

Bases genéticas y moleculares de alfa-1 antitripsina (SERPINA1) y su papel en la EPOC

RAMCÉS FALFÁN-VALENCIA*

IRMA SILVA-ZOLEZZI†

GLORIA PÉREZ-RUBIO*

ÁNGEL CAMARENA*

FABIOLA MORALES-MANDUJANO†

MARTHA MONTAÑO*

ALEJANDRA RAMÍREZ-VENEGAS*

* Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas. México, D.F.

† Instituto Nacional de Medicina Genómica. México, D.F.

Trabajo recibido: 24-IX-2009; aceptado: 09-XI-2009

Conflicto de intereses: Ninguno

RESUMEN

124

La determinación obligada de alfa-1 antitripsina en todos los individuos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una medida adoptada recientemente por la American Thoracic Society, el American College of Chest Physicians, la European Respiratory Society, la Organización Mundial de la Salud y la American Association for Respiratory Care. Adicionalmente, investigadores básicos y clínicos se

Palabras clave:

EPOC, AAT, SNP's.

Key words:

COPD, AAT, SNP's.

han dedicado a la tarea de estimar la frecuencia poblacional de los alelos de riesgo (PiZ y PiS, principalmente) asociados a la deficiencia de alfa-1 antitripsina. Por otro lado, dicha deficiencia ha sido relacionada al desarrollo de EPOC mayoritariamente en poblaciones caucásicas, aunque ya existen reportes de frecuencias poblacionales elevadas en individuos de origen distinto a la raza blanca, entre ellos africanos, árabes, neozelandeses y asiáticos, entre otros. Desafortunadamente, se carece de datos sobre la frecuencia de dichos polimorfismos en poblaciones latinoamericanas, que poseen un alto grado de mestizaje producto de la mezcla de genes de poblaciones de nativos americanos y europeos llegados con el descubrimiento y conquista de América, además de las continuas olas migratorias de europeos debidas a expatriaciones, exilios políticos o guerras. La presente revisión busca abundar en los conceptos genéticos, moleculares y epidemiológicos de la deficiencia de alfa-1 antitripsina y la relación que guarda con la EPOC.

ABSTRACT

Alpha-1 antitrypsin testing in all individuals with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a mandatory recommendation made by the American Thoracic Society, the American College of Chest Physicians, the European Respiratory Society, the World Health Organization, and the American Association for Respiratory Care. Additionally, basic and clinical researchers have focused their efforts to determine the population frequency of risk alleles (PiZ and PiS, mainly) associated to alpha-1 antitrypsin deficiency. In the other hand, such deficiency has been linked to COPD development, overall in Caucasians populations, even though there are reports about increased frequencies in non-white populations such as Africans, Arabians, New Zealanders, and Asians. Unfortunately, there is a lack of data about frequency of these polymorphisms in Latin American populations, which have a high degree of genetic admixture between native Americans and Europeans arrived with the America's discovery and conquest, besides the constant arrival of European migratory groups due to expatriation, political exile or war. This review is aimed to perform a more in-deep analysis of genetic, molecular and epidemiological concepts about alpha-1 antitrypsin deficiency and its relationship with COPD.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La alfa-1 antitripsina (AAT) es la principal α 1-globulina del suero humano, la proteína fue inicialmente identificada por electroforesis y aislada en 1962 por Schultze HE *et ál*,¹ denominada de esta manera por su habilidad para inhibir la tripsina pancreática.²

En 1965 Carl-Bertil Laurell y Sten Eriksson describieron individuos con niveles reducidos de AAT, y sugirieron que existía cierta relación con el enfisema pulmonar.³ Estudios posteriores en pacientes con deficiencia de AAT y familiares afectados (pedigrís) confirmaron la asociación y sugirieron un patrón de herencia codominante.^{3,4} El caso más antiguo del que se tiene conocimiento es el de una niña de Alaska que murió hace 800 años,⁵ y presumiblemente es la causa de la muerte del músico Frederic Chopin y una de sus hermanas, según sugieren datos clínicos procedentes de cartas personales y un hipotético árbol genealógico,⁶ hecho que no es concluyente pues datos recientes acerca de su muerte resultan contradictorios.⁷

Por otro lado, poco se sabía acerca de los factores ambientales contribuyentes a la enfermedad pulmonar en presencia de la deficiencia de AAT. Fue en 1977 que Larsson C *et ál*,⁴ y en 1979 Sveger T *et ál*,⁸ documentaron el efecto aditivo que ejerce el hábito tabáquico en individuos heterocigotos para el fenotipo de deficiencia de AAT, cambios que incluyen pérdida de la retracción elástica, volúmenes residuales aumentados y disnea secundaria al ejercicio pero sin daño obstructivo en la vía aérea.⁴ Además, demostraron que sujetos fumadores heterocigotos tienen una reducción significativa en su expectativa de vida comparada con aquellos heterocigotos no fumadores.⁸

NOMENCLATURA

En la literatura científica, la alfa-1 antitripsina humana, recibe distintas denominaciones, entre éstas: alfa1 proteinasa inhibidor, proteasa inhibidor 1 (anti-elastasa), inhibidor de serín (o cisteín) proteinasas, además de una cantidad similar de símbolos inconsistentes como A1A, A1AT, A1AT_human, PI, PI1,⁹ entre otros. Para evitar el

uso de estos múltiples "alias" el Comité de Nomenclatura de Genes HGNC (del inglés HUGO, *Gene Nomenclature Committee*) dependiente de la Organización del Genoma Humano (del inglés, *Human Genome Organization*), establece el nombre y símbolo oficiales de los genes en humanos con la finalidad de proveer un nombre y símbolo único. En este caso, la nomenclatura establecida para el gen de la AAT es: Inhibidor de serpín peptidasa clase A, miembro 1 cuyo nombre en inglés corresponde a *serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 1* y el símbolo aprobado es SERPINA1.¹⁰

LA AAT, UN INHIBIDOR DE SERÍN PROTEASAS

La AAT es posiblemente el miembro más ubicuo de una familia heterogénea de proteínas, los inhibidores de serín proteasas. Los SERPIN por su acrónimo en inglés (*SER*ine *Pro*teinase *INH*ibitors) son una superfamilia de proteínas de tamaño relativamente grande (330 a 500 aminoácidos), tienen una estructura conservada y emplean un mecanismo inhibidor único, su distribución se expande a los reinos *metazoa*, *plantae*, *archaeae* y ciertos poxvirus.^{11,12} En general, la evidencia sugiere que los SERPIN surgieron antes de la divergencia entre plantas y animales (~ hace 2.7 billones de años) incluso antes del desarrollo eucariota, hace más de 3.9 billones de años, otra posibilidad dicta que los SERPIN son una familia joven de genes adquirida por transferencia horizontal a través de los virus.¹³ Actualmente se han descrito más de 1,500 miembros de esta familia de genes.^{11,12} Muchos SERPIN inhiben serín proteasas de la familia quimotripsina. Algunos miembros de esta familia y sus blancos biológicos son: CrmA y PI9 (SERPINB9) que inhiben la cisteín proteasa caspasa 1 y SCCA1 (SERPINB3) que neutraliza las cisteín proteasas similares a papaína Cathepsinas L, K y S. Aunque en humanos, la mayoría de los SERPIN (27 de 36) tienen funciones inhibitorias, algunos ejercen otras funciones, como el transporte de hormonas (SERPINA6 y 7),¹⁴ regulación de la presión sanguínea (SERPINA8),¹⁵ chaperonas moleculares¹⁶ y supresores de tumores.¹⁷ Un estudio filogenético dividió a los

