

ALFA 1 ANTITRIPSINO FENOTIPŲ REIKŠMĖ LĒTINĖS OBSTRUKČINĖS PLAUČIŲ LIGOS GENEZĖJE

DANIELIUS SERAPINAS, DOC. DR. BRIGITA ŠITKAUSKIENĖ, PROF. DR. RAIMUNDAS SAKALAUSKAS

KMU PULMONOLOGIJOS IR IMUNOLOGIJOS KLINIKA

Reikšminiai žodžiai: alfa1 antitripsino stoka, fenotipai, lėtinė obstrukcinė plaučių liga.

Santrauka. Polinkis sirgti lėtine obstrukcine plaučių liga (LOPL) nulemtas tiek išorinės aplinkos, tiek genetinių veiksnių. Nors rūkymas yra vienas pagrindinių lėtinės obstrukcinės plaučių ligos rizikos veiksnių, egzistuoja ir įrodytas genetinis polinkis sirgti šia liga, kai yra įgimta alfa 1 antitripsino (AAT) stoka. Alfa 1 antitripsino stoka – viena dažniausių europiečių genetinių ydų, pažeidžianti maždaug 1 iš 1600–3000 asmenų. AAT – proteazių inhibitorius, apsaugantis plaučių audinį nuo žalingų išorinės ir vidinių veiksnių. Kai stinga šios antiproteazės, ardamos alveolių sienelės ir formuojasi lėtinė obstrukcinė plaučių liga arba emfizema. AAT stoka statistiškai reikšmingai susijusi su ankstyvu LOPL pasireiškimu ir sparčiu ligos progresavimu, invalidumu, trumpesne gyvenimo trukme. AAT stoka diagnozuojama 1–3 proc. LOPL sergančių asmenų. Tipinės AAT stokos atvejais žmogus turi būti gavęs po pakitusį PI geną (PI Z, PI S, PI Null) iš abiejų tėvų, nes liga paveldima autosominiu recesyviniu būdu. Daugeliui LOPL sergančių pacientų AAT stoka lieka nediagnozuota. Taigi ankstyva LOPL pacientų patikra dėl alfa 1 antitripsino stokos – svarbi ligos priežastiniam veiksniumi nustatyti, ligos eigai prognozuoti, gydymui bei profilaktikai.

ĮVADAS

Alfa 1 antitripsino stoka pirmą kartą aprašyta 1963 metais, bet ligos genetika, patofiziologija ir galimybės gydyti geriau suprastos tik pastaraisiais metais.

AAT – vienas pagrindinių proteazių inhibitorių, priklausantis serpinų šeimai (serino proteazių inhibitoriams). AAT koduoja 12,2 kb PI (proteazės inhibitoriaus) genas, sudarytas iš 7 egzonus ir 6 intronų, esantis 14q31–31.2 chromosomoje [1]. Dažniausias alelis, lemiantis AAT stygių, yra PI Z, kuris būdamas homozigotinės formos (PI ZZ) mažina AAT koncentraciją serume. Šio baltymo stoką serume ir audiniuose, įskaitant ir plaučius, lemia dviejų proteazių inhibitorių – mutavusių AAT alelių – paveldėjimas.

Didžioji AAT dalis sintetinama kepenų ląstelėse, tačiau šį glikoproteiną išskiria ir monocitai, makrofagai bei plaučių alveolių epitelio ląstelės. Tai ūminės fazės baltymas, jo koncentracija plazmoje didėja esant uždegimui ar infekcijai. Medžiaga taip pavadinta dėl gebėjimo slopinti tripsiną, tačiau pagrindinė jos funkcija – slopinti neutrofilų elastazę (NE), ardančią audinių elastiną, esantį už ląstelių ribų. Z molekulės variantas, kuris yra dažniausias fenotipas, lemiantis LOPL, sąlygoja normalų mRNR ir antitripsino sintezės greitį, tačiau šiuo atveju AAT molekulės struktūra ir funkcija būna pakitusios dėl polimerizacijos ir tik 15 proc. medžiagos patenka į bendrą kraujotaką. 85 proc.

pagaminto antitripsino lieka sukaupta hepatocituose, šios sankaupos gali būti per mikroskopą matomos kaip dideli intarpai citoplazmoje. Lėtinė obstrukcinė plaučių liga yra dažniausia šios medžiagos stokos klinikinė išraiška, taip pat ir pagrindinė šių ligonių invalidumo ir mirties priežastis.

