

VALOR DE LA DETERMINACION DEL FENOTIPO DEL SISTEMA Pi EN LA DEFICIENCIA DE ALFA-L-ANTITRIPSINA (AL-AT)

INSTITUTO DE GASTROENTEROLOGIA

*Dra. Trini Fragoso**, *Dra. Bárbara Barrios***, *Dr. Carlos Castañeda**, *Lic. Aracely Cendán****,
*Dr. Gueorgui Shumkov-Nikolov***** y *Dr. Liduardo Sagaró**

Fragoso, T. y otros: *Valor de la determinación del fenotipo del sistema Pi en la deficiencia de alfa-L-antitripsina (AL-AT)*.

Se estudian 110 niños con diversas enfermedades del hígado: 16 hepatitis agudas virales, 8 hepatitis crónicas persistentes, 31 hepatitis crónicas activas, 5 esteatosis hepáticas, 5 cirrosis hepáticas, 24 colestasis del lactante, 3 enfermedad de Wilson, 2 fibrosis hepáticas congénitas, 5 enfermedades metabólicas y 5 de otras causas, con edades comprendidas entre 2 meses y 14 años, a los que se determinó el fenotipo del sistema Pi por enfoque isoeléctrico en geles ultrafinos de poliacrilamida según el método de Kueppers, con modificaciones como pesquisaje de deficiencia de alfa-L-antitripsina (AL-AT), realizándose los niveles en suero a los que presentaban el fenotipo Pi ZZ, biopsia hepática con coloración de PAS con digestión de diastasa y estudio familiar del fenotipo. Se encuentra el 3,6 % de positividad del fenotipo Pi ZZ en los niños estudiados, presentando disminución sérica de AL-AT y la presencia de inclusiones PAS positivas resistentes a diastasa en el citoplasma de los hepatocitos, teniendo 3 de ellos antecedentes de ictericia en la etapa posnatal y el cuarto paciente hepatomegalia como forma de presentación. Se observa que el estudio del fenotipo a los padres resultó un patrón heterocigótico (MZ) y los hermanos normales (MM). Se insiste en la importancia del diagnóstico de la deficiencia de AL-AT y el valor diagnóstico de la determinación del fenotipo del sistema Pi en toda enfermedad hepática en la infancia y adolescencia.

INTRODUCCION

La alfa-L-antitripsina es una glicoproteína que se sintetiza en el hígado y que se encuentra en el suero. La síntesis de esta proteína es regulada por un sistema de alelos múltiples codominantes autosómicos, el cual se encuentra en el brazo largo del cromosoma 14.

Este sistema genético se denomina proteasa inhibidor (Pi) y se caracteriza por tener 30 alelos, los cuales reciben nombres de letras del alfabeto según su movilidad electroforética. El método más usado en la actualidad en el estudio de este polimorfismo es el enfoque isoeléctrico, por su reproducibilidad y confiabilidad.¹⁻⁶

Los alelos S y Z regulan la síntesis de proteínas que presentan una disminución de la concentración de alfa-L-antitripsina en el suero. El producto del gen S presenta una

* Especialista de II Grado en Gastroenterología.

** Candidato a Doctor en Ciencias Médicas. ISCM-H.

*** Licenciada en Bioquímica.

**** Profesor Docente de Anatomía Patológica, Sofía, Bulgaria. Asesor Científico del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Docente General "Calixto García".

concentración del 60 % con respecto al alelo normal de tipo M (100 % de concentración en el suero); el producto del alelo Z presenta el 15 % de concentración en el suero.^{5,6}

Desde que se describieron los primeros pacientes en 1969,⁷ se han documentado muchos casos de enfermedad del hígado asociada con una deficiencia del alfa-L-antitripsina, especialmente en lactantes y niños.^{1,2,4} El fenotipo normal en el sistema PI es Pi MM, siendo el Pi ZZ el único asociado con enfermedad del hígado.^{2,4} Los casos de enfermedades hepáticas asociadas con los fenotipos MS, MZ ó SZ no son determinantes de estas.⁸

Según el pesquisaje realizado por Sveger⁹ en 200 000 niños en Suecia, la colestasis neonatal prolongada sólo ocurre en el 11 % de los niños con fenotipo Pi ZZ asociado con los niveles más bajos de AL-AT en suero.

