



Atualização e perspectivas futuras para o diagnóstico da deficiência de alfa-1 antitripsina no Brasil

José R Jardim¹, Francisco Casas-Maldonado²,
Frederico Leon Arrabal Fernandes³, Maria Vera Cruz de O Castellano⁴,
María Torres-Durán^{5,6}, Marc Miravittles^{7,8,9}

1. Centro de Reabilitação Pulmonar, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.
2. Departamento de Neumología, Hospital Universitario Clínico San Cecilio, Granada, España.
3. División de Pneumología, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.
4. Serviço de Pneumologia, Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.
5. Departamento de Neumología, Hospital Álvaro Cunqueiro, Vigo, España.
6. Instituto de Investigación Sanitaria Galicia Sur – IISGS – Vigo, España.
7. Departamento de Neumología, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona, España.
8. Vall d'Hebron Institut de Recerca – VHIR – Hospital Universitario Vall d'Hebron Barcelona, Barcelona, España.
9. CIBER de Enfermedades Respiratorias – CIBERES – Barcelona, España.

Recebido: 29 julho 2020.

Aprovado: 25 janeiro 2021.

RESUMO

A deficiência de alfa-1 antitripsina (DAAT) é um distúrbio genético raro causado por uma mutação no gene *SERPINA1*, que codifica o inibidor de protease alfa-1 antitripsina (AAT). A DAAT predispõe os indivíduos a DPOC e doença hepática. O diagnóstico precoce é essencial para a implementação de medidas preventivas e para limitar a carga da doença. Embora diretrizes nacionais e internacionais para o diagnóstico e manejo da DAAT estejam disponíveis há 20 anos, mais de 85% dos casos não são diagnosticados e, portanto, não são tratados. No Brasil, os motivos para o subdiagnóstico da DAAT incluem o desconhecimento dos médicos sobre a condição, a diversidade racial da população, o fato de os níveis séricos de AAT serem avaliados em um número limitado de indivíduos e a falta de ferramentas diagnósticas convenientes. O diagnóstico da DAAT baseia-se em resultados de exames laboratoriais. A abordagem diagnóstica padrão envolve a avaliação dos níveis séricos de AAT, seguida de fenotipagem, genotipagem, sequenciamento gênico ou suas combinações para detecção da mutação específica. Nos últimos 10 anos, novas técnicas foram desenvolvidas, oferecendo uma alternativa rápida, minimamente invasiva e confiável aos métodos tradicionais de teste. Um desses testes disponíveis no Brasil é o teste de genotipagem A1AT, que analisa simultaneamente as 14 mutações mais prevalentes da DAAT usando DNA extraído de *swab* bucal ou de sangue em papel-filtro. Esses avanços podem contribuir para a superação do problema do subdiagnóstico no Brasil e em outros países, bem como podem aumentar a taxa de detecção da DAAT e, portanto, mitigar os malefícios do diagnóstico tardio.

Descritores: Deficiência de alfa 1-antitripsina/diagnóstico; Deficiência de alfa 1-antitripsina/genética; Técnicas de genotipagem.

INTRODUÇÃO

A deficiência de alfa-1 antitripsina (DAAT) é um distúrbio genético raro, embora seja o distúrbio hereditário mais comum em adultos.^(1,2) A mutação se origina no gene *SERPINA1*, que codifica a alfa-1 antitripsina (AAT), inibidor de protease mais abundante no soro humano.⁽¹⁾ A DAAT se caracteriza pela redução das concentrações séricas de AAT e está associada a aumento do risco de doenças pulmonares (p. ex., DPOC, bronquiectasias), doenças hepáticas (p. ex., hepatite crônica, cirrose) e outras condições menos comuns.⁽³⁻⁵⁾

A AAT é um membro da superfamília de inibidores de serina protease.^(6,7) Sintetizada principalmente pelos hepatócitos ($\geq 80\%$), a AAT também é encontrada no pulmão, rim e intestino.⁽⁸⁾ A principal função da AAT é inibir a elastase neutrofílica para proteger o pulmão da excessiva degradação proteolítica da elastina e outros componentes do tecido conjuntivo, bem como de fatores externos, como o tabagismo.^(6,7) A AAT também inibe inúmeras outras enzimas proteolíticas, fornecendo mais

de 90% da capacidade antiprotease do soro.^(6,7) Evidências nos últimos anos indicam que a AAT também possui propriedades anti-inflamatórias, imunomoduladoras e antimicrobianas de amplo espectro.^(6,7)

O diagnóstico precoce da DAAT é uma prioridade porque permite a implementação de medidas preventivas, como evitar o tabagismo e a exposição a poluentes ambientais, e identificar candidatos à intervenção terapêutica.⁽⁹⁾ O diagnóstico precoce pode modificar a história natural da DAAT e melhorar dramaticamente os desfechos dos pacientes.⁽¹⁰⁾ Na prática clínica, no entanto, a DAAT é amplamente subdiagnosticada em razão da baixa suspeita clínica, bem como da falta de conhecimento sobre a doença e de testes diagnósticos adequados.⁽¹¹⁻¹³⁾ Estima-se que 85% dos indivíduos com DAAT não sejam diagnosticados,⁽¹¹⁾ e uma proporção significativa de pacientes é diagnosticada em idade avançada após anos de sintomas e múltiplas consultas médicas.⁽¹²⁾

O Projeto Latino-Americano de Investigação em Obstrução Pulmonar⁽¹⁴⁾ encontrou evidências espirométricas

Endereço para correspondência:

José Roberto Jardim. Largo Senador Raul Cardoso, 220, Vila Clementino, CEP 04021-001. São Paulo, SP, Brasil.

Tel.: 55 11 98366-2625. E-mail: jardimpneumo@gmail.com

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro da Grifols S.A., Barcelona, Espanha.

de obstrução persistente do fluxo de ar em 15,8% da população estudada no Brasil (963 adultos > 40 anos de idade na cidade de São Paulo), da qual 12,5% não haviam sido expostos à fumaça do tabaco, sugerindo que outros fatores de risco (p. ex., DAAT) podem ter estado envolvidos e não ter sido diagnosticados. Os motivos para o subdiagnóstico da DAAT no Brasil incluem o desconhecimento dos médicos sobre a condição, particularmente porque o diagnóstico laboratorial é o único método de identificação da DAAT em indivíduos com DPOC⁽¹⁵⁾; a diversidade racial da população, o que pode fazer com que indivíduos de ascendência europeia, que apresentam maior frequência de alelos envolvidos nas alterações pulmonares iniciais, sejam negligenciados⁽¹⁶⁾; e, até recentemente, a falta de métodos diagnósticos rápidos e convenientes.⁽⁹⁾

Este estudo de revisão fornece uma atualização sobre o diagnóstico da DAAT, incluindo ferramentas disponíveis no Brasil, e apresenta um algoritmo diagnóstico que pode auxiliar na confirmação de casos suspeitos de DAAT.

GENÉTICA

O gene *SERPINA1* localiza-se no braço longo do cromossomo 14 (14q31-32) e é transmitido por herança mendeliana simples de forma autossômica codominante por meio de dois alelos, um de cada progenitor.^(6,7) Aproximadamente 125 variantes do gene *SERPINA1* já foram identificadas, as quais, para fins clínicos, são classificadas como normais, deficientes, nulas e disfuncionais.⁽⁷⁾

O alelo normal é o alelo Pi*M. Os alelos deficientes mais comuns são os alelos Pi*S e Pi*Z, que codificam proteínas anormais que se polimerizam no fígado. O genótipo normal Pi*MM está presente em aproximadamente 80-95% da população e expressa 100% da AAT sérica. Os cinco genótipos deficientes (Pi*MS, Pi*SS, Pi*MZ, Pi*SZ e Pi*ZZ) estão presentes nos 5-20% restantes da população e expressam 80%, 60%, 55%, 40% e 15% da AAT sérica, respectivamente.⁽⁴⁾ Além disso, existem cerca de 25 alelos deficientes raros que expressam baixas quantidades de AAT e 25 alelos nulos que expressam quantidades indetectáveis (< 1%) de AAT.⁽⁷⁾ Estudos recentes indicam que certos mecanismos epigenéticos podem ser responsáveis, pelo menos em parte, por diferenças na expressão clínica da doença pulmonar em pacientes com os genótipos deficientes Pi*ZZ e Pi*SZ.^(17,18)

