

Deficiência de alfa-1-antitripsina na doença pulmonar obstrutiva crónica

Artigo de Revisão

Março/2009

Patrícia Neves Cardoso
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
Rua da Coutada, lote 2, 2º esquerdo – Miranda do Corvo 3220-189
patricia_neves_cardoso@hotmail.com

ÍNDICE

RESUMO	3
I – INTRODUÇÃO	6
II – EPIDEMIOLOGIA	9
III – FACTORES DE RISCO	11
IV – FISIOPATOLOGIA	15
V – ASPECTOS CLÍNICOS	20
V.1. SINAIS E SINTOMAS	20
V. 2. TESTES DA FUNÇÃO PULMONAR	21
V. 3. RADIOLOGIA	24
V. 4. OUTROS PARÂMETROS DE PROGRESSÃO	28
V. 5. DIAGNÓSTICO	29
VI – TERAPÊUTICA	33
VII – PROGNÓSTICO	40
VIII – CONCLUSÕES	42
IX – REFERÊNCIAS	45

RESUMO

Introdução – A deficiência de alfa-1-antitripsina é uma das alterações genéticas graves encontradas por todo o mundo. Porém, permanece subdiagnosticada, apesar da forte predisposição à doença pulmonar obstrutiva crónica que condiciona.

Objectivos – Os objectivos deste artigo de revisão incluem o estudo e avaliação das implicações da deficiência de alfa-1-antitripsina em indivíduos com doença pulmonar obstrutiva crónica, a apresentação dos esquemas de diagnóstico e terapêuticos mais utilizados e adequados na orientação desta patologia.

Desenvolvimento – A alfa-1-antitripsina é a proteína responsável pela maior parte da protecção antiproteásica do sistema respiratório. Os fenótipos que conferem um sério aumento do risco de desenvolvimento de doença pulmonar são aqueles em que há combinação de alelos deficientes (S e Z) ou nulos. O principal factor de risco nesses indivíduos é o tabagismo. Em adição ao efeito antiproteásico da alfa-1-antitripsina, estão implicados no desenvolvimento de doença obstrutiva outros mecanismos, como o stress oxidativo e a apoptose das células epiteliais alveolares. O enfisema é o padrão clínico mais frequentemente associado à deficiência de alfa-1-antitripsina e a causa primária de morte nesses indivíduos. Estudos da função pulmonar associados a técnicas radiológicas recentes, como a tomografia computadorizada de alta resolução, são necessários para avaliar a extensão da doença pulmonar e monitorizar a sua evolução. Indivíduos suspeitos de apresentar a deficiência devem ser avaliados de forma quantitativa e só depois qualitativa em relação a alfa-1-antitripsina. A sua associação indiscutível às doenças pulmonares obstrutivas crónicas torna-a num alvo terapêutico de grande importância, em que a terapia de reposição intravenosa permanece como um dos principais métodos do tratamento médico. A evicção tabágica está comprovadamente relacionada com a melhoria clínica e deve ser sempre enfatizada. O

transplante pulmonar é uma opção viável e a intervenção terapêutica mais eficaz para doentes selecionados.

Conclusões – A deficiência de alfa-1-antitripsina surge-nos como uma alteração genética com uma prevalência em nada negligenciável. Contudo, a tomada de decisões terapêuticas adequadas ao estadio da doença pulmonar só podem ser realizadas com o conhecimento diagnóstico da deficiência, muitas vezes esquecido ou desvalorizado.

PALAVRAS-CHAVE

deficiência de alfa-1-antitripsina, doença pulmonar obstrutiva crônica, enfisema, fenótipo Pi.

ABSTRACT

Introduction - Alpha-1-antitrypsin deficiency is one of the serious genetic alterations found in the whole world. However, it remains under-recognized, despite the known role in chronic obstructive pulmonary disease that it plays.

Objective - Study and evaluate the implications of the deficiency of alpha-1-antitripsina in individuals with chronic obstructive pulmonary disease, presenting the most used and adjusted diagnostic and therapeutic approach in the management of this condition.

Development - Alpha-1-antitrypsin is the mostly responsible protein in the antiprotease protection of respiratory system. Phenotypes that confer a high risk of pulmonary disease development are those where there is a combination of deficient (S and Z) or null alleles. The

main risk factor in these individuals is tobacco smoking. In addition to the antiprotease effect of alpha-1-antitrypsin, other mechanisms are implied in chronic obstructive pulmonary disease development such as oxidative stress and apoptosis of alveolar epithelial cells. Emphysema is the clinical pattern most frequently associated with alpha-1-antitrypsin deficiency and the primary cause of death in these individuals. The studies of pulmonary function associated with recent radiological techniques, as the high resolution computed tomography scan, are necessary to evaluate the extension of the pulmonary illness and to follow its evolution. Deficiency-suspected individuals must be submitted to a quantitative measure and, afterwards, to a qualitative evaluation of alpha-1-antitrypsin. Its unquestionable association with chronic obstructive pulmonary diseases makes it a therapeutic target of great importance, in which intravenous human plasma-derived augmentation therapy remains as one of the main medical treatments. Smoking cessation is related with clinical improvement and must always be emphasized. Lung transplant is a feasible option and the most efficient therapeutic intervention for selected patients.

Conclusions - Alpha-1-antitrypsin deficiency is a genetic disorder with non-negligible prevalence. However, therapeutic decision making adjusted to pulmonary disease-associated stage can only be done with diagnostic knowledge of the condition, often forgotten or devaluated.

KEY WORDS

alpha-1-antitrypsin deficiency, chronic obstructive pulmonary disease, emphysema, Pi phenotype.

I – INTRODUÇÃO

A deficiência de alfa-1-antitripsina (A1AT) é uma das mais comuns alterações genéticas hereditárias graves no mundo. Porém, permanece subdiagnosticada, apesar da forte predisposição que condiciona para doenças pulmonares e hepáticas, assim como a existência de formas raras de envolvimento dermatológico, vascular, renal e pancreático.

Foi primeiramente descrita por Carl-Bertil Laurell e Sten Eriksson em 1963, após a observação de que os sintomas de enfisema pulmonar eram mais frequentes em doentes com anormalidades na eletroforese de proteínas séricas, apresentando redução ou ausência do pico correspondente a alfa-1-globulina (Laurell e Eriksson 1963). A partir dessa data, vários estudos foram realizados de forma a compreender o mecanismo pelo qual a deficiência da molécula de A1AT está implicada no desenvolvimento de tais doenças.

A A1AT pertence a família das serpinas (inibidores das serina-proteases), formada também pelas proteínas alfa-1-antiquimotripsina, alfa-2-antiplasmina, ativador de plasminogénio I, inibidor das proteases secretadas de leucócitos, globulina ligadora de tiroxina, globulina ligadora de cortisol e angiotensinogénio (Coakley et al 2001). Além da sua capacidade de inibição da tripsina, a qual lhe concedeu a designação mais conhecida, seu alvo principal constitui a elastase neutrofílica. Uma segunda elastase secretada pelos neutrófilos, chamada protease-3 (PR-3), também contribui para a degradação da elastina, sendo conjuntamente inibida pela A1AT e pela alfa-2-macroglobulina. A molécula de PR-3 possui um domínio semelhante ao antígeno alvo do c-ANCA (do inglês *cytoplasmic-staining anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies*) associada à granulomatose de Wegener, podendo desencadear a chamada vasculite antiprotease-3 positiva (Rao et al 1991).

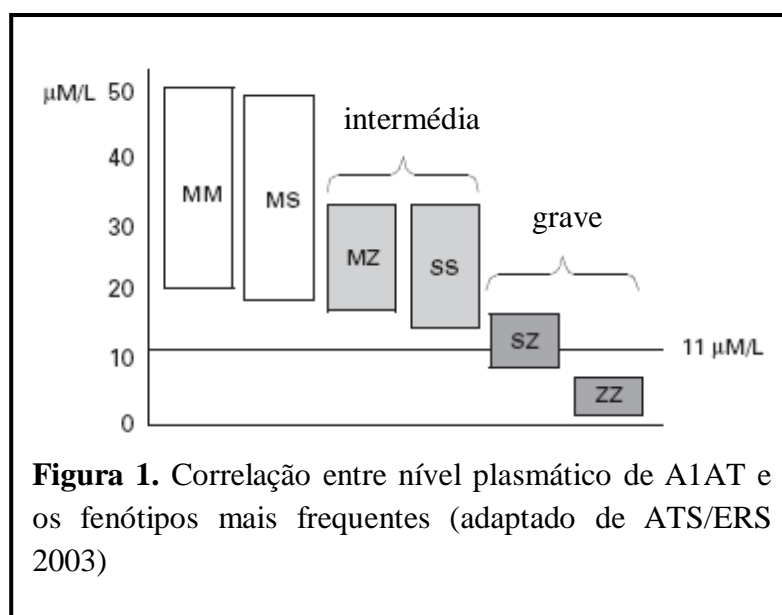
Apesar de ser encontrada em qualquer compartimento corporal e ser uma proteína anti-inflamatória de fase aguda, o local onde possui maior importância fisiológica primária é o

pulmão, sendo responsável por 95% da protecção antiproteásica do tracto respiratório inferior (Brigham 1997).

O gene da A1AT está localizado no par de cromossomas 14q31-32.3 (Cox et al 1985). Cada alelo, com um tamanho de 12,2 quilobase, codifica uma glicoproteína de 52 quiloDalton, composta por uma cadeia única de 394 aminoácidos, glicosilada em três pontos distintos. É maioritariamente produzida nos hepatócitos, que libertam sua produção na corrente sanguínea, mas também monócitos, macrófagos e células epiteliais pulmonares contribuem de forma menos significativa para a concentração local de A1AT. O gene é transmitido de forma autossómica codominante e é altamente polimórfico. Cerca de 100 variantes genéticas dos alelos da A1AT foram identificadas até à data, resultando em alterações conformacionais moleculares específicas que determinam diferentes padrões proteicos. As variantes são classificadas alfabeticamente de acordo com a mobilidade electroforética das amostras séricas de A1AT (American Thoracic Society/European Respiratory Society – ATS/ERS 2003). O grupo de alelos variantes envolvidos é conhecido como o sistema inibidor de proteases (Pi, do inglês *protease inhibitor*). Os primeiros investigadores utilizaram a letra M (do inglês, *medium*) para as variantes de mobilidade média, F (do inglês, *fast*) e letras iniciais do alfabeto para as variantes de mobilidade rápida, e S (do inglês, *slow*) e as últimas letras do alfabeto para as variantes com migração lenta. O alelo mais frequente, presente em 90% dos indivíduos normais, é designado como Pi M. Dos alelos alterados, Pi S e Pi Z são os mais comuns e expressam proteínas anormais que polimerizam no interior das células produtoras. As proteínas anormais tanto são secretadas em menor quantidade, como perdem parte das suas funções antiproteásicas, devido a alteração conformacional do local activo de ligação às proteases que apresentam graus de intensidade distintos. A variante Z da molécula é caracterizada pela substituição de glutamato na posição

342 por lisina (Glu342Lis). Essa substituição altera a conformação terciária da proteína, que forma polímeros agrupados no retículo endoplasmático dos hepatócitos. Este alelo determina o fenótipo que mais frequentemente está associado a doença pulmonar, no qual há maior retenção de A1AT no hepatócito, sendo apenas libertada cerca de 15% da produção de A1AT anormal na circulação. O alelo Pi S determina a libertação de aproximadamente 50 a 60% de A1AT anormal devido a menor taxa de polimerização da proteína após a substituição Glu264Val (Elliott et al 1996). Existem também variantes nulas (Pi QO) em que não há qualquer produção de A1AT, predispondo apenas a doença pulmonar, e variantes disfuncionais, como por exemplo a variante Pittsburgh (Met358Arg), que converte o inibidor de elastase para inibidor de trombina (Owen et al 1983).

Os fenótipos que conferem um sério aumento do risco de desenvolvimento de doença pulmonar são aqueles em que há combinação de alelos deficientes (Pi Z) ou nulos, de forma homozigótica ou heterozigótica, os quais expressam A1AT abaixo da concentração limite considerada protectora de $11\mu\text{mol/l}$, representados por Pi ZZ, Pi QOQO e Pi ZQO. A deficiência de A1AT intermédia é caracterizada pelas combinações Pi MZ, Pi SS, Pi SZ, em que os níveis séricos de A1AT encontram-se entre 11 e $20\mu\text{M}$ (Figura 1).



II – EPIDEMIOLOGIA

A deficiência de A1AT é uma das alterações genéticas hereditárias mais prevalentes na população caucasiana. O estudo de De Serres (2002) indica que, numa população total de 4,4 biliões de habitantes dentre os 58 países incluídos na pesquisa realizada, há pelo menos 116 milhões de portadores com fenótipo Pi MS ou Pi MZ, e 3,4 milhões de combinações de alelos deficientes (Pi SS, Pi SZ e Pi ZZ). Este estudo revela ainda que a deficiência de A1AT é encontrada em várias populações de negros africanos, árabes e judeus do médio oriente, caucasianos da Austrália/Nova Zelândia, Europa e América do Norte, e asiáticos. Dessa forma, verifica-se que a deficiência de A1AT não é apenas uma alteração genética que afecta normalmente caucasianos europeus, mas que afecta indivíduos em todos os subgrupos raciais. No entanto, mantém-se evidente que o alelo Pi Z é mais frequente nos países do norte da Europa e descendentes escandinavos, enquanto o alelo Pi S tem sua frequência aumentada nos países ibéricos.