En Estados Unidos en 107 038 niños¹⁰ se informa el 5,5 % de colestasis en los niños con fenotipo Pi ZZ.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 110 pacientes ingresados en el instituto de Gastroenterología, cuyas edades fluctuaron entre 2 meses y 14 años. De ellos 71 son del sexo masculino y 39 del femenino. Todos los pacientes fueron ingresados por diversas enfermedades del hígado y fueron agrupados de la siguiente forma: 16 hepatitis viral aguda, 8 hepatitis crónica persistente, 31 hepatitis crónica activa, 5 esteatosis hepática, 5 cirrosis hepática, 24 colestasis del lactante, 3 enfermedad de Wilson, 2 fibrosis hepática congénita, 5 enfermedades metabólicas y 5 de otras causas. Al diagnóstico de estos casos se llegó después de realizarles estudio clínico, bioquímico, laparoscopia y biopsia hepática.

A todos los pacientes se les realizó la determinación del fenotipo del sistema Pi por enfoque isoelectrico en geles ultrafinos de poliacrilamida, según el método de Kueppers, con modificaciones como pesquisaje de deficiencia de alfa-L-antitripsina. Se utilizó como grupo de control un total de 585 donantes voluntarios obtenidos del Banco de Sangre Provincial, con un promedio de edad de 25 ± 2 años, distribuidos en 300 masculinos y 285 femeninos, en los cuales se descartaron enfermedades pulmonares y hepáticas. Se les realizó estudio del fenotipo; la distribución encontrada se consideró como normal y se utilizó para compararla con los pacientes de nuestro estudio.⁵

A todos los pacientes con fenotipo Pi ZZ se les realizó determinación del poder anti-tripsico del suero según la técnica de Bieth,¹¹ para lo cual se utilizó como sustrato benzoin-arginina-p-nitranilida (BAPNA) estudio histopatológico con coloración de ácido peryódico de Schiff (PAS) con digestión de diastasa¹² y estudio del fenotipo a los familiares.

RESULTADOS

El resultado del fenotipo del sistema Pi en los diversos grupos de enfermedades hepáticas estudiadas se muestra en la tabla 1. Se hallan 4 fenotipos ZZ, de los cuales 3 eran en niños con colestasis del recién nacido y el otro era hepatitis crónica activa con hepatomegalia aislada como forma de presentación. De los pacientes con colestasis neonatal, 2 evolucionaron hacia una hepatitis crónica activa, el segundo hacia una hipertensión portal

precoz con cirrosis hepática y muerte a los 2¹/₂ años, y el tercero hacia una recuperación clínica, endoscópica e histopatológica.

Tabla 1. Resultados de los fenotipos encontrados en los pacientes con enfermedades hepáticas estudiadas

Diagnósticos	MM	MS	MZ	SS	ZZ	Total	(M/F)
Hepatitis viral aguda	11	3	2	—	—	16	13/3
Hepatitis crónica persistente	6	1	1	—	—	8	7/1
Hepatitis crónica activa	19	2	8	1	1	31	20/11
Esteatosis hepática	4	—	1	—	—	5	1/4
Cirrosis hepática	4	3	4	—	—	11	3/8
Colestasis del lactante	13	3	5	—	3	24	18/6
Enfermedad de Wilson	2	—	1	—	—	3	3/0
Fibrosis hepática congénita	2	—	—	—	—	2	2/0
Enfermedades metabólicas	1	4	—	—	—	5	2/3
Otras	1	2	2	—	—	5	2/3
Totales	63	18	24	1	4	110	71/39

Se realiza prueba de χ^2 para conocer si la distribución de los fenotipos estudiados en los pacientes con hepatopatías se comportaba de manera similar a los de la población general, y se observó que existen diferencias muy significativas entre ambas distribuciones ($p < 0,001$) (tabla 2).

