

Beata Popławska<sup>1</sup>, Sabina Janciauskiene<sup>2</sup>, Joanna Chorostowska-Wynimko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Samodzielna Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Immunologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie  
Kierownik: prof. nadzw. dr hab. n. med. J. Chorostowska-Wynimko

<sup>2</sup>Klinika Chorób Płuc, Uniwersytet Medyczny w Hanowerze, Niemcy  
Kierownik: prof. dr T. Welte

## Genetyczne warianty alfa-1 antytrypsyny — klasyfikacja i znaczenie kliniczne

### Genetic variants of alpha-1 antitrypsin: classification and clinical implications

Praca powstała w ramach projektu N 404 081539 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

#### Abstract

Inherited alpha-1 antitrypsin deficiency is listed among the three most common genetic disorders in Caucasians. It considerably increases the risk of progressive obstructive lung diseases, mostly chronic obstructive pulmonary disease, as well as chronic liver disorders, hepatitis, cirrhosis, and cancer. It is estimated that more than 5.5% of the Polish population carries one of the most common deficiency phenotypes, which might be relatively easily detected due to low alpha-1 antitrypsin serum concentration. However, as well as being quantitative, alpha-1 antitrypsin deficiency might also be qualitative. These dysfunctional alpha-1 antitrypsin variants are characterized by scarce antiproteolytic activity and quite often by fully effective protein production resulting in normal serum levels. Consequently, dysfunctional variant identification is possible only by means of pheno- or genotyping. This review presents clinically useful characteristics of main genetic alpha-1 antitrypsin variants.

**Key words:** alpha-1 antitrypsin deficiency, genetic variants of alpha-1 antitrypsin, chronic obstructive pulmonary disease  
**Pneumonol. Alergol. Pol. 2013; 81, 1: 45–54**

#### Streszczenie

Wrodzony niedobór alfa-1 antytrypsyny, będący jedną z trzech najczęstszych chorób genetycznych rasy kaukaskiej, wiąże się z istotnie wyższym ryzykiem rozwoju postępujących chorób płuc, zwłaszcza przewlekłej obturacyjnej choroby płuc i chorób wątroby: zapalenia, marskości i raka. Szacuje się, że co najmniej 5,5% Polaków posiada jeden z głównych fenotypów niedoborowych, które ze względu na obniżone stężenie białka w surowicy mogą być łatwo rozpoznawalne. Jednak niedobór alfa-1 antytrypsyny może mieć też charakter jakościowy. Warianty dysfunkcyjne charakteryzuje znikoma aktywność antyproteolityczna alfa-1 antytrypsyny, zwykle przy zachowaniu prawidłowej produkcji tego białka, a więc i jego stężenia we krwi. Identyfikacja wariantów dysfunkcyjnych przy braku współistniejącego deficytu ilościowego jest możliwa tylko w wyniku poszerzenia rutynowego pomiaru stężenia alfa-1 antytrypsyny o analizę fenotypu lub genotypu. Niniejsza praca przedstawia przydatną z klinicznego punktu widzenia charakterystykę podstawowych grup wariantów białka alfa-1 antytrypsyny.

**Słowa kluczowe:** wrodzony niedobór alfa-1 antytrypsyny, genetyczne warianty alfa-1 antytrypsyny, przewlekła obturacyjna choroba płuc  
**Pneumonol. Alergol. Pol. 2013; 81, 1: 45–54**

**Adres do korespondencji:** prof. nadzw., dr hab. n. med. Joanna Chorostowska-Wynimko, Samodzielna Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Immunologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, ul. Płocka 26, 01–138 Warszawa, tel.: (22) 431 21 58, faks: (22) 431 23 58, e-mail: [immuno@igichp.edu.pl](mailto:immuno@igichp.edu.pl)

Praca wpłynęła do Redakcji: 25.04.2012  
Copyright © 2013 Via Medica  
ISSN 0867–7077

## Wstęp

Wrodzony niedobór alfa-1 antytrypsyny (A1AT, *alpha-1 antitrypsin*) jest zaliczany, obok mukowiscydozy i zespołu Downa, do trzech najczęstszych zaburzeń genetycznych występujących w populacji rasy kaukaskiej. Przybliżone dane szacunkowe wskazują, że około 5,5% Polaków jest nosicielami jednego z pięciu głównych fenotypów deficytowych A1AT (MS, MZ, SZ, SS i ZZ) [1]. Dobrze udokumentowanym faktem jest natomiast istotnie wyższe ryzyko rozwoju poważnych patologii płuc i/lub wątroby u osób z niedoborem tego białka.

Od 2009 roku Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie prowadzi program umożliwiający szeroki, bezpłatny dostęp do pełnej diagnostyki laboratoryjnej wrodzonego niedoboru A1AT, który obejmuje ocenę stężenia białka w surowicy, a także analizę fenotypu i/lub genotypu. Nadal jednak wykrywalność deficytu A1AT jest w Polsce niesatysfakcjonująca.

Głównym celem niniejszej pracy jest przedstawienie głównych prawidłowych i deficytowych wariantów białka alfa-1 antytrypsyny kluczowych dla rozwoju płucnych i hepatologicznych następstw niedoboru. Omówione zostaną również warianty mniej znane, rzadsze, aczkolwiek istotne z klinicznego punktu widzenia ze względu na swój udział w patomechanizmie chorób układu oddechowego, a zwłaszcza trudności diagnostyczne związane z pozornie prawidłowymi wynikami oceny ich stężenia we krwi.