SERPIN de eucariotas en 16 "clases" (de A-P). Las proteínas son denominadas SERPINXy, donde la "X" es la clase y la "y" es el número dentro de la clase. A la fecha, se han descrito 13 miembros para SERPIN de clase A, 13 para B, 3 para E, 2 para F e I y sólo 1 para cada una de las clases C, D, G y H.¹²

Se han determinado alrededor de 70 estructuras proteicas de SERPIN, las cuales utilizan un mecanismo de acción "suicida" o de "uso único" que involucra un extenso cambio conformacional para inhibir las proteasas.¹⁸ Dicho mecanismo consiste en una fase de acilación que forma un intermediario covalente acil-enzima, con liberación del primer producto, y una fase de desacilación en la que una molécula de agua rompe el intermediario con liberación del segundo producto. Todas estas enzimas tienen un centro activo formado por 3 aminoácidos conservados, serina, histidina y aspartato, conjunto que recibe el nombre de tríada catalítica. Esta movilidad conformacional vuelve a las SERPIN termolábiles y vulnerables a las mutaciones que promueven cambios conformacionales espontáneos, pliegues erróneos, formación de polímeros inactivos y deficiencia total o parcial de SERPIN. En humanos se han descrito diversas "serpinopatías" relacionadas con la polimerización de SERPIN, o disminución en su concentración, p. ej., el enfisema pulmonar secundario a deficiencia de AAT (SERPINA1), trombosis por deficiencia de antitrombina (SERPINC1),¹⁹ y el angioedema por deficiencia del inhibidor esterasa C1 (SERPING1).²⁰ La acumulación de polímeros en el retículo endoplásmico de las células productoras también degenera en enfermedad, siendo la cirrosis hepática ocasionada por agregados de SERPINA1¹² y la demencia familiar originada por defectos en la polimerización de la neuroserpina (SERPINI1),²¹ ejemplos en la literatura.

ESTRUCTURA DE LOS SERPIN

En su forma nativa adoptan una conformación metaestable que gana estabilidad después de la formación de un complejo con la proteasa blanco.²² Consiste de una estructura terciaria conservada compuesta por tres láminas β (A, B y C) y 8 a 9 α -hélices (nombradas hA a hI), la región

responsable de la interacción con las proteasas blanco se denomina centro reactivo de giro (RCL, del inglés, *reactive center loop*), el cual es un segmento flexible y expuesto de aproximadamente 17 aminoácidos anclado entre las láminas β A y C.^{11,12} Los SERPIN pueden experimentar rearrreglos estructurales que involucran conformaciones alternativas para el RCL, la lámina β A y la cadena 1 de la lámina β C. Esta transición conformacional es denominada estresada "s" (por *stressed*) o relajada "r" (por *relaxed*) transición que utilizan los SERPIN para inhibir las proteasas blanco. En el complejo final SERPIN-proteasa, la proteasa permanece unida covalentemente al SERPIN ocasionando una distorsión severa en la proteasa en comparación con su conformación nativa, estos cambios conducen a la distorsión del sitio activo, lo cual previene la hidrólisis eficiente del acil intermediario y subsecuente liberación de la proteasa.¹² Posterior a la formación del complejo con un SERPIN, los sitios de clivaje ocultos en la tripsina quedan expuestos, es posible que el clivaje de tales sitios crípticos dentro de la proteasa ocurra *in vivo*, resultando en inactivación enzimática permanente. En el caso del clivaje del RCL como requerimiento absoluto de la reacción, indica que los SERPIN son inhibidores "suicidas" y por lo tanto irreversibles.^{11,12}

La principal ventaja de los SERPIN sobre otros inhibidores de proteasas pequeños, tal como el inhibidor básico de tripsina pancreática de sólo 60 aminoácidos, radica en que dicha actividad inhibitoria puede ser estrictamente controlada por cofactores específicos; p. ej., la antitrombina (SERPINC1) tiene una actividad disminuida en contra de la proteasa trombina y el factor Xa, hasta que SERPINC1 es activado por el cofactor heparina.¹²

SERPINA1

Se expresa principalmente en los hepatocitos y la proteína se libera a la circulación sanguínea por el hígado, en una concentración de 120-220 mg/dL, determinados por nefelometría. En condiciones normales el hígado secreta 34 mg/kg/día, que se incrementan 2-5 veces en procesos inflamatorios, tumorales e infecciosos.²³ La AAT presente en el suero representa el 40% del to-

tal de la proteína, el restante 60% se encuentra en el espacio extracelular²³ presente en todos los tejidos corporales, pero al parecer su relevancia fisiológica es en el pulmón, donde protege al frágil alvéolo del daño proteolítico de la enzima neutrófilo elastasa (NE),²⁴ que es capaz de digerir la elastina, las membranas basales y otros componentes de la matriz extracelular, también neutraliza las α defensinas del neutrófilo, el leucotrieno B4 (LTB4) y la interleucina-8 (IL-8), potentes quimioattractantes de neutrófilos, modula la adhesión de la NE al receptor de membrana fosfatidilserina del neutrófilo, proceso necesario para la apoptosis, sugiriendo un papel importante en la resolución de la inflamación. Además, posee 9 radicales de metionina, lo que le confiere una importante capacidad antioxidante.²³

Localización y estructura génica de SERPINA1

Se encuentra en el brazo largo del cromosoma 14, banda citogenética 14q32.13,²⁵ el inicio del gen se ha determinado en la posición 93,914,451 pb y el de término en 93,926,782 pb, estableciendo un tamaño de 12,332 pb para el gen, de orientación reversa (hebra menos);⁹ los detalles de la localización del gen se concentran en la Figura 1. Morgan K *et ál*,²⁶ describieron la

estructura génica de AAT en 7 exones: 1A, 1B, 1C y los exones 2 al 5 que codifican para la proteína, mientras que los exones 1A, B y C sufren rearrreglos diferenciales de tipo selección y empalme (*splicing*).

Transcritos

El gen SERPINA1 da origen a 6 transcritos diferentes, 5 de los cuales son codificantes, las características de cada uno se resumen en la Tabla I.²⁵

En monocitos se han descrito al menos 3 sitios distintos del inicio de la transcripción, en las posiciones -2064, -2028 y -406, denominados M1, M2 y M3, respectivamente, que a su vez generan transcritos de 2.0, 1.95 y 1.8 kb,^{24,26} adicionales a los transcritos de 1.6 kb procedentes del hepatocito y córnea, estos 2 últimos, aunque generan transcritos del mismo tamaño, poseen diferentes sitios de inicio de la transcripción. El significado biológico para estos transcritos alternativos aún no es claro, pero se sugiere que puede diferir en términos de estabilidad de RNA y/o eficiencia del transcrito.²⁶ Hepatocitos y monocitos/macrófagos tienen diferentes promotores;²⁷ los promotores regulan la expresión basal, mientras que los elementos de unión a DNA conocidos como *enhancers* modulan la expresión durante

