



Improving the Laboratory Diagnosis of M-like Variants Related to Alpha1-Antitrypsin Deficiency

Valentina Barzon, Stefania Ottaviani, Alice M. Balderacchi, Alessandra Corino, Davide Piloni, Giulia Accordino, Manuela Coretti, Francesca Mariani, Angelo G. Corsico, Ilaria Ferrarotti.

Int J Mol Sci. 2022 Aug 30. doi: <https://10.3390/ijms23179859>

Autora del comentario: Dr. Mario A. González Carracedo. Instituto de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias (IETSPC). Universidad de La Laguna.

Las distintas variantes de la proteína Alfa-1 antitripsina (AAT) han sido tradicionalmente caracterizadas mediante isoelectroforesis (IEF), una técnica desarrollada en la etapa previa a la revolución molecular que sigue siendo ampliamente utilizada para el diagnóstico del DAAT. Básicamente, las diferentes variantes de AAT presentes en el suero son identificadas con letras mayúsculas, según su patrón de migración específico en el gel de IEF. Las variantes de tipo M (*medium*) presentan un patrón de migración similar al observado para la AAT de referencia, mientras que las variantes de tipo S (*slow*) y Z (*very slow*), que se asocian con el 95% de casos de DAAT, pueden ser identificadas de una forma relativamente sencilla. Sin embargo, el continuo descubrimiento de nuevos alelos del gen *SERPINA1*, hace que sea cada vez más difícil dilucidar lo que está ocurriendo a nivel molecular a partir del fenotipo observado mediante IEF. Un ejemplo son las variantes *M-like*, ya que son sintetizadas normalmente a partir de alelos poco frecuentes del gen *SERPINA1*, pero presentan un patrón de migración similar al observado para la AAT de tipo M. En este contexto, los autores proponen mejoras aplicables al método de diagnóstico mediante IEF, para caracterizar la variante patológica conocida como *M_{Wurzburg}*. Además, se centran en la variante *M_{Whitstable}* ya que se trata de una variante muy poco estudiada, y difícilmente detectable mediante IEF.

En un primer análisis retrospectivo, los autores partieron de 76 pacientes portadores del alelo *M_{Wurzburg}*, genotipados según datos previos de secuenciación del gen *SERPINA1*. El análisis de estas muestras mediante IEF les permitió detectar un patrón de migración característico para la variante *M_{Wurzburg}*, que la diferencia del resto de variantes *M-like*. Para validar sus resultados, seleccionaron otros 18 pacientes portadores de la variante *M_{Wurzburg}*, pero esta vez caracterizados únicamente mediante IEF. Tras secuenciar el exón V del gen *SERPINA1*, dos de ellos presentaron el genotipo normal (PI*MM), un paciente presentó el genotipo PI*SM_{Wurzburg}, y los 15 restantes fueron genotipados como PI*MM_{Wurzburg}. El 43.8% de los portadores del alelo *M_{Wurzburg}* habían presentado patologías pulmonares, y el 6.3% presentó un cuadro hepático. Teniendo en cuenta el historial de todos los pacientes analizados en su laboratorio en los últimos 16 años (10.660), los autores estiman que 6 de cada 1000 pacientes portan el alelo *M_{Wurzburg}*, un valor aproximadamente 10 veces superior a la frecuencia estimada para este alelo a nivel global y en Europa. Entre los portadores del alelo *M_{Wurzburg}*, el 70% de los individuos presentaron un genotipo PI*MM_{Wurzburg} y DAAT moderada, mientras que el 30% restante presentaron deficiencia severa, al combinar el alelo *M_{Wurzburg}* con otras variantes deficientes.



DAATNEWS

AL DÍA EN ALFA-1-ANTITRIPSINA

En el caso de la variante $M_{Whitstable}$, 36 de 7885 (0.46%) pacientes fueron identificados como portadores, según datos de secuenciación del gen *SERPINA1* (30 con genotipo $PI^*MMWhitstable$, cinco $PI^*ZM_{Whitstable}$ y uno $PI^*SM_{Whitstable}$). En otros 31 pacientes, para los que no se disponía de datos moleculares, el alelo $M_{Whitstable}$ fue detectado en 3 individuos, mediante secuenciación del intrón IV del gen. La concentración media de AAT en el suero de los 39 individuos portadores del alelo $M_{Whitstable}$ fue de 875 mg/dL, un grado de DAAT similar al de la población PI^*MZ , por lo que es necesario prestar mayor atención a esta variante durante en el algoritmo de diagnóstico.

A nivel general, este trabajo pone de manifiesto la necesidad de llevar a cabo el diagnóstico mediante IEF en laboratorios de referencia, ya que las herramientas de diagnóstico rápido, por sí solas, no suelen ser capaces de detectar ciertas variantes potencialmente patológicas. Además, es necesario integrar y consolidar técnicas moleculares en el algoritmo de diagnóstico de DAAT. En este sentido, las técnicas basadas en la secuenciación de tercera generación presentan una clara ventaja, ya que permiten secuenciar regiones del genoma mucho más largas, lo que es esencial a la hora de identificar variantes intrónicas del gen *SERPINA1*, como es el caso del alelo $M_{Whitstable}$.