## Znaczenie biologiczne alfa-1 antytrypsyny

Alfa-1 antytrypsyna jest przedstawicielem rodziny inhibitorów proteaz serynowych tak zwanych SERPIN (*serine protease inhibitors*). Białko jest produkowane i wydzielane do krwiobiegu przede wszystkim przez komórki wątroby (70–80% całkowitej puli A1AT w organizmie). Pozostała część jest syntetyzowana w układzie oddechowym przez monocyty, makrofagi i komórki nabłonka pęcherzyków płucnych. Poza krwią A1AT jest mierzalna również w innych płynach biologicznych — w ślinie, łzach, mleku matki, nasieniu, moczu i żółci. Alfa-1 antytrypsyna jest jednym z białek ostrej fazy, stąd jej stężenie w surowicy podlega istotnym wahaniom i w przebiegu odpowiedzi zapalnej może szybko narastać, nawet 3–11 razy [2].

Alfa-1 antytrypsynę cechuje szeroki wachlarz aktywności fizjologicznej. Właściwości antyproteazowe A1AT wobec enzymów proteolitycznych uwalnianych przez granulocyty obojętnochłonne,

czyli elastazy neutrofilowej, proteinazy-3, mielo-peroksydazy czy katepsyny G są powszechnie znane. Wyniki ostatnich badań wykazały również, że A1AT reguluje aktywność wielu innych enzymów proteolitycznych istotnych dla zachowania homeostazy ustroju, przede wszystkim równowagi proteazo-antyproteazowej, proteaz serynowych (trypsyny, kalikreiny 7 i 14, urokinazy, granzymu B, tryptazy, chymazy, matryptazy) a także proteaz cysteinowych (kaspazy-1 i -3, kalpainy I) i metaloproteazy ADAM-17 (TACE, *tumor necrosis factor- $\alpha$ -converting enzyme*) [2–4]. Dzięki temu A1AT stanowi ważny element osłony antyproteolitycznej w płucach, zabezpieczającej tkankę łączną tego narządu przed niekontrolowanym, destrukcyjnym wpływem enzymów elastolitycznych. Niskie stężenie A1AT w układzie oddechowym prowadzi do stopniowego i nieodwracalnego zmniejszania podatności płuc. Na skutek nadmiernej aktywności, zwłaszcza elastazy neutrofilowej, dochodzi do degradacji elastyny, głównego składnika włókien sprężystych, oraz innych składników macierzy zewnątrzkomórkowej w dolnych drogach oddechowych. Dodatkowo, dym tytoniowy zawiera zarówno różnorodne substancje drażniące, stymulujące napływ neutrofilów i makrofagów do płuc, jak i nasila stres oksydacyjny w układzie oddechowym, który z kolei osłabia aktywność natywnej A1AT.

Wiele wskazuje też na udział A1AT w regulacji odpowiedzi zapalnej i immunologicznej układu oddechowego. Wydaje się, że prawidłowa aktywność i struktura tego białka ma istotne znaczenie dla regulacji, spowalniania odpowiedzi zapalnej poprzez hamowanie wydzielania cytokin i mediatorów prozapalnych, enzymów proteolitycznych, jak również normalizacji błonowego transportu jonowego [3].

Warto podkreślić, że wysokie ryzyko rozwoju chorób wątroby u osób z deficytem A1AT, przedłużającej się żółtaczką cholestatyczną noworodków, przewlekłego zapalenia wątroby, marskości wątroby czy też raka wątroby, wynika nie tyle z obniżonej aktywności enzymatycznej tego białka, co z akumulacji nieprawidłowych cząsteczek białka A1AT w hepatocytach [5].

## Budowa alfa-1 antytrypsyny

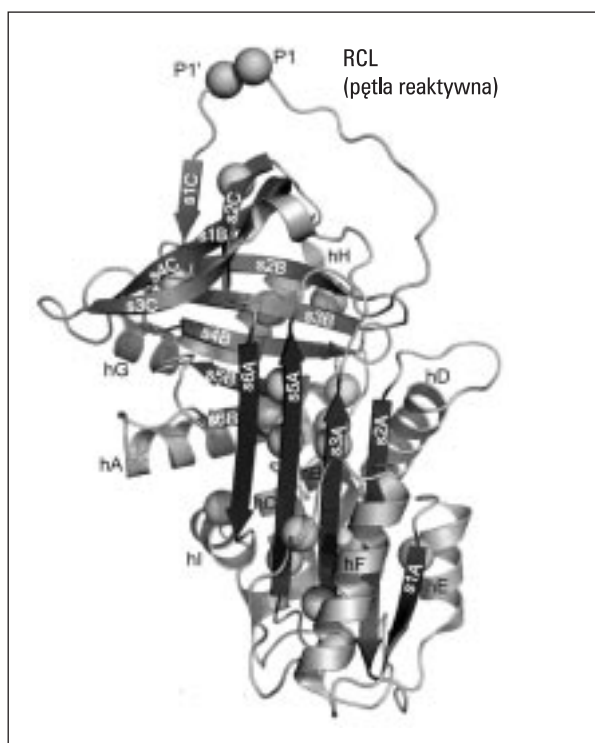
Alfa-1 antytrypsyna jest białkiem kodowanym przez gen *SERPINA1* zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 14 w pozycji q13-q13.2. Ludzki gen A1AT zajmuje obszar około 10,2 kb, składa się z 7 intronów i 6 eksonów. Informacje dotyczące struktury białka są zawarte w eksonach II–V, podczas gdy eksony I<sub>A</sub>–I<sub>C</sub> kodują mRNA nieulega-

jące translacji. Końcowym produktem ekspresji genu alfa-1 antytrypsyny jest glikoproteina o masie molekularnej 52 kDa składająca się z pojedynczego 394-aminokwasowego łańcucha polipeptydowego oraz trzech bocznych łańcuchów węglowodanowych przyłączonych do reszt asparaginy (Asn46, Asn83, Asn247). Dla uzyskania przez cząstkę A1AT unikalnej konformacji przestrzennej warunkującej jej pełną aktywność biologiczną kluczowe znaczenie mają modyfikacje potranslacyjne, którym podlega produkt biosyntezy białka. Ich ostatecznym efektem jest złożona struktura trzeciorzędowa natywnej alfa-1 antytrypsyny przedstawiona na rycinie 1 [6].

