



Aspetti clinici e prognostici della patologia epatica o polmonare conseguente a deficit di alfa1-antitripsina: analisi sul Registro Italiano

Giorgia Sala, Ilaria Ferrarotti, Maurizio Luisetti

*Clinica delle Malattie dell'Apparato Respiratorio, Università degli Studi di Pavia,
Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia*

Aspetti clinici e prognostici della patologia epatica o polmonare conseguente a deficit di alfa1-antitripsina: analisi sul Registro Italiano

Quest'articolo analizza i dati raccolti nel registri italiano per il deficit di alfa1-antitripsina dal 1996 al 2011 per trarne una descrizione maggiormente dettagliata del decorso naturale della patologia, un'analisi approfondita del fenotipo clinico e della caratterizzazione molecolare delle varianti rare, ed una valutazione dell'efficacia e dell'opportuno utilizzo della terapia.

Clinical and prognostic aspects of liver or lung disease resulting from alpha1-antitrypsin deficiency: analysis of the Italian Registry

This article analyzes the data collected in the Italian Registry for alpha1-antitrypsin deficiency from 1996 to 2011 to build on it a more detailed description of the natural history of the disease, an exhaustive analysis of the clinical phenotype and molecular characterization of rare variants, and an evaluation of the effectiveness and the appropriate use of therapy.

Introduzione

Il deficit di alfa1-antitripsina (AATD) è considerata una patologia genetica rara, avendo in Europa una prevalenza di 1/5000 abitanti, ma è ampiamente sotto-diagnosticata. È un disordine autosomico co-dominante per il quale sono stati identificati più di 100 alleli. Le principali manifestazioni cliniche del deficit di alfa 1-antitripsina sono prevalentemente polmonari (enfisema, bronchite cronica, iperreattività bronchiale, bronchiectasie) ed epatiche (epatite cronica, cirrosi, carcinoma epatico), più raramente dermatologiche o vasculitiche.

Scopo del lavoro

Lo scopo di questo lavoro è rivolto all'elaborazione dei dati raccolti ed analizzati dal 1996 nel Registro Italiano per il deficit di alfa1-antitripsina, che, in forza dei numeri raggiunti pur trattandosi di una patologia rara, permetterà la caratterizzazione dettagliata del corso naturale della patologia e del livello di patient care. I risultati ottenuti verranno inoltre paragonati agli altri registri europei. L'attenzione verrà focalizzata sulle varianti rare sia per quanto riguarda una più approfondita caratterizzazione molecolare, sia in relazione al fenotipo clinico dei pazienti portatori.

Materiali e metodi

Partecipanti

Sono stati valutati pazienti con più di 18 anni affetti da AATD severo ed arruolati nel Registro Italiano per la Carenza Severa di alfa1-antitripsina dal 1996 al 2011. Il programma di screening scelto si basa sull'utilizzo di DBS (dried blood spot), su cui effettuare le indagini diagnostiche. In pratica un kit dedicato, contenente una speciale carta filtro, viene distribuito insieme ad appositi questionari, agli pneumologi del territorio. Le raccomandazioni per lo screening della AATD sono la presenza di almeno uno dei seguenti elementi: insorgenza giovanile BPCO, anamnesi familiare positiva per BPCO, livelli ridotti di alfa1-globulina all'elettroforesi, livelli di AAT nel siero minori di 80 mg/dl (con tecnica nefelometrica) o di 150 mg/dl (con immunodiffusione), anamnesi familiare positiva per AATD. Dal 2003 ad oggi, i kit vengono spediti al Centro di Riferimento per la Diagnosi del Deficit di AAT di Pavia, dove vengono analizzati. I dati clinici e anagrafici del soggetto vengono recuperati tramite questionari compilati dai medici di riferimento e spediti insieme ai campioni. Tutti i soggetti in esame hanno dato il loro consenso alla diagnosi genetica la cui realizzazione è stata anche approvata dai comitati etici delle istituzioni coinvolte. I campioni sono inizialmente analizzati per valutare i livelli di AAT nel siero. Tutti i campioni vengono poi genotipizzati per le due varianti deficitarie più frequenti ovvero S e Z. I dati quantitativi e qualitativi sono quindi riportati in schede personali di segnalazione del caso. Riteniamo che il valore di 113mg/dL rappresenti il miglior cut-off per differenziare soggetti con e senza deficit di AAT [1]. In base ai dati ottenuti fino a questo punto ci si può trovare di fronte a 4 diverse situazioni:

- livelli plasmatici di AAT maggiori di 113 mg/dL e genotipo S e Z negativo: il campione viene considerato normale e non sono necessarie ulteriori analisi.
- Livelli plasmatici di AAT maggiori di 113 mg/dL e genotipo S o Z positivo: il campione è sottoposto a isoelettrofocalizzazione (IEF). Se il fenotipo conferma il risultato del genotipo, viene presa in considerazione l'idea che l'aumento della concentrazione di AAT, inusuale per una AATD intermedia, sia dovuto o a un fenomeno fisiologico o a una reazione di fase acuta.
- Livelli plasmatici di maggiori o uguali a 113mg/dL e genotipo S e Z negativo: il campione è fenotipizzato con IEF e sequenziato. Nel caso di un omozigosi per varianti rare di AATD viene fatta anche una ricerca per l'allele Q_0 isola di procida perché esso causa una delezione completa degli esoni codificanti per AAT e può dare una falsa omozigosi non rilevabile con la genotipizzazione, la fenotipizzazione o l'analisi delle sequenze degli esoni codificanti.
- Livelli plasmatici di AAT minori o uguali a 113 mg/dL e genotipo S o Z positivo: il campione viene fenotipizzato con IEF per confermare il genotipo. Se i livelli plasmatici sono maggiori o uguali a 70 mg/dL e il genotipo e fenotipo risultano essere PI*MS o PI*MZ non sono necessarie ulteriori analisi. Se i livelli plasmatici sono minori di 70 mg/dL e il genotipo e fenotipo ri-

sulta essere PI*MS o PI*MZ il campione viene sequenziato. Viene intrapresa una ricerca dell'allele Q0_{isola di procida} se il campione risulta essere PI*ZZ o PI*SS [2].

Gestione dei dati e definizioni

I dati analizzati includono informazioni anagrafiche e fisiche, abitudine al fumo, ragioni per le quali è sorto il sospetto di AATD, anamnesi medica generale e pneumologia, riscontri radiografici, test della funzionalità polmonare, livelli degli enzimi epatici, eventuale terapia pneumologia e sostitutiva, qualità della vita (valutata con il questionario del St. George's Hospital sui disturbi respiratori), informazioni lavorative. Il ritardo diagnostico viene calcolato come differenza degli anni che passano dal momento della comparsa dei sintomi a quello della diagnosi. Tutti i soggetti per i quali si è giunti a una diagnosi tramite uno screening familiare vengono considerati casi non indice.

Risultati

Dall'aprile 1996 all'agosto 2012 sono stati sottoposti a screening un totale di 3570 soggetti, di cui i maschi costituiscono il 64.3%. La figura 2 mostra il numero di soggetti sottoposti a screening ogni anno, nel periodo preso in considerazione. Il grafico mostra un importante calo nel numero di soggetti sottoposti a screening nel periodo tra il 2002 e il 2006, in cui vi è stato il cambio di competenze tra il laboratorio di Roma, centro diagnostico di riferimento nella prima fase del programma di screening, e il Centro di Pavia per quanto riguarda la diagnosi di laboratorio.

Tra i motivi che hanno portato all'esecuzione dello screening appaiono essere preponderanti le patologie polmonari, rappresentando circa la metà dei casi. Una buona percentuale di individui è stata studiata in conseguenza all'individuazione di un familiare affetto (23%), mentre la patologia epatica rappresenta solo il 3% delle cause di screening. Importante appare essere la percentuale di individui il cui motivo del ricorso allo screening non è noto (20%); in questa percentuale ricadono per lo più soggetti sottoposti a screening nel periodo 1996-1999, in cui tale informazione non era spesso riportata da medico curante. Per quanto riguarda la provenienza regionale, essa è maggiore nelle regioni del nord Italia che con un totale di 2374 soggetti studiati rappresenta il 66.50% del totale. In particolare risulta importante il contributo della Lombardia che da sola apporta il 30% dei soggetti esaminati. Questo può essere spiegato sia dalla maggiore popolosità della regione che da una più capillare diffusione delle informazioni riguardanti la patologia e il progetto di screening in atto tra gli addetti al settore sanitario, facilitato anche dalla presenza in loco del Centro di Riferimento.