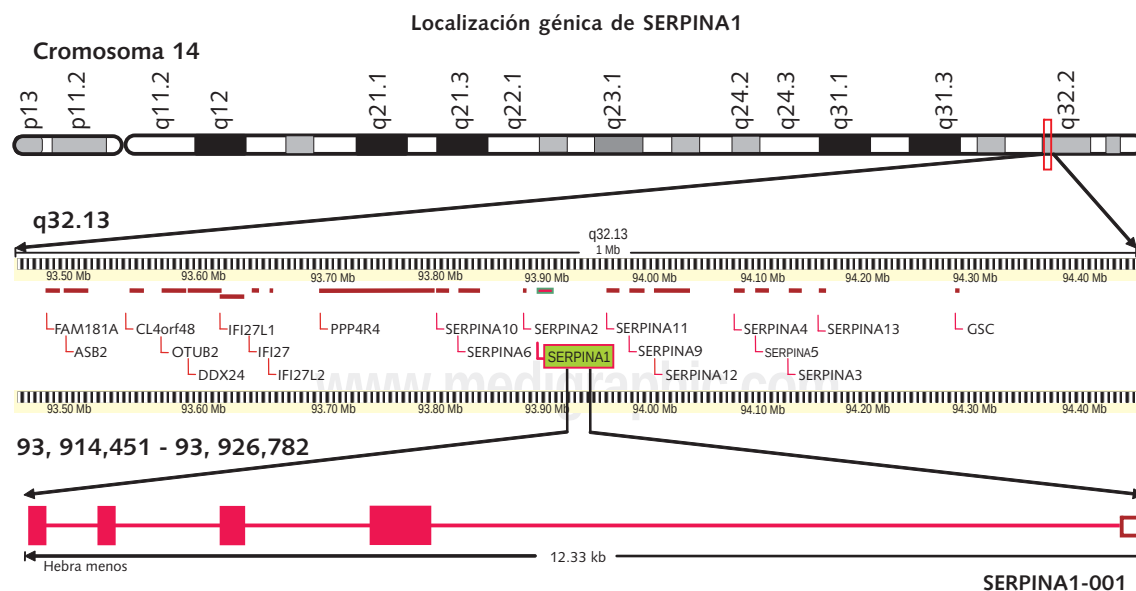


Figura 1. Localización del gen SERPINA1 en el extremo distal del brazo largo del cromosoma 14.

el proceso inflamatorio.²⁴ Existen promotores tejido específicos para las células hepáticas y promotores alternativos para otros tejidos que expresan SERPINA1. La expresión basal en el hepatocito se encuentra regulada por la acción sinérgica de los factores de transcripción nuclear 1 α y 4. Un *enhancer* localizado a 1.2 kb del extremo 3' del último exón modula la expresión inducida por citocinas, particularmente IL-6 y oncostatina M (OSM).^{24,26} Se han descrito 2 tipos de secuencias de DNA que pueden mediar la respuesta a IL-6. Los elementos tipo 1 (TT/GNNGT/CAAT/G) se unen a factores de transcripción miembros de la familia C/EBP (del inglés, *CCAAT enhancer binding protein*), particularmente al factor nuclear de IL-6. Otro factor de transcripción es C/EBP α , regulador negativo que compete con NF-IL6 por la unión. Los elementos tipo 2 (TTCNNGAA), conocidos como

elementos de respuesta a fase aguda APRE (del inglés, *acute-phase response element*) se encuentran regulados por la vía JAK/STAT.²⁶ La transcripción dependiente de los promotores es mutuamente excluyente, es decir, el promotor activo en macrófagos se encuentra silente en hepatocitos y el promotor activo en hepatocitos está silente en macrófagos.²⁷

El sitio de inicio de la traducción para todos los transcritos de SERPINA1 se encuentra cercano al inicio del exón 2 y el sitio activo se codifica por el exón 5. El codón de inicio (ATG) se localiza en la posición +5360 en tanto que el de paro (TAA) en la +10143, produciendo una proteína de 418 aminoácidos de longitud, que incluye una secuencia señal de 24 aminoácidos. Los monocitos expresan 4 transcritos alternativos de RNAm que varían en longitud y estructura: 1) de 1.8 kb que incluye todo el exón 1A, 2) de 1.9 kb que incluye el exón 1 con una delección de 50 pb de la región 5' del final del exón 1A, 3) de 1.95 kb en el que todo el exón 1A ha sido eliminado y 4) de 2 kb donde todo el exón 1B se encuentra ausente. La estimulación con citocinas en ensayos *in vitro* en células U937 y A549²⁶ conduce preferentemente a transcritos con el exón 1B removido, el cual se ha sugerido que actúa como un represor traduccional y removerlo puede ser importante en la producción rápida de la proteína a nivel local.²⁴ La Figura 2 esquematiza el transcrito SERPINA1-002, así como los sitios de inicio de la transcripción descritos en la literatura.

Tabla I. Transcritos de SERPINA1.

Transcrito	Exones	Longitud Transcrito (pb)	Longitud Proteína (aminoácidos)
SERPINA1-001	5	1,585	418
SERPINA1-002	7	1,899	418
SERPINA1-003	6	1,625	418
SERPINA1-004	5	1,604	418
SERPINA1-005	4	1,562	—
SERPINA1-006	4	1,450	359

Características moleculares de los transcritos alternativos para SERPINA1. Las longitudes se expresan en pares de bases (pb) o residuos de aminoácidos, según sea el caso.

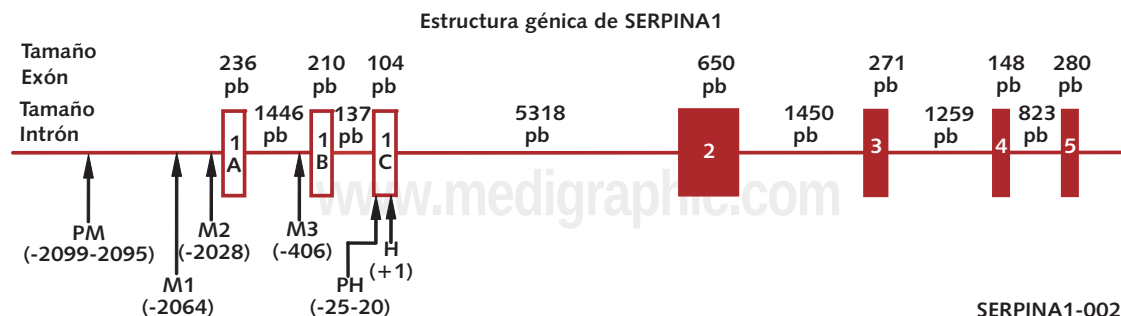


Figura 2. Representación esquemática del gen SERPINA1 (transcrito 002). Se señalan con flechas los sitios de inicio de la transcripción en diferentes tipos celulares. PM: Promotor en monocitos; M1, M2 y M3: Sitio de inicio de la transcripción en monocitos; PH: Promotor en hepatocitos; H: Sitio de inicio de la transcripción en hepatocitos. Idea basada en la referencia 24 y actualizado con datos según referencia 25.

