



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

## MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2011/2012

Diogo Pinho da Costa  
Deficiência de alfa-1-antitripsina  
como causa de icterícia neonatal

março, 2012

# FMUP



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

Diogo Pinho da Costa  
Deficiência de alfa-1-antitripsina  
como causa de icterícia neonatal

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Área: Pediatria**

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:  
Professora Doutora Maria Hercília Ferreira Guimarães Pereira Areias**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:  
Acta Médica Portuguesa**

março, 2012

**FMUP**

Eu, Diogo Pinho de Costa, abaixo assinado, nº mecanográfico 060801003, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 19/3/2012

Assinatura: Diogo Pinho de Costa

**Nome:** Diogo Pinho de Costa

**Endereço eletrónico:** med06003@med.up.pt **Telefone ou Telemóvel:** 912706456

**Número do Bilhete de Identidade:** 13355160

**Título da ~~Dissertação~~/Monografia (cortar o que não interessa):**

Deficiências de alfa-1-antitripsina como cause de icterícia neonatal

**Orientador:**

Professora Doutora Maria Herúlia Ferreira Guimarães Pereira Areias

**Ano de conclusão:** 2012

**Designação da área do projeto:**

Pediatria

É autorizada a reprodução integral desta ~~Dissertação~~/Monografia (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 19/3/2012

**Assinatura:** Diogo Pinho de Costa

## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Hercília Guimarães<sup>1</sup> a excelsa orientação e os conselhos práticos e sábios durante a realização da presente monografia, bem como a sua disponibilidade e prontidão para a discussão da mesma.

À Dra. Maria Filipa Torres<sup>2</sup> a preciosa ajuda na localização de fontes com livre acesso a diversas referências bibliográficas.

À minha família e amigos pelo apoio incondicional e amizade.

---

<sup>1</sup> MD, PhD, Professora Associada de Pediatria, Departamento de Neonatologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Presidente da União Europeia das Sociedades de Neonatologia e Perinatologia, Membro do Painel Executivo da Fundação Europeia para o Cuidado dos Recém-nascidos, Ex-Presidente da Sociedade Portuguesa de Neonatologia e Orientadora do Projeto de Opção do Mestrado Integrado em Medicina.

<sup>2</sup> Assistente Técnica, Serviço de Documentação e Iconografia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

## **Deficiência de alfa-1-antitripsina como causa de icterícia neonatal**

Diogo Pinho da COSTA\*

\*Licenciado em Ciências Básicas de Saúde e aluno do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Correspondência para:

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Alameda Prof. Hernâni Monteiro, 4200 - 319 Porto

Email: med06003@med.up.pt

### **Resumo**

A deficiência de alfa-1-antitripsina (AAT) é uma doença metabólica autossómica codominante hereditária que afeta 1:1600 a 1:2000 dos recém-nascidos. Apesar de cursar com outro tipo de manifestações mais tardias, regista-se nesta idade o primeiro pico de incidência do atingimento hepático.

Dos alelos mutantes conhecidos, o S e o Z são os mais prevalentes, com maior frequência do alelo S na Península Ibérica. Na variante mais comum (Z) a lesão resulta da acumulação intra-hepatocitária de AAT polimerizada por alterações conformacionais da proteína, com formação de inclusões PAS-positivas e ativação de vias degradativas intracelulares. Apenas 10-20% da AAT produzida é secretada, com níveis geralmente inferiores a 50mg/dL.

É uma doença subdiagnosticada visto que a penetrância hepática é baixa e não é comumente considerada no estudo diagnóstico. A apresentação clínica é altamente variável, desde falência hepática até ausência de sintomas. Habitualmente há clínica de hepatite neonatal, hiperbilirrubinemia conjugada com icterícia prolongada e hipertransaminasemia.

Outras formas mais raras de apresentação são coagulopatia por déficit de vitamina K, atraso de crescimento, ascite, esplenomegalia ou mesmo cirrose, sem história de manifestações hepáticas prévias. Outras causas de doença hepática crónica devem ser inicialmente excluídas, prosseguindo-se com o doseamento de AAT sérica e consequente fenotipagem por focalização isoeletrica ou sequenciação genómica, caso devolva níveis baixos. Por rotina, é desaconselhado diagnóstico pré-natal.

O fenótipo ZZ associa-se a maior risco para fibrose hepática, cirrose, displasia e hepatocarcinoma, embora também se verifique noutros (e.g. S, M-like e outros mais raros), particularmente em indivíduos heterozigotos em que um dos alelos seja o Z. Apenas 2,5% dos recém-nascidos ZZ morrem por insuficiência hepática aguda e outros tantos por cirrose aos 18 anos. Trinta por cento dos adultos cursa com cirrose, sendo esse um fator de risco para hepatocarcinoma.

O único tratamento eficaz até agora é o transplante hepático em indivíduos em estágio terminal da doença hepática crónica, com prognóstico excelente pós-transplante (sobrevivida de 85-90% aos três anos na criança e 80% no adulto). Tem sido desenvolvida terapia de recombinação génica e outras moléculas que atuam na polimerização, vias degradativas e secretórias, com resultados interessantes, mas ainda sem aplicação clínica.

## Summary

### *Alpha-1-antitrypsin deficiency as a cause of neonatal jaundice*

The alpha-1 antitrypsin (AAT) deficiency is an autosomal codominant hereditary metabolic disease that affects 1:1600 to 1:2000 newborns. Although it may present with other manifestations later, this is the first peak of incidence of liver impairment.

Between known mutant alleles, S and Z are the most prevalent, with higher S allele frequency in the Iberian Peninsula. In the most common variant (Z) the injury results from the accumulation of intra-hepatic polymerized AAT protein due to conformational changes, with formation of PAS-positive inclusions and activation of intracellular degradative pathways. Only 10-20% of the produced AAT is secreted at levels generally below 50mg/dL.

It is an underdiagnosed disease since it has a low hepatic penetrance and it is not commonly considered in the diagnostic study. The clinical presentation is highly variable, ranging from liver failure to absence of symptoms. Usually there is neonatal hepatitis,

conjugated hyperbilirubinemia, prolonged jaundice, and hypertransaminasemia. Other rare forms of presentation are coagulopathy due to vitamin K deficit, growth impairment, ascites, splenomegaly or even cirrhosis, without prior history of hepatic manifestations. Other causes of chronic liver disease should initially be excluded, following determination of serum AAT and subsequent phenotyping by isoelectric focusing or genomic sequencing, if the levels are low. Usually, it is not recommended to perform prenatal diagnosis.

The ZZ phenotype is associated with an increased risk of hepatic fibrosis, cirrhosis, dysplasia and hepatocellular carcinoma, although it may occur with others (e.g. S, M-like and others less common), particularly in heterozygous individuals in which one of the alleles is Z. Only 2.5% of ZZ newborns die of acute liver failure, so as many others from cirrhosis at the age of 18 years. Thirty percent of adults presents with cirrhosis, which is a risk factor for hepatocellular carcinoma.

The only effective treatment so far is liver transplantation for individuals with end-stage chronic liver disease, with excellent prognosis after transplantation (85-90% survival at 3 years in children and 80% in adults). It has been developed recombinant gene therapy and other molecules that act in polymerisation, degradative and secretory pathways, with interesting results, but still no clinical application.



## INTRODUÇÃO

A icterícia afeta dois terços dos recém-nascidos<sup>1</sup>, é geralmente benigna, mas requer monitorização pelo risco de complicações (e.g. encefalopatia aguda, *kernicterus*)<sup>2</sup>. Por poder persistir por mais de duas semanas, a North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) recomenda vigilância e pesquisa de colestase, sob suspeita das causas mais comuns nos primeiros meses de vida que beneficiem de abordagem imediata (atrésia biliar e hepatite neonatal)<sup>3</sup>.

A icterícia colestática neonatal tem uma incidência de 1:2500<sup>4, 5</sup>, geralmente resultado da hiperbilirrubinemia direta por diminuição do fluxo biliar (por obstrução mecânica) e/ou excreção biliar (e.g. por hipoprodução hepática ou transporte transmembranar deficitário)<sup>6</sup>. As suas causas podem ser agrupadas de acordo com a Tabela I. Destacam-se como mais frequentes a atrésia biliar (90% das obstruções extra-hepáticas) e a hepatite neonatal idiopática. A deficiência de alfa-1-antitripsina (AAT) contabiliza 5-15% dos casos<sup>4, 5</sup>, com uma incidência entre 1:1600 e 1:2000<sup>7</sup>.

A deficiência de AAT é uma doença metabólica autossômica codominante hereditária que predispõe a doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) e doença hepática crónica (DHC)<sup>8</sup>. Menos frequentemente, associa-se a doenças dermatológicas, vasculares, inflamatórias intestinais, renais e vasculites. A disfunção hepática é predominante até aos 20 anos pelo risco de complicações decorrentes, em detrimento da disfunção pulmonar (mais incidente nas décadas seguintes). Este artigo foca o estado da arte sobre o acometimento hepático na deficiência de AAT.

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados da *Pubmed*, *Scopus* e *Web of Knowledge*, limitada a artigos publicados entre 2006-2011, resultantes da combinação das palavras-chave: *alpha 1 antitrypsin deficiency*, *neonatal hyperbilirubinemia*, *neonatal cholestasis*, *neonatal jaundice*, *liver disease* e *hepatitis syndrome*. Dos artigos encontrados, são citados apenas os considerados relevantes após leitura integral, bem como outros referenciados nesses artigos que, pelo seu destaque, foram adicionados.

## ALFA-1-ANTITRIPSINA: A MOLÉCULA

A AAT é uma glicoproteína de 52-kD de cadeia simples composta por 394 aminoácidos e três cadeias laterais de carboidratos complexos ligados pela asparagina, cuja estrutura terciária contém três  $\beta$ -sheets, nove  $\alpha$ -hélices e um *loop* reativo central<sup>9, 10</sup>. O gene

codificante encontra-se no segmento cromossômico 14q31-32.3<sup>11, 12</sup>, organizando-se em três exões não-codificantes (1a-c) e quatro exões codificantes (2-5). O centro ativo é uma ligação peptídica simples, Met<sup>358</sup>-Ser<sup>359</sup>, codificada pelo exão 5.