EPIDEMIOLOGIA

A DAAT afeta principalmente os brancos de ascendência europeia. A prevalência estimada do genótipo grave mais comum (Pi*ZZ) é de 1:2.000-5.000 indivíduos na Europa e de 1:5.000-7.000 indivíduos de ascendência europeia que residem em países como Canadá, Estados Unidos, Austrália e Nova Zelândia.⁽¹⁹⁾ Estudos epidemiológicos estimam as frequências do genótipo Pi*Z usando estudos de coorte e prevalência

para desenvolver mapas de interpolação ponderada pelo inverso da distância os quais fornecem informações sobre a distribuição genotípica no mundo. De acordo com esse método, estima-se que existam 6.000 indivíduos com o genótipo Pi*ZZ no Brasil.^(7,20) Outra perspectiva é determinar a proporção de pacientes com DPOC que são afetados pela DAAT. Um estudo epidemiológico recente relatou que a relação prevalência de Pi*ZZ/prevalência de DPOC na Europa foi de 0,12% (0,08-0,24%), sendo as diferenças amplas entre os países.⁽²¹⁾ Os números podem ser ainda maiores em outros países; na Argentina, por exemplo, constatou-se uma prevalência de DAAT (Pi*ZZ ou Pi*SZ) de 0,83% entre pacientes com DPOC e idade > 40 anos.⁽²²⁾

Em razão da ausência de estudos específicos, pouco se sabe sobre a epidemiologia dos alelos “raros” e “nulos” da DAAT,⁽⁷⁾ que podem ser mais prevalentes do que se supunha anteriormente. Uma revisão retrospectiva de 3.511 estudos genéticos de DAAT realizados no laboratório do Registro Espanhol de Pacientes com Deficiência de Alfa-1 Antitripsina, de 1998 a 2010, detectou 1,6% de casos com alelos raros da AAT, mais comumente Pi*I e Pi*Mmalton.⁽²³⁾

O Brasil tem uma população racialmente diversa que inclui imigrantes de países europeus. Embora faltem dados epidemiológicos sobre a prevalência de DAAT na população geral brasileira,⁽²⁴⁾ um estudo transversal envolvendo 926 pacientes com DPOC de cinco diferentes regiões do Brasil encontrou uma prevalência geral de 2,8% para DAAT e de 0,8% para o genótipo Pi*ZZ.⁽¹⁶⁾ Esses números se alinham às estimativas de que a DAAT grave seja responsável por 0,1% a 1% dos casos de DPOC^(21,22) e reforçam a necessidade de vigilância e aumento da triagem da DAAT na população brasileira com DPOC.⁽¹⁶⁾

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A DAAT predispõe os pacientes a diversas doenças; baixos níveis séricos de AAT, outras características genéticas e influências ambientais contribuem para o desenvolvimento e progressão da doença.⁽²⁵⁾ As principais manifestações clínicas da DAAT grave são doença pulmonar (enfisema) e doença hepática (hepatite crônica, cirrose e hepatoma). A doença pulmonar ocorre quando os níveis séricos de AAT são insuficientes para superar a ação relativamente excessiva da elastase neutrofílica — o chamado “desequilíbrio protease-antiprotease” — que resulta na degradação da elastina e outros componentes da matriz extracelular do trato respiratório inferior.⁽⁴⁾ A doença hepática ocorre como complicação do acúmulo intra-hepatocitário de AAT polimerizada não secretada.⁽⁴⁾ Condições menos comuns associadas à DAAT incluem paniculite neutrofílica e vasculite sistêmica (tipicamente granulomatose com poliangeíte).^(4,25-27) Em pacientes com doença pulmonar associada à DAAT, o comprometimento fisiológico mais comum é a obstrução crônica do fluxo de ar, demonstrada por relação VEF₁/CVF pós-broncodilatador < 0,7, redução

do VEF_1 e redução da DLCO. O aprisionamento aéreo é comum, e um grau de hipoxemia pode estar presente, mesmo em casos leves ou moderados. O enfisema na DAAT localiza-se predominantemente nos lobos inferiores, embora possa ser encontrado nos lobos superiores em alguns indivíduos.⁽²⁸⁾ Pacientes com as formas mais graves de DAAT apresentam obstrução do fluxo de ar e redução da DLCO; o declínio da DLCO é maior do que o do VEF_1 na doença grave, e, portanto, a DLCO pode ser um teste mais adequado para o acompanhamento dos pacientes.⁽²⁹⁾ Dada a heterogeneidade da expressão clínica e funcional da DAAT, a avaliação inicial da doença pulmonar associada à DAAT deve incluir a avaliação completa da fisiologia respiratória, capacidade de exercício, intensidade dos sintomas e impacto da doença, bem como a realização de TC de tórax. A gasometria pode ser parte de uma avaliação mais abrangente em certos casos em que a saturação de oxigênio é baixa.⁽²⁸⁾

A doença hepática associada ao fenótipo Pi*ZZ possui duas formas de apresentação, uma na primeira infância (p. ex., colestase neonatal) e outra na vida adulta, quando alguns indivíduos (não necessariamente os com doença hepática anterior durante a infância) desenvolvem doença hepática crônica que progride para cirrose.⁽⁴⁾ Uma análise dos dados do Registro Sueco de 2019 encontrou uma prevalência de qualquer doença hepática de 10% entre 1.595 indivíduos Pi*ZZ.⁽³⁰⁾ Sexo masculino, idade acima de 50 anos e resultados de testes de função hepática repetidamente elevados associaram-se consistentemente a aumento do risco de doença hepática na vida adulta.^(30,31) Anteriormente, um estudo retrospectivo⁽³²⁾ baseado em 17 indivíduos submetidos a autópsia e diagnosticados com DAAT na cidade de Malmö, Suécia, entre 1963 e 1982, encontrou uma prevalência de cirrose de 41% e uma prevalência de câncer hepático primário de 29%. O risco significativamente maior em homens sugeriu um possível efeito aditivo de fatores exógenos (p. ex., consumo de álcool e exposição a toxinas ocupacionais).

SUSPEITA CLÍNICA

O risco de desenvolvimento de doença pulmonar e hepática varia de acordo com o genótipo da DAAT (combinações homozigóticas ou heterozigóticas de alelos deficientes e nulos). Indivíduos com níveis séricos de AAT < 50 mg/dL (< 11 μ M) apresentam maior risco de doença pulmonar, sendo que a maioria (> 90%) é homozigota Pi*ZZ ou apresenta genótipos raros ou nulos.⁽²⁵⁾ Por motivos ainda não esclarecidos, 30-50% dos indivíduos com o genótipo PI*ZZ não desenvolvem doença pulmonar ao longo da vida ou apresentam apenas sintomas menores. Essa expressividade variável da doença, não explicada por fatores de risco como o tabagismo, sugere a presença de modificadores genéticos ainda não identificados.^(17,18) O risco de doença hepática é maior em indivíduos que são homozigotos ou heterozigotos para alelos associados à polimerização intra-hepatocitária (p. ex., Z, Mmalton e Siyama).^(27,31)

O tempo até o início dos sintomas respiratórios na DAAT varia consideravelmente, mas, em geral, a tendência é a de que os sintomas não apareçam antes da idade adulta. O declínio da função pulmonar depende de fatores como exposição à fumaça do tabaco ou a poluentes ambientais, exposição ocupacional a toxinas, asma coexistente, infecções do trato respiratório inferior e fatores familiares predisponentes.^(25,33) Embora sintomas respiratórios possam aparecer em fumantes com cerca de 35 anos de idade e em não fumantes com cerca de 45 anos de idade, no cenário do mundo real, a idade média no momento do diagnóstico da DAAT é de mais de 50-55 anos, independentemente da história tabágica.⁽³⁴⁾ Os sintomas primários são dispneia aos esforços, sibilância e aumento da tosse e do catarro.^(25,33)

O desconhecimento sobre a DAAT é a principal barreira para o diagnóstico. Como as manifestações clínicas da doença pulmonar relacionada à DAAT são indistinguíveis das da DPOC, é necessário o diagnóstico laboratorial.⁽³⁵⁾ A OMS e sociedades científicas, como a *American Thoracic Society*, a *European Respiratory Society* e a *Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica*, bem como as Diretrizes Espanholas para DPOC e a GOLD, recomendam que todos os pacientes com DPOC sejam testados para DAAT pelo menos uma vez na vida independentemente da história tabágica e da idade.^(4,10,36-38) Outros candidatos ao teste de DAAT são pacientes com bronquiectasias, asma brônquica grave com obstrução brônquica progressiva ou evidência de enfisema pulmonar, doença hepática inexplicada em qualquer idade, vasculite sistêmica ou paniculite neutrofílica (Quadro 1).^(2,25) Deve-se realizar teste de predisposição em parentes de primeiro grau (irmãos, filhos e pais) e parceiros (para fins de genoma familiar) de indivíduos com DAAT.^(4,10,36-38)

