

Serie

Genotipificación en la Deficiencia de Alfa₁ Antitripsina

Diagnóstico de la Deficiencia de Alfa₁ Antitripsina

Respiratory Research
23(152):1-12, Jun 2022

Distribución de Alelos Raros de Alfa₁ Antitripsina en Seis Países

Human Genomics
17(1):1-12, Jun 2023



Comentarios críticos
Dr. Mariano Fernández Acquier

Diagnóstico de la Deficiencia de Alfa₁ Antitripsina

Se confirma la utilidad de un sistema comercial de genotipificación para el diagnóstico de la deficiencia de alfa₁ antitripsina, en diferentes países. El sistema permitiría mejorar el tiempo para establecer el diagnóstico de la enfermedad.

Introducción

El diagnóstico precoz de la deficiencia de alfa₁ antitripsina (DAAT) sigue siendo un desafío para los profesionales y el sistema de salud; las dificultades para establecer en manera precisa y temprana el diagnóstico de DAAT son multifactoriales, pero incluyen, entre otras, la falta de rastreo sistemático de pacientes potenciales y la necesidad de disponer de un método rápido y sencillo para confirmar los casos altamente sospechosos. En 2018 se creó en España un nuevo circuito nacional para el diagnóstico de DAAT, coordinado por la Red Española de DAAT (REDAAT), el cual se basa en el análisis genético de gotas de sangre seca o hisopados bucales en un laboratorio central (*Progenika Biopharma*, Derio, Vizcaya, España). El estudio permite identificar simultáneamente las 14 variantes más frecuentemente asociadas con la DAAT. En un estudio previo, los autores demostraron la aplicabilidad del sistema diagnóstico a nivel nacional. Desde ese momento, este se ha implementado en diversos países de América Latina y Europa, con diferentes sistemas de salud y servicios postales; asimismo, ha aumentado considerablemente el número de muestras recibidas por el laboratorio central desde diferentes partes del mundo. En este escenario es necesario confirmar la viabilidad del sistema de diagnóstico *Progenika* a nivel global; por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad del procedimiento de diagnóstico multinacional que consiste en una prueba de genotipificación en múltiples muestras de sangre seca e hisopados bucales de pacientes con diagnóstico presuntivo de DAAT de la Argentina, Brasil, Chile, Colombia, España y Turquía. Los resultados demostrarán si este sistema de diagnóstico por envío postal a larga distancia es fiable para el estudio de la DAAT a nivel mundial.

Métodos

Se realizó un análisis observacional transversal con los datos anónimos incluidos en la plataforma web *Progenika* entre el 12 de marzo de 2018 y el 10 enero de 2022. Los dispositivos de diagnóstico fueron proporcionados por *Progenika* (Barcelona, España) a los centros participantes de forma gratuita, a petición de los médicos tratantes. Para el presente estudio se analizaron todas las muestras de la Argentina, Brasil, Chile, Colombia, España y Turquía. Las muestras se registraron en la plataforma web mediante un código único asociado individualmente con cada dispositivo y se enviaron por correo postal al laboratorio de referencia en la sede de *Progenika* en Vizcaya, al norte de España. Los profesionales debían aportar datos clínicos sobre el paciente, entre ellos, la edad, el hábito de fumar (fumador, exfumador

o nunca fumador), el nivel sérico de alfa₁ antitripsina (AAT) y el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF₁), como porcentaje del valor esperado. También debían referir los factores que motivaron el estudio. Para este análisis, los niveles de AAT se clasificaron en 4 grupos: valores inferiores a 60 mg/dl, entre 60 y 90 mg/dl, entre 90 y 120 mg/dl y superiores a 120 mg/dl. Se consideraron todos los casos con diagnóstico presuntivo de DAAT, es decir, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma mal controlada, parientes consanguíneos de individuos con DAAT, bronquiectasias, hepatopatía de etiología desconocida, dificultad para respirar y tos crónica en muchos miembros de la familia, disminución de la fracción de proteínas alfa-1 en el proteinograma y paniculitis o vasculitis multiorgánica de causa desconocida. Además, se tuvieron en cuenta dos indicaciones adicionales: cónyuges de personas con DAAT e infección por SARS-CoV-2. La genotipificación de alelo se llevó a cabo con la prueba de genotipo A1AT de *Progenika*, por medio de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa en el gen *SERPINA1*, y el sistema Luminox® 200 para detectar fragmentos amplificados previamente marcados. La prueba permite identificar las 14 variantes más frecuentes del gen *SERPINA1*, asociadas con deficiencia de la proteína, como PI*S, PI*Z, PI*I, PI*M_{procida}, PI*M_{malton}, PI*S_{iyama}, PI*Q0_{granite falls}, PI*Q0_{west}, PI*Q0_{bellingham}, PI*F, PI*P_{Lowell}, PI*Q0_{mattawa}, PI*Q0_{clayton} y PI*M_{heerlen}. En ausencia de alguno de estos 14 alelos, el resultado se consideró negativo y se interpretó como un alelo M, ya que la ausencia de cualquiera de estos 14 alelos sugiere con más del 99% de probabilidad que el genotipo corresponde a PI*M. La secuenciación del gen *SERPINA1* se realizó cuando no se encontró ninguna de las 14 mutaciones o cuando se detectó una variante en estado heterocigoto con nivel sérico de AAT < 60 mg/dl, o por solicitud del médico responsable.

Resultados

Durante el período de estudio se analizaron 32 148 muestras registradas en el sistema o recibidas en el laboratorio, de las cuales 30 827 (95.8%) habían sido procesadas al momento del presente informe: 30 458 (94.7%) tuvieron resultados finales por genotipificación directa y en 369 (1.1%) se realizó secuenciación genética. Ciento cinco muestras (0.3%) no fueron procesadas debido a la mala calidad de la muestra y 69 (0.2%) no llegaron al laboratorio, porque correspondían a errores de registro o pérdidas de muestra durante el envío. En el transcurso del tiempo se registró un incremento progresivo de pacientes, aunque la pandemia de COVID-19 ejerció efectos sustanciales.

