

RUOLO DELL'ALFA-1 GLOBULINA ELETTROFORETICA PER LO SCREENING DI VARIANTI DEFICITARIE DI ALFA-1 ANTITRIPSINA

Mattia Ramaccia, Simona Santangelo, Simone Scarlata

Area di Medicina Interna, Servizio di Fisiopatologia Respiratoria ed Endoscopia Toracica – Policlinico Universitario Campus Bio Medico di Roma

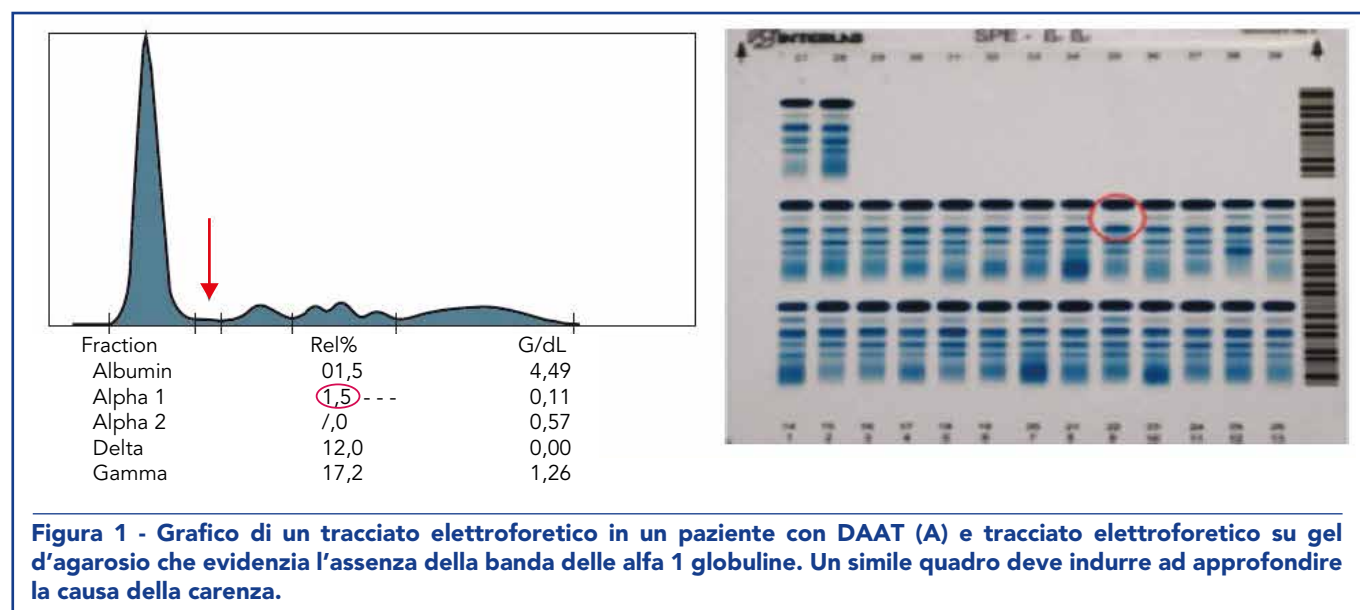
Introduzione

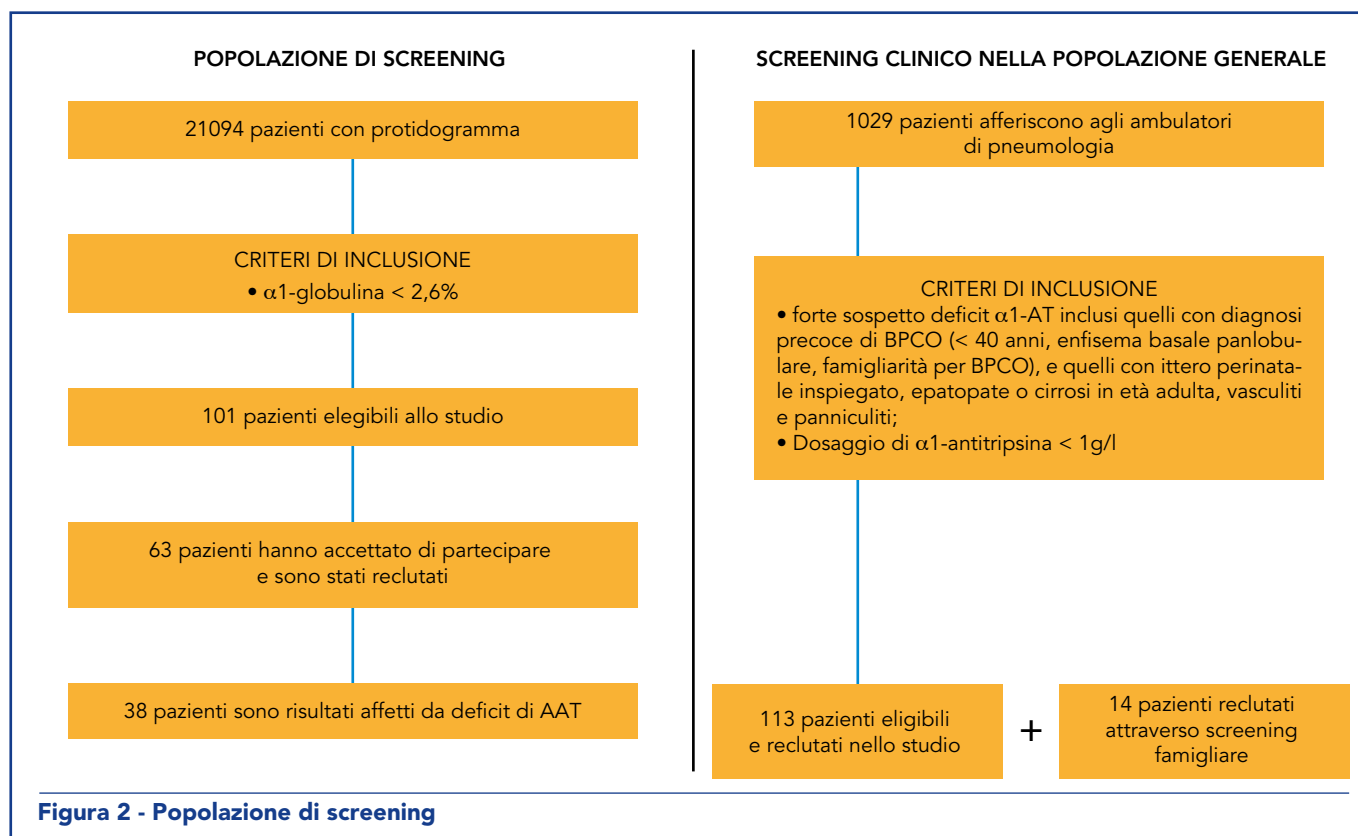
L'alfa-1antitripsina (AAT) è una glicoproteina di fase acuta codificata dal locus "Inibitore delle Proteasi" (protease inhibitor, PI) localizzato sul braccio lungo del cromosoma 14 (14q31-32.3) (1-2). L'AAT è principalmente prodotta dagli epatociti e agisce da inibitore delle "serin-proteasi" con attività antiproteasica e immunoregolatoria: in particolare inibisce l'elastasi neutrofila (NE) la cui attività enzimatica, se non opportunamente inibita, indurrebbe una degenerazione del parenchima polmonare con associato danno alveolare. Il deficit di AAT (DAAT) è una malattia genetica autosomica codominante, causata da varianti alleliche del gene SERPINA 1 (PI M, PI S, PI Z, PI Null e varianti rare) che si associano ad epatopatie, vasculiti, panniculiti e aumento di circa il 60% di sviluppare BPCO (broncopneumopatia cronica ostruttiva) e, in misura minore ma non trascurabile, ad altre patologie croniche degenerative delle vie aeree (bronchiectasie, asma, malattie interstiziali diffuse del polmone).

Tale rischio è notevolmente amplificato dalla concomitante esposizione al fumo di sigaretta, un potente inibitore esogeno dell'elastasi neutrofila (3-4). Da un'analisi dei numerosi dati epidemiologici disponibili

li emerge come la prevalenza del DAAT rimanga ancora ampiamente sottostimata. Infatti, si calcola che solo il 10% dei soggetti con DAAT che presentano già sintomi tipici di BPCO pervengano ad una corretta diagnosi di DAAT. Inoltre appare anche evidente come la diagnosi di DAAT venga posta con sensibile ritardo rispetto all'insorgenza della sintomatologia e dell'ostruzione bronchiale, in media dopo 6-8 anni (1, 5-6). In quest'ottica appare pertanto chiaro come sia necessario ottimizzare le strategie di screening finalizzate alla emersione della patologia ed alla diagnosi precoce del disturbo.