Dal 1995 al 2011 sono stati sottoposti a screening un totale di 3325 soggetti, dei quali 2026 (61% del totale) sono risultati normali (PI*MM). Lo screening, ha permesso l'individuazione di 384 casi di AATD severo rappresentanti l'11.5% del totale e di 915 casi di AATD intermedio costituenti il 27.5% dei casi analizzati. Tra i casi di deficit severo, 245, ovvero il 63.8%, era rappresentato da pazienti con genotipo PI*ZZ, 58, ovvero il 15.1%, con genotipo PI*SZ, 5, ovvero 1.3%, con genotipo PI*SS e 76, ovvero il 19.8%, erano rappresentato dal genotipo PI*RR, gruppo di pazienti con almeno un allele deficitario raro, diverso da Z o S. L'analisi delle percentuali delle diagnosi di deficit severo confrontato con quelle di deficit intermedio mostra come negli ultimi anni siano proporzionalmente aumentate queste ultime, probabilmente per la maggiore attenzione al problema dovuta alle numerose campagne di sensibilizzazione, che ha portato al riconoscimento della patologia anche quando i sintomi di presentazione sono di minor gravità. Dei 384 pazienti screening identificati come affetti da deficit severo di alfa1-antitripsina dal programma di target screening italiano per AATD, 325 (85%) sono stati arruolati all'interno del Registro Italiano del deficit severo di alfa1-antitripsina. Questo dato indica una

buona collaborazione dei medici aderenti al programma di screening per quanto riguarda la trasmissione dei dati clinici e anamnestici per la creazione del Registro. Tra i pazienti arruolati nel Registro italiano, 289 sono stati anche registrati in AIR (Alpha one International Registry). Analizzando l'andamento dell'arruolamento dei pazienti nei due registri si nota una discrepanza numerica tra il Registro Italiano e AIR che è data principalmente dal fatto che i pazienti arruolati nel Registro Italiano tra il 1996 e il 2000, non soddisfacevano i requisiti minimi richiesti per l'inserimento in AIR.

Per quanto riguarda le patologie che hanno portato allo screening, e successivamente all'arruolamento, risultano più frequenti quelle polmonari (63.68%), dato evidenziato dall'istogramma in figura 1. Pochi pazienti sono stati invece indagati a seguito di riscontro di epatopatia (8.3%) e il loro numero è simile a quelli il cui riscontro della patologia è occasionale (7.39%), ovvero dei soggetti in cui il riscontro di un deficit plasmatico di AAT è stato del tutto incidentale. Ancora più esiguo risulta il numero di pazienti arruolati in seguito all'indagine eseguita per altre patologie, che nello specifico risultano essere un caso per ciascuna delle seguenti: sinusite cronica, panniculite, deficit di IgA, vasculite cANCA positiva, artrite reumatoide. Importante è invece il contributo numerico dato dalle analisi eseguite a seguito di riscontro di un familiare affetto da AATD (19.07%); da questo dato si evince l'importanza di sottoporre sempre ad ulteriori esami i familiari di soggetti affetti da deficit di AAT. Tra i pazienti arruolati le frequenze dei genotipi riscontrati non si discostano di molto in termini percentuali da quelle rilevate allo screening nei pazienti risultati affetti da AATD severo. È infatti evidente una preponderanza di genotipi PI*ZZ (66%) seguiti dal 15% e 18% di pazienti con genotipo PI*SZ e PI*RR.

Per quanto riguarda invece la distribuzione geografica dei vari genotipi è interessante notare come la variante ZZ sia maggiormente presente nelle regioni del nord d'Italia, soprattutto in Lombardia, Veneto e Trentino Alto Adige, in relazione all'origine etnica delle popolazioni di questi luoghi, fortemente influenzate dai flussi migratori dal nord-est europeo dove è maggiormente diffusa questa variante allelica. Per la medesima ragione, la cartina in figura 2 evidenzia una distribuzione della variante SZ sempre limitata alle regioni del nord. Molto più omogenea è invece la distribuzione geografica delle varianti rare, RR, che, salvo una maggior presenza in Sardegna, hanno poi una frequenza abbastanza simile nel resto della penisola. È interessante notare come, per il gruppo di pazienti PI*RR, ad una elevata numerosità (57 casi) si associa anche una notevole varietà di mutazioni identificate (12 mutazioni diverse assortite in 22 genotipi): I/M_{procida} (1), M_{malton}/M_{malton} (5), M_{procida}/M_{procida} (2), Null/NullQ0_{brescia}/Q0_{brescia} (1), Plowell/Q0_{mattawa} (1), Q0/Q0 (2), Q0_{brescia}/Q0_{brescia} (1), Q0_{cairo}/M_{procida} (1), Q0_{cairo}/Q0_{cairo} (2), Q0_{clayton}/Q_{clayton} (1), Q0_{ourem}/Q0_{ourem} (1), S/M_{heerlen} (1), S/M_{malton} (4), S/Plowell (2), Z/I (5), Z/M_{brescia} (1), Z/M_{malton} (10), Z/M_{procida} (8), Z/_{wurzburg} (4), Z/_{Plowell} (2), Z/Q0_{brescia} (1), Z/Q0_{isola di procida} (1).