Os fenótipos portadores, Pi MS e Pi MZ, e fenótipos deficientes de A1AT, Pi SS, Pi SZ, e Pi ZZ, são suspeitos de tornar os indivíduos mais susceptíveis a uma variedade de efeitos adversos na saúde. Devido a existência de uma fonte de informação limitada do número de indivíduos afectados por esta alteração pelo mundo, foi realizado por Blanco et al (2006) um estudo recente em indivíduos de 21 países europeus para estimar o número de portadores para os dois alelos deficientes mais comuns, nomeadamente Pi S e Pi Z (Tabela 1). Este revelou que o maior número de indivíduos Pi ZZ, entre 5000 a 15000 indivíduos, encontra-se em Itália, Espanha, Alemanha, França, Reino Unido, Letónia, Suécia e Dinamarca, seguidos por Bélgica, Portugal, Sérvia e Montenegro, Rússia, Holanda, Noruega e Áustria, com cerca de 1000 a 2000 indivíduos. A tabela 1 mostra alguns dos resultados estimados por país obtidos nesse estudo. Em Portugal, encontrou-se uma frequência muito

alta para o alelo S (0,129) e moderada para o Z (0,0138). De acordo com o estudo, na população portuguesa, de Santos Rosa (1988), a frequência do Pi S diminuía do norte para o sul do país e a do Pi Z atingia o máximo no norte e o mínimo na região centro.

Tabela 1. Cálculo do número e prevalência estimados de portadores de alelos Pi S e Pi Z e fenótipos (Estatísticas Hardy-Weinberg Equilibrium) (Blanco et al 2006).

País (população total)	MZ	SZ	ZZ	MS	SS	Prevalência total de Pi S e Pi Z	Número total de fenótipos
Portugal (10.524.145)	249.119	37.393	2.005	2.323.032	174.344	1/4	2.785.893
Espanha (40.280.780)	1.223.966	145.055	12.045	7.369.857	436.710	1/4	9.187.643
França (60.424.213)	1.415.176	118.094	9.982	8.371.550	349.296	1/6	10.264.097
Letónia (2.306.306)	192.303	6.507	4.699	133.133	2.252	1/7	338.894
Dinamarca (5.413.392)	276.681	8.163	3.958	258.296	4.209	1/7	578.307
Itália (58.057.477)	1.832.157	43.471	15.659	2.543.144	30.170	1/13	4.464.600
Alemanha (82.424.609)	1.574.316	34.083	8.003	3.352.208	36.287	1/16	5.004.987

III – FACTORES DE RISCO

O principal factor de risco em indivíduos deficientes de A1AT é o tabagismo, promovendo o desenvolvimento precoce de doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) comparativamente aos indivíduos não fumadores (Petrache et al 2006). Outros factores de risco potenciais no desenvolvimento de enfisema, além do tabagismo, foram estudados, estimando também o prognóstico em não fumadores. A exposição ocupacional a irritantes das vias aéreas como fumo passivo, pós e fumos químicos, não apresentam influência significativa no desenvolvimento de enfisema, sendo que a maioria nunca desenvolve sintomas pulmonares e permanecem indetectados (Seersholm e Kok-Jensen 1998). O tabagismo passivo está associado ao aumento da prevalência de bronquite crónica, mas não à diminuição da função pulmonar, enquanto esquentadores a querosene domiciliários e a profissão agrícola parecem ser factores de risco ambientais associados à diminuição da função pulmonar em não-fumadores Pi ZZ (Piitulainen et al 1998). O declínio do volume expiratório máximo no primeiro segundo (VEMS) reduziu significativamente quando se abandonaram os hábitos tabágicos ou a exposição ocupacional (ex.: fábricas de cimento e pneus), como foi verificado no estudo de um caso clínico (Serra e Banha 2008).

O principal factor de risco em indivíduos deficientes de A1AT é o tabagismo

A asma com padrão obstrutivo predominante é mais comum em doentes com deficiência de A1AT do que em doentes sem a deficiência, sugerindo que a ausência de A1AT nas vias aéreas aumenta a propensão ao seu desenvolvimento (Eden et al 1997). Em indivíduos com deficiência grave de A1AT, o sexo, a associação de asma, bronquite crónica e pneumonia são factores de risco para DPOC grave, em adição ao tabagismo (DeMeo et al 2007). Esses resultados sugerem que indivíduos severamente deficientes em A1AT, do sexo

masculino, com sintomas de bronquite crónica e/ou diagnóstico anterior de asma ou pneumonia podem beneficiar de uma monitorização próxima e potencialmente de um tratamento precoce.

Indivíduos com mutações “nulas” devem ser considerados como um subgrupo de risco acrescido de enfisema dentro da deficiência de A1AT (Fregonese et al 2008). Os resultados de uma metanálise mostraram que o fenótipo Pi SZ é um factor de risco significativo para DPOC, em comparação com indivíduos Pi MM, Pi MS e Pi SS (Dahl et al 2005), porém, numa idade mais avançada em relação a indivíduos com fenótipo Pi ZZ (Seersholm e Kok-Jensen 1998). Um estudo sugere que indivíduos Pi MZ têm maior susceptibilidade de adquirir anormalidades alveolares, sem alterações funcionais pulmonares (Tattersall et al 1979). Isto pode explicar o aumento da frequência de achados de enfisema em autópsias, apesar de estudos em vida não mostrarem alterações da função pulmonar compatíveis com sintomatologia. O risco de inabilitação por DPOC está apenas ligeiramente aumentado nos casos de deficiência intermédia de A1AT. Existe alguma discordância entre estudos no caso de deficiência intermédia com fenótipo Pi MZ. Os resultados encontrados por Larsson et al (1977), suportam o conceito de que o tabagismo e níveis intermédios de A1AT em indivíduos heterozigóticos Pi MZ interagem aditivamente no desenvolvimento de enfisema, enquanto outros sugerem não haver evidências de um efeito acelerador do envelhecimento em indivíduos Pi MZ quando comparado com o normal nem de efeito aditivo do tabagismo, em que esse fenótipo *per se* não é um factor de risco a desenvolver obstrução crónica das vias aéreas (Cole 1976; McDonagh 1979).

Os fenótipos que conferem um sério aumento do risco são aqueles em que há combinação de alelos deficientes (Pi Z) ou nulos

Um estudo com familiares de primeiro e segundo grau, de uma série onde predominavam mulheres, sem deficiência de A1AT, com DPOC grave e de início precoce, demonstrou que há um maior risco para diminuição do VEMS e para bronquite crónica nos familiares de primeiro grau, principalmente para fumadores ou ex-fumadores, o que sugere a existência de outros factores hereditários genéticos, para além dos fenótipos Pi, influenciando o desenvolvimento de obstrução ao fluxo aéreo e bronquite crónica (Silverman et al 1998).

Várias alterações genéticas estão sendo associadas a um maior risco de DPOC (Joos et al 2002). Polimorfismos de alfa-1-antiquimotripsina e alfa-2-macroglobulina, ambas produzidas por hepatócitos e macrófagos alveolares, foram encontrados, porém são raros e as evidências que contribuem para uma susceptibilidade a DPOC são escassas. As metaloproteases da matriz (MMP) constituem uma família com cerca de 20 enzimas proteolíticas apresentando funções de reparo tecidual associado ao desenvolvimento fisiológico e à inflamação. A hiperexpressão de metaloproteases está relacionada a condições patológicas graves, incluindo a degradação irreversível de tecidos na artrite reumatóide e a degradação de colagénio em tumores invasivos ou metástases. A MMP-1 (colagenase intersticial), MMP-12 (elastase macrofágica humana) e MMP-9 (gelatinase B) são enzimas importantes na inflamação das vias aéreas e no desenvolvimento de enfisema. Os estudos mais recentes sugerem que apenas os polimorfismos de MMP-1 e MMP-12 são factores de risco na lesão pulmonar associada ao tabagismo. A hidrolase epóxida microsossomal (EPHX) é uma enzima com importante papel na capacidade do tecido pulmonar em metabolizar os intermediários epóxidos altamente reactivos provenientes do fumo de tabaco, que levam à lesão pulmonar. Polimorfismos encontrados para EPHX podem estar associados à taxa de declínio da função pulmonar em fumadores. O gene glutathiona S-transferase P1 (GSTP1) codifica a enzima que está envolvida na destoxificação de substâncias electrofílicas do fumo

de tabaco. Um polimorfismo no nucleótido 315 deste gene altera a sua actividade enzimática. Um estudo foi realizado para analisar a associação entre a variabilidade no gene GSTP1 e a diminuição da função pulmonar em fumadores com e sem deficiência de A1AT e DPOC (Rodriguez et al 2005), sugerindo que a frequência do polimorfismo 105Val da enzima está aumentado em doentes com deficiência de A1AT, principalmente na população Japonesa. Alterações do gene GSTM1 da mesma família são encontradas maioritariamente na população caucasiana.

IV – FISIOPATOLOGIA

A DPOC é caracterizada pela instalação de um quadro de inflamação crónica das vias aéreas, e os efeitos colaterais da inflamação incluindo o desequilíbrio protease-antiprotease, stress oxidativo, lesão do endotélio vascular e desnutrição, têm sido determinantes na explicação da patogénese dessa doença.

O desequilíbrio protease-antiprotease proporcionado pela ausência de A1AT funcional resulta num ambiente favorável à destruição da matriz extracelular do parênquima pulmonar. Esta hipótese é baseada na evidência de que a molécula de A1AT representa a principal antielastase na defesa alveolar, e indivíduos gravemente deficientes de A1AT possuem pouca ou nenhuma molécula de A1AT nos alvéolos. A quantidade de eventos proteolíticos é anormalmente maior e prolongada em indivíduos deficientes de A1AT, levando directamente a um risco aumentado de lesão tecidual na proximidade dos neutrófilos activados (Campbell et al 1999). Mesmo indivíduos com fenótipo Pi MZ sem obstrução do fluxo aéreo podem ter inflamação neutrofílica relacionada com a libertação de interleucina 8 (IL-8) nas vias aéreas, semelhante a dos doentes estáveis com DPOC, sugerindo um risco aumentado de desenvolvimento de alterações pulmonares (Malerba et al 2006).

Secreções brônquicas de doentes com DPOC e deficiência de A1AT mostram uma actividade quimiotáctica aumentada dos neutrófilos (Woolhouse et al 2002). Acredita-se que este aumento ocorre devido aos níveis de IL-8 e, em particular, ao leucotrieno B4 (LTB4) libertado por macrófagos alveolares, que se deve à actividade proteolítica não inibida nos espaços alveolares. A actividade quimiotáctica aumentada, juntamente com a deficiência da antielastase, podem contribuir para progressão rápida e precoce da doença pulmonar obstrutiva, devido ao aumento do recrutamento e libertação da elastase neutrofílica (Figura 2).

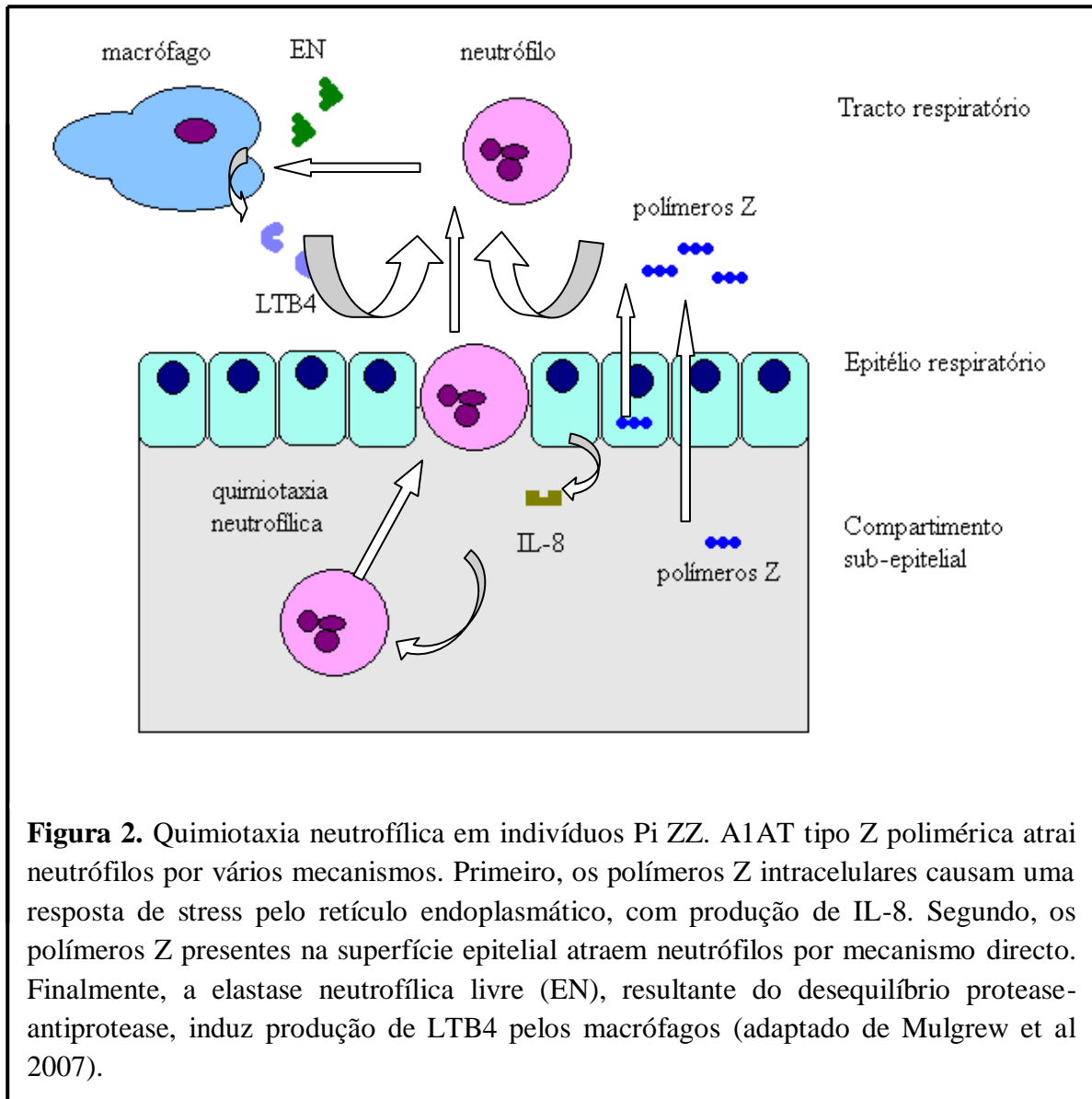


Figura 2. Quimiotaxia neutrofílica em indivíduos Pi ZZ. A1AT tipo Z polimérica atrai neutrófilos por vários mecanismos. Primeiro, os polímeros Z intracelulares causam uma resposta de stress pelo retículo endoplasmático, com produção de IL-8. Segundo, os polímeros Z presentes na superfície epitelial atraem neutrófilos por mecanismo directo. Finalmente, a elastase neutrofílica livre (EN), resultante do desequilíbrio protease-antiprotease, induz produção de LTB4 pelos macrófagos (adaptado de Mulgrew et al 2007).