Cząsteczka A1AT zbudowana jest z:

- 1) ruchomej pętli reaktywnej (RCL, *reactive centre loop*) wyekspozowanej na zewnątrz cząsteczki. Zawiera ona miejsce aktywne Met358-Ser359 (tzw. sekwencję P1-P1') rozpoznawane i przecinane przez docelową proteazę,
- 2) 3  $\beta$ -harmonijek zbudowanych z 4 lub 5 łańcuchów oznaczanych s(4-5)(A-C),
- 3) 9  $\alpha$ -helis oznaczanych h(A-I).

Analogicznie do innych białek z rodziny serpin, cząsteczka A1AT posiada dwa ruchome elementy strukturalne, pętlę reaktywną i  $\beta$ -harmonijkę A, które są krytyczne dla jej aktywności inhibicyjnej.



**Rycina 1.** Budowa cząsteczki natywnej alfa-1 antytrypsyny. Zmodyfikowano z [6]

**Figure 1.** The structure of native alpha-1 antitrypsin. Modified with [6]

Tak więc mutacje zachodzące w tych regionach cząsteczki powodują nieprawidłowe sfałdowanie białka i skutkują zmianami w budowie, biosyntezie i/lub funkcjonalności A1AT. Co więcej, w zależności od charakteru zmian w strukturze białka, A1AT może podlegać wewnątrzkomórkowej degradacji jeszcze w hepatocytach lub też tworzyć polimery podlegające akumulacji w komórkach wątroby [7–11].

Następstwa kliniczne poszczególnych mutacji są więc ściśle związane z charakterem zmian, jakie zachodzą w budowie i aktywności białka A1AT.

### Genetyczne warianty alfa-1 antytrypsyny

Niedobór alfa-1 antytrypsyny, niezależnie od charakteru zmian w budowie białka, jest bezpośrednim następstwem mutacji w obrębie genu *SERPINA1* (wcześniej określanym jako *PI*), który cechuje się wysokim polimorfizmem. Dotychczas opisano i sklasyfikowano w układzie PI (*protease inhibitor*) ponad 130 wariantów genu A1AT. Ich podstawowym wyróżnikiem jest odmienna ruchliwość elektroforetyczna produktu białkowego, odzwierciedlająca zmiany w budowie białka, pośrednio korespondująca z jego stężeniem w surowicy i/lub aktywnością biologiczną. Zgodnie z przyjętą systematyką poszczególnym odmianom genetycznym A1AT nadawane są nazwy pochodzące od kolejnych liter alfabetu, niekiedy uzupełnionych o nazwę miejsca narodzin najstarszego poznanego nosiciela danej mutacji np. Mmalton, Lfrankfurt czy Plowell. Podstawą klasyfikacji w systemie PI jest dystans migracji cząsteczek A1AT w żelu poliakrylamidowym w gradiencie pH podczas rozdzielania białek metodą ogniskowania izoelektrycznego (IEF, *isoelectrofocusing*). Początkowymi literami alfabetu nazwano warianty A1AT o dużej ruchliwości elektroforetycznej, zaś końcowymi — odmiany wolniej migrujące w żelu [8]. Większość wariantów A1AT jest spotykana rzadko, jedynie cztery allele prawidłowe M1-M4 oraz dwa warianty deficytowe PI\*Z i PI\*S są istotnie częściej obecne w populacji europejskiej. Badania epidemiologiczne przeprowadzone w populacji polskiej mają charakter niepełny i tylko w przybliżonym stopniu pozwalają określić częstość występowania głównych alleli niedoborowych w naszym kraju. Najbardziej miarodajną wydaje się łączna analiza wyników kilku badań przeprowadzonych na terenie Polski w latach 1992–2007 wykonana przez Kaczora i wsp., która objęła grupę 2653 osób. Wedle tych danych szacowana częstość występowania allelu S i Z wśród Polaków to odpowiednio 14,5 na 1000 oraz 10,9 na 1000 urodzeń, a częstość występowania feno-

typu PI\*ZZ 1 na 9110 [1]. Wstępne wyniki badań własnych prowadzonych w populacji noworodków warszawskich wydają się jednak sugerować, iż przytoczone dane mogą być istotnie zaniżone. Częstość występowania głównych alleli niedoborowych w przebadanej przez autorów niniejszej pracy grupie 532 dzieci wyniosła dla PI\*S 9,4 na 1000, dla PI\*Z 16 na 1000 urodzeń, a oczekiwana częstość występowania genotypu ZZ warunkującego ciężki niedobór alfa-1 antytrypsyny 1 na 3917 [9].

Ze względów praktycznych stworzono również znacznie bardziej użyteczny w praktyce klinicznej podział genetycznych wariantów A1AT na cztery klasy w zależności od charakteru zmian w zakresie stężenia i aktywności tego białka w surowicy, wyróżniając warianty prawidłowe, deficytowe, dysfunkcyjne i allele typu *null* [7, 8, 10–21]. Taki podział bardzo dobrze uwidacznia zróżnicowany charakter niedoboru A1AT, który może mieć charakter ilościowy objawiający się niskim stężeniem surowiczym (warianty deficytowe i *null*), ale także jakościowy (odmiany dysfunkcyjne) skutkujący niską aktywnością inhibicyjną białka A1AT. Istotne jest, aby diagnozując niedobór A1AT pamiętać, że ta ostatnia grupa deficytów często charakteryzuje się prawidłowym stężeniem białka w surowicy, nie znajduje więc odbicia w podstawowym badaniu diagnostycznym, jakim jest pomiar stężenia A1AT we krwi.