Se evaluaron 6614 (21.5%) fumadores actuales, 12 495 (40.5%) exfumadores y 11 718 (38.0%) pacientes que nunca fumaron; la media de edad fue de 56.1 años. Se dispuso de valores de VEF₁ para 15 247 (49.5 %) casos; el valor promedio fue de 70.2%. Se conocieron los niveles séricos de AAT para 5685 (18.4%) casos; la concentración promedio fue de 93.5 mg/dl. La distribución de los casos según los diferentes valores de corte de AAT fue: 1275 (22.4%) tenían más de 120 mg/dl, 1714 (30.1%) tenían entre 90 y 120 mg/dl, 1970 (34.7%) pacientes tenían entre 60 y 89 mg/dl y 726 (12.8%) casos presentaban niveles por debajo de 60 mg/dl. De las muestras, 30 063 (97.5%) fueron casos índice, y el 78.2% de las muestras correspondieron a hisopados bucales. Las enfermedades que con mayor frecuencia motivaron la solicitud de estudios diagnósticos fueron la EPOC, el asma mal controlada y las bronquiectasias. En total, para el 25% de las muestras no se refirió ningún motivo específico. Solo el 2.5% de las muestras se analizaron como parte de un cribado familiar. Hubo una variabilidad considerable entre los países. En los países de América Latina y Turquía se tomaron muestras con mayor frecuencia para EPOC, mientras que en España hubo una distribución más amplia de las causas que motivaron la solicitud de la prueba DAAT. Los individuos con enfermedades respiratorias distintas de la EPOC, incluida el asma

o las bronquiectasias mal controladas, también presentaron mutaciones en el gen de DAAT.

Las muestras fueron genotipificadas de inmediato, pero los tiempos de secuenciación fueron más largos. La secuenciación de genes se llevó a cabo en 369 (1.2%) pacientes. En todos los casos, los resultados de la secuenciación fueron coincidentes con los resultados de la prueba de genotipificación A1AT. En 94 (25.4%) casos, la secuenciación reveló mutaciones adicionales. En total, 9528 (30.9%) muestras eran portadoras de al menos una mutación, con diferencias entre regiones. En Turquía hubo un pequeño porcentaje de casos con alelo S, con predominio de alelos raros y con nuevas mutaciones, en comparación con otras zonas. Los alelos raros más frecuentes en Turquía fueron: P_{lowell} en 36 casos (25.7% de las mutaciones encontradas), M_{malton} en 24 casos (17.1% de las mutaciones encontradas) y el alelo I en 13 (9.2% de las mutaciones encontradas). Por el contrario, en España y en países latinoamericanos, el alelo S fue el predominante, seguido del alelo Z. Los casos mostraron una distribución diferente entre las distintas áreas participantes (Figura 1). Aunque la mayoría de los casos (49.4%) eran pacientes con EPOC, en aquellos con otros cuadros clínicos también se detectaron mutaciones: 3381 casos (11.0%) con asma mal controlada y 1435 (4.7%) pacientes con bronquiectasias.