È evidente come, tra tutte le varianti del gene *SERPINA1* identificate, le più diffuse dopo la Z, sono la variante M_{malton}, chiamata anche M_{cagliari}, e la variante M_{procida} [3]. Entrambe queste mutazioni appartengono al gruppo delle M_{like}, ovvero si tratta di mutazioni con un aspetto fenotipico normale; infatti, queste mutazioni non provocano un'alterazione del punto isoelettrico della proteina per cui, all'analisi isoelettroforetica, hanno un comportamento simile alle varianti normali M e possono essere scambiate per tali. Solo il sequenziamento del gene ne permette l'identificazione. A parte questo aspetto, le due mutazioni in questione sono molto diverse tra loro, sia dal punto di vista molecolare che clinico. La mutazione M_{malton} è causata dalla delezione di un codone (Phe52) nell'esone II del gene che codifica per AAT. La proteina prodotta manca perciò di un aminoacido, ovvero una fenilalanina essenziale per il corretto folding proteico, e si accumula all'interno degli epatociti sotto forma di polimeri con un meccanismo simile a quello della variante Z. La conseguenza è, perciò, sia una diminuita concentrazione plasmatica (ne viene prodotta circa il 20% di un soggetto normale) e polmonare di AAT (responsabile degli eventuali danni polmonari), sia uno stress epatocellulare (responsabile di possibili danni epatici). La mutazione M_{malton} è diffusa soprattutto in Sardegna, come sottolineato dalla cartina in figura 2, dove sembrerebbe essere sorta e poi diffusa al resto dell'Italia, e nel mondo. Casi sporadici

di M_{malton} sono infatti stati documentati in Tunisia [4], Spagna[5], Germania [6], Irlanda, Stati Uniti, talvolta in soggetti di origini sarde. La variante M_{procida} è invece causata da una mutazione puntiforme (T→C) nell'esone II del gene, a livello del codone 41, che provoca un cambiamento aminoacidico (Leu41CTG→ProCCG). La conseguenza della mutazione è la rottura o indebolimento strutturale dell'alfa-elica A della proteina AAT. La proteina così destabilizzata viene velocemente degradata a livello intracellulare prima di essere secreta. La mutazione M_{procida} è perciò responsabile di una minor concentrazione plasmatica e polmonare di AAT (l'80% circa della proteina prodotta viene subito degradata) e dei problemi polmonari a questo correlati, ma non viene trattenuta all'interno degli epatociti. Perciò, dal punto di vista clinico, i pazienti con questa mutazione non sono a rischio di patologie epatiche, a differenza di quanto avviene nei pazienti M_{malton} . La mutazione è stata individuata per la prima volta in una famiglia italo-americana alla fine degli anni '80. È verosimile che l'origine della mutazione sia italiana, dal momento che questa variante è diffusa in modo abbastanza omogeneo nella penisola italiana.

Per quanto riguarda l'abitudine al fumo è interessante notare come tra pazienti con patologia polmonare, più del 50% dei soggetti siano ex fumatori. Da questo dato si possono trarre due conclusioni: la prima, in linea con l'analisi patogenetica della malattia, è che il fumo sia un importante fattore peggiorante la condizione clinica, principalmente per i pazienti con manifestazioni polmonari; la seconda, che la terapia per la patologia polmonare propone tra i primi interventi la disassuefazione dal fumo, che funziona nella maggior parte dei casi, come dimostra appunto l'alto numero di ex fumatori. La percentuale di fumatori ed ex fumatori nelle altre categorie di pazienti risulta in linea con le percentuali registrate nella popolazione italiana, mentre è difficile l'interpretazione dei dati relativi a pazienti arruolati in seguito al riscontro delle patologie meno frequenti per l'esiguità dei casi che danno origine ad un valore statistico non attendibile.

