

“IMPORTANCIA DEL FENOTIPO DE LA  $\alpha_1$ -ANTITRIPSINA EN LAS  
MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y EN EL PRONÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES  
SISTEMICAS AUTOINMUNES”

Tesis para optar al grado de Doctor, realizada por D.  
Francesc Xavier Jiménez Moreno en el Departamento de  
Medicina Interna del Hospital General Vall d'Hebrón, bajo  
la Dirección del Prof. Miquel Vilardell Tarrés, Jefe de  
Servicio, Catedrático y Decano de la Facultat de Medicina  
de la U.A.B. y del Dr. Albert Selva O'Callaghan, Profesor  
Asociado de la Facultat de Medicina de la U.A.B.

Barcelona, Septiembre 2000

MIQUEL VILARDELL TARRÉS, Doctor en Medicina, Catedrático y Decano de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona, Jefe de Servicio de Medicina Interna y ALBERT SELVA O'CALLAGHAN, Doctor en Medicina y Profesor Asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona.

CERTIFICAN: que el trabajo “Importancia del fenotipo de la  $\alpha_1$ -antitripsina en las manifestaciones clínicas y en el pronóstico de las enfermedades sistémicas autoinmunes”, ha sido realizado en el Departamento de Medicina Interna del Hospital General Vall d'Hebrón, bajo su dirección, para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía

El Director

Barcelona, septiembre de 2000

A Silvia por su fuerza y su sonrisa,  
la persona que más quiero en este  
mundo.

A mis padres y mi hermana, a los  
que tanto admiro. A ellos les debo  
todo lo que soy.

## **AGRADECIMIENTOS**

A todos los pacientes que de una u otra forma han intervenido en esta tesis doctoral. Nuestro trabajo sin ellos carecería de sentido.

A todo el personal médico y de enfermería de la 3<sup>a</sup> planta de Medicina Interna y, en especial, a su supervisora Sra. Dolors Sabat, al Dr. Joan Lima y al Dr. Antonio Sanjosé por el cariño que siempre me ha demostrado.

A mis compañeros de Residencia, especialmente, los Drs. Nuria Martínez, Fina Cortés, Segundo Buján, Agustí Sellas, Carmen Pérez, Fernando García, Abel Mujal, José Barbé, Lidia Jauregui, Mireia Torregrosa, Ferran Cereto y Oscar Len, entre otros, con los que he compartido experiencias clínicas y, sobretodo, amistad.

A los profesionales del SCUB· SA 061.

Al Dr. Rosendo Jardí y al Dr. Francisco Rodríguez por su colaboración inestimable en el estudio de los fenotipos de la  $\alpha$ -1-AT.

Al Dr. Rafael Vidal y el Dr. Marc Miravittles por su colaboración en la presente tesis doctoral.

Al Dr. Ferran Torres por su impagable ayuda en la realización del análisis estadístico

A la Dra. Roser Solans por su apoyo constante y su colaboración en el estudio de los pacientes con vasculitis.

Al Dr. Josep Ordi por su extraordinaria profesionalidad y su colaboración en el estudio de los pacientes con LES.

A la Dra. Carmen Simeón por su colaboración en el estudio de los pacientes con esclerodermia y por haberme guiado con aprecio y paciencia mis primeros pasos como médico.

Al Dr. Vicente Fonollosa por su colaboración en el estudio de los pacientes con esclerodermia y por haber tenido la posibilidad de disfrutar de su gran capacidad literaria y oratoria.

Al Dr. Josep Bosch por su colaboración en el estudio de los pacientes con vasculitis, enfermedad de Behçet y síndrome seco, por su incansable capacidad docente y por ser uno de mis más admirados puntos de referencia.

Finalmente y, de forma muy especial, quiero expresar mi agradecimiento al Dr. Albert Selva y al Prof. Miquel Vilardell, directores de esta tesis, quienes han sido fundamentales con su apoyo para que esta tesis sea una realidad y a los que considero mis “padres profesionales” en su vertiente profesional y humana.

# INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	pág 9
1.1. Historia.....	pág 10
1.2. El gen de la $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 11
1.2.1. Estructura génica.....	pág 12
1.2.2. Modulación de la expresión.....	pág 13
1.3. Diagnóstico de laboratorio del déficit de $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 14
1.3.1. Fenotipos y Genotipos de la $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 14
1.4. Manifestaciones clínicas del déficit de $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 18
1.4.1. Epidemiología.....	pág 18
1.4.2. Fenotipos asociados con el déficit de $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 19
1.4.3. Afectación hepática en el déficit de $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 20
1.4.3.a. Morfología de la enfermedad hepática.....	pág 21
1.4.3.b. Fenotipos asociados con la enfermedad hepática....	pág 21
1.4.4. Enfermedad cutánea en el déficit de $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 22
1.4.5. Afectación pulmonar en el déficit de $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 22
1.4.5.a. Funcionalismo pulmonar.....	pág 23
1.4.5.b. Afectación de la vía aérea.....	pág 24
1.5. Tratamiento del déficit de $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 28
1.5.1. Afectación hepática.....	pág 28
1.5.2. Afectación pulmonar.....	pág 29
1.5.2.a. Aumento de la síntesis hepática y/o secreción de la $\alpha_1$ -antitripsina.....	pág 29

1.5.2.b. $\alpha_1$ -antitripsina plasmática purificada.....	pág 30
1.6. Déficit de $\alpha_1$ -antitripsina y enfermedades sistémicas autoinmunes.....	pág 31
OBJETIVOS.....	pág 38
2. PACIENTES, MATERIAL Y METODOS.....	pág 40
2.1. Pacientes y grupo control.....	pág 40
2.2. Fenotipo y valores séricos de la $\alpha_1$ -antitripsina.	
Descripción de la técnica.....	pág 41
2.3. Variables estudiadas.....	pág 42
2.3.1. Epidemiológicas.....	pág 42
2.3.2. Diagnóstico clínico.....	pág 42
2.3.3. Afectación de órganos.....	pág 51
2.3.4. Parámetros analíticos de laboratorio.....	pág 56
2.3.5. Tratamiento y pronóstico.....	pág 57
2.4. Análisis estadístico.....	pág 59
3. RESULTADOS.....	pág 60
3.1. Grupo control.....	pág 60
3.2. Enfermedades sistémicas autoinmunes.....	pág 60
3.2.1. Esclerodermia.....	pág 80
3.2.2. Lupus eritematoso sistémico.....	pág 90
3.2.3. Miopatía inflamatoria idiopática.....	pág 95
3.2.4. Vasculitis.....	pág 100
4. DISCUSION.....	pág 110
4.1. Esclerodermia.....	pág 110
4.2. Lupus eritematoso sistémico.....	pág 118
4.3. Miopatía inflamatoria idiopática.....	pág 121

4.4. Vasculitis.....	pág 125
4.5. Enfermedades sistémias autoinmunes. Aspectos generales.....	pág 138
CONCLUSIONES.....	pág 141
5. BIBLIOGRAFIA.....	pág 143

# 1. INTRODUCCIÓN

El déficit de  $\alpha_1$ -antitripsina ( $\alpha$ -1-AT) es una enfermedad hereditaria relativamente frecuente (número de homocigotos PiZZ de 1/4500 en España) que se caracteriza clásicamente por una reducción de los valores séricos de  $\alpha$ -1-AT, y por la presencia de enfisema pulmonar y hepatopatía<sup>1, 2</sup>. La  $\alpha$ -1-AT es una glucoproteína de 52 kDa sintetizada principalmente por los hepatocitos y los macrófagos<sup>3, 4</sup>, se encuentra en el plasma humano a concentraciones que oscilan entre 20 y 53  $\mu\text{mol/L}$  (91-239 mg/dl)<sup>5,6</sup> y difunde a todos los tejidos de nuestro organismo debido a su bajo peso molecular. Es el principal inhibidor de las proteasas, y su función principal se localiza en el parénquima pulmonar, protegiendo el tejido alveolar de la acción de la elastasa del neutrófilo, que es una proteasa capaz de destruir la estructura proteica de la pared alveolar<sup>3,7</sup>.