Tabla 2. Distribución de las frecuencias observadas entre los fenotipos de la población general y los pacientes con hepatopatías (χ^2 , significativo $P < 0,001$)

Fenotipos del sistema (Pi)	Grupo control No. de casos	%	Pacientes No. de casos	Hepatopatías %
MM	451	77,1	63	57,2
MS	61	10,4	18	16,4
MZ	70	11,9	24	21,8
SS	2	0,3	1	0,9
ZZ	1	0,1	4	3,6
Total	585	100	110	100

Los 4 pacientes con fenotipo Pi ZZ tenían una disminución sérica de AL-AT (rango normal $1,50 \pm 30$ UTI/ml). Se demostró; además, la presencia de inclusiones PAS positivas resistentes a diastasa en el citoplasma de los hepatocitos.

El resultado de los hallazgos clínicos, endoscópicos, histopatológicos y bioquímicos de estos 4 pacientes se muestra en la tabla 3, donde se resalta que ninguno de ellos presentaba alteraciones pulmonares y la electroforesis de las proteínas en suero tenía la alfa-L-globulina en el límite inferior normal (rango normal 0,10-0,35 g %), oscilando todos nuestros casos entre 0,15 y 0,18 g %.

Tabla 3. Resultado de los hallazgos clínicos, endoscópicos, histopatológicos y bioquímicos en los pacientes con fenotipo Pi ZZ

Pacientes Fenotipo Pi ZZ	Edad de diag- nóstico en años	Sexo	Cuadro clínico Alteraciones hepáticas	Estudio laparos- cópico	Histología hepática (BH)	Niveles α -1-AT (1,50 \pm 30) UTI/ml	PAS + dias- tasa (inclu- siones cito- plasmáticas)
1 (D.M.R.)	8	M	Ictericia neonatal HCA	Colesta- sis neo- natal HCA	Hepatitis neonatal HCA	0,85	+
2 (Y.P.M.)	2 ¹ / ₂	M	Ictericia neonatal Hip. portal precoz Muerte	Colesta- sis neo- natal	Hepatitis neonatal Cirrosis hepática	0,36	+
3 (J.V.S.)	1 ¹ / ₂	M	Ictericia	Normal	Normal	0,85	+
4 (B.G.C.)	7	M	Hepatome- galia HCA	HCA	HCA	0,57	+

Leyenda:

UTI/ml Unidad de tripsina inhibida por ml.

HCA: hepatitis crónica activa.

El estudio del fenotipo familiar de los padres resultó un patrón heterocigótico (MZ) y los hermanos normales (MM) (tabla 4).

Tabla 4. Estudio familiar del sistema Pi de los pacientes con fenotipo ZZ

Pacientes	Padre	Madre	Hermano
1 (D.M.R.)	M ₁ Z	M ₁ Z	M ₁ M ₁
2 (Y.P.M.)	M ₁ Z	M ₂ Z	no
3 (J.V.S.)	Fallecido*	MZ	no
4 (B.G.C.)	M ₁ Z	M ₁ Z	M ₁ M ₁

* 2 tíos maternos = MZ y MM.

Nuestro estudio demuestra el 3,6 % para el fenotipo ZZ entre los 110 pacientes estudiados, que representa una elevación estadísticamente significativa en relación con el grupo control, teniendo 3 pacientes con diagnóstico de colestasis neonatal, lo que coincide con lo informado por otros autores,^{3,4} ya que se señala a esta deficiencia como causante del 13 al 40 % de todas las colestasis del lactante.

DISCUSION

Los fenotipos deficientes de alfa-anti-tripsina se asocian con enfermedades de diferentes causas. Las enfermedades con una asociación más directa a la deficiencia de esta proteína son las enfermedades pulmonares y hepáticas. El 60 % de los sujetos con fenotipo ZZ mueren de enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, 14 % de éstos mueren de enfermedades hepáticas, principalmente hepatitis neonatal, que evoluciona en cirrosis hepática en los primeros 5 años.^{1,3}

Según *Alagille*, la persistencia de ictero después del sexto mes de edad, la presencia precoz de esplenomegalia y de hepatoesplenomegalia de consistencia firme, la persistencia de anomalías de la función hepática, así como una fibrosis portal precoz en el estudio histopatológico del hígado en estos pacientes con colestasis neonatal, se pueden considerar como signos de mal pronóstico, lo que se comprobó en el segundo caso de nuestra serie (tabla 3).