Analizzando i dati relativi all'età nella quale è stata effettuata la diagnosi e quelli relativi all'età di insorgenza dei sintomi, si nota che il ritardo diagnostico è di circa 7 anni, sia che la patologia che ha portato allo screening sia di tipo epatico che polmonare. Questo dato concorda con quanto riportato in letteratura [7-8]. Contrariamente a quanto riferito da studi precedenti invece, dall'analisi dei nostri dati risulta che sia più precoce la comparsa, e quindi la diagnosi, dovuta a patologie epatiche (mediamente intorno ai 30 anni) rispetto a quella polmonare (mediamente intorno ai 44 anni). È però opportuno evidenziare il limitato numero di casi con patologia epatica e il fatto che, nella maggior parte dei casi, le patologie epatiche insorgono dopo la 4°-5° decade di vita, quando la patologia polmonare è ormai già manifesta. Nel confronto tra i casi indice e non indice, tra i dati più evidenti vi è la minore età di diagnosi della malattia per quanto riguarda i casi non indice. Lo screening familiare permette infatti di individuare anche soggetti non ancora affetti da alcun sintomo in giovane età; per la medesima ragione è molto più bassa la percentuale di IRA (insufficienza respiratoria acuta), che risulta del 3% tra i casi non indice e del 16% tra gli altri. Anche l'insorgenza di polmonite è molto minore tra i casi non indice essendo presente nel 16% dei casi mentre nei casi indice è presente nel 26%. A conferma dell'ipotesi precedente ci sono anche i dati relativi alla funzionalità respiratoria: tra i casi non indice $FEV_1\%$ medio è 106 mentre tra quelli indice è 48 e lo stesso vale per $FVC\%$ che è mediamente di 112 tra i casi non indice e di 85 tra quelli indice. Tra i casi indice è maggiore la percentuale dei fumatori o ex-fumatori dato che indica come sia importante l'associazione tra il fumo e l'aggravamento della patologia polmonare che costituisce la maggior parte dei casi indice ma anche come la diagnosi anticipata nel gruppo dei non indice incida probabilmente sulla successiva abitudine dei soggetti. Un confronto più approfondito dei dati clinici dei soggetti affetti da patologia epatica rispetto a quelli affetti da patologia polmonare evidenzia, oltre alla discrepanza di età di insorgenza e alla diagnosi, come abbiamo già precedentemente riferito, anche una prevedibile differenza tra la percentuale di soggetti fumatori ed ex fumatori, rispettivamente del 68% tra gli affetti da patologie polmonari e 48% tra gli affetti da patologie epatiche, nonché tra il numero di pacchetti di sigarette fumati per anno, 20 pack/year per i

primi e 3 per i secondi. Risulta statisticamente significativa anche la differenza tra i pazienti che presentano un'alterazione degli enzimi epatici tra i due gruppi, come prevedibile. Anche gli indici di funzionalità respiratoria sono molto diversi nei due gruppi di pazienti essendo molto più ridotti nel gruppo che presenta manifestazioni polmonari: la media di FEV₁% è 43 e FVC% 81, mentre nel gruppo con patologia epatica sono rispettivamente il 103 e 101%. I dati riguardanti l'assunzione di alcolici sono diversi da quanto ci si potrebbe aspettare: infatti, dichiara di assumere alcolici il 33% dei soggetti affetti da patologia polmonare contro il 18% degli affetti da patologia epatica; il dato può essere spiegato dal fatto che è un dato qualitativo e non quantitativo, non essendo specificata la quantità di alcol assunta, e l'effetto sulla funzionalità epatica risulta, quindi, non determinante. L'analisi effettuata per confrontare l'età di insorgenza e alla diagnosi tra i diversi genotipi nei pazienti con malattia polmonare, evidenzia come per le variante PI*Q0Q0 i sintomi polmonari siano anticipati di almeno una decade rispetto alle altre classi genotipiche, essendo infatti l'età alla diagnosi mediamente di 40 anni mentre per i genotipi PI*ZZ e PI*RR è di 52 e 51 anni, lievemente successiva è la diagnosi per il genotipo PI*SZ.

Il confronto nei diversi genotipi dei parametri di funzionalità respiratoria, sintetizzato in tabella 1, mostra come oltre a causare malattia più precocemente, le varianti Null in omozigosi siano anche associate ai peggior parametri funzionali, con FEV₁% media di 32 e FVC% media di 73. Questa variante sembra inoltre essere quella a maggior componente restrittiva oltre che ostruttiva, come indicato dal maggior valore dell'indice di Tiffeneau (0.51) rispetto alle altre. Per quanto riguarda il confronto tra le altre varianti, quelle rare presentano la peggiore FEV₁% con un valore di 34 ma anche il maggior miglioramento in seguito a terapia, passando a 40 e il più basso indice di Tiffeneau registrato (0.34) che indica una maggior preponderanza della componente ostruttiva. I genotipi PI*ZZ e PI*ZR sono quelli che hanno FEV₁% migliore con valori di 44 e 45 ma mentre il genotipo omozigotico non risponde alla terapia broncodilatante che aumenta FEV₁% solo di 2 punti, quello eterozigotico con un allele raro sembra avere caratteristiche di risposta alla terapia intermedia tra il genotipo ZZ e quello RR con un aumento di FEV₁% pari a 5 punti. Per quanto riguarda PI*SZ è quello che presenta la maggiore variabilità tra FEV₁% misurata nei vari soggetti con questo genotipo, che è in effetti quello con la penetranza più varia. I pazienti sottosti a terapia sostitutiva con Prolastin®, dal 1999 al 2011, sono stati 10. Comparando alcune caratteristiche anamnestiche e relative alla funzionalità respiratoria, con quelle dei pazienti con patologie polmonari ma non in terapia con Prolastin® sono tre i dati in cui vi sono differenze statisticamente significative tra le due categorie:

- la percentuale di fumatori che è del 76% tra i pazienti in terapia e del 60% tra gli altri;
- il più alto numero di pazienti il cui genotipo comprenda almeno un allele deficitario raro tra i pazienti in terapia;
- i loro valori peggiori per quanto riguarda gli indici di funzionalità respiratoria. FEV₁% è infatti più bassa di 10 punti rispetto ai pazienti non in terapia (39 contro 49) e più bassi sono anche FVC% e l'indice di Tiffeneau, con valori rispettivamente di 77 contro 83 e 0.44 contro 0.50.

La possibile interpretazione di questi dati è che il fumo e il fatto di essere portatori di alleli deficitari rari siano da considerarsi ulteriori fattori di rischio associati con un più rapido declino della funzionalità respiratoria e che quindi questi pazienti abbiano più degli altri necessità di venire trattati con terapia sostitutiva.

Discussione

La cospicua quantità di dati ottenuti nei primi 15 anni di attività del Registro Nazionale Italiano per deficit severo di alfa1-antitripsina è stata qui raccolta ed analizzata. Il dato peculiare del Registro Ita-

liano è l'alta frequenza di varianti rare all'interno del gruppo di soggetti con AATD arruolati nel Registro; le varianti rare rappresentano circa il 1-2% dei casi AATD nei Registri Europei [5, 9]. Analogamente il Registro del National Heart, Lung and Blood Institute per AATD severo include l'1.7% di casi con genotipi diversi da PI*ZZ e PI*SZ [10], e il Registro della Alpha One Foundation Research Network arriva al 5.7% includendo pazienti con AATD severo e intermedio [11]. Il Registro Italiano ne conta ben il 18%. Questo dato trova riscontro nella variegata composizione genetica della popolazione della penisola italiana, che è tutt'altro che omogenea da questo punto di vista [12], ma è stato verosimilmente influenzato anche dai metodi diagnostici applicati al target screening che danno molta importanza al sequenziamento della porzione codificante del gene *SERPINA1*, senza la quale molte varianti deficitarie rare e null non potrebbero essere identificate. Gli alleli rari più frequenti sono tipici della penisola Italiana: M_{malton} (43%), di origine sarda, e M_{procida} (32%) dall'isola omonima, più diffuso nelle popolazioni dell'Italia centro-meridionale. Tra gli altri alleli identificati piuttosto ricorrenti nelle popolazioni Caucasiche, troviamo M_{wurzburg} e P_{lowell}. Quello delle varianti rare costituisce così un gruppo confrontabile, per dimensioni, a quello dei soggetti SZ. L'analisi dei dati derivati dallo studio di coorte effettuato negli ultimi 10 anni [2], grazie al nostro programma di identificazione del deficit ereditario di AAT, aveva evidenziato un'umentata prevalenza di BPCO, in funzione del genotipo della *SERPINA1*, in base alla seguente gerarchia: PI*MZ(38%)<PI*SZ(0.71%)<M/R(46%)<PI*ZZ(79%)<R/D(100%) (dove R indica un allele deficitario raro). L'analisi dei tre gruppi per sesso, frequenza di fumatori, età, livelli serici di AAT e funzionalità respiratoria indica chiaramente come il gruppo delle varianti rare si avvicini più a quello ZZ. I tre gruppi (SZ, ZZ e varianti rare) sono simili per quanto riguarda l'età; la maggior parte dei soggetti si colloca tra la 5° e la 6° decade. Tutti questi dati sono stati pressoché riconfermati nell'analisi presentata in questa tesi. Aumentando la numerosità della coorte analizzata, è stato inoltre possibile sottolineare altre peculiarità del Registro italiano. Il ritardo diagnostico, che costituisce un importante indicatore della consapevolezza e preparazione del personale medico nei confronti di questa malattia rara, risulta di circa 8-9 anni ed è superiore a quanto recentemente indicato per Stati Uniti (7.2 anni nel 1994 e 5.6 anni nel 2003) [11] e Germania (circa 6 anni) [8], indicando la necessità di ulteriori sforzi per promuovere campagne di sensibilizzazione a diversi livelli verso questo disordine. Il dato, invece, della precoce insorgenza di sintomi epatici rispetto a quelli respiratori è del tutto originale e in controtendenza rispetto a quanto già noto circa la storia clinica dell'AATD severo. Nonostante le perplessità già sottolineate a questo riguardo circa la numerosità campionaria e i metodi di rilevamento dei sintomi, è però un aspetto che merita un ulteriore approfondimento. Inoltre, nell'ottica di un'analisi finalizzata all'individuazione di un fenotipo clinico caratteristico della categoria genotipica, è risultato evidente come la condizione di omozigosi per varianti Null costituisca la forma più grave dal punto di vista respiratorio, all'interno del deficit severo di alfa1-antitripsina, come dimostrato dalla precoce insorgenza dei sintomi polmonari e dai dati funzionali (tabella 1), se paragonati a quelli delle altre classi genotipiche. Infine, per quel che concerne i pazienti per i quali si è ritenuta opportuna la somministrazione di terapia sostitutiva con AAT purificata di origine umana (Prolastin®), il confronto dei dati registrati al momento dell'arruolamento nel registro tra i pazienti che sarebbero poi stati sottoposti a terapia sostitutiva e i pazienti affetti da patologia polmonare ma non sottoposti al trattamento, mostra come l'abitudine al fumo e il fatto di essere portatori di alleli deficitari rari siano da considerarsi ulteriori fattori di rischio associati con un più rapido declino della funzionalità respiratoria, ragion per cui questi pazienti abbiano più degli altri necessità di venire trattati con terapia sostitutiva.