É o inibidor das proteases mais prevalente do sangue. Pertence à família das serpinas e é sintetizada principalmente pelos hepatócitos, mas também macrófagos e células epiteliais intestinais, renais e pulmonares<sup>13</sup>.

A sua principal função é a inibição da elastase dos neutrófilos, mecanismo implicado no equilíbrio protease-antiprotease e na base da fisiopatologia da doença pulmonar. Adicionalmente, tem propriedades anti-inflamatórias<sup>14</sup>, como bloqueio dos efeitos pró-inflamatórios do peptídeo neutrofílico humano<sup>15</sup> e regulação da expressão de citocinas pró-inflamatórias (e.g. fator de necrose tumoral  $\alpha$  [TNF $\alpha$ ], interleucina-6, 8 e 1 $\beta$  e proteína quimiotática do monócito tipo 1)<sup>16, 17</sup>.

## EPIDEMIOLOGIA

A deficiência de AAT tem sido descrita em diversas etnias, embora seja mais comum em caucasianos. Segundo uma revisão de 373 coortes em 58 países, estima-se uma prevalência mundial de 3,4 milhões com o fenótipo ZZ, SZ ou SS<sup>18</sup>. Contudo, a proporção de casos diagnosticados é baixa e/ou, quando é feito, é tardio. Calcula-se que apenas 0,41% dos indivíduos ZZ e 0,35% SZ sejam identificados<sup>19</sup> e tardiamente, com intervalos entre o primeiro sintoma e o diagnóstico de 8,3 (desvio-padrão 6,9) e 5,6 anos (desvio-padrão 8,5), respetivamente.

Combinando dados da Alpha-1 International Registry<sup>20</sup> e da U.S. Alpha-1 Foundation Research Network Registry<sup>21</sup>, registam-se aproximadamente 2350 casos de indivíduos ZZ. Todavia, estimam-se 100.000 indivíduos afetados, sugerindo que apenas uma minoria daqueles com deficiência grave de AAT (2,4%) sejam identificados<sup>22</sup>. Tem sido feito um esforço para melhorar a deteção, incluindo rastreios populacionais, *case-finding* regionais ou nacionais e estratégias que aumentem a suspeita clínica<sup>23</sup>.

Segundo estimativas do maior estudo populacional realizado até hoje na Suécia, a prevalência em recém-nascidos é aproximadamente 1:1600<sup>24</sup>. Dos recém-nascidos ZZ afetados com a doença (0,06%), 17% cursaram com sintomas de hepatopatia (11% colestase neonatal e 6% outros que não icterícia)<sup>7</sup>.

Outros estudos europeus revelam uma distribuição fenotípica heterogénea, sendo mais frequente o alelo Z nos países nórdicos e o S na Península Ibérica<sup>25</sup>. Em Portugal, as prevalências fenotípicas são: ZZ 0,02%, MZ 2,3%, SZ 0,3%, MS 20% e SS 1,7%<sup>26</sup>.

Um estudo pioneiro no arquipélago da Madeira revelou resultados surpreendentes<sup>27</sup>. O alelo S registou a maior prevalência comparada de sempre (18%) (incluindo Portugal continental – 12,9% – e Espanha – 10,4% –, os países de origem da mutação) e o alelo Z prevalência semelhante à dos países nórdicos (2,5%). A prevalência fenotípica total (ZZ, SS e SZ) foi estimada a maior no mundo (41:1000), provavelmente explicada pela elevada procura de climas benévolos no tratamento de afeções pulmonares por povos europeus no século XVIII.

## FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA HEPÁTICA

A deficiência de AAT é a causa genética mais comum de hepatopatia pediátrica<sup>28</sup>. Sendo a principal manifestação clínica do recém-nascido e, globalmente, a segunda complicação mais frequente, a seguir ao enfisema pulmonar, apresenta-se como icterícia neonatal, que geralmente resolve até à adolescência<sup>7</sup>. Resulta da acumulação intra-hepatocitária de AAT polimerizada, formando inclusões positivas à coloração com ácido periódico de Schiff (PAS) em indivíduos com o alelo Z, ou outros (e.g., S<sub>iiyama</sub>, M<sub>malton</sub>), com menor frequência em heterozigotos e hipoteticamente ausente em recém-nascidos<sup>29</sup>.

O mecanismo fisiopatológico mais aceite baseia-se numa mutação pontual do exão 5 com substituição de glutamato por lisina na posição 342 da proteína Z que leva a alterações conformacionais com polimerização *loop-sheet* (inserção irreversível do *loop* reativo de uma molécula na *β-sheet* de outra)<sup>9, 10</sup>. Apesar da mutação favorecer a polimerização espontânea, diversos fatores catalisam-na: aumento da temperatura, concentração de AAT<sup>30</sup> e pH inferior a 6 ou superior a 8<sup>31</sup>. Ocorre acumulação da proteína mutada e aumento da morte celular programada, hepatite, fibrose e risco de cirrose<sup>32</sup>, particularmente na variante Z. Apenas 10-20% são secretados para a circulação e os restantes 80-90% ficam retidos no retículo endoplasmático (RE) hepatocitário<sup>30, 33</sup>. Porém, o mecanismo exato pelo qual a alteração conformacional condiciona retenção no RE e lesão não é consensual<sup>34</sup>.

Há pelo menos duas vias de degradação proteica: proteossómica e não-proteossómica (e.g. autofagia)<sup>34, 35</sup>. Na primeira, pode ser por interação modificada da AAT mutada com a calnexina (chaperona transmembranar do RE)<sup>36</sup> e consequente ligação da ubiquitina ao complexo do proteossoma ou por mecanismos proteossómicos independentes da ubiquitina.

Há evidência de que a degradação proteossômica é inicialmente mediada pela  $\alpha$ -manosidase I do RE (ERManI), num processo geralmente designado por “degradação associada ao RE” (ERAD)<sup>9, 37</sup>. Encontraram-se polimorfismos mononucleotídicos (SNP) no seu gene que condicionam baixos níveis da ERManI, com compromisso da degradação glicoproteica e aceleração da lesão hepática. Adicionalmente, a superprodução de AAT mutada (e.g. variante Z) suprime a enzima, provavelmente secundária a etapas das vias de ativação do fator nuclear kappa-B [NFkB] e da autofagia<sup>38</sup>. Assim, desenvolveram-se inibidores da manosidase com potencial terapêutico no atraso na degradação e aumento da secreção de AAT mutada<sup>39, 40</sup>.

A autofagia é um processo catabólico que previne a lesão hepática pela degradação de AAT mutada. Kruse e colegas concluíram que baixos níveis da proteína no RE são solúveis e facilmente degradados pelo proteossoma (ERAD), ao passo que níveis superiores formam mais agregados/polímeros insolúveis que requerem autofagia para serem degradados<sup>41, 42</sup>, explicando o fluxo superior de autofagossomas em indivíduos ZZ relativamente a outros com menores taxas de polimerização. Conseqüentemente, a autofagia está aumentada e ocorre lesão e autofagia mitocondrial<sup>43, 44</sup>, com libertação de citocromo c e ativação das caspases que estimulam vias apoptóticas celulares<sup>45</sup>. Estas podem ainda ser desencadeadas por estímulos apoptóticos extrínsecos. Compensatoriamente, inibidores da apoptose aumentam na tentativa de prevenir morte celular exagerada, contudo há uma taxa de morte hepatocelular constante.

A quantidade de AAT acumulada é diretamente proporcional ao grau de lesão hepatocelular<sup>46</sup>. O acúmulo da proteína no RE condiciona *stress* do organelo, com ativação de diversas cascatas (e.g. do [NFkB] e proteína 31 associada ao recetor da célula B [BAP31])<sup>47</sup>. A BAP-31 (proteína integral de membrana do RE) está envolvida na retenção proteica e contribui para a disfunção mitocondrial e ativação das caspases, predispondo ao desenvolvimento da hepatopatia<sup>34</sup>. O NFkB pode funcionar como um estímulo proliferativo, potenciando crescimento neoplásico e hepatocarcinoma<sup>9</sup>.

Além disso, um estudo recente demonstra a ativação da *Unfolded Protein Response* (UPR) em linhas celulares epiteliais pulmonares, hepáticas e monócitos, contradizendo a teoria inversa<sup>48</sup>. Daqui resulta um potencial alvo terapêutico, particularmente no tratamento da doença pulmonar.

A deficiência de AAT é subdiagnosticada visto que comumente não é considerada em indivíduos com doença hepática e, por outro lado, a penetrância do atingimento hepático é baixa<sup>10, 19</sup>. A maioria dos indivíduos ZZ está “protegida” através de mecanismos intracelulares de degradação proteica, como comprovado por Sveger e colegas (apenas 8% dos homozigotos

Z têm clínica significativa de hepatopatia durante as primeiras 3 décadas de vida)<sup>49</sup>. Um atraso na degradação intracelular da proteína mutada (e.g. por interação modificada com a calnexina)<sup>50</sup> parece explicar a suscetibilidade, com maior acumulação de AAT mutada no RE.

Assim, fatores genéticos intrínsecos mas também ambientais (e.g. álcool, infecções víricas, toxinas) poderão explicar a baixa penetrância.

## DIAGNÓSTICO

O estudo diagnóstico inicia-se com a anamnese e exame físico, seguida pela determinação da concentração sérica da proteína (nefelometria, imunoeletroforese, imunodifusão radial). Contudo, não deve ser isoladamente interpretada como diagnóstica pela sua baixa sensibilidade e especificidade<sup>32</sup>. Heterozigóticos podem ter doseamentos normais e em indivíduos ZZ aumentar transitoriamente durante períodos de inflamação sistêmica, dado tratar-se de uma proteína de fase aguda<sup>32, 51, 52</sup>. Se as concentrações forem baixas (inferiores a 100mg/dL<sup>53</sup>) recomenda-se fenotipagem por focalização isoelétrica.

Estão ainda disponíveis testes de diagnóstico molecular que permitem analisar ácido desoxirribonucleico (ADN) diretamente ou por amplificação alélica específica, com a vantagem de identificar novas mutações. Os kits comerciais permitem detetar rapidamente as variantes Z e S a partir de amostras sanguíneas ou raspado bucal, mas não as nulas ou outros alelos deficientes mais raros, pelo que é mandatória fenotipagem do soro caso devolva resultado dúbio<sup>51, 54</sup>.