El diagnóstico puede sospecharse por la clínica, la electroforesis de las proteínas séricas que muestra una alfa-L-globulina disminuida o ausente, por los niveles séricos de alfa-L-antitripsina, pero debido al amplio rango de estos niveles en los distintos fenotipos, la mayoría de los investigadores prefieren determinar el fenotipo de AL-AT.⁴

El enfoque isoeléctrico presenta una sola desventaja: su costo elevado por muestra, pero con las modificaciones planteadas por *Barrios García* en nuestro país⁵ se salva esta desventaja, pues con solo 0,6 ml de anfolinas se pueden analizar 52 muestras y 2 patrones conocidos, lo que hace que el costo por muestra sea de 1 centavo dólar, por lo que consideramos puede ser utilizada como una técnica de pesquiasaje en la detección de deficiencia de AL-AT en toda enfermedad del hígado. Debido a que estas técnicas son complejas y pueden presentar dudas en su interpretación, es recomendable realizar un estudio familiar para asegurar el fenotipo con mayor precisión.

Un rasgo patológico distintivo es la presencia en el citoplasma de los hepatocitos de inclusiones positivas para el PAS resistente a diastasa, especialmente en los hepatocitos periportales, pero sólo después de las 12 semanas de edad.

La acumulación de este material, que es antigénicamente similar a la AL-AT sérica normal demostrado por métodos de inmunofluorescencia, ocurre en sujetos Pi ZZ haya o no enfermedad del hígado.

CONCLUSIONES

1. Se demuestra la importancia del estudio sistemático del fenotipo del sistema Pi en todo paciente con enfermedad hepática como pesquiasaje de deficiencia de alfa-L-antitripsina.
2. Se halló un 3,6 % para el fenotipo ZZ entre los 110 pacientes estudiados, que representa una elevación estadísticamente significativa en relación con lo esperado.
3. La técnica de enfoque isoeléctrico en geles de la poliacrilamida reúne todas las condiciones técnicas y de costo para ser utilizada como técnica de rutina en la detección de deficiencia de alfa-L-antitripsina.
4. En todos los niños con fenotipo ZZ se halló una deficiencia cuantitativa de niveles séricos de alfa-L-antitripsina, con la presencia en el citoplasma de los hepatocitos de inclusiones positivas para PAS resistente a diastasa.
5. Recomendamos en todo niño con colestasis neonatal, cirrosis hepática y otras formas de hepatopatía crónica, realizar antes de los 5 años la determinación del fenotipo de alfa-L-antitripsina (Pi).

SUMMARY

Fragoso, T. et al.: *Value of determination of Pi phenotype in alpha-L-antitrypsin deficiency (Al-At).*

One hundred and ten children with different liver diseases are studied. Distribution of diseases was as follows: 16 acute viral hepatitis, 8 chronic persisting hepatitis, 31 chronic active hepatitis, 5 hepatic stenosis, 5 hepatic cirrhosis, 24 cholestasis of the suckling infant, 3 Wilson's disease, 2 congenital hepa-

tic fibrosis, 5 metabolic diseases and 5 due to other causes. The age of the children ranges between 2 months and 14 years. Pi phenotype was determined by isoelectric approach in ultrathin polyacrylamide gels according to Kueppers' method, with modifications such as screening for alpha-1-antitrypsin deficiency (Al-AT) and to those presenting Pi ZZ phenotype at serum levels were performed hepatic biopsy with PAS staining with diastase digestion and familial study of phenotype. Positiveness found for Pi ZZ phenotype in the children studied was 3,6 %, presenting decreased serum Al-AT and presence of positive PAS inclusions resistant to diastase in the cytoplasm of hepatocytes. Three of the children presented history of icterus at the postnatal stage and other patient presented hepatomegaly. At the study of the phenotype of the parents, heterozygous pattern (MZ) was observed; siblings were normal (MM). Importance of diagnosis of Al-AT deficiency and diagnostic value in determination of Pi phenotype in all type of hepatic disease during infancy and adolescence is stressed.