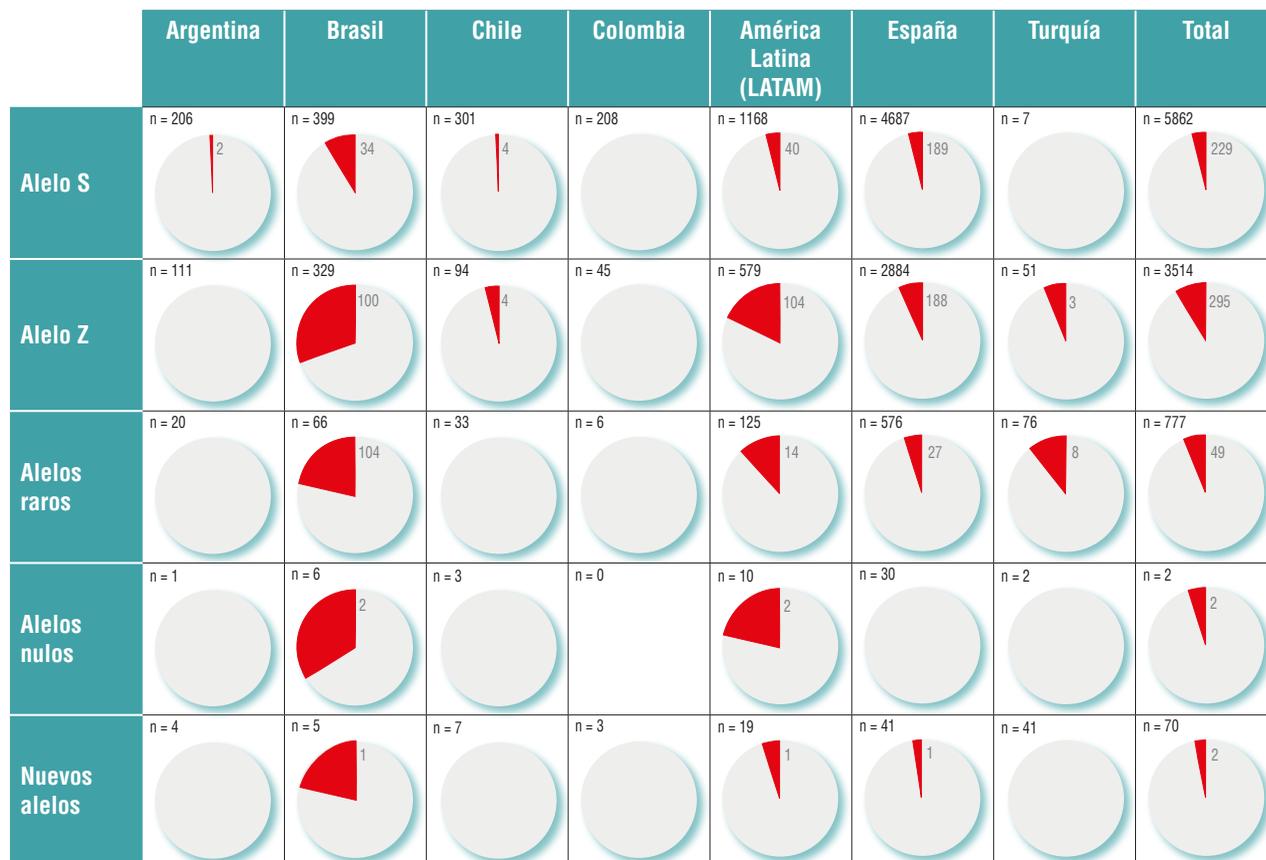


Figura 1. Número de casos detectados mediante rastreo familiar en cada localización diferente. Rojo: casos detectados mediante tamizaje familiar. Gris: casos índice.

Conclusión

Se requieren estrategias para mejorar el diagnóstico de DAAT. En este estudio se describen los resultados de la aplicación de un nuevo procedimiento diagnóstico de genotipificación, basado en muestras de gotas de sangre seca e hisopados bucales enviados por correo o mensajería de sujetos con sospecha de DAAT en la Argentina, Brasil, Chile, Colombia, España y Turquía. La genotipificación de alelos específicos de las 14 mutaciones más comunes se realizó con la prueba A1AT (*Progenika*, España). La secuenciación del gen *SERPINA1* se llevó a cabo cuando no se encontró ninguna de las mutaciones o cuando se detectó una variante en estado heterocigoto, en pacientes

con niveles séricos de AAT < 60 mg/dl. La prevalencia de las combinaciones de alelos más frecuentes fue para MS, 14.7%; MZ, 8.6%; SS, 1.9%; SZ, 1.9%, y ZZ, 0.9%. Además, se identificaron 70 casos con nuevas mutaciones. El cribado familiar se realizó en el 2.5% de las muestras. Las muestras de pacientes con enfermedades respiratorias distintas a la EPOC, como asma o bronquiectasias mal controladas, también presentaron mutaciones de AAT.

Los hallazgos confirman la viabilidad de este sistema de diagnóstico de DAAT, realizado simultáneamente en diferentes países. El sistema ha demostrado ser satisfactorio y podría mejorar el diagnóstico oportuno de la DAAT.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2024
www.sicisalud.com

Título original: Feasibility of a Genotyping System for the Diagnosis of Alpha1 Antitrypsin Deficiency: A Multinational Cross-sectional Analysis

Autores: Lopez-Campos J, Osaba L, Miravittles M y colaboradores

Institución: Universidad de Sevilla, Sevilla; Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España, y otros centros participantes

Fuente: Respiratory Research 23(152):1-12, Jun 2022

Una nueva herramienta diagnóstica para la deficiencia de alfa₁ antitripsina



Dr. Mariano Fernández Acquier

Neumólogo, Director Asociado Médico, Hospital Especializado de Agudos y Crónicos "Dr. A. Cetrángolo", Buenos Aires, Argentina

La deficiencia de alfa₁ antitripsina (DAAT) es una enfermedad hereditaria que provoca entre el 1% y el 3% de todos los casos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), según diferentes series nacionales e internacionales. Así como la EPOC está subdiagnosticada, la DAAT lo está aún más.

Este estudio presenta una nueva herramienta diagnóstica para la DAAT, dada la necesidad de encontrar estrategias que ayuden al personal de salud a descartar este cuadro clínico dentro del universo de las enfermedades respiratorias crónicas.

Con la implementación de un nuevo test de diagnóstico, que se puede realizar ya sea por gota seca (*dried blood spots*, DBS) o por el más comfortable hisopado bucal, se obtiene material para la genotipificación de 14 mutaciones para la DAAT. Las muestras se enviaron por correo a un laboratorio central en España, previo registro en una página web diseñada para tal fin, con la apropiada confidencialidad de los datos de los pacientes.

Los países participantes fueron la Argentina, Brasil, Colombia y Chile, de Latinoamérica, además de España y Turquía. El genotipificado de alelo específico para las 14 mutaciones más frecuentes se llevó a cabo con el test de *Progenika* (*Progenika Grifols*, España) mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las 14 mutaciones que esta prueba permite detectar son las variantes deficitarias más frecuentes del gen *SERPINA1*, denominadas: PI*S, PI*Z, PI*I, PI*M_{procida}, PI*M_{malton}, PI*S_{iiyama}, PI*QO_{granitefalls}, PI*QO_{west}, PI*QO_{bellingham}, PI*F, PI*P_{lowell}, PI*QO_{mattawa}, PI*QO_{clayton} y PI*M_{heerlen}. Abarca las mutaciones que producen más del 95% de la enfermedad (la S y la Z) y 12 mutaciones más, como los alelos nulos y otras que ya se han encontrado en Latinoamérica. Cuando ninguno de los 14 alelos se ubicaban, el resultado era informado en la página web como negativo e interpretado como alelo M (normal), dado que la ausencia de cualquiera de estos 14 alelos sugiere, con una probabilidad mayor del 99%, que el genotipo corresponde a PI*M.

Este acercamiento es novedoso en el sentido comparativo de la práctica habitual que veníamos llevando a cabo en la República Argentina; nuestro algoritmo diagnóstico se basó desde hace alrededor de 15 años en iniciar la búsqueda de estos pacientes con la medición de los niveles de alfa₁ anti-

tripsina, ya sea en sangre entera (con valores normales de 100 a 200 mg/dl) o con la conocida DBS, con sugerencia de nuestro laboratorio central (Hospital Italiano de Buenos Aires) de efectuar genotipificación con valores inferiores a 1.5 mg/dl, que se correlacionan con valores por debajo de 80 mg/dl aproximadamente en sangre entera.