A biópsia permite o diagnóstico histológico (inclusões de AAT, células gigantes, hepatite lobular, esteatose, fibrose, necrose hepatocelular, escassez ou proliferação de ductos biliares)<sup>44, 45, 55</sup> e determinação do fenótipo, mas é desnecessária porque a fenotipagem do soro é menos invasiva e o *gold-standard* para o diagnóstico. Contudo pode ser útil no estadiamento da gravidade.

Outras causas de DHC (hepatite vírica, hemocromatose, doença de Wilson, doença autoimune e alcoólica) devem ser excluídas. Em casos dúbios a biópsia pode ser necessária.

### Diagnóstico Pré-Natal

Atualmente não existe nenhum método de diagnóstico pré-natal por rotina. Através de amniocentese e biópsia das vilosidades coriônicas<sup>56, 57</sup> é possível estabelecer o diagnóstico com base em técnicas de amplificação genómica, em casos selecionados (e.g. história de

doença hepática neonatal grave numa gravidez anterior<sup>58, 59</sup>), contudo tem custos elevados que limitam o seu uso, pelo que não é recomendado.

### **Diagnóstico Pós-Natal**

O diagnóstico pós-natal depende de um alto grau de suspeição, visto que não há rastreio e a penetrância do atingimento hepático neonatal é baixa<sup>54</sup>. Só 10% desenvolvem hepatite neonatal, a maioria dos quais recupera clinicamente, sendo saudáveis durante a infância, apenas com ligeiras alterações nos testes de função hepática. Dois fatores que aumentam o grau de suspeição são história familiar e presença de hepatite neonatal. Caso contrário, poderão permanecer sem diagnóstico até que surjam complicações.

A apresentação clínica varia entre insuficiência hepática aguda (por vezes fatal) e ausência de alterações laboratoriais e clínicas. Quando há disfunção hepática, geralmente é diagnosticada ao primeiro ou segundo mês de vida pela colestase, icterícia prolongada ou hepatomegalia, com ou sem acolia, e laboratorialmente com hiperbilirrubinemia conjugada moderada e/ou hipertransaminasemia. Por vezes a hipertransaminasemia pode persistir durante anos, com sinais mínimos de hepatopatia além da infância. Cinco por cento são diagnosticadas após deteção de coagulopatia às 2-4 semanas de vida (hemorragia gastrointestinal, intracraniana, equimoses fáceis...), secundária à deficiência de vitamina K por disfunção hepática moderada<sup>60</sup>. Por sua vez, a colestase intra-hepática condiciona diminuição da reabsorção lipídica e de vitaminas lipossolúveis<sup>52</sup>, com atraso de crescimento. Uma pequena porção desenvolve esplenomegalia, ascite e disfunção na síntese hepática<sup>61, 62</sup>. Outras formas raras são prurido colestático e hipercolesterolemia<sup>63</sup>. Por vezes, pode coexistir atresia biliar e fibrose cística, embora se pense que não haja correlação direta entre eles<sup>6</sup>.

Dez por cento das crianças com cirrose hepática não têm história de colestase neonatal, apresentando-se com DHC durante a infância ou adolescência<sup>64</sup>. Além disso, podem simular a clínica de outras patologias hepáticas crónicas, como hepatite autoimune, tóxica, vírica e doença de Wilson<sup>51, 62</sup>.

### **Teste Genético**

Apesar do risco psíquico que acarreta o rótulo da doença, o teste genético é útil no diagnóstico, rastreio de indivíduos predispostos (e.g., familiares 1º grau), fenotipagem do portador para aconselhamento genético e rastreio populacional. Assim, a American Thoracic Society (ATS) em consórcio com a European Respiratory Society (ERS) recomendam testes diagnósticos para recém-nascidos com doença hepática inexplicada. O teste genético é preciso

e oferece informação prognóstica relevante (e.g. maior risco de hepatocarcinoma no fenótipo ZZ). Contudo não está recomendado na avaliação fetal pela baixa incidência e gravidade das patologias associadas à deficiência de AAT *in utero*, assim como no rastreio populacional pela má relação custo-benefício.

O *gold-standard* é a fenotipagem do soro por focalização isoeétrica, realizada em laboratórios de referência. Contudo, é um teste demorado e indisponível para aplicação imediata. Não permite distinguir um fenótipo deficiente homozigótico de um heterozigoto com um alelo deficiente e outro nulo. Mais, não reconhece alelos *M-like* e nulos específicos, clinicamente relevantes, requerendo posterior sequenciação genómica<sup>53, 54</sup>. Ainda assim, pela prevalência do atingimento hepático, impacto clínico, precisão do teste (poucos falsos positivos e negativos) e relativo baixo custo, figura-se uma ótima ferramenta diagnóstica.

## FENÓTIPO

Até hoje, mais de 100 variantes genéticas foram identificadas, dado o pleomorfismo da AAT<sup>65</sup>. Os fenótipos são identificados por letras, consoante a mobilidade alélica num gradiente de pH isoeétrico em gel de eletroforese, sendo A o mais rápido e Z o mais lento. Indivíduos MM (mobilidade média) indicam homozigotia para o alelo M (normal) e ZZ para o alelo Z (deficiência grave de AAT). Além disso, são categorizados em quatro grupos: alelos normais, deficientes, nulos e disfuncionais<sup>8</sup>. Os normais caracterizam-se por concentrações séricas de AAT de 80-220mg/dL (amostra purificada, análise por nefelometria) ou 150-350mg/dL (comercial). Os alelos deficientes conferem concentrações inferiores a 80mg/dL e, em algumas variantes (e.g. Z), hipofunção da AAT. Os alelos nulos condicionam ausência de AAT sérica secundariamente a erros transcricionais ou translacionais que interrompem a síntese (e.g. codões stop ou deleções completas em exões codificantes<sup>66</sup>). Excepcionalmente, alguns apresentam níveis detetáveis de AAT (e.g. Q0<sub>soest</sub> e Q0<sub>amersfoort</sub>)<sup>53</sup>. Os alelos disfuncionais levam a disfunção da AAT (e.g. menor afinidade à elastase dos neutrófilos [variante F], inibição da trombina em detrimento da elastase com diátese hemorrágica [variante *Pittsburgh*]<sup>67</sup>).

O fenótipo predominante é o MM (94-96% dos caucasianos)<sup>51</sup> e aproximadamente 2-3% da população é heterozigota MZ. Estima-se que 117 milhões de pessoas em todo o mundo sejam MS e MZ (os fenótipos portadores mais prevalentes) e 3,4 milhões ZZ, SZ ou SS<sup>18</sup>.

Dos alelos conhecidos, o Z é o mais comum (95%) e quando em homozigotia caracteriza-se por níveis muito baixos de AAT (10-20% do normal), geralmente inferiores a

50mg/dL<sup>51</sup>. Produz-se ácido ribonucleico mensageiro (ARNm) normal com síntese adequada de AAT, mas apenas 15% é secretada. Pela elevada taxa de polimerização, há maior acumulação intrahepatocitária de AAT, condicionando maior agressão hepática e maior risco de cirrose<sup>9</sup>. Contudo, apenas 2-3% das crianças ZZ progridem para fibrose avançada ou cirrose que requer transplante hepático durante a infância<sup>68, 69</sup>.

A variante S tem uma prevalência de 2-3% e é mais frequente nos países mediterrânicos, com redução da AAT a 60% do normal em homozigóticos<sup>51, 70</sup>. Em heterozigotia é superior nos doentes com lesão hepática induzida por tóxicos (e.g. indometacina), podendo contribuir como fator de risco<sup>71</sup>. Resulta de uma mutação pontual na posição 264 com substituição do glutamato pela valina<sup>72</sup>, associando-se a menos inclusões PAS-positivas, embora possam existir<sup>73</sup>. A proteína tem menor sobrevivência que a AAT normal<sup>54, 72</sup> e a polimerização ocorre mais lentamente e em menor grau, com menor retenção glicoproteica e lesão hepática autolimitada<sup>9, 63</sup>. No entanto, quando co-herdado com o alelo Z, interagem e polimerizam, com formação de inclusões, acumulação e propensão a cirrose<sup>10</sup>.

Há uma associação entre fenótipos mais raros e fibrose hepática, cirrose, displasia e hepatocarcinoma<sup>74</sup> (<5%). As variantes M<sub>malton</sub> e M<sub>duarte</sub> (0-15% da AAT normal) tendem a formar inclusões intracitoplasmáticas PAS-positivas<sup>75</sup>. O alelo S<sub>iiyama</sub> cursa igualmente com DHC e pulmonar<sup>70</sup>. Os alelos M-like são 100-200 vezes mais raros que o Z, o que explica a relativa ausência de evidência epidemiológica para estimar o risco de desenvolver DHC.

Além disso, a heterozigotia atua como modificador genético da DHC (inclusive em patologias associadas, e.g. fibrose cística<sup>76</sup>, esteato-hepatite não-alcoólica e hepatite C<sup>77</sup>), modulando a progressão da doença. Crianças com atresia biliar são mais novas quando inscritas para transplante, com progressão acelerada da doença, quando comparadas a indivíduos MM<sup>78</sup>. Adicionalmente, o risco de cirrose está aumentado em heterozigotos mesmo sem hepatopatia coexistente<sup>10</sup>.

## TRATAMENTO

Cuidados de suporte e nutrição são fulcrais. O ácido ursodesoxicólico pode melhorar laboratorial e clinicamente a função hepática em crianças com doença hepática leve a moderada, contudo desconhece-se o mecanismo de ação<sup>79</sup>. Por sua vez, a redução da concentração sérica de AAT não contribui para a doença hepática, pelo que a terapêutica de reposição de AAT não confere benefício, ao contrário da doença pulmonar.