Tabelle e figure

Tabella 1. Confronto tra i diversi parametri di funzionalità respiratoria.

	PI*Q0Q0	PI*RR	PI*SZ	PI*ZR	PI*ZZ
	(n=7)	(n=6)	(n=19)	(n=17)	(n=142)
FEV₁% preBD	32.00.00 (12.0-63.0)	34.05.00 (20.2-51.8)	38.00.00 (27.1-90.7)	45.00.00 (27.1-74.0)	44.00.00 (40.0-48.5)
FVC% preBD	73.00.00 (21.0-98.0)	80.00.00 (52.8-106.2)	77.00.00 (56.0-96.7)	78.00.00 (60.1-94.7)	84.00.00 (74.0-90.0)
FEV₁/FVC preBD	0.51 (0.38-0.63)	0.34 (0.26-0.44)	0.49 (0.40-0.76)	0.43 (0.36-0.65)	0.48 (0.44-0.50)
FEV₁% postBD	50.00.00 (20.0-82.0)	40.04.00 (17.7-63.1)	37.05.00 (26.1-89.3)	50.00.00 (14.0-78.2)	46.00.00 (34.8-57.2)
FVC% postBD	94.07.00 (68.3-121.1)	75.00.00 (41.3-117.5)	73.00.00 (55.3-109.8)	98.00.00 (11.0-180.0)	90.00.00 (73.8-98.2)
FEV₁/FVC postBD	0.43 (0.22-0.67)	0.40 (0.31-0.49)	0.42 (0.28-0.45)	0.36 (0.28-0.69)	0.44 (0.39-0.49)