No entanto, a elevada frequência dos alelos anormais Pi S e Pi Z da A1AT pode sugerir que estas mutações conferiram uma vantagem selectiva natural. Estes alelos resultam numa transição molecular e respectiva formação de polímeros que ficam retidos no retículo endoplasmático dos hepatócitos, assim como dentro dos macrófagos alveolares e pequenas vias aéreas, onde podem desencadear inflamação que está subjacente ao enfisema em indivíduos com deficiência de A1AT. Esta produção local de polímeros pode ter fornecido protecção contra doenças infecciosas na era pré-antibiótica pela amplificação da resposta inflamatória, de forma a limitar infecções invasivas respiratórias e gastrointestinais. Apenas a

partir da descoberta dos antibióticos, da disseminação do tabagismo e do aumento da longevidade, essas propriedades pró-inflamatórias protectoras da A1AT polimerizada tornaram-se determinantes desvantajosos no desenvolvimento do enfisema e de doenças inflamatórias sistémicas associadas à deficiência de A1AT (Lomas 2006).

Na sucessão das hipóteses levantadas, um estudo foi realizado para determinar os efeitos da polimerização nas moléculas de A1AT (Persson et al 2006). Apesar da molécula de A1AT tipo Z inibir a elastase neutrofílica de forma menos eficaz do que A1AT tipo M (Ogushi et al 1987), indivíduos com fenótipo Pi ZZ, saudáveis ou com manifestações de DPOC, apresentam níveis similares de A1AT tipo Z polimérica, de modo que este factor por si não é suficiente ao desencadeamento inflamatório associado a progressão da doença pulmonar.

São bem conhecidos que factores como o tabagismo, a poluição atmosférica e a infecção bacteriana amplificam os efeitos da deficiência de A1AT e levam ao desenvolvimento precoce de DPOC (Lee et al 2002). Assim, a hipótese de que a polimerização e outras modificações pós-translacionais das moléculas de A1AT favorecem interacções com outras moléculas, incluindo produtos bacterianos, de forma a estimular os processos inflamatórios, foi analisada por Persson et al (2006), utilizando moléculas de A1AT tipo M polimerizadas e não polimerizadas (ditas nativas), e A1AT tipo Z. Os resultados sugeriram que ambas são predominantemente anti-inflamatórias. Observaram-se efeitos inibitórios na quimiotaxia de neutrófilos humanos e na libertação de IL-8, *in vitro*, pelas moléculas A1AT tipo M nativas e polimerizadas e A1AT tipo Z, contaminadas com níveis baixos de endotoxinas bacterianas (lipopolissacarídeos). Um pequeno aumento da quimiotaxia foi observado com maiores doses de endotoxinas, mas uma quimiotaxia significativa ocorreu com a associação de quantidade elevadas de endotoxinas e estimulação dos neutrófilos por zimosan, uma glicoproteína fúngica. Confirmando os pressupostos normalmente conhecidos,

as formas nativa e polimérica da A1AT tipo M com contaminação baixa de endotoxinas exibiram um efeito anti-inflamatório, inibindo completamente a libertação de IL-8 neutrofílica disparada por zimosan. No entanto, moléculas de A1AT tipo M (nativas e polimerizadas) e A1AT tipo Z com contaminação alta de endotoxinas induziram fortemente a libertação de IL-8. Assim, os efeitos pró-inflamatórios das moléculas de A1AT podem ser mediados pela sinergia com activadores celulares, contaminantes bacterianos ou outros, enquanto preparações de A1AT com baixa contaminação parecem exercer uma actividade predominantemente anti-inflamatória. Este estudo confirma também que o efeito antiproteásico é abolido pela oxidação ou polimerização da molécula de A1AT.

Tem sido crescentemente visível que outros mecanismos, em adição ao efeito antielastolítico da A1AT, estão implicados no desenvolvimento de DPOC, como o stress oxidativo e a apoptose das células epiteliais alveolares (Tuder et al 2003) (Figura 3). O fumo do tabaco é o principal factor ambiental patogénico no desenvolvimento de DPOC devido a geração de radicais livres oxidantes capazes de modificações funcionais da A1AT ao converter o local activo Met³⁵⁸ em sulfoxido de metionina, o qual reduz em 2000 vezes a capacidade de interacção da A1AT com a elastase neutrofílica (ATS/ERS 2003). A inflamação das vias aéreas na bronquite crónica é reconhecida predominantemente por ser uma consequência directa do recrutamento de neutrófilos e libertação de elastase em resposta a factores como o fumo do tabaco. A redução dos níveis de IL-8 na expectoração de ex-fumadores sugere a diminuição do influxo de neutrófilos, podendo então explicar a baixa taxa de progressão da doença pulmonar mediada por neutrófilos, comparado com indivíduos que continuam a fumar (Hill et al 2000).

Um efeito fisiológico atribuído recentemente à A1AT representa o papel inibidor da apoptose das células estruturais pulmonares. Este efeito, possivelmente independente da sua actividade antielastolítica, ocorre por mecanismo ainda desconhecido, em que a A1AT pode

actuar directamente, de forma intracelular, mediando interações específicas com a caspase-3 activa na apoptose. Revela-se, portanto, como um novo mecanismo protector das serpinas contra o enfisema (Petrache et al 2006).

Em adição ao efeito antielastolítico da A1AT, o stress oxidativo e a apoptose das células epiteliais alveolares estão implicados no desenvolvimento de DPOC

Uma relação da A1AT com a resposta imunitária apresentou um aspecto dicotómico, salientando-se a elevação das concentrações das imunoglobulinas e o aumento da hipersensibilidade cutânea retardada nos deficitários de A1AT, sugerindo uma possível acção imunossupressora desta proteína, mesmo em situação fisiológica (Santos Rosa 1988).

Apesar da hipótese de um aumento compensatório dos níveis de outras antiproteases como a alfa-1-antiquimotripsina e o inibidor das proteases secretadas de leucócitos, foi demonstrado que essas antiproteases não estão aumentadas nos indivíduos com deficiência de A1AT, não compensando a deficiência plasmática da proteína (Hollander et al 2007).

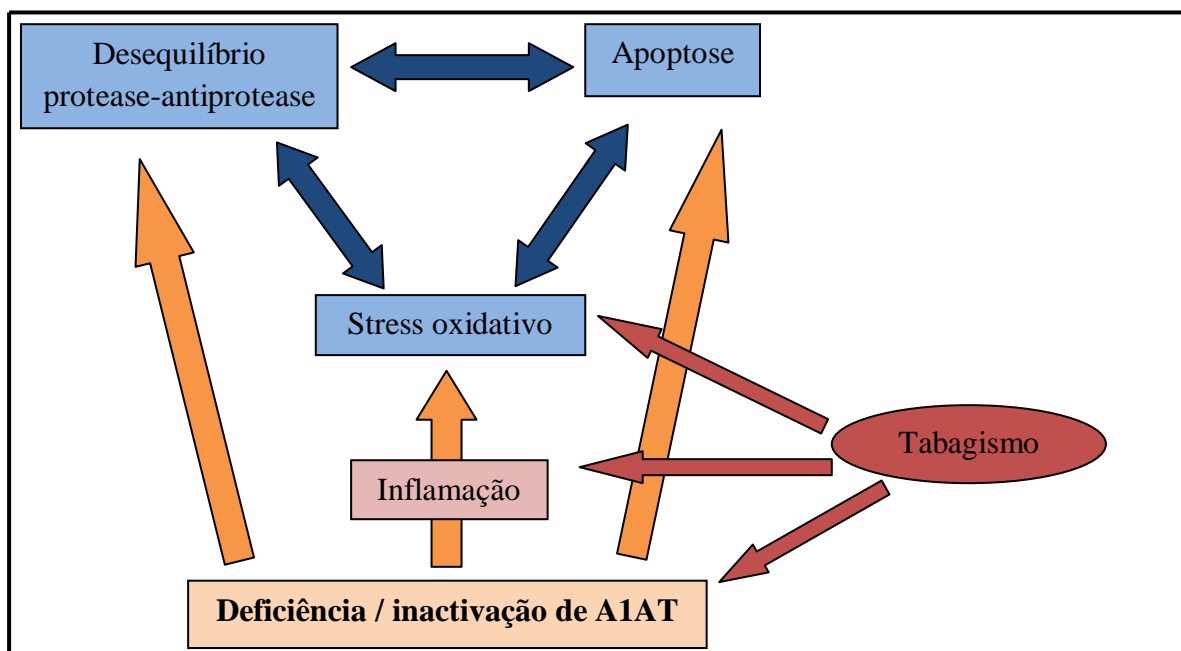


Figura 3. Fisiopatologia da deficiência de A1AT. A destruição alveolar global pode ser causada por: stress oxidativo via as propriedades pró-inflamatórias da A1AT polimerizada; perda da protecção antiproteásica; perda da actividade da caspase-3. O tabagismo interage directamente nos processos de inactivação da A1AT, inflamação e stress oxidativo (adaptado de Tuder et al 2006).

V – ASPECTOS CLÍNICOS

A deficiência de A1AT está associada ao enfisema, bronquite crónica, bronquiectasias, icterícia neonatal, cirrose hepática, vasculite e paniculite (Needham e Stockley 2004). Dentre estas manifestações, o desenvolvimento de DPOC é o mais prevalente, com atingimento de 75-85% dos doentes com deficiência grave de A1AT (Ranes e Stoller 2005), em que a maioria possui história de tabagismo. O enfisema é o padrão clínico mais frequentemente associado à deficiência de A1AT e a causa primária de morte nesses indivíduos (Petrache et al 2006). Como é realçado por crescentes estudos, indivíduos com DPOC apresentam heterogeneidade nos parâmetros clínicos, fisiológicos e radiológicos, os quais se pensa resultar de diferentes mecanismos patofisiológicos.

Enfisema é o padrão clínico mais frequentemente associado à deficiência de A1AT

V. 1. SINAIS E SINTOMAS

Ao longo da trigésima década de vida, indivíduos com diminuição de A1AT (principalmente Pi ZZ, Pi SZ e fenótipos raros) têm mais sintomas do que indivíduos repletos da proteína (Pi MM) (Bernspang et al 2007). Sintomas comuns incluem dispneia de esforço progressiva, tosse crónica e expectoração. Os sinais clínicos relacionados com o envolvimento pulmonar raramente estão presentes até que haja uma diminuição significativa da função respiratória e incluem hiperinsuflação torácica, lábios semicerrados na expiração, utilização dos músculos respiratórios acessórios, cianose, edemas periféricos, aumento do tempo expiratório, diminuição à auscultação do murmúrio vesicular e dos tons cardíacos, e sibilos. A associação entre enfisema e perda de peso é conhecida. Dessa forma, a redução da

quantidade da transtirretina plasmática e das proteínas corporais totais nos doentes com enfisema e deficiência de A1AT podem indicar malnutrição (Piitulainen et al 2002). No entanto, muitos indivíduos permanecem assintomáticos ao longo da vida.

V. 2. TESTES DA FUNÇÃO PULMONAR

A limitação do fluxo aéreo expiratório é a característica marcante da DPOC. Porém, as alterações patológicas da doença precedem as alterações funcionais, em que as medições da limitação ao fluxo aéreo podem não corresponder a gravidade da doença.

Os testes da função pulmonar devem incluir a expirometria (pré e pós-broncodilatador), a medição dos volumes pulmonares estáticos (por diluição de hélio ou pletismografia) e a medição da capacidade de difusão pulmonar do monóxido de carbono (DLCO, do inglês *diffusing capacity of the lung for carbon monoxide*).

As anormalidades expirométricas encontradas na deficiência de A1AT incluem a redução do volume expiratório máximo no primeiro segundo (VEMS ou, do inglês, *forced expiratory volume in 1 second* – FEV1) e a redução ou manutenção da capacidade vital forçada (CVF ou, do inglês, *forced vital capacity* – FVC). O padrão obstrutivo, marcado pela redução da razão VEMS/CVF para valores inferiores a 70%, é devido a perda da recolha elástica do parênquima pulmonar e aumento da complacência, com colapso das pequenas vias aéreas, induzindo hiperinsuflação e aumento do volume residual (VR) e da capacidade pulmonar total (CPT). Devido ao encarceramento de ar em certas zonas pulmonares, os volumes pulmonares medidos por diluição de hélio são menores que os medidos por pletismografia. As curvas débito/volume obtidas na manobra de expiração forçada geralmente evidenciam uma diminuição dos débitos aéreos com a diminuição dos volumes mobilizados

(Figura 4), evidenciado pela concavidade da porção expiratória da curva de débito, altura em que é manifesta a obstrução aérea na DPOC (ATS/ERS 2003).

