

UTILITÀ DELL'ELETTROFORESI DELLE PROTEINE SIERICHE NELLO SCREENING OPPORTUNISTICO PER LA CARENZA DI ALFA-1 ANTITRIPSINA

a cura della Redazione

Commento a: Fernández-Gomez B, Menao-Guillén S, Fernandez Gonzalez A, Arruebo Muñio M, Ramos Alvarez M, Inda Landaluze M, Castillo Arce MA, Torralba-Cabeza MÁ. Utility of the Serum Protein Electrophoresis in the Opportunistic Screening for the Deficiency of Alpha-1 Antitrypsin. *Diagnostics (Basel)*. 2023 Aug 28;13(17):2778. doi: 10.3390/diagnostics13172778. PMID: 37685316.

INTRODUZIONE

L'alfa-1 antitripsina (AAT) è stata identificata come l'antiproteasi sierica più abbondante (1), rappresentando il 40% del totale nel siero, con il restante 60% presente nello spazio extracellulare. Tra i metodi comuni per diagnosticare la carenza di AAT (DAAT) ci sono la quantificazione sierica, la fenotipizzazione e la genotipizzazione di AAT (2). In caso di carenza congenita di AAT si assume che concentrazioni sieriche al di sotto del 35% di normalità indichino la possibilità di omozigosi del gene SERPINA1 (Pi*ZZ). È necessario, tuttavia, sottolineare che l'AAT è un reattante di fase acuta, il che significa che la sua concentrazione può aumentare in risposta ad attività infiammatorie o infettive non specifiche. Inoltre, solo con la quantificazione, anche se la misurazione è eseguita in modo molto accurato, è possibile trascurare i pazienti con mutazioni eterozigoti che presentano livelli di AAT al limite inferiore di normalità (3). La diagnosi nei pazienti affetti da DAAT è quindi di fondamentale importanza, non solo per avviare il trattamento, se indicato, ma anche per studiare i parenti di primo grado e offrire loro consulenza genetica al fine di stabilire misure preventive e cure complete in base alla loro diagnosi.

La elettroforesi delle proteine sieriche (SPE) è una tecnica di laboratorio che separa le proteine in base al loro spostamento in un campo elettrico, classificandole in albumina e globuline. Dato che la AAT è la globulina più abbondante nel gruppo alfa-1, una concentrazione inferiore alla media può manifestarsi come una banda ridotta nell'alfa-1 durante l'elettroforesi. Questa è una determinazione qualitativa e può indicare valori normali, intermedi o bassi dell'enzima. La SPE è un test richiesto da varie specialità mediche, principalmente al fine di ricercare le bande monoclonali, e occasionalmente vengono riscontrati valori bassi nella regione alfa. L'obiettivo dello studio di Fernández-Gomez e colleghi è stato quindi valutare una strategia di rilevamento per i pazienti con mutazioni nel gene SERPINA1 basata sulla scoperta accidentale di valo-

ri bassi nella regione alfa-1 della SPE, considerando che si tratta di una malattia sottodiagnosticata e potenzialmente trattabile.

RISULTATI

Questo studio è stato condotto su tutte le elettroforesi capillari delle proteine sieriche in soluzione libera effettuate per qualsivoglia motivo dal settembre 2019 al febbraio 2020 nel Laboratorio di Biochimica dell'Ospedale Universitario "Lozano Blesa" di Saragozza, in Spagna. Complessivamente, sono state studiate 12.800 SPE provenienti da partecipanti di età superiore ai 18 anni, dalle quali è stata rilevata una percentuale di globuline alfa-1 inferiore al 3% in 40 di esse (0,31%).

Dopo la determinazione della concentrazione di AAT, 14 partecipanti (0,11%) hanno mostrato livelli inferiori a 100 mg/dL e 11 di essi hanno partecipato allo studio (Tabella 1). La concentrazione media di AAT era di $53,7 \pm 26,18$ mg/dL con un valore massimo di 84,6 mg/dL e un valore minimo misurato inferiore a 10 mg/dL.

Dopo la dimostrazione della carenza enzimatica, è stato eseguito uno studio genetico che ha portato alla scoperta di mutazioni in 10 degli 11 pazienti arruolati. I risultati dello studio indicano che, in questo caso, il 91% delle concentrazioni alterate di AAT ha anticipato la presenza di una mutazione in uno qualsiasi degli esoni del gene SERPINA1 (Tabella 2).