Esta aproximación permitió descartar, con ese valor de corte, cualquier tipo de déficit grave como gran fortaleza, siempre aceptando la debilidad de poder eventualmente perder la posibilidad de encontrar un alelo portador de la enfermedad. Tenemos dos estudios publicados en nuestro país en la revista Archivos de Bronconeumología en 2015 y 2020 con esta estrategia que, luego de la medición de los niveles (se establece el déficit que define a la enfermedad) se continua el algoritmo diagnóstico con la realización de una prueba de PCR para la detección de los alelos S y Z solamente. Si bien comparativamente parece escaso contra las 14 mutaciones del nuevo método (S y Z, y 12 más), arrojó resultados muy buenos en nuestra región que permitieron el diagnóstico de varios pacientes con EPOC por DAAT, portadores de un solo alelo (heterocigotas para una sola mutación), además de brindar ayuda con el tamizaje familiar necesario en estos casos.

El estudio de la nueva estrategia diagnóstica de 14 mutaciones por hisopado bucal o DBS incluyó un considerable número de muestras, 30 827: 30 458 (94.7%) con resultado final después de la genotipificación directa, y 369 (1.1%) con secuenciación del gen adicional. Solamente el 0.3% de las muestras no se pudieron procesar debido a su mala calidad. La prevalencia de las combinaciones alélicas más frecuentes fueron MS 14.7%, MZ 8.6%, SS 1.9%, SZ 1.9% y ZZ 0.9%. Además, se identificaron 70 casos de nuevas mutaciones. Como se incluyeron pacientes tanto con EPOC como con asma mal controlada y bronquiectasias, se debe remarcar que en estas dos últimas afecciones también se encontraron mutaciones indicativas de DAAT.

Con respecto al porcentaje de alelos encontrados en los diferentes países participantes del estudio, España (país que más muestras aportó) mantuvo una prevalencia de ZZ del 1%, mientras que Latinoamérica, tomada en forma global, la tuvo en el 0.9%. Debemos considerar que la población en estudio presentaba otras enfermedades respiratorias crónicas y no solo EPOC.

Como conclusión, coincidimos con los autores en que esta novedosa herramienta diagnóstica es viable como estrategia de genotipificación en la DAAT, en distintos países con diferentes realidades sociales, epidemiológicas y sanitarias. El desempeño fue muy satisfactorio y dinámico para brin-

dar diagnóstico genético. La aparición de metodologías como esta, que puedan adaptarse a los algoritmos de diagnóstico locales para el beneficio de los pacientes y mejorar el subdiagnóstico de una enfermedad genética frecuente que dispone de tratamientos modificadores, es una excelente noticia.

Tabla 1. Descripción de los resultados de los genotipos encontrados.

	Argentina (n = 2491)	Brasil (n = 2620)	Chile (n = 3352)	Colombia (n = 2057)	LATAM (n = 10 520)	España (n = 18 272)	Turquía (n = 2035)	Total (n = 30 827)
Sin mutación	2107 (84.6)	1875 (71.6)	2929 (87.4)	1800 (87.5)	8711 (82.8)	10,693 (58.5)	1895 (93.1)	21 300 (69.1)
Cualquier mutación	384 (15.4)	745 (28.4)	423 (12.6)	257 (12.5)	1809 (17.2)	7579 (41.5)	140 (6.9)	9528 (30.9)
Genotipos frecuentes:	359 (14.4; 93.5)	670 (25.6; 89.9)	381 (11.4; 90.1)	248 (12.1; 96.5)	1658 (15.8; 91.7)	6934 (37.9; 91.5)	53 (2.6; 37.9)	8645 (28.0; 90.7)
MS	237(9.5; 61.7)	332 (12.7; 44.6)	287 (8.6; 67.8)	193 (9.4; 75.1)	1049 (10.0; 58.0)	3466 (19.0; 45.7)	7 (0.3; 5.0)	4522 (14.7; 47.5)
MZ	95 (3.8; 24.7)	194 (7.4; 26.0)	76 (2.3; 18.0)	35 (1.7; 13.6)	400 (3.8; 22.1)	2200 (12.0; 29.0)	39 (1.9; 27.9)	2639 (8.6; 27.7)
SS	12 (0.5; 3.1)	22 (0.8; 3.0)	8 (0.2; 1.9)	8 (0.4; 3.1)	50 (0.5; 2.8)	550 (3.0; 7.3)	0 (0.0; 0.0)	600 (1.9; 6.3)
SZ	10 (0.4; 2.6)	43 (1.6; 5.8)	6 (0.2; 1.4)	6 (0.3; 2.3)	65 (0.6; 3.6)	536 (2.9; 7.1)	0 (0.0; 0.0)	601 (1.9; 6.3)
ZZ	5 (0.2; 1.3)	79 (3.0; 10.6)	4 (0.1; 0.9)	6 (0.3; 2.3)	94 (0.9; 5.2)	181 (1.0; 2.4)	7 (0.3; 5.0)	282 (0.9; 3.0)
Alelo S	260 (10.4; 67.7)	399 (15.2; 53.6)	301 (9.0; 71.2)	208 (10.1; 80.9)	1168 (11.1; 64.6)	4687 (25.7; 61.8)	7 (0.3; 5.0)	5862 (19.0; 61.5)
Alelo Z	111 (4.5; 28.9)	329 (12.6; 44.2)	94 (2.8; 22.2)	45 (2.2; 17.5)	579 (5.5; 32.0)	2884 (15.8; 38.1)	51 (2.5; 36.4)	3514 (11.4; 36.9)
Alelos raros	20 (0.8; 5.2)	66 (2.5; 8.9)	33 (1.0; 7.8)	6 (0.3; 2.3)	125 (1.2; 6.9)	576 (3.2; 7.6)	76 (3.7; 54.6)	777 (2.5; 8.2)
Alelos nulos	1 (0.0; 0.3)	6 (0.2; 0.8)	3 (0.1; 0.7)	0 (0.0; 0.0)	10 (0.1; 0.6)	31 (0.2; 0.4)	2 (0.1; 1.4)	43 (0.1; 0.4)
Alelos nuevos	4 (0.2; 1.0)	5 (0.2; 0.7)	7 (0.2; 1.7)	3 (0.1; 1.2)	19 (0.2; 1.1)	42 (0.2; 0.5)	10 (0.5; 7.1)	71(0.2; 0.7)