DAATNEWS

AL DÍA EN ALFA-1-ANTITRIPSINA

Novel SERPINA1 alleles identified through a large alpha-1 antitrypsin deficiency screening program and review of known variants

Gayle S. Wiesemann, Regina A. Oshins, Tammy O. Flagg, Mark L. Brantl

Chronic Obstr Pulm Dis. 2022 Oct 24. doi: <https://doi.org/10.15326/jcopdf.2022.0321>

Autora del comentario: Dr. Mario A. González Carracedo. Instituto de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias (IETSPC). Universidad de La Laguna.

El 95% de los casos de deficiencia de Alfa-1 antitripsina (DAAT) están relacionados con las variantes S y Z del gen *SERPINA1*. Sin embargo, se han identificado otras muchas variantes menos frecuentes que también pueden causar DAAT, y/o pérdida de funcionalidad de la AAT. A pesar de que estas variantes raras no suelen estar presentes en la mayoría de pacientes con DAAT, su caracterización molecular es muy importante para el desarrollo de nuevas terapias, ya que proporcionan información valiosa sobre elementos estructurales clave de la AAT y, por tanto, sobre su papel en el desarrollo de DAAT y en el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.

Los autores han llevado a cabo un amplio screening en busca de nuevas variantes del gen *SERPINA1*, a partir de pacientes con trastornos hepáticos, pulmonares y/o antecedentes familiares relacionados con DAAT. Los niveles de AAT fueron estimados mediante nefelometría, y se genotipó los alelos S y Z del gen *SERPINA1* mediante PCR en tiempo real. Cuando se detectó inconsistencia entre los niveles de AAT, el genotipo, y/o el fenotipo de AAT obtenido mediante isoelectrofoque, se estudió la presencia de otras variantes del gen *SERPINA1*, mediante PCR de fusión y secuenciación de los exones II-V. Además, los autores utilizaron el servidor Polyphen-2 para predecir las consecuencias funcionales de estas mutaciones a nivel proteico.

En total, se identificaron 22 nuevas variantes en el gen . La mayoría de ellas fueron detectadas en pacientes asintomáticos. Sin embargo, tres variantes se encontraron en pacientes jóvenes con sintomatología pulmonar (*I_{Orange}*, *Q_{0_San Francisco}* y *Q_{0_Knoxville}*). Los autores describen 13 nuevos alelos nulos, la mayoría en el fondo genético M1, y uno (*Q_{0_fosston}*) en el fondo genético M2. Curiosamente, de los siete nuevos alelos deficientes caracterizados, solo uno (*VGallipolis*) se detectó en el fondo genético M1, al igual que los dos nuevos alelos normales detectados en este trabajo (*P_{Connellsville}* y *N_{Hartford City}*).



DAATNEWS

AL DÍA EN ALFA-1-ANTITRIPSINA

El análisis de modelización a nivel de AAT reveló que una de las nuevas variantes deficitarias ($Z_{\text{Little Rock}}$), a pesar de presentar una movilidad electroforética similar a la variante clásica PI^*Z , no está relacionada con el alelo Z, poniendo manifiesto la importancia de la caracterización molecular. Del mismo modo, el modelizado de la variante $Q0_{\text{Chillicothe}}$ permitió a los autores obtener una posible explicación sobre la implicación de esta mutación nula en la estructura de la AAT. A partir de una amplia revisión bibliográfica, identificaron artículos científicos sobre detección de variantes del gen *SERPINA1*, recopilando información sobre 35 variantes normales del gen *SERPINA1*, 53 alelos deficitarios, 48 alelos nulos, y 48 alelos identificados mediante isoelectrofoque. Estos datos, sumados a las nuevas variantes descubiertas en este trabajo, confirman la existencia de al menos 206 variantes en el gen *SERPINA1*.

A nivel general, este trabajo pone de manifiesto dos aspectos clave para el diagnóstico de la DAAT, y para el desarrollo de nuevas terapias. Por una parte, confirma la necesidad de continuar con la caracterización molecular de nuevas variantes de gen *SERPINA1*, que debe ser llevada a cabo junto con un registro estricto de los detalles clínicos de cada paciente. Por otra, pone de manifiesto la ventaja que supone el uso de herramientas bioinformáticas de modelización para esclarecer los efectos funcionales de estas variantes a nivel de la AAT, y su uso potencial para el descubrimiento y desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.



Unique and shared systemic biomarkers for emphysema in Alpha-1 Antitrypsin deficiency and chronic obstructive pulmonary disease

K A Serban, K A Pratte, C Strange, R A Sandhaus, A M Turner, T Beiko, D A Spittle, L Maier, N Hamzeh, E K Silverman, B D Hobbs, C P Hersh, D L DeMeo, M H Cho, R P Bowler

EBioMedicine. 2022 Oct;84:104262. doi: 10.1016/j.ebiom.2022.104262. Epub 2022 Sep 22.