O subdiagnóstico da DAAT no Brasil destaca a necessidade de testar pacientes com DPOC segundo as recomendações de diretrizes internacionais.⁽⁹⁾ Três estudos realizados no Brasil constataram que a triagem sistemática da DAAT em pacientes com DPOC aumentou as chances de identificação de pacientes com mutações no gene *SERPINA1*.^(16,39,40)

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Métodos diagnósticos padrão

A abordagem padrão para o diagnóstico da DAAT é centrada na dosagem da concentração de AAT no sangue, geralmente por nefelometria, e, em seguida, na identificação de alelos específicos por meio do estudo do fenótipo e/ou do genótipo.^(2,5,41)

O valor de referência para o nível sérico de AAT determinado por nefelometria em adultos saudáveis é de 116-232 mg/dL (21-41 μ mol/L).⁽⁴²⁾ No entanto, como a AAT é um reagente de fase aguda, juntamente com a proteína C reativa e a amiloide A, seus níveis plasmáticos aumentam em resposta a estímulos inflamatórios ou infecciosos.^(6,7,25) Além do mais,

Quadro 1. Candidatos a dosagem dos níveis de alfa-1 antitripsina.^a

<p>Indivíduos com DPOC</p> <p>Adultos com bronquiectasias nos quais as causas mais comuns foram descartadas</p> <p>Adultos com asma brônquica que desenvolveram obstrução brônquica progressiva ou apresentam evidências de enfisema pulmonar</p> <p>Parentes consanguíneos de pacientes com diagnóstico de DAAT</p> <p>Indivíduos que têm muitos familiares com dispneia e tosse crônica</p> <p>Indivíduos com doença hepática de causa desconhecida</p> <p>Indivíduos nos quais a análise do perfil proteico mostra ausência de pico de alfa-1 glicoproteína</p> <p>Indivíduos com paniculite ou vasculite de causa desconhecida</p>
--

Adaptado de Miravittles et al.⁽²⁾ e do documento de consenso português para o manejo da deficiência de alfa-1 antitripsina.⁽²⁵⁾ DAAT: deficiência de alfa-1 antitripsina. ^a Não se recomenda a dosagem rotineira dos níveis séricos de AAT.

como a DPOC associa-se a inflamação sistêmica, os níveis de AAT podem estar elevados em pacientes com DPOC em comparação a controles pareados por idade, aumentando assim os desafios de identificar possíveis heterozigotos entre a população com DPOC.^(43,44) Embora a presença de inflamação geralmente não influencie o diagnóstico da DAAT em homozigotos Pi*ZZ, para não deixar de detectar portadores ou outros pacientes com deficiência, pode ser útil adotar uma abordagem mais geral, medindo os níveis de proteína C reativa e AAT ao mesmo tempo. Um nível normal de proteína C reativa confirma que os níveis de AAT estão verdadeiramente, e não falsamente, elevados. Se o nível de proteína C reativa estiver aumentado, os níveis de AAT podem estar falsamente elevados, o que requer uma nova medição dos níveis de AAT em situação de estabilidade clínica.⁽⁴⁵⁾ Uma recomendação simples e prática é medir as concentrações de AAT quando o paciente estiver livre de inflamação ou infecção.

A fenotipagem proteica usa eletroforese por focalização isoelétrica (IEF, do inglês *isoelectric focusing*) para identificar as variantes de AAT mais comuns (S, Z, M e outras) presentes na amostra. Embora a IEF seja o padrão ouro laboratorial para a detecção de variantes da DAAT, ela requer experiência significativa na interpretação e apresenta limitações.⁽⁴⁶⁾ Mais notavelmente, o método não identifica todas as mutações patológicas presentes na amostra nem identifica variantes nulas que não produzem nenhuma proteína. Em casos em que o estudo do fenótipo não permite o diagnóstico (p. ex., variantes nulas, raras e muito raras), deve-se realizar genotipagem.

A genotipagem usa sondas de PCR para identificar os alelos de DAAT mais comuns, principalmente S e Z, mas também outros, dependendo dos *primers* disponíveis. O sequenciamento gênico pode ser necessário em casos de suspeita de variante nula ou deficiente que não S ou Z.^(2,5) Os métodos de genotipagem rápida podem ser usados para a pesquisa dos alelos mais comuns, Pi*S e Pi*Z, embora haja possibilidade de diagnóstico incorreto porque esses métodos não incluem alelos raros ou nulos.⁽²⁾ A análise molecular com sequenciamento direto do gene *SERPINA1* pode ser usada para identificar alelos raros e variantes nulas e para caracterizar novas variantes.⁽²⁾ A técnica envolve a análise completa das sequências de DNA de éxons codificadores de AAT no gene *SERPINA1*.

Ocasionalmente, também pode ser necessário estudar as sequências intrônicas e regulatórias do gene.^(2,47,48)

No Brasil, alguns grupos propuseram que a triagem da DAAT seja incluída no teste do pezinho realizado rotineiramente em recém-nascidos para doenças como fibrose cística e anemia falciforme, embora os opositores da proposta argumentem que medições rotineiras da AAT em recém-nascidos identificando uma deficiência genética poderiam colocar um fardo psicológico nas crianças afetadas.

Novos métodos diagnósticos

Novos métodos diagnósticos foram desenvolvidos e oferecem uma alternativa mais simples e portátil às amostras de plasma/soro para a realização do teste de DAAT. Por exemplo, amostras de sangue em papel-filtro fornecem o suficiente de amostra para medir os níveis de AAT e para realizar fenotipagem através de eletroforese por IEF, fornecendo quantidade e qualidade de DNA suficientes para detectar os alelos Pi*S e Pi*Z em um único exame de PCR em tempo real com sequenciamento direto.⁽⁴⁹⁾ Na Espanha, um programa nacional de detecção de casos de DAAT realizado com pacientes com DPOC, usando amostras de sangue em papel-filtro, concluiu que o método de triagem era viável, simples, rápido e custo-efetivo para uso nessa população de risco.^(50,51)

No Brasil, o método de sangue em papel-filtro para a medição das concentrações de AAT foi desenvolvido em 2011. Em 2013, um ensaio imunonefelométrico foi validado para uso em amostras séricas e amostras de sangue em papel-filtro de pacientes com DPOC.⁽⁵²⁾ O ponto de corte de 2,02 mg/dL (IC97%: 1,45-2,64 mg/dL) para as amostras de sangue em papel-filtro apresentou sensibilidade de 100%, especificidade de 95,7%, valor preditivo positivo de 27,2% e valor preditivo negativo de 100% para o diagnóstico de DAAT. O uso do valor máximo do intervalo de confiança como ponto de corte reduziu a possibilidade de resultados falso-negativos. Embora tenha havido apenas uma correlação moderada ($r = 0,45$) entre os níveis de AAT nas amostras séricas e nas amostras de sangue em papel-filtro, concluiu-se que as amostras de sangue em papel-filtro são uma alternativa útil às amostras séricas para a triagem de pacientes para DAAT no Brasil, pois o método proporciona uma triagem rápida e minimamente invasiva a um baixo custo.⁽⁵²⁾

Os novos métodos de genotipagem, como o teste de genotipagem A1AT (Progenika Biopharma S.A., Derio, Espanha), incluem a análise de alelos raros e nulos. Esse teste *point-of-care* permite a detecção e identificação simultâneas das 14 variantes alélicas mais comuns e seus alelos associados nos éxons II, III e V do gene *SERPINA1* (Quadro 2).⁽⁵³⁾ O teste envolve a amplificação por PCR do DNA genômico extraído de amostras de sangue (sangue total ou em papel-filtro) ou saliva, seguida de hibridização com sondas alélicas específicas usando tecnologia Luminex xMAP (Luminex Corp., Austin, TX, EUA) para detecção de ácidos nucleicos de alto rendimento.⁽⁵³⁾ Dois kits estão disponíveis para coleta de amostras para o teste de genotipagem A1AT, o kit de coleta de *swab* bucal (ORACollect DNA; DNA Genotek, Ottawa, ON, Canadá) e o kit de coleta de sangue em papel-filtro (AlphaKit+; Progenika Biopharma). O kit de coleta de *swab* bucal é o mais usado no Brasil. O teste é minimamente invasivo, não requer tempo de secagem e pode ser transportado pelo correio normal porque a integridade do DNA se mantém a temperatura ambiente. A amostra de *swab* bucal permanece estável por dois meses.⁽⁵⁴⁾

O teste de genotipagem A1AT oferece cobertura mundial incluindo algumas das mais comuns variantes alélicas raras (Mmalton, Mprocida, I, F) e ultrarraras entre as 14 variantes alélicas selecionadas.⁽⁵⁵⁾ A ausência de qualquer uma das 14 mutações no teste é relatada como "variante não detectada" e sugere que o genótipo pode ser o Pi*MM (genótipo normal).⁽⁵⁶⁾ Em casos em que os níveis séricos de AAT estão abaixo de 50 mg/dL e nenhuma das 14 mutações é detectada, o gene é sequenciado automaticamente pelo fabricante (Progenika Biopharma) para detectar variantes raras que podem não ter sido incluídas no teste.