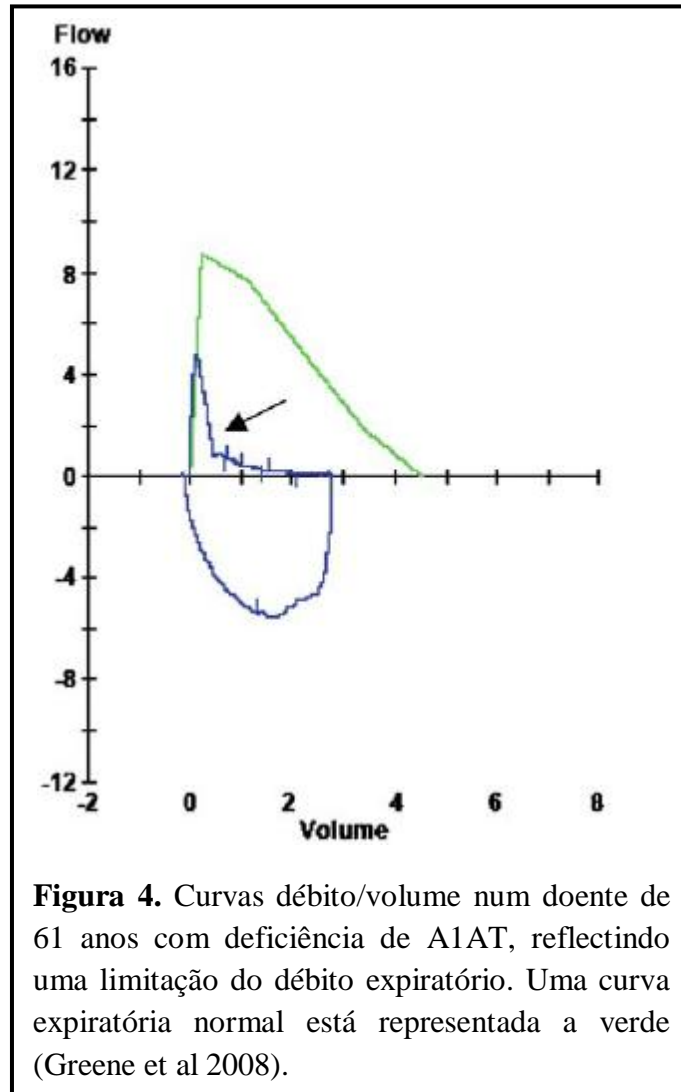


Figura 4. Curvas débito/volume num doente de 61 anos com deficiência de A1AT, reflectindo uma limitação do débito expiratório. Uma curva expiratória normal está representada a verde (Greene et al 2008).

A destruição do parênquima pulmonar impede as trocas gasosas, reflectindo uma diminuição da DLCO e um aumento do gradiente alveolar-arterial de oxigénio (O_2). A DLCO pode relacionar-se melhor com a extensão do enfisema, mas não é específica. A medição da DLCO tem sido recomendada para ajudar a distinguir enfisema de asma e bronquite crónica. Porém, de acordo com o estudo de Wilson e Galvin (2000), indivíduos com deficiência grave de A1AT apresentavam DLCO normal apesar de ter um componente significativo de obstrução das vias aéreas e enfisema panlobular proeminente na tomografia computadorizada de alta

resolução. Também demonstraram resposta significativa à administração de broncodilatadores (em que, por essa razão, alguns doentes têm diagnóstico inicial de asma). Dessa forma, a deficiência de A1AT deve ser considerada em doentes com obstrução irreversível das vias aéreas, que não é proporcional à idade, e história de tabagismo, indiferente da sua capacidade de difusão e resposta a broncodilatadores.

As repercussões na função cardiopulmonar podem ser testadas através de uma prova de esforço, em que estes indivíduos apresentam uma redução marcada da pressão arterial de O_2 e aumento do gradiente alveolar-arterial de O_2 .

Em indivíduos com fenótipo Pi ZZ e função pulmonar discordante investigou-se as diferentes distribuições do enfisema e o estado de saúde (Holme e Stockley 2007). As alterações do VEMS estão mais associadas ao enfisema predominantemente basal, enquanto anormalidades na capacidade de difusão pulmonar corrigida para ventilação alveolar estão associadas ao enfisema das zonas superiores do pulmão. Apesar disso, a alteração isolada da capacidade de difusão pulmonar tem um efeito relevante no estado de saúde do indivíduo. Uma vez que o enfisema predominantemente basal está associado a um maior grau de obstrução do fluxo aéreo mas com menor diminuição das trocas gasosas do que o de zonas superiores, o uso isolado de VEMS na classificação da DPOC pode levar a sobrestimação da gravidade em doentes com enfisema predominantemente basal, normalmente associado a deficiência de A1AT. Porém, a utilização mais frequente de densitometria por tomografia computadorizada revelou que o padrão de distribuição do enfisema na deficiência de A1AT é mais heterogéneo do que anteriormente reconhecido. Isso vem realçar o facto das actuais *guidelines* indicarem a realização de teste de rastreio apenas a sujeitos com enfisema basal, excluindo outros padrões de distribuição como se não fossem associados à deficiência de A1AT (ATS/ERS 2003; Parr et al 2004).

O fenótipo MZ está associado à redução da função pulmonar em indivíduos com DPOC clinicamente estabelecida e pode produzir agravamento marcado da obstrução das vias aéreas em indivíduos propensos a desenvolver DPOC. A DLCO pode ser um indicador mais sensível dos efeitos a longo prazo dos níveis intermédios de A1AT na função pulmonar desses indivíduos, especialmente os que fumam (Silva et al 2008). Os fenótipos SZ e ZZ estão associados à redução da função pulmonar em fumadores (Dahl et al 2001).

Doentes com expectoração crónica exibem maior degradação fisiológica e enfisema mais extenso. Isto reflecte-se pelo aumento da frequência de exacerbações, agravamento de sintomas e deterioração da condição geral do doente (Dowson et al 2002). Durante as exacerbações infecciosas ocorre uma libertação excessiva de enzimas proteolíticas que aceleram a destruição do parênquima pulmonar. Dessa forma, a frequência de exacerbações parece estar associada à progressão do enfisema e ao declínio da função pulmonar.

Curiosamente, um estudo revelou que mulheres com fenótipo Pi MZ tiveram valores significativamente maiores da função pulmonar com o aumento do número de filhos, o mesmo não encontrado em mulheres Pi MM, sugerindo que a gravidez ou a indução desse estado aumenta os níveis do inibidor proteásico (Horne et al 1992).

V. 3. RADIOLOGIA

A radiografia torácica realizada em indivíduos com DPOC inicial é frequentemente normal. Na doença avançada aparecem os sinais de hiperinsuflação e hipertransparência pulmonar, principalmente localizada aos lobos inferiores (Figura 5). A abertura dos ângulos costo-frénicos, horizontalização dos arcos costais posteriores e alongamento e estreitamento do mediastino são alguns desses sinais. Na incidência lateral é possível visualizar um aumento do diâmetro antero-posterior e do espaço retroesternal. Porém, o abaixamento das

hemicúpulas diafragmáticas, com planificação das mesmas, pode ser considerado o sinal mais específico da deficiência de A1AT na radiografia torácica (ATS/ERS 2003).

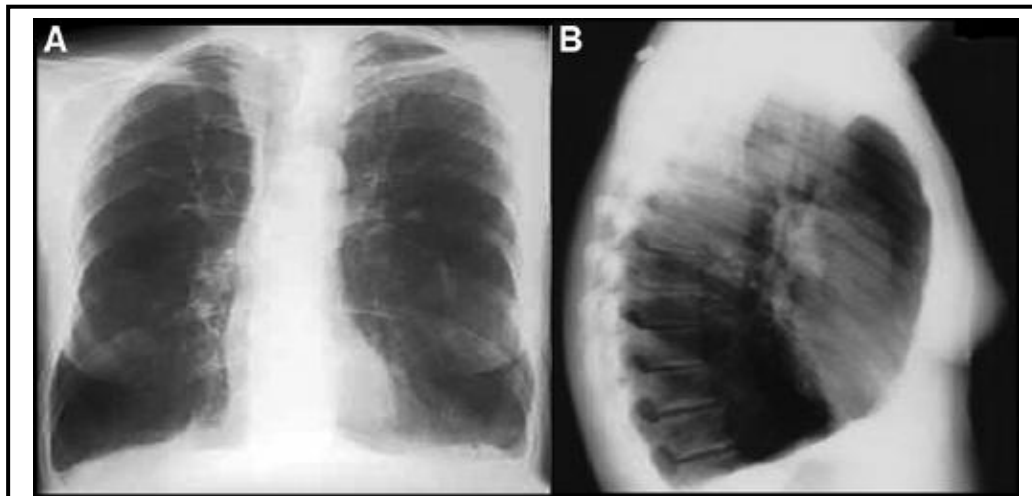
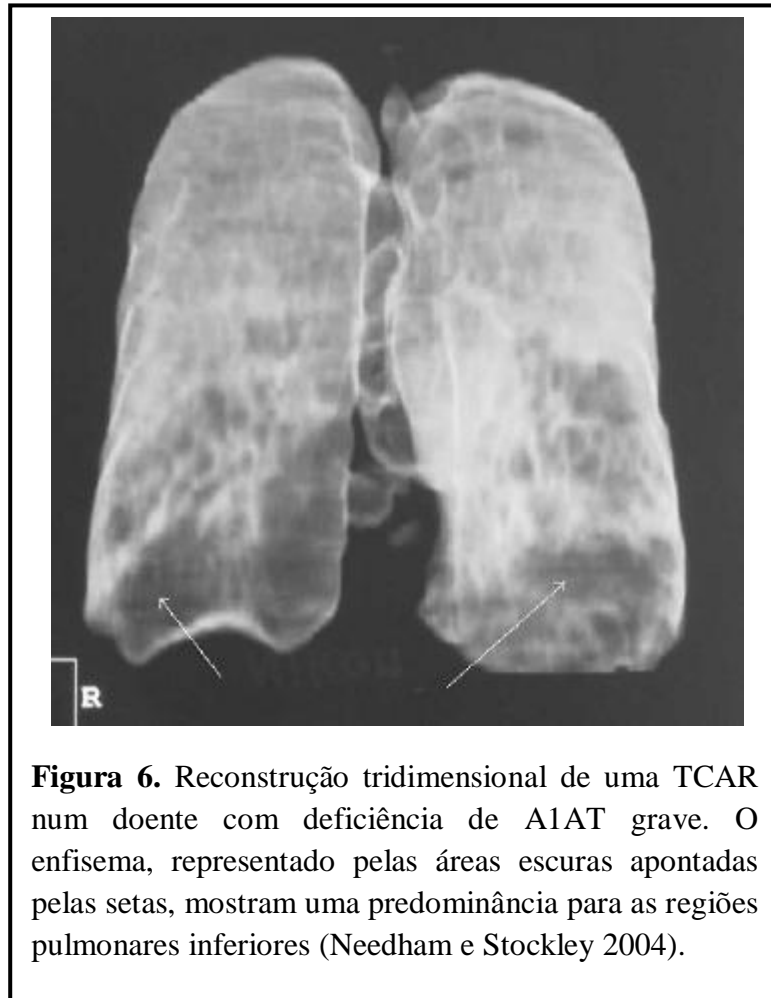


Figura 5. Radiografias torácicas numa doente de 48 anos com deficiência de A1AT grave. (A) Incidência antero-posterior mostrando rarefacção do parênquima e vascularização pulmonar e planificação das hemicúpulas diafragmáticas. (B) Incidência lateral com aumento do diâmetro antero-posterior, do espaço retroesternal e do ângulo diafragmático anterior (Köhnlein e Welte 2008).

Contudo, a tomografia computadorizada (TC) é actualmente mais sensível do que a radiografia ou os testes de função pulmonar na avaliação do enfisema. A tomografia computadorizada de alta resolução (TCAR) é mais sensível na detecção de alterações morfológicas como bolhas ou broquiectasias. Num estudo prospectivo em que se comparou a quantificação do enfisema pulmonar por densitometria na TC 3D (Figura 6), com a análise bidimensional e com testes funcionais pulmonares, foram avaliados um total de 10 doentes portadores de deficiência em A1AT, suspeitos de sofrerem de enfisema pulmonar. As provas funcionais pulmonares de todos os pacientes apresentaram um padrão obstrutivo com insuflação, enquanto a análise bidimensional e a técnica tridimensional mostraram enfisema, respectivamente em 1 e 8 dos 10 doentes. (Agostinho et al 2001).