LOPL yra patologinė būklė, kuriai būdinga nevisiškai išnykstanti, progresuojanti ir neįprastą plaučių uždegimo atsaką į įkvėpiamas kenksmingas daleles lemianti bronchų obstrukcija. Liga pasireiškia plaučių emfizemos ir lėtinio bronchito požymiais. LOPL patogenezei svarbus ne tik genetinių ar aplinkos veiksnių poveikis, bet ir šių veiksnių tarpusavio sąveika [2]. Visame pasaulyje vyksta tyrimai, skirti analizuoti šiuos veiksnius.

Jei rūkantis asmuo stokoja AAT, emfizema atsiranda 10–15 metų anksčiau nei rūkaliams, kuriems AAT nestinga. AAT stoka statistiškai reikšmingai susijusi su ankstyvu LOPL pasireiškimu ir sparčiu ligos progresavimu, invalidumu, trumpesne gyvenimo trukme. AAT stokojuosiesiems pacientams emfizema dažniausiai pasireiškia jau apie keturiasdešimtuosius gyvenimo metus [3]. AAT trūkumas nustatomas 1–3 proc. LOPL sergančių ligonių [4].

Izoelektrinio fokusavimo technologija nustatyta apie 100 genetinių AAT variantų. Abėcėlinis šių variantų suskirstymas remiasi jų judrumo greičiu elektroforezės plokštelėje. Greičiau judantys variantai žymimi

pirmesne abėcėlės raide, o lėčiau judantys – tolesne (Z variantas juda lėčiausiai). M1, M2, M3 ir M4 yra nemutacinio (angl. *wild type*) tipo AAT geno variantai. PI MM fenotipas yra vidutinio judrumo. Jo dažnumas europiečių populiacijoje – 94–96 proc. [5]. Apie 2–3 proc. europiečių yra heterozigotai (PI MZ). Daugelio tyrimų suvestinės analizės rodo, kad pasaulyje 3,4 milijonai gyventojų turi genetinį PI ZZ variantą, lemiantį AAT stoką. Deja, dažnam LOPL pacientui AAT stoka lieka nedideliu [6].

EPIDEMIOLOGIJA

Nedidelis PI ZZ fenotipo dažnumas bendrojoje populiacijoje pasunkina tikslų duomenų surinkimą. Patikslinti naujagimių sergamumą šia liga padėjo kai kuriose šalyse vykdoma visuotinė naujagimių patikra AAT stokai nustatyti. Švedijoje 1972–1974 metais iš 200 tūkst. tirtų naujagimių 127 turėjo PI ZZ fenotipą. Apskaičiuotas ligos dažnumas – 1 iš 1600 naujagimių. Amerikos tyrimų duomenimis, ligos dažnumas yra 1 iš 2800–5000 naujagimių [5], o Europoje nustatytas didelis Z geno paplitimo svyravimas įvairiose šalyse. AAT stokos atvejų dažnumas Baltijos jūros regiono šalyse yra apie penkis kartus didesnis nei likusioje Europos teritorijoje.

AAT stoka (PI ZZ) yra paveldima autosominiu recesyviniu būdu. Tikimybė susilaukti vaiko, turinčio homozigotinį genotipą, – 1 iš 4, jei abu tėvai yra Z alelio nešiotojai. Jei vienas iš tėvų turi PI ZZ genotipą, o kitas yra heterozigotas (nešiotojas), vaikai bus arba nešiotojai, arba ligoniai (PI ZZ).