Los datos se expresan como números absolutos, con porcentajes entre paréntesis; el primer valor muestra los porcentajes referidos al número total de muestras en el área geográfica; el segundo valor muestra los porcentajes referidos al número total de casos con mutación en el área geográfica.

Distribución de Alelos Raros de Alfa₁ Antitripsina en Seis Países

La red de diagnóstico *Progenika* ha permitido identificar varios alelos raros, algunos no esperados y no incluidos en el panel diagnóstico inicial. Surge, entonces, una nueva perspectiva que permitirá conocer la distribución de estos alelos en diferentes países y ayudará a priorizar la selección de alelos para las pruebas de rutina.

Introducción

En las últimas décadas aumentó considerablemente el número de mutaciones del gen *SERPINA1*, asociadas con el déficit de alfa₁ antitripsina (DAAT). Las dos mutaciones más frecuentes consisten en la mutación S (c.863A > T) y la mutación Z (c.1096G > A); sin embargo, actualmente se reconocen más de 500 variantes, que surgieron a partir de las discrepancias entre el nivel sérico de alfa₁ antitripsina (AAT) y la mutación encontrada mediante genotipificación directa. Aunque las mutaciones raras suelen considerarse patogénicas, la mayoría de ellas se refirieron en casos individuales, en ausencia de un examen exhaustivo para determinar su capacidad patogénica. Tampoco existe información relacionada con la frecuencia de estas mutaciones raras en amplias poblaciones de pacientes con DAAT. La mutación debe identificarse en individuos con DAAT y con afectación pulmonar o hepática significativa; el conocimiento preciso acerca de la frecuencia de estas mutaciones raras contribuiría a mejorar el tratamiento de la enfermedad, a priorizar la identificación de alelos en la práctica habitual y a conocer con precisión el comportamiento fisiopatogénico de estas mutaciones.

En un estudio reciente, los autores publicaron los resultados obtenidos a partir de un nuevo sistema genotípico para el diagnóstico de DAAT basado en hisopados bucales y gotas de sangre seca. El análisis de más de 30 000 muestras de seis países confirmó que este procedimiento es factible y adecuado para el diagnóstico genético de pacientes con DAAT. La implementación de esta red de diagnóstico de DAAT reveló la existencia de 14 mutaciones que explican la mayoría de los casos patológicos de la enfermedad. A partir de los datos de este registro, el objetivo de este estudio fue describir las frecuencias de alelos raros y su relación con la enfermedad respiratoria y hepática. Los hallazgos ayudarán a comprender la importancia epidemiológica y biológica de estas mutaciones en cada región geográfica.

Métodos

Este estudio fue un análisis secundario de los datos de una investigación en la que se evaluó el sistema de diagnóstico de *Progenika* (*Progenika Biopharma*, Derio, Vizcaya, España) en 30 827 muestras de pacientes con diagnóstico presuntivo de DAAT de seis países diferentes. Mediante esta red de diagnóstico se encontraron mutaciones en el 30.9% de las muestras (n = 9528). En el análisis observacional transversal se analizaron los datos anónimos incluidos en la plataforma web *Progenika*

entre el 12 de marzo de 2018 y el 10 de enero de 2022. La industria farmacéutica proporcionó los equipos necesarios para la recolección de gotas de sangre seca o hisopados bucales en los centros participantes. Para el análisis actual se analizaron muestras provenientes de pacientes de la Argentina, Brasil, Chile, Colombia, España y Turquía. Los médicos participantes debieron aportar información acerca de las características clínicas de los pacientes, incluida la edad, el hábito de fumar (fumador, exfumador o nunca fumador), el nivel sérico de AAT y el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF₁, expresado como porcentaje del valor esperado) y los motivos por los cuales se solicitó la prueba. El nivel de AAT se utilizó para determinar la concordancia con el genotipo y, en caso de no concordancia, para la secuenciación del gen *SERPINA1*. Según las guías españolas, los niveles de AAT ≤ 50 mg/dl definen la deficiencia grave.

La genotipificación específica de alelo se llevó a cabo con la prueba de genotipo A1AT de *Progenika*. La prueba utiliza amplificación por reacción en cadena de la polimerasa para obtener grandes cantidades de secuencias diana del gen *SERPINA1*; el sistema Luminex® 200 se utilizó para detectar fragmentos amplificados previamente marcados. La prueba con gotas de sangre seca y los hisopados bucales tienen la marca CE, de Conformidad Europea, y la aprobación de la *Food and Drug Administration* de los Estados Unidos. La prueba está diseñada para usarse con ADN genómico extraído de muestras de sangre entera humana, recolectadas como gotas de sangre seca, o de muestras bucales humanas, por medio del dispositivo *ORACollect Dx OCD-100*. La prueba permite identificar las 14 variantes de deficiencia más frecuentes del gen *SERPINA1*, es decir, PI*S, PI*Z, PI*I, PI*M_{procida}, PI*M_{malton}, PI*S_{iyama}, PI*Q0_{granite falls}, PI*Q0_{west}, PI*Q0_{bellingham}, PI*F, PI*P_{lowell}, PI*Q0_{mattawa}, PI*Q0_{clayton} y PI*M_{heerlen}. En ausencia de alguno de estos 14 alelos, el resultado se consideró negativo y se interpretó como un alelo M. La ausencia de cualquiera de estos 14 alelos sugiere con más del 99% de probabilidad que el genotipo corresponde a PI*M, a menos que exista una discrepancia con los niveles de AAT. En esos casos, se realizó la secuenciación del gen. Para el análisis actual solo se incluyeron aquellos casos con mutaciones raras, identificadas por el sistema de diagnóstico *Progenika*, de manera que se excluyeron las muestras con genotipos resultantes exclusivamente de una combinación de alelos S o Z (MS, MZ, SS, SZ y ZZ). También se excluyeron las mutaciones recientemente identificadas no descritas previamente. Luego de la identificación de todos los alelos raros se realizó una revisión no sistemática de