HERENCIA Y POLIMORFISMO

El gen de la AAT se transmite por herencia mendeliana simple de manera autosómica codominante mediante 2 alelos, uno de cada progenitor, que se expresan independientemente en los hijos al 50%.^{28,29}

Este gen se caracteriza por su gran polimorfismo. Mediante isoelectroenfoque (IEF), se han identificado hasta la fecha más de 70 variantes proteicas,²⁸ y con el avance de las técnicas de identificación el número alcanza las 100.³⁰ El conjunto de variantes es denominado sistema Pi (del inglés, *protease inhibitor*). La mayoría de las variantes carecen de significado clínico, sólo alrededor de 30 se sabe que pueden tener repercusiones patológicas.²⁸

Las variantes se clasifican de acuerdo con su velocidad de migración electroforética en un campo magnético con distintos gradientes de pH. Los investigadores pioneros en el tema denominaron M (del inglés, *medium*) a las de velocidad media, F (del inglés, *fast*) a las de velocidad rápida, y S (del inglés, *slow*) a las de migración lenta.²³ Cuando se descubrieron nuevas variantes se designó con las letras iniciales del alfabeto a las anódicas y con las finales a las catódicas.²⁸ El genotipo "normal", presente en más del 90% de los sujetos sanos (94-96% en población caucásica), se denomina PiMM y se caracteriza por niveles séricos de la proteína entre 150-350 mg/100 mL (20-48 µM). Las variantes S (Glu264Val) y Z (Glu342Lys) constituyen el 95% de las mutaciones en pacientes con deficiencia severa de AAT. Ambas son mutaciones sin sentido en el gen SERPINA1. Individuos con genotipos SS, SZ y ZZ expresan concentraciones séricas de la proteína de 85, 25 y 15%, respectivamente, con respecto a los niveles normales (genotipo MM).³⁰ El homocigoto para la variante S no ha sido asociado con enfermedad y son pocos los estudios enfocados a determinar el riesgo a desarrollar enfisema entre los genotipos SZ,³¹ la mayoría de los estudios concluyen que el genotipo SZ es de menor importancia que ZZ, debido a que los pacientes con genotipo SZ desarrollan enfisema a una edad mayor que aquéllos portadores del ZZ.²⁸ Sin embargo, no queda claro si las diferencias en el riesgo son relacionadas a la dispersión en los

niveles séricos de SERPINA1 entre las poblaciones en estudio u otros factores desconocidos al momento.

Subtipos PiM

PiMM es el genotipo común ("normal") del gen SERPINA1, las diferentes variantes alélicas de este gen (PiZ, PiS, PiP, PiL, PiW y Pi nulos), frecuentemente conducen al deterioro en la actividad de SERPINA1. Los alelos PiZ y nulos han sido ampliamente reportados como factores predisponentes al desarrollo de EPOC debido a la carencia de antiproteasas en los fluidos biológicos, particularmente en el intersticio pulmonar. Generalmente se considera que los subtipos de PiM (PiM1, PiM2, PiM3 y PiM4, etc.) expresan niveles normales de SERPINA1 en el suero.³² Estas mutaciones han sido consideradas como normales, sin efectos en las habilidades funcionales de la proteína, sin embargo, algunos de estos alelos se han asociado con la patogénesis de ciertas enfermedades; tal es el caso de PiM1 cuya asociación se ha encontrado en sudafricanos asmáticos de raza negra.³³ Respecto a EPOC, Gupta J, *et ál*,³⁴ realizaron un estudio en una población de la India, encontrando una frecuencia incrementada del alelo PiM3 (Glu376Asp) en sujetos con EPOC, datos que deben ser tomados con cautela, puesto que el tamaño de la muestra empleada no es ideal.

Mutaciones nulas

Entre las mutaciones de SERPINA1, muchas de ellas conducen a la ausencia total en la producción de la proteína, a este tipo de cambios en el gen se les denomina mutaciones nulas; aunque el número de éstas es grande, son muy poco frecuentes en la población y en consecuencia poco se sabe acerca de su comportamiento clínico.³⁰ En 1988, Cox DW *et ál*,³⁵ mostraron una forma más severa de enfisema en portadores de la variante nula Q0mat (*null Mattawa*) que individuos con genotipo ZZ; en 1989, Hofker MH *et ál*,³⁶ describieron un cambio de C por T (C1195T) en el codón 369 que induce una sustitución de aminoácido prolina por leucina (Pro369Leu), y puesto que prolina es un aminoácido importante en la

estructura secundaria y terciaria de la proteína, la mutación ocasiona un procesamiento anormal del polipéptido naciente, alcanzando niveles séricos de 5 mg/100 ml, a dicha mutación asignaron el nombre de Pi MHeerlen. Poco después, en 1990 Graham A *et ál*,³⁷ describieron 2 mutaciones puntuales que resultaron en un cambio de aminoácido (Gly115Ser) a la que denominaron variante nula Newport y Ser19Leu denominada Pi Z Wrexham, encontrando que cuando alguna de estas mutaciones se presenta en heterocigocidad con la variante Z clásica, se genera una forma severa de la enfermedad pulmonar. Recientemente, Zorzetto M *et ál*,³⁸ caracterizaron otra variante nula en el codón 259, exón 3, una transversión (A>T) que genera un codón de paro prematuro (Lys259Stop), esta mutación recibió el nombre de Q0cairo; por otro lado, Fregonese L *et ál*,³⁰ describieron a Pi Bredevoort (C548G), que crea un codón de paro prematuro en el exón 2, ocurre en el mismo sitio que otra llamada Pi Granite Falls, que es una delección de un nucleótido C, provocando un error en el marco de lectura y directamente un codón de paro prematuro en la misma posición (Tyr160Stop) que Pi Bredevoort. Otra variante nula descrita en el gen SERPINA1 es Pi Bellingham (A737T) en el codón 217, exón 3, de igual forma que en los dos casos previos, se genera un codón de paro prematuro Lys217Stop,^{30,39} Seyama K *et ál*,⁴⁰ describieron en 1995 a Ser53Phe (C>T), como una variante de AAT altamente prevalente en población japonesa. En tanto que la mutación Mmalton (delección del residuo 52), fue descrita en 2005 por Ferrarotti I *et ál*,⁴¹ en población de Cerdeña. La detección temprana de variantes nulas, sobre todo en condición de homocigotos, ayudaría a promover medidas terapéuticas preventivas, farmacológicas de reemplazo y por supuesto de evitar el hábito tabáquico.

Epidemiología

Se estima que existen entre 70,000 a 100,000 individuos afectados por deficiencia de AAT en Estados Unidos y datos similares en Europa.⁴² de Serres FJ⁴³ en 2002 realizó un estudio exploratorio para estimar el número de individuos portadores para los alelos más comunes que conducen a

deficiencia (PiS y PiZ) en 58 países, agrupados en 11 regiones geográficas, los resultados muestran que existen al menos 116 millones de portadores (PiMS y PiMZ) y 3.4 millones de individuos con combinaciones con los alelos de deficiencia (PiSS, PiSZ, PiZZ); además, esta base de datos demuestra que la deficiencia de AAT se encuentra en varias poblaciones del África negra, árabes, judíos de Oriente Medio, poblaciones blancas de Australia/Nueva Zelanda, Europa, Norteamérica, Centro, Oriente y Sureste de Asia. Estos datos indican que la deficiencia de AAT no es una enfermedad exclusiva de poblaciones caucásicas (blancas) de Europa, sino que afecta a individuos de subgrupos raciales de todo el orbe.