NEUTROFILŲ SUKELIAMO UŽDEGIMO MECHANIZMAS STOKOJANT AAT

Neutrofilų sukeltas kvėpavimo takų uždegimas vaidina svarbų vaidmenį LOPL patogenezėje. Pakankama AAT koncentracija plaučių audinyje slopina su neutrofilų aktyvumu susijusius uždegimo mechanizmus. AAT stokojančių pacientų alveoliniai makrofagai, stimuliuojami neutrofilų elastazės (NE), išskiria leukotrieną B4 – stiprų neutrofilų traukos veiksnį. Normaliomis sąlygomis to nebūna, nes neutrofilų elastazė yra „surišama“ AAT molekulių ir tampa neaktyvi. Be to, interleukinas-1, navikų nekrozės faktorius ir neutrofilų elastazė skatina trombocitų aktyvacijos faktorius (TAF) sintezę ir išsiskyrimą iš daugelio rūšių ląstelių, įskaitant ir makrofaigus. O TAF yra stiprus neutrofilų traukos (chemotaksio) veiksnys. TAF ir kitų citokinų išsiskyrimas yra slopinamas nepakitusio AAT molekulių. Kai AAT elastazę slopinantis poveikis nepakankamas, skatinamas kvėpavimo takų uždegimas ir jautrumo padidėjimas, lemiantis spartesnį plaučių audinio ardymą ir persitvarkymą. Pagal naujus molekulinį tyrimų duomenis neaktyvios formos AAT molekulės polimerizuojasi, o polimerai, būdami alveolių spindyje, patys atlieka neutrofilų chemotaksio funkciją [7].

AAT SOKOS KLINIKOS YPATUMAI

Susirgimą LOPL bei ligos sunkumą esant PI ZZ fenotipui lemia daug veiksnių. Įrodyta, kad rūkymas šiuo atveju yra svarbiausias veiksnys, sąlygojantis emfizemos atsiradimą. AAT stokojančiams rūkaliams spirometrijos rodmuo – forsuito iškvėpimo tūris per 1 sekundę (FEV₁) – kasmet sumažėja 130 ml, o metusiųjų rūkyti – 70 ml [8]. Vėlesnių tyrimų duomenimis, per metus rūkančiųjų FEV₁ sumažėja – 70 ml, niekada nerūkiusiųjų – 47 ml, o metusiųjų rūkyti – 41 ml. Rezultatai rodo, kad metus rūkyti ir niekada nerūkius FEV₁ mažėjimo greitis esti panašus. Iš kitų veiksnių, turinčių įtakos spartesniam kvėpavimo funkcijos rodiklių blogėjimui, galima paminėti dažną kvėpavimo takų bakterinių ir virusinių infekcijų paūmėjimą, darbą su kenksmingomis cheminėmis medžiagomis ar aerozolio dulkelėmis, vyresnį amžių bei vyrišką lytį. Skirtingą lėtinės obstrukcinės ligos sunkumą AAT stokos atvejais galima paaiškinti tuo, kad LOPL pasireiškimui turi reikšmės ir kiti genetiniai veiksniai: matrikso metaloproteazių, alfa 1 chimotripsino, navikų nekrozės faktorius, D vitaminą sujungiančio baltymo, HLA genai. LOPL priklauso daugiakilmių ligų grupei. Todėl net ir PI ZZ genotipas ne visada yra nuosprendis neišvengiamai susirgti LOPL: kai kuriems nerūkantiems asmenims emfizemos gali ir nebūti, o jų gyvenimo trukmė nesutrumpėja [9]. Tai, matyt, priklauso nuo genetinių determinantų, lemiančių kitus apsauginius plaučių mechanizmus. Daliai pacientų, stokojančių AAT (dažniausiai PI ZZ fenotipo), išryškėja hepatito požymių, o po 50-ųjų gyvenimo metų net keliolika kartų padidėja tikimybė susirgti kepenų vėžiu. Išimtis – pacientai, turintys AAT stokos fenotipą PI Null-Null, kuris nedidina rizikos sirgti kepenų ligomis. Kai kurių tyrėjų atlikti tyrimai rodo AAT susijus ir su kitomis ligomis. Vaikų, sergančių glomerulonefritu su nefroziniu sindromu, kraujo serume buvo nustatyta mažesnė AAT koncentracija [10].