W tabeli 1 przedstawiono i porównano najlepiej scharakteryzowane warianty genetyczne A1AT zgodnie z opisanym powyżej podziałem.

Porównanie sekwencji aminokwasowych wariantów A1AT dowodzi, że ich różnorodność jest w pewnym stopniu wynikiem kombinacji tych samych mutacji zachodzących w allelach podstawowych, M1–M4, które różnią się resztami aminokwasowymi w pozycjach 213, 101 i 376. Dla przykładu, mutacja Glu342Lys zachodząca w allelu M1(Ala213) prowadzi do powstania wariantu Z, natomiast ta sama zmiana w allelu M2 tworzy wariant Zaugenberg. Delecja reszty Phe51/52 warunkująca odmiany A1AT Mmalton i Mpalermo występuje odpowiednio w allelu M2 i M1(Val213). Z kolei substytucja Asp256Val w allelach podstawowych M4 i M1(Val213) tworzy warianty Pduarte i Plowell.

### Warianty prawidłowe alfa-1 antytrypsyny

Prawidłowe warianty alfa-1 antytrypsyny, określane jako PI\*M, charakteryzują się właściwą strukturą białka, jego prawidłowym uwalnianiem do krwioobiegu i pełną aktywnością inhibicyjną w surowicy. Rodzinę wariantów prawidłowych reprezentują występujące wśród około 95% populacji polskiej tak zwane allele podstawowe M1–M4

różniące się resztami aminokwasowymi w pozycjach 213, 101 i 376. Inne, znacznie rzadsze warianty prawidłowe powstały, podobnie jak wszystkie nieprawidłowe warianty genetyczne A1AT, na skutek mutacji jednego z alleli podstawowych M1–M4. Zostały one zestawione w tabeli 1 [2, 12–24]. Warto podkreślić, że charakteryzujące je mutacje nie mają znaczenia czynnościowego, nie zakłócają więc procesu związania białka i nie zniekształcają struktury trzeciorzędowej inhibitora.

Zakres prawidłowych stężeń alfa-1 antytrypsyny w surowicy, oczekiwanych dla fenotypu MM, różni się w zależności od zastosowanej metody pomiaru tego białka. Dla najczęściej stosowanej metody immunonefelometrycznej jest to przedział 83–220 mg/dl, dla immunodyszki radialnej 150–400 mg/dl. Stężenia progowe, uważane za wystarczające dla zachowania względnej funkcji ochronnej białka w surowicy wynoszą odpowiednio 50 mg/dl oraz 80 mg/dl [25]. Stężenie A1AT w surowicy zależy od fenotypu (tab. 2) [26]; A1AT jest jednym z białek ostrej fazy, stąd jej stężenie w surowicy podlega istotnym wahaniom i w przebiegu odpowiedzi zapalnej może szybko narastać. Warto pamiętać, że surowicze stężenie A1AT jest wyższe u ciężarnych lub kobiet stosujących doustną antykoncepcję [27, 28].

### Warianty deficytowe (niedoborowe) alfa-1 antytrypsyny

Klasa wariantów deficytowych A1AT obejmuje produkty białkowe wykazujące prawidłową funkcję inhibicyjną, ale znacznie obniżone stężenie w krwioobiegu. Najlepiej poznаныmi przedstawicielami tej rodziny wariantów A1AT są relatywnie najpowszechniejsze allele Z (bardzo wolna migracja) i S (wolna migracja).

Stężenie A1AT we krwi homozygot PI\*ZZ i PI\*SS wynosi odpowiednio około 10–15% i 60% prawidłowego stężenia. Tak znaczący niedobór inhibitorów proteaz w osoczu predysponuje nosicieli mutacji do rozwoju chorób płuc i/lub wątroby.

Znane są dwa podstawowe mechanizmy molekularne odpowiedzialne za ilościowy deficyt zmutowanych wariantów A1AT we krwi obwodowej — ich wzmożona degradacja bezpośrednio w komórkach syntezujących białko lub akumulacja spolimeryzowanych form w postaci inkluzji, głównie w hepatocytach [15].

### Wewnątrzkomórkowa proteoliza białka alfa-1 antytrypsyny

Wariant PI\*S alfa-1 antytrypsyny jest typowym przykładem wariantu niedoborowego, którego deficyt obwodowy wynika ze wzmożonej degradacji w hepatocytach. Mutacja punktowa

Tabela 1. Główne warianty genetyczne alfa-1 antytrypsyny [opracowano wg 2, 12–24]

Table 1. Main genetic variants of alpha-1 antitrypsin [compiled according to 2, 12–24]