RÉSUMÉ

Fragoso, T. et al.: *Valeur de la détermination du phénotype du système Pi dans le déficit en alpha-1-antitrypsine (Al-AT).*

L'étude a porté sur 110 enfants, âgés entre 2 mois et 14 ans, atteints de diverses maladies du foie: 16 d'hépatite aiguë virale, 8 d'hépatite chronique persistante, 31 d'hépatite chronique active, 5 de stéatose hépatique, 5 de cirrhose hépatique, 24 de cholestase du nourrisson, 3 de maladie de Wilson, 2 de fibrose hépatique congénitale, 5 de maladies métaboliques et 5 d'autres causes. Il a été déterminé le phénotype du système Pi par mise au point isoélectrique en gels ultrafins de polyacrylamide, suivant la méthode de Kueppers, avec des modifications telles que le dépistage du déficit en alpha-1-antitrypsine (Al-AT), en faisant le dosage sérique à ceux qui présentaient le phénotype Pi ZZ, de même que biopsie hépatique avec coloration PAS avec digestion de diastase et étude familiale du phénotype. Il est constaté 3,6 % de positivité du phénotype Pi ZZ chez les enfants étudiés, ainsi que diminution sérique d'Al-AT et la présence d'inclusions PAS positives résistantes à la diastase dans le cytoplasme des hépatocytes; 3 enfants avaient des antécédents d'ictère dans l'étape post-natale et chez le quatrième l'hépatomégalie avait été la forme de présentation. L'étude du phénotype chez les parents a révélé un pattern hétérozygote (MZ), les frères étant normaux (MM). Il est souligné l'importance du diagnostic du déficit en Al-AT et la valeur diagnostique de la détermination du phénotype du système Pi chez tout enfant ou adolescent atteint d'une maladie hépatique.

BIBLIOGRAFIA

1. Fisher, R. L. et al.: Alpha-L-antitrypsin deficiency in liver disease. The extent of the problem. *Gastroenterology* 71: 646, 1976.
2. Alagille, D.: Alpha-L-antitrypsin deficiency. *Hepatology* 4(1): 11, 1984.
3. Rodrigo Saez, L. et al.: Deficiencia de alfa-L-antitripsina: Descripción de nuestra casuística de 24 casos. *Rev Esp Enferm Apar Dig* 62 (3): 209, 1982.
4. Mowat, A. P.: *Liver disorders in childhood*. Cap. 4, Butterworth, London, 1979. P. 42.
5. Barrios García, B.: Incidencia de deficientes del Sistema Pi en una muestra de la población en Ciudad Habana y en pacientes con síndrome bronquial alérgico. Valoración del enfoque isoeléctrico para pesquisas masivas. Trabajo para optar por el Grado de Candidato a Doctor en Ciencias. Ciudad de La Habana, 1983.
6. Castañeda Guillot, C.: Alfa-L-antitripsina. Importancia de su deficiencia en hepatopatías. *Arch Gastroenterol* 2: 9, 1975.
7. Sharp, H. et al.: Cirrhosis associates with alpha-L-antitrypsin deficiency. A previously unrecognized inherited disorder. *J Lab Clin Med* 73: 934, 1969.
8. Morin, T. et al.: Heterozygous alpha-L-antitrypsin deficiency and cirrhosis in adults, a fortuitous association. *Lancet* 250(1); Feb., 1975.
9. Sveger, T.: Enfermedad hepática detectada en deficientes de alfa-L-antitripsina, por el estudio de 200 000 niños. *New Engl J Med* 294: 1316, 1976.
10. Vierling, J. M.: Epidemiology and clinical course of liver diseases: identification of candidates for hepatic transplantation. *Hepatology* 4(1): 84S, 1984.
11. Bieth, J. et al.: Détermination de la capacité de inhibition trypsique du serum humain normal. *Enzimol Biol Clin* 10: 243, 1969.