A deficiência de AAT é a principal doença hepática metabólica e a segunda indicação mais frequente para transplante hepático na infância, a seguir à atresia biliar<sup>80, 81</sup>. Atualmente, é a única forma de tratamento, com melhoria significativa da qualidade de vida, prevenindo a recorrência e diminuindo as manifestações extra-hepáticas (e.g. enfisema pulmonar). Pode ser necessária antes dos dois anos por rápida deterioração da função hepática, mas na maioria dos casos está indicada na infância tardia pelo reaparecimento de icterícia prolongada ou complicações da cirrose<sup>64</sup>. O transplante a partir de doadores familiares vivos figura-se uma excelente opção<sup>82</sup>. O prognóstico pós-transplante na infância é excelente, atingindo taxas de sobrevida de 85-90% aos três anos<sup>83, 84</sup>, mas também no adulto (80%)<sup>84</sup>.

Outras estratégias terapêuticas, nomeadamente farmacológicas, podem dividir-se em terapias que previnem a polimerização<sup>85, 86</sup>, diminuem a lesão hepática<sup>87</sup>, aumentam a secreção da proteína mutada<sup>88, 89</sup>, aumentam a sua degradação intracelular<sup>34, 90</sup> ou outras<sup>91</sup> (Tabela II).

A terapia de recombinação génica, com injeção de um vetor adenovírus associado ao gene da AAT, tem revelado resultados promissores<sup>92</sup> com aumento da secreção de AAT mas pouco ou nenhum efeito sobre a doença hepática, muito semelhante ao resultado das células estaminais até então<sup>93</sup>.

## **PROGNÓSTICO E SEGUIMENTO**

No maior estudo populacional até hoje realizado, Sveger demonstrou que 17% dos recém-nascidos com a variante Z tinham parâmetros laboratoriais de disfunção hepática aos seis meses, com normalização da bilirrubinemia conjugada a curto prazo, e na pequena infância atingia metade dos assintomáticos, regularizando até aos 18 anos. Apenas 2,5% dos recém-nascidos ZZ morrem por insuficiência hepática aguda e 2,5% dos sobreviventes morrem por cirrose aos 18 anos<sup>94</sup>. Aos 18 anos 80% dos sobreviventes com hepatite neonatal eram clinicamente saudáveis, antevendo excelente prognóstico durante a infância e a adolescência.

O risco de DHC/cirrose em qualquer altura da vida é de 30-40%<sup>59</sup>, com dois picos de incidência (infância precoce e idoso não-fumador)<sup>51, 69</sup> e maior prevalência em indivíduos ZZ do sexo masculino em relação ao sexo feminino (1:4)<sup>95</sup>. Apenas 30% dos adultos ZZ desenvolvem cirrose, com esperança média de vida superior, provavelmente porque os não-cirróticos morrem mais cedo por doença pulmonar avançada<sup>96</sup>.

São vários os fatores de prognóstico admitidos. Indivíduos com história familiar de hepatopatia por deficiência de AAT, à partida, terão maior suscetibilidade<sup>51</sup>. A heterozigotia Z parece associar-se a menor risco, embora haja potenciação pelo álcool e pelo vírus da hepatite C (VHC). Por sua vez, o papel da deficiência de AAT no curso da DHC por VHC é controverso<sup>97-101</sup>. A hipertensão portal, hipertransaminasemia ou aumento do tempo de protrombina podem condicionar pior prognóstico, mas há muitas crianças que se mantêm estáveis durante muito tempo<sup>94, 102</sup>, pelo que a indicação para transplante não é consistente. A colestase propicia fibrose hepática por indução de stress no RE e aumento da apoptose hepatocitária, com libertação de moléculas pró-fibrogénicas (e.g. fator de crescimento tumoral  $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) e ativação de miofibroblastos hepáticos<sup>103</sup>. Além destes, a obesidade<sup>95</sup>, hepatomegalia, esplenomegalia precoce, GGT persistentemente aumentada e alterações histológicas (e.g. fibrose) têm sido associadas a pior prognóstico. Cumulativamente, crianças que se apresentem com icterícia há mais de seis semanas, hipertransaminasemia, proliferação grave dos ductos biliares e estágio avançado de fibrose hepática, associam-se a pior prognóstico<sup>104</sup>.

O cancro hepático primário na deficiência de AAT desenvolve-se tipicamente em indivíduos com cirrose estabelecida<sup>105, 106</sup>. A cirrose é um fator de risco para hepatocarcinoma, resultado de mutações genéticas acumuladas em células cronicamente estimuladas e em divisão, inseridas num foco de inflamação crónica.

## CONCLUSÃO

O diagnóstico de deficiência de AAT e a sua precocidade são um desafio. Apesar de ser uma causa comum de icterícia neonatal, a maioria dos indivíduos é clinicamente saudável durante a infância e não desenvolve hepatopatia de relevo. A progressão para DHC com necessidade de transplante é altamente variável, com forte influência da interação genético-ambiental, no entanto carece ainda de estudo fisiopatológico.

No futuro, novas terapias como a génica podem revolucionar a forma como a doença hepática é abordada, com vista ao tratamento mais eficaz e, possivelmente, à prevenção.

## REFERÊNCIAS

1. MAISELS MJ. What's in a name? Physiologic and pathologic jaundice: the conundrum of defining normal bilirubin levels in the newborn. *Pediatrics*. 2006;118(2):805-807. Epub 2006/08/03.
2. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics*. 2004;114(1):297-316. Epub 2004/07/03.
3. MOYER V, FREESE DK, WHITINGTON PF, et al. Guideline for the evaluation of cholestatic jaundice in infants: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2004;39(2):115-128. Epub 2004/07/23.
4. DICK MC, MOWAT AP. Hepatitis syndrome in infancy--an epidemiological survey with 10 year follow up. *Archives of disease in childhood*. 1985;60(6):512-516. Epub 1985/06/01.
5. BALISTRERI WF. Neonatal cholestasis. *The Journal of pediatrics*. 1985;106(2):171-184. Epub 1985/02/01.
6. EMERICK KM, WHITINGTON PF. Neonatal liver disease. *Pediatr Ann*. 2006;35(4):280-286. Epub 2006/04/28.
7. SVEGER T. Liver disease in alpha1-antitrypsin deficiency detected by screening of 200,000 infants. *The New England journal of medicine*. 1976;294(24):1316-1321. Epub 1976/06/10.
8. STOLLER JK, ABOUSSOUAN LS. Alpha1-antitrypsin deficiency. *Lancet*. 2005;365(9478):2225-2236. Epub 2005/06/28.
9. GOOPTU B, LOMAS DA. Conformational pathology of the serpins: themes, variations, and therapeutic strategies. *Annual review of biochemistry*. 2009;78:147-176. Epub 2009/02/28.
10. KOK KF, WAHAB PJ, HOUWEN RH, et al. Heterozygous alpha-I antitrypsin deficiency as a co-factor in the development of chronic liver disease: a review. *The Netherlands journal of medicine*. 2007;65(5):160-166. Epub 2007/05/24.
11. COX DW, WOO SL, MANSFIELD T. DNA restriction fragments associated with alpha 1-antitrypsin indicate a single origin for deficiency allele PI Z. *Nature*. 1985;316(6023):79-81. Epub 1985/07/04.

12. COX DW, BILLINGSLEY GD, MANSFIELD T. DNA restriction-site polymorphisms associated with the alpha 1-antitrypsin gene. *American journal of human genetics*. 1987;41(5):891-906. Epub 1987/11/01.
13. CARLSON JA, ROGERS BB, SIFERS RN, HAWKINS HK, FINEGOLD MJ, WOO SL. Multiple tissues express alpha 1-antitrypsin in transgenic mice and man. *The Journal of clinical investigation*. 1988;82(1):26-36. Epub 1988/07/01.
14. STOCKLEY RA, BAYLEY DL, UNSAL I, DOWSON LJ. The effect of augmentation therapy on bronchial inflammation in alpha1-antitrypsin deficiency. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002;165(11):1494-1498. Epub 2002/06/05.
15. SPENCER LT, PAONE G, KREIN PM, ROUHANI FN, RIVERA-NIEVES J, BRANTLY ML. Role of human neutrophil peptides in lung inflammation associated with alpha1-antitrypsin deficiency. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*. 2004;286(3):L514-520. Epub 2003/11/05.
16. ALDONYTE R, JANSSON L, JANCIAUSKIENE S. Concentration-dependent effects of native and polymerised alpha1-antitrypsin on primary human monocytes, in vitro. *BMC cell biology*. 2004;5:11. Epub 2004/03/31.
17. JANCIAUSKIENE S, LARSSON S, LARSSON P, VIRTALA R, JANSSON L, STEVENS T. Inhibition of lipopolysaccharide-mediated human monocyte activation, in vitro, by alpha1-antitrypsin. *Biochemical and biophysical research communications*. 2004;321(3):592-600. Epub 2004/09/11.
18. DE SERRES FJ. Worldwide racial and ethnic distribution of alpha1-antitrypsin deficiency: summary of an analysis of published genetic epidemiologic surveys. *Chest*. 2002;122(5):1818-1829. Epub 2002/11/12.
19. LUISETTI M, SEERSHOLM N. Alpha1-antitrypsin deficiency. 1: epidemiology of alpha1-antitrypsin deficiency. *Thorax*. 2004;59(2):164-169. Epub 2004/02/05.
20. STOCKLEY RA, LUISETTI M, MIRAVITLLES M, PIITULAINEN E, FERNANDEZ P. Ongoing research in Europe: Alpha One International Registry (AIR) objectives and development. *The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology*. 2007;29(3):582-586. Epub 2007/03/03.
21. STOLLER JK, BRANTLY M, FLEMING LE, BEAN JA, WALSH J. Formation and current results of a patient-organized registry for alpha(1)-antitrypsin deficiency. *Chest*. 2000;118(3):843-848. Epub 2000/09/16.