Estudios de mapeo de genoma han sugerido que el alelo PiZ surgió en el Norte de Europa^{44,45} y se estima que la edad de dicha variante oscila entre 107 a 135 generaciones, mientras que el alelo PiS tiene una edad entre 279 a 470 generaciones y dada sus alta incidencia en la península ibérica, se ha propuesto que tuvo origen en esta región de Europa.^{43,45} La propagación del alelo Z en poblaciones diferentes a las propias del Norte de Europa se justifica históricamente con los viajes que realizaron las embarcaciones vikingas por diferentes países en el siglo IX y viajes posteriores que los llevaron hasta aquellos países que rodean el Mar Mediterráneo. Además, se debe considerar los viajes que realizaron un sinnúmero de Cruzados procedentes de Inglaterra y Francia al Medio Oriente entre los siglos X y XI, extendiendo de esta manera la distribución de PiZ a países de Europa del Este y culturas del Norte de África. Sin embargo, no existen antecedentes históricos que documenten expediciones a países del Centro y Sur de África que justifiquen la prevalencia de ninguno de estos alelos en nativos de tribus de Nigeria, poblaciones de Centro y Sureste de Asia o lejano Oriente.⁴³

Los alelos S y Z codifican proteínas anormales que polimerizan en el hígado, de modo que el 80-90% de las moléculas de PiZ y el 40-50% de las PiS son retenidas dentro del hepatocito formando polímeros, generalmente degradados por el proteasoma. En la práctica clínica, el riesgo de presentar enfermedades relacionadas a la deficiencia de SERPINA1 se limita a los fenotipos ZZ

(96%) y el 4% restante a variantes deficientes raras, denominadas genéricamente *M-like* y *S-like*, y a los raros fenotipos nulos.²⁸ El alelo Z del gen SERPINA1 se encuentra asociado con un marcado descenso de los niveles séricos de la proteína; sin embargo, estudios en individuos PiZ han demostrado variabilidad en la enfermedad pulmonar, tanto en fumadores como en no fumadores. Aún en individuos homocigotos (PiZZ) se encuentra variabilidad en el desarrollo a EPOC, dato consistente con la hipótesis que propone la existencia de otros factores relevantes en el desarrollo de la patología.²⁹

GENOTIPOS DE DEFICIENCIA INTERMEDIA

El deterioro progresivo de la función pulmonar en individuos homocigotos ZZ es bien conocido, empero, el papel de los denominados genotipos de deficiencia intermedia, principalmente MZ y MS es poco estudiado. Dahl M *et al*,⁴⁶ en 2001 y, posteriormente en 2002⁴⁷ investigaron el efecto de los genotipos de deficiencia intermedia en la población general danesa sobre la función pulmonar a través de medidas de espirometría (FEV₁ y FVC) y genotipificación de los alelos de SERPINA1 en 9,187 individuos; hallaron que los heterocigotos SZ tienen radios más bajos en la relación FEV₁/FVC que aquellos individuos MM; mientras que los homocigotos ZZ tienen porcentajes más bajos de FEV₁ y radios FEV₁/FVC que el resto de los genotipos (MM, MS, SS y MZ), cuando estos resultados fueron estratificados por el estatus de fumador, la reducción en la función pulmonar en individuos SZ y ZZ vs. MM fue estadísticamente significativa sólo entre fumadores y exfumadores, pero no en exfumadores. Los individuos MZ tienen reducción de la función pulmonar comparada con aquellos pacientes MM. Esto sugiere que la heterocigocidad MZ actúa sólo en ciertos contextos, posiblemente aún no determinados. Esta observación puede explicar previos hallazgos contradictorios en diferentes estudios del genotipo MZ. En conclusión, determinaron que comparado con el genotipo MM, el MZ se encuentra asociado con la reducción de la función pulmonar en individuos con EPOC, además, los

genotipos SZ y ZZ se asocian con obstrucción de la vía aérea y reducción de la función pulmonar, particularmente en fumadores.⁴⁶

Examinando apropiadamente los subgrupos poblacionales se cubren importantes aspectos relativos con la prevención y tratamiento oportuno de enfermedades pulmonares asociadas con la deficiencia total o parcial de SERPINA1, primordialmente EPOC. A este respecto, en 2008 Zorretto M *et al*, determinaron los alelos Z y S de sujetos de la cohorte de origen suizo SAPALDIA, con concentraciones séricas de AAT ≤ 1.3 g/L, encontrando que 64% portaban el genotipo PiMM, mientras que el 36% portaban al menos una variante de deficiencia de SERPINA1, resulta interesante que al separar en subpoblaciones dependiendo de la concentración sérica de AAT, cuando ésta se encontró >1.03 y ≤ 1.13 y > 0.93 y ≤ 1.03 g/L los individuos con genotipo PiMM representaban el 86.5 y 53.8%, respectivamente. El genotipo PiMS predominaba (54.9%) en el rango de concentración 0.83 a 0.93 g/L, mientras que PiMZ representaba 76.4% de los individuos con concentración > 0.73 y ≤ 0.83 g/L. Es de resaltar el valor de corte inferior para los niveles de AAT, utilizándolos de una manera tradicional (< 0.50 g/L) se limita la determinación de los genotipos SZ, SS, MS y MZ; la relevancia clínica de una exhaustiva búsqueda de alelos de deficiencia en la población general se enfatiza por su prevalencia, la cual se ha demostrado anteriormente en diferentes estudios no es insignificante.⁴⁸ En esta misma cohorte Senn O *et al*,⁴⁹ determinaron los niveles circulantes de AAT y establecieron determinantes de asociación con medidas de función pulmonar, entre sus resultados se encuentran asociaciones positivas con género femenino, ingesta de hormonas, presión sanguínea sistólica, edad y exposición al humo de cigarro activa y pasiva, mientras que la ingesta de alcohol, el índice de masa corporal correlacionan de manera inversa con los niveles de séricos de AAT. Además, encontraron una asociación inversa de AAT con FEV₁ en el total de la población en estudio, misma que desaparece después de ajustar por valores de proteína C reactiva (PCR), adicionalmente esta asociación se ve modificada por

género, estatus de menopausia en mujeres y hábito de fumar. La fortaleza de este estudio radica en su diseño basado en la población general y la detallada caracterización de los participantes que permite investigar factores asociados con los niveles circulantes de AAT y medidas de función pulmonar. Basados en las determinaciones de PCR se pueden excluir sujetos con evidencia de inflamación al momento de la punción sanguínea y, de esta manera, controlar la inflamación sistémica menor como un potencial factor de confusión. Este estudio permite demostrar la complejidad de las interrelaciones entre la exposición al humo de tabaco, el género, los niveles circulantes de AAT y PCR.

SIGNIFICADO EVOLUTIVO DE LAS MUTACIONES EN SERPINA1

La alta frecuencia de los alelos S y Z sobre todo en poblaciones blancas del Norte de Europa, sugieren la existencia de cierta ventaja selectiva, pero los mecanismos biológicos subyacentes no son claros. Actualmente está bien establecido que los alelos S y Z conducen a una transición conformacional dentro de la molécula de AAT, con la subsecuente formación de polímeros que son retenidos dentro del retículo endoplásmico de los hepatocitos.⁵⁰ Los polímeros de AAT mutante también pueden generar agregados en los alvéolos²⁴ y vías aéreas pequeñas del pulmón, en donde ocasionan la inflamación que subyace en enfisema en individuos con deficiencia de AAT. Esta producción local de polímeros de AAT mutante pudo haber provisto protección contra enfermedades infecciosas en la era previa al uso de los antibióticos, potenciando la respuesta inflamatoria con el objetivo de limitar infecciones respiratorias y/o gastrointestinales. Con el advenimiento de los antibióticos, el hábito tabáquico generalizado y el aumento en la longevidad, puede ser que este efecto protector de las propiedades proinflamatorias de las variantes mutantes de AAT se convirtieran en efectos dañinos, que generaron enfisema y enfermedades inflamatorias sistémicas asociadas a la deficiencia de AAT.⁵⁰