Avendo osservato una grande proporzionalità tra la banda di globuline alfa-1 e la presenza di una mutazione nel gene SERPINA1, gli autori hanno previsto il genotipo di ciascun paziente in base alle concentrazioni di AAT e alla letteratura disponibile (4). I genotipi riscontrati nello studio sono stati: Pi*MZ, con un valore medio di [AAT] di 52,53 mg/dL, un massimo di 72,1 e un minimo di 41,3; Pi*MS, con un valore medio di [AAT] di 73,65 mg/dL, un massimo di 84,6 e un minimo di 62,7; un solo caso Pi*MM (Malton), con una concentrazione di AAT di 79,8 mg/dL; un solo caso Pi*SS, con una concentrazione di AAT < 10 mg/dL; Pi*SZ, con un valore medio di [AAT] di 46,95 mg/dL, un massimo di 73,4



Paziente	Età	Genere	α 1%	Esposizione al fumo di tabacco	Sintomi del paziente	Sintomi nei parenti di primo grado
1	90	F	29	NO	NO	Sorella e figlia con asma
2	55	M	27	NO	Psoriasi	NO
3	36	M	28	Si	Infertilità	NO
4	50	F	29	NO	Infertilità, spondiloartropatia, celiachia	NO
5	62	F	25	NO	Fibrosi epatica	Fratello con insufficienza epatica
6	83	M	26	NO	NO	Fratello con enfisema polmonare
7	26	F	29	NO	NO	Nonno materno con enfisema polmonare
8	19	M	3	NO	Fibrosi epatica	Nonno paterno con fibrosi polmonare
9	50	M	27	NO	NO	NO
10	50	M	27	NO	Diabete, Pancreatectomia	NO
11	61	M	26	NO	NO	Due fratelli con BPCO

Tabella 1 - Caratteristiche generali dei pazienti e dei parenti di primo grado

Patient	AAT (mg/dL)	Esone mutato	Mutazioni	Genotipo
1	44.2	7	c.1096G>A (p.Glu366Ly) eterozigote	Pi*MZ
2	72.1	7	c.1096G>A (p.Glu366Ly) eterozigote	Pi*MZ
3	28.9	7	c.1066G>A (p.Ala356Thr) eterozigote	Pi*MNull
4	<10	5	c.863A>T (p.Glu288Val) omozigote	Pi*SS
5	62.7	5	c.863A>T (p.Glu288Val) eterozigote	Pi*MS
6	41.3	7	c.1096G>A (p.Glu366Ly) eterozigote	Pi*MZ
7	84.6	5	c.863A>T (p.Glu288Val) eterozigote	Pi*MS
8	73.4	5 e 7	c.863A>T (p.Glu288Val)/c.1096G>A (p.Glu366Ly)	Pi*SZ
9	63.6	-	-	-
10	79.8	4	c.221-223delTCT (p.Phe76del)	Pi*MM (Malton)
11	20.5	5 e 7	c.863A>T (p.Glu288Val)/c.1096G>A (p.Glu366Ly)	Pi*SZ

Tabella 2 - Concentrazioni di AAT, distribuzione delle mutazioni in base alla posizione nel gene SERPINA1 e genotipi predetti

e un minimo di 20,5; e infine un unico caso Pi*MNull, con una concentrazione di AAT di 28,9 mg/dL.

DISCUSSIONE

Alla luce di questi risultati si evince che per ogni paziente che si sottopone a una SPE si dovrebbe anche valutare attentamente la banda di globuline

alfa-1, ed è imperativo tenerne conto nei pazienti con problemi polmonari e/o epatici. L'impatto clinico di questo studio è evidente quando si considera che una diminuzione delle globuline alfa-1 nella SPE, confermata con una concentrazione di AAT inferiore alla norma, è correlata a qualsiasi tipo di mutazione nel gene SERPINA1. La DAAT è un fe-



notipo patologico poco conosciuto con un numero di pazienti diagnosticati minimo rispetto alle stime ufficiali e il fatto che il trattamento sostitutivo dia buoni risultati sottolinea la necessità di identificare, quanto più precocemente possibile, i pazienti che possono trarne beneficio. Dunque, l'identificazione dei pazienti, lo studio del processo patologico e il trattamento specifico e mirato sono le chiavi per il futuro di questa malattia. In tutti i pazienti con globuline alfa-1 <3%, la concentrazione di AAT dovrebbe essere quantificata, poiché questa soglia di

riferimento tende ad anticipare una concentrazione inferiore alla norma di AAT nelle condizioni di salute di base. Il protocollo di screening presentato da Fernández-Gomez e colleghi si è dimostrato altamente efficace e sensibile (91%). La SPE si presenta perciò come un utile strumento per lo screening "opportunistico" della carenza di AAT, tenendo però conto che, come evidenziato dagli stessi autori, stimare il genotipo utilizzando la concentrazione di AAT potrebbe risultare difficile, soprattutto nelle mutazioni eterozigoti.

Bibliografia

1. Lomas DA, Parfrey H. Alpha1-antitrypsin deficiency. 4: Molecular pathophysiology. *Thorax*. 2004 Jun;59(6):529–35.
2. Snyder MR, Katzmann JA, Butz ML, Wiley C, Yang P, Dawson DB, et al. Diagnosis of alpha-1-antitrypsin deficiency: An algorithm of quantification, genotyping, and phenotyping. *Clin Chem*. 2006 Dec;52(12):2236–42.
3. Silverman EK, Sandhaus RA. Clinical practice. Alpha1-antitrypsin deficiency. *N Engl J Med*. 2009 Jun 25;360(26):2749–57.
4. Vidal R, Blanco I, Casas F, Jardí R, Miravittles M. Guidelines for the Diagnosis and Management of α 1-Antitrypsin Deficiency. *Archivos de Bronconeumología* ((English Edition)). 2006 Dec;42(12):645–59.