A TCAR é actualmente mais sensível do que a radiografia ou os testes de função pulmonar na avaliação do enfisema



Na TCAR, o enfisema é caracterizado pela presença de áreas com decréscimo da atenuação em relação ao parênquima normal envolvente, de acordo valores de densidade (pixels) em unidades Hounsfield (UH) (Figura 7). Valores pixel de imagens de TC representam a densidade tecidual, tornando possível calcular parâmetros densitométricos a partir de histogramas de frequência de pixels realizados nas imagens obtidas dos pulmões. Estes parâmetros permitem quantificar a extensão do enfisema, e vários métodos de cálculo são utilizados. O método de percentil quantifica o enfisema através do ponto de corte que define um dado percentil do histograma. Por exemplo, o percentil 15 (P_{15}) é o valor de densidade (UH) no qual 15% de todos os pixels têm baixa densidade e, como uma verdadeira medida da densidade, este valor decresce com o agravamento do enfisema. Um estudo mostrou a progressão da densitometria e declínio do VEMS em indivíduos com deficiência

grave de A1AT, de acordo com os critérios empregues nas *guidelines* para o estadiamento de DPOC de acordo com o VEMS. O percentil 15 é a medida mais consistente da perda de densidade pulmonar em relação ao índice pixel -950 UH, que varia em associação com o estágio da doença. No entanto, ambos os métodos são válidos para o uso em estudos longitudinais e de intervenção nos quais o enfisema seja o alvo principal de avaliação (Parr et al 2006). O enfisema está frequentemente localizado em subregiões do pulmão e densitometrias dirigidas podem ser mais informativas do que o acesso a todo o pulmão, sendo que a densitometria dirigida da região média pulmonar usando P₁₅ parece ser a medida mais eficaz na avaliação da progressão do enfisema (Parr et al 2008). Baseado em estudos realizados por tomografia computadorizada quantitativa e morfometria, o enfisema é significativamente mais grave em doentes com deficiência de A1AT. Apresenta-se do subtipo panlobular, caracterizado pela destruição uniforme do lóbulo pulmonar, sendo predominantemente basal (Shaker et al 2005). No entanto, o enfisema encontrado com maior frequência é do subtipo centrilobular, com envolvimento dos bronquíolos na porção central do lóbulo, e está associado fortemente ao tabagismo.

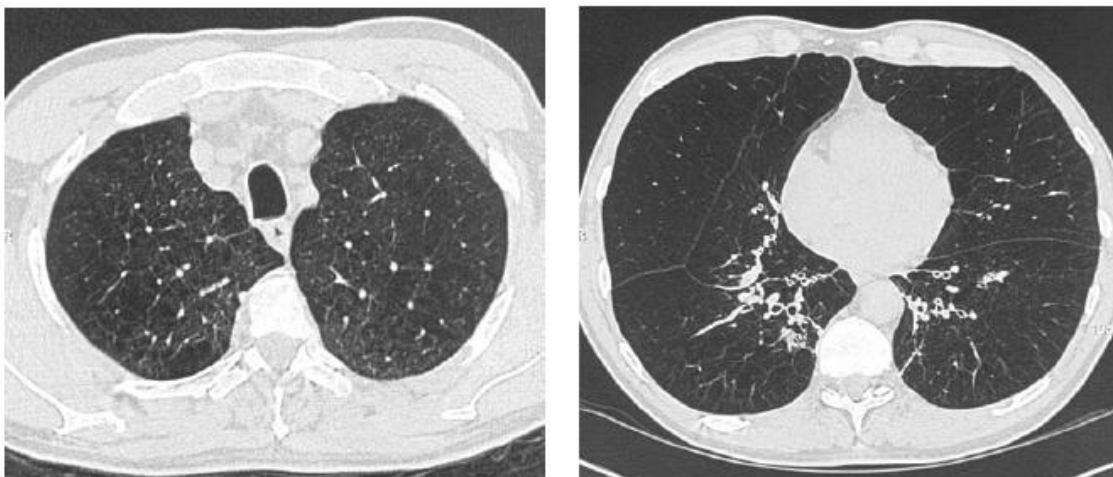


Figura 7. TCAR torácica num homem de 55 anos com deficiência de A1AT. A destruição enfisematosa tem maior representação em ambos os lobos inferiores do que nos lobos superiores. De notar as marcadas alterações inflamatórias brônquicas e peribrônquicas (Russi 2008).

Existem estudos discordantes em relação ao envolvimento da deficiência de A1AT no desenvolvimento de bronquiectasias. Uns mostram que indivíduos com fenótipo Pi ZZ estão susceptíveis a bronquiectasias e a utilização alargada de TC pode revelar a verdadeira incidência dessa patologia, não tão baixa como se pensa (Shin e Ho 1993). Bronquiectasias podem ser mais comuns em indivíduos com a deficiência, e o seu diagnóstico deve ser considerado em doentes com enfisema e bronquiectasia quística difusa (King et al 1996). Outros mostram que não há suporte de evidência na implicação fisiopatológica dos genes de A1AT no desenvolvimento de bronquiectasias, sugerindo que as bronquiectasias podem ser uma consequência do enfisema em doentes Pi ZZ, mais do que um efeito primário (Cuvelier et al 2000).

V. 4. OUTROS PARÂMETROS DE PROGRESSÃO

A desmosina e isodesmosina são aminoácidos derivados da elastina, que podem ser encontrados na urina, plasma e expectoração (Ma et al 2007), cujos níveis são representativos da degradação de elastina. Um estudo determinou que a excreção de desmosina urinária está aumentada em doentes com deficiência de A1AT e patologias caracterizadas por inflamação das vias aéreas, como exacerbações da DPOC, bronquiectasias e fibrose quística. A quantificação de desmosina e isodesmosina na expectoração, juntamente com o aumento de desmosina e isodesmosina no plasma e elevação do componente livre de desmosina e isodesmosina na urina, permitem caracterizar doentes com DPOC e pode ser utilizada na monitorização do curso da doença e como uma ferramenta de avaliação à possível eficácia da terapia de reposição (Viglio et al 2000).

Quantificações de monóxido de azoto (NO) e monóxido de carbono (CO) exalados têm sido propostas como marcadores não-invasivos adicionais da inflamação das vias aéreas

para avaliar a deficiência de A1AT em indivíduos com doença pulmonar grave de início precoce. Indivíduos com deficiência de A1AT apresentam níveis de NO e CO menores do que os indivíduos controle ou indivíduos com DPOC sem a deficiência. Indivíduos com deficiência de A1AT apresentam menor nível de CO₂ e maior nível de O₂ exalados (Machado et al 2002).

V. 5. DIAGNÓSTICO

A identificação precoce de deficiência de A1AT permite a tomada de medidas preventivas, sendo que as mais importantes são evitar o tabagismo (activo e passivo) e a exposição a poluentes ambientais, factores determinantes do prognóstico dos afectados pela deficiência. Permite também monitorizar a função pulmonar e avaliar a decisão terapêutica a administrar enquanto o doente ainda apresenta uma função pulmonar preservada. Há discussões entre as vantagens e desvantagens do teste de rastreio da deficiência de A1AT em indivíduos assintomáticos, familiares e população geral. Entre as desvantagens estão os custos do teste e as suposições de que a descoberta da anormalidade hereditária, sem cura actualmente, num indivíduo assintomático, pode desencadear problemas psicológicos, sociais e éticos. Pesando ambas as partes, para a maioria dos indivíduos, as desvantagens são contrapostas pelos benefícios proporcionados pelo teste, devendo ser rotineiramente utilizado (Hogarth e Rachelefsky 2008). Um estudo revelou que os pais e responsáveis de menores sugerem que os benefícios do teste genético para as crianças em risco de deficiência de A1AT são maiores que os riscos, sendo exequível a sua realização de forma confidencial e sob consentimento informado (Strange et al 2006).

Não houve melhoria significativa no diagnóstico precoce entre 1968 e 2003. Porém, tem havido um aumento na detecção da deficiência de A1AT em indivíduos idosos (Campos

et al 2005). O estudo de Stoller et al (2005) com uma coorte de 1953 indivíduos com deficiência de A1AT em 2003 mostrou que indivíduos mais jovens e indivíduos do sexo masculino têm um atraso diagnóstico menor do que o encontrado em idosos ou do sexo feminino. Em média, o intervalo diagnóstico foi de 5,6 anos, comparado com o intervalo médio de 7,2 anos numa coorte estudada em 1994. No entanto, o longo atraso diagnóstico se mantém e esforços devem ser direccionados para aumentar a detecção precoce da deficiência por profissionais de saúde e doentes.

Certas características clínicas, assim como o achado de uma banda reduzida ou ausente na eletroforese das proteínas plasmáticas realizada por rotina, devem levantar suspeitas de que o indivíduo pode apresentar deficiência de A1AT (ATS/ERS 2003), devendo ser confirmado pela requisição do teste diagnóstico quantitativo e qualitativo. O teste diagnóstico deve ser realizado em: adultos sintomáticos com DPOC ou asma com obstrução do fluxo aéreo incompletamente reversível após administração de broncodilatador; indivíduos com doença hepática inexplicada incluindo recém nascidos, crianças e adultos; indivíduos assintomáticos com padrão obstrutivo persistente nos testes de função pulmonar com factores de risco identificáveis (tabagismo, exposição ocupacional); adultos com paniculite necrotizante; história familiar de indivíduos com deficiência de A1AT, DPOC ou doença hepática possivelmente atribuível à deficiência; companheiros de indivíduos homocigóticos e heterocigóticos para deficiência de A1AT. O teste pode ser sugerido em: adultos com bronquiectasias sem etiologia evidente; adolescentes com padrão obstrutivo persistente; indivíduos assintomáticos com padrão obstrutivo persistente e sem factores de risco; adultos com vasculite c-ANCA positiva. O teste diagnóstico pré-natal não é recomendado actualmente.

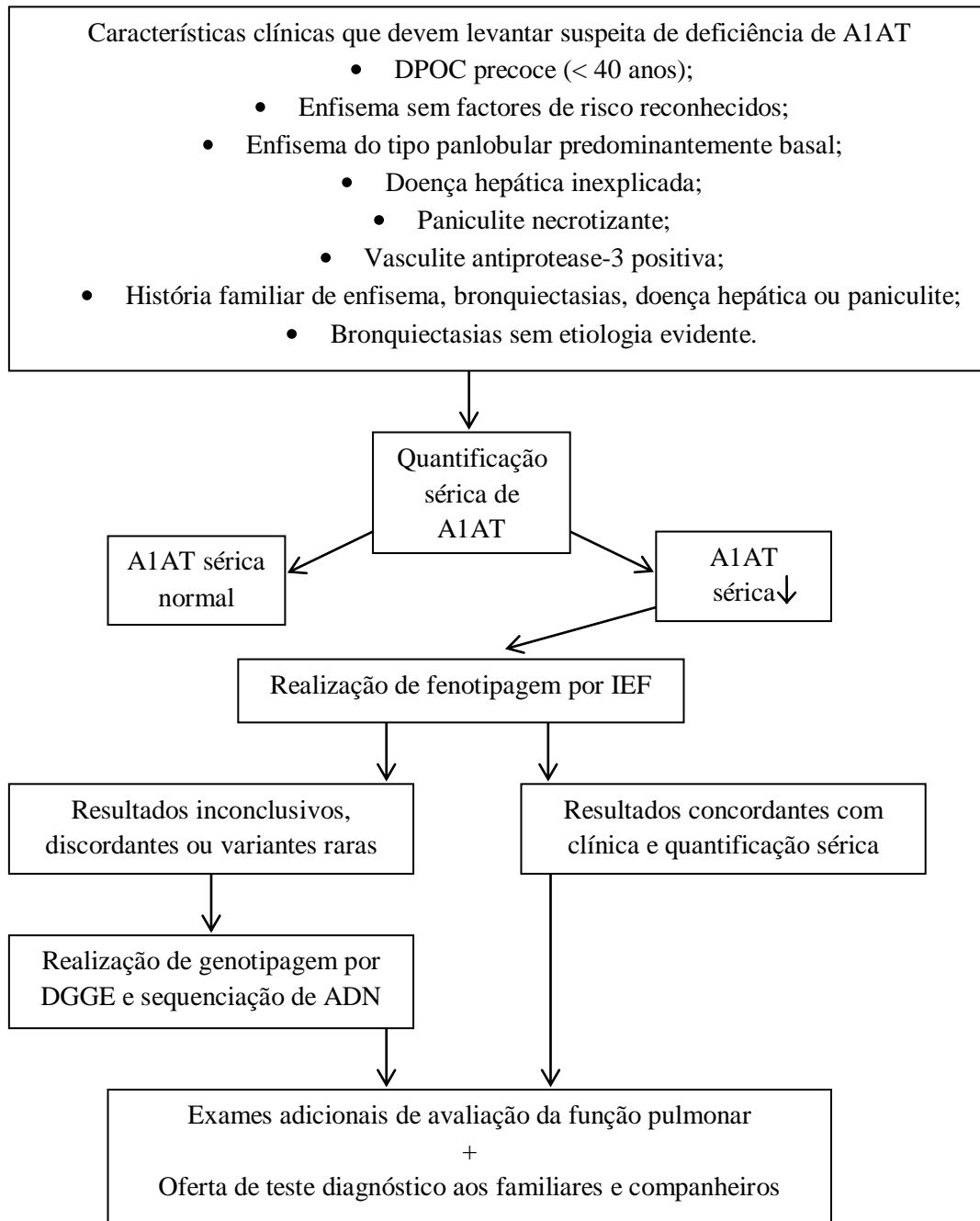
Indivíduos suspeitos de apresentar a deficiência devem ser avaliados de forma quantitativa e, só depois, qualitativa para a A1AT

O rastreio de grande escala não é recomendado devido a inexistência de um consenso em relação aos custos-benefícios do programa. Contudo, pode ser realizado em países onde as prevalências de tabagismo e de deficiência de A1AT são altas, e haja um serviço de acompanhamento adequado dos indivíduos identificados, principalmente no aconselhamento da cessação tabágica.

Um programa realizado para detectar a deficiência de A1AT em doentes com DPOC utilizando gotas de sangue seco demonstra uma tecnologia exequível de custo-eficácia óptima para pequenas amostras de ADN. O campo diagnóstico e os custos dependem largamente dos critérios de inclusão e do protocolo para processamento de amostras, sendo apropriado para o rastreio de larga escala (Rodriguez 2002; de la Roza et al 2005).