22. DE SERRES FJ, BLANCO I, FERNANDEZ-BUSTILLO E. Pi S and Pi Z alpha-1 antitrypsin deficiency worldwide. A review of existing genetic epidemiological data. *Monaldi archives for chest disease = Archivio Monaldi per le malattie del torace / Fondazione clinica del lavoro, IRCCS [and] Istituto di clinica fisiologica e malattie apparato respiratorio, Universita di Napoli, Secondo ateneo.* 2007;67(4):184-208. Epub 2008/03/04.
23. ABOUSSOUAN LS, STOLLER JK. Detection of alpha-1 antitrypsin deficiency: a review. *Respir Med.* 2009;103(3):335-341. Epub 2008/11/18.
24. SVEGER T. alpha 1-antitrypsin deficiency in early childhood. *Pediatrics.* 1978;62(1):22-25. Epub 1978/07/01.
25. HUTCHISON DC. Alpha 1-antitrypsin deficiency in Europe: geographical distribution of Pi types S and Z. *Respir Med.* 1998;92(3):367-377. Epub 1998/08/06.
26. DE SERRES FJ, BLANCO I, FERNANDEZ-BUSTILLO E. Genetic epidemiology of alpha-1 antitrypsin deficiency in southern Europe: France, Italy, Portugal and Spain. *Clinical genetics.* 2003;63(6):490-509. Epub 2003/06/06.
27. SPINOLA C, BRUGES-ARMAS J, PEREIRA C, BREHM A, SPINOLA H. Alpha-1-antitrypsin deficiency in Madeira (Portugal): the highest prevalence in the world. *Respir Med.* 2009;103(10):1498-1502. Epub 2009/05/20.
28. DE SERRES FJ, BLANCO I, FERNANDEZ-BUSTILLO E. Genetic epidemiology of alpha-1 antitrypsin deficiency in North America and Australia/New Zealand: Australia, Canada, New Zealand and the United States of America. *Clinical genetics.* 2003;64(5):382-397. Epub 2003/11/18.
29. MALONE M, MIELI-VERGANI G, MOWAT AP, PORTMANN B. The fetal liver in PiZZ alpha-1-antitrypsin deficiency: a report of five cases. *Pediatric pathology / affiliated with the International Paediatric Pathology Association.* 1989;9(6):623-631. Epub 1989/01/01.
30. LOMAS DA, EVANS DL, FINCH JT, CARRELL RW. The mechanism of Z alpha 1-antitrypsin accumulation in the liver. *Nature.* 1992;357(6379):605-607. Epub 1992/06/18.
31. DAFFORN TR, MAHADEVA R, ELLIOTT PR, SIVASOTHY P, LOMAS DA. A kinetic mechanism for the polymerization of alpha1-antitrypsin. *The Journal of biological chemistry.* 1999;274(14):9548-9555. Epub 1999/03/27.
32. FAIRBANKS KD, TAVILL AS. Liver disease in alpha 1-antitrypsin deficiency: a review. *The American journal of gastroenterology.* 2008;103(8):2136-2141; quiz 2142. Epub 2008/09/18.

33. LOMAS DA, MAHADEVA R. Alpha1-antitrypsin polymerization and the serpinopathies: pathobiology and prospects for therapy. *The Journal of clinical investigation*. 2002;110(11):1585-1590. Epub 2002/12/05.
34. PERLMUTTER DH, BRODSKY JL, BALISTRERI WF, TRAPNELL BC. Molecular pathogenesis of alpha-1-antitrypsin deficiency-associated liver disease: a meeting review. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2007;45(5):1313-1323. Epub 2007/04/28.
35. TECKMAN JH, GILMORE R, PERLMUTTER DH. Role of ubiquitin in proteasomal degradation of mutant alpha(1)-antitrypsin Z in the endoplasmic reticulum. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2000;278(1):G39-48. Epub 2000/01/25.
36. QU D, TECKMAN JH, OMURA S, PERLMUTTER DH. Degradation of a mutant secretory protein, alpha1-antitrypsin Z, in the endoplasmic reticulum requires proteasome activity. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(37):22791-22795. Epub 1996/09/13.
37. MAST SW, DIEKMAN K, KARAVEG K, DAVIS A, SIFERS RN, MOREMEN KW. Human EDEM2, a novel homolog of family 47 glycosidases, is involved in ER-associated degradation of glycoproteins. *Glycobiology*. 2005;15(4):421-436. Epub 2004/11/13.
38. PAN S, HUANG L, MCPHERSON J, et al. Single nucleotide polymorphism-mediated translational suppression of endoplasmic reticulum mannosidase I modifies the onset of end-stage liver disease in alpha1-antitrypsin deficiency. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2009;50(1):275-281. Epub 2009/05/16.
39. MARCUS NY, PERLMUTTER DH. Glucosidase and mannosidase inhibitors mediate increased secretion of mutant alpha1 antitrypsin Z. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(3):1987-1992. Epub 2000/01/15.
40. WU Y, SWULIUS MT, MOREMEN KW, SIFERS RN. Elucidation of the molecular logic by which misfolded alpha 1-antitrypsin is preferentially selected for degradation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100(14):8229-8234. Epub 2003/06/20.
41. KRUSE KB, BRODSKY JL, MCCRACKEN AA. Characterization of an ERAD gene as VPS30/ATG6 reveals two alternative and functionally distinct protein quality control pathways: one for soluble Z variant of human alpha-1 proteinase inhibitor (A1PiZ) and another for aggregates of A1PiZ. *Molecular biology of the cell*. 2006;17(1):203-212. Epub 2005/11/04.
42. PERLMUTTER DH. Alpha-1-antitrypsin deficiency: importance of proteasomal and autophagic degradative pathways in disposal of liver disease-associated protein aggregates. *Annual review of medicine*. 2011;62:333-345. Epub 2010/08/17.

43. TECKMAN JH, AN JK, BLOMENKAMP K, SCHMIDT B, PERLMUTTER D. Mitochondrial autophagy and injury in the liver in alpha 1-antitrypsin deficiency. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2004;286(5):G851-862. Epub 2003/12/20.
44. TECKMAN JH, LINDBLAD D. Alpha-1-antitrypsin deficiency: diagnosis, pathophysiology, and management. *Current gastroenterology reports*. 2006;8(1):14-20. Epub 2006/03/03.
45. TECKMAN JH. Alpha1-antitrypsin deficiency in childhood. *Seminars in liver disease*. 2007;27(3):274-281. Epub 2007/08/09.
46. LINDBLAD D, BLOMENKAMP K, TECKMAN J. Alpha-1-antitrypsin mutant Z protein content in individual hepatocytes correlates with cell death in a mouse model. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2007;46(4):1228-1235. Epub 2007/09/22.
47. HIDVEGI T, SCHMIDT BZ, HALE P, PERLMUTTER DH. Accumulation of mutant alpha1-antitrypsin Z in the endoplasmic reticulum activates caspases-4 and -12, NFkappaB, and BAP31 but not the unfolded protein response. *The Journal of biological chemistry*. 2005;280(47):39002-39015. Epub 2005/09/27.
48. CARROLL TP, GREENE CM, O'CONNOR CA, NOLAN AM, O'NEILL SJ, MCELVANEY NG. Evidence for unfolded protein response activation in monocytes from individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2010;184(8):4538-4546. Epub 2010/03/17.
49. PIITULAINEN E, CARLSON J, OHLSSON K, SVEGER T. Alpha1-antitrypsin deficiency in 26-year-old subjects: lung, liver, and protease/protease inhibitor studies. *Chest*. 2005;128(4):2076-2081. Epub 2005/10/21.
50. WU Y, WHITMAN I, MOLMENTI E, MOORE K, HIPPENMEYER P, PERLMUTTER DH. A lag in intracellular degradation of mutant alpha 1-antitrypsin correlates with the liver disease phenotype in homozygous PiZZ alpha 1-antitrypsin deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1994;91(19):9014-9018. Epub 1994/09/13.
51. American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2003;168(7):818-900. Epub 2003/10/03.
52. KOHNLEIN T, WELTE T. Alpha-1 antitrypsin deficiency: pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *The American journal of medicine*. 2008;121(1):3-9. Epub 2008/01/12.

53. PRINS J, VAN DER MEIJDEN BB, KRAAIJENHAGEN RJ, WIELDERS JP. Inherited chronic obstructive pulmonary disease: new selective-sequencing workup for alpha1-antitrypsin deficiency identifies 2 previously unidentified null alleles. *Clinical chemistry*. 2008;54(1):101-107. Epub 2007/11/21.
54. FREGONESE L, STOLK J. Hereditary alpha-1-antitrypsin deficiency and its clinical consequences. *Orphanet journal of rare diseases*. 2008;3:16. Epub 2008/06/21.
55. PERLMUTTER DH. Alpha-1-antitrypsin deficiency: diagnosis and treatment. *Clinics in liver disease*. 2004;8(4):839-859, viii-ix. Epub 2004/10/07.
56. DRY PJ. Rapid detection of alpha-1-antitrypsin deficiency by analysis of a PCR-induced TaqI restriction site. *Human genetics*. 1991;87(6):742-744. Epub 1991/10/01.
57. FORREST SM, DRY PJ, COTTON RG. Use of the chemical cleavage of mismatch method for prenatal diagnosis of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Prenatal diagnosis*. 1992;12(2):133-137. Epub 1992/02/01.
58. COX DW, SMYTH S. Risk for liver disease in adults with alpha 1-antitrypsin deficiency. *The American journal of medicine*. 1983;74(2):221-227. Epub 1983/02/01.
59. ERIKSSON S, CARLSON J, VELEZ R. Risk of cirrhosis and primary liver cancer in alpha 1-antitrypsin deficiency. *The New England journal of medicine*. 1986;314(12):736-739. Epub 1986/03/20.
60. KATS-UGURLU G, HOGVEEN M, DRIESSEN A, VAN DEN OUWELAND AM, HULSBERGEN-VAN DE KAA C. Diagnosis of alpha-1-antitrypsin deficiency in bleeding disorder-related neonatal death. *European journal of pediatrics*. 2011;170(1):103-106. Epub 2010/09/03.
61. GHISHAN FK, GRAY GF, GREENE HL. alpha 1-antitrypsin deficiency presenting with ascites and cirrhosis in the neonatal period. *Gastroenterology*. 1983;85(2):435-438. Epub 1983/08/01.
62. ODIEVRE M, MARTIN JP, HADCHOUEL M, ALAGILLE D. Alpha1-antitrypsin deficiency and liver disease in children: phenotypes, manifestations, and prognosis. *Pediatrics*. 1976;57(2):226-231. Epub 1976/02/01.
63. MASSI G. Pathogenesis and pathology of liver disease associated with alpha 1-antitrypsin deficiency. *Chest*. 1996;110(6 Suppl):251S-255S. Epub 1996/12/01.
64. DARWISH AA, MCKIERNAN P, CHARDOT C. Paediatric liver transplantation for metabolic disorders. Part 2: Metabolic disorders with liver lesions. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. 2011;35(4):271-280. Epub 2011/03/08.