Las mutaciones del gen de la  $\alpha$ -1-AT provocan una incapacidad de sintetizar y secretar cantidades normales de  $\alpha$ -1-AT<sup>8,9</sup>. Cuando los valores séricos son menores de 11  $\mu\text{mol/L}$  (50 mg/dl) la  $\alpha$ -1-AT sintetizada es insuficiente para proteger el alvéolo de la elastasa, provocando una progresiva destrucción pulmonar y enfisema pulmonar, en fumadores, en edades precoces (35-50 años)<sup>9</sup>. Por otro lado, este déficit, ocasionalmente, puede provocar hepatitis y cirrosis en niños y, de forma menos frecuente, episodios de panniculitis recidivante<sup>10-14</sup>.

## 1.1. HISTORIA

El déficit de  $\alpha$ -1-AT fue descubierto en 1963 por CB. Laurell y S. Eriksson, quienes observaron la asociación entre el descenso de la banda  $\alpha_1$ -globulina del análisis electroforético del suero humano y la presencia de enfermedad pulmonar crónica<sup>15</sup>. Era conocido que aproximadamente el 90% de la banda  $\alpha_1$ -globulina era una proteína capaz de inhibir el enzima proteolítico tripsina, de aquí el término deficiencia de alfa-1-antitripsina para definir esta enfermedad.

En los siguientes años, se describieron más casos, pero no fue hasta los estudios de Gross et al.<sup>16</sup> y Janoff et al.<sup>17</sup> en que la función de la  $\alpha$ -1-AT en el pulmón fue comprendida. Gross et al.<sup>16</sup> demostraron que el enfisema podía ser inducido de forma experimental en animales introduciendo una enzima proteolítica (papaina) en los pulmones. Posteriormente, Janoff et al.<sup>17</sup> descubrieron que los neutrófilos transportaban y liberaban un potente enzima proteolítico que era la elastasa.

Entre finales de los años 60 e inicios de 1970 se desarrollaron métodos para separar las variantes hereditarias de la  $\alpha$ -1-AT en base a su carga eléctrica. De esta forma, la enfermedad podía ser fácilmente diagnosticada midiendo los valores en suero de  $\alpha$ -1-AT junto con el estudio de la migración en el análisis electroforético<sup>18</sup>. Sin embargo, no fue hasta la clonación de las variantes anómalas S y Z en que la base genética del déficit de alfa-1-antitripsina fue definitivamente comprendida<sup>19, 20</sup>. Finalmente, Wewers et al.<sup>21</sup> mostraron que era posible administrar  $\alpha$ -1-AT humana purificada en los individuos deficitarios y aumentar la concentración pulmonar de  $\alpha$ -1-AT.

## 1.2. EL GEN DE LA ALFA-1-ANTITRIPSINA

El gen de la  $\alpha$ -1-AT se encuentra localizado en la rama q del cromosoma 14<sup>22</sup>. Tiene un peso de 12,2 Kb y está constituido por 7 exones denominados IA, IB, IC, II, III, IV y V. La región que codifica la proteína está situada entre los exones II y V<sup>4, 19</sup>.

El producto del gen de la  $\alpha$ -1-AT es un inhibidor de las proteasas, miembro de la familia de los inhibidores de las proteasas serina o "Serpins", caracterizados por tener la capacidad de inhibir proteasas que poseen un aminoácido serina en el lugar activo<sup>23</sup>. Característicamente, las moléculas "serpin" tienen un residuo péptido en la superficie donde interactúa con el lugar activo de las proteasas serinas<sup>24</sup>. La familia "serpin" es larga e incluye a la alfa-1-antitripsina, la alfa-2-antiplasmina, los inhibidores del activador del plasminógeno 1 y 2, la antitrombina III, el cofactor II de la heparina, el inhibidor de la proteína C activa, el inhibidor C1, la globulina de transporte de la tiroxina, la globulina de transporte del cortisol, la angiotensina e inhibidores de los leucocitos.

Varios de los genes "serpin" forman un "cluster" en la posición 14q32.1 que incluyen la globulina de transporte del cortisol, el pseudogen alfa-1-antitripsina-like, la alfa-1-antitripsina, el inhibidor de la proteína C y la alfa-1-antitripsina<sup>25,26</sup>. Todos estos genes ocupan un corto segmento de 270 Kb en el cromosoma 14. Estos genes tienen una secuencia y organización genética similar, lo que sugiere un antecesor común evolutivo. Así la alfa-1-antitripsina, la alfa-1-antitripsina y la proteína de transporte del cortisol tienen una secuencia homóloga en el 56%<sup>27</sup>.