AAT STOKOS DIAGNOSTIKA

Paprasčiausias būdas nustatyti AAT stoką – ištirti AAT koncentraciją serume. Normali AAT yra nuo 1 iki 2,6 g/l. Dažniausio stokos varianto (PI ZZ) atveju koncentracija tesiekia 20 proc. normalios (paprastai mažiau kaip 0,3 g/l), o nešiojimo (PI MZ) atveju – 80 proc. Diagnozuojant taikomi šiuolaikiniai tyrimai, kaip antai kokybinis imunofermeninis tyrimas, kuriuo nustatomas mutavęs AAT „Z“ alelis, daugiau skirtingi patikrai [11]. Tikslus AAT fenotipas nustatomas izoelektriniu fokusavimu. Dažniausias fenotipas – PI MM, jis yra normos variantas ir pasitaiko apie 94 proc. atvejų. Kiti fenotipai: PI ZZ, PI ZNull, PI NullNull, PI SZ (lemiantys didelį AAT stygių), PI SS, PI SNull, PI MNull, PI MZ, PI MS (lemiantys lengvesnio laipsnio AAT stygių). Molekuliniiais genetiniiais tyrimais nustatoma mutacija, lėmusi patologinį fenotipą.

Kiekybinio AAT tyrimo atlikimo rekomendacijos (tikimybes aptikti patologiją mažėjimo tvarka):

1. Ankstyva plaučių emfizema (iki 45 metų amžiaus).
2. Visi asmenys, sergantys LOPL.
3. AAT stoką turinčių pacientų šeimos nariai.
4. Dusulys ir lėtinis kosulys, varginantis daugelį gyvenamųjų, tos pačios ar kitų kartų.
5. Nežinomos kilmės kepenų liga.
6. Suaugę asmenys, sergantys nežinomos kilmės bronhektazėmis.
7. Astma sergantys asmenys, kurių spirometrijos rodikliai gydant nesinormalizuoja.
8. Įtariamasis antiproteazės-3 vaskulitas.

PROGNOZĖ IR LIGOS AKTUALUMAS

Keletu tyrimų nustatyta, kad FEV₁ rodmuo yra tiksliausias AAT stokojančių LOPL pacientų išgyvenamumo prognozės rodiklis. Danijos AAT stokos registro duomenimis, kol FEV₁ viršijo 35 proc. išgyvenančiųjų dvejus metus nemažėjo. Asmenų, turinčių PI ZZ genotipą, kurių FEV₁ nesiekė 35 proc., 2 metų išgyvenamumas mažėjo eksponentiškai, priklausomai nuo FEV₁ mažėjimo greičio. Kai FEV₁ rodiklis buvo 15 proc., per dvejus metus mirė 50 proc. ligonių [9].

Nustatyti genetinius pokyčius ligoniams svarbu ir dėl to, kad tada galima taikyti pakeičiamąjį gydymą alfa 1 antitripsinu, kuris padeda pristabdyti ligos progresavimą, užkirsti kelią priešlaikiniam invalidumui ir net mirčiai [12]. Išsiaiškinus šios genetinės ligos atvejus, sudaromas specialus pacientų sveikatos būklės stebėjimo planas. Rekomenduojamos profilaktikos priemonės yra skiepai nuo gripo ir pneumokokinė vakcina. Ligoniams kategoriškai draudžiama rūkyti.

Deja, dauguma alfa 1 antitripsino stokos atvejų lieka nediagnozuoti, taigi būtina vykdyti atrankinių pacientų grupių, ypač sergančių LOPL, patikrą dėl AAT stokos.

IŠVADOS

1. Alfa 1 antitripsino stoka – patikimai įrodytas genetinis veiksnys, lemiantis didesnę riziką susirgti lėtine obstrukcine plaučių liga. Šiuo atveju lėtinės obs-

trukcinės plaučių ligos eiga būna sunkesnė, liga greičiau progresuoja ir trumpina paciento gyvenimo trukmę.

2. Didžioji dalis tyrimų rodo, kad, palyginti su bendrąja populiacija, PI Z geno nešiotojams (PIMZ ir PISZ) gresia didesnė rizika susirgti lėtine obstrukcine plaučių liga.
3. Daugumai lėtine obstrukcine plaučių liga sergančių pacientų alfa 1 antitripsino stoka lieka nediagnozuota, taigi būtinas didesnis gydytojų budrumas šios ligos diagnostikos klausimais.
4. Anksti diagnozavus ligą, įmanomas veiksmingas pakeičiamasis gydymas alfa 1 antitripsinu. Išsiaiškinus sveikus asmenis, kuriems gresia didesnė rizika susirgti lėtine obstrukcine plaučių liga, galima laiku imtis profilaktikos priemonių. Taip pat svarbu pacientams paaiškinti genetinę prognozę: labai gali būti, kad liga sirgs ir kiti šeimos nariai.