In tal senso, l'elettroforesi siero proteica può rappresentare un valido strumento, economico, diffuso e riproducibile per lo screening di popolazione dei soggetti con DAAT. Sebbene non altamente specifico, infatti, consente una stima semi-quantitativa della alfa 1 globuline e, di conseguenza, della AAT che ne costituisce più del 85% del totale. Ovviamente, tale determinazione è utile nel sospetto di una carenza di AAT ma non permette una determinazione qualitativa della proteina né una diagnosi certa di deficit che deve infatti avvenire mediante ricorso a tecniche di isoelettrofocalizzazione (IEF),





genotipizzazione e sequenziamento automatico. Il ricorso alla determinazione della banda alfa 1 nel protidogramma elettroforetico è stato più volte proposto da diversi autori (Miravittles, Ferrarotti, etc) con risultati estremamente promettenti nel rilevare la mutazione all'interno di popolazioni a rischio di sviluppare il deficit, come per esempio pazienti con BPCO ad insorgenza precoce ed epatopatie ad eziologia incerta. Molto meno chiari sono i dati relativi alla capacità di screening nel contesto della popolazione generale (Figura 1).

Recentemente, il nostro gruppo di ricerca, ha svolto uno studio di popolazione selezionando all'interno della banca dati aziendale del policlinico universi-

tario Campus Biomedico di Roma, un campione di 21.094 elettroforesi proteiche effettuate, per qualsiasi motivo, nell'arco di tempo compreso tra il 2014 ed il 2016. All'interno di questo campione sono stati isolati tutti i soggetti con livelli di alfa 1 globulina al di sotto del valore soglia di 2,6%.

Dei 101 soggetti che soddisfacevano il criterio di inclusione, 63 hanno accettato di sottoporsi allo screening per la diagnosi mediante prove di funzione respiratoria complete, genotipizzazione ed eventuale sequenziamento. I risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli provenienti da una mappatura effettuata applicando i criteri di screening proposti dalle attuali linee guida ERS (3) sulla popolazione di

Sintesi della popolazione con α 1-globuline < 2,6% e con deficit genetico di AAT confrontati con i dati dello screening clinico

	Gruppo α 1-globulina <2,6%	Screening clinico (CS)
Numeri di pazienti sottoposti a screening	63	113
Numero di pazienti con deficit di AAT	38	18
Tasso di malattia (percentuale %)	60,3	15,9

Tabella 1



soggetti afferenti all'ambulatorio di pneumologia del policlinico Campus Bio Medico di Roma (Figura 2). I risultati dello studio hanno permesso di verificare un tasso di mutazione all'interno della popolazione sottoposta a screening del 60,3% (38/63) versus il 15,9% (18/113) di rilevazione all'interno del gruppo ambulatoriale. Di questi, 3 pazienti hanno mostrato un deficit severo. Dallo studio delle caratteristiche cliniche dei soggetti arruolati emergeva come quelli provenienti da screening di popolazione presentassero un grado di compromissione polmonare notevolmente meno grave rispetto ai controlli. Inoltre, solo il 14,3% dei soggetti si era sottoposto a valutazione pneumologica o epatologica in passato.

Solamente 3 soggetti, infine, avevano svolto un esame spirometrico prima dell'arruolamento (Tabella 1). In conclusione quindi, questo studio evidenzia come la valutazione retrospettiva di ampie banche dati di popolazione possa consentire un elevato tasso di identificazione di mutazione del gene dell'AAT su soggetti asintomatici.

Questo approccio, semplice ed in grado di minimizzare il costo della procedura di screening, necessita di ulteriori validazioni su ampia scala per una definitiva conferma di efficacia, ma garantisce già adesso sufficiente abilità diagnostica per un utilizzo routinario nell'ambito di programmi di screening all'interno di piccole comunità (Figura 3).