65. DEMEO DL, SILVERMAN EK. Alpha1-antitrypsin deficiency. 2: genetic aspects of alpha(1)-antitrypsin deficiency: phenotypes and genetic modifiers of emphysema risk. *Thorax*. 2004;59(3):259-264. Epub 2004/02/27.
66. BRANTLY M, NUKIWA T, CRYSTAL RG. Molecular basis of alpha-1-antitrypsin deficiency. *The American journal of medicine*. 1988;84(6A):13-31. Epub 1988/06/24.
67. OWEN MC, BRENNAN SO, LEWIS JH, CARRELL RW. Mutation of antitrypsin to antithrombin. alpha 1-antitrypsin Pittsburgh (358 Met leads to Arg), a fatal bleeding disorder. *The New England journal of medicine*. 1983;309(12):694-698. Epub 1983/09/22.
68. SVEGER T. The natural history of liver disease in alpha 1-antitrypsin deficient children. *Acta paediatrica Scandinavica*. 1988;77(6):847-851. Epub 1988/11/01.
69. CHAPPELL S, HADZIC N, STOCKLEY R, GUETTA-BARANES T, MORGAN K, KALSHEKER N. A polymorphism of the alpha1-antitrypsin gene represents a risk factor for liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2008;47(1):127-132. Epub 2007/11/01.
70. SALAHUDDIN P. Genetic variants of alpha1-antitrypsin. *Current protein & peptide science*. 2010;11(2):101-117. Epub 2009/09/16.
71. KOK KF, TE MORSCHE RH, VAN OIJEN MG, DRENTH JP. Prevalence of genetic polymorphisms in the promoter region of the alpha-1 antitrypsin (SERPINA1) gene in chronic liver disease: a case control study. *BMC gastroenterology*. 2010;10:22. Epub 2010/02/23.
72. LONG GL, CHANDRA T, WOO SL, DAVIE EW, KURACHI K. Complete sequence of the cDNA for human alpha 1-antitrypsin and the gene for the S variant. *Biochemistry*. 1984;23(21):4828-4837. Epub 1984/10/09.
73. IEZZONI JC, GAFFEY MJ, STACY EK, NORMANSELL DE. Hepatocytic globules in end-stage hepatic disease: relationship to alpha1-antitrypsin phenotype. *American journal of clinical pathology*. 1997;107(6):692-697. Epub 1997/06/01.
74. REID CL, WIENER GJ, COX DW, RICHTER JE, GEISINGER KR. Diffuse hepatocellular dysplasia and carcinoma associated with the Mmalton variant of alpha 1-antitrypsin. *Gastroenterology*. 1987;93(1):181-187. Epub 1987/07/01.
75. COX DW, BILLINGSLEY GD. Rare deficiency types of alpha 1-antitrypsin: electrophoretic variation and DNA haplotypes. *American journal of human genetics*. 1989;44(6):844-854. Epub 1989/06/01.
76. BARTLETT JR, FRIEDMAN KJ, LING SC, et al. Genetic modifiers of liver disease in cystic fibrosis. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2009;302(10):1076-1083. Epub 2009/09/10.

77. REGEV A, GUAQUETA C, MOLINA EG, et al. Does the heterozygous state of alpha-1 antitrypsin deficiency have a role in chronic liver diseases? Interim results of a large case-control study. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2006;43 Suppl 1:S30-35. Epub 2006/07/05.
78. CAMPBELL KM, ARYA G, RYCKMAN FC, et al. High prevalence of alpha-1-antitrypsin heterozygosity in children with chronic liver disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2007;44(1):99-103. Epub 2007/01/06.
79. LYKAVIERIS P, DUCOT B, LACHAUX A, et al. Liver disease associated with ZZ alpha1-antitrypsin deficiency and ursodeoxycholic acid therapy in children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2008;47(5):623-629. Epub 2008/10/29.
80. ESQUIVEL CO, IWATSUKI S, GORDON RD, et al. Indications for pediatric liver transplantation. *The Journal of pediatrics*. 1987;111(6 Pt 2):1039-1045. Epub 1987/12/01.
81. ADRIAN-CASAVILLA F, REYES J, TZAKIS A, et al. Liver transplantation for neonatal hepatitis as compared to the other two leading indications for liver transplantation in children. *Journal of hepatology*. 1994;21(6):1035-1039. Epub 1994/12/01.
82. TANNURI AC, GIBELLI NE, RICARDI LR, et al. Living related donor liver transplantation in children. *Transplantation proceedings*. 2011;43(1):161-164. Epub 2011/02/22.
83. PRACHALIAS AA, KALIFE M, FRANCAVILLA R, et al. Liver transplantation for alpha-1-antitrypsin deficiency in children. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2000;13(3):207-210. Epub 2000/08/10.
84. KEMMER N, KAISER T, ZACHARIAS V, NEFF GW. Alpha-1-antitrypsin deficiency: outcomes after liver transplantation. *Transplantation proceedings*. 2008;40(5):1492-1494. Epub 2008/07/01.
85. KOPITO RR, RON D. Conformational disease. *Nature cell biology*. 2000;2(11):E207-209. Epub 2000/11/01.
86. ZHOU A, STEIN PE, HUNTINGTON JA, SIVASOTHY P, LOMAS DA, CARRELL RW. How small peptides block and reverse serpin polymerisation. *Journal of molecular biology*. 2004;342(3):931-941. Epub 2004/09/03.
87. PERLMUTTER DH. Liver injury in alpha1-antitrypsin deficiency: an aggregated protein induces mitochondrial injury. *The Journal of clinical investigation*. 2002;110(11):1579-1583. Epub 2002/12/05.
88. BURROWS JA, WILLIS LK, PERLMUTTER DH. Chemical chaperones mediate increased secretion of mutant alpha 1-antitrypsin (alpha 1-AT) Z: A potential

pharmacological strategy for prevention of liver injury and emphysema in alpha 1-AT deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000;97(4):1796-1801. Epub 2000/03/04.

89. TECKMAN JH. Lack of effect of oral 4-phenylbutyrate on serum alpha-1-antitrypsin in patients with alpha-1-antitrypsin deficiency: a preliminary study. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2004;39(1):34-37. Epub 2004/06/10.

90. CRUZ PE, MUELLER C, COSSETTE TL, et al. In vivo post-transcriptional gene silencing of alpha-1 antitrypsin by adeno-associated virus vectors expressing siRNA. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2007;87(9):893-902. Epub 2007/06/27.

91. HIDVEGI T, EWING M, HALE P, et al. An autophagy-enhancing drug promotes degradation of mutant alpha1-antitrypsin Z and reduces hepatic fibrosis. *Science (New York, NY)*. 2010;329(5988):229-232. Epub 2010/06/05.

92. SONG S, MORGAN M, ELLIS T, et al. Sustained secretion of human alpha-1-antitrypsin from murine muscle transduced with adeno-associated virus vectors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(24):14384-14388. Epub 1998/11/25.

93. LI H, LU Y, WITEK RP, et al. Ex vivo transduction and transplantation of bone marrow cells for liver gene delivery of alpha1-antitrypsin. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*. 2010;18(8):1553-1558. Epub 2010/06/17.

94. SVEGER T, ERIKSSON S. The liver in adolescents with alpha 1-antitrypsin deficiency. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 1995;22(2):514-517. Epub 1995/08/01.

95. BOWLUS CL, WILLNER I, ZERN MA, et al. Factors associated with advanced liver disease in adults with alpha1-antitrypsin deficiency. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2005;3(4):390-396. Epub 2005/04/12.

96. ERIKSSON S. Alpha 1-antitrypsin deficiency and liver cirrhosis in adults. An analysis of 35 Swedish autopsied cases. *Acta medica Scandinavica*. 1987;221(5):461-467. Epub 1987/01/01.

97. PROPST T, PROPST A, DIETZE O, JUDMAIER G, BRAUNSTEINER H, VOGEL W. High prevalence of viral infection in adults with homozygous and heterozygous alpha 1-antitrypsin deficiency and chronic liver disease. *Annals of internal medicine*. 1992;117(8):641-645. Epub 1992/10/15.

98. EIGENBRODT ML, MCCASHLAND TM, DY RM, CLARK J, GALATI J. Heterozygous alpha 1-antitrypsin phenotypes in patients with end stage liver disease. *The American journal of gastroenterology*. 1997;92(4):602-607. Epub 1997/04/01.
99. SERFATY L, CHAZOILLERES O, POUJOL-ROBERT A, et al. Risk factors for cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection: results of a case-control study. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 1997;26(3):776-779. Epub 1997/09/26.
100. GRAZIADEI IW, JOSEPH JJ, WIESNER RH, THERNEAU TM, BATTIS KP, PORAYKO MK. Increased risk of chronic liver failure in adults with heterozygous alpha1-antitrypsin deficiency. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 1998;28(4):1058-1063. Epub 1998/10/02.
101. SCOTT BB, EGNER W. Does alpha1-antitrypsin phenotype PiMZ increase the risk of fibrosis in liver disease due to hepatitis C virus infection? *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2006;18(5):521-523. Epub 2006/04/12.
102. TECKMAN JH, QU D, PERLMUTTER DH. Molecular pathogenesis of liver disease in alpha1-antitrypsin deficiency. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 1996;24(6):1504-1516. Epub 1996/12/01.
103. MENCIN A, SEKI E, OSAWA Y, et al. Alpha-1 antitrypsin Z protein (PiZ) increases hepatic fibrosis in a murine model of cholestasis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2007;46(5):1443-1452. Epub 2007/08/03.
104. FRANCAVILLA R, CASTELLANETA SP, HADZIC N, et al. Prognosis of alpha-1-antitrypsin deficiency-related liver disease in the era of paediatric liver transplantation. *Journal of hepatology*. 2000;32(6):986-992. Epub 2000/07/18.
105. ZHOU H, FISCHER HP. Liver carcinoma in PiZ alpha-1-antitrypsin deficiency. *The American journal of surgical pathology*. 1998;22(6):742-748. Epub 1998/06/18.
106. ZHOU H, ORTIZ-PALLARDO ME, KO Y, FISCHER HP. Is heterozygous alpha-1-antitrypsin deficiency type PIZ a risk factor for primary liver carcinoma? *Cancer*. 2000;88(12):2668-2676. Epub 2000/06/28.