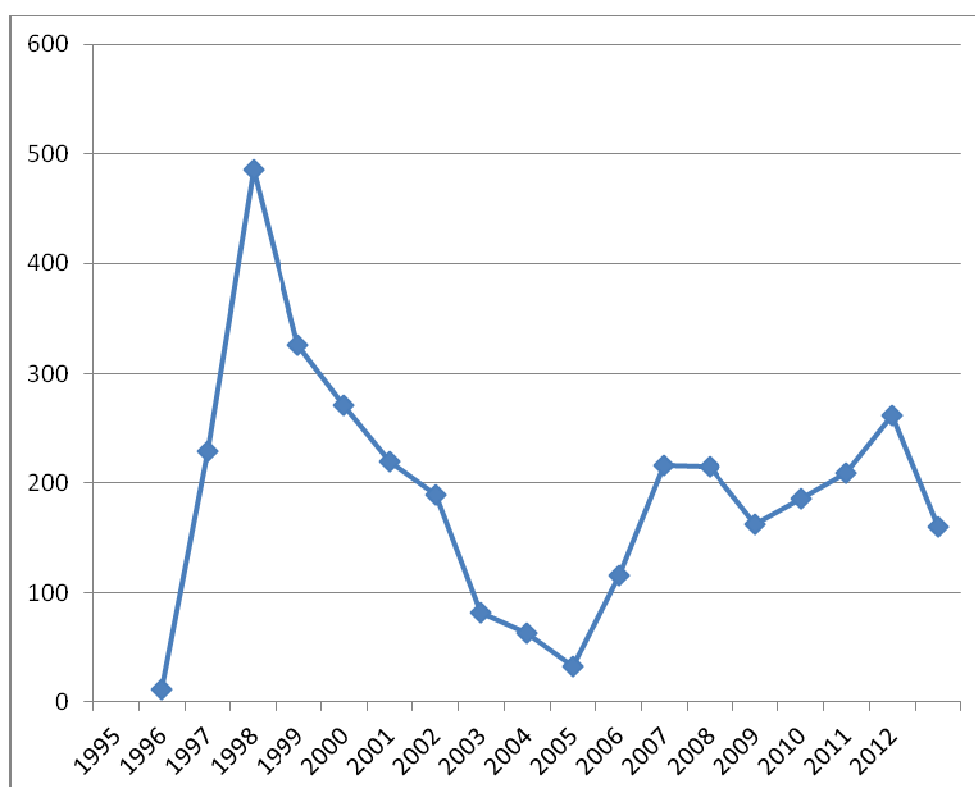


Figura 1. Numero dei soggetti sottoposti a screening.

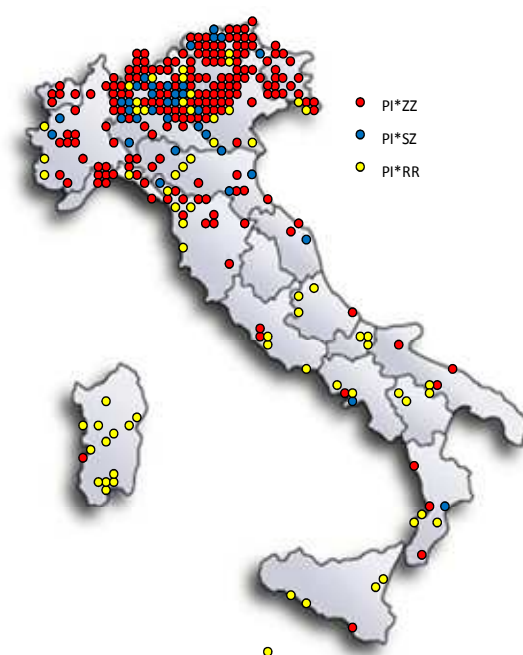


Figura 2. Disposizione geografica delle varianti genotipiche.

Bibliografia

1. Gorrini M, Ferrarotti I, Lupi A et al. Validation of a rapid and simple method to measure alpha1-antitrypsin. *Clin Chem* 2006;899-901.
2. Ferrarotti I, Baccheschi J, Zorzetto M et al. Prevalence of rare variants in the Italian Registry for Severe alpha1-antitrypsin Deficiency. *J Med genet* 2005;42:282-287.
3. Takahashi H, Nukiwa T, Satoh K et al. Characterization of the gene and protein of the AATD allele Mprovida. *J Biol Chem* 1988;263:15528-15534.
4. Denden S, Zorzetto m, Amrii F et al. Alpha1-antitrypsin deficiency variants in Tunisia subject with obstructive lung disease: a feasibility report. *Orph J Rare DIS*. 2009;4:12.
5. Rodriguez-Frias F, Miravittles M, Vidal R et al. Rare alpha-1-antitrypsin variants: are they really so rare? *Thor Adv Respir Dis* 2012;6:79-85.
6. Faber JP, Poller W, Weidinger S et al. Identification and DNA sequence analysis of 15 new alpha1-antitrypsin variants, including two PI*Q0 alleles and one deficient PI*M allele. *Am J Hum Genet* 1994;55:1113-1121.
7. Campos MA, Wanner A, Zhang G et al. Trends in the diagnosis of symptomatic patient with alpha1-antitrypsin deficiency between 1968 and 2003. *Chest* 2005;128(3):1179-1186.
8. Köhlein T, Janciauskiene S, Welte T. Diagnostic delay and clinical modifiers in alpha-1 antitrypsin deficiency. *Thor Adv Respir Dis* 2010;4:279-287.
9. Carrol TP, O'Connor CA, Floyd O et al. The prevalence of alpha-1 antitrypsin deficiency in Ireland. *Respir Res* 2011;12:91.
10. McElvany NG, Stoller JK, Buist AS et al. Baseline characteristics of enrollees in the National Heart, Lung and Blood Institute Registry of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Chest* 1997;111:394-403.
11. Stoller JK, Brantly M, Fleming LE et al. Formation and current results of a patient-organized registry for alpha-1-antitrypsin deficiency. *Chest* 2000;118:843-848.
12. Zei G, Barbujani G, Lisa A et al. Barriers to gene flow estimated by surname distribution in Italy. *Ann Hum Genet* 1993;57(Pt 2):123-140.