la literatura en busca de información sobre estos alelos raros, mediante la búsqueda del nombre del alelo en PubMed.

Resultados

Se analizaron 818 pacientes con variantes raras (2.7% de 30 827 muestras; 8.6% de 9528 portadores de alguna mutación). Se comprobó deficiencia grave de AAT en 572 pacientes (9.8% de aquellos con valores de AAT sérica). Todos los casos fueron heterocigotos, excepto los siguientes 20 casos: 1 caso homocigoto PI*M^{procida}, 13 casos homocigotos PI*M^{malton}, 1 caso homocigoto PI*M^{heerlen}, 4 casos homocigotos PI*P^{lowell} y 1 caso

homocigoto PI*Q0^{mattawa}. Entre las 14 mutaciones incluidas en el panel de *Progenika* no se encontraron casos de PI*S^{liyama}, PI*Q0^{granite falls} y PI*Q0^{west}. Mediante secuenciación genética se identificaron otros alelos no incluidos en el panel inicial de 14 mutaciones; estas consistieron en PI*M^{würzburg}, PI*Z^{bristol} y PI*Z^{wrexham}, y los alelos nulos PI*Q0^{porto}, PI*Q0^{madrid}, PI*Q0^{brescia} y PI*Q0^{kayseri}. El alelo tipo M más frecuente fue PI*M^{malton}, seguido de PI*M^{heerlen}. Aunque estos alelos se identificaron predominantemente en las muestras de España, se encontraron algunas combinaciones (PI*M^{malton}, PI*M^{heerlen} o PI*M^{procida}) en muestras de otros países. Después de España, en Brasil se encontró la mayoría de las mutaciones raras. Uno de los alelos raros más

Tabla 1. Resumen de las características principales de las mutaciones encontradas.

Nombre del alelo	Base	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Código de SNP	Código ClinVar	Nivel AAT (%)	Actividad AAT	Riesgo pulmonar	Riesgo hepático
F	-	c.739C > T	p.Arg247Cys	rs28929470	17 961	80	Reducido	Bajo	Bajo
I	-	c.187C > T	p.Arg63Cys	rs28931570	17 974	50	Reducido	Bajo	Bajo
M ^{procida}	-	c.194T > C	p.Leu65Pro	rs28931569	17 971	10	Levemente reducido	Alto	Bajo
M ^{heerlen}	-	c.1178C > T	p.Pro393Leu	rs199422209	17 965	2	Reducido	Alto	Bajo
M ^{würzburg}	M1V	c.1177C > T	p.Pro393Ser	rs61761869	289 135	10-15	Reducido	Alto	Bajo
M ^{vall d'hebron}	M1A	-	-	-	-	-	-	Alto	Bajo
M ^{palermo}	M1V	c.227_229delTCT p.	Phe76del	rs775982338	315 028	15	Reducido	Alto	Alto
M ^{malton}	M2	-	-	-	-	15	Reducido	Alto	Alto
M ^{nichinan} †	-	c.227_229delTCT	p.Phe76del	rs775982338	315 028	15	Reducido	Alto	Alto
-	-	c.514G > A	p.Gly172Arg	rs112030253	393 473	-	-	-	-
P ^{lowell}	M1V	c.839A > T	p.Asp280Val	rs121912714	17 975	40	Reducido	Alto	Alto
P ^{duarte Q0cardiff}	M4	-	-	-	-	40	Reducido	Alto	Bajo
Q0 ^{bellingham}	-	c.721A > T	p.Lys241*	rs199422211	17 977	No detectable	-	Alto	Bajo
Q0 ^{granitefalls}	-	c.552delC	p.Tyr184*	rs267606950	17 976	No detectable	-	Alto	Bajo
Q0 ^{madrid}	M3	c.-5 + 2dupT	NA	No informado	No informado	No detectable	-	Alto	Bajo
Q0 ^{faro}	M1V	-	-	-	-	No detectable	-	Alto	Bajo
Q0 ^{mattawa}	M1	c.1130dupT	p.Leu377Phefs*24	rs763023697	552 891	No detectable	-	Alto	Bajo
Q0 ^{ouren}	M3	-	-	-	-	No detectable	-	Alto	Bajo
Q0 ^{west}	-	c.646 + 1G > T	NA	rs751235320	189 064	No detectable	-	Alto	Bajo
Q0 ^{clayton} Q0 ^{saarbruecken}	-	c.1158dupC	p.Glu387Argfs*14	rs764325655	188 845	No detectable	-	Alto	Bajo
S ^{liyama}	-	c.230C > T	p.Ser77Phe	rs55819880	-	30	Levemente reducido	Alto	Alto
Y ^{barcelona} ‡	-	-	c.839A > T	p.Asp280Val	rs121912714	10	Reducido	Alto	Alto
-	-	c.1244C > A	p.Pro415His	No informado	No informado	-	-	-	-
Y ^{orzinuovi}	-	c.1244C > A	p.Pro415His	No informado	No informado	10	Reducido	Alto	Alto
Z ^{bristol}	M1V	c.326C > T	p.Thr85Met	rs199422213	17993	15	Reducido	Alto	Alto
Z ^{wrexham}	-	c.17C > T	p.Ser6Leu	rs140814100	17 970	15	Reducido	Alto	Alto

† La variante M^{nichinan} se ha descrito como un haplotipo que combina las variantes M^{malton} y c.514G>A (una variante que no parece ejercer efectos deletéreos en sí misma).