EFFECTO ADITIVO, INTERACCIÓN CON OTROS COMPONENTES BIOLÓGICOS Y AMBIENTALES

Matriz extracelular

Las metaloproteinasas de matriz (MMP's) son una familia de proteasas dependientes de zinc, inicialmente identificadas en la involución de la cola de los renacuajos por su habilidad para degradar colágena; se han clasificado con base en el sustrato que emplean como: colagenasas (MMP1, 8, 13), gelatinasas (MMP2 y 9), estromelinas (MMP3, 10 y 11), elastasas (MMP7 y 12) y MMP de membrana (MT-MMP, MMP14, 15, 16 y 17), las cuales se encuentran ancladas a la superficie celular.⁵¹ El rearreglo que sufre la matriz extracelular en EPOC y la degradación ejercida por las MMP's, sugieren un papel importante en la patofisiología de la enfermedad pulmonar. Recientemente, McAloon CJ *et ál*, evaluaron la asociación entre polimorfismos en MMP1, MMP3 y MMP12 en individuos de origen británico con deficiencia de AAT, analizaron un total de 40 SNP's y encontraron 2 SNP's, 1 en MMP3 (rs678815) y otro en MMP1 (rs470358) asociados con la transferencia gaseosa (KCO disminuida), hecho consistente con el efecto protector del alelo T de rs470358, en los cuales la KCO fue más alta.⁵² Otros trabajos en EPOC clásica (sin deficiencia de AAT), han reportado que rs1799750, localizado en el promotor de MMP1 se asocia con una localización superior del área enfisematosa;⁵³ previamente, Joss L y su grupo describieron la asociación entre G-1607GG (MMP1) con la disminución de la función pulmonar, mientras que el alelo -1607GG resultó negativamente asociado con la disminución acelerada de la función pulmonar, también encontraron asociación con un haplotipo consistente en MMP1 G-1607GG y MMP12 Asn357Ser (rs652438) con la disminución de la función pulmonar, no encontraron asociación con SNP's estudiados en MMP9.⁵⁴ Una gran cantidad de estudios han evidenciado la importancia de las MMP's en enfermedades inflamatorias de la vía aérea, pero son escasos aquellos que valoran su importancia en adición a la deficiencia de AAT.

Interleucina 10 (IL10)

IL10 es una potente citocina antiinflamatoria que funciona, en parte, limitando la liberación de citocinas inflamatorias (TNF α , IL8) por parte de los neutrófilos, e inhibe la producción de citocinas de monocitos (IL6, IL12, IL18 y TNF). Los neutrófilos son los principales productores de la elastasa en el pulmón, a su vez, el inhibidor clave para esta enzima es AAT. En individuos con deficiencia de AAT, particularmente fumadores, la actividad no limitada de la elastasa contribuye a formas aceleradas (de inicio temprano) de EPOC.⁵⁵ Por otro lado, se ha sugerido que IL10 puede atenuar la inflamación pulmonar a través del aumento de apoptosis de neutrófilos. Recientemente Demeo DL *et al*,⁵⁵ realizaron un análisis de asociación basado en familias con el objetivo de identificar genes modificadores, investigaron SNP's en 10 genes asociados previamente con asma y/o EPOC en una cohorte de 378 individuos homocigotos para la deficiencia de AAT (PIZZ) procedentes de 167 familias; el análisis incluyó correlaciones con fenotipos cuantitativos espirométricos (FEV₁, radio FEV₁/FVC) y cualitativos (EPOC moderada a severa definida por FEV₁ $\leq$ 50%). Seis de 11 SNP's evaluados en IL10 fueron asociados con FEV₁, y/o FEV₁/FVC, además de demostrar asociación con fenotipos cualitativos, sugiriendo que polimorfismos en IL10 son probablemente importantes modificadores para el desarrollo de EPOC en individuos con deficiencia severa de AAT.

Otros inhibidores de proteasas

Otros inhibidores de serín proteasas tales como alfa-1 antitripsina (ACT), alfa-2 macroglobulina (α 2MG), antitrombina y antiplasmina son importantes en el control de la actividad de serín proteasas; estos últimos son producidos por el hígado y alcanzan los tejidos blanco por difusión pasiva,²⁴ otros como el inhibidor de proteinasa secretor de leucocitos (SLPI, del inglés, *secretory leukocyte proteinase inhibitor*) y elafin/SKALP son producidos localmente por células epiteliales de la vía aérea.⁵⁶ Diferentes estudios han propuesto que SLPI es importante para la protección del epitelio respiratorio al ser el principal inhibidor

anti-elastasa del bronquio; en contraste con la actividad de AAT, SLPI bloquea la unión elastina-elastasa en la pared alveolar, lo cual puede proteger contra el desarrollo de EPOC, debido a este hecho, se ha sugerido que existe cierto mecanismo de "compensación" por parte de inhibidores de proteasas diferentes a SERPINA1, en los casos de deficiencia de esta última. A este respecto, Hollander C *et al*,⁵⁷ determinaron los niveles plasmáticos de AAT, ACT y SLPI en individuos sanos y pacientes con EPOC, en ambos casos incluyendo sujetos con y sin deficiencia de AAT (genotipos ZZ, SZ y MM), no encontraron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de ACT o SLPI entre individuos sanos, mientras que los pacientes con EPOC tuvieron niveles plasmáticos elevados de ACT y SLPI en relación con los controles; sin embargo, estiman que los niveles plasmáticos de ACT y SLPI no se encuentran elevados en sujetos con deficiencia de AAT y no parece existir un sistema de compensación para la deficiencia de AAT que sea atribuido a ACT y/o SLPI.

METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS

Las glutatión S-transferasas humanas son una familia funcionalmente diversa de enzimas solubles encargadas de la detoxificación, utilizan glutatión reducido en conjugación y una reacción de reducción para eliminar diferentes tóxicos electrofílicos y productos del estrés oxidativo.⁵⁸ La glutatión S-transferasa P1 comprende un único gen (GSTP1), ampliamente expresado en tejido epitelial normal, incluyendo el pulmón, se encuentra sobreexpresado en algunos tumores y puede estar involucrado en la resistencia adquirida a ciertos fármacos anticancerígenos.⁵⁸ Se han descrito dos polimorfismos en GSTP1, uno en el nucleótido 315 (A>G), produciendo el cambio de aminoácido de isoleucina (Ile) a valina (Val) en el codón 105 (exón 5), este residuo se encuentra próximo al sitio de unión a proteína para sustratos electrofílicos,⁵⁹ la influencia de este polimorfismo en la detoxificación ha resultado controversial, algunos estudios apuntan a que la actividad enzimática se ve reducida en presencia del 105Val,⁵⁹ en tanto que otros describen que 105Val es más activa en reacciones de detoxifi-

cación que 105Ile. Un segundo polimorfismo se encuentra en el codón Ala114Val, aunque este último no se ha asociado a cambios en la actividad enzimática. Rodríguez F *et ál*,⁶⁰ analizaron la asociación entre la variabilidad de GSTP1 y el deterioro de la función pulmonar en fumadores con y sin deficiencia de AAT y EPOC, encontraron un incremento en la frecuencia de 105Val entre individuos con deficiencia de AAT en comparación con controles sanos y pacientes con EPOC, adicionalmente, el porcentaje de FEV₁ se encontró más deteriorado entre individuos con deficiencia de AAT, portadores del alelo 105Val de GSTP1, efecto que no se presentó entre pacientes con EPOC. Concluyen que el papel regulador de GSTP1 en enfermedad pulmonar sólo se observa entre sujetos fumadores con deficiencia de AAT.