Wariant <i>Variant</i>	Częstość występowania <i>Incidence</i>	Nazwa wariantu <i>Variant name</i>	Zmiana struktury III-rzędowej <i>Modification of tertiary structure</i>	Miejsce mutacji (ekson) <i>Mutation site (exon)</i>	Zmiana sekwencji aminokwasów <i>Amino acid mutation</i>	Allel podstawowy <i>Base allele</i>	Defekt wewnątrz- komórkowy <i>Cellular defect</i>	Manifestacje kliniczne <i>Clinical manifestations</i>
Prawidłowy <i>Normal</i>	Powszechna <i>Common</i>	M1 (Ala213) M1 (Val213)	–	III	– Ala213Val (A213V)	–	–	–
	Powszechna <i>Common</i>	M2 M2obernburg	–	II	Arg101His (R101H) Gly148Trp (G148W)	M3 M1 (Ala213)	–	–
	Powszechna <i>Common</i>	M3	–	V	Glu376Asp (E376D)	M1 (Val213)	–	–
	Powszechna <i>Common</i>	M4	–	II	Arg101His (R101H)	M1 (Val213)	–	–
	Rzadka <i>Rare</i>	M5 berlin M5 karlsruhe	–	II	Pro88Thr (P88T) Ala34Thr (A34T)	M1 (Val213) M1 (Val213)	–	–
	Rzadka <i>Rare</i>	M6 bonn M6 passau	–	II	Ser45Phe (S45F) Ala60Thr (A60T)	M1 (Ala213) M1 (Val213)	–	–
	Rzadka <i>Rare</i>	Vmunich	–	poza obszarem krytycznym	Asp2Ala (D2A)	M1 (Val213)	–	–
	Rzadka <i>Rare</i>	XChristchurch	–	V	Glu363Lys (E363K)	M1 (Val213)	–	–
	Rzadka <i>Rare</i>	Etokyo	–	V	Lys335Glu (K335E)	M1 (Val213)	–	–
Deficytowy <i>Deficient</i>	Powszechna <i>Common</i>	Z	s5A	V	Glu342Lys (E342K)	M1 (Ala213)	Agregacja Aggregation	Rozedma, choroby wątroby <i>Emphysema, liver diseases</i>
	Rzadka <i>Rare</i>	Zaugsborg	s5A	V	Glu342Lys (E342K)	M2	Agregacja Aggregation	Rozedma <i>Emphysema</i>
	Rzadka <i>Rare</i>	Zbristol	hC i hD	II	Thr85Met (T85M)	M1 (Val213)	Agregacja Aggregation	Rozedma, choroby wątroby <i>Emphysema, liver diseases</i>
	Powszechna <i>Common</i>	S	hG	III	Glu264Val (E264V)	M1 (Val213)	Degradacja Degradation	Rozedma <i>Emphysema</i>

cd. →

Tabela 1. cd.  
Table 1. cd.

Rzadka Rare	Sijjama	hB	II	Ser53Phe (S53F)	M1 (Val213)	Agregacja Aggregation	Rozedma, choroby wątroby Emphysema, liver diseases
Rzadka Rare	I	hA	II	Arg39Cys (R39C)	M1 (Val213)	Degradacja Degradation	Rozedma Emphysema
Rzadka Rare	Pduarte	s3B i hG, hD	II, III	Asp256Val (D256V)	M4	Degradacja Degradation	Rozedma, choroby wątroby Emphysema, liver diseases
Rzadka Rare	Plowell	s3B i hG, hD	III	Asp256Val (D256V)	M1 (Val213)	Degradacja Degradation	Rozedma Emphysema
Rzadka Rare	Mimalton	s6B	II	del Phe51/52	M2	Agregacja Aggregation	Rozedma, choroby wątroby Emphysema, liver diseases
Rzadka Rare	Mnichinan	s6B	II	del Phe52, Gly148Arg (G148R)	M1 (Val213)	Agregacja Aggregation	Rozedma Emphysema
Rzadka Rare	Mpalermo	s6B	II	del Phe51/52	M1 (Val213)	Agregacja Aggregation	Rozedma Emphysema
Rzadka Rare	Mminimal springs	hB	II	Gly67Glu (G67E)	M1 (Ala213)	Degradacja Degradation	Rozedma Emphysema
Rzadka Rare	Mheerfen	s4B	V	Pro369Leu (P369L)	M1 (Ala213)	Degradacja Degradation	Rozedma Emphysema
Rzadka Rare	Mwurzburg	s4B	V	Pro369Ser (P369S)	M1 (Val213)	Degradacja Degradation	Rozedma Emphysema
Rzadka Rare	Wbethesda	s5A	V	Ala336Thr (A336T)	M1 (Ala213)	Degradacja Degradation	Rozedma Emphysema
Rzadka Rare	Ybarcelona	s3B i hG (obok s5A)	III, V	Asp256Val (D256V) Pro391His (P391H)	M1 (Val213)	Agregacja/degradacja Aggregation/degradation	Rozedma Emphysema

cd. →

Tabela 1. cd.

Table 1. cd.

Dysfunkcyjny <i>Dysfunctional</i>	Powszechna <i>Common</i>	Z	s5A	V	Glu342Lys (E342K)	M1 (Ala213)	Obniżona inhibicja NE <i>Defective NE inhibition</i>	Rozedma, choroby wątroby <i>Emphysema, liver diseases</i>
Rzadka <i>Rare</i>		Pittsburgh	Centrum aktywne	V	Met358Arg (M358R)	M1 (Val213)	Inhibicja trombiny, brak inhibicji NE <i>Thrombin inhibition, no NE inhibition</i>	Skaza krwotoczna <i>Bleeding diathesis</i>
Rzadka <i>Rare</i>		F	s3C	III	Arg223Cys (R223C)	M1 (Val213)	Obniżona inhibicja NE <i>Defective NE inhibition</i>	Rozedma <i>Emphysema</i>
Rzadka <i>Rare</i>		Mmineral springs	hB	II	Gly67Glu (G67E)	M1 (Ala213)	Obniżona inhibicja NE <i>Defective NE inhibition</i>	Rozedma <i>Emphysema</i>
Null/Null	Rzadka <i>Rare</i>	00bolton	s1C	V	Pro362 CCC → del C → zmiana 5' → stop373 TAA	M1 (Val213)	Degradacja <i>Degradation</i>	Rozedma <i>Emphysema</i>
Rzadka <i>Rare</i>		00bellingham	s3C	III	Lys217stop	M1 (Val213)	Degradacja <i>Degradation</i>	Rozedma <i>Emphysema</i>
Rzadka <i>Rare</i>		00cardiff	s3B i hG	III	Asp256Val (D256V)	M1 (Val213)	Degradacja <i>Degradation</i>	Infekcje dróg oddechowych <i>Respiratory tract infections</i>
Rzadka <i>Rare</i>		00granite falls	hF	II	Tyr160 stop	M1 (Ala213)	Brak mRNA <i>No mRNA</i>	Rozedma <i>Emphysema</i>
Rzadka <i>Rare</i>		00hong kong	s5A i s6A	IV	Leu318 CTC → del TC → zmiana 5' → stop 334 TAA	M2	Agregacja <i>Aggregation</i>	Rozedma <i>Emphysema</i>
Rzadka <i>Rare</i>		00isola di procida	–	II–V	Duża delecja (10 kb) w eksonach II–V	–	Brak mRNA <i>No mRNA</i>	Rozedma <i>Emphysema</i>
Rzadka <i>Rare</i>		00mattawa	s4A	V	353insT → zmiana 3' → stop376	M1 (Val213)	Degradacja <i>Degradation</i>	Rozedma <i>Emphysema</i>
Rzadka <i>Rare</i>		00ludwigshafen	hD	II	Ile92Asn (I92N)	M2	Degradacja <i>Degradation</i>	Rozedma <i>Emphysema</i>