Por meio da detecção rápida e simultânea de múltiplas variantes alélicas, o teste de genotipagem A1AT reduz o tempo de diagnóstico e o número de amostras que precisam ser sequenciadas. Na Itália,

investigadores relataram uma correlação de 100% entre o teste de genotipagem A1AT e o seu próprio algoritmo diagnóstico, bem como uma redução de 66% no tempo de diagnóstico para amostras que não necessitaram de sequenciamento (que leva aproximadamente 3 dias).⁽⁵⁵⁾ Um grupo da Alemanha relatou que o uso do teste de genotipagem A1AT resultou em reduções de 79% e 63,4%, respectivamente, nas medições nefelométricas e no número de amostras que necessitaram de sequenciamento gênico, em comparação ao fluxo de trabalho tradicional (PCR convencional), embora o número de ensaios de eletroforese por IEF tenha permanecido inalterado. Por meio do aumento do número de mutações detectadas de 2 (S e Z) para 14, o método baseado em Luminex resultou em uma mediana de tempo até o diagnóstico de genótipos raros de 14 dias, contra 83 dias para os métodos tradicionais.⁽⁵⁷⁾ Recentemente, investigadores na Espanha⁽⁵⁶⁾ relataram os resultados iniciais de um estudo observacional em andamento que avalia um novo circuito nacional de diagnóstico da DAAT com base na tecnologia multiplex Luminex usando registro on-line. A análise incluiu 5.803 amostras de *swabs* bucais (85,9%) e de sangue em papel-filtro (14,1%) enviadas pelo correio para um laboratório central. A prevalência de combinações de alelos comuns (MS: 19%; MZ: 14,4%; SS: 2,9%; SZ: 3,7%; e ZZ: 1,4%) se alinhou a estimativas relatadas anteriormente para a Espanha, e o sistema foi eficaz em diagnosticar a DAAT em tempo hábil.⁽⁵⁶⁾

Algoritmo diagnóstico

Um problema enfrentado por todos os médicos que tratam uma doença rara é a aplicabilidade de diretrizes na tomada de decisões de manejo específicas às suas circunstâncias. Uma revisão recente⁽⁵⁸⁾ de 15 diretrizes práticas internacionais sobre DAAT disponíveis, publicadas entre 1989 e 2017, identificou variação substancial nas recomendações de manejo. Acredita-se que o nível moderado de concordância

Quadro 2. Variantes alélicas detectadas com o teste de genotipagem A1AT (Progenika Biopharma, Derio, Espanha).

Variantes	Alelos associados	Atividade de AAT prevista
c.187C>T	Pi*I	Reduzida (leve)
c.194T>C	Pi*M procida	Reduzida (grave)
c.226_228delTTC	Pi*M malton, Pi*M palermo, Pi*M nichinan	Reduzida (grave)
c.230C>T	Pi*S iiyama	Reduzida (grave)
c.552delC	Pi*Q0 granite falls	Nenhuma (proteína ausente)
c.646+1G>T	Pi*Q0 west	Nenhuma (proteína ausente)
c.721A>T	Pi*Q0 bellingham	Nenhuma (proteína ausente)
c.739C>T	Pi*F	Reduzida (leve)
c.839A>T	Pi*P lowell, Pi*P duarte, Pi*Q0 cardiff, Pi*Y barcelona	Reduzida (leve)
c.863A>T	Pi*S	Reduzida (leve)
c.1096G>A	Pi*Z	Reduzida (grave)
c.1130dupT	Pi*Q0 mattawa, Pi*Q0 ourem	Nenhuma (proteína ausente)
c.1158dupC	Pi*Q0 clayton, Pi*Q0 saarbruecken	Nenhuma (proteína ausente)
c.1178C>T	Pi*M heerlen	Reduzida (grave)

Adaptado da *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos.⁽⁵³⁾ AAT: alfa-1 antitripsina; e Pi: inibidor de proteinase.

quanto a “quando testar” (10 recomendações; 41%) e “como testar” (2 recomendações; 56%) seja reflexo de variações regionais na prevalência da doença, nas manifestações clínicas e nos modelos de financiamento de cuidados de saúde.⁽⁵⁸⁾

No Fórum Ibero-Americano de 2019, foi proposto um novo algoritmo para o diagnóstico da DAAT (Figura 1). O algoritmo foi desenvolvido conjuntamente pelo Registro Espanhol de Pacientes com Deficiência de Alfa-1 Antitripsina e a *Asociación Latinoamericana de Tórax* e se aplica a regiões (incluindo o Brasil) onde o teste de genotipagem A1AT está disponível. De acordo

com o algoritmo, pacientes com DPOC, parentes de primeiro grau e parceiros de pacientes com diagnóstico de DAAT e outros pacientes de alto risco (Quadro 1) devem ser testados para DAAT. O algoritmo apresenta duas vias: uma via convencional de teste que envolve a triagem dos níveis séricos de AAT como primeiro passo e uma via alternativa que envolve o diagnóstico genético das 14 variantes alélicas mais comumente associadas à DAAT como primeiro passo. De acordo com a via convencional, níveis séricos de AAT < 116 mg/dL (avaliados por nefelometria) são indicativos de “possível DAAT” e devem ser seguidos de teste confirmatório.