Autora del comentario: Dra. Cruz González. Hospital Clínico Valencia

La deficiencia de alfa-1 antitripsina (AATD), la causa genética más común de enfisema, presenta una gran heterogeneidad fenotípica en los sujetos afectados. El objetivo de este trabajo es identificar biomarcadores plasmáticos de la AATD únicos y compartidos con la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) que puedan explicar la heterogeneidad fenotípica de la AATD.

Para ello se analizó el plasma o suero de 5.924 sujetos de cuatro cohortes de AATD y EPOC en la plataforma SomaScan V4.0. Mediante regresión lineal multivariable, metaanálisis de efectos aleatorios de varianza inversa y regresión del Operador de Selección (LASSO), se comprobó la asociación entre 4.720 proteínas individuales o combinadas en un score de proteínas con el enfisema medido por la densidad pulmonar del percentil 15 (PD15) o la capacidad de difusión (DLCO) en distintos genotipos de AATD (Pi*ZZ, Pi*SZ, Pi*MZ) y sujetos con EPOC no AATD, PiMM. La precisión del AAT SOMAmer para identificar la AATD se comprobó mediante el análisis de las curvas ROC.

En los sujetos con AATD PiZZ, 2 proteínas se asociaron con PD15 y 98 proteínas con DLCO. De ellas, 68 se asociaron también con la DLCO en la EPOC y se enriquecieron para tres vías de componentes celulares: factor de crecimiento similar a la insulina, gota lípídica y complejo de miosina. Los sujetos con AATD PiMZ compartían proteínas asociadas a la DLCO similares a las de los sujetos con EPOC. El score de proteínas de enfisema incluyó 262 SOMAmers y predijo enfisema en sujetos con AATD y EPOC. El nivel de SOMAmer AAT < 7,99 unidades de fluorescencia relativa (RFU) tuvo una sensibilidad y especificidad del 100% para identificar Pi*ZZ, pero fue menor para otros genotipos de AATD.

La principal aportación de este trabajo radica en que utilizando SomaScan, se identifican biomarcadores plasmáticos únicos y compartidos entre sujetos con AATD y EPOC y generamos un score de proteínas que se asocia fuertemente con el enfisema en EPOC y AATD. Además, descubren biomarcadores únicos asociados con DLCO y enfisema en PiZZ AATD.



Alpha1-antitrypsin deficiency and cardiovascular disease: questions and issues of a debated relation

Laura Pini, Jordan Giordani, Manuela Ciarfaglia, Alessandro Pini, Marianna Arici, Claudio Tantucci

J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2022 Oct 1;23(10):637-645. doi: 10.2459/JCM.0000000000001369

Autora del comentario: Dra. Cruz González. Hospital Clínico Valencia

La alfa1-antitripsina (AAT) es uno de los principales inhibidores que intervienen en la homeostasis de las proteasas/antiproteasas, y es producida principalmente por los hepatocitos y las células epiteliales pulmonares. Su deficiencia, denominada déficit de alfa1-antitripsina (AATD), provoca graves problemas hepáticos y respiratorios. Además, la AAT se libera en el torrente sanguíneo proporcionando efectos antiinflamatorios sistémicos. Además de actuar como proteína antiinflamatoria de fase aguda, puede ser un biomarcador para controlar la evolución de la enfermedad. Una producción reducida o defectuosa conlleva una pérdida de la función antiinflamatoria, un desequilibrio proteasa-antiproteasa y una congestión celular debida al depósito de polímeros, con repercusiones en todo el sistema. Esta revisión pretende evaluar la afección por AATD en los grandes vasos de cabeza y cuello, tórax y abdomen. Además, se revisará su papel especialmente en las enfermedades vasculares autoinmunes.

Se ha realizado una revisión crítica de los principales hallazgos bibliográficos desde la década de 1980 hasta la actualidad. Los estudios realizados a lo largo de los años han aportado varias pruebas contradictorias. La mayoría de los autores reconocen el papel protector y antiinflamatorio de la AAT en el endotelio vascular. Sin embargo, las correlaciones entre la AATD y las principales arterias, las afecciones cerebrales y cardiovasculares y las enfermedades autoinmunes siguen sin estar claras. La mayoría de los estudios reconocen el papel de la AATD en las enfermedades vasculares, pero sólo como cofactor inductor de alteraciones de la estructura celular y tisular. Sin embargo, esta condición por sí sola no basta para determinar la aparición de nuevas enfermedades.

Debido a los resultados opuestos comunicados a lo largo de los años, sigue existiendo una considerable falta de conocimientos sobre el papel que desempeña la AATD en las enfermedades vasculares. Debería fomentarse un interés renovado en este campo de investigación para aportar nuevas pruebas sólidas y validar el papel del cribado y la terapia de sustitución de la AATD como herramientas útiles de diagnóstico y tratamiento.