 NE (*neutrophil elastase*) — elastaza neutrofilowa

**Tabela 2. Stężenie alfa-1 antytrypsyny w surowicy w zależności od fenotypu [26]****Table 2. Serum levels of alpha-1 antitrypsin according to phenotype [26]**

Fenotyp (PI) Phenotype (PI)	Stężenie A1AT w surowicy* Serum A1AT level*	
	μmol/l [μM]	mg/dl
MM	20–39	103–200
MS	19–35	100–180
MZ	13–23	66–120
SZ	9–15	45–80
SS	14–20	70–105
ZZ	2–8	10–40
Null	0	0

\*mierzone metodą nefelometryczną  
\*measured by nephelometry

Glu264Val odpowiedzialna za jego występowanie powstaje w obrębie  $\alpha$ -helisy G i prowadzi do utraty wewnętrznych wiązań wodorowych oraz solnych (Glu264 do Lys38 i Lys387). Zmiana sekwencji aminokwasowej skutkuje zniekształceniem struktury trzeciorzędowej białka i powstaniem nieprawidłowych cząsteczek o mniej stabilnej konformacji, które mają tendencję do ulegania wewnątrzkomórkowej proteolizie, zanim zostaną uwolnione do krwioobrotu. W efekcie, na obwód trafia istotnie mniejsza frakcja białka S, prowadząc do znaczącego obniżenia stężenia A1AT w surowicy, zaburzenia równowagi proteazowej, osłabienia osłony „antyelastazowej” płuc i wzmożonego szkodliwego działania destrukcyjnych enzymów proteolitycznych [15]. Bezpośrednim następstwem tych zaburzeń jest zwiększone ryzyko rozwoju chorób układu oddechowego u nosicieli PI\*S, szczególnie heterozygot SZ (wzrost ryzyka o 20–50%). U osób o fenotypie SS i MS stwierdza się brak lub nieznaczny wzrost zagrożenia wystąpienia chorób płuc [26].

Ten sam mechanizm molekularny odpowiada za niedobór A1AT w surowicy u nosicieli innych znacznie rzadszych wariantów genetycznych A1AT: I, Mprocida, Mheerlen, Mwurzburg, Mmineral springs, Pduarte, Plowell, Wbethesda, QOcardiff, QObellingham, QOmattawa, QObolton i QOludwigshafen. Podobnie jak PI\*S wykazują one tendencję do degradacji w wątrobie i predysponują do występowania płucnych manifestacji klinicznych [15].

### Polimeryzacja i akumulacja białka

Produkt białkowy allelu Z jest typowym przedstawicielem tych wariantów A1AT, które ulegają

polimeryzacji i akumulacji w postaci inkluzji wątrobowych. Wariant PI\*Z identyfikuje mutacja Glu342Lys umiejscowiona na początku 5 łańcucha  $\beta$ -harmonijki A (s5A) zlokalizowanego u podstawy ruchomej pętli reaktywnej wariantu Z. Zmiana jednego tylko aminokwasu uniemożliwia utworzenie mostka solnego pomiędzy resztami Glu342 i Lys290, co zasadniczo zakłóca strukturę  $\beta$ -harmonijki A. Przybiera ona otwartą formę gotową do przyjęcia pętli aktywnej kolejnej cząsteczki A1AT. W efekcie mechanizm ten sprzyja formowaniu się dimerów, a następnie polimerów. Spolimeryzowane duże cząsteczki wariantu Z są mniej efektywnie wydzielane do krwioobrotu i gromadzą się w retikulum endoplazmatycznym komórek wątroby w postaci nierozpuszczalnych ciałek inkluzyjnych odpornych na działanie amylaz. Akumulacja inkluzji w hepatocytach bezpośrednio prowadzi do ich uszkodzenia i patologii wątroby. Pośrednio przyczynia się również do uszkodzenia płuc. Niskie stężenie A1AT w surowicy nie zapewnia odpowiedniej aktywności protekcyjnej i nie chroni w wystarczającym stopniu płuc przed destrukcyjnym działaniem proteaz. Mutacje charakterystyczne dla innych rzadkich wariantów A1AT: Zaugsberg, Zbristol, Sijama, Mnichinan, Mmalton i QOhong kong także powodują zmiany w sekwencjach aminokwasowych, które prowadzą do błędów w procesie związania białka i predysponują do polimeryzacji, a następnie akumulacji powstałych agregatów w hepatocytach. U nosicieli tych mutacji — podobnie jak PI\*Z istotnie wzrasta ryzyko rozwoju chorób wątroby i/lub płuc [15].