CONCLUSIONES

Diferentes antecedentes históricos apuntan que la deficiencia de AAT es un padecimiento crónico de inicio temprano que ha acompañado a las poblaciones humanas en los últimos 3,000 años; sin embargo, el entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos ha avanzado de forma creciente apenas en los últimos 40 años. Si bien, la elevada frecuencia del alelo de deficiencia entre población del Norte de Europa sugiere el nacimiento de la variante PiZ en poblaciones de dicha región geográfica, diferentes y recientes determinaciones de los alelos de deficiencia severa e intermedia en poblaciones de todo el orbe, evidencian la amplia distribución geográfica de los polimorfismos asociados con dicha deficiencia enzimática. Por otro lado, la deficiencia de AAT sólo explica alrededor del 1% de los casos de EPOC; en este contexto, múltiples estudios han descrito la relación que existe entre la disminución de los parámetros de función pulmonar en sujetos con deficiencia de AAT y además EPOC, no obstante, la mayoría de dichos estudios se enfocan a la variante PiZ (de deficiencia severa) y son escasos aquellos que evalúan el papel de los genotipos de deficiencia intermedia en adición a otros factores genéticos de riesgo asociados con daño a la función pulmonar. Aunado a lo anterior, no existen datos de la frecuencia de ninguno de los alelos de deficiencia de AAT en poblacio-

nes Latinoamericanas, en donde existe un vasto bagaje genético de perfil Europeo, producto del mestizaje de poblaciones de conquistadores que a partir del siglo XV arribaron a América. Resulta entonces importante llevar a cabo determinaciones de la frecuencia de los diferentes polimorfismos asociados a deficiencia de AAT y su impacto en el desarrollo de la EPOC en poblaciones Latinoamericanas, hecho con el que se estará cumpliendo la normativa internacional que dicta determinar los alelos de deficiencia de AAT entre todos los sujetos con diagnóstico de EPOC.

REFERENCIAS

- Schultze HE, Heide K, Haupt H. *Alpha1-Antitrypsin from human serum*. Klin Wochenschr 1962;15:427-429.
- Jacobsson K.I. *Studies on the determination of fibrinogen in human blood plasma. II. Studies on the trypsin and plasmin inhibitors in human blood serum*. Scand J Clin Lab Invest 1955;7(Suppl 14):3-102.
- Russi EW. *Alpha-1 antitrypsin: now available, but do we need it?* Swiss Med Wkly 2008;138:191-196.
- Larsson C, Eriksson S, Dirksen H. *Smoking and intermediate alpha1-antitrypsin deficiency and lung function in middle-aged men*. Br Med J 1977;2:922-925.
- Lomas DA, Parfrey H. *Alpha1-antitrypsin deficiency. 4: Molecular pathophysiology*. Thorax 2004;59:529-535.
- Kuzemko JA. *Chopin's illnesses*. J R Soc Med 1994;87:769-772.
- Eriksson S. *Did Chopin suffer of antitrypsin deficiency? Lost autopsy protocol has caused frustration among physicians of our time in their attempts to confirm the diagnosis*. Lakartidningen 2003;100:2449-2454.
- Sveger T, Mazodier P. *Alpha 1-antitrypsin screening of 18-year-old men*. Thorax 1979;34:397-400.
- Genetics Home Reference*. Fecha de acceso: 18-VIII-2009. Accesible en: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene=serpina1>
- HUGO Gene Nomenclature Committee*. Fecha de acceso: 18-VIII-2009. Accesible en: http://www.genenames.org/data/hgnc_data.php?hgnc_id=8941
- Silverman GA, Bird PI, Carrell RW, *et ál*. *The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins. Evolution, mechanism of inhibition, novel functions, and a revised nomenclature*. J Biol Chem 2001;276:33293-33296.
- Law RH, Zhang Q, McGowan S, *et ál*. *An overview of the serpin superfamily*. Genome Biol 2006;7:216.
- Forsyth S, Horvath A, Coughlin P. *A review and comparison of the murine alpha1-antitrypsin and alpha1-antichymotrypsin multigene clusters with the human clade A serpins*. Genomics 2003;81:336-345.
- Pemberton PA, Stein PE, Pepys MB, Potter JM, Carrell RW. *Hormone binding globulins undergo serpin conformational change in inflammation*. Nature 1988;336:257-258.