‡ Y^{barcelona} resulta de la combinación de P^{lowell} e Y^{orzinuovi}

NA: no aplicable

comunes fue PI*I; se lo encontró predominantemente en muestras de España. El alelo PI*F también se identificó con frecuencia. Otros alelos fueron menos frecuentes, pero algunos se identificaron en Turquía, por ejemplo, combinaciones con P^{lowell}. El alelo nulo más frecuente fue Q0^{mattawa}. Estos alelos fueron menos frecuentes, en tanto que las combinaciones homocigotas fueron extremadamente raras. La mutación Q0^{kayseri} fue originaria de Turquía; el único caso homocigoto de Q0^{brescia} también se encontró en una muestra de ese país (Tabla 1).

Discusión y conclusión

La DAAT es un trastorno hereditario que aumenta el riesgo de enfermedades pulmonares y hepáticas. Hasta ahora se han identificado numerosas mutaciones puntuales del gen *SERPINA1*, aunque muchas de ellas no se asocian con mayor riesgo de trastornos respiratorios o hepáticos. La mejor comprensión de las vías biológicas subyacentes que conducen al daño celular en la DAAT podría ser sumamente beneficiosa para el tratamiento de la enfermedad, un aspecto particularmente relevante en la actual situación pandémica, por las posibles asociaciones entre la DAAT y la enfermedad por coronavirus 2019. En la red de diagnóstico *Progenika* participan aquellos países que utilizan este sistema como diagnóstico estándar de la DAAT. Las principales fortalezas del presente estudio tienen que ver con el gran número de muestras analizadas, la determinación simultánea de varios genotipos y la secuenciación de muestras de diferentes países, lo que permite evaluar la distribución geográfica de estas mutaciones. Sin embargo, existen algunas limitaciones que deben tenerse en cuenta al interpretar los hallazgos. De hecho, el estudio se realizó con una población altamente seleccionada de pacientes. En consecuencia, las cifras podrían sobrestimar la prevalencia de la enfermedad en la población general. Además, los casos con hepatopatía de causa desconocida pudieron estar poco representados, y solo se realizó secuenciación genética de aquellas muestras con discrepancia entre el nivel sérico de AAT y la mutación encontrada. A pesar de estas limitaciones, este fue el estudio a mayor escala realizado hasta la fecha, con

el análisis de la frecuencia de variantes raras en una muestra de pacientes con diagnóstico presuntivo de DAAT. La información obtenida de la revisión de la literatura debe interpretarse con precaución, ya que algunas mutaciones tienen un número escaso de casos y sus efectos pueden verse influenciados por una mutación acompañante. Además, a algunas mutaciones se les ha asignado más de un nombre. PI*I y PI*F fueron los primeros alelos descritos en 1967. El alelo PI*I se ha asociado con DAAT moderada con concentraciones séricas similares a las observadas con el alelo S. La afectación hepática no suele observarse con PI*I a menos que vaya acompañada de un alelo asociado con compromiso hepático. En función de los hallazgos del presente estudio, los alelos tipo M fueron los más frecuentes en pacientes con sospecha de DAAT. En conclusión, esta investigación describe la frecuencia de alelos raros y nulos, en una muestra de una amplia población de seis países. La red de diagnóstico *Progenika* ha permitido la identificación de varios alelos raros y aporta una nueva visión de la distribución de estos alelos en diferentes países. Los estudios futuros deberían centrarse en la caracterización de estas y otras mutaciones nuevas, a medida que surjan en el contexto del estudio de pacientes con sospecha de DAAT. Estos hallazgos contribuirían a priorizar la selección de alelos para las pruebas de rutina, ya que resaltan la necesidad de continuar la investigación para conocer las funciones patogénicas de las variantes genéticas. El conocimiento de la frecuencia de mutaciones raras de *SERPINA1* podría contribuir a optimizar el tratamiento de la DAAT. En este estudio se evaluaron las frecuencias de alelos raros y nulos y su relación con la enfermedad respiratoria y hepática. Se confirma que la red de diagnóstico de *Progenika* ha permitido identificar varios alelos raros, algunos inesperados y no incluidos en el panel de diagnóstico inicial.

En general, los resultados indican una baja frecuencia de estos alelos, permiten conocer la distribución en diferentes países e identifican aquellas variantes que son más frecuentes en diferentes áreas geográficas. Las denominadas variantes raras podrían no ser tan raras cuando se utiliza un sistema de diagnóstico exhaustivo.

Título original: Distribution of Alpha1 Antitrypsin Rare Alleles in Six Countries: Results from the Progenika Diagnostic Network

Autores: Lopez-Campos J, Rapun N, Osaba L y colaboradores

Institución: Universidad de Sevilla, Sevilla; Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España, y otros centros participantes

Fuente: Human Genomics 17(1):1-12, Jun 2023

Alelos raros de alfa₁ antitripsina, en realidad, no tan raros



Dr. Mariano Fernández Acquier

Neumólogo, Director Asociado Médico, Hospital Especializado de Agudos y Crónicos "Dr. A. Cetrángolo", Buenos Aires, Argentina

El conocimiento de la frecuencia de mutaciones raras en el gen *SERPINA1* (*Serine Proteinase Inhibitor*) podría ayudar en el tratamiento de la deficiencia de alfa₁ antitripsina (DAAT). El gen *SERPINA1* está localizado en el extremo distal del brazo largo del cromosoma 14 y codifica la proteína inhibidora de proteasas, denominada alfa-1-antitripsina (A1AT). El estudio comentado tuvo como objetivo evaluar las frecuencias de alelos raros y nulos, y su patogenicidad respiratoria y hepática. En la República Argentina, hasta hace pocos años se podía dilucidar la presencia de una mutación rara casi solamente mediante la secuenciación completa del gen.