A estratégia diagnóstica de deficiência de A1AT (Algoritmo 1) (ATS/ERS 2003) deve começar com a quantificação da concentração plasmática de A1AT, levando em consideração que se trata de uma proteína de fase aguda, e que estados inflamatórios podem fazer oscilar o seu valor basal. O nível sérico protector estipulado é de 11 $\mu\text{mol/l}$, correspondente a 80 mg/dl se medido por imunodifusão radial, e a 50 mg/dl se medido por nefelometria. Indivíduos com concentração sérica de A1AT abaixo do valor protector ou entre 12 a 35 $\mu\text{mol/l}$ (ou 90-140 mg/dl), considerados valores *borderline*, devem realizar um teste qualitativo que inclui a fenotipagem e/ou a genotipagem. A fenotipagem deve ser realizada para a detecção das variantes mais comuns de A1AT, por focalização isoeléctrica (IEF, do inglês *isoelectric focusing*). Este método utiliza a imunoeletroforese para separar as amostras de A1AT de acordo com a sua migração em gel de poliacrilamida. Nos casos em que os resultados IEF são inconclusivos, discordantes com a clínica ou há suspeitas da existência de variantes raras ou nulas, deve-se realizar a genotipagem. Esta pode ser realizada através da eletroforese em gel de gradiente desnaturizante (*denaturing gradient gel electrophoresis* - DGGE) combinada com sequenciação do ADN (Ljujic et al 2008).

Algoritmo 1. Estratégia diagnóstica da deficiência de A1AT



VI – TERAPÊUTICA

O tratamento de doentes sintomáticos com deficiência de A1AT e DPOC deve incluir muitas das medidas adoptadas no tratamento da DPOC habitual em indivíduos repletos de A1AT, de acordo com a gravidade da doença e frequência de exacerbações. Estas incluem a utilização de broncodilatadores inalados, vacinação preventiva contra influenza e pneumococo, oxigenoterapia suplementar quando indicada pelos critérios convencionais (mesmo durante viagens aéreas), reabilitação pulmonar e consideração de transplante pulmonar para doentes seleccionados com obstrução do fluxo aéreo e impedimento funcional grave. Durante as exacerbações agudas, o tratamento pode incluir a administração durante um curto período de tempo de corticosteróides sistémicos, suporte ventilatório quando indicado e terapia antibiótica precoce para todas as exacerbações purulentas. A única medida comprovadamente eficaz na redução do declínio do VEMS é a evicção tabágica, que deve ser sempre a primeira atitude terapêutica, pois este é um importante factor prognóstico na evolução da doença.

A evicção tabágica deve ser sempre a primeira atitude terapêutica

Reconhecendo que as evidências da eficácia bioquímica da terapia de reposição intravenosa elevam as concentrações séricas e pulmonares de A1AT, uma preparação de A1AT purificada do plasma humano (Prolastina[®]) foi aprovada pela FDA (*Food and Drug Administration*) em 1989 (American Thoracic Society 1989), com doses de 60 mg/kg administradas semanalmente. Apesar das evidências surgirem de estudos observacionais concordantes mas devido à ausência de ensaios clínicos controlados com o placebo e com um número de doentes suficiente para permitir conclusões estatisticamente significativas, seu benefício continua sem comprovação. No entanto, a terapia de reposição intravenosa é

recomendada para indivíduos com obstrução do fluxo aéreo estabelecido devido a deficiência de A1AT, portadores de fenótipos Pi QOQO, Pi ZZ, Pi ZQO (ATS/ERS 2003). A sua administração está contra-indicada em doentes com défices selectivos de IgA e com anticorpos anti-IgA devido a reacções graves, nomeadamente anafilaxia. A ATS/ERS não recomenda a obrigatoriedade da vacinação contra a hepatite B nos doentes que vão efectuar esta terapêutica e que não sofrem de doença hepática.

Há cada vez maior evidência de que A1AT é capaz de exercer efeitos além da inibição de proteases. Um estudo demonstrou que a Prolastina[®] possui efeitos antibacterianos ao inibir respostas pró-inflamatórias induzidas por endotoxinas bacterianas *in vitro* e *in vivo*, providenciando bases científicas para explorar novas terapias baseadas na Prolastina[®] para indivíduos deficientes de A1AT mas também para outras condições clínicas (Nita et al 2005). A terapia de reposição com A1AT restaura a concentração de A1AT ao normal, estando associada a uma redução na concentração de leucotrieno B4, um dos mais importantes mediadores do recrutamento e activação dos neutrófilos, sendo de acção central na inflamação das vias aéreas (Stockley et al 2002).

Indivíduos com deficiência grave de A1AT beneficiam da terapia de reposição intravenosa a longo prazo

Doentes com deficiência grave de A1AT beneficiam da terapia de reposição intravenosa a longo prazo, sendo segura e adequada (Wencker et al 1998), reduzindo a frequência e gravidade das infecções pulmonares, assim como desacelerando a deterioração da função pulmonar através da diminuição da taxa de declínio do VEMS e reduzindo a mortalidade (Lieberman 2000). Indivíduos com padrão obstrutivo moderado (VEMS 35-60% do previsto) normalmente obtêm mais vantagens do que aqueles com obstrução aérea grave. A terapia de reposição não é actualmente recomendada para indivíduos sem enfisema, e os

benefícios para os indivíduos com patologia grave (VEMS $\leq 35\%$ do previsto) ou ligeira (VEMS $\geq 50-60\%$ do previsto) são menos claros (ATS/ERS 2003). Contudo, para qualquer estadiamento da DPOC em doentes com deficiência de A1AT, o declínio do VEMS é significativamente menor durante o período de tratamento com reposição intravenosa. O estudo de (Wencker et al 2001) revelou que nos doentes com VEMS maior que 65% do previsto, a terapia de reposição desacelerou o declínio do VEMS de forma mais evidente, em cerca de 73,6 ml/ano, sendo estes os que beneficiam mais da terapia. Doentes com um declínio rápido do VEMS antes da terapia de reposição ser iniciada obtêm a maior redução da taxa de declínio. A detecção precoce de doentes em risco e início imediato da terapia de reposição podem prevenir a perda acelerada do tecido pulmonar.

De acordo com Stoller et al (2003), a terapia de reposição é bem tolerada e consistente com as *guidelines* da American Thoracic Society (ATS). Os profissionais de saúde geralmente não prescrevem terapia de reposição para indivíduos com VEMS maior que 80% do previsto. No entanto, uma grande percentagem de indivíduos com VEMS menor que 80% do previsto não recebendo terapia de reposição, em comparação com o uso frequente de doses a intervalos de 2 a 3 semana ou mensalmente, reflecte uma larga variação da prática clínica em relação ao sugerido pelas *guidelines* de tratamento.

A administração a longo termo das doses semanais não é bem tolerada pelos doentes. Através de simulações farmacocinéticas, foi possível que um estudo avaliasse a concentração constante total de A1AT mantida acima do limiar de 0,5 g/l com intervalos maiores entre as doses, concluindo que é possível estender o intervalo para 14 ou 21 dias (Soy et al 2006).

As despesas anuais nos cuidados de saúde para indivíduos com deficiência de A1AT são muito altas, recebendo ou não terapia de reposição. Esta terapia adiciona custos substanciais, especialmente para os doentes que recebem infusões semanais (Mullins et al 2001). Comparado a outras intervenções de saúde convencionais, a terapia de reposição é a

que possui uma relação de custo-eficácia mais desfavorável, devendo ser encorajado o desenvolvimento de novas terapias (Gildea et al 2003).

Uma vez que apenas 2 a 3% da administração intravenosa da terapia de reposição alcança o tecido pulmonar, a terapia de reposição por via inalatória foi estudada como via alternativa nos doentes com deficiência de A1AT. O estudo de Kropp et al (2001) demonstrou que quantidades suficientes de A1AT podem ser depositadas em zonas pulmonares periféricas por inalação, pelo menos em doentes com doença de baixo grau de gravidade. Dados de um estudo recente mostram que a administração de terapia de reposição de A1AT por aerossol reduz a quantidade de catepsina B e metaloprotease 2, cujas produções são induzidas pela actividade aumentada da elastase neutrofilica nesses indivíduos. A terapia de reposição também aumentou os níveis de inibidor das proteases secretadas de leucócitos e de lactoferrina, determinados no lavado broncoalveolar (Geraghty et al 2008). Dessa forma, a terapia de reposição inalatória poderá ser mais benéfica no tecido pulmonar bem ventilado em comparação aos tecidos mal ventilados e áreas altamente inflamadas, como podem ser encontradas na fibrose quística, ao invés da terapia intravenosa (Stolk et al 1995). A administração do aerossol de A1AT, uma a duas vezes por dia, pode sustentar um nível protector de actividade antielastolítica pulmonar.

A inalação de corticosteróides (por ex. budesonida) no tratamento do enfisema devido a deficiência de A1AT pode trazer melhorias clínicas, do VEMS e da CVF (Wilcke e Dirksen 1997). Danazol, uma substância antigonadotropina, assim como aumenta os níveis sérico do inibidor C1 no angioedema hereditário (doença por deficiência de antiprotease), também aumenta níveis séricos de A1AT em indivíduos Pi ZZ e heterozigotos com deficiência grave

de A1AT. Porém a relevância clínica deste achado permanece especulativa (Gadek et al 1980).

A deficiência de A1AT preenche vários dos critérios aplicáveis à terapia génica: deficiência de uma proteína derivada de uma alteração monogénica identificada e caracterizada; a biossíntese celular da proteína não requer qualquer processo especializado; a produção de A1AT pode ser realizada por vários tipos celulares; sua libertação na corrente sanguínea pode advir de diferentes locais e atingir o tecido pulmonar. Embora a terapia de reposição esteja aprovada, são necessárias infusões semanais a mensais para manter um nível sérico adequado. Adicionalmente, a preparação usada para infusão intravenosa é derivada de plasma humano, podendo expor o indivíduo a outros riscos inerentes a transmissão de doenças infecciosas (Brigham 1997).

Apesar da terapia génica direccionada ao fígado ter sido alcançada com sucesso, a concentração sérica de A1AT obtida pelas várias estratégias ficou aquém do necessário para suportar as exigências fisiológicas. Isto fez com que vários investigadores desenvolvessem novas estratégias dirigidas ao tracto respiratório inferior, com o factor adicional de que o nível de A1AT no fluido de revestimento epitelial necessário para manter uma actividade antielastolítica efectiva é inferior ao nível sérico. Culturas de células epiteliais respiratórias, infectadas com um vector adenovírus contendo ADN complementar (ADNc) de A1AT, secretam a proteína pelas suas superfícies apical e basolateral, sugerindo a promoção de actividade antielastolítica no fluido de revestimento epitelial e no interstício (Siegfried et al 1995). A expressão local de A1AT pode prevenir a elastólise dentro do microambiente entre as células epiteliais e os neutrófilos, dificilmente penetrado pela administração exógena da proteína (Campbell e Campbell 1988). Um estudo realizado em camundongos nos quais foram administrados intratraquealmente macrófagos infectados com A1AT humana (A1ATh)

recombinante (rAAV – *recombinant adenoassociated virus*) mostrou que os níveis de A1AT_h no lavado broncoalveolar eram superiores aos níveis dessa proteína, anteriormente indetectáveis, revelando assim a eficácia dessa técnica em aumentar a protecção alveolar na deficiência de A1AT (Zhang et al 2003). Utilizando o complexo plasmídeo-lipossoma (PLC – plasmid-liposome complex), obteve-se a entrega bem sucedida de ADNc de A1AT no tecido pulmonar de coelhos brancos da Nova Zelândia (Canonic et al 1994). Através da administração intravenosa de PLC, a proteína foi detectada no endotélio vascular pulmonar e epitélio respiratório, enquanto pela via inalatória de administração de PLC, A1AT não foi detectada no endotélio. A administração de PLC em períodos de 4 semanas não mostrou evidências de toxicidade, dando lugar ao início de ensaios da terapia génica humana. Estes resultados vêm confirmar que a expressão transgénica de A1AT pode atribuir vantagens adicionais e uma protecção excedida à proporcionada pela terapia de reposição.

A cirurgia de redução de volume pulmonar, com a ressecção possível de lobos inferiores, em doentes com enfisema avançado devido a deficiência de A1AT, resulta numa melhoria significativa da dispneia e função pulmonar durante cerca de 3,5 anos. A melhoria da capacidade pulmonar total e do volume residual persistem durante um longo tempo após a cirurgia. Doentes com VEMS pré-operatório maior, doença heterogénea, com ou sem doença inflamatória das pequenas vias aéreas, têm benefício na sobrevida pós-cirurgia. A maioria dos doentes com enfisema associado ao tabagismo tem distribuição homogénea e predominância dos lobos inferiores, embora não tão evidente como na deficiência de A1AT. A identificação de enfisema do lobo superior é mandatória antes da cirurgia de redução de volume pulmonar. Um método objectivo e quantitativo para a determinação da distribuição de enfisema deve ser aplicado quando se seleccionam candidatos a este tipo de intervenção (Stavngaard et al 2006).

Contudo, esta medida terapêutica deve ser recomendada com precaução. Ocorre uma deterioração precoce da função pulmonar devido ao aumento da recolha elástica pulmonar (Gelb et al 1999), reflectida na baixa magnitude e duração da subida do VEMS após a cirurgia em doentes com deficiência de A1AT *versus* indivíduos repletos de A1AT, e alta taxa de mortalidade de indivíduos submetidos à cirurgia *versus* tratamento médico (Stoller et al 2007). Como a magnitude e duração desses efeitos são inferiores e mais curtos aos obtidos em doentes com enfisema puro do fumador (Cassina et al 1998; Tutic et al 2004), este tipo de cirurgia oferece apenas benefícios a curto prazo para a maioria dos doentes, sendo utilizada na maior parte dos casos como procedimento de ligação ao transplante pulmonar. A sobrevida a longo prazo favorável deve justificar a cirurgia de redução de volume pulmonar para o tratamento de doentes seleccionados com enfisema grave (Fujimoto et al 2002).