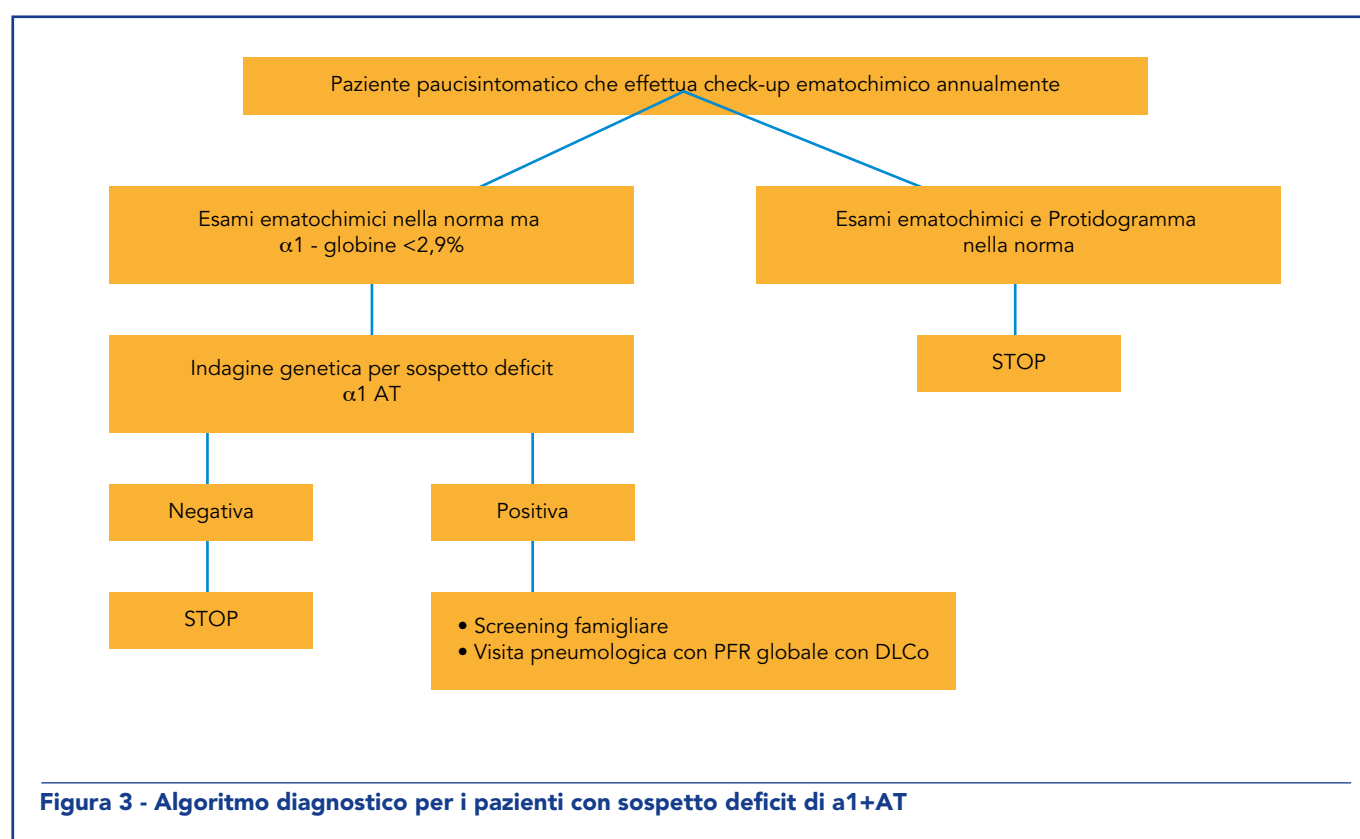


Figura 3 - Algoritmo diagnostico per i pazienti con sospetto deficit di α 1+AT

Bibliografia

- 1) S. Santangelo, S. Scarlata, L. M Poeta, Adam J. Bialas, G. Paone and Raffaele Antonelli Incalzi Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Current Perspective from Genetics to Diagnosis and Therapeutic Approaches. *Current Medicinal Chemistry*, 2016, 23, 1-27
- 2) G.L. Long, T. Chandra, S. L. Woo, E. W. Davie, and K. Kurachi, "Complete sequence of the cDNA for human alpha1-antitrypsin and the gene for the S variant" *Biochemistry (Mosc.)*, vol.23,no. 21, pp.4828-4837, Oct. 1984
- 3) S Scarlata, S Santangelo, I Ferrarotti, AG Corsico, S Ottaviani, P Finamore, D Fontana, M Miravittles, RA Incalzi. Electrophoretic α 1-globulin for screening of α 1-antitrypsin deficient variants. *Clin Chem Lab Med*. 2020 Apr 22:/j/cclm.ahead-of-print/cclm-2020-0071/cclm-2020-0071.xml.
- 4) C. Esquinas, S. Serreri, M. Barrecheguren, E. Rodriguez, A. Nunez, F. Casas-Maldonado, et al. Long-term evolution of lung function in individuals with α 1- antitrypsin deficiency from the Spanish Registry (REDAAT). *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2018; 13: 1001-7
- 5) E. K. Silverman and R.A. Sandhaus, "Clinical practice. Alpha1-antitrypsin deficiency", *N. Engl. J. Med.*, vol 360, no.26, pp. 2749-2757, Jun. 2009.
- 6) T. Greulich and C. F. Vogelmeier, "Alpha-1-antitrypsin deficiency: increasing awareness and improving diagnosis", *Ther. Adv. Respir. Dis.*, vol.10, no. 1, pp. 72-84, Feb. 2016