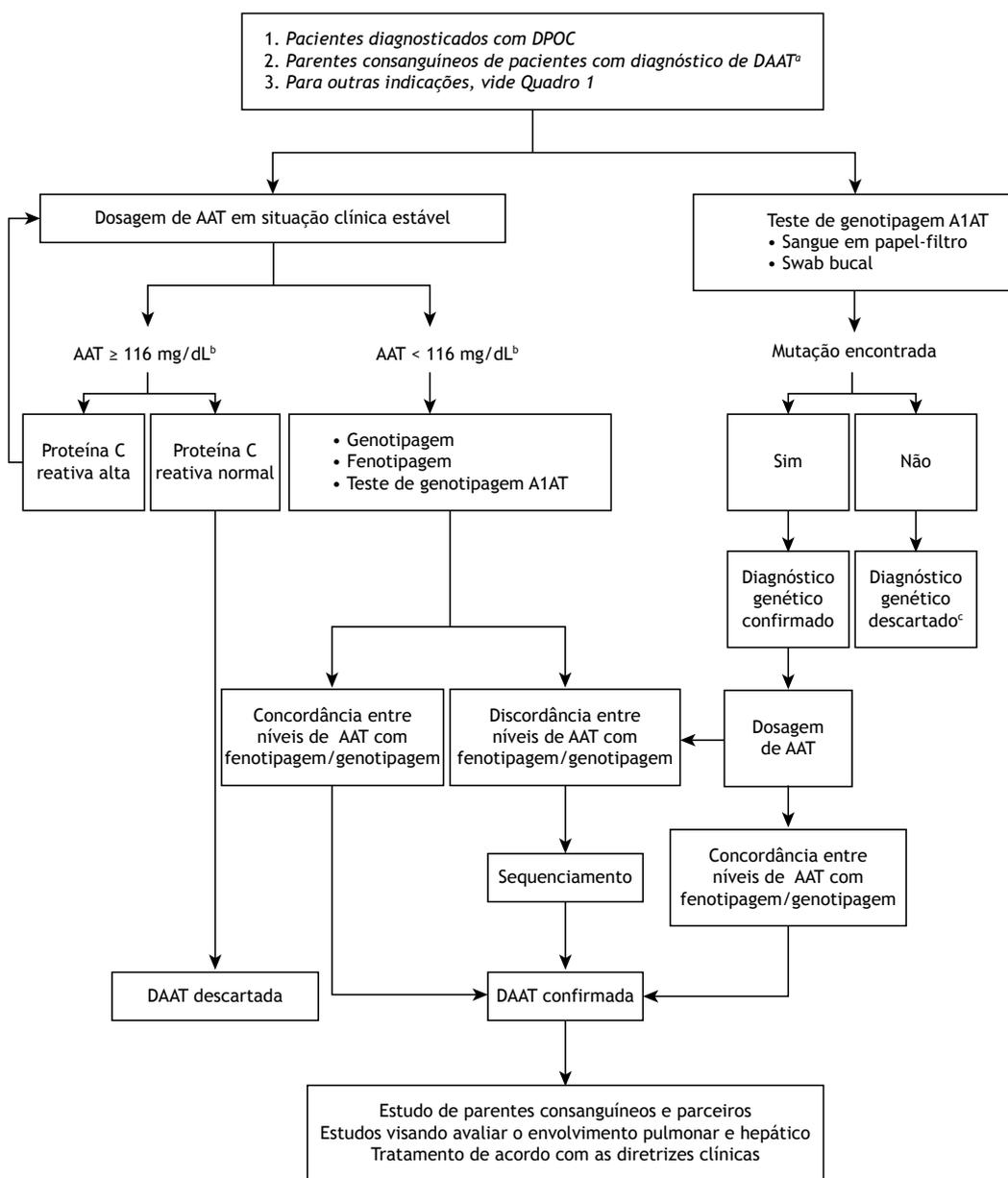


Figura 1. Algoritmo diagnóstico da deficiência de alfa-1 antitripsina. DAAT: deficiência de alfa-1 antitripsina; e AAT: alfa-1 antitripsina. ^aEm casos de pacientes diagnosticados com DAAT, investigar parceiros para avaliar o risco da doença nos filhos. ^bDosagem no sangue por nefelometria. Para outras técnicas, aplicar fator de conversão. ^cSe houver alta suspeita clínica de DAAT, realizar dosagem dos níveis de AAT em situação clínica estável.

Os testes confirmatórios incluem fenotipagem e/ou genotipagem para identificar as variantes mais comuns a fim de estabelecer quais alelos do gene *SERPINA1* estão presentes. A via alternativa recomenda o uso do teste de genotipagem A1AT (Progenika Biopharma) como primeiro passo para a identificação e genotipagem simultâneas das 14 variantes deficientes mais comuns do gene *SERPINA1*. Após o diagnóstico genético, a DAAT é confirmada com base nos níveis séricos de AAT. Em qualquer uma das vias, o sequenciamento gênico (o teste confirmatório mais sensível) pode ser necessário se os resultados do teste de triagem sérica e do teste genético/fenotípico forem discordantes. Em um estudo transversal no Brasil, em uma amostra de 926 pacientes submetidos à dosagem dos níveis de AAT, apenas 3 necessitaram de sequenciamento gênico em razão de resultados discordantes.⁽¹⁶⁾

A grande maioria dos pacientes com DAAT se beneficiará de aconselhamento genético, prevenção de danos pulmonares e intervenção terapêutica. As medidas farmacológicas e não farmacológicas para pacientes com DPOC associada à DAAT são semelhantes àquelas para pacientes com DPOC sem DAAT.^(10,37,59) Pacientes com DPOC associada à DAAT grave (concentrações séricas de AAT ≤ 50 mg/dL), que nunca fumaram ou são ex-fumantes, ou pacientes com $VEF_1 < 80\%$ do valor previsto que apresentam comprometimento da função pulmonar ou progressão do enfisema apesar do tratamento padrão da DPOC podem ser candidatos à terapia de reposição com AAT purificada,^(10,37) embora as recomendações específicas possam variar de acordo com o país.⁽⁵⁸⁾

AValiação DO PACIENTE: EXAMES COMPLEMENTARES

Após o diagnóstico de DAAT, o paciente deve ser examinado quanto à presença e extensão do envolvimento pulmonar e hepático, bem como quanto a condições menos comumente associadas, como vasculite e paniculite. A história clínica, o exame físico e a história familiar devem ser levados em conta na interpretação dos resultados. Os exames complementares a serem realizados em pacientes com DPOC causada pela DAAT estão resumidos no Quadro 3.

Testes de função pulmonar

A espirometria é o teste básico de função respiratória para diagnosticar a DPOC. Em pacientes com DPOC causada pela DAAT, a espirometria pós-broncodilatador geralmente mostra um padrão obstrutivo típico, com relação $VEF_1/CVF < 0,7$, redução do VEF_1 e CVF normal ou reduzida. Em fumantes com DAAT, a redução do VEF_1 se acelera proporcionalmente à carga tabagística (anos-maço). A curva fluxo-volume mostra redução do fluxo pulmonar com forma côncava típica.⁽³⁸⁾

O estudo dos volumes pulmonares em pacientes enfisematosos mostra aumento do VR e hiperinsuflação, traduzindo-se em aumento da CPT e da relação VR/CPT.⁽³⁸⁾ A DLCO está diminuída e se correlaciona com

a perda do parênquima pulmonar observada pela TC e com o grau de enfisema anatômico.^(60,61)

A perda de função pulmonar em pacientes com DAAT pode levar a insuficiência respiratória. A investigação de enfisema pulmonar requer espirometria pós-broncodilatador e a determinação de volumes pulmonares estáticos e DLCO, bem como gasometria arterial se a SpO_2 for $< 92\%$. Teste de exercício cardiopulmonar também pode ser necessário. A tolerância ao esforço pode ser limitada em razão da obstrução das vias aéreas, redução da capacidade ventilatória e hiperinsuflação dinâmica.⁽⁶²⁾ A dessaturação em teste de caminhada ou em teste de capacidade de exercício se correlaciona mais intimamente com a redução da qualidade de vida em pacientes com DAAT.⁽⁶³⁾

As recomendações atuais para o manejo da DAAT incluem avaliação clínica inicial, teste de função pulmonar completo, gasometria arterial em casos de SpO_2 baixa e, nas avaliações de acompanhamento, espirometria anual.^(2,10,25,64,65)

Exames de imagem

As radiografias simples de tórax são geralmente normais nos estágios iniciais da DAAT, mas mostram achados característicos de enfisema em até 85% dos casos à medida que a doença progride. Os achados incluem hiperinsuflação com achatamento do diafragma, aumento do espaço retroesternal, coração pequeno, artérias hilares normais ou proeminentes e diminuição do calibre dos vasos periféricos.⁽⁶⁶⁾

Conforme demonstrado em estudos clínicos até o momento, a TC expressa em termos de densidade pulmonar é uma ferramenta útil para a caracterização da estrutura pulmonar e a avaliação do impacto das intervenções terapêuticas na DPOC associada à DAAT.⁽⁶⁷⁾ A TC quantitativa fornece uma estimativa da extensão e gravidade do enfisema que independe do leitor e se correlaciona com diversas medidas de doença e desfechos clínicos.

A TC de tórax é mais sensível do que as radiografias de tórax na detecção de alterações enfisematosas e bronquiectasias precoces. Até 90% dos pacientes com DAAT grave que são fumantes desenvolverão enfisema, contra 65% dos pacientes com DAAT que não são fumantes.⁽⁶⁸⁾ O enfisema é caracteristicamente panacinar, bilateral e basal (Figura 2), embora até um terço dos pacientes apresente distribuição em lobo superior, mais frequentemente encontrada em fumantes.⁽⁶⁹⁾ Esse padrão é mais comum em heterozigotos PI^*SZ .⁽⁷⁰⁾ A TC tem sido proposta como o melhor método para avaliar a progressão do enfisema, embora sua aplicação atualmente permaneça limitada a estudos clínicos.⁽⁷¹⁾

Testes hepáticos

A função hepática em pacientes com DAAT pode ser avaliada por meio da dosagem dos níveis de transaminase pirúvica, transaminase oxalacética, gama-glutamil transferase, bilirrubina e albumina, bem como por meio da realização de testes de coagulação.^(30,31)

Quadro 3. Exames complementares para pacientes com DPOC associada à deficiência de alfa-1 antitripsina.

Exames	Tipos	Utilidade clínica
Laboratoriais	Bioquímica básica, incluindo testes de função hepática e dosagem de imunoglobulinas séricas ^a	
Respiratórios	Espirometria forçada	Avaliação do padrão obstrutivo (relação VEF ₁ /CVF < 0,7) e de sua gravidade (VEF ₁)
	Teste de broncodilatação	Avaliação da reversibilidade da obstrução brônquica
	Volumes pulmonares e DLCO	Avaliação do grau de hiperinsuflação pulmonar e da capacidade de trocas gasosas em nível pulmonar
De imagem	Radiografia de tórax	Exame básico em todos os pacientes com sintomas respiratórios
	TC de tórax	Confirmação da extensão, localização e tipo de enfisema, bem como da presença de bronquiectasias
	Ultrassonografia hepática	Sensível e útil para detecção de acometimento hepático
	Elastografia	
	Ressonância magnética	

^aDosagem de imunoglobulinas séricas: necessária para detectar a deficiência grave de imunoglobulina A, i que contraindica o tratamento com alfa-1 antitripsina intravenosa.