El hecho de que pequeños cambios en la estructura básica genética pueden provocar nuevas funciones en ésta se demuestra claramente en el gen mutante Pittsburgh. Así, un simple cambio de aminoácido en el lugar activo (Metionina por Arginina) provoca diátesis hemorrágica como consecuencia de las propiedades similares a la antitrombina III de la molécula mutante<sup>28</sup>.

El alelo deficitario Z para la  $\alpha$ -1-AT es prácticamente el único haplotipo que engloba la globulina de transporte del cortisol, el pseudogen alfa-1-antitripsina-like y el gen alfa-1-antitripsina

extendiéndose hasta 60 Kb. Este hecho sugiere que el alelo Z y su unión con otros genes podría alterar los mecanismos de transcripción del RNA y explicar algunas asociaciones del déficit con artritis reumatoide, paniculitis, asma, enfermedades por inmunocomplejos y ciertas formas de cáncer<sup>29</sup>.

### 1.2.1. Estructura génica

El gen de la  $\alpha$ -1-AT codifica una proteína de 418 aminoácidos que incluye un péptido señal en el aminoácido 24. La región que codifica la proteína se encuentra entre los exones II y V<sup>19</sup>. El lugar de inhibición de las proteasas serinas reactivas está en MET<sub>358</sub> en el exón V<sup>30</sup>. Las dos mutaciones más comunes que provocan un fenotipo anómalo son los alelos S y Z. El alelo Z contiene una mutación G por A en el exón V, cambiando la carga negativa del Glutamato (GAG) en la posición 342 por la positiva de la Lisina (AAG)<sup>31</sup>. El alelo S se encuentra en el exón III y presenta un cambio de Glutamato (GAG) en posición 264 por Valina (GTG). La proteína resultante tiene una susceptibilidad aumentada para la degradación intracelular<sup>32</sup>.

Por otro lado, existen cinco variantes principales del alelo M con valores de  $\alpha$ -1-AT normales: M1 (Ala<sup>213</sup>), M1 (Val<sup>213</sup>), M2, M3 y M4. Estas variantes están constituidas por combinaciones de tres cambios de aminoácidos: Arg<sup>101</sup> (CGT) por His (CAT), Ala<sup>213</sup> (GCG) por Val (GTG) y Glu<sup>376</sup> por Asp (GAC). Así, M1(Ala<sup>213</sup>) presenta la siguiente combinación Arg<sup>101</sup>-Ala<sup>213</sup>-Glu<sup>376</sup>, la combinación de la variante M1(Val<sup>213</sup>) es Arg<sup>101</sup>-Val<sup>213</sup>-Glu<sup>376</sup>, la de M2 es His<sup>101</sup>-Val<sup>213</sup>-Asp<sup>376</sup>, la de M3 es Arg<sup>101</sup>-Val<sup>213</sup>-Asp<sup>376</sup> y la de M4 es His<sup>101</sup>-Val<sup>213</sup>-Glu<sup>376</sup>. M1, M2, M3 y M4 se diferencian mediante la realización del estudio electroforético. En cambio, la distinción entre M1 (Ala<sup>213</sup>) y M1 (Val<sup>213</sup>) solo es posible si se realiza un estudio genético<sup>33</sup>.

### 1.2.2. Modulación de la expresión

La  $\alpha$ -1-AT es un reactante de fase aguda por lo que aumenta su concentración plasmática en respuesta a cualquier daño al huésped. Probablemente, su gen podría estar regulado a nivel de los hepatocitos por la citoquina IL-6 que, predominantemente, media en la respuesta de la fase aguda inflamatoria. La IL-6 induce un incremento del RNAm de la  $\alpha$ -1-AT y de la síntesis proteica en los hepatocitos y su efecto no es inhibido por los corticoides. Sin embargo, otras citoquinas (TNF y IL-1) que también tienen un papel en la respuesta aguda inflamatoria no interfieren en la transcripción de la alfa-1-antitripsina<sup>34,35</sup>.

### **1.3. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DEL DEFICIT DE $\alpha$ -1-AT**