12. *Hadchouel, M.; M. Gautier*: Pathologic liver changes in alpha-L-antitrypsin deficient infants (Pi ZZ Phenotype). *Liver Diseases in Infancy and Childhood*. Ed. Samuel R. Berenberg, 1976. P. 46.
13. *Carrell, R. W. et al.*: Structure and variation of Human alpha-L-antitrypsin. *Nature* 298: 329, 1982.

Recibido: 18 de enero de 1985. Aprobado: 12 de mayo de 1985.

Dra. *Trini Fragoso*. Instituto de Gastroenterología. Calle 25 entre H e I, Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba.



AIR MAIL

DESDE CUALQUIER SITIO DEL MUNDO

MODELO DE SOLICITUD DE SUSCRIPCION
(LLENAR CON LETRA DE MOLDE)



Ediciones Cubanas

Name

Specialty

Institution

Address

City State

Telephone #

EMPRESA DE COMERCIO
EXTERIOR DE PUBLICACIONES

Publicidad y Promoción
Obispo No. 461 – Apartado 605
Ciudad de La Habana. CUBA

MODELO DE SOLICITUD DE SUSCRIPCION
(LLENAR CON LETRA DE MOLDE)



Ediciones Cubanas

Name

Specialty

Institution

Address

City State

Telephone #

EMPRESA DE COMERCIO
EXTERIOR DE PUBLICACIONES

Publicidad y Promoción
Obispo No. 461 – Apartado 605
Ciudad de La Habana. CUBA

MODELO DE SOLICITUD DE SUSCRIPCION
(LLENAR CON LETRA DE MOLDE)



Ediciones Cubanas

Name

Specialty

Institution

Address

City State

Telephone #

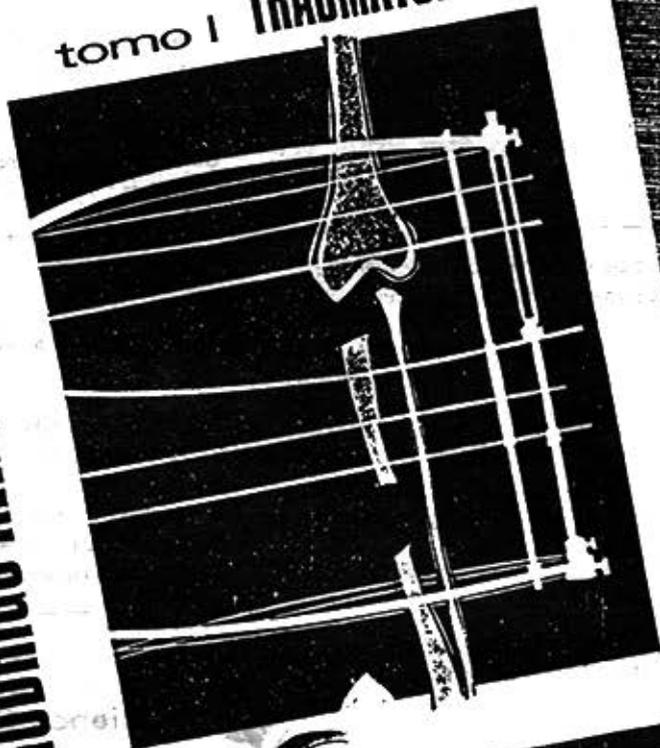
EMPRESA DE COMERCIO
EXTERIOR DE PUBLICACIONES

Publicidad y Promoción
Obispo No. 461 – Apartado 605
Ciudad de La Habana. CUBA

tratado
de cirugía
ortopédica
y traumatológica

tomo I **TRAUMATOLOGÍA**

RODRIGO ÁLVAREZ CAMBRAS



Usted puede adquirir en la red de ventas de libros del Ministerio de Cultura el Tratado de Cirugía Ortopédica y Traumatológica del doctor Rodrigo Álvarez Cambras.