La nueva metodología que se presentan en esta investigación hace más asequible la posibilidad de detección de estos alelos raros o nulos, que suelen sospecharse ante la presencia de discrepancias entre los niveles en sangre entera y las mutaciones encontradas en el genotipo o fenotipo, además de las características clínicas, funcionales e imagenológicas del individuo en estudio.

Con respecto al método de este trabajo, se trata de un análisis secundario de un estudio que evaluó la viabilidad del sistema de genotipificación diagnóstica, denominado *Progenika*, en seis países diferentes mediante el análisis de 30 827 muestras de casos con sospecha de DAAT. Los países participantes fueron la Argentina, Brasil, Colombia y Chile, del grupo de Latinoamérica, además de España y Turquía.

La genotipificación de alelo específico se llevó a cabo con el test *Progenika* A1AT, que analiza 14 mutaciones en hisopados bucales o muestras de gotas de sangre seca. La secuenciación genética de *SERPINA1* se realizó para detectar

discrepancias en el genotipo de A1AT sérico o a petición del médico. Solo se incluyeron en este análisis los casos con mutaciones raras.

Se encontraron 818 casos (2.6%) portadores de un alelo raro, excluidas las mutaciones nuevas recién identificadas. Todos eran heterocigotos, excepto 20 que eran homocigotos. Los alelos más frecuentes fueron los de tipo M, PI*M_{malton} y PI*M_{heerlen}. De las 14 mutaciones incluidas en el panel de *Progenika*, no se detectaron casos de PI*S_{iiyama}, PI*Q0_{granitefalls} y PI*Q0_{west}. Otros alelos no incluidos en el panel de 14 mutaciones e identificados por secuenciación génica fueron PI*M_{Mwurzberg}, PI*Z_{bristol} y PI*Z_{wrexham}, así como los alelos nulos PI*Q0_{porto}, PI*Q0_{madrid}, PI*Q0_{brescia} y PI*Q0_{kayseri}.

En la Tabla 1 se observa la frecuencia de alelos nulos y raros en los diferentes países que participaron en el estudio. España aportó más muestras que toda Latinoamérica, por lo que, en números absolutos y relativos, presenta más alelos raros y nulos que nuestra región.

También, resulta muy interesante qué riesgo pulmonar o hepático representa para un eventual individuo portador la presencia de cada uno de estos alelos raros o nulos. Se debe tener en cuenta que estos hallazgos deben ser analizados caso por caso, debido a los pocos eventos registrados en la literatura.

En el caso particular de la Argentina, los alelos encontrados fueron: 20 alelos raros y 1 alelo nulo. Es interesante resaltar que en nuestro país ya teníamos conocimiento de la existencia de alelos raros, ya que en 2018 se presentó en el *European Respiratory Congress* llevado a cabo en París, el trabajo *Results from the Argentinean AATD Screening*

Tabla 1. Frecuencia de alelos nulos y raros en los diferentes países.

	Argentina (n = 2491)	Brasil (n = 2620)	Chile (n = 3352)	Colombia (n = 2057)	LATAM (n = 10 520)	España (n = 18 272)	Turquía (n = 2035)	Total (n = 30 827)
Cualquier mutación:	384 (15.4)	745 (28.4)	423 (12.6)	257 (12.5)	1809 (17.2)	7579 (41.5)	140 (6.9)	9528 (30.9)
Alelos raros	20 (0.8; 5.2)	66 (2.5; 8.9)	33 (1.0; 7.8)	6 (0.3; 2.3)	125 (1.2; 6.9)	576 (3.2; 7.6)	76 (3.7; 54.6)	777 (2.5; 8.2)
Alelos nulos	1 (0.0; 0.3)	6 (0.2; 0.8)	3 (0.1; 0.7)	0 (0.0; 0.0)	10 (0.1; 0.6)	31 (0.2; 0.4)	2 (0.1; 1.4)	43 (0.1; 0.4)
Raros + nulos	21 (0.7; 5.4)	72 (2.7; 9.6)	36 (1.0; 8.5)	6 (0.2; 2.3)	135 (1.2; 7.4)	607 (5.7; 8.0)	78 (3.8; 55.7)	820 (2.7; 8.6)

Los datos se expresan como números absolutos, con porcentajes entre paréntesis; el primer valor muestra los porcentajes referidos al número total de muestras en el área geográfica; el segundo valor muestra los porcentajes referidos al número total de casos con mutación en el área geográfica.

Program 2010-2017. En dicho estudio se analizaron casi 10 000 muestras con gota de sangre seca (*driedblood spots*, DBS) que determinaban los genotipos S y Z; al encontrar discrepancias entre los valores hallados, la presentación clínica del paciente y el genotipo S o Z, se procedió a la secuenciación completa del gen *SERPINA1*, con lo que se encontraron 13 alelos raros entre los que predominaron los tipo M, particularmente los PI*M_{malton}.

En conclusión, la red diagnóstica *Progenika* ha permitido la identificación de varios alelos raros, algunos no esperados y no incluidos en el panel diagnóstico inicial. Esto establece una nueva perspectiva sobre la distribución de estos alelos en diferentes países. Estos hallazgos pueden ayudar a priorizar la selección de alelos para las pruebas de rutina en cada región o país, y resaltan la necesidad de más investigación sobre su papel patogénico.