

Normativas de diagnóstico y tratamiento del déficit de alfa-1 antitripsina

Asociación Argentina de Medicina Respiratoria

Correspondencia:

Guillermo Menga
Domicilio postal: Finochietto 849
(CP 1272)- CABA- Arg
Tel.: 4307-6738
E-mail: mengagaamr@gmail.com

Recibido: 12.01.2014
Aceptado: 14.02.2014

Autores: Guillermo Menga¹, Marc Miravittles², Ignacio Blanco³, Andrés L. Echazarreta⁴, Santiago Enrique Rossi⁵, Patricia Beatriz Sorroche⁶, Martín Eduardo Fernández⁷, Mariano Fernández Acquier⁸, Pablo Sáez Scherbovsky⁹, Juan Carlos Figueroa Casas¹⁰

¹Departamento Clínico Quirúrgico del Hospital de Rehabilitación Respiratoria María Ferrer. Ex presidente de la AAMR

²Servicio de Neumología. Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona

³Registro Español de Pacientes con Déficit de Alfa-1 Antitripsina (REDAAT), Barcelona

⁴Sala de Exploración Funcional Respiratoria, Hospital San Juan de Dios de La Plata

⁵Centro de Diagnóstico Dr. Enrique Rossi

⁶Laboratorio Central Hospital Italiano de Bs As

⁷Hospital de Rehabilitación Respiratoria María Ferrer

⁸Hospital del Tórax A. Cetrángolo

⁹Servicio Neumonología. Escuela de Medicina Nuclear de Mendoza

¹⁰Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Resumen

El déficit de alfa-1 antitripsina (AAT) es una condición hereditaria rara y raramente diagnosticada en todo el mundo, incluida Argentina. El infradiagnóstico es fundamentalmente debido a que muchos médicos desconocen su existencia, diagnóstico y tratamiento. Por ello, la Asociación Argentina de Medicina Respiratoria encomendó a un grupo de expertos la elaboración de la presente normativa.

La AAT es una glicoproteína secretada por el hígado, muy abundante en sangre, tejidos y fluidos corporales, cuya función principal consiste en inhibir la elastasa del neutrófilo y otras serin proteasas, confiriendo al suero humano más del 90% de su capacidad antiproteasa.

El déficit de AAT deriva de mutaciones del gen de la SERPINA1, y se manifiesta clínicamente por enfisema pulmonar, cirrosis hepática y, con menor frecuencia, por paniculitis, vasculitis sistémicas y posiblemente otras enfermedades.

El déficit grave de AAT afecta mayoritariamente a individuos de raza caucásica y tiene su máxima prevalencia (1:2.000-1:5.000 individuos) en el norte, oeste y centro de Europa. En EEUU y Canadá, la prevalencia es de 1: 5.000-10.000, y es 5 veces menor en países latinoamericanos, incluida Argentina, donde se estima que puede haber unos 18.000 individuos con genotipos deficientes graves SZ y ZZ, la inmensa mayoría sin diagnosticar. Sospechar la enfermedad resulta clave para medir la concentración sérica de AAT y completar el diagnóstico con la determinación del fenotipo o genotipo ante concentraciones bajas. La detección de casos permite la puesta en práctica del consejo genético, el chequeo de familiares consanguíneos y, en casos seleccionados, la aplicación de terapia sustitutiva.

Palabras clave: Alfa-1 antitripsina, serpinA1, alfa-1 proteinasa inhibidor, déficit de alfa-1 antitripsina, variantes genéticas, tratamiento sustitutivo

Abstract

Guidelines on Diagnosis and Treatment of Alpha-1 Antitrypsin Deficiency

The alpha-1 antitrypsin (AAT) deficiency is a rare hereditary condition which is rarely diagnosed in the world, including Argentina. Underdiagnosis is mainly due to lack of

knowledge of its diagnosis and treatment by many physicians. For this reason, the Argentine Association of Respiratory Medicine convened a group of experts to develop the present guidelines. AAT is a glycoprotein secreted by the liver; it reaches high levels in blood, body tissues and fluids. Its main function is to inhibit the neutrophil elastase and other serum proteases providing 90% of human serine antiprotease activity.

The AAT deficiency is produced by mutations of the SERPINA1 gene. Its clinical manifestations are pulmonary emphysema, liver cirrhosis, and less often panniculitis, systemic vasculitis and possibly other conditions.

The severe AAT deficiency affects mainly Caucasian individuals. The highest prevalence, ranging from 1 in 2000 to 1 in 5000 population is observed in northern, western and central Europe. In the USA and Canada, the prevalence varies from 1 in 5000 to 1 in 10000 population. It is 5 times less frequent in Latin American countries. It is estimated that in Argentina there may be 18000 cases with severe deficiency of SZ y ZZ genotypes, most of them undiagnosed.

It is crucial to suspect the disease in order to measure the serum AAT concentration, and, if the concentrations are low, to confirm the diagnosis with the phenotype or genotype determinations. Case detection allows genetic advice, control of blood-related relatives and in selected cases, replacement therapy.

Key words: Alpha-1 antitrypsin, SERPINA1, Alpha-1 proteinase inhibitor, alpha-1 antitrypsin, genetic variants, replacement treatment.

Introducción

Características moleculares y funciones de la alfa-1 antitripsina

La alfa-1 antitripsina (AAT), también denominada alfa-1 proteinasa inhibidor (α 1-Pi) y SERPINA1 (Serine Protease Inhibitor, grupo A, miembro 1), es una glucoproteína circulante de mediano tamaño (6,7 x 3,2 nm), hidrosoluble y difusible en tejidos, con un peso molecular de 52-kDa y una vida media en sangre de 4-5 días. Más del 80% es sintetizada y secretada por los hepatocitos y, en cantidades adicionales, por monocitos, macrófagos, páncreas, células alveolares del pulmón, enterocitos, endotelio y algunos cánceres. El organismo produce alrededor de 34 mg/día Kg de peso, actividad que se traduce por altas concentraciones plasmáticas de aproximadamente 1-2 g/L. Desde el plasma, el 80% difunde al intersticio y entre el 0,5-10% alcanza los fluidos biológicos, incluido el líquido alveolar (0.1-0.3 g/L), saliva, lágrimas, leche, semen, orina, líquido cefalorraquídeo, bilis, etc.¹⁻³.

El sustrato específico de la AAT es la elastasa del neutrófilo⁴, con la que reacciona con una constante de asociación, de las más altas conocidas en fisiología ($k = 6.5 \times 10^7 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Pero, aparte de inhibir el exceso de elastasa libre de neutrófilos, páncreas y bacterias, la AAT neutraliza eficazmente la proteinasa-3, la mieloperoxidasa, la catepsina G y las alfa-defensinas del neutrófilo, la tripsina y

quimasa del mastocito, la tripsina de células epiteliales y páncreas, la quimotripsina pancreática, las granzimas del linfocito, las calicreínas 7 y 14, y las serin-proteinasas circulantes plasmina, trombina, uroquinasa y factor Xa^{4,7}. Estas capacidades inhibitorias aportan al suero humano más del 90% de toda su capacidad antiproteasa (el 10% restante lo proporciona la α 2-macroglobulina). Además, en la última década se ha demostrado que la AAT reduce la expresión de leucotrieno B4 (un potente quimioattractor de neutrófilos), óxido nítrico y diversas citoquinas proinflamatorias, como TNF-alfa, IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-32 y MCP-1, sin interferir con la expresión de las antiinflamatorias IL-10 y IL-1Ra^{8,9} y que también está dotada de propiedades antimicrobianas y reparadoras del tejido conectivo dañado por la inflamación, lo que incrementa la producción de procolágeno y de matriz extracelular amorfa por parte del fibroblasto¹⁰. Sin embargo, en medios inflamatorios, la AAT pierde efectividad porque los oxidantes y las metalo-proteinasas la inactivan por oxidación y escisión del bucle del sitio activo, respectivamente¹¹.

Herencia

El gen de la AAT tiene su locus en el extremo distal del cromosoma 14 (posición q31-32,3), está constituido por 7 exones y 6 intrones, y es activado por productos generados durante la inflamación y las infecciones, como lipopolisacáridos, interferón b,

citoquinas IL-1, IL-6 y TNF- α , derivados del estrés nitro-oxidativo y otros¹.

El gen consta de dos alelos, que se transmiten de padres a hijos por herencia mendeliana simple, autosómica codominante (Figura 1). Los alelos normales, presentes en el 85-90% de los individuos, se denominan M, y por tanto, un individuo normal recibe dos alelos M (uno de cada progenitor), para formar un genotipo MM. Los alelos deficientes más frecuentes se denominan S y Z, y su prevalencia en las poblaciones italiana y española oscila entre 5-10% y 1-2%, respectivamente^{12,13}. En consecuencia, la inmensa mayoría de fenotipos existentes son combinaciones de M, S y Z, es decir: MM (genotipo normal, exhibido por alrededor del 85-95% de personas), MS, SS, MZ, SZ y ZZ (5 genotipos deficientes, presentes en casi el 5-15% restante de la población).

Los alelos M, S y Z expresan respectivamente alrededor de 100, 40 y 15% de AAT, y en consecuencia los genotipos MM expresan un 100% de AAT en sangre, mientras que los MS, SS, MZ, SZ y ZZ expresan aproximadamente un 80, 60, 55, 40 y 15%, respectivamente⁷.

Epidemiología

La prevalencia más alta de genotipos ZZ se encuentra en las regiones costeras del noroeste de Europa bañadas por el Océano Atlántico y sus mares, y desciende gradualmente hacia el este, hasta prácticamente desaparecer en Asia. Concretamente, la máxima prevalencia ZZ (1:1.500-2.000 individuos) se encuentra en las repúblicas Bálticas, sur de la Península Escandinava y Dinamarca. Disminuye, pero sigue siendo alta (entre 1:2.500 y 1:4.000 individuos) en Bielorrusia, Ucrania, Polonia, Alemania, Países Bajos, Francia, Inglaterra, Irlanda y Península Ibérica. La prevalencia desciende

gradualmente (1:10.000-90.000) en las regiones más extremas del norte, sur y este del continente, hasta prácticamente desaparecer en Laponia, sur de Italia y Península de los Balcanes. En poblaciones anglosajonas de Nueva Zelanda y Australia, los valores son similares a los del Reino Unido (1:2.500 y 1:4.000). El genotipo ZZ está ausente en la mayor parte de Asia y de África, y su prevalencia es moderada en poblaciones caucásicas de Canadá, Arizona y estados americanos que rodean los Grandes Lagos (1:5.000-6.000). Las frecuencias son bajas en el resto de los EEUU, México, América Central, islas del Caribe y Sudamérica¹⁴.