## Apêndices

Tabela I - Causas de colestase neonatal.

<b>Grupo</b>	<b>Patologia</b>
Obstrução extra-hepática	Atrésia biliar extra-hepática Cisto do colédoco Bile espessa/Rolhão mucoso Coledocolitíase ou lama biliar Tumores ou massas Colangite esclerosante neonatal Perfuração espontânea do ducto biliar
Infeções	Vírus (vírus da imunodeficiência humana, citomegalovírus, herpes, rubéola, parvovirus B19, adenovírus) Bactérias (infecção do trato urinário, sépsis, sífilis) Parasitas (toxoplasma)
Doenças Metabólicas e Genéticas	Síndrome de Alagille Colestase intra-hepática familiar progressiva Fibrose hepática congênita/Doença de Caroli Galactosemia Frutosemia Glicogenose tipo IV Tirosinemia Doença de Wolman Doença de Niemann-Pick Doença de Gaucher Deficiência de 3-beta-hidroxiesteroide desidrogenase/isomerase Síndrome de Zellweger Deficiência de alfa-1-antitripsina Hemocromatose neonatal Fibrose cística Hipopituitarismo Hipotireoidismo
Tóxicos	Colestase associada à nutrição parentérica Fármacos
Outras	Hepatite neonatal idiopática Choque

Tabela II - Terapêuticas farmacológicas experimentais da doença hepática na Deficiência de alfa-1-antitripsina (elaborado com base nas referências 34 e 85-91)

<b>Mecanismo</b>	<b>Observações</b>
Prevenção da polimerização	Chaperonas químicas são uma alternativa atrativa, promovendo o atraso da polimerização <i>in vitro</i> . Assim, é possível bloquear seletivamente a polimerização da AAT mutante, contudo ainda não foi transferido com sucesso para a prática clínica.
Diminuição da lesão hepática	A ciclosporina A mostrou redução da lesão mitocondrial hepática, mesmo na presença de AAT mutada.
Aumento da secreção de alfa-1-antitripsina	Derivados do ácido butírico aumentam a secreção de AAT funcionalmente ativa em culturas celulares e em ratinhos, sem afetar a sua síntese ou degradação. Todavia, um estudo em humanos colocou por terra a eficácia do ácido fenilbutírico, ao evidenciar ausência de subida da AAT sérica.
Aumento da degradação intracelular	Estudos recentes de terapia gênica utilizando pequenos fragmentos de RNA de interferência (siRNA) mostraram capacidade para reduzir a AAT variante Z através de ribozimas anti-AAT, resultando na secreção e acumulação intracelular diminuída de AAT mutada. Até à data, não foram extrapolados para a prática clínica.
Outros	Outras moléculas que promovam a atividade proteossômica, a ERAD ou a autofagia (e.g. carbamazepina) têm sido desenvolvidas, mas ainda se encontram em fase experimental.

## **Anexo**

Anexo I – Normas da revista “Acta Médica Portuguesa”, datadas de 25 de outubro de 2011.

# NORMAS DE PUBLICAÇÃO ACTA MÉDICA PORTUGUESA

## 1. INTRODUÇÃO

Os artigos propostos não podem ter sido objecto de qualquer outro tipo de publicação. As opiniões expressas são da inteira responsabilidade dos autores. Os artigos publicados ficarão propriedade conjunta da AMP e dos autores.

A AMP reserva-se o direito de comercialização do artigo enquanto parte integrante da revista (na elaboração de separatas, por exemplo). O autor deverá enviar com a carta de submissão a declaração de cedência de direitos de autor para fins comerciais.

Relativamente à utilização por terceiros a AMP rege-se pelos termos da licença Creative commons ‘Atribuição – Uso Não-Comercial – Proibição de Realização de Obras Derivadas (by-nc-nd)’.

## 2. PROCESSO EDITORIAL

A Acta Médica Portuguesa segue um rigoroso processo de revisão por pares (externos à revista). Os manuscritos recebidos serão enviados a peritos das diversas áreas, os quais deverão fazer os seus comentários, incluindo a sugestão de aceitação, aceitação condicionada a modificações ou rejeição.

Estipula-se para esse processo o seguinte plano temporal:

- Após a recepção do artigo, o Editor-Chefe, ou um dos Editores Associados, enviará o manuscrito a, no mínimo, dois revisores.
- No prazo de um mês, o revisor deverá responder ao editor indicando os seus comentários relativos ao manuscrito sujeito a revisão, e a sua sugestão de quanto à aceitação ou rejeição do trabalho.
- O Conselho Editorial tomará, num prazo de 15 dias, uma primeira decisão que poderá incluir a aceitação do artigo sem modificações, o envio dos comentários do(s) revisor(es) para que os Autores procedam de acordo com o indicado, ou a rejeição do artigo.
- Os Autores dispõem de um mês para submeter a nova versão revista do manuscrito, contemplando as modificações recomendadas pelos peritos e pelo Conselho Editorial.
- O Editor-Chefe ou um dos Editores Associados, dispõe de 15 dias para tomar a decisão de rejeitar o artigo na sua nova versão, aceitar o artigo na nova versão, ou submeter essa nova versão a um ou mais revisores externos, que poderão, ou não, coincidir com os que já fizeram a primeira revisão.
- Caso o manuscrito seja reenviado para revisão externa, os peritos dispõem de um mês para o envio dos seus comentários e da sua sugestão quanto à aceitação ou recusa para publicação do manuscrito.

Atendendo às sugestões dos revisores, o Editor Chefe poderá aceitar o artigo nesta nova versão, rejeitá-lo ou voltar a solicitar modificações. Neste último caso, os Autores dispõem de um mês para submeter uma versão revista, a qual poderá, caso o Editor Chefe assim o determine, voltar a passar por um processo de revisão por peritos externos.

No caso da aceitação, em qualquer das fases anteriores, a mesma será comunicada ao Autor principal. Num prazo inferior a um mês, o Conselho Editorial enviará o artigo para revisão dos Autores já com a formatação final, mas sem a numeração definitiva. Os Autores dispõem de 5 dias para a revisão do texto e comunicação de quaisquer erros tipográficos. Nesta fase, os Autores não podem fazer qualquer modificação de fundo ao artigo, fora das correcções de erros. Não são permitidas, nomeadamente, alterações a dados de tabelas ou gráficos, alterações de texto, etc.

Após a resposta dos Autores, ou na ausência de resposta, após o decurso dos 5 dias, o artigo considera-se concluído, e será disponibilizado como [ahead of print] no site da Acta Médica Portuguesa.

Quando recepcionarem a comunicação de aceitação, têm os autores que remeter de imediato, por correio o formulário de cedência de direitos que se encontra no site da AMP, devidamente preenchido e assinado por todos os autores.

Na fase de revisão de provas tipográficas, alterações de fundo aos artigos não serão aceites e poderão implicar a sua rejeição posterior por decisão do Editor.



### 3. FICHEIROS A SUBMETER

A submissão de qualquer tipo de artigos à AMP deve ser feita exclusivamente por correio electrónico, seguindo com atenção as normas indicadas de seguida.

Deverão ser enviados num único correio electrónico apenas os seguintes ficheiros, utilizando estas designações no nome do ficheiro:

- Submissao
- Texto\_principal
- Figura (tantos ficheiros quantas as figuras)

No e-mail deverão os autores indicar caso não desejem ser incluídos na base de dados de revisores da AMP para futuros contactos.

#### **NORMAS GERAIS**

##### **a) Submissão**

O ficheiro «Submissao» tem que ser remetido através do preenchimento do formulário que se encontra disponível no site e que inclui o seguinte conteúdo:

- **Folha de título**
- **Lista de autores**
- **Check List**

##### **- Folha de título**

A Folha de Título deve indicar o tipo de artigo e a razão da submissão (a mais-valia resultante da respectiva publicação). O envio da folha de título implica a Declaração de Responsabilidade que certifica que o artigo não foi submetido a outra entidade e que todos os autores contribuíram de forma significativa para a sua elaboração. A Folha de Título confirma de forma inequívoca que todos os autores têm conhecimento da presente submissão e com ela concordam.

A Folha de Título contém o título do artigo, o tipo de artigo (ver os tipos de artigo permitidos pela AMP e respectivas normas), identificação do autor que ficará responsável pelo contacto com a revista e prestação de informações aos co-autores; deverá igualmente indicar e referir o número de palavras do artigo, o número de palavras do resumo, o número de referências, de tabelas e de figuras. Estas informações, incluindo a autoria, não podem ser referidas em mais nenhum local do artigo.

**Título:** o título do artigo (independentemente da sua tipologia) deve ser conciso e não deverá exceder os 120 caracteres. Não se aconselha a utilização de subtítulos. Deverá ser claramente identificativo do conteúdo do texto e não deverão utilizar-se títulos alegóricos ou metafóricos.

**Agradecimentos:** os agradecimentos deverão ser colocados apenas na folha de título. Caso a pesquisa tenha usufruído de patrocínios externos, este facto deverá ser referido nos agradecimentos. Caso tenha sido recebido financiamento público, deverá indicar-se a referência completa do projecto financiado.

**Conflito de interesses:** os autores deverão comunicar na folha de título a existência ou inexistência de laços financeiros/conflitos de interesse com a instituição que patrocinou a pesquisa. Caso não existam quaisquer conflitos, deverão incluir a seguinte afirmação: Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse.

##### **-Lista de autores**

Inclui o nome e filiação profissional de todos os autores. A normalização dos nomes é essencial para a indexação nas bases de dados, especialmente nas estrangeiras.

Os autores deverão identificar-se sempre: com um nome (apenas um e apresentado em minúsculas), um segundo nome (opcional, mas apenas um e que deverá igualmente ser apresentado em minúsculas) e um apelido (que deverá ser escrito em maiúsculas).

Exemplo: João A. COSTA ou João António COSTA

Se o autor quiser utilizar dois apelidos (não se aceitarão mais do que dois apelidos), deverá colocar os dois em maiúsculas.