15. Potempa J, Korzus E, Travis J. *The serpin superfamily of proteinase inhibitors: structure, function, and regulation*. J Biol Chem 1994;269:15957-15960.
16. Nagata K. *Hsp47: a collagen-specific molecular chaperone*. Trends Biochem Sci 1996;21:27-30.
17. Zou Z, Anisowicz A, Hendrix MJ, et al. *Maspin, a serpin with tumor-suppressing activity in human mammary epithelial cells*. Science 1994;263:526-529.
18. Huntington JA, Read RJ, Carrell RW. *Structure of a serpin-protease complex shows inhibition by deformation*. Nature 2000;407:923-926.
19. Bruce D, Perry DJ, Borg JY, Carrell RW, Wardell MR. *Thromboembolic disease due to thermolabile conformational changes of antithrombin Rouen-VI (187 Asn—>Asp)*. J Clin Invest 1994;94:2265-2274.
20. Aulak KS, Pemberton PA, Rosen FS, Carrell RW, Lachmann PJ, Harrison RA. *Dysfunctional C1-inhibitor (At), isolated from a type II hereditary-angio-oedema plasma, contains a P1 'reactive centre' (Arg444—His) mutation*. Biochem J 1988;253:615-618.
21. Davis RL, Shrimpton AE, Holohan PD, et al. *Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin*. Nature 1999;401:376-379.
22. Baek JH, Im H, Kang UB, et al. *Probing the local conformational change of alpha1-antitrypsin*. Protein Sci 2007;16:1842-1850.
23. Vidal R, Blanco I, Casas F, Jardí R, Miravittles M; and Committee on the National Registry of Individuals with Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Guidelines for the diagnosis and management of alpha-1 antitrypsin deficiency*. Arch Bronconeumol 2006;42:645-659.
24. Kalsheker N, Morley S, Morgan K. *Gene regulation of the serine proteinase inhibitors alpha1-antitrypsin and alpha1-antichymotrypsin*. Biochem Soc Trans 2002;30:93-98.
25. Ensembl genome browser. Fecha de acceso: 18-VII-2009. Accesible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g= ENSG00000197249;r=14:94843084-94857029;t=ENST00000440909
26. Morgan K, Marsters P, Morley S, et al. *Oncostatin M induced alpha1-antitrypsin (AAT) gene expression in Hep G2 cells is mediated by a 3' enhancer*. Biochem J 2002;365(Pt 2):555-560.
27. Perlino E, Cortese R, Ciliberto G. *The human alpha 1-antitrypsin gene is transcribed from two different promoters in macrophages and hepatocytes*. EMBO J 1987;6:2767-2771.
28. American Thoracic Society; European Respiratory Society. *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.
29. Demeo DL, Sandhaus RA, Barker AF, et al. *Determinants of airflow obstruction in severe alpha-1-antitrypsin deficiency*. Thorax 2007;62:806-813.
30. Fregonese L, Stolk J, Frants RR, Veldhuisen B. *Alpha-1 antitrypsin Null mutations and severity of emphysema*. Respir Med 2008;102:876-884.
31. Dahl M, Hersh CP, Ly NP, Berkey CS, Silverman EK, Nordestgaard BG. *The protease inhibitor PI*S allele and COPD: a meta-analysis*. Eur Respir J 2005;26:67-76.
32. Fabbretti G, Sergi C, Consales G, et al. *Genetic variants of alpha-1-antitrypsin (AAT)*. Liver 1992;12(4 Pt 2):296-301.
33. Gaillard MC, Zwi S, Nogueira CM, et al. *Ethnic differences in the occurrence of the M1(ala213) haplotype of alpha-1-antitrypsin in asthmatic and non-asthmatic black and white South Africans*. Clin Genet 1994;45:122-127.
34. Gupta J, Bhadoria DP, Lal MK, et al. *Association of the PIM3 allele of the alpha-1-antitrypsin gene with chronic obstructive pulmonary disease*. Clin Biochem 2005;38:489-491.
35. Cox DW, Levison H. *Emphysema of early onset associated with a complete deficiency of alpha-1-antitrypsin (null homozygotes)*. Am Rev Respir Dis 1988;137:371-375.
36. Hofker MH, Nukiwa T, van Paassen HM, et al. *A Pro-Leu substitution in codon 369 of the alpha-1-antitrypsin deficiency variant PI MHeerlen*. Hum Genet 1989;81:264-268.
37. Graham A, Kalsheker NA, Bamforth FJ, Newton CR, Markham AF. *Molecular characterization of two alpha-1-antitrypsin deficiency variants: proteinase inhibitor (Pi) Null(Newport) (Gly115Ser) and (Pi) Z Wrexham (Ser19Leu)*. Hum Genet 1990;85:537-540.
38. Zorzetto M, Ferrarotti I, Campo I, et al. *Identification of a novel alpha1-antitrypsin null variant (Q0Cairo)*. Diagn Mol Pathol 2005;14:121-124.
39. Cook L, Janus ED, Brenton S, Tai E, Burdon J. *Absence of alpha-1-antitrypsin (Pi Null Bellingham) and the early onset of emphysema*. Aust N Z J Med 1994;24:263-269.
40. Seyama K, Nukiwa T, Souma S, Shimizu K, Kira S. *Alpha 1-antitrypsin-deficient variant Siiyama (Ser53[TTC] to Phe53[TTC]) is prevalent in Japan. Status of alpha 1-antitrypsin deficiency in Japan*. Am J Respir Crit Care Med 1995;152(6 Pt 1):2119-2126.
41. Ferrarotti I, Baccheschi J, Zorzetto M, et al. *Prevalence and phenotype of subjects carrying rare variants in the Italian registry for alpha1-antitrypsin deficiency*. J Med Genet 2005;42:282-287.
42. Hutchison DC. *Alpha 1-antitrypsin deficiency in Europe: geographical distribution of Pi types S and Z*. Respir Med 1998;92:367-377.
43. De Serres FJ. *Worldwide racial and ethnic distribution of alpha1-antitrypsin deficiency: summary of an analysis of published genetic epidemiologic surveys*. Chest 2002;122:1818-1829.
44. Cox DW, Woo SL, Mansfield T. *DNA restriction fragments associated with alpha 1-antitrypsin indicate a single origin for deficiency allele PI Z*. Nature 1985;316:79-81.
45. Seixas S, Garcia O, Trovada MJ, Santos MT, Amorim A, Rocha J. *Patterns of haplotype diversity within the serpin gene cluster at 14q32.1: insights into the natural history of the alpha1-antitrypsin polymorphism*. Hum Genet 2001;108:20-30.
46. Dahl M, Nordestgaard BG, Lange P, Vestbo J, Tybjaerg-Hansen A. *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. *Clin Chem* 2001;47:56-62.
47. Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, Lange P, Vestbo J, Nordestgaard BG. *Change in lung function and morbidity from chronic obstructive pulmonary disease in alpha1-antitrypsin MZ heterozygotes: A longitudinal study of the general population.* *Ann Intern Med* 2002;136: 270-279.
 48. Zorzetto M, Russi E, Senn O, et ál; and SAPALDIA Team. *SERPINA1 gene variants in individuals from the general population with reduced alpha1-antitrypsin concentrations.* *Clin Chem* 2008;54:1331-1338.
 49. Senn O, Russi EW, Schindler C, et ál. *Circulating alpha1-antitrypsin in the general population: determinants and association with lung function.* *Respir Res* 2008;9:35.
 50. Lomas DA. *The selective advantage of alpha1-antitrypsin deficiency.* *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:1072-1077.
 51. Elington PT, Friedland JS. *Matrix metalloproteinases in destructive pulmonary pathology.* *Thorax* 2006;61:259-266.
 52. McAloon CJ, Wood AM, Gough SC, Stockley RA. *Matrix metalloprotease polymorphisms are associated with gas transfer in alpha 1 antitrypsin deficiency.* *Ther Adv Respir Dis* 2009;3:23-30.
 53. DeMeo DL, Hersh CP, Hoffman EA, et ál. *Genetic determinants of emphysema distribution in the national emphysema treatment trial.* *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:42-48.
 54. Joos L, He JQ, Shepherdson MB, et ál. *The role of matrix metalloproteinase polymorphisms in the rate of decline in lung function.* *Hum Mol Genet* 2002;11: 569-576.
 55. Demeo DL, Campbell EJ, Barker AF, et ál. *IL10 polymorphisms are associated with airflow obstruction in severe alpha1-antitrypsin deficiency.* *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008;38:114-120.
 56. Sallenave JM, Si Tahar M, Cox G, Chignard M, Gauldie J. *Secretory leukocyte proteinase inhibitor is a major leukocyte elastase inhibitor in human neutrophils.* *J Leukoc Biol* 1997;61:695-702.
 57. Hollander C, Westin U, Wallmark A, Piitulainen E, Sveger T, Janciauskiene SM. *Plasma levels of alpha1-antichymotrypsin and secretory leukocyte proteinase inhibitor in healthy and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) subjects with and without severe alpha1-antitrypsin deficiency.* *BMC Pulm Med* 2007;7:1.
 58. Whalen R, Boyer TD. *Human glutathione S-transferases.* *Semin Liver Dis* 1998;18:345-358.
 59. Zimniak P, Nanduri B, Pikula S, et ál. *Naturally occurring human glutathione S-transferase GSTP1-1 isoforms with isoleucine and valine in position 104 differ in enzymic properties.* *Eur J Biochem* 1994;224:893-899.
 60. Rodriguez F, de la Roza C, Jardi R, Schaper M, Vidal R, Miravittles M. *Glutathione S-transferase P1 and lung function in patients with alpha1-antitrypsin deficiency and COPD.* *Chest* 2005;127:1537-1543.

Correspondencia:

Dr. Ramcés Falfán-Valencia,
Laboratorio de HLA, Departamento de
Inmunogenética. Instituto Nacional de
Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío
Villegas. Calzada de Tlalpan 4502,
colonia Sección XVI. México, D.F., 14080.
Tel: +52 55 5487 1700, extensión 5152
Correo electrónico: dcb_rfalfanv@hotmail.com