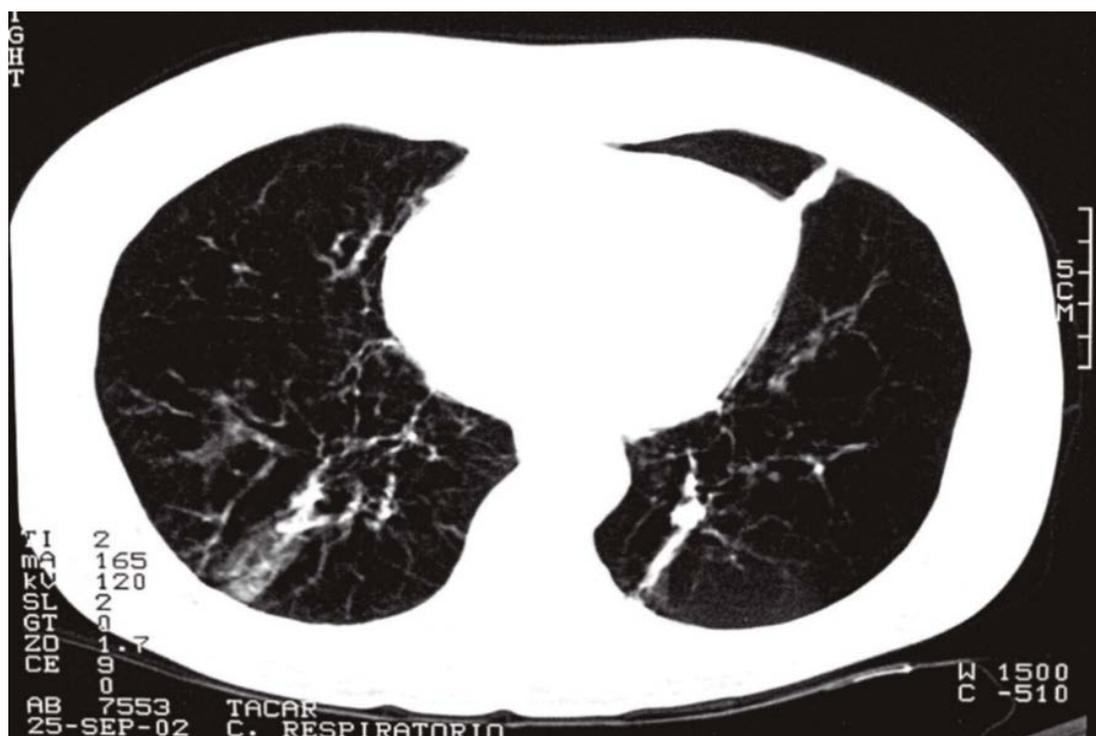


Figura 2. TC de tórax de paciente com enfisema pulmonar causado por grave deficiência de alfa-1 antitripsina (forma homozigótica PI*ZZ) mostrando enfisema panlobular bilateral característico, com predomínio em bases pulmonares. Imagem cortesia de F Casas-Maldonado.

Outros exames, como ultrassonografia, elastografia transitória e angiografia por ressonância magnética de fígado, também podem ser realizados quando necessário e são altamente sensíveis para detectar o envolvimento hepático.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil, como em outros países, não se pode ignorar a presença da DAAT. O diagnóstico precoce pode ter um impacto positivo no sentido de convencer

indivíduos com DAAT a evitar o tabagismo e minimizar sua exposição a poluentes ambientais, potencialmente alterando a história natural da doença e limitando sua progressão. A terapia de reposição de AAT pode ser indicada em certos casos.

A detecção de casos de DAAT deve ser realizada em todos os pacientes com DPOC independentemente de idade, sexo, história tabagística e início dos sintomas respiratórios. A avaliação sistemática dos pacientes com DPOC no Brasil demonstrou ser suficientemente eficaz e é recomendada como método de triagem.

As novas ferramentas diagnósticas, como o teste de genotipagem A1AT que usa *swab* bucal ou sangue em papel-filtro, podem contribuir para superar o subdiagnóstico da DAAT no Brasil, pois oferecem uma alternativa minimamente invasiva, confiável e rápida aos métodos tradicionais. Estratégias complementares para melhorar o diagnóstico incluem educação médica continuada, fácil acesso a exames laboratoriais e campanhas de conscientização pública sobre a DAAT e suas manifestações clínicas. Mais estudos sobre a prevalência e as ferramentas de triagem da DAAT também seriam úteis para apoiar a implementação de programas eficientes e custo-efetivos para a detecção e o manejo de pacientes com DAAT no Brasil.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a Sohita Dhillon e Kerry Dechant em nome da Content Ed Net (Madri, Espanha) a assistência editorial, que foi apoiada financeiramente pela Grifols S.A. (Barcelona, Espanha).

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

JRJ, FCM e MM: concepção e planejamento da revisão, interpretação dos achados, redação e revisão das versões preliminares e final e aprovação da versão final. FLAF, MVCOC e MTD: redação e revisão das versões preliminares e final e aprovação da versão final.