### Warianty dysfunkcyjne alfa-1 antytrypsyny

Warianty dysfunkcyjne A1AT cechuje nieprawidłowa aktywność inhibicyjna. Powodują one więc deficyt jakościowy A1AT, przy czym możliwy jest brak współistniejącego deficytu ilościowego. Mutacje dysfunkcyjne, w przeciwieństwie do wariantów deficytowych, często nie powodują więc istotnego obniżenia stężenia A1AT w surowicy. Typowymi przedstawicielami tej klasy są allele F, Z i *Mmineral springs*, które wykazują znacznie obniżoną zdolność do wiązania się z elastazą neutrofilową w porównaniu z prawidłowym białkiem M1. Ich niska aktywność enzymatyczna prowadzi do istotnego upośledzenia równowagi proteazy-antyproteazy i skutkuje znacząco podwyższonym ryzykiem rozwoju rozemdy płuc [15].

Należy podkreślić, że allele Z i *Mmineral springs* są zarówno wariantami dysfunkcyjnymi w wyniku częściowej utraty zdolności inhibicyjnych, jak i deficytowymi wskutek wzmożonej wewnątrz-



komórkowej degradacji. Identyfikacja nosicieli tych wariantów jest więc relatywnie prostsza. Obniżone stężenie A1AT we krwi może być stwierdzone już podczas rutynowego pomiaru stężenia we krwi.

Znacznie trudniejsze jest wykrycie nosicieli typowego wariantu dysfunkcyjnego, jakim jest wariant F, który relatywnie często kojarzy się z fenotypem rozedmowym. U tych pacjentów stężenie A1AT w surowicy jest prawidłowe, gdyż mutacja nie prowadzi do zaburzenia syntezy i uwalniania białka z hepatocytów. Dlatego też obecność PI\*F może być ujawniona jedynie pod warunkiem poszerzenia badań diagnostycznych o fenotypowanie, czyli określenie wariantu białka A1AT metodą ogniskowania w żelu poliakrylamidowym (IEF, *iso-electrofocusing*). Rzadziej stosowaną alternatywą jest genotypowanie, czyli określenie typu mutacji w allelu metodą sekwencjonowania lub PCR za pomocą swoistych sond.

Należy również wspomnieć, że zmiana struktury cząsteczki dysfunkcyjnego białka A1AT może wiązać się nie tylko z utratą jego fizjologicznej aktywności, ale także z nabyciem nowych właściwości enzymatycznych. Produkt białkowy wariantu Pittsburgh (Met358Arg) w wyniku utraty metioniny w miejscu aktywnym rozpoznawanym przez elastazę neutrofilową traci zdolność jej blokowania, natomiast nabywa możliwość hamowania trombiny, która w warunkach prawidłowych jest właściwa dla innej serpiny, antytrombiny III. Białko A1AT z mutacją Pittsburg jest niezależnym od heparyny inhibitorem trombiny i antykoagulantem niepodlegającym fizjologicznej kontroli, przez co prowadzi do groźnej skazy krwotocznej.

### **Warianty typu null**

Ostatnią klasę genetycznych odmian A1AT stanowią bardzo rzadkie warianty typu *null*, które nie są wykrywalne na poziomie transkrypcji (QOgranite falls, QObellingham) lub translacji (QOcardiff, QOmattawa, QObolton i QOludwigshafen). W praktyce oznacza to najczęściej niezdolność do syntezy białka A1AT, a zawsze jego całkowity brak we krwi obwodowej. Bezpośrednią przyczyną tak głębokich zaburzeń są mutacje prowadzące do nieprawidłowego składowania genu, dużych delecji regionów kodujących (np. QOisola di procida), przesunięć ramek odczytu, tworzenia przedwczesnych kodonów terminujących translację lub też wewnątrzkomórkowej degradacji białka. Całkowity brak podstawowego inhibitora enzymów proteolitycznych, jakim jest A1AT w surowicy nosicieli mutacji zerowych, drastycznie zwiększa ryzyko płucnych manifestacji klinicznych [8, 15].

### **Podsumowanie**

Niedobór alfa-1 antytrypsyny jest rzadkim zaburzeniem genetycznym, niemniej stanowi realny problem kliniczny, gdyż predysponuje do rozwoju wielu patologii, w tym głównie ze strony płuc i wątroby. W ciągu ostatnich dziesięcioleci ustalono podłoże genetyczne deficytu, uproszczono metody jego identyfikacji oraz opracowano zasady postępowania diagnostycznego i opieki nad chorymi z niedoborem A1AT [5, 25]. Mimo to zdecydowana większość chorych pozostaje w Polsce niezdiagnozowana. Obowiązujące standardy międzynarodowe i zalecenia postępowania przygotowane przez Polskie Towarzystwo Chorób Płuc rekomendują, aby wstępna diagnostyka niedoboru A1AT stanowiła element rutynowego postępowania lekarskiego u wszystkich chorych na przewlekłe choroby obturacyjne dróg oddechowych. Wczesne rozpoznanie nosicielstwa mutacji w genie A1AT daje szansę na zmianę stylu życia poprzez wyeliminowanie środowiskowych czynników ryzyka, możliwość uzyskania odpowiedniej opieki medycznej, a w efekcie poprawę jakości i wydłużenie czasu życia chorych.

Od 2009 roku Samodzielna Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Immunologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc prowadzi program umożliwiający nieodpłatne wykonanie pełnej diagnostyki w kierunku wrodzonego niedoboru alfa-1 antytrypsyny. Badania dostępne są dla pacjentów z całego kraju. Pracownia wykonuje pełen profil badań, w tym możliwe jest również wykrycie wszystkich mutacji rzadkich.