O transplante pulmonar é uma opção viável e a intervenção terapêutica mais eficaz para doentes seleccionados em estágio terminal de enfisema causado por deficiência de A1AT. Os resultados funcionais são excelentes, quer por transplante unilateral ou bilateral, e a sobrevida média de boa duração. Porém, a rejeição crónica do enxerto ou a síndrome de bronquiólite obliterante aparecem como os principais problemas decorrentes deste procedimento (Trulock 1996).

As evidências insuficientes considerando os benefícios da terapia de reposição em doentes que foram submetidos ao transplante pulmonar excluem a sua recomendação. Contudo, tem sido observado que a inflamação decorrente de complicações como a rejeição aguda ou infecção, resulta em actividade livre da elastase no fluido de revestimento epitelial em indivíduos submetidos ao transplante pulmonar. Neste contexto, é recomendada a terapia de reposição para receptores de transplante pulmonar durante estes episódios.

VII – PROGNÓSTICO

A análise de um banco de registos dinamarqueses, de indivíduos com deficiência de A1AT e tratamento conservador num intervalo de 2 anos, mostrou que a mortalidade de doentes com enfisema devido a deficiência de A1AT aumenta exponencialmente com a diminuição do VEMS abaixo de 35% do previsto. Nesta altura, a mortalidade aos 2 anos aumenta, atingindo 50% nos indivíduos com VEMS de 15% do previsto. Apenas alguns doentes que realizassem transplante pulmonar teriam tido um melhor prognóstico. O VEMS é, dessa forma, o factor mais importante na avaliação do prognóstico destes doentes (Seersholm et al 1994).

É observável que doentes em estágios avançados de DPOC, particularmente enfisema, perdem peso e têm maior taxa de mortalidade mesmo após controlo da função pulmonar. Num estudo realizado por Seersholm (1997) comparando a taxa de mortalidade em doentes PiZZ em função do índice de massa corporal (IMC), com controle para VEMS, sexo e hábitos tabágicos, revelou que o baixo peso (IMC inferior a 20 kg/m²) é um preditor independente da mortalidade, porém a razão permanece desconhecida.

A tomografia computadorizada de alta resolução é um indicador sensível da progressão da DPOC, principalmente em doentes com enfisema panlobular das zonas inferiores. Nestes casos, a TCAR tem melhor potencial preditivo em relação aos parâmetros de função pulmonar, nomeadamente do VEMS (Dawkins et al 2003). Juntamente com os questionários de saúde, pode ser considerada como uma ferramenta alternativa de medição da deterioração pulmonar e de acompanhamento da progressão da DPOC (Dowson et al 2001). As variações da densidade pulmonar, expressas no P₁₅ ou na área relativa inferior a densidade de -950 UH, estão associadas às alterações das pontuações dos questionários de saúde, alterações essas não correlacionadas com variações do VEMS ou da DLCO (Stolk et al 2003).

Embora a tomografia computadorizada de alta resolução e a função pulmonar indiquem o estado de saúde destes indivíduos, a capacidade de exercício pode ser considerada um dos melhores preditores da incapacidade dos doentes com enfisema predominantemente de zonas inferiores (Dowson et al 2001).

A TCAR e o VEMS são os parâmetros mais importantes na avaliação prognóstica destes doentes

VIII – CONCLUSÕES

A deficiência de alfa-1-antitripsina surge-nos como uma alteração genética hereditária com grande prevalência na população portuguesa.

A A1AT é uma proteína anti-inflamatória de fase aguda, responsável por 95% da protecção antiproteásica do sistema respiratório. Os fenótipos que conferem um sério aumento do risco de desenvolvimento de doença pulmonar são aqueles em que há combinação de alelos deficientes (Pi Z) ou nulos, de forma homozigótica ou heterozigótica.

O principal factor de risco em indivíduos deficientes de A1AT é o tabagismo.

A molécula de A1AT representa a principal antielastase na defesa alveolar, e o desequilíbrio protease-antiprotease proporcionado pela ausência de A1AT funcional resulta num ambiente favorável à destruição da matriz extracelular do parênquima pulmonar. Em adição ao efeito antielastolítico da A1AT, estão implicados no desenvolvimento de DPOC outros factores, como o stress oxidativo, agravado pelo tabagismo, e a apoptose das células epiteliais alveolares.

O desenvolvimento de DPOC é o mais prevalente das possíveis manifestações da deficiência grave de A1AT, em que a maioria dos indivíduos possui história de tabagismo. O enfisema é o padrão clínico mais frequentemente associado à deficiência de A1AT e a causa primária de morte nesses indivíduos. Sintomas comuns incluem dispneia de esforço progressiva, tosse crónica e expectoração. Os sinais clínicos relacionados com o envolvimento pulmonar raramente estão presentes até que haja uma diminuição significativa da função respiratória. Muitos portadores da deficiência permanecem assintomáticos ao longo da vida. A limitação do fluxo aéreo expiratório, com padrão obstrutivo, é a característica marcante da DPOC. A diminuição da DLCO e um aumento do gradiente alveolar-arterial de oxigénio também podem ser encontrados.

A radiografia torácica realizada em indivíduos com DPOC inicial é frequentemente normal. Na doença avançada aparecem sinais de hiperinsuflação e hipertransparência pulmonar, principalmente localizada aos lobos inferiores. Contudo, a TCAR é actualmente mais sensível do que a radiografia ou os testes de função pulmonar na avaliação do enfisema. Outros parâmetros utilizados na monitorização desses indivíduos incluem o doseamento de desmosina e isodesmosina, cujos níveis são representativos da degradação de elastina.

Indivíduos que levantem suspeitas de apresentar a deficiência devem ser avaliados de forma quantitativa e qualitativa para a A1AT. A sua associação indiscutível às doenças pulmonares obstrutivas crónicas torna-a num alvo terapêutico de grande importância. Contudo, a tomada de decisões terapêuticas adequadas ao estágio da doença pulmonar só podem ser realizadas com o conhecimento diagnóstico da deficiência, muitas vezes esquecido ou desvalorizado.

A única medida comprovadamente eficaz na redução do declínio do VEMS é a evicção tabágica, que deve ser sempre a primeira atitude terapêutica. Além das medidas adoptadas no tratamento da DPOC habitual, doentes com deficiência grave de A1AT beneficiam da terapia de reposição intravenosa a longo prazo, em que indivíduos seleccionados com padrão obstrutivo moderado (VEMS 35-60% do previsto) são os que apresentam melhores benefícios. Contudo, para qualquer estadiamento da DPOC, o declínio do VEMS é significativamente menor durante o período de tratamento com reposição intravenosa. Outras medidas terapêuticas como a terapia de reposição por via inalatória ou a tecnologia recombinante para expressão transgénica de A1AT estão a ser estudadas.

A cirurgia de redução de volume pulmonar, em doentes com enfisema avançado devido a deficiência de A1AT, resulta numa melhoria significativa da qualidade de vida durante um breve período de tempo, devendo ser recomendada com precaução. O transplante

pulmonar é uma opção viável e a intervenção terapêutica mais eficaz para doentes seleccionados.

A tomografia computadorizada de alta resolução e a função pulmonar, nomeadamente o VEMS, são os parâmetros mais importantes na avaliação do prognóstico destes doentes.

IX – REFERÊNCIAS

- Agostinho PG, Agostinho PG, Fernandes JC et al (2001) Quantificação do enfisema com densitometria por TC tridimensional: comparação com a análise bidimensional e com testes funcionais pulmonares. *Acta Radiológica Portuguesa* Vol. 13, Nº 51, pág. 21-25.
- American Thoracic Society (1989) Guidelines for the approach to the patient with severe hereditary alpha-1-antitrypsin deficiency. *Am Rev Respir Dis* 27: 1494–1497.
- American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement (2003). Standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1-antitrypsin deficiency. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 168: 818–900.
- Bernspang E, Sveger T, Piitulainen E (2007) Respiratory symptoms and lung function in 30-year-old individuals with alpha-1-antitrypsin deficiency. *Respiratory Medicine* 101, 1971–1976.
- Blanco I, de Serres FJ et al (2006) Estimated numbers and prevalence of PI*S and PI*Z alleles of alpha-1-antitrypsin deficiency in European countries. *European Respiratory Journal* 27: 77–84.
- Brigham KL (1997) Gene therapy for diseases of the lung. In: *Gene therapy for chronic inflammatory diseases of the lung* (Dekker M, ed), pp285-292. New York.
- Campbell EJ, Campbell MA (1988) Pericellular proteolysis by neutrophils in the presence of proteinase inhibitors effects of substrate opsonization. *J Cell Biol* 106: 667-676.
- Campbell EJ, Campbell MA, Boukedes SS et al (1999) Quantum proteolysis by neutrophils: implications for pulmonary emphysema in alpha-1-antitrypsin deficiency. *The Journal of Clinical Investigation* 104: 337–344.

- Campos MA, Wanner A, Zhang G et al (2005) Trends in the diagnosis of symptomatic patients with alpha-1-antitrypsin deficiency between 1968 and 2003. *Chest* 128: 1179–1186.
- Canonica AE, Conary JT, Meyrick BO et al (1994) Aerosol and intravenous transfection of human alpha-1-antitrypsin gene to lungs of rabbits. *Am J Respir Cell Mol Biol* 10: 24–29.
- Cassina PC, Teschler H, Konietzko N et al (1998) Two-year results after lung volume reduction surgery in alpha-1-antitrypsin deficiency versus smoker's emphysema. *European Respiratory Journal* 12: 1028–1032.
- Coakley RJ, Taggart C, O'Neill S et al (2001) Alpha-1-antitrypsin deficiency: biological answers to clinical questions. *The American Journal of the Medical Sciences* 2001; 321: 33–41.
- Cole RB, Nevin NC, Blundell G et al (1976) Relation of alpha-1-antitrypsin phenotype to the performance of pulmonary function tests and to the prevalence of respiratory illness in a working population. *Thorax* 31, 149.
- Cox DW, Woo SLC, Mansfield T (1985) DNA restriction fragments associated with alpha-1-antitrypsin indicate a single origin for deficiency allele PI Z. *Nature* 316: 79–81.
- Cuvelier A, Muir J, Hellot M et al (2000) Distribution of alpha-1-antitrypsin alleles in patients with bronchiectasis. *Chest* 117: 415–419.
- Dahl M, Nordestgaard BG, Lange P et al (2001) Molecular diagnosis of intermediate and severe alpha-1-antitrypsin deficiency: MZ individuals with chronic obstructive pulmonary disease may have lower lung function than MM individuals. *Clinical Chemistry* 47: 56–62.
- Dahl M, Hersh CP, Ly NP et al (2005) The protease inhibitor PI*S allele and COPD: a meta-analysis (review). *European Respiratory Journal* 26: 67–76.

- Dawkins PA, Dowson LJ, Guest PJ et al (2003) Predictors of mortality in alpha-1-antitrypsin deficiency. *Thorax* 58: 1020–1026.
- de la Roza C, Rodríguez-Frías F, Lara B et al (2005) Results of a case-detection programme for alpha-1-antitrypsin deficiency in COPD patients. *European Respiratory Journal* 26: 616–622.
- de Serres FJ (2002) Worldwide racial and ethnic distribution of alpha-1-antitrypsin deficiency. Summary of an analysis of published genetic epidemiologic surveys. *Chest* 122: 1818–1829.
- DeMeo DL, Sandhaus RA, Barker AF (2007) et al. Determinants of airflow obstruction in severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *Thorax* 62: 806–813.
- Dowson LJ, Guest PJ, Hill SL et al (2001) High-resolution computed tomography scanning in alpha-1-antitrypsin deficiency: relationship to lung function and health status. *European Respiratory Journal* 17: 1097–1104.
- Dowson LJ, Newall C, Guest PJ et al (2001) Exercise capacity predicts health status in alpha-1-antitrypsin deficiency. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 163: 936–941.
- Dowson LJ, Guest PJ, Stockley RA (2002) The relationship of chronic sputum expectoration to physiologic, radiologic, and health status characteristics in alpha-1-antitrypsin deficiency (Pi Z). *Chest* 122: 1247–1255.
- Eden E, Mitchell D, Mehlman B et al (1997) Atopy, asthma, and emphysema in patients with severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 156: 68–74.
- Elliott PR, Stein PE, Bilton D et al (1996) Structural explanation for the deficiency of S alpha-1-antitrypsin. *Nat Struct Biol* 3: 910–911.

- Fregonese L, Stolk J, Frants RR et al (2008) Alpha-1-antitrypsin null mutations and severity of emphysema. *Respiratory Medicine* 102, 876–884.
- Fujimoto T, Teschler H, Hillejan L et al (2002) Long-term results of lung volume reduction surgery. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 21: 483–488.
- Gadek J, Fulmer J, Gelfand J et al (1980) Danazol-induced augmentation of serum alpha-1-antitrypsin levels in individuals with marked deficiency of this antiprotease. *The Journal of Clinical Investigation* 66: 82 -87.
- Gelb AF, McKenna RJ, Brenner M et al (1999) Lung function after bilateral lower lobe lung volume reduction surgery for alpha-1-antitrypsin emphysema. *European Respiratory Journal* 14: 928-933.
- Geraghty P, Rogan MP, Greene CM et al (2008) Alpha-1-antitrypsin aerosolised augmentation abrogates neutrophil elastase-induced expression of cathepsin B and matrix metalloprotease 2 in vivo and in vitro. *Thorax* 63: 621–626.
- Gildea TR, Shermock KM, Singer ME et al (2003) Cost-effectiveness analysis of augmentation therapy for severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 167: 1387–1392.
- Greene CM, Miller SDW, Carroll T et al (2008) Alpha-1-antitrypsin deficiency: A conformational disease associated with lung and liver manifestations. *J Inherit Metab Dis* 31: 21–34.
- Hill AT, Bayley DL, Campbell EJ et al (2000) Airways inflammation in chronic bronchitis: the effects of smoking and alpha-1-antitrypsin deficiency. *European Respiratory Journal* 15: 886-890.
- Hogarth DK, Rachelefsky G (2008) Screening and familial testing of patients for alpha-1-antitrypsin deficiency. *Chest* 133: 981–988.

- Hollander C, Westin U, Wallmark A et al (2007) Plasma levels of alpha-1-antichymotrypsin and secretory leukocyte proteinase inhibitor in healthy and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) subjects with and without severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *BMC Pulmonary Medicine* 7: 1.
- Holme J, Stockley RA (2007) Radiologic and clinical features of COPD patients with discordant pulmonary physiology. Lessons from alpha-1-antitrypsin deficiency. *Chest* 132: 909–915.
- Horne SL, Chen Y, Cockcroft DW et al (1992) Risk factors for reduced pulmonary function in women. A possible relationship between Pi phenotype, number of children, and pulmonary function. *Chest* 102; 158-163.
- Joos L, Paré PD, Sandford AJ (2002) Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease (review). *Swiss Med Wkly* 132: 27-37.
- King MA, Stone JA, Diaz PT et al (1996) Alpha-1-antitrypsin deficiency: evaluation of bronchiectasis with CT. *Radiology* 199: 137-141.
- Köhnlein T, Welte T (2008) Alpha-1-antitrypsin deficiency: pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *The American Journal of Medicine* 121, 3-9.
- Kropp J, Wencker M, Hotze A et al (2001) Inhalation of [123I] alpha-1-protease inhibitor: toward a new therapeutic concept of alpha-1-protease inhibitor deficiency? *The Journal of Nuclear Medicine* 42: 744–751.
- Larsson C, Eriksson S, Dirksen H (1977) Smoking and intermediate alpha-1-antitrypsin deficiency and lung function in middle-aged men. *British Medical Journal* 2, 922-925.
- Laurell CB, Eriksson S (1963) The electrophoretic pattern alpha-1-globulin pattern of serum in alpha-1-antitrypsin deficiency. *Scan J Clin Lab Invest* 15: 132-140.
- Lee P, Gildea TR, Stoller JK (2002) Emphysema in nonsmokers: alpha-1-antitrypsin deficiency and other causes. *Cleve Clin J Med* 69: 928–936.

- Lieberman J (2000) Augmentation therapy reduces frequency of lung infections in alpha-1-antitrypsin deficiency: a new hypothesis with supporting data. *Chest* 118: 1480–1485.
- Ljujic M, Topic A, Divac A et al (2008) Isoelectric focusing phenotyping and denaturing gradient gel electrophoresis genotyping: a comparison of two methods in detection of alpha-1-antitrypsin variants. *Translational Research* 151: 255–259.
- Lomas DA (2006) The selective advantage of alpha-1-antitrypsin deficiency. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 173: 1072–1077.
- Ma S, Lin YY, Turino GM (2007) Measurements of desmosine and isodesmosine by mass spectrometry in COPD. *Chest* 131: 1363–1371.
- Machado RF, Stoller JK, Laskowski D et al (2002) Low levels of nitric oxide and carbon monoxide in alpha-1-antitrypsin deficiency. *J Appl Physiol* 93: 2038–2043.
- Malerba M, Ricciardolo F, Radaeli A et al (2006) Neutrophilic inflammation and IL-8 levels in induced sputum of alpha-1-antitrypsin Pi MZ subjects. *Thorax* 61: 129–133.
- McDonagh DJ, Nathan SP et al (1979) Assessment of alpha-1-antitrypsin deficiency heterozygosity as a risk factor in the etiology of emphysema. Physiological comparison of adult normal and heterozygous protease inhibitor phenotype subjects from a random population. *J. Clin. Invest* 299-309.
- Mulgrew AT, Taggart CC, McElvaney N (2007) Alpha-1-Antitrypsin Deficiency: Current Concepts. *Lung* 185:191–201.
- Mullins CD, Huang X, Merchant S et al (2001) The direct medical costs of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Chest* 119: 745–752.
- Needham M, Stockley RA (2004) Alpha-1-antitrypsin deficiency. 3: Clinical manifestations and natural history. *Thorax* 59: 441–445.

- Nita I, Hollander C, Westin U et al (2005) Prolastin, a pharmaceutical preparation of purified human alpha-1-antitrypsin, blocks endotoxin-mediated cytokine release. *Respiratory Research* 6: 12.
- Ogushi F, Fells GA, Hubbard RC et al (1987) Z-type alpha-1-antitrypsin is less competent than M-type alpha-1-antitrypsin as an inhibitor of neutrophil elastase. *J Clin Invest* 80: 1366–1374.
- Owen MC, Brennan SO, Lewis JH et al (1983) Mutation of antitrypsin to antithrombin alpha-1-antitrypsin Pittsburgh (358 Met leads to Arg), a fatal bleeding disorder. *N Engl J Med* 309: 694–698.
- Parr DG, Stoel BC, Stolk J et al (2004) Pattern of emphysema distribution in alpha-1-antitrypsin deficiency influences lung function impairment. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 170: 1172–1178.
- Parr DG, Stoel BC, Stolk J et al (2006) Validation of computed tomographic lung densitometry for monitoring emphysema in alpha-1-antitrypsin deficiency. *Thorax* 61: 485–490.
- Parr DG, Sevenoaks M, Deng C et al (2008) Detection of emphysema progression in alpha-1-antitrypsin deficiency using CT densitometry. *Methodological advances. Respiratory Research* 9: 21.
- Persson C, Subramaniam D, Stevens T et al (2006) Do native and polymeric alpha-1-antitrypsin activate human neutrophils in vitro? *Chest* 129: 1683–1692.
- Petrache I, Fijalkowska I, Zhen L et al (2006) A novel antiapoptotic role for alpha-1-antitrypsin in the prevention of pulmonary emphysema. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 173: 1222–1228.

- Piitulainen E, Tornling G, Eriksson S (1998) Environmental correlates of impaired lung function in non-smokers with severe alpha-1-antitrypsin deficiency (Pi ZZ). *Thorax* 53: 939–943.
- Piitulainen E, Areberg J, Lindén M et al (2002) Nutritional status and muscle strength in patients with emphysema and severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *Chest* 122: 1240–1246.
- Ranes J, Stoller JK (2005) A review of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Semin Respir Crit Care Med* 26: 154–166.
- Rao NV, Wehner HG, Marshall BC et al (1991) Characterization of proteinase-3 (PR-3) a neutrophil serine proteinase. Structural and functional properties. *The Journal of Biological Chemistry* 266: 9540–9548.
- Rodriguez F, Jardí R, Costa X et al (2002) Rapid screening for alpha-1-antitrypsin deficiency in patients with chronic obstructive pulmonary disease using dried blood specimens. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 166: 814–817.
- Rodriguez F, de la Roza C, Jardí R et al (2005) Glutathione s-transferase P1 and lung function in patients with alpha-1-antitrypsin deficiency and COPD. *Chest* 127: 1537–1543.
- Russi EW (2008) Alpha-1-antitrypsin: now available, but do we need it? *Swiss Med Wkly* 138 (13–14) : 191–196.
- Santos Rosa M (1988) Análise da intervenção do inibidor da a1 das proteases (IA1P) nas respostas inflamatória e imunitária. Estudo na população portuguesa. Faculdade de Medicina de Coimbra; Ref: 14571.
- Seersholm N, Dirksen A, Kok-Jensen A (1994) Airways obstruction and two year survival in patients with severe alpha1-antitrypsin deficiency. *European Respiratory Journal* 7: 1985–1987.

- Seersholm N (1997) Body mass index and mortality in patients with severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *Respiratory Medicine* 91: 77-82.
- Seersholm N, Kok-Jensen A (1998) Clinical features and prognosis of life time non-smokers with severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *Thorax* 53:265–268.
- Seersholm N, Kok-Jensen A (1998) Intermediate alpha-1-antitrypsin deficiency Pi SZ: a risk factor for pulmonary emphysema? *Respiratory Medicine* 92, 241-245.
- Serra S, Banha G (2008) Défice de alfa-1 antitripsina. A propósito de dois casos Clínicos. *Revista Portuguesa de Pneumologia*, Vol. 14, Nº 2, pág. 295-302.
- Shaker SB, Maltbaek N, Brand P et al (2005) Quantitative computed tomography and aerosol morphometry in COPD and alpha-1-antitrypsin deficiency. *European Respiratory Journal* 25: 23–30.
- Shin MS, Ho K (1993) Bronchiectasis in patients with alpha-1-antitrypsin deficiency. A rare occurrence? *Chest* 104: 1384-86.
- Siegfried W, Rosenfeld M, Stier L et al (1995) Polarity of secretion of alpha-1-antitrypsin by human respiratory epithelial cells after adenoviral transfer of a human alpha-1-antitrypsin cDNA. *Am J Respir Cell Mol Biol* 12: 379-384.
- Silva GE, Guerra S, Keim S et al (2008) Longitudinal decline of diffusing capacity of the lung for carbon monoxide in community subjects with the Pi MZ alpha-1-antitrypsin phenotype. *Chest* 133: 1095–1100.
- Silverman EK, Chapman HA, Drazen JM et al (1998) Genetic epidemiology of severe, early-onset chronic obstructive pulmonary disease risk to relatives for airflow obstruction and chronic bronchitis. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 157: 1770–1778.
- Soy D, dela Roza C, Esquinas C et al (2006) Alpha-1-antitrypsin deficiency: optimal therapeutic regimen based on population pharmacokinetics. *Thorax* 61: 1059–1064.

- Stavngaard T, Shaker SB, Dirksen A (2006) Quantitative assessment of emphysema distribution in smokers and patients with alpha-1-antitrypsin deficiency. *Respiratory Medicine* 100: 94–100.
- Stockley RA, Bayley DL, Unsal I et al (2002) The effect of augmentation therapy on bronchial inflammation in alpha-1-antitrypsin deficiency. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 165: 1494–1498.
- Stolk J, Camps J, Feitsma H et al (1995) Pulmonary deposition and disappearance of aerosolised secretory leucocyte protease inhibitor. *Thorax* 50: 645-650.
- Stolk J, Ng WH, Bakker ME et al (2003) Correlation between annual change in health status and computer tomography derived lung density in subjects with alpha-1-antitrypsin deficiency. *Thorax* 58: 1027–1030.
- Stoller JK, Fallat R, Schluchter MD et al (2003) Augmentation therapy with alpha-1-antitrypsin. Patterns of use and adverse events. *Chest* 123: 1425–1434.
- Stoller JK, Sandhaus RA, Turino G et al (2005) Delay in diagnosis of alpha-1-antitrypsin deficiency. A continuing problem. *Chest* 128: 1989–1994.
- Stoller JK, Gildea TR, Ries AL et al (2007) Lung volume reduction surgery in patients with emphysema and alpha-1-antitrypsin deficiency. *Ann Thorac Surg* 83: 241–51.
- Strange C, Moseley MA, Jones Y et al (2006) Genetic testing of minors for alpha-1-antitrypsin deficiency. *Arch Pediatr Adolesc Med* 160: 531-534.
- Tattersall SF, Pereira RP, Hunter D et al (1979) Lung distensibility and airway function in intermediate alpha-1-antitrypsin deficiency (Pi MZ). *Thorax* 34, 637-646.
- Trulock P (1996) Lung transplantation for alpha-1-antitrypsin deficiency emphysema. *Chest* 110: 284S-294S.
- Tuder RM, Petrache I, Elias JA et al (2003) Apoptosis and emphysema: the missing link. *Am J Respir Cell Mol Biol* 28: 551-554.

- Tuder RM, Yoshida T, Fijalkowka I et al (2006) Role of Lung Maintenance Program in the Heterogeneity of Lung Destruction in Emphysema. *Proc Am Thorac Soc* 3: 673–679.
- Tutic M, Bloch KE, Lardinois D et al (2004) Long-term results after lung volume reduction surgery in patients with alpha-1-antitrypsin deficiency. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 128: 408-13.
- Viglio S, Iadarola P, Lupi A et al (2000) MEKC of desmosine and isodesmosine in urine of chronic destructive lung disease patients. *European Respiratory Journal* 15: 1039-1045.
- Wencker M, Banik N, Buhl R et al (1998) Long-term treatment of alpha-1-antitrypsin deficiency-related pulmonary emphysema with human alpha-1-antitrypsin. *European Respiratory Journal* 11: 428–433.
- Wencker M, Fuhrmann B, Banik N et al (2001) Longitudinal follow-up of patients with alpha-1-protease inhibitor deficiency before and during therapy with IV alpha-1-protease inhibitor. *Chest* 119: 737–744.
- Wilcke J, Dirksen A (1997) The effect of inhaled glucocorticosteroids in emphysema due to alpha-1-antitrypsin deficiency. *Respiratory Medicine* 91: 275-279.
- Wilson JS, Galvin JR (2000) Normal diffusing capacity in patients with Pi Z alpha-1-antitrypsin deficiency, severe airflow obstruction, and significant radiographic emphysema. *Chest* 118: 867–871.
- Woolhouse IS, Bayley DL, Stockley RA (2002) Sputum chemotactic activity in chronic obstructive pulmonary disease: effect of alpha-1-antitrypsin deficiency and the role of leukotriene B4 and interleukin 8. *Thorax* 57: 709–714.
- Zhang D, Wu M, Nelson DE et al (2003) Alpha-1-antitrypsin expression in the lung is increased by airway delivery of gene-transfected macrophages. *Gene Therapy* 10: 2148–2152.