Exemplo: João A. COSTA SILVA ou João António COSTA SILVA

O uso de partículas no apelido (de, da, e) não é aconselhado. No entanto, se algum autor desejar utilizá-las, deverá considerá-las como parte do apelido e escrevê-las em maiúsculas.

Exemplo 1: João A. COSTA DA SILVA

Exemplo 2: João DA COSTA

**- Check List**

Deve preencher sempre a check list e submeter o artigo apenas quando cumpra todos os requisitos constantes da mesma.

**b) Texto principal**

Num ficheiro, chamado 'texto\_principal', que começa com o título do artigo (o mesmo título em português e em inglês), deverá ser enviado o resumo em português (máximo: 350 palavras), e a sua versão em inglês (tem que corresponder a uma tradução fidedigna do resumo em português), e o texto do artigo, sem figuras (que são enviadas à parte) mas incluindo, no final, as tabelas. A AMP não usa palavras-chave.

**Referências bibliográficas:** de acordo com as Normas para uniformização dos Manuscritos submetidos a Revistas Biomédicas do ICMJE, e seguindo o estilo da U.S. National Library of Medicine. As referências deverão numerar-se pela ordem de aparecimento no texto, e devem ser colocadas no fim do ficheiro texto\_principal pela mesma ordem da numeração. Não deverão ser incluídos na lista de referências quaisquer artigos ainda em preparação ou observações não publicadas, comunicações pessoais, etc., tais inclusões só são permitidas no corpo do artigo (ex: P. Andrade, comunicação pessoal).

**Legendas das figuras:** Após as referências bibliográficas, ainda no ficheiro «texto\_principal», envie uma legenda detalhada (sem abreviaturas) para cada figura, referencie a figura no texto e indique a sua localização aproximada no corpo do texto com o comentário "Inserir Figura nº 1... aqui".

**Tabelas:** É obrigatório o envio das tabelas a preto e branco no final do ficheiro «Texto\_principal». As tabelas devem ser elaboradas e submetidas em documento word, em formato de tabela simples (simple grid), sem utilização de tabuladores, nem modificações tipográficas. Todas as tabelas devem ser mencionadas no texto do artigo e devem ser numeradas pela ordem que surgem no texto. Indique a sua localização aproximada no corpo do texto com o comentário "Inserir Tabela nº 1... aqui". Neste caso os autores autorizam uma reorganização das tabelas caso seja necessário.

**Abreviaturas:** não é permitido o uso de abreviaturas idealizadas pelos autores, limitando-se o seu uso às abreviaturas comumente aceites na literatura biomédica (SIDA, OMS, etc.) As abreviaturas utilizadas devem ser objecto de especificação anterior.

**Símbolos e unidades de medida:** deverão utilizar-se as unidades incluídas no Sistema Internacional de Unidades (S.I. Units, the SI for Health Professions, WHO, 1977). Os números de um a dez devem ser escritos por extenso, excepto quando têm decimais ou se usam para unidades de medida. Números superiores a dez são escritas em algarismo, salvo no início de uma frase.

**c) Figuras**

Os ficheiros «figura» podem ser tantos quantas imagens tiver o artigo. Cada um destes elementos deverá ser submetido em ficheiro separado, obrigatoriamente em versão electrónica, pronto para publicação. As figuras (fotografias, desenhos e gráficos) não são aceites em ficheiros word.

As legendas têm que ser colocadas no ficheiro «texto\_principal».

Caso a figura esteja sujeita a direitos de autor, é responsabilidade dos autores do artigo adquirir esses direitos antes do envio do ficheiro à AMP.

Só são aceites imagens de doentes quando necessárias para a compreensão do artigo. Se for usada uma figura em que o doente seja identificável deve ser obtida e remetida à AMP a devida autorização.

- **Fotografias**

Devem ter uma das seguintes extensões: tiff, jpeg, psd. O tamanho dos ficheiros terá de ser no mínimo de 300 dpi's ao tamanho real da publicação (mínimo 80mm de largura – correspondente ao espaço de uma coluna).

- **Desenhos e gráficos**

Os desenhos e gráficos devem ser enviados com uma resolução mínima de 600 dpi. Estas figuras deverão ser enviadas preferencialmente numa das seguintes extensões: AI (adobe illustrator), EPS, CDR (Corel Draw). As fontes devem ser transformadas em curvas ou enviadas à parte.

Permite-se o envio de desenhos e gráficos com extensão fotográfica (tiff, jpeg, psd). Neste tipo de ficheiro o tamanho terá de ser no mínimo 300 dpi ao tamanho real da publicação (largura mínima: 80 mm, correspondente a uma coluna), ou em PDF (de alta qualidade com as fontes embebidas ou convertidas em curvas).

Os gráficos poderão ser enviados em ficheiros Excel (no tamanho mínimo 9).

#### 4. TIPOS DE ARTIGO E REQUISITOS

##### **Editorial**

Artigo elaborado pelo Conselho Editorial da revista ou a convite do mesmo, sobre tema específico; Deve conter 1200 – 1500 palavras e um máximo de 15 - 20 referências bibliográficas e só pode conter 1 tabela ou 1 figura. Um Autor que pretenda submeter para publicação um editorial não solicitado deve entrar em contacto previamente com o Editor-Chefe.

##### **Perspectiva**

Artigos elaborados a convite do Conselho Editorial que podem cobrir grande diversidade de temas com interesse nos cuidados de saúde, problemas actuais ou emergentes, gestão e política de saúde, história da medicina, ligação à sociedade, etc. Um Autor que deseje propor um artigo desta categoria deverá remeter previamente ao Editor-Chefe o respectivo resumo, indicação dos autores e título do artigo para análise.

Deve conter no máximo 1200 palavras e um máximo de 10 referências bibliográficas e só pode conter 1 tabela ou 1 figura.

##### **Revisão**

Os artigos de revisão são elaborados a convite do Conselho Editorial. Um Autor que deseje propor a publicação de uma revisão não solicitada deverá remeter previamente à AMP o respectivo resumo, indicação dos autores e título para análise.

Os artigos de revisão seguem os mesmos processos editoriais e de peer-review que os artigos originais.

Uma revisão não pode exceder as 3500 palavras e não tem limite do número de referências, com um máximo de 5 tabelas ou figuras (total).

##### **Original**

Artigos originais não podem exceder as 4000 palavras, excluindo o resumo, um total máximo de 6 figuras ou tabelas, e até 60 referências.

Deve ser sempre subdividido em 5 secções:

##### **Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, e Conclusão.**

A **introdução** deve conter uma revisão do estado da arte que ajude a compreensão do estudo. No final da introdução, deverão ser declarados com clareza os objectivos do estudo.

**Métodos:** devem ser descritos de modo a que o leitor entenda como foi realizada a pesquisa. Em pesquisas com seres humanos, é necessário informar a existência de consentimento informado, e da submissão à Comissão de Ética para a investigação ou à Comissão de investigação da Instituição dos Autores.

**Resultados:** devem ser apresentados de maneira coerente e estar ligados aos objectivos e métodos anteriormente descritos.

**Discussão:** deve reiterar os principais resultados do trabalho, comentar aspectos negativos do mesmo, discutir e comparar a importância e implicações dos resultados e referir as limitações ao estudo encontradas pelos autores.

**Conclusão:** o autor deve abster-se de deduções ou inferências não baseadas nos resultados de seu estudo.

##### **Caso Clínico**

Breves relatórios que apresentam uma avaliação crítica de determinado percurso clínico nos quais se pretende realçar alguns elementos específicos como associações clínicas, relatórios de reacções adversas ou outras associações relevantes.

Os casos clínicos não podem ter mais de 3 autores. O texto não pode exceder as 750 palavras, ter um máximo de 1 tabela ou 1 figura e até 5 referências.

##### **Imagens em medicina**

Imagens de condições médicas. Estes artigos pretendem capturar a noção de potencial diagnóstico visual e de diversidade que os médicos experienciam na sua prática clínica.

Só são aceites fotografias originais, de alta qualidade, sem prévia publicação. Devem ser enviados dois ficheiros: um com a qualidade exigida para a publicação de imagens e outra que serve apenas para referência em que o topo da fotografia deve vir indicado com uma seta.

Deve incluir um título com um máximo de 8 palavras e um texto com um máximo de 150 palavras onde se dê informação clínica relevante, incluindo um breve resumo do historial do doente, dados laboratoriais relevantes, terapêutica, e condição actual. Não pode ter mais do que 3 autores e 5 referências.

Para informação sobre o envio de imagens digitais consultar as «Normas técnicas para a submissão de figuras, quadros ou fotografias»

### **Guidelines / Normas de Orientação**

As sociedades médicas ou os colégios das especialidades que desejem publicar na AMP recomendações de prática clínica, deverão contactar previamente o Conselho Editorial e submeter o texto completo e a versão para ser publicada. O Editor-Chefe poderá colocar como exigência a publicação exclusiva das recomendações na AMP.

Poderá ser acordada a publicação de uma versão resumida na edição impressa cumulativamente a à publicação da versão completa no site da AMP.

### **Cartas ao Editor**

Apresentação de comentários críticos sobre artigos publicados na AMP. Neste caso a carta só é aceite se enviada ao Editor em tempo de ser publicada numa das duas edições seguintes à da publicação do artigo e não pode exceder as 200 palavras.

Outros temas de investigação com interesse na área da medicina. Neste caso o texto não ultrapassará as 400 palavras.

Em qualquer dos casos, a contagem de palavras exclui o título, bibliografia, assinatura dos autores, tabela ou figura.

As cartas só poderão ter um máximo de 5 referências bibliográficas e uma tabela ou uma figura e só poderão ser assinadas por um máximo de 3 autores. Caso seja aplicável, as respostas dos autores devem ter as mesmas características.

### **Errata**

Após a publicação dos artigos (seja online, seja na versão impressa), apenas se efectuam alterações sob a forma de Errata, que incluirá indicação do URL do artigo.

Todos os tipos de artigo devem ser preparados de acordo com as normas internacionais do ICMJE. Artigos que não cumpram as normas editoriais serão recusados liminarmente pela redacção e não serão enviados para análise dos revisores.