilla R et al. Prognosis of alpha-1-antitrypsin deficiency related liver disease in the era of paediatric liver transplantation. J Hepatol 2000; 32:986-92

PRUEBAS RAPIDAS INMUNOCROMATOGRAFICAS

DIAGNOSTICO EFECTIVO A NIVEL MUNDIAL



ROTA - STRIP

Test inmunocromatográfico in vitro para diagnosticar gastroenteritis por Rotavirus.

ADENO - STRIP

Test inmunocromatográfico in vitro para diagnosticar gastroenteritis por Adenovirus.

40/41 ADENO - STRIP

Test inmunocromatográfico in vitro para diagnosticar gastroenteritis por Adenovirus.

COMBI - STRIP

Test inmunocromatográfico in vitro para diagnosticar gastroenteritis por Rotavirus y Adenovirus.

RSV RESPI - STRIP

Test inmunocromatográfico rápido para detectar el virus sincicial respiratorio.

INFLU A RESPI - STRIP

Test inmunocromatográfico rápida para

detectar el virus A de la influenza.

ADENO RESPI - STRIP

Test inmunocromatográfico rápido para detectar el Adeno virus en secreciones nasofaríngeas.

GASTROVIR (PROXIMAMENTE)

Test inmunocromatográfico rápido para detección de gastroenteritis por rotavirus y/o adenovirus 40/41.