REFERÊNCIAS

- Vidal R, Blanco I, Casas F, Jardim R, Miravittles M; Committee on the National Registry of Individuals with Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. Guidelines for the diagnosis and management of alpha-1 antitrypsin deficiency. *Arch Bronconeumol*. 2006;42(12):645-659. [https://doi.org/10.1016/s1579-2129\(07\)60007-x](https://doi.org/10.1016/s1579-2129(07)60007-x)
- Miravittles M, Dirksen A, Ferrarotti I, Kobizek V, Lange P, Mahadeva R, et al. European Respiratory Society statement: diagnosis and treatment of pulmonary disease in α 1-antitrypsin deficiency. *Eur Respir J*. 2017;50(5):1700610. <https://doi.org/10.1183/13993003.00610-2017>
- Araújo D, Sucena M. Association between alpha 1 antitrypsin and bronchiectasis *Eur Respir J* 2015;46:PA1248. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2015.PA1248>
- American Thoracic Society; European Respiratory Society. 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(7):818-900. <https://doi.org/10.1164/rccm.168.7.818>
- Sandhaus RA, Turino G, Brantly ML, Campos M, Cross CE, Goodman K, et al. The Diagnosis and Management of Alpha-1 Antitrypsin Deficiency in the Adult. *Chronic Obstr Pulm Dis*. 2016;3(3):668-682. <https://doi.org/10.15326/jcopdf.3.3.2015.0182>
- de Serres F, Blanco I. Role of alpha-1 antitrypsin in human health and disease. *J Intern Med*. 2014;276(4):311-335. <https://doi.org/doi:10.1111/joim.12239>
- Blanco I. Alpha-1 antitrypsin biology. In: Blanco I, editor. *Blanco's overview of alpha-1 antitrypsin deficiency*: Academic Press; 2017. p. 23-37.
- Desueza Flores W, Latiff Essa A. Hereditary lung diseases [Article in Spanish]. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2018;12(63):3719-3725. <https://doi.org/10.1016/j.med.2018.09.013>
- Godoy I. Diagnosing alpha-1 antitrypsin deficiency: does it prevent or improve the course of COPD?. *J Bras Pneumol*. 2016;42(5):307-308. <https://doi.org/10.1590/S1806-37562016000400002>
- Casas F, Blanco I, Martínez MT, Bustamante A, Miravittles M, Cadenas S, et al. Indications for active case searches and intravenous alpha-1 antitrypsin treatment for patients with alpha-1 antitrypsin deficiency chronic pulmonary obstructive disease: an update. *Arch Bronconeumol*. 2015;51(4):185-192. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2014.05.008>
- Greulich T, Vogelmeier CF. Alpha-1-antitrypsin deficiency: increasing awareness and improving diagnosis. *Ther Adv Respir Dis*. 2016;10(1):72-84. <https://doi.org/10.1177/1753465815602162>
- Stoller JK. Detecting Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Ann Am Thorac Soc*. 2016;13 Suppl 4:S317-S325. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201506-349KV>
- Esquinas C, Barrecheguren M, Sucena M, Rodriguez E, Fernandez S, Miravittles M. Practice and knowledge about diagnosis and treatment of alpha-1 antitrypsin deficiency in Spain and Portugal. *BMC Pulm Med*. 2016;16:64. <https://doi.org/10.1186/s12890-016-0222-4>
- Menezes AM, Perez-Padilla R, Jardim JR, Muiño A, Lopez MV, Valdivia G, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. *Lancet*. 2005;366(9500):1875-1881. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67632-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67632-5)
- Lascano JE, Campos MA. The important role of primary care providers in the detection of alpha-1 antitrypsin deficiency. *Postgrad Med*. 2017;129(8):889-895. <https://doi.org/10.1080/00325481.2017.1381539>
- Russo R, Zillmer LR, Nascimento OA, Manzano B, Ivanaga IT, Fritscher L, et al. Prevalence of alpha-1 antitrypsin deficiency and allele frequency in patients with COPD in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2016;42(5):311-316. <https://doi.org/10.1590/S1806-37562015000000180>
- Esquinas C, Janciauskienė S, Gonzalo R, Mas de Xaxars G, Olejnicka B, Belmonte I, et al. Gene and miRNA expression profiles in PBMCs from patients with severe and mild emphysema and PIZZ alpha1-antitrypsin deficiency. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017;12:3381-3390. <https://doi.org/10.2147/COPD.S145445>
- Matamala N, Lara B, Gómez-Mariano G, Martínez S, Vázquez-Domínguez I, Otero-Sobrinho Á, et al. miR-320c Regulates SERPINA1 Expression and Is Induced in Patients With Pulmonary Disease [published online ahead of print, 2020 May 18]. *Arch Bronconeumol*. 2020;S0300-2896(20)30084-3. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2020.03.006>
- Alpha-1 antitrypsin Pi*Z gene frequency and Pi*ZZ genotype numbers worldwide: an update. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017;12:561-569. <https://doi.org/10.2147/COPD.S125389>
- de Serres FJ, Blanco I. Prevalence of α 1-antitrypsin deficiency alleles Pi*S and Pi*Z worldwide and effective screening for each of the five phenotypic classes Pi*M*S, Pi*M*Z, Pi*S*S, Pi*S*Z, and Pi*Z*Z: a comprehensive review. *Ther Adv Respir Dis*. 2012;6(5):277-295. <https://doi.org/10.1177/1753465812457113>
- Blanco I, Diego I, Bueno P, Pérez-Holanda S, Casas-Maldonado F, Miravittles M. Prevalence of α 1-antitrypsin PIZZ genotypes in patients with COPD in Europe: a systematic review. *Eur Respir Rev*. 2020;29(157):200014. <https://doi.org/10.1183/16000617.0014-2020>
- Menga G, Fernandez Acquier M, Echazarreta AL, Sorroche PB, Lorenzon MV, Fernández ME, et al. Prevalence of Alpha-1 Antitrypsin Deficiency in COPD Patients in Argentina. The DAAT.AR Study. Prevalencia de déficit de alfa-1 antitripsina en pacientes con EPOC en Argentina. Estudio DAAT.AR. *Arch Bronconeumol*. 2020;56(9):571-577. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2019.11.010>
- Rodríguez-Frías F, Miravittles M, Vidal R, Camos S, Jardim R. Rare alpha-1-antitrypsin variants: are they really so rare?. *Ther Adv Respir Dis*. 2012;6(2):79-85. <https://doi.org/10.1177/1753465811434320>
- Camelier AA, Winter DH, Jardim JR, Barboza CE, Cukier A, Miravittles M. Alpha-1 antitrypsin deficiency: diagnosis and treatment [Article in Portuguese]. *J Bras Pneumol*. 2008;34(7):514-527. <https://doi.org/10.1590/s1806-37132008000700012>
- Portuguese consensus document for the management of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Pulmonology*. 2018;24 Suppl 1:1-21. <https://doi.org/10.1016/j.pulmoe.2018.09.004>
- Santangelo S, Scarlata S, Poeta ML, Biasal AJ, Paone G, Incalzi RA. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Current Perspective from Genetics to Diagnosis and Therapeutic Approaches. *Curr Med Chem*. 2017;24(1):65-90. <https://doi.org/10.2174/092986732466616118125827>

