

Alfa-1 antitripsino stoka – ar tikrai reta patologija

Dr. Danielius Serapinas

KMU Pulmonologijos ir imunologijos klinika

Reikšminiai žodžiai: alfa-1 antitripsino stoka, genotipai, lėtinė obstrukcinė plaučių liga.

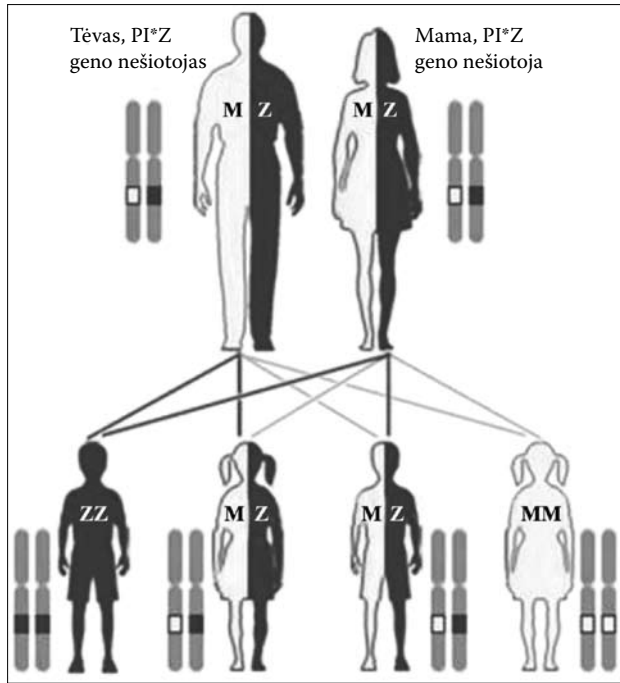
Santrauka. Alfa-1 antitripsino (AAT) stoka – viena dažniausių genetinių ligų europiečių populiacijoje, pasireiškianti maždaug 1 iš 1600–5000 asmenų. AAT – proteazių inhibitorius, apsaugantis plaučių audinį nuo žalingo proteazių poveikio. Kai šios antiproteazės stinga, suyra alveolių sienelės, formuojasi lėtinė obstrukcinė plaučių liga bei didėja rizika sirgti lėtinėmis kepenų ligomis. AAT stoka patikimai susijusi su ankstyvu LOPL išsivystymu ir sparčiu ligos progresavimu, ankstyvu neįgalumu, trumpesne gyvenimo trukme. AAT stoka nustatoma 1–3 proc. sergančiųjų LOPL. Kad stokotų AAT, pacientas turi būti gavęs po pakitusį PI geną (PI*Z, PI*S, PI*Null) iš abiejų tėvų, nes liga paveldima autosominiu recesyviniu būdu. Daugeliu atvejų LOPL sergantiems pacientams AAT stoka lieka nedideliu būdu. Taigi anksti ištirti LOPL pacientus dėl alfa-1 antitripsino stokos yra svarbu nustatant ligos priežastinį veiksni, prognozuojant ligos eigą, parenkant gydymą bei profilaktiką.

Alfa-1 antitripsinas (AAT) – vienas seniausiai atrastų serpinų (serino proteazių inhibitorių) šeimos narių [1, 2]. Jis yra 52 kDa alfa-1 glikoproteinas, kuris daugiausia sintetinamas hepatocituose, o mažesniais kiekiais ir kitose ląstelėse: žarnyno, kvėpavimo takų epitelinėse ląstelėse, monocituose ir makrofaguose [1]. Esant normalioms fiziologinėms sąlygoms, monocitai gamina 1 proc., o plaučių alveolių epitelinės ląstelės – 1,4 proc. viso AAT kiekio [3]. AAT per dieną pagaminama 34 mg/kg, o fiziologinė koncentracija suaugusio žmogaus serume svyruoja nuo 0,9 iki 2,6 g/l. Jei AAT kiekis serume mažesnis nei 35 proc. normalaus (0,5 g/l), yra labai didelė rizika susirgti plaučių emfizema ir LOPL [4].

AAT koduojantis *SERPINA1* genas (anksčiau vadinamas PI *Protease inhibitor*) yra 14 chromosomos ilgojo peties q31–32.1 segmente [5]. Tai 12,2 kilobazes turintis genas, kuris turi septynis egzonus ir šešis intronus. Tame pačiame chromosomos lokuse lokalizuojasi ir kitus serpinus (antichimotripsiną-1, antitrombiną III, baltymo C inhibitorių) koduojantys genai. Žinoma apie 100 genetinių AAT variantų. Jų klasifikacija pagrįsta AAT fenotipų judrumo greičiu izoelektrinio fokusavi-

mo metu [1]. Normalus AAT variantas yra vadinamas M (*medium mobility* – vidutinio judrumo), atitinkamai vyraujantis normalus genotipas yra PIMM. Svarbūs AAT patologiją lemiantys aleliai yra PI*Z, PI*S, PI*Null, PI*Pittsburgh. Kiti AAT stoką lemiantys aleliai aptinkami itin retai [1]. Esant ligą lemiančiam aleliui, pakinta jo koduojamo baltymo (AAT) struktūra – vyksta tam tikros aminorūgšties substitucija, pvz., PI*Z alelis sąlygoja Glu³⁴² → Lys, PI*S – Glu²⁶⁴ → Val, PI*Null - Try¹⁶⁰ iškrita, PI*Pittsburgh - Met³⁵⁸ → Arg.

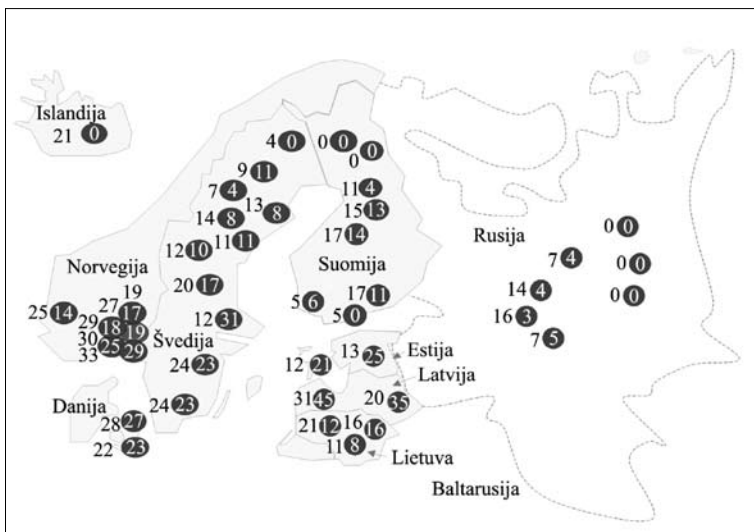
AAT PI*Z alelio mutacija lemia baltymo pakitimą: sutrinka ryšys tarp reaktyviojo centro kilpos ir beta vijos A, dėl to vienos AAT molekulės reaktyvusis centras įsiterpia į kitos AAT molekulės beta viją A – taip susiformuoja dimeras, kuris gali formuoti polimerų grandines. Kai reaktyvusis AAT molekulės centras yra susijungęs su kita AAT molekule, jis negali jungtis su proteaze. PI*S ir PI*Z alelinių koduojami baltymai suformuoja polimerus kepenyse, kurie yra kaupiami hepatocitų endoplazminiame tinkle. Minėti viduląsteliniai AAT polimerai lemia hepatitą vaikystėje bei didina kepenų vėžio riziką vyresniame amžiuje [1].



1 pav. ALFA-1 ANTITRIPSINO STOKOS (PIZZ) PAVELDĖJIMO SCHEMA

S baltymo variantas daug mažiau linkęs formuoti polimerus, palyginti su Z variantu, tai sąlygoja mažesnę kaupimąsi endoplazminiame tinkle ir kartu mažesnę AAT stoką serume. 90 proc. Z ir 40–50 proc. S baltymo kiekio lieka kepenyse. Dažniausiai pasitaikantys šeši AAT genotipų variantai yra šie: PIMM, PIMS, PIMZ, PISZ, PISS ir PIZZ [1, 7].

Daugiausiai AAT stoką sąlygojančių ligų lemia PI*Z alelis, o klinikinėje praktikoje 96 proc. pacientų, kenčiančių nuo AAT stokos, turi PIZZ genotipą. Likusius 4 proc. sudaro PISZ arba kiti reti stokos variantai [4].



2 pav. PI*S IR PI*Z ALELIŲ DAŽNUMAS (1000 GYV.) ŠIAURĖS EUROPOS ŠALYSE (TAMSESNĖI SKRITULIUKAI RODO PI*Z ALELIO DAŽNUMĄ)

ALFA-1 ANTITRIPSINO STOKĄ LEMIANTYS GENOTIPAI

AAT stoka yra viena dažniausių paveldimų ligų [7]. Ši liga paveldima autosominiu recesyviniu būdu. Tikimybė susilaukti kūdikio, turinčio homozigotinį genotipą PIZZ, yra 1 iš 4, jei abu tėvai yra PI*Z alelio nešiotojai (PIMZ) [1] (1 pav.). Jei vienas iš tėvų turi PIZZ genotipą, o kitas yra heterozigotas (nešiotojas), vaikai yra arba nešiotojai, arba serga AAT stoka (PIZZ).

Tyrimai rodo, kad PI*Z alelis atsirado šiaurės Europoje apytikriai prieš 6000 metų [5, 6], o PI*S – prieš 300–450 kartų pietvakarinėje Europos dalyje, *Iberian Peninsula* regione [1]. Nuo to laiko abu aleliai buvo aptinkami visose pagrindinėse rasinėse grupėse. Didžiausias PI*Z alelio dažnumas užfiksuotas Šiaurės ir Vakarų Europoje [7, 8], o PI*S alelis labiau paplitęs Pietų ir Rytų Europoje [1, 7]. Sunkią AAT stoką lemiančio PI*Z alelio dažnumas išskirtinai didelis Latvijoje, Norvegijoje, Švedijoje (2 pav.). Manoma, kad tai susiję su vikingų invazija į šias šalis. Tyrimų duomenimis, Lietuvos bendrojoje populiacijoje PI*S ir PI*Z alelių dažnumas panašus į kitų Šiaurės Europos šalių [6, 9]. Neženklių minėtų genų dažnumo skirtumų pastebėta net tarp skirtingų Lietuvos regionų: PI*S alelį žemaičiai turi dažniau nei aukštaičiai, o PI*Z – atvirksčiai. PIZZ genotipo dažnumas Lietuvoje – 1 atvejis iš 5 368 gyventojų [7].

Tyrimai rodo, kad 94–96 proc. Europos gyventojų nustatomas normalus PIMM genotipas [7]. 1 lentelėje pateikiamas pagrindinių AAT genotipų dažnumas Europoje ir AAT koncentracijos sumažėjimas pagal genotipą [1, 10].

Apie 2–3 proc. europiečių turi heterozigotinį AAT genotipą PIMZ. Įvairių šalių sergančiųjų LOPL grupėje PIZZ dažnumas skiriasi, bet vidutiniškai svyruoja nuo 1 iki 4,5 proc., o PIMZ dažnumas kai kuriose šalyse siekia net 17,8 proc. [8]. Daugiacentrių tyrimų duomenimis, pasaulyje 3,4 mln. žmonių turi vieną iš trijų AAT stoką lemiančių genotipų: PIZZ, PISZ ar PISS [7].

Lietuvoje 1 167 sergantiesiems LOPL buvo nustatytas AAT genotipas ir įvertinta AAT koncentracija serume [11]. 2 lentelėje pateikiamas PIMM, PIMZ, PIMS, PISS, PIZZ bei PISZ genotipų pasiskirstymas procentais. Iš viso identifikuoti aštuoni (0,7 proc.) sergantieji LOPL, turintys sunkią AAT stoką lemiantį homozigotinį genotipą PIZZ.

Literatūros duomenimis, AAT stokos dažnumas kitų Europos šalių LOPL ligonių grupėse labai smarkiai įvairuoja. Keli atvejo ir kontrolės tyrimai rodo, kad PI*Z heterozigotų dažnumas LOPL ligonių grupėje buvo 1,5–5 kartus didesnis nei bendrojoje populiacijoje [12, 13, 14]. Vykdam tikslinių grupių analizės programą, Ispanijoje ištyrus 2 137 sergančiuosius LOPL, nustatyti septyni PIZZ atvejai, t. y. PIZZ dažnumas LOPL ligonių grupėje – 0,37 proc. [13]. Italijoje atliktu tyrimu nustatytas daug didesnis PIZZ dažnumas – 6,4 proc. [15]. Tokį didelį AAT stokos dažnumą galėjo lemti ir tiriamųjų kontingentas, nes į tyrimą įtraukti

tik sergantieji LOPL, kuriems kliniškai buvo įtariama AAT stoka. Visiškai kitokius duomenis pateikė Vokietijoje atlikto tyrimo tyrėjai: iš 1 060 sergančiųjų LOPL PIZZ genotipas nenustatytas nė vienam [14]. Šis tyrimas išsiskyrė tuo, kad į jį buvo įtraukiami ne tik sergantieji LOPL, bet ir kitomis lėtinėmis kvėpavimo takų ligomis. Kitame Vokietijoje atliktame tyrime, į kurį įtraukti 2 272 LOPL sergantys ligoniai, kuriems pirminio atrankinio tyrimo metu nustatyta mažesnė AAT koncentracija, išsiaiškinti 335 ATT stokojantys pacientai [16]. Danijos LOPL ligonių grupėje PIZZ AAT stokos dažnumas buvo 0,8 proc. [12].

Sunkią AAT stoką lemiančio genotipo PIZZ dažnumo skirtumus įvairiose šalyse galima paaiškinti tiek genų migracijos ypatybėmis tarp šalių, tiek tiriamųjų kontingentų bei tyrimų metodika.

ALFA-1 ANTITRIPSINO STOKOS DIAGNOSTIKOS IR STEBĖSENOS REKOMENDACIJOS

Paprasčiausias būdas nustatyti, ar yra AAT stoka, – išmatuoti AAT koncentraciją kraujo serume. AAT normos ribos yra 0,9–2,6 g/l [13]. Dažniausio AAT stokos varianto (PIZZ) atveju koncentracija tesiekia 20 proc. normalios koncentracijos (mažiau kaip 0,3 g/l), o nešiojimo atveju (PIMZ) – 80 proc. [11]. Tikslus AAT fenotipas nustatomas izoelektriniu fokusavimu. Diagnozuoti taikomi ir šiuolaikiniai tyrimai, pvz., molekuliniai genetiniai DNR tyrimai, kuriais nustatoma mutacija, lėmusi patologiinį fenotipą.

Tyrimų duomenimis, PI*ZZ AAT stoka yra per retai diagnozuojama liga. Amerikos torakalistų ir Europos respiratologų asociacijos (ATA/ERA) yra parengusios AAT diagnostikos ir stebėsenos rekomendacijas, kurių tikslas – padėti specialistams nustatyti AAT stokos atvejus. Pateikiamas sąrašas ligų, kuriomis sergant, tikėtina, yra didelė AAT stokos rizika ir tikslingas kiekybinis AAT tyrimas:

1. Ankstyva plaučių emfizema (iki 45 metų amžiaus).
2. Visi LOPL atvejai.
3. AAT stoka giminėje.
4. Nežinomos kilmės kepenų liga.
5. Nežinomos kilmės suaugusiųjų bronhektazės.
6. Astma, kai spirometrijos rodikliai gydant nesinormalizuoja.
7. Įtariamas antiproteazės-3 vaskulitas.

Genetiniai AAT stokos tyrimai

Nustatyti, kad žmogus turi įgimtą ligą, gali būti šiek tiek pavojinga (psichologinis poveikis, netgi genetinė diskriminacija), todėl ATS/ERS specialistams rekomenduoja įvertinti galimą riziką ir aptarti ją su pacientu prieš pradėdant genetinius AAT tyrimus [1]. Pagal AAT genotipų tyrimų poreikį skiriamos keturios tyrimų kategorijos:

1. Diagnostiniai tyrimai (tiriami sergantys asmenys).
2. Predispoziciniai tyrimai (išsiaiškinami besimptomiai

1 lentelė. PAGRINDINIŲ ALFA-1 ANTITRIPSINO STOKĄ LEMIANČIŲ GENOTIPŲ DAŽNUMAS EUROPOS ŠALYSE

Genotipas	MZ	SS	MS	SZ	ZZ
Dažnumas	3/100	1/2200	3,7/100	1/1 500	1/2 700
Alfa-1 antitripsino koncentracija proc. nuo normalios	70	60	85	40	20

2 lentelė. SERGANČIŲ LOPL ALFA-1 ANTITRIPSINO GENOTIPŲ PASISKIRSTYMAS

Genotipas	Skaičius	Procentas
MM	1 076	92,2
MS	39	3,3
MZ	40	3,4
SS	1	0,1
SZ	3	0,3
ZZ	8	0,7
Iš viso	1 167	100

3 lentelė. REKOMENDACIJŲ ATLIKTI GENETINIUS TYRIMUS KLASIFIKACIJA

Tipas	Rekomendacija
A	Genetinis tyrimas rekomenduojamas
B	Genetinio tyrimo poreikis turėtų būti aptartas ir gali būti priimtas arba atmestas
C	Genetinis tyrimas nerekomenduojamas (nepatariama atlikti genetinio tyrimo)
D	Rekomenduojama neatlikti genetinio tyrimo

asmenys, kurie turi didelę įgimtos AAT stokos riziką).

3. Geno nešiojimo įvertinimas planuojant nėštumą.
4. Profilaktinė patikra.

Rekomendacijos atlikti genetinius tyrimus yra laipsniuojamos nuo A iki D tipo (3 lentelė). Kiekvienas rekomendacijos tipas nustatytas įvertinus įvairius veiksnius (AAT stokos penetrantiškumą, ligos klinikinę raišką, galimus gydymo būdus, psichologines ir socialines pasekmes, ekonominius veiksnius) bei galimus nepalankius tyrimų padarinius.

REKOMENDACIJOS PAGAL GENETINIŲ TYRIMŲ TIPUS

Diagnostinis tyrimas

A tipo rekomendacijos atlikti diagnostinį tyrimą:

- Simptomų patiriantys suaugusieji, sergantys emfizema, LOPL arba astma su nevisiškai grįžtama bronchų obstrukcija.
- Asmenys, sergantys neaiškios kilmės kepenų liga, įskaitant naujagimius, vaikus ir suaugusiuosius.
- Besimptomiai asmenys, kuriems nustatyta išlikusi bronchų obstrukcija atliekant plaučių funkcijos tyrimus, turintys žinomą rizikos veiksnių (cigarečių rūkymas, užteršta darbo aplinka ir kt.).

- Suaugusieji, sergantys nekrozinu panikulitu.
- B tipo rekomendacijos atlikti diagnostinį tyrimą:*
- Suaugusieji, sergantys neaiškios kilmės bronchektazėmis.
 - Paaugliai, kuriems nustatyta persistuojanti kvėpavimo takų obstrukcija.
 - Besimptomiai asmenys, kuriems nustatyta išliekanti bronchų obstrukcija, neturintys žinomų rizikos veiksnių.
 - Suaugusieji, sergantys antiproteazės-3 vaskulitu (C-ANCA teigiamu).
- C tipo rekomendacijos atlikti diagnostinį tyrimą:*
- Suaugusieji, kuriems nustatyta grįžtamoji kvėpavimo takų obstrukcija.

Predispozicinis tyrimas

- A tipo rekomendacijos atlikti predispozicinį tyrimą:*
- Pirmos kartos giminaičiai asmens, kuriam nustatyta AAT stoka.
- B tipo rekomendacijos atlikti predispozicinį tyrimą:*
- Asmenys, kurių giminėje yra ar buvo sergančių LOPL arba kepenų ligomis, nesusijusiomis su AAT stoka.
 - Tolimi giminaičiai asmens, turinčio homozigotinį AAT stokos variantą.
 - Vaikai arba tėvai asmens, turinčio heterozigotinį AAT stokos variantą.
 - Visi giminaičiai asmens, turinčio heterozigotinį AAT stokos variantą.
- D tipo rekomendacijos atlikti predispozicinį tyrimą:*
- Vaisiaus tyrimas.

Geno nešiojimo įvertinimas planuojant nėštumą

- B tipo rekomendacija:*
- Asmenys, turintys didelę riziką susirgti su AAT stoka susijusiomis ligomis.
 - Asmenys, kurie patys nerizikuoja susirgti AAT stoka, bet jų partneris turi homozigotinį arba heterozigotinį AAT stokos variantą.

Profilaktinė patikra

- C tipo rekomendacija:*
- Rūkantys asmenys, kurių plaučių funkcija normali.

D tipo rekomendacija:

- Naujagimiai, paaugliai, suaugusieji.

Išimtis (B tipo rekomendacija) – profilaktinė patikra galėtų būti atliekama tose šalyse, kurios atitinka tris kriterijus: 1) AAT stokos dažnumas yra didelis (apie 1 iš 1 500 ar didesnis); 2) didelis rūkymo paplitimas; 3) prieinamos atitinkamo lygio konsultacijos.

Apibendrinant galima teigti, kad Lietuvos LOPL ligonių grupėje AAT stoką lemiančio PIZZ genotipo dažnumas yra didelis, panašus į šiaurės Europos šalių. Minėtas AAT genotipo dažnumas bei didelis rūkymo, sąlygojančio LOPL, paplitimas Lietuvoje leidžia daryti prielaidą, kad būtina sergančiųjų LOPL, ypač jaunes-

nio amžiaus, patikra AAT stokai išsiaiškinti. Nustačius AAT stoką LOPL ligoniams, galima būtų sudaryti specialų ligos stebėjimo ir gydymo planą, pradėti tikslią genetinę šeimos narių konsultavimą bei valstybės mastu numatyti tinkamas gydymo ir profilaktikos priemones.

ALPHA-1 ANTITRYPSIN DEFICIENCY: IS IT SO RARE DISEASE

DANIELIUS SERAPINAS
DEPARTMENT OF PULMONOLOGY AND IMMUNOLOGY
KAUNAS UNIVERSITY OF MEDICINE

Key words: alpha-1 antitrypsin deficiency, genotypes, chronic obstructive pulmonary disease.

Summary. Alpha-1 antitrypsin deficiency is one of the most common genetically-linked lethal diseases among Caucasians, affecting approximately 1 in every 1600-5000. Alpha-1 antitrypsin is a serine protease inhibitor (serpin). It protects lung tissue from destructive effect of proteases. A lack of alpha-1 antitrypsin leads to alveolar destruction and development of COPD and increased risk for chronic liver diseases. Affected individuals become invalid in a shorter time. For 1-3 proc. individuals with COPD, alpha-1 antitrypsin deficiency is determined. AAT deficiency is disorder which is transmitted in an autosomal recessive form. Mutant alleles (Z, S, Null) individual inherits from both parent and this can lead to severe alpha-1 antitrypsin deficiency. Alpha-1 antitrypsin deficiency is an underdiagnosed condition in patients with COPD. We accentuate the importance of early analysis of alpha-1 antitrypsin in patients with COPD to determine exact disease reason – alpha-1 antitrypsin deficiency, its prognosis, treatment and prevention.

LITERATŪRA

1. American Thoracic Society/ European Respiratory Society Statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 818-900.
2. Tsutsumi Y, Kuri B, Sengupta T, Wintrodde PL. The structural basis of serpin polymerization studied by hydrogen/deuterium exchange and mass spectrometry. *J Biol Chem* 2008; 283: 30804-30811.
3. Janciauskiene SM, Stevens T, Blanco I. New insights into the biology of alpha-1 antitrypsin and its role in chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Respir Med Rev* 2007; 3: 147-158.
4. DeMeo DL, Silverman EK. Alpha-1 antitrypsin deficiency. 2: genetic aspects of alpha(1)-antitrypsin deficiency: phenotypes and genetic modifiers of emphysema risk. *Thorax* 2004; 59: 259-264.
5. Byth BC, Billingsley GD, Cox DW. Physical and genetic mapping of the serpin gene cluster at 14q32.1: allelic association and a unique haplotype associated with alpha 1-antitrypsin deficiency. *Am J Hum Genet* 1994; 55: 126-133.
6. Beckman L, Sikström C, Mikelsaar A, Krumina A, Kucinskas V, Beckan G. Alpha-1 antitrypsin P alleles as markers of West European influence in the Baltic Sea region. *Human Hered* 1999; 49: 52-55.
7. Blanco I, de Serres FJ, Fernandez-Bustillo E, Lara B, Miravittles M. Estimated numbers and prevalence of PI*S and PI*Z alleles of alpha-1 antitrypsin deficiency in European countries. *Eur respir J* 2006; 27:77-84.
8. De Serres F, Blanco I, Fernandez-Bustillo E. PI*S and PI*Z Alpha-1 antitrypsin deficiency worldwide. A review of existing genetic epidemiological data. *Monaldi Arch Chest Dis* 2007; 67: 184-208.
9. Stakissaitis D, Basys V, Benetis R. Does alpha-1 proteinase inhibitor play a protective role in coronary atherosclerosis? *Med Sci Monit* 2001; 7: 701-711.
10. Blanco I, Fernandez E, Bustillo EF. Alpha-1-antitrypsin PI phenotypes S and Z in Europe: an analysis of the published surveys. *Clin Genet* 2001; 60: 31-41.
11. Sitkauskienė B, Serapinas D, Blanco I, Fernandez-Bustillo E, Janciauskiene S, Sakalauskas R. Screening for alpha-1-antitrypsin deficiency in Lithuanian patients with COPD. *Respiratory Medicine* 2008; 102: 1650-1654.
12. Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, Lange P, Vestbo J, Nordestgaard BG. Change in lung function and morbidity from chronic obstructive pulmonary disease in alpha-1 antitrypsin MZ heterozygotes: a longitudinal study of the general population. *Ann Intern Med* 2002; 136: 270-279.

Kiti literatūros šaltiniai redakcijoje (iš viso 16).