De acuerdo con los datos publicados, se estima que en los países de Europa occidental y central hay unos 74.000 individuos con genotipo ZZ (41% del total) y que 44.000 (24% del total) viven en Norteamérica. Hay además cerca de un millón y medio de SZ, de los cuales 48% habita en países de Europa occidental, 20% en EEUU y 16% en Sudamérica¹⁵.

En Argentina, el déficit grave de AAT (genotipos SZ y ZZ) es poco frecuente, con una prevalencia aproximada de 1: 2.400 y 1: 26.000 sujetos y un total de 17.000 y 1.500 sujetos para estos genotipos respectivamente (Tabla 1). Sin embargo, estos datos fueron obtenidos por estimaciones teóricas indirectas¹⁶, siendo necesarios estudios epidemiológicos de suficiente potencia para obtener resultados fiables.

La prevalencia del déficit de AAT en pacientes con EPOC no es conocida, aunque algunos estudios permiten estimar una frecuencia de 1 a 3%¹.

Por lo tanto, se sugiere que a todo paciente con EPOC se le debería determinar una vez en su vida la concentración de AAT y en aquellos con concentraciones bajas se debería conocer su fenotipo.

1		2				3			
Madre MZ	Padre MZ	Madre ZZ	Padre MM	Madre MZ	Padre SZ	Hijos			
MM	MZ	MZ	MZ	MS	MZ	SZ	ZZ		

Figura 1. Herencia. Supuestos de transmisión del gen de la AAT de 2 padres a 4 hijos.

Supuesto 1: Ambos progenitores son MZ; en este caso, los hijos tienen un 25% de posibilidades de recibir un genotipo MM, un 50% de heredar un MZ, y un 25% de recibir un genotipo ZZ. Supuesto 2: Uno de los padres es ZZ y el otro MM; los hijos heredan un genotipo MZ. Supuesto 3: Uno de los padres es portador de un genotipo MZ y el otro de un SZ; los hijos pueden heredar genotipos MS (25%), MZ (25%), SZ (25%) o ZZ (25%)

Tabla 1. Frecuencias génicas Pi*S y Pi*Z en Argentina*, y número de sujetos estimados para los genotipos MS, MZ, SS, SZ y ZZ con sus correspondientes prevalencias

Población		Frecuencias alélicas Pi*S y Pi*Z por 1.000 habitantes [IC 95%I]		
<ul style="list-style-type: none"> Total: 42,610,981 habitantes Blancos: 41.332.652 (97%) Mestizos y otros grupos: 1.278.329 (3%) 		Pi*S: 33.5	Pi*Z: 6.2	
		[29.2 - 38.4]	[4.4 - 8.6]	
Número calculado de sujetos portadores de genotipos deficientes [IC 95%]				
MS	SS	MZ	SZ	ZZ
2.604.706	45.431	479.473	16.726	1.539
[2.254.625-3.004.195]	[34.420-59.844]	[340.771-670.739]	[10.405-26.723]	[786-2.983]
Prevalencia calculada para cada genotipo deficiente de acuerdo con la fórmula del principio de Hardy-Weinberg -1: x-, [95% CI]				
MS SS	MZ	SZ	ZZ	
1:161: 891	1: 84	1: 2.420	1: 26.297	
[13-18]	[676-1.176]	[60-119]	[1.515-3.891] [13.570-51.484]	

* Cálculos realizados a partir de una muestra de 3.000 sujetos y extrapolados a todo el país, teniendo en cuenta una población total de 42,610,981 habitantes, el 97% blancos (la mayoría descendientes de españoles e italianos), y el 3% mestizos (mezcla de blancos y Amerindios) y otros grupos no caucásicos (de acuerdo con datos de CIA WORLD FACTBOOK 2013. <http://connection.ebscohost.com/c/articles/74615669/cia-world-factbook-argentina>)

IC 95%: intervalo de confianza del 95%. Pi*: Protease inhibitor (sistema inhibidor de proteasas). AAT: Alfa-1 antitripsina.

A pesar de estar cifras, en todo el mundo están diagnosticados menos del 2% de los casos esperados, han necesitado entre 5 y 10 años y visitar un promedio de 5 médicos hasta conseguirlo. El infradiagnóstico es atribuible a que alrededor de 1/3 de ZZ no expresan enfermedades, y a que muchos deficientes con EPOC o cirrosis hepática están incompletos en su diagnóstico, por no haberse determinado sus niveles de AAT, debido al bajo índice de sospecha por parte de los responsables sanitarios, o por desconocimiento o no cumplimiento de normativas. También puede influir el denominado «nihilismo médico», por falta de disponibilidad de terapia sustitutiva, dudas sobre su eficacia y temor a la estigmatización social y laboral de los casos detectados y de sus familias¹⁷.

El sistema Pi

Hace 50 años, los investigadores pioneros del déficit de AAT notificaron el polimorfismo electroforético de la proteína y denominaron sistema Pi (*protease inhibitor*) al conjunto de sus variantes, de acuerdo con su velocidad de migración electroforética, y denominaron Pi*M (de M, “*medium*”) a las de velocidad media, Pi*S (de S, “*slow*”) a las

de migración lenta, Pi*F (de F, “*fast*”) a las de migración rápida, y se adjudicó la Z (la última letra del abecedario) a las de migración muy lenta¹⁻³.

La posterior introducción del isoelectroenfoque (IEF) permitió identificar nuevas variantes, y se nombraron con las letras A-L a las de migración rápida (anódica) y con las N-Z las lentas (catódicas). La ulterior incorporación de técnicas de PCR ha elevado a 125 su número, y ha impulsado el uso de la sigla Pi* para identificar al fenotipo y PI* para referirse al gen. Cuando las 28 letras del alfabeto fueron insuficientes para nombrar nuevas variantes, se utilizaron sufijos numéricos para clasificarlas dentro de un mismo fenotipo (p.e., M₁, M₂, M₃, M₄ y M₅). Los alelos nulos (*Null*) y las variantes raras se nombran por un sufijo con el nombre de la ciudad o región donde se descubre al primer portador (p. ej. M_{palermitano}, Q_{hong kong}, Y_{barcelonesa}, etc.)¹.

Las mutaciones S y Z y algunas variantes raras (p.e., Mmalton, Mduarte y Siiyama) provocan serios cambios conformacionales en la proteína, que acarrear su polimerización y retención dentro de las células productoras¹⁸⁻²⁰, como se expresa gráficamente y se explica en las leyendas de las Figuras 2-4.

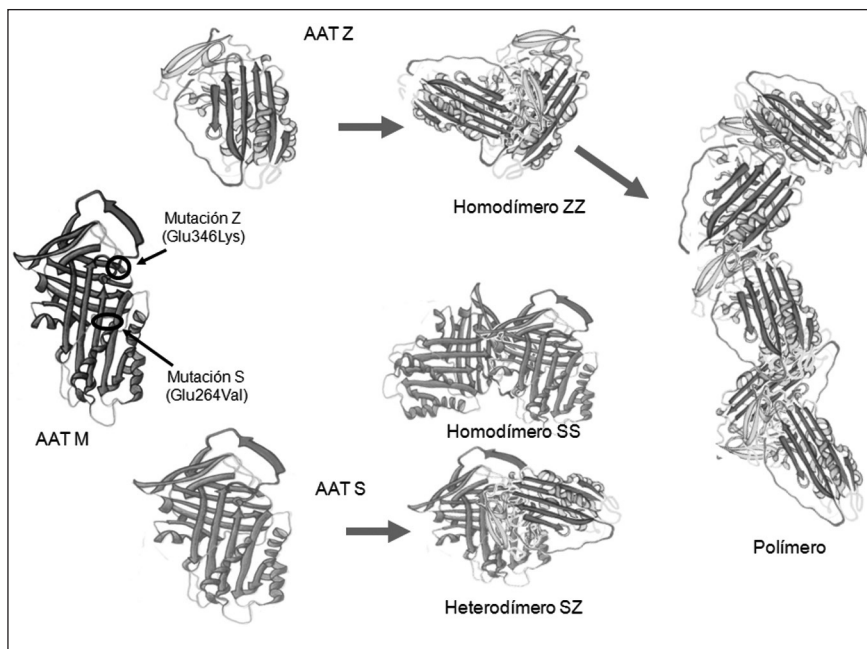


Figura 2. Mutaciones Z y S. Cambios conformacionales y polimerización. En la mutación Z, el cambio de la base nitrogenada guanina por adenina en el triplete de un codón del exón V cambia la secuencia de aminoácidos de la cadena proteica de AAT, que transcribe una molécula de lisina en lugar de ácido glutámico en posición 342 (es decir: GAG Glu342 → AAG Lys342). Este cambio se sitúa en el punto de inserción del bucle del sitio activo en el extremo superior de una lámina A, y determina la caída del bucle y un ensanchamiento anormal de la molécula. Estos cambios conformacionales generan proteínas inestables, que tienden a la agregación con otras moléculas mutadas, mediante la inserción del centro activo de una molécula en la lámina de otra, para engancharse de forma ordenada, como las cuentas de un rosario, y formar dímeros y polímeros estables. La mutación S se localiza entre las bandas A del tronco sin afectar al sitio activo, que permanece en posición expuesta sin perder capacidad inhibitoria. Las moléculas S tienden a polimerizar pero con mucha menos intensidad que las Z, aunque en presencia de mutantes Z forman heteropolímeros estables y potencialmente tóxicos (ref.18 y 19)

Expresión clínica del déficit de alfa-1 antitripsina

El déficit grave de AAT, definido por niveles séricos de AAT por debajo del 35% del valor medio esperado, 50 mg/dL (medidos por nefelometría), 11 mM si el valor se expresa en micromoles, y 80 mg/dL (si la medición se hace con técnicas de inmunodifusión radial, hoy en desuso) está generalmente relacionado con genotipos ZZ y menos frecuentemente con combinaciones de alelos Z, S, raros y nulos [Tabla 2]. En la práctica clínica, el 96% de las patologías asociadas al déficit de AAT ocurren en homocigotos Pi*ZZ¹⁻³.

El déficit de AAT predispone al desarrollo de diversas enfermedades a lo largo de la vida, especialmente enfisema pulmonar en períodos precoces de la edad adulta y hepatopatías en niños y adultos¹⁻³. También hay evidencias de su relación con vasculitis sistémicas (especialmente granulomatosis de Wegener c-ANCA positivas), paniculitis necrotizante y fibromialgia, pero son precisos estudios más potentes que los disponibles para confirmar definitivamente estas asociaciones^{1-3, 7, 21, 22}.

Aunque muy probablemente podría favorecer el desarrollo de asma bronquial y bronquiectasias, no existen pruebas definitivas de que influya en la frecuencia o en la gravedad de estas enfermedades²³⁻²⁵.