27. Craig TJ, Henao MP. Advances in managing COPD related to $\alpha 1$ -antitrypsin deficiency: An under-recognized genetic disorder. *Allergy*. 2018;73(11):2110-2121. <https://doi.org/10.1111/all.13558>
28. Barrecheguren M, Bals R, Miravittles M. Clinical approach to diagnosis and assessment. In: Strnad P, Brantly ML, Bals R, eds. *$\alpha 1$ -Antitrypsin deficiency (ERS Monograph)*. Sheffield: European Respiratory Society; 2019. p. 64-77.
29. Stockley RA, Miravittles M, Vogelmeier C; Alpha One International Registry (A.I.R.). Augmentation therapy for alpha-1 antitrypsin deficiency: towards a personalised approach. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8:149. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-8-149>
30. Tanash HA, Piitulainen E. Liver disease in adults with severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *J Gastroenterol*. 2019;54(6):541-548. <https://doi.org/10.1007/s00535-019-01548-y>
31. Hamesch K, Mandorfer M, Pereira VM, Moeller LS, Pons M, Dolman GE, et al. Liver Fibrosis and Metabolic Alterations in Adults With alpha-1-antitrypsin Deficiency Caused by the Pi*ZZ Mutation. *Gastroenterology*. 2019;157(3):705-719.e18. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.05.013>
32. Eriksson S, Carlson J, Velez R. Risk of cirrhosis and primary liver cancer in alpha 1-antitrypsin deficiency. *N Engl J Med*. 1986;314(12):736-739. <https://doi.org/10.1056/NEJM198603203141202>
33. Tirado-Conde G, Lara B, Casas F, Blanco I, Bustamante A, Cadenas S, et al. Factors associated with the evolution of lung function in patients with alpha-1 antitrypsin deficiency in the Spanish registry. *Arch Bronconeumol*. 2011;47(10):495-503. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2011.06.002>
34. Lara B, Miravittles M. Spanish Registry of Patients With Alpha-1 Antitrypsin Deficiency; Comparison of the Characteristics of PISZ and PIZZ Individuals. *COPD*. 2015;12 Suppl 1:27-31. <https://doi.org/10.3109/15412555.2015.1021912>
35. Strnad P, McElvaney NG, Lomas DA. Alpha1-Antitrypsin Deficiency. *N Engl J Med*. 2020;382(15):1443-1455. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1910234>
36. Alpha 1-antitrypsin deficiency: memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ*. 1997;75(5):397-415.
37. Miravittles M, Soler-Cataluña JJ, Calle M, Molina J, Almagro P, Quintano JA, et al. Spanish Guidelines for Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (GesEPOC) 2017. Pharmacological Treatment of Stable Phase. *Arch Bronconeumol*. 2017;53(6):324-335. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2017.03.018>
38. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Bethesda: GOLD [updated 2019, cited 2020 Jul 9]. *Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of chronic obstructive pulmonary disease*. 2019 Report. [Adobe Acrobat document, 155p.]. Available from: <https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2018/11/GOLD-2019-v1.7-FINAL-14Nov2018-WMS.pdf>
39. da Costa CH, Noronha Filho AJ, Marques E Silva RMF, da Cruz TF, de Oliveira Monteiro V, Pio M, et al. Alpha 1-antitrypsin deficiency in patients with chronic obstructive pulmonary disease patients: is systematic screening necessary?. *BMC Res Notes*. 2019;12(1):10. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-4043-9>
40. Felisbino MB, Fernandes FLA, Nucci MCNM, Pinto RMC, Pizzichini E, Cukier A. The patient profile of individuals with Alpha-1 antitrypsin gene mutations at a referral center in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2018;44(5):383-389. <https://doi.org/10.1590/S1806-3756201700000420>
41. Miravittles M, Herr C, Ferrarotti I, Jardi R, Rodriguez-Frías F, Luisetti M, et al. Laboratory testing of individuals with severe alpha-1-antitrypsin deficiency in three European centres. *Eur Respir J*. 2010;35(5):960-968. <https://doi.org/10.1183/09031936.00069709>
42. Vidal R, Miravittles M, Jardi R, Torrella M, Rodríguez-Frías F, Moral P, et al. Study of the frequency of different phenotypes of alpha-1-antitrypsin in a population of Barcelona. [Article in Spanish]. *Med Clin (Barc)*. 1996;107(6):211-214.
43. Janciauskiene S, DeLuca DS, Barrecheguren M, Welte T, Miravittles M; Scientific Committee, et al. Serum Levels of Alpha-1-antitrypsin and Their Relationship With COPD in the General Spanish Population. *Arch Bronconeumol*. 2020;56(2):76-83. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2019.03.001>
44. Ellis P, Turner A. What Do Alpha-1 Antitrypsin Levels Tell Us About Chronic Inflammation in COPD?. *Arch Bronconeumol*. 2020;56(2):72-73. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2019.06.010>
45. Sanders CL, Ponte A, Kueppers F. The Effects of Inflammation on Alpha 1 Antitrypsin Levels in a National Screening Cohort [published correction appears in COPD. 2019 Apr;16(2):xi]. *COPD*. 2018;15(1):10-16. <https://doi.org/10.1080/15412555.2017.1401600>
46. Greene DN, Elliott-Jelf MC, Straseski JA, Grenache DG. Facilitating the laboratory diagnosis of $\alpha 1$ -antitrypsin deficiency. *Am J Clin Pathol*. 2013;139(2):184-191. <https://doi.org/10.1309/AJCP6XBK8ULZXWFP>
47. Lara B, Martínez MT, Blanco I, Hernández-Moro C, Velasco EA, Ferrarotti I, et al. Severe alpha-1 antitrypsin deficiency in composite heterozygotes inheriting a new splicing mutation QOMadrid. *Respir Res*. 2014;15(1):125. <https://doi.org/10.1186/s12931-014-0125-y>
48. Hernández Pérez JM, Pérez Pérez JA. Changes in the Melting Point of Hybridization Probes Used for Genotyping in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Do Not Always Imply Errors. *Arch Bronconeumol*. 2019 Jun;55(6):339-340. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2018.09.009>
49. Rodriguez F, Jardi R, Costa X, Cotrina M, Galimany R, Vidal R, et al. Rapid screening for alpha1-antitrypsin deficiency in patients with chronic obstructive pulmonary disease using dried blood specimens. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(6):814-817. <https://doi.org/10.1164/rccm.2203025>
50. de la Roza C, Rodríguez-Frías F, Lara B, Vidal R, Jardi R, Miravittles M. Results of a case-detection programme for alpha1-antitrypsin deficiency in COPD patients. *Eur Respir J*. 2005;26(4):616-622. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00007305>
51. de la Roza C, Lara B, Vilà S, Miravittles M. Alpha1-antitrypsin deficiency: situation in Spain and development of a screening program [Article in Spanish]. *Arch Bronconeumol*. 2006;42(6):290-298. [https://doi.org/10.1016/s1579-2129\(06\)60145-6](https://doi.org/10.1016/s1579-2129(06)60145-6)
52. Zillmer LR, Russo R, Manzano BM, Ivanaga I, Nascimento OA, Souza AA, et al. Validation and development of an immunonephelometric assay for the determination of alpha-1 antitrypsin levels in dried blood spots from patients with COPD. *J Bras Pneumol*. 2013;39(5):547-554. <https://doi.org/10.1590/S1806-37132013000500004>
53. U.S. Food and Drug Administration (FDA) [homepage on the Internet]. Silver Spring, MD: FDA; [updated 2019 Nov 5; cited 2020 May 28]. A1AT Genotyping Test package insert. [Adobe Acrobat document, 14p.]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf19/K192858.pdf
54. Brantly M, Campos M, Davis AM, D'Armiento J, Goodman K, Hanna K, et al. Detection of alpha-1 antitrypsin deficiency: the past, present and future. *Orphanet J Rare Dis*. 2020;15(1):96. <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01352-5>
55. Ottaviani S, Barzon V, Buxens A, Gorrini M, Larruskain A, El Hamss R, et al. Molecular diagnosis of alpha1-antitrypsin deficiency: A new method based on Luminex technology. *J Clin Lab Anal*. 2020;34(7):e23279. <https://doi.org/10.1002/jcla.23279>
56. Lopez-Campos JL, Casas-Maldonado F, Torres-Duran M, Medina-González A, Rodríguez-Fidalgo ML, Carrascosa I, et al. Results of a Diagnostic Procedure Based on Multiplex Technology on Dried Blood Spots and Buccal Swabs for Subjects With Suspected Alpha1 Antitrypsin Deficiency. *Arch Bronconeumol*. 2021;57(1):42-50. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2020.04.014>
57. Veith M, Klemmer A, Anton I, El Hamss R, Rapun N, Janciauskiene S, et al. Diagnosing Alpha-1-Antitrypsin Deficiency Using A PCR/Luminescence-Based Technology. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2019;14:2535-2542. <https://doi.org/10.2147/COPD.S224221>
58. Attaway A, Majumdar U, Sandhaus RA, Nowacki AS, Stoller JK. An analysis of the degree of concordance among international guidelines regarding alpha-1 antitrypsin deficiency. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2019;14:2089-2101. <https://doi.org/10.2147/COPD.S208591>
59. Pleguezuelos E, Gimeno-Santos E, Hernández C, Mata MDC, Palacios L, Piñera P, et al. Recommendations on non-Pharmacological Treatment in Chronic Obstructive Pulmonary Disease From the Spanish COPD Guidelines (GesEPOC 2017). *Arch Bronconeumol*. 2018;54(11):568-575. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2018.06.001>
60. Morrison NJ, Abboud RT, Ramadan F, Miller RR, Gibson NN, Evans KG, et al. Comparison of single breath carbon monoxide diffusing capacity and pressure-volume curves in detecting emphysema. *Am Rev Respir Dis*. 1989;139(5):1179-1187. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/139.5.1179>
61. Gould GA, Redpath AT, Ryan M, Warren PM, Best JJ, Flenley DC, et al. Lung CT density correlates with measurements of airflow limitation and the diffusing capacity. *Eur Respir J*. 1991;4(2):141-146.
62. ERS Task Force, Palange P, Ward SA, Carlsen KH, Casaburi R, Gallagher CG, et al. Recommendations on the use of exercise testing in clinical practice. *Eur Respir J*. 2007;29(1):185-209. <https://doi.org/10.1183/09031936.00046906>
63. Dowson LJ, Newall C, Guest PJ, Hill SL, Stockley RA. Exercise capacity predicts health status in alpha(1)-antitrypsin deficiency. *Am*

- J Respir Crit Care Med. 2001;163(4):936-941. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.163.4.2007048>
64. Rodríguez E, Michel FJ, Curí S. Historia natural, diagnóstico clínico y seguimiento. In: Blanco I, Lara B, editors. Déficit de alfa-1 antitripsina: fisiopatología, enfermedades relacionadas, diagnóstico y tratamiento. 2nd ed. Barcelona: Respira Fundación Española del Pulmón-SEPAR; 2016. p. 169-190. Available from: <https://issuu.com/separ/docs/libro-daat>
 65. Grupo de Trabajo de GesEPOC, Task Force of GesEPOC. Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) – Spanish Guideline for COPD (GesEPOC) [Article in Spanish. Arch Bronconeumol. 2012;48(Suppl 1):2-58. [https://doi.org/10.1016/S0300-2896\(12\)70035-2](https://doi.org/10.1016/S0300-2896(12)70035-2)
 66. Vargas Romero J. Aspectos básicos en radiología de tórax. In: Soto Campos JB, editor. Manual de diagnóstico y terapéutica en Neumología. 3rd ed. Majadahonda (Madrid): Neumosur; 2016. p. 13-40. Available from: https://www.neumosur.net/publicaciones_ebooks.php
 67. Campos MA, Diaz AA. The Role of Computed Tomography for the Evaluation of Lung Disease in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. Chest. 2018;153(5):1240-1248. <https://doi.org/doi:10.1016/j.chest.2017.11.017>
 68. Tobin MJ, Cook PJ, Hutchison DC. Alpha 1 antitrypsin deficiency: the clinical and physiological features of pulmonary emphysema in subjects homozygous for Pi type Z. A survey by the British Thoracic Association. Br J Dis Chest. 1983;77(1):14-27. [https://doi.org/10.1016/0007-0971\(83\)90002-5](https://doi.org/10.1016/0007-0971(83)90002-5)
 69. Stoller JK. Clinical manifestations, diagnosis, and natural history of alpha-1 antitrypsin deficiency. Barnes PJ, Hollingsworth H, editors. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc. [updated 2019 Apr 9; cited 2020 Jul 9]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-diagnosis-and-natural-history-of-alpha-1-antitrypsin-deficiency>
 70. Holme J, Stockley RA. CT scan appearance, densitometry, and health status in protease inhibitor SZ alpha1-antitrypsin deficiency. Chest. 2009;136(5):1284-1290. <https://doi.org/10.1378/chest.09-0057>
 71. Choromańska A, Macura KJ. Role of computed tomography in quantitative assessment of emphysema. Pol J Radiol. 2012;77(1):28-36. <https://doi.org/10.12659/pjr.882578>