### **Konflikt interesów**

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

### **Piśmiennictwo**

1. Kaczor M.P., Sanak M., Libura-Twardowska M., Szczeklik A. The prevalence of alpha<sub>1</sub>-antitrypsin in a representative population sample from Poland. *Respir. Med.* 2007; 101: 2520–2525.
2. Janciauskiene S.M., Bals R., Koczulla R., Vogelmeier C., Köhnlein T., Welte T. The discovery of  $\alpha$ 1-antitrypsin and its role in health and disease. *Resp. Med.* 2011; 105: 1129–1139.
3. Chorostowska-Wynimko J., Popławska B., Janciauskiene S. Alpha-1 antitrypsin: role in human physiology and pathology. *Int. Rev. Allergol. Clin. Immunology Family Med.* 2012; 18: 5–11.
4. Bergin D.A., Hurley K., McElvaney N.G., Reeves E.P. Alpha-1 antitrypsin: a potent anti-inflammatory and potential novel therapeutic agent. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2012; 60: 81–97.
5. Chorostowska-Wynimko J., Niżankowska-Mogilnicka E., Bakula A. i wsp. Zasady postępowania diagnostycznego i opieki nad chorymi z wrodzonym niedoborem alfa-1 antytrypsyny. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2010; 78: 348–355.
6. Krishnan B., Gierasch L.M. Dynamic local unfolding in the serpin  $\alpha$ -1 antitrypsin provides a mechanism for loop insertion and polymerization. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2011; 18: 222–227.

7. Greene C.M., Miller S.D.W., Carroll T. Alpha-1 antitrypsin deficiency: A conformational disease associated with lung and liver manifestations. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2008; 31: 21–34.
8. Struniawski R., Szpechciński A., Chorostowska-Wynimko J. Diagnostyka molekularna niedoboru alfa-1 antytrypsyny w praktyce klinicznej. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2008; 76: 253–264.
9. Chorostowska-Wynimko J., Struniawski R., Popławska B., Borszewska-Kornacka M. The incidence of alpha-1-antitrypsin (A1AT) deficiency alleles in Polish population — preliminary results from newborn screening. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2012; 80: 450–453.
10. Janciauskiene S. Conformational properties of serine proteinase inhibitors (serpins) confer multiple pathophysiological roles. *Biochim. Biophys. Acta.* 2001; 1535: 221–235.
11. Bals R., Köhnlein T. Alpha-1-antitrypsin deficiency. Pathophysiology, diagnosis and treatment. Georg. Thieme Verlag, Stuttgart 2009; 1–2, 28–37.
12. Kabziński J., Kędziora J., Majsterek I. Zastosowania rekombinowanej alfa-1 antytrypsyny w terapii medycznej. *Pol. Merk. Lek.* 2010; 174: 345–350.
13. Stoller J.K., Aboussouan L.S.  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency. *Lancet* 2005; 365: 2225–2236.
14. Kelly E., Greene C.M., Carroll T.P., McElvaney N.G., O'Neill S.J. Alpha-1 antitrypsin deficiency. *Respir. Med.* 2010; 104: 763–772.
15. Salahuddin P. Genetic variants of  $\alpha_1$ -antitrypsin. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2010; 11: 101–117.
16. Crystal R.G., Brantly M.L., Hubbard R.C., Curiel D.T., States D.J., Holmes M.D. Clinical consequences and strategies for therapy. The alpha 1-antitrypsin gene and its mutations. *Chest* 1989; 95: 196–208.
17. Faber J.-P., Poller W., Weidinger S. i wsp. Identification and DNA sequence analysis of 15 new  $\alpha_1$ -antitrypsin variants, including two PI\*QO alleles and one deficient PI\*M allele. *Am. J. Hum. Genet.* 1994; 55: 1113–1121.
18. Lee J.H., Brantly M. Molecular mechanisms of alpha1-antitrypsin null alleles. *Resp. Med.* 2000; 94: 7–11.
19. Zorzetto M., Russi E., Senn O. i wsp. *SERPINA1* gene variants in individuals from the general population with reduced  $\alpha_1$ -antitrypsin concentrations. *Clin. Chem.* 2008; 54: 1331–1338.
20. Crystal R.  $\alpha$ -1-antitrypsin deficiency, emphysema, and liver disease genetic basis and strategies for therapy. *J. Clin. Invest.* 1990; 85: 1343–1352.
21. Strange C., Janciauskiene S. Alpha-1 antitrypsin deficiency. Molecular basis of pulmonary disease-insights from rare lung disorders. McCormack F.X., Panos R.J., Trapnell B.C., Springer, New York 2010; 209–223.
22. DeMeo D.L., Silverman E.K.  $\alpha_1$ -Antitrypsin deficiency 2: Genetic aspects of  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency: phenotypes and genetic modifiers of emphysema risk. *Thorax* 2004; 59: 259–264.
23. Ranes J., Stoller J.K. A review of alpha-1 antitrypsin deficiency. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 26: 154–166.
24. Zorzetto M., Russi E., Senn O. i wsp. *SERPINA1* gene variants in individuals from the general population with reduced  $\alpha_1$ -antitrypsin concentrations. *Clin. Chem.* 2008; 54: 1331–1338.
25. American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 168: 818–900.
26. Vidal R., Blanco I., Casas F. i wsp. Guidelines for the diagnosis and management of  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency. *Arch. Bronconeumol.* 2006; 42: 645–659.
27. Larsson A., Palm M., Hansson L.-O., Basu S., Axelsson O. Reference values for  $\alpha_1$ -acid glycoprotein,  $\alpha_1$ -antitrypsin, albumin, haptoglobin, C-reactive protein, IgA, IgG and IgM during pregnancy. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2008; 87: 1084–1088.
28. Senn O., Russi E.W., Schindler C. i wsp. Circulating alpha1-antitrypsin in the general population: Determinants and association with lung function. *Respir. Res.* 2008; 9: 1–10.