El **enfisema pulmonar asociado a déficit AAT** se caracteriza por ser de inicio precoz (35-45 años). Cursa con disnea progresiva y otros síntomas inespecíficos. Generalmente está asociado con genotipos ZZ (96%) y con menor frecuencia (4%) con SZ, raros y nulos. La penetrancia (porcentaje de sujetos ZZ que desarrolla enfisema) es de alrededor del 60%. La radiología de tórax muestra enfisema panacinar con predominio basal. La función pulmonar detecta obstrucción fija con atrapamiento aéreo y capacidad de difusión (DLCO/ KCO) disminuida²³⁻²⁵. En EEUU, Canadá, Alemania, Austria, España e Italia se dispone de tratamiento sustitutivo para adultos seleccionados con enfisema moderado¹⁻³.

El 99% de casos publicados sobre **hepatopatías asociadas a déficit AAT** son ZZ. En niños, se manifiesta por colestasis intrahepática (ictericia

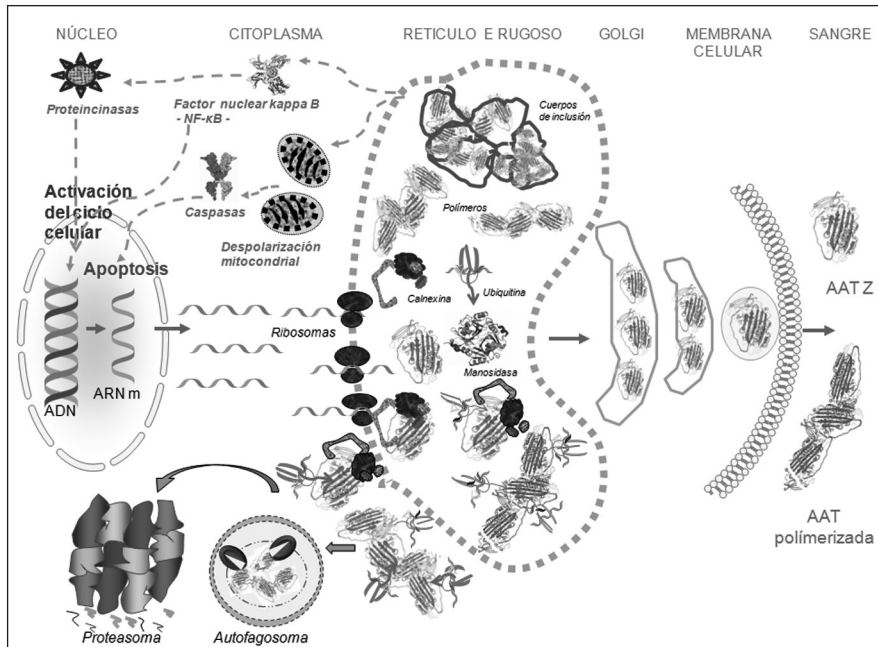


Figura 3. Mecanismos moleculares del déficit de AAT. Las mutantes Z y los polímeros son detectados en el retículo endoplásmico rugoso (RER) por el aparato de control de calidad formado por las chaperonas ubiquitina y calnexina, y por la manosidasa 1. Las chaperonas marcan y dirigen a la AAT-Z hacia el proteosoma para su degradación proteolítica. Los polímeros son degradados por mecanismos de autofagia en autolisosomas. Un pequeño número de moléculas eluden el control de calidad y pasan al aparato de Golgi, donde son empaquetadas en vesículas secretoras y vertidas al torrente sanguíneo, en forma de mutantes Z, y polímeros carentes de capacidad inhibitoria. La polimerización es un fenómeno errático. Sin que sepa el motivo, en algunos hepatocitos ocurre con mucha intensidad, en otros la intensidad es escasa, y en un porcentaje significativo de hepatocitos no ocurre en absoluto. En los hepatocitos en los que la polimerización es intensa, llegan a formarse cuerpos de inclusión, que emiten señales de despolarización a las mitocondrias, que liberan citocromo-c, que activa la cascada de las caspasas y estimula la apoptosis. Paralelamente, la despolarización de las mitocondrias también estimula la autofagia. Por otra parte, los cuerpos de inclusión activan el factor citosólico de transcripción Factor Nuclear kappa B (FN-kB), que provoca una activación compensatoria de proteín-cinasas, que aceleran la velocidad del ciclo celular para contrarrestar la actividad apoptótica de las caspasas. El FN-kB también puede cruzar la membrana nuclear y acelerar directamente el ciclo celular. A la larga, el desequilibrio entre apoptosis y regeneración puede conducir a la necrosis, daño irreversible, fibrosis, y desarrollo de tumores en el hígado (Rf. 20).

obstructiva prolongada) en un 10%. De ellos un 2,5% desarrolla cirrosis infanto-juvenil, que suele requerir trasplante hepático. En adultos (generalmente varones), se manifiesta por hepatitis crónica o por cirrosis hepática, cuya incidencia aumenta con la edad: 10% por debajo de los 50 años y 20-40% por encima de esta edad. La frecuencia de hepatocarcinomas es de 2-3%, tanto en hígados cirróticos (26%) como en no-cirróticos. La terapia sustitutiva no tiene indicación en la hepatopatía con déficit de AAT^{1-3, 20}.

Hay unos 40 casos publicados de **paniculitis necrotizante asociada a déficit de AAT**, la mayoría ZZ. Su penetrancia es 0,1%, pero se cree que podría ser mucho mayor si se evaluara sistemáticamente el déficit de AAT en las paniculitis. La enfermedad se caracteriza por lesiones nodulares del tejido graso subcutáneo, recidivantes,

dolorosas, localizadas preferentemente en tronco y raíz de extremidades, de naturaleza inflamatoria neutrofílica con exceso de elastasa libre. Tienden a fistulizar y dejar cicatriz. Aunque la terapia sustitutiva no está contemplada para paniculitis, su resultado ha sido espectacular en casos aislados en tratamientos compasivos²².

La **vasculitis sistémica asociada a déficit de AAT** se asocia a fenotipos ZZ, y también a SZ y MZ, la mayoría con autoanticuerpos ANCA (*anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos*) positivos. Afecta a personas de mediana edad y, aunque puede afectar a cualquier órgano, tiene preferencia por senos paranasales, pulmones y riñones. Su penetrancia es de 2%, aunque probablemente sería más elevada si se comprobara con más frecuencia el déficit de AAT en vasculitis. La proteinasa-3 parece jugar un papel importante en su patogéne-

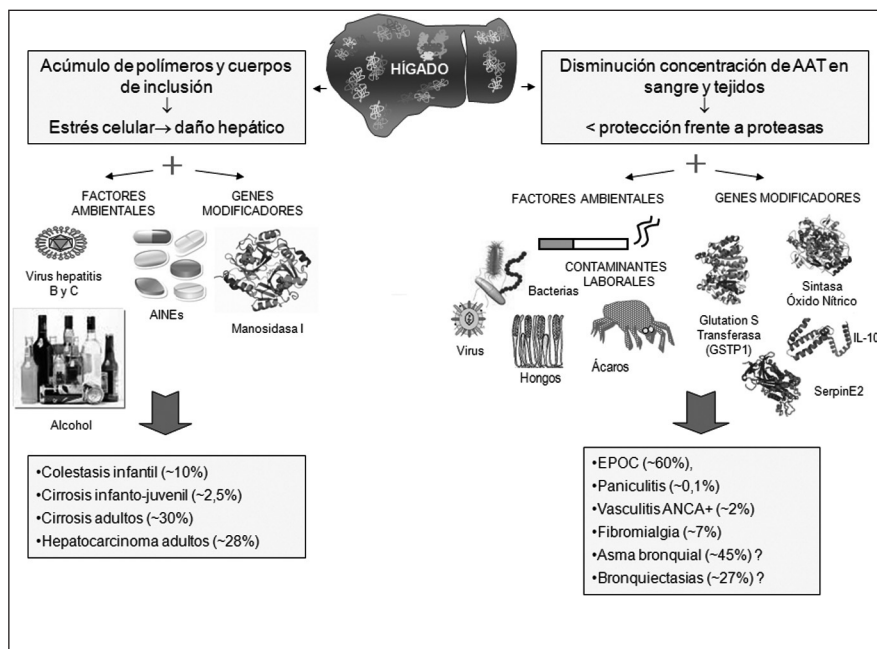


Figura 4. Consecuencias clínicas de la polimerización. La polimerización intrahepática favorece el desarrollo de hepatopatías en niños y adultos (inducidas por la acumulación de polímeros y cuerpos de inclusión en los hepatocitos), y el desarrollo de enfisema pulmonar (y otras patologías de naturaleza inflamatoria) en adultos, por descenso de las concentraciones séricas y tisulares de AAT (además, la proteína Z tiene una pérdida de capacidad inhibitoria del 80%), insuficientes para proteger los pulmones del exceso de proteólisis provocado por la elastasa libre del neutrófilo y otras proteasas. El déficit de AAT es un desorden monogénico complejo que predispone al desarrollo de patologías y se manifiesta especialmente si en una misma persona concurren factores exógenos y genes modificadores (no bien conocidos).

sis. Aunque la terapia sustitutiva no está prevista para ser utilizada en vasculitis, hay casos aislados publicados con resultados espectaculares^{1-3, 19}.

Una intrigante característica del déficit de AAT es la marcada variabilidad de su presentación clínica. Así, mientras un alto porcentaje de deficientes graves desarrolla enfisema pulmonar o cirrosis hepática, una minoría presenta paniculitis o vasculitis, algunos exhiben varias de estas enfermedades a la vez, y más de un tercio puede presentar únicamente síntomas banales o permanecer asintomático toda su vida. Esta variabilidad indica que la deficiencia de AAT no es una enfermedad en sí misma, sino un desorden monogénico complejo que predispone al desarrollo de patologías si concurren en una misma persona, además del déficit de AAT, factores exógenos favorecedores y/o otros genes modificadores no claramente identificados hasta la fecha [Figura 4]. Así, en el caso de las hepatopatías, los virus de la hepatitis B y C, los procesos inflamatorios recurrentes o persistentes, los antiinflamatorios no esteroideos, el alcoholismo

y otros hepatotóxicos incrementan la acumulación de polímeros en los hepatocitos y secundariamente el estrés celular. También, se han descrito mutaciones del gen de la manosidasa I asociadas con intenso daño hepático en niños ZZ²⁰. En el caso de la EPOC, el tabaco, la contaminación laboral y ambiental, y las infecciones respiratorias son factores favorecedores de gran peso¹⁻³. También se han descrito polimorfismos de genes candidatos, que podrían modificar la expresión de EPOC en deficientes de AAT, incluidos el de la sintetasa del óxido nítrico (NOS3), el de la glutathion S-transferasa Pi (GSTP1), el inhibidor del activador plasminógeno SerpinE2 y el de la IL-10^{26, 27}.

Riesgos que conllevan los genotipos deficientes distintos al PI*ZZ

Aunque la mayoría de los estudios no han demostrado una mayor prevalencia de EPOC en individuos MZ no fumadores, algunos han encontrado una declinación más rápida del FEV₁ que la de los MM y aumento de la prevalencia de individuos

PI**MZ* en pacientes con EPOC. Por tanto, los datos disponibles sugieren que un subgrupo de alrededor del 10% de *MZ* tendría riesgo incrementado para EPOC²⁸. Por otra parte, el riesgo relativo de desarrollar cirrosis hepática por parte de los *MZ* resulta pequeño (3%) en comparación con el de aquellos *ZZ* (30%). Al contrario de lo que ocurre en los *ZZ*, el alcohol y las hepatitis B y C son factores adicionales necesarios para que los *MZ* desarrollen cirrosis hepática²⁰.

No existen evidencias de que los fenotipos *MS* tengan riesgo incrementado de desarrollar enfermedades¹.

El fenotipo *SS* es muy raro (<1% en Europa) y no hay estudios suficientes como para saber si contribuye al desarrollo de EPOC o de hepatopatías, aunque posiblemente no incrementa el riesgo de sufrirlas dado que no presenta niveles inferiores al umbral protector y la mutación *S* no implica una alteración grave de la funcionalidad de la proteína, excepto que se asocie con otros factores favorecedores de importancia¹⁻³.

Los fenotipos heterocigotos *SZ* se relacionan con una mayor prevalencia de EPOC en fumadores y hay descritos casos aislados con cirrosis¹⁻³.

Los genotipos raros *PI***Mmalton*, *PI***Mduarte*, etc., son 200-300 veces menos frecuentes que los *PI***ZZ*, y esta escasez de casos impide un adecuado conocimiento de su comportamiento. La mayoría de los casos publicados presentan enfisema pulmonar, y aunque el riesgo relativo para desarrollar hepatopatías es desconocido, por su marcada propensión a formar inclusiones intrahepáticas, se cree que es probablemente similar al de los *ZZ*²⁹.

La mayoría de los fenotipos nulos conocidos demostraron enfisema en etapas tempranas de la vida adulta, pero como sus hígados no sintetizan AAT no desarrollan hepatopatías³.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de laboratorio se realiza mediante la determinación cuantitativa de AAT y la identificación del fenotipo en el suero. El análisis molecular del gen, o genotipo, es el método adecuado para identificar variantes alélicas poco frecuentes⁷.

La determinación sérica de AAT constituye la base del diagnóstico, siendo la **inmunonefelometría cinética** el método más comúnmente utilizado. Esta técnica de cuantificación se basa en la formación de inmunocomplejos entre la proteína y los anticuerpos anti-AAT. En el ensayo, los inmunocomplejos producidos son insolubles y precipitan

y, si se hace incidir un rayo de luz intenso, este es dispersado por las partículas que precipitan y la intensidad de la radiación dispersada es proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra de suero. El análisis debe efectuarse en muestras de suero frescas o congeladas a -20 °C ó -80 °C, evitando congelaciones y descongelaciones repetidas. La lipemia, la hemólisis, o la turbidez, que algunas muestras de suero presentan después de la descongelación, pueden alterar el análisis y producir resultados falsamente elevados.

La **inmunodifusión radial** es otra técnica en desuso que ha sido muy utilizada y aún sigue empleándose en algunos laboratorios. Su mayor inconveniente es la obtención de valores falsamente elevados, que pueden llevar a confusión.

Para una buena interpretación de la determinación, cada laboratorio debe haber establecido previamente los valores normales de AAT en muestras de suero obtenidas de población sana. Los niveles de AAT en la población infantil son inferiores a los de la población adulta. Para la interpretación del resultado de una determinación cuantitativa aislada hay que tener en cuenta que, al ser la AAT un reactante de fase aguda, los procesos infecciosos o inflamatorios pueden dar valores normales o altos en pacientes con déficit moderado. Se han descrito también valores elevados de AAT durante el embarazo y durante el consumo de anticonceptivos orales.

El estudio del fenotipo es el método estándar requerido para confirmar el déficit de AAT. El método más utilizado es el **isoelectroenfoque (IEF)**. Esta técnica consiste en la separación electroforética de las proteínas de acuerdo con su punto isoeléctrico, en un gel de agarosa con un gradiente de pH de 4.2-4.9. Las condiciones de almacenamiento de las muestras de suero son muy importantes ya que influyen en el resultado, en particular para la identificación de la AAT del fenotipo *PiZ*, cuyos antígenos son muy lábiles y pueden degradarse. La realización del fenotipo está indicada ante valores de AAT inferiores o incluso cercanos al límite inferior de la normalidad, ya que estos podrían corresponder a fenotipos *PiMS*, *PiSS* o *PiMZ*. Los valores de AAT inferiores al 20% sugieren un fenotipo *ZZ* o nulo. No existe solapamiento entre la concentración de AAT de los fenotipos *Pi*MM* o *Pi*MS* o *Pi*SS* (poco deficitarios) con la de los *Pi*SZ* y *Pi*ZZ*, pero puede haber superposición entre estos dos últimos [Tabla 2].

Tabla 2. Concentraciones séricas de alfa-1-antitripsina (AAT), expresadas en mg/dL (medidos por nefelometría), tanto por ciento (%) y micromoles (μM), acúmulo hepático de polímeros y riesgo de desarrollo de hepatopatías y enfisema pulmonar para los distintos genotipos.

Genotipo de AAT	Niveles Séricos de AAT: • mg/dL • (%) • μM	Acúmulo hepático	Riesgo de Hepatopatía	Riesgo de EPOC
MM	103-200 (80 -120) [20-48]	No	Normal	Normal
	100-180 (75-85) [19-35]	Muy escaso	No incrementado	Normal
MS				
SS	70-105 (45-70) [15-36]	Muy escaso	No incrementado	‡ Posible, aunque no establecido
MZ	66-120 (50-70) [12-35]	Moderado	*Incrementado, pero bajo (~ 3%)	‡ Posible pero mal definido y sólo en 10% de sujetos
SZ	45-80 (30-45) [8-19]	Abundante	*Incrementado	‡ Incrementado
ZZ	10-40	Muy abundante	Muy incrementado	‡ Muy incrementado
Z-Raro	(10-20)	No	(~ 2,5% niños;	(~ 60%)
Raro-Raro	[2,5-7]		~30% adultos)	
Nulo-Nulo	No detectable 0.0		No	Muy alto (~ 100%)
Z-Nulo	(10-15)	Moderado	Bajo	‡ Muy incrementado
Raro-Nulo	(5-10) [2-3]			

Los resultados de la determinación en mg/dL pueden también expresarse en unidades micromolares (μM) multiplicando por 0,1923 la concentración en mg/dL. La conversión de μM a mg/dL se realiza multiplicando este valor por un factor de conversión de 5,2.

‡ Si tabaquismo, inhalación mantenida de tóxicos y/o presencia de otros genes modificadores no bien conocidos.

*Si hepatitis B y C, AINEs, alcoholismo, hepatotóxicos, y/o presencia de otros genes modificadores no bien conocidos.

En la determinación del fenotipo mediante IEF hay que tener en cuenta que hay una serie de variantes "*M-like*" poco frecuentes, como Mmalton, Mpalermo, Mduarte, Mheerlen, etc., que presentan un punto isoelectrico similar al de los alelos normales Pi^*M , y que por esta razón no pueden ser catalogados por IEF. Estos fenotipos se comportan como Pi^*MM pero con déficit de AAT. Dado que a cada fenotipo le corresponde un intervalo determinado de valores de AAT, en los casos en los que no haya concordancia entre las concentraciones de AAT y el fenotipo, se debe sospechar la presencia de alelos nulos o variantes deficitarias raras, y en consecuencia, se debe realizar la determinación del genotipo.

La técnica de IEF tampoco detecta alelos nulos, no identifica las variantes nuevas, ni diferencia un alelo Pi^*ZZ de un $\text{Pi}^*\text{Z-Nulo}$ ⁷.

El **análisis molecular del gen** de la AAT es el método de referencia para la identificación de las variantes alélicas poco frecuentes y para la caracterización de algunas variantes nuevas. Asimismo, es el método más apropiado para identificar variantes nulas y para el estudio de casos en los que no existe concordancia entre la concentración de AAT y el fenotipo⁷. La determinación se lleva a cabo a partir de sangre total, utilizando EDTA como anticoagulante. Las muestras pueden conservarse a 4 °C durante 48 horas después de realizada la extracción, o almacenarse a -20 °C ó -80 °C en

el caso de que no ser procesadas inmediatamente. El método más empleado consiste en realizar una extracción de ADN a partir de las células mononucleares de la sangre, seguida de su amplificación mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la secuenciación cíclica de los productos de la PCR. Para la determinación del genotipo, es preciso realizar un estudio completo de las secuencias de ADN de los cuatro exones del gen que codifica la AAT (exones II, III, IV y V), así como de las regiones intrónicas proximales a los exones, cuyas mutaciones pueden estar asociadas a errores de maduración (“splicing”) del ARN mensajero.

Debido a su baja frecuencia, los alelos deficientes diferentes de los mayoritarios PI*S y PI*Z se denominan “raros”. La mayoría de ellos son difícilmente caracterizados mediante IEF y este hecho puede haber contribuido a la clasificación errónea de muchos casos, lo que ha conducido a infravalorar su frecuencia real. Las metodologías de biología molecular, principalmente la secuenciación, han permitido su correcta caracterización, poniendo en evidencia una prevalencia mayor a la esperada en Europa y Norte de África (0.6%-4.2%)²⁹. Entre los alelos raros están incluidos los alelos nulos debidos a mutaciones por sustitución, delección, inserción o “splicing”, de los que se han descrito unas 16 clases. La prevalencia de alelos nulos en la población general es desconocida. La importancia clínica de los alelos nulos se hace más evidente cuando se heredan con otro alelo nulo o con otro alelo deficitario. En los casos en que haya una heterocigosis con un alelo no deficitario, el patrón de IEF observado corresponde tan solo a este último alelo de modo que, por ejemplo, un fenotipo PiM-nulo no se distingue de un Pi*MM, por lo que hay que abogar por el estudio molecular del gen en todos los casos en que el diagnóstico plantee dudas.

Cribado del déficit de AAT en muestras de sangre seca en papel

Las muestras de sangre seca en papel son especialmente útiles para el cribado y diagnóstico de las enfermedades genéticas. La obtención de las muestras es mínimamente invasiva, siendo sencillo su almacenamiento y envío a un laboratorio de referencia, donde están centralizadas las determinaciones^{7, 30}.

La determinación se realiza a partir de sangre capilar, por punción estéril del pulpejo del dedo.

Las gotas de sangre se aplican sobre discos de papel que se dejan secar a temperatura ambiente. En los protocolos establecidos, se determina habitualmente la concentración de AAT mediante nefelometría cinética (método semicuantitativo), y únicamente los dos alelos deficitarios más frecuentes, S y Z, por técnicas de alelo-específico realizadas mediante un patrón de restricción (por ejemplo, patrón Taq I), o mediante métodos de PCR en tiempo real (curvas de fusión, sondas específicas Taqman). Las técnicas alelo-específico basadas en PCR a tiempo real son rápidas, fácilmente automatizables, de bajo costo, pero de genotipado parcial³⁰. Estas técnicas informan la presencia o ausencia de los alelos estudiados, pero nunca se puede deducir, aunque sea lo más probable, que al no identificar estos dos alelos estamos ante el alelo normal PI*MM. Estos métodos son fiables, y los errores de diagnóstico se deben principalmente a una incorrecta interpretación de resultados. De todos modos, los casos diagnosticados de déficit de AAT mediante cribado deben ser confirmados determinando cuantitativamente la AAT y el fenotipo en muestras de suero, o el genotipo sangre total.

El diagnóstico del déficit de AAT mediante la observación de la reducción o de la ausencia de la banda de las globulinas a-1 en el proteinograma sérico está en desuso, y requiere siempre confirmación del resultado mediante análisis cuantitativo de la AAT.

Finalmente, la evaluación del **funcionalismo hepático** en los casos con déficit de AAT se realiza mediante las determinaciones de ALT, AST, GGT, bilirrubina, albúmina y pruebas de coagulación.

¿Cuándo sospechar y evaluar el déficit de alfa-1 antitripsina?

La Organización Mundial de la Salud y las Sociedades Médicas de Europa, Canadá y EEUU recomiendan realizar, al menos una vez en la vida, una determinación de AAT en sangre a todos los pacientes con EPOC, independientemente de si fuman o no, y muy especialmente si la EPOC es de inicio precoz, ocurre en no-fumadores, o si hay una historia familiar cargada de EPOC o de déficit de AAT (**recomendación consistente, calidad de evidencia alta**)³¹ [Tabla 2]. Estas mismas organizaciones recomiendan realizar, al menos una vez en la vida, una determinación de AAT en sangre a todos los pacientes, niños y adultos, con hepatopatías crónicas de naturaleza no filiada, y muy especialmente si hay casos de

hepatopatía familiar y/o déficit de AAT (**recomendación consistente, calidad de evidencia alta**)³¹ [Tabla 2].

El asma grave del adulto, las vasculitis sistémicas ANCA+ y las panculitis recidivantes son otras situaciones en las que se recomienda valorar el chequeo del déficit de AAT (**recomendación consistente, calidad de evidencia moderada**)³¹ [Tabla 2].

En Suecia y Dinamarca, donde la prevalencia es de 1:1.600 en recién nacidos, el chequeo para déficit de AAT está incluido en el protocolo de cribado neonatal de metabolopatías, junto a la fenilcetonuria, el hipotiroidismo y la fibrosis quística; pero en países con baja prevalencia no se recomienda el chequeo neonatal sistemático del déficit de AAT.

Algoritmo diagnóstico del déficit de AAT

Ante la sospecha clínica de déficit de AAT, el médico responsable debe solicitar al laboratorio una determinación de niveles séricos de AAT, con el sujeto objeto del estudio en situación estable, ya que como se dijo anteriormente los niveles se incrementan por infecciones, embarazo y uso de anticonceptivos orales (**recomendación consistente, calidad de evidencia alta**). Si los niveles de AAT son normales, se descarta déficit AAT y el estudio finaliza. Pero cuando son bajos (menor a 100 mg/dL), se debe solicitar un fenotipo con una

técnica convencional de isoelectroenfoque (IEF) y/o genotipado rápido (solo las mutaciones blanco S y Z). Si los niveles bajos están por encima del 35%, el déficit de AAT es moderado o leve y suele corresponder a un fenotipo MS, SS, MZ o SZ. Pero si están por debajo del 35%, el fenotipo suele ser ZZ en el 95% de los casos. En ocasiones hay alelos "raros" que es preciso caracterizar mediante secuenciación del gen (**recomendación consistente, calidad de evidencia alta**), [Figura 5 y Tabla 3].

Registros de pacientes con déficit de AAT

Los primeros registros de pacientes fueron creados por la necesidad de recoger información de grupos amplios de pacientes, dada la baja prevalencia del déficit grave de AAT. El registro danés se fundó en 1978 y en 1994 incluía más de 500 individuos. Sin embargo, el mayor interés por los registros se inició con la disponibilidad del tratamiento sustitutivo a partir de 1987, cuando la FDA aprobó el uso de prolastina para prevenir el avance del enfisema pulmonar en sujetos deficientes graves con afectación funcional moderada, ya que pronto se llegó a la conclusión de que no se podría realizar un ensayo clínico sobre la eficacia a largo plazo del tratamiento por el escaso número de pacientes, pero se podía recoger información determinante a partir de los registros de casos. En este contexto, algunos registros se crearon para comparar la evolución de amplias cohortes con y

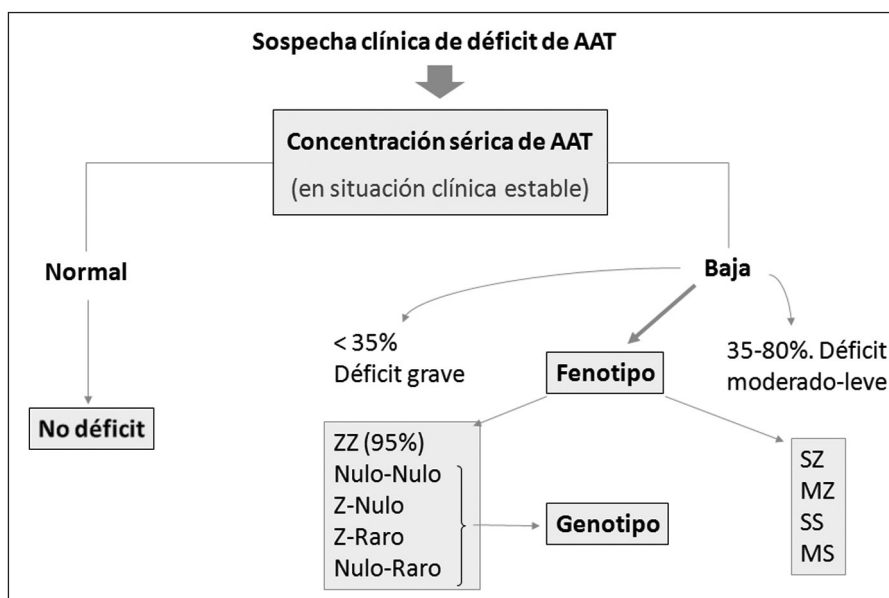


Figura 5. Algoritmo diagnóstico del déficit de alfa-1 antitripsina

Tabla 3. Situaciones clínicas en las que se recomienda determinar niveles séricos de alfa-1 antitripsina y, si son bajos, analizar fenotipo o genotipo

Pulmón	Recomendaciones y calidad de evidencia según el Sistema Grade (Ref. 31)
- Al menos, una vez en la vida en <u>todos</u> los EPOC, especialmente si: <ul style="list-style-type: none"> • EPOC de inicio precoz o en no-fumadores • Historia familiar de EPOC • Historia familiar de déficit de AAT con o sin EPOC 	Recomendación consistente* Calidad evidencia alta
- Asma de difícil control	Recomendación consistente* Calidad evidencia moderada
Hígado	
- Cirrosis/hepatitis crónica en niños y adultos sin causa evidente, especialmente si: <ul style="list-style-type: none"> • Historia familiar de cirrosis hepática • Historia familiar de déficit de AAT + con o sin hepatopatía. 	Recomendación consistente* Calidad evidencia alta
Otras	
- Vasculitis sistémicas, especialmente si C-ANCA+	Recomendación consistente* Calidad evidencia moderada
- Paniculitis recidivante	
- Familiares consanguíneos de individuos con déficit grave de AAT	
- Disminución o ausencia del pico de alfa-1 globulina en el proteinograma	
Candidatos para determinar fenotipo y genotipo	
Fenotipo	Recomendación consistente* Calidad evidencia alta
1. Individuos de los grupos arriba mencionados con concentraciones de AAT inferiores a las normales	
Genotipo	Recomendación consistente* Calidad evidencia alta
1. Discordancias entre niveles bajos de AAT y fenotipos teóricamente no deficitarios ("M-like")	
2. Fenotipos no caracterizados, distintos a M, S y Z, con niveles bajos de AAT	

* Los beneficios claramente superan los inconvenientes.
C-ANCA: anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos

sin tratamiento sustitutivo. Los principales registros creados con esta finalidad fueron el alemán (1989) con 443 pacientes de 25 centros; el sueco (1991), con 665 pacientes; el español (1993) con 473 casos^{32, 33}; el americano del National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), que se inició en 1988, con 1.129 pacientes procedentes de 37 centros de Estados Unidos y Canadá²³; el registro del Reino Unido (1997) que además de recoger datos de cientos de pacientes custodia un importante biobanco de plasma y ADN. En 1997 se fundó el registro internacional: Alpha-1 antitrypsin deficiency International Registry (AIR) en el que se integran la mayoría de los existentes, como una iniciativa

européa auspiciada por la European Respiratory Society (ERS), pero de alcance más amplio, ya que junto a países europeos como el Reino Unido, Suecia, Dinamarca, Países Bajos, España, Italia, Suiza y Alemania, incluye también representantes de Nueva Zelanda, Australia, Sudáfrica, Argentina, Brasil y Canadá, integrando un total de 17 países y 4.758 pacientes (85% ZZ, 11% SZ, y 4% raros), de los que el 64% son casos índice^{23, 32-34}.

Los propósitos del Registro Argentino del DAAT (RADAAT) son: a) conocer las características y la frecuencia del déficit de AAT en Argentina; b) establecer normativas adaptadas a nuestro país sobre el tratamiento y el segui-

miento de pacientes con déficit AAT; c) ofrecer información a los médicos que tratan a estos pacientes en toda Argentina; d) incrementar el conocimiento y el interés por esta enfermedad e intentar disminuir el infradiagnóstico o el retraso en la detección del déficit, y e) ofrecer soporte técnico para la determinación del fenotipo Pi y si fuese necesario, del genotipo PI* en los individuos con sospecha de déficit de AAT.

El RADAAT es actualmente coordinado por el Dr. Guillermo Menga al que se puede acceder a través de la página WEB de la AAMR.

Tratamiento sustitutivo del déficit de alfa-1 antitripsina

Eficacia bioquímica

El tratamiento médico de los pacientes con un enfisema por DAAT debe comprender las medidas farmacológicas y no farmacológicas comunes a los pacientes con una EPOC por cualquier etiología. Además, desde 1987 se dispone de AAT purificada procedente de plasma de donantes para administración intravenosa. Se ha demostrado que la sustancia infundida mantiene su actividad enzimática en el plasma y en el lavado broncoalveolar⁷. También se ha demostrado que su actividad a nivel pulmonar se correlaciona de forma directa con su concentración plasmática, lo que permite monitorizar el tratamiento a través de la determinación de las concentraciones plasmáticas mínimas existentes en estado estacionario ($C_{mín}$), también llamadas concentraciones valle, que se corresponden con las concentraciones obtenidas antes de la siguiente dosis, transcurridos los intervalos necesarios para alcanzar el estado estacionario³⁵. A partir de estudios epidemiológicos se ha considerado que una $C_{mín}$ de 0,8 g/L, determinada por inmunodifusión radial, o de 0,5 g/L, por nefelometría, es capaz de proporcionar una protección adecuada al pulmón en comparación a lo que se observa en los individuos normales no fumadores³⁶. Los resultados derivados de la administración de AAT endovenosa en individuos con déficit de AAT se recogen en la Tabla 4.

Eficacia clínica

Existen dos ensayos clínicos que han comparado el tratamiento con AAT humana con un placebo (albúmina humana endovenosa) con un diseño aleatorizado y doble ciego. El primero de ellos

utilizó dosis de 250 mg/kg/28 días e incluyó a 58 pacientes tratados durante 3 años y no mostró diferencias significativas en la evolución de la función pulmonar. Sin embargo, los pacientes que recibieron AAT presentaron una pérdida anual de densidad pulmonar medida mediante una tomografía computarizada torácica (TC) de 1,50 g/L, comparado con 2,57 g/L en los que recibieron el placebo ($p = 0,07$)³⁷. El segundo estudio incluyó a 77 pacientes que se aleatorizaron para recibir AAT a dosis de 60 mg/kg/7 días o placebo durante 2 años y medio, y sus resultados mostraron una tendencia a un enlentecimiento de la pérdida de densidad pulmonar medida por TC con el tratamiento activo³⁸. Las similitudes entre ambos estudios permitieron elaborar un análisis conjunto de los datos para ganar potencia estadística. Este análisis incluyó a 119 pacientes y mostró una menor pérdida de tejido pulmonar en los pacientes tratados con AAT claramente significativa y de una magnitud de 2,29 g/L (IC95% 0,67 a 3,92; $p = 0,006$)³⁹.

El resto de los datos que se conocen sobre la efectividad del tratamiento sustitutivo deriva de trabajos comparativos de seguimiento. En estos estudios se ha observado una disminución significativa en la caída del FEV_1 en los pacientes que tienen un FEV_1 entre el 30% y el 60%. Además, datos del registro del NHLBI en Estados Unidos obtenidos a partir de 1.048 pacientes, seguidos entre 3,5 y 7 años, han permitido encontrar una reducción significativa del 36% en la mortalidad de los enfermos que recibieron tratamiento sustitutivo, de forma continuada o intermitente, en comparación con los que no recibieron tratamiento alguno ($p = 0,02$)⁴⁰.

Un efecto interesante del tratamiento sustitutivo es la posible protección frente a las infecciones bronquiales, importante también por la elevada prevalencia de bronquiectasias que existe en esta población. Los resultados de un trabajo observacional sugieren que en estos pacientes se reduce la frecuencia de agudizaciones tras iniciar el tratamiento sustitutivo⁴¹. Este hecho puede estar en relación con la restitución a nivel bronquial del estado de equilibrio entre las proteasas y las antiproteasas, y con la amortiguación de la inflamación en los pacientes que reciben un tratamiento sustitutivo^{42,43}.

El efecto del tratamiento sustitutivo en los enfermos graves ($FEV_1 < 30\%$) es difícil de observar, debido a que estos individuos fallecen o se someten

Tabla 4. Eficacia o efectividad bioquímica y clínica del tratamiento sustitutivo con AAT.

Autor y año (ref.)	Dosis	Diseño (Número de pacientes)	Variable de medida	Resultados
Eficacia bioquímica				
Stockley, 2002 (42)	60 mg/Kg/7 días	Descriptivo (n=12)	Marcadores de inflamación en esputo	El tratamiento reduce el LTB4 de forma significativa e IL-8 sin alcanzar la significación.
Gottlieb, 2000 (53)	60 mg/Kg/7 días	Descriptivo (n=12)	Desmosina urinaria	El tratamiento no redujo la excreción urinaria de desmosina
Ma, 2013 (43)	60 mg/Kg/7 días	Comparativo con grupo control (n=47 tratados vs 50 no tratados)	Desmosina e isodesmosina en plasma y BAL	El tratamiento redujo las concentraciones de desmosina e isodesmosina en plasma y BAL hasta niveles normales
Efectividad clínica (Grado de evidencia C)				
Wencker, 1998 (54)	60 mg/Kg/7 días	Cohorte observacional sin grupo control (n=443)	Caída del FEV ₁	En pacientes con FEV ₁ <30% caída de 35,6 ml/año; con FEV ₁ = 30-65% caída de 64 ml/año.
Seersholm, 1997 (47)	60 mg/Kg/7 días	Cohorte observacional con grupo control (n=295)	Caída del FEV ₁	En pacientes con FEV ₁ = 31-65% el tratamiento frena la caída del FEV ₁ en 21 ml/año
Schwaiblmair, 1997 (55)	60 mg/Kg/7 días	Cohorte observacional sin grupo control (n=20)	Caída del FEV ₁	Caída del FEV ₁ de 35,6 ml/año durante 36 meses, inferior a controles históricos.
Lieberman, 2000 (41)	55% dosis semanales, 37% cada 2 semanas y 8% mensuales	Observacional (encuesta a través de web) (n=96 tratados vs 47 no tratados)	Frecuencia de infecciones bronquiales	El número de infecciones bronquiales bajó de 3-5 antes del tratamiento a 0-1 después del tratamiento.
Wencker, 2001 (48)	60 mg/Kg/7 días	Observacional (antes-después) (n=96)	Caída del FEV ₁	Pérdidas de 49,2 y de 34,2 ml/año del FEV ₁ antes y después del tratamiento, respectivamente.
Registro NHLBI, 1998 (40)	33% dosis semanales; 43% cada 14 días y 24% mensuales.	Cohorte observacional con controles sin tratamiento (n=1129)	Caída del FEV ₁ y supervivencia	En pacientes con FEV ₁ = 35-49% el tratamiento frena la caída del FEV ₁ en 27 ml/año: Riesgo relativo de mortalidad con el tratamiento 0,64.
Eficacia clínica (Grado de evidencia B)				
Dirksen, 1999 (37)	250 mg/Kg/28 días	Ensayo clínico aleatorizado y doble ciego (n=56)	Caída del FEV ₁ y de la densidad pulmonar por TC	Pérdida de tejido pulmonar 2,6 g//año con placebo y 1,5 g//año con tratamiento (p = 0.07).
Dirksen, 2009 (38)	60 mg/Kg/7 días	Ensayo clínico aleatorizado y doble ciego (n=77)	Caída de la densidad pulmonar por TC, caída de la función pulmonar y agudizaciones	Tendencia a menor pérdida con AAT (p entre 0,049 y 0,084 según el método de medida)
Stockley, 2010 (39)	250 mg/Kg/28 días y 60 mg/Kg/7 días	Análisis integrado de los dos ensayos clínicos anteriores (n=119)	Caída de la densidad pulmonar por TC	Pérdida de tejido pulmonar de 4,08 g/L con AAT y 6,37 g/L con placebo (p = 0,006)

a un trasplante pulmonar antes de poder completar un seguimiento suficientemente prolongado. En el caso de los pacientes leves ($FEV_1 > 60\%$) tampoco es fácil evaluar el efecto del tratamiento, ya que existe un sesgo por indicación. El escaso número de enfermos que reciben tratamiento en este estadio precoz son casos índice con síntomas especialmente graves o con una pérdida acelerada de su función pulmonar. Por el contrario, sus iguales sin tratamiento suelen ser casos no índice, que no reciben tratamiento precisamente por no tener síntomas o por mantener una función pulmonar estable.

Recomendación para el tratamiento sustitutivo

Para establecer las recomendaciones de tratamiento sustitutivo, la presente normativa ha adoptado la metodología GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation)⁴⁴, tal como recomiendan las sociedades científicas internacionales que debe evaluarse la evidencia científica a la hora de elaborar recomendaciones de tratamiento⁴⁵. En el caso del tratamiento sustitutivo con AAT, la Sociedad Torácica Canadiense publicó en 2012 su recomendación basada en el sistema GRADE, que constituye la base de nuestra evaluación⁴⁶. La pregunta seleccionada fue: ¿Es el tratamiento sustitutivo con AAT eficaz en pacientes con EPOC y déficit de AAT?. En la búsqueda bibliográfica se obtuvieron 1.399 resúmenes de los que se seleccionaron 41 artículos que finalmente se redujeron a 6 trabajos que cumplían todos los criterios para ser incluidos en la evaluación de la evidencia^{37-40, 47,48}.

Las variables analizadas, su resultado y la calidad de la evidencia se resumen en la . En resumen, los ensayos clínicos aleatorizados y controlados con placebo demuestran la eficacia del tratamiento sustitutivo en frenar la pérdida progresiva de densidad pulmonar que caracteriza el enfisema y esta eficacia es la que constituye la base de la recomendación de tratamiento³⁷⁻³⁹.

Una revisión Cochrane reciente incluyó los dos estudios aleatorizados contra placebo existentes y evaluó la caída del FEV_1 como variable principal. Encontró que no existieron en estos estudios diferencias significativas en la pérdida de función pulmonar, en calidad de vida o en agudizaciones, pero la densidad pulmonar se deterioraba menos en el grupo de tratamiento activo con una diferencia que fue significativa de 1,14 g/L por año (IC95% 0,14 a 2,14 g/L; $p = 0.03$). No hubo diferencias en efectos adversos entre grupos⁴⁹.

El tratamiento no está indicado en los individuos heterocigóticos PiMZ ya que de manera constante tienen concentraciones séricas de AAT por encima de las consideradas protectoras. En el caso de los heterocigotos PiSZ puede considerarse en aquellos casos infrecuentes que cursen con concentraciones séricas muy bajas, similares a las de los homocigotos PiZZ (< 50 mg/dL). Debido a que los hemoderivados pueden contener trazas de inmunoglobulina A (IgA) y a que los pacientes con un déficit de IgA pueden tener anticuerpos circulantes anti-IgA, es obligatorio descartar este déficit antes de iniciar el tratamiento.

Tabla 5. Variables de efectividad y resultados obtenidos con el tratamiento sustitutivo con AAT

Variable	Resultado (calidad de la evidencia)
Agudizaciones	No evidencia de beneficio con el tratamiento (Grado B)
Calidad de vida	No evidencia de beneficio con el tratamiento (Grado B)
Disnea	No evaluado
Capacidad de ejercicio	No evaluado
Utilización de recursos sanitarios	No evaluado
Mortalidad	Beneficio con el tratamiento (Grado C)
Caída de la función pulmonar (FEV_1)	No evidencia de beneficio con el tratamiento (Grado B)*
Beneficio con el tratamiento (Grado C)	
Pérdida de densidad pulmonar	Beneficio con el tratamiento (Grado B)

Nota: Adaptada con permiso de (46).

Recomendaciones:

Pregunta: ¿Es el tratamiento sustitutivo con AAT eficaz en pacientes con EPOC y déficit de AAT?

La siguiente recomendación se basa en el análisis de la evidencia de 6 estudios realizados por metodología GRADE por la Sociedad Torácica Canadiense y del consenso de expertos de la Asociación Argentina de Medicina Respiratoria (AAMR).

Recomendación: Sugerimos que el tratamiento con AAT se debe considerar en pacientes no fumadores o exfumadores con EPOC (FEV_1 entre el 25% y el 80% del teórico) debido a enfisema, y con déficit de AAT documentado (concentraciones de AAT < 11 $\mu\text{mol/L}$ o 50 mg/dL) que estén recibiendo tratamiento farmacológico y no farmacológico adecuado, en base a los beneficios demostrados en reducción de la pérdida de densidad pulmonar (Grado de recomendación: 2B) y en la mejoría de la supervivencia (Grado de recomendación: 2C).

Debido a que los pacientes con $FEV_1 < 25\%$ no han sido incluidos en los ensayos clínicos, no tenemos evidencia de la eficacia en este grupo, pero los estudios observacionales indican que la pérdida de densidad pulmonar continúa en estos casos^{50,51} (Tabla 6). Además, los pacientes con $FEV_1 < 25\%$ son lo que presentan un mayor riesgo de mortalidad y por este motivo se debe esperar en ellos un mayor efecto del tratamiento sustitutivo en prolongar la supervivencia⁴⁰. Por esta razón se recomienda por consenso considerar el tratamiento también en los pacientes con $FEV_1 < 25\%$ por la mejoría en la supervivencia (Grado de recomendación: 2C) y nunca suspender el tratamiento cuando el FEV_1 desciende por debajo de este valor.

Tampoco existe evidencia del efecto del tratamiento en pacientes con enfisema detectado por TC y/o alteración de la difusión, pero con $FEV_1 > 80\%$. Como es posible que en casos no índice la enfermedad se limite al dejar de fumar e iniciar un tratamiento adecuado, la recomendación del grupo de expertos es establecer un seguimiento durante un periodo de 2-3 años e iniciar el tratamiento sustitutivo si a pesar de las medidas adoptadas se objetivara una progresión del enfisema (Grado de recomendación: 2D).

Seguridad del tratamiento sustitutivo

La infusión de AAT humana por vía endovenosa para el tratamiento crónico del enfisema debido a un DAAT es un tratamiento que ha demostrado ser muy seguro. Las primeras experiencias se iniciaron en 1987, sin ponerse en evidencia reacciones

Tabla 6. Criterios del RADAAT para tratamiento aumentativo*

1. Mayores de 18 años
2. Déficit de AAT demostrado por concentraciones séricas iguales o inferiores 50 mg/dL**.
3. No fumadores o exfumadores al menos durante los últimos 6 meses
4. Enfisema pulmonar demostrado por pruebas de función pulmonar y/o TCAR de tórax
5. EPOC con $FEV_1 < \text{el } 80\%$ del predicho†, que reciben tratamiento farmacológico y no farmacológico óptimo
6. Que no presenten un déficit de inmunoglobulina A
7. Que estén dispuestos a recibir regularmente el tratamiento en hospital de día

Adaptada de la Normativa SEPAR, Arch Bronconeumol 2006;42: 645-59

* Se deben cumplir todos los criterios

** El déficit grave definido por concentraciones séricas de AAT inferiores a 50 mg/dL, medidos por nefelometría, generalmente se asocia con genotipos ZZ, y raramente con combinaciones de alelos "raros", "nulos" Z y S. No se considera déficit grave al asociado a los fenotipos MZ, ni a la mayoría de los SZ (con excepción de aquellos casos excepcionales que presenten concentraciones séricas cercanas a 50 mg/dL y cumplieren el resto de criterios).

† El tratamiento aumentativo no debe ser suspendido en un paciente ya tratado si su función pulmonar se deteriora y/o su FEV_1 cae por debajo del 25%.

AAT: alfa-1 antitripsina; TCAR: tomografía computarizada de alta resolución; FEV_1 : volumen espiratorio forzado en el primer segundo.

agudas. Debe destacarse que no se han observado reacciones secundarias a la sobrecarga proteica tras la administración periódica a largo plazo de grandes dosis, en administración a intervalos mensuales. La mayor base de datos de efectos adversos es la del registro del NHLBI. La frecuencia de estos efectos fue de 0,02 por paciente y mes, pero sólo un 9% de ellos se consideró grave y sólo un 1,7% requirió atención en urgencias o ingreso hospitalario. Hasta un 85% de los pacientes no presentó efecto adverso alguno⁵². Los más frecuentes fueron cefalea (47%), vértigo (17%), náuseas (9%) y disnea (9%). No se encontró ningún caso de transmisión de hepatitis A, B, C o D, ni del virus de la inmunodeficiencia humana, como tampoco enfermedad mediada por priones. Los pacientes que recibieron infusiones semanales tuvieron mayor frecuencia de efectos adversos y de efectos adversos considerados graves⁵². En la actualidad no se aconseja de forma sistemática la vacunación anti-hepatitis A o B antes de comenzar dicho tratamiento.

Productos disponibles para la administración intravenosa

En la actualidad se dispone de cuatro preparados de AAT procedentes de plasma humano para su administración intravenosa.

El tratamiento se administra en centros hospitalarios, en zonas de hospital de día. La preparación del producto a infundir por la farmacia del hospital debe realizarse cuando el paciente ha llegado al centro y debe administrarse lo antes posible, ya que tras su reconstitución tiene un período de actividad de 3 a 4 horas. La velocidad de perfusión debe ser inferior a 0,08 mL/kg/minuto.

Pautas de administración recomendadas

No existe una única pauta de dosificación de la AAT. La ficha técnica de los diversos productos disponibles recomienda, si no existe otra indicación médica, la dosis de 60 mg/kg/semana, por ser la que primero se estudió y la mejor documentada. Sin embargo, diversos estudios han demostrado la eficacia y seguridad de otras pautas de dosificación. En efecto, en el registro NHLBI de Estados Unidos, el 67% de los pacientes ha recibido pautas diferentes a la semanal⁵².

Las pautas de 50 mg/kg/7 días y de 120 mg/kg/14 días han demostrado mantener una C_{mín} superior a la considerada protectora en más del 90% de los pacientes⁴⁰. La pauta de 180 mg/kg/21 días consigue mantener una C_{mín} considerada protectora durante aproximadamente un 85% del tiempo entre dosis⁴⁰. En ausencia de estudios concluyentes que relacionen la eficacia clínica con las medidas farmacocinéticas, la elección de la pauta debe individualizarse y surgir de un compromiso entre la eficacia bioquímica, las expectativas, la disponibilidad de los pacientes y las posibilidades del centro hospitalario.

No se recomienda la determinación de la C_{mín} debido a que su interpretación es compleja y a que los ajustes de dosis posteriores requieren de un análisis farmacocinético individualizado. En caso de que se sospeche que es preciso un ajuste de dosis, este análisis debe realizarse en un centro con experiencia en estudios farmacocinéticos.

Conflicto de intereses: GM ha recibido financiamiento de AstraZeneca y Tuteur por viajes a Congresos médicos ATS y ERS, y conferencias médicas; realiza asesoría científica para Laboratorio Grifols.

AE ha realizado protocolos de investigación clínica como investigador principal en ensayos clínicos de los laboratorios Pfizer, AstraZeneca, Chiessi, GSK, Boehringer Ingelheim.

PSS recibe becas para asistir a congresos en el exterior de los laboratorios GSK, Novartis y Sanofi Aventis; realiza investigación clínica farmacológica para Novartis y GSK.

MF ha recibido beneficios del laboratorio Tuteur como traslados y hospedajes para distintos tipos de congreso de medicina respiratoria; trabaja en una beca de investigación

con el objetivo de determinar la prevalencia de DAAT en pacientes EPOC en el Hospital María Ferrer.

MM ha recibido honorarios por asesoría científica y/o por impartir conferencias de Almirall, AstraZeneca, Bayer Schering, Boehringer Ingelheim, Grupo Ferrer, GlaxoSmithKline, Grifols, Laboratorios Esteve, Pfizer, Novartis, Merck Sharp & Dhome y Nycomed.

JFC ha recibido becas para viajes de asistencia (traslado y hospedaje) a congresos médicos de Boehringer Ingelheim y Teva Tuteur, y honorarios por realización de ensayos clínicos de Novartis, Pfizer Argentina, Boehringer Ingelheim y GlaxoSmithKline, y por dictado de conferencias de Investi, Novartis y Boehringer Ingelheim.

MFA ha recibido financiación de Tuteur S.A. para la asistencia a los congresos europeos 2011-2012-2013; recibe financiación de GSK por investigaciones clínicas en EPOC.

PBS ha recibido financiamiento del laboratorio Teva para el viaje y hospedaje al Meeting Argentino para la definición de las guías nacionales de diagnóstico y tratamiento del déficit de Alfa 1 Antitripsina realizado en Iguazú en Julio del 2013, y para el Congreso Argentino de Medicina Respiratoria en Mendoza en Octubre 2013.

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: 818-900.
2. Stoller JK, Aboussouan LS. Alpha-1-antitrypsin deficiency. *Lancet* 2005; 365: 2225-36.
3. Stoller JK, Aboussouan LS. A review of α 1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185: 246-59.
4. Janoff A. Inhibition of human granulocyte elastase by serum alpha-1-antitrypsin. *Am Rev Respir Dis* 1972; 105(1): 121-2.
5. Travis J, Salvesen GS. Human plasma proteinase inhibitors. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 655-709.
6. Bergin DA, Reeves EP, Meleady P, et al. α -1 Antitrypsin regulates human neutrophil chemotaxis induced by soluble immune complexes and IL-8. *J Clin Invest* 2010; 120: 4236-50.
7. Vidal R, Blanco I, Casas F, Jardí R, Miravittles M y Comité del Registro Nacional de Pacientes con Déficit de Alfa-1-antitripsina. Normativa SEPAR: Diagnóstico y tratamiento del déficit de alfa-1-antitripsina. *Arch Bronconeumol* 2006; 42: 645-659.
8. Pott GB, Chan ED, Dinarello CA, Shapiro L. Alpha-1-antitrypsin is an endogenous inhibitor of proinflammatory cytokine production in whole blood. *J Leukoc Biol* 2009; 85: 886-95.
9. Janciauskiene SM, Bals R, Koczulla R, Vogelmeier C, Köhlein T, Welte T. The discovery of α 1-antitrypsin and its role in health and disease. *Respir Med* 2011; 105: 1129-39.
10. Lewis EC. Expanding the clinical indications for α (1)-antitrypsin therapy. *Mol Med* 2012; 18: 957-70.
11. Taggart C, Cervantes-Laurean D, Kim G, et al. Oxidation of either methionine 351 or methionine 358 in alpha 1-antitrypsin causes loss of anti-neutrophil elastase activity. *J Biol Chem* 2000; 275: 27258-65.
12. De Serres FJ, Luisetti M, Ferrarotti I, Blanco I, Fernández-Bustillo E. Alpha-1 antitrypsin deficiency in Italy: regional differences of the PIS and PIZ deficiency alleles. *Monaldi Arch Chest Dis* 2005; 63: 133-41.

13. Blanco I, de Serres FJ, Fernández-Bustillo E, Lara B, Miravittles M. Estimated numbers and prevalence of PI*S and PI*Z alleles of alpha1-antitrypsin deficiency in European countries. *Eur Respir J* 2006; 27: 77-84.
14. Blanco I, de Serres FJ, Cárcaba V, Lara B, Fernández-Bustillo E. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency PI*Z and PI*S Gene Frequency Distribution Using on Maps of the World by an Inverse Distance Weighting (IDW) Multivariate Interpolation Method. *Hepat Mon* 2012;12(10 HCC):e7434.
15. De Serres FJ, Blanco I. Prevalence of α 1-antitrypsin deficiency alleles PI*S and PI*Z worldwide and effective screening for each of the five phenotypic classes PI*MS, PI*MZ, PI*SS, PI*SZ, and PI*ZZ: a comprehensive review. *Ther Adv Respir Dis* 2012; 6: 277-95.
16. De Serres FJ, Blanco I, Fernández-Bustillo E. Estimates of PI*S and PI*Z Alpha-1 antitrypsin deficiency alleles prevalence in the Caribbean and North, Central and South America. *Monaldi Arch Chest Dis* 2009; 71: 96-105.
17. Stoller JK, Brantly M. The challenge of detecting alpha-1 antitrypsin deficiency. *COPD* 2013;10 Suppl 1: 26-34.
18. Lomas DA, Evans DL, Finch JT, Carrell RW. The mechanism of Z alpha 1-antitrypsin accumulation in the liver. *Nature* 1992; 357(6379) :605-7.
19. Ekeowa UI, Freeke J, Miranda E, et al. Defining the mechanism of polymerization in the serpinopathies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 17146-51.
20. Teckman JH. Liver disease in alpha-1 antitrypsin deficiency: current understanding and future therapy. *COPD* 2013;10 Suppl 1:35-43.
21. Morris H, Morgan MD, Wood AM, et al. ANCA-associated vasculitis is linked to carriage of the Z allele of α 1 antitrypsin and its polymers. *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 1851-6.
22. Blanco I, Lara B, de Serres F. Efficacy of alpha1-antitrypsin augmentation therapy in conditions other than pulmonary emphysema. *Orphanet J Rare Dis* 2011; 6: 14.
23. McElvaney NG, Stoller JK, Buist AS, et al. Baseline characteristics of enrollees in the National Heart, Lung and Blood Institute Registry of alpha 1-antitrypsin deficiency. Alpha 1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group. *Chest* 1997; 111: 394-403.
24. Strange C. Airway disease in alpha-1 antitrypsin deficiency. *COPD* 2013;10 Suppl 1: 68-73.
25. Parr DG, Guest PG, Reynolds JH, Dowson LJ, Stockley RA. Prevalence and impact of bronchiectasis in alpha1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 1215-21.
26. Rodriguez F, de la Roza C, Jardi R, Schaper M, Vidal R, Miravittles M. Glutathione S-Transferase P1 and Lung Function in Patients With alpha 1- antitrypsin deficiency and COPD. *Chest* 2005; 127: 1537-43.
27. Demeo DL, Campbell EJ, Barker AF, et al. IL10 polymorphisms are associated with airflow obstruction in severe alpha1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008; 38: 114-20.
28. Sørheim IC, Bakke P, Gulsvik A, et al. α ₁-Antitrypsin protease inhibitor MZ heterozygosity is associated with airflow obstruction in two large cohorts. *Chest* 2010; 138: 1125-32.
29. Rodriguez-Frias F, Miravittles M, Vidal R, Camos S, Jardi R. Rare alpha-1-antitrypsin variants: are they really so rare? *Ther Adv Respir Dis* 2012; 6: 79-85.
30. Costa X, Jardi R, Rodriguez F, et al. Simple method for alpha1-antitrypsin deficiency screening by use of dried blood spot specimens. *Eur Respir J* 2000; 15: 1111-5.
31. Schünemann HJ, Jaeschke R, Cook DJ, et al. ATS Documents Development and Implementation Committee. An official ATS statement: grading the quality of evidence and strength of recommendations in ATS guidelines and recommendations. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:605-14.
32. Stockley RA, Dirksen A, Stolk J. Alpha-1 antitrypsin deficiency: the European experience. *COPD* 2013; 10 Suppl 1: 50-3.
33. Lara B, de la Roza C, Vilà S, Vidal R, Miravittles M. Development and results of the Spanish registry of patients with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Int J Chron Obst Pulm Dis* 2007; 2: 393-398.
34. Lara B, Morales P, Blanco I, et al. [Respiratory disease registries in Spain: fundamentals and organization]. *Arch Bronconeumol* 2011; 47: 389-96.
35. Soy D, de la Roza C, Lara B, Esquinas C, Torres A, Miravittles M. Alpha-1-antitrypsin deficiency: optimal therapeutic regimen based on population pharmacokinetics. *Thorax* 2006; 61: 1059-1064.
36. Bruce RM, Cohen BH, Diamond EL, et al. Collaborative study to assess risk of lung disease in Pi MZ phenotype subjects. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130: 386-390.
37. Dirksen A, Dijkman JH, Madsen F, et al. A randomized clinical trial of alpha-1-antitrypsin augmentation therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1468-1472.
38. Dirksen A, Piitulainen E, Parr DG, et al. Exploring the role of CT densitometry: a randomised study of augmentation therapy in alpha1-antitrypsin deficiency. *Eur Respir J* 2009; 33: 1345-1353.
39. Stockley RA, Parr DG, Piitulainen E, Stolk J, Stoel BC, Dirksen A. Therapeutic efficacy of alpha-1 antitrypsin augmentation therapy on the loss of lung tissue: an integrated analysis of 2 randomised clinical trials using computed tomography densitometry. *Respir Res* 2010; 11: 136.
40. The Alpha-1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group. Survival and FEV1 decline in individuals with severe deficiency of alpha-1 antitrypsin. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 49-59.
41. Lieberman J. Augmentation therapy reduces frequency of lung infections in antitrypsin deficiency: a new hypothesis with supporting data. *Chest* 2000; 118: 1480-1485.
42. Stockley RA, Bayley DL, Unsal I, Dowson LJ. The effect of augmentation therapy on bronchial inflammation in alpha1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1494-1498.
43. Ma S, Lin YY, He J, Rouhani FN, Brantly M, Turino GM. Alpha-1 antitrypsin augmentation therapy and biomarkers of elastin degradation. *COPD* 2013; 10: 1-9.
44. Alonso-Coello P, Rigau D, Juliana Sanabria A, Plaza V, Miravittles M, Martínez L. Calidad y fuerza: el sistema GRADE para la formulación de recomendaciones en las guías de práctica clínica. *Arch Bronconeumol* 2013; 49: 261-267.
45. Schünemann HJ, Oxman AD, Akl EA, et al. Moving from evidence to developing recommendations in guidelines. An official ATS/ERS Workshop report. *Proc Am Thorac Soc* 2012; 9: 282-292.
46. Marciniuk DD, Hernandez P, Balter M, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency targeted testing and augmentation therapy: A Canadian Thoracic Society clinical practice guideline. *Can Respir J* 2012; 19: 109-116.
47. Seersholm N, Wencker M, Banik N, et al. Does alpha1-antitrypsin augmentation therapy slow the annual decline in FEV1 in patients with severe hereditary alpha1-antitrypsin deficiency? *Wissenschaftliche Arbeitsgemeinschaft zur*

- Therapie von Lungenerkrankungen (WATL) alpha1-AT study group. *Eur Respir J* 1997; 10: 2260-2263.
48. Wencker M, Fuhrmann B, Banik N, Konietzko N; Wissenschaftliche Arbeitsgemeinschaft zur Therapie von Lungenerkrankungen. Longitudinal follow-up of patients with alpha (1)-protease inhibitor deficiency before and during therapy with IV alpha(1)-protease inhibitor. *Chest* 2001; 119: 737-744.
 49. Gøtzsche PC, Johansen HK. Intravenous alpha-1 antitrypsin augmentation therapy for treating patients with alpha-1 antitrypsin deficiency and lung disease (Review). *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 7: CD007851.
 50. Dowson LJ, Guest PJ, Stockley RA. Longitudinal changes in physiological, radiological, and health status measurements in alpha-1 antitrypsin deficiency and factors associated with decline. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1805-1809.
 51. Dawkins PA, Dawkins CL, Wood AM, Nightingale PG, Stockley JA, Stockley RA. Rate of progression of lung function impairment in alpha-1 antitrypsin deficiency. *Eur Respir J* 2009; 33: 1338-1344.
 52. Stoller JK, Fallat R, Schluchter MD, et al. Augmentation therapy with alpha-1 antitrypsin. Patterns of use and adverse events. *Chest* 2003; 123: 1425-1434.
 53. Gottlieb DJ, Luisetti M, Stone PJ, et al. Short-term supplementation therapy does not affect elastin degradation in severe alpha(1)-antitrypsin deficiency. The American-Italian AATD Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 2069-2072.
 54. Wencker M, Banik N, Buhl R, Seidel R, Konietzko N. Long-term treatment of alpha1 antitrypsin deficiency-related pulmonary emphysema with human alpha1-antitrypsin. Wissenschaftliche Arbeitsgemeinschaft zur Therapie von Lungenerkrankungen (WATL)-alpha1-AT-study group. *Eur Respir J* 1998; 11: 428-433.
 55. Schwaiblmair M, Vogelmeier C, Fruhmann G. Long-term augmentation therapy in twenty patients with severe alpha-1-antitrypsin deficiency--three-year follow-up. *Respiration* 1997; 64: 10-15.
 56. 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.
 57. Turino GM, Barker AF, Brantly ML, et al. Clinical features of individuals with PI*SZ phenotype of alpha 1-antitrypsin deficiency. Alpha 1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154 (6 Pt 1): 1718-25