ALPHA-1 ANTITRYPSIN PHENOTYPES DURING CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

DANIELIUS SERAPINAS, BRIGITA ŠITKAUSKIENĖ, RAIMUNDAS SAKALAUSKAS
DEPARTMENT OF PULMONOLOGY AND IMMUNOLOGY
KAUNAS UNIVERSITY OF MEDICINE

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

Summary. Variability in the susceptibility to develop chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is related to both genetic and environmental factors. Smoking is one of the main evidenced risk factor for COPD, but alpha-1 antitrypsin (AAT) deficiency remains proven genetic risk factor for COPD. Alpha-1 antitrypsin deficiency is one of the most common genetically-linked lethal diseases among Caucasians, affecting approximately 1 in every 1600-3000. Alpha-1 antitrypsin is a serine protease inhibitor (serpin). It protects lung tissue from destructive exogenous and endogenous factors. A lack of alpha-1 antitrypsin leads to alveolar destruction and development of COPD or pulmonary emphysema. Affected individuals become invalid in a shorter time. For 1-3% individuals with COPD, alpha-1 antitrypsin deficiency is determined. AAT deficiency is disorder which is transmitted in a co-dominant, autosomal form. Mutant alleles (Z, S, Null) individual inherits from both parent and this can lead to severe Alpha-1 antitrypsin deficiency. AAT 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. Cox DW, Woo SLC, Mansfield T. DNA restriction fragments associated with alpha-1-antitrypsin indicate a single origin for deficiency allele PI Z. *Nature* 1985;316:79-81.
2. Dawn L, DeMeo, Edwin K, Silverman. Genetics of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2003 *Semin Respir Crit Care Med* 24(2):151-159.
3. Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, et al. A longitudinal study of alpha-1-antitrypsin phenotypes and decline in FEV1 in a community population. *Chest* 2003;123:1435-40.
4. Richmond RJ, Zellner KM Alpha1-antitrypsin deficiency: incidence and implications. *Dimens Crit Care Nurs*. 2005 Nov-Dec;24(6):255-60.
5. De Serres F. Worldwide racial and ethnic distribution of alpha-1-antitrypsin deficiency: summary of an analysis of published genetic epidemiologic surveys. *Chest* 2002;122:1-12.
6. Zielinski J, Kuca P. Alpha-1 antitrypsin deficiency: a cause of COPD not sufficiently recognized in Poland. *Pneumonol Alergol Pol*. 2004;72(9-10):364-6.
7. Lomas DA. Antitrypsin deficiency, the serpinopathies, and chronic ob-

structive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2006 Aug;3(6):499-501

8. Mcelvaney NG et al. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Group. Baseline characteristics of enrollees in the National Heart, Lung, and Blood Institute Registry of alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Chest* 1997;111:394-403.
9. Seersholm N, Kok-jensen A, Dirksen A. Survival of patients with severe with alpha-1-antitrypsin deficiency with special reference to non index cases. *Thorax* 1994;49:695-698.
10. Kaltianis PA, Basis Vlu, Ignatova MS, Stakishaitis DV, Baukene DK, Dlin VV, Bondarenko NA. Study of serum levels of alpha 1-antitrypsin and alpha macroglobulins in children with glomerulonephritis. *Pediatrriia*. 1991;(7):66-9.
11. Costa X., Jardi R, Rodriguez F, Miravittles M, Cotrina M, Gonzalez C, et al. Simple method for alpha-1 antitrypsin deficiency screening by use of dried blood spot specimens. *Eur Respir J* 2000;15:1111-5.
12. Abusriwil H, Stockley RA. Alpha-1-antitrypsin replacement therapy: current status. *Curr Opin Pulm Med*. 2006 Mar;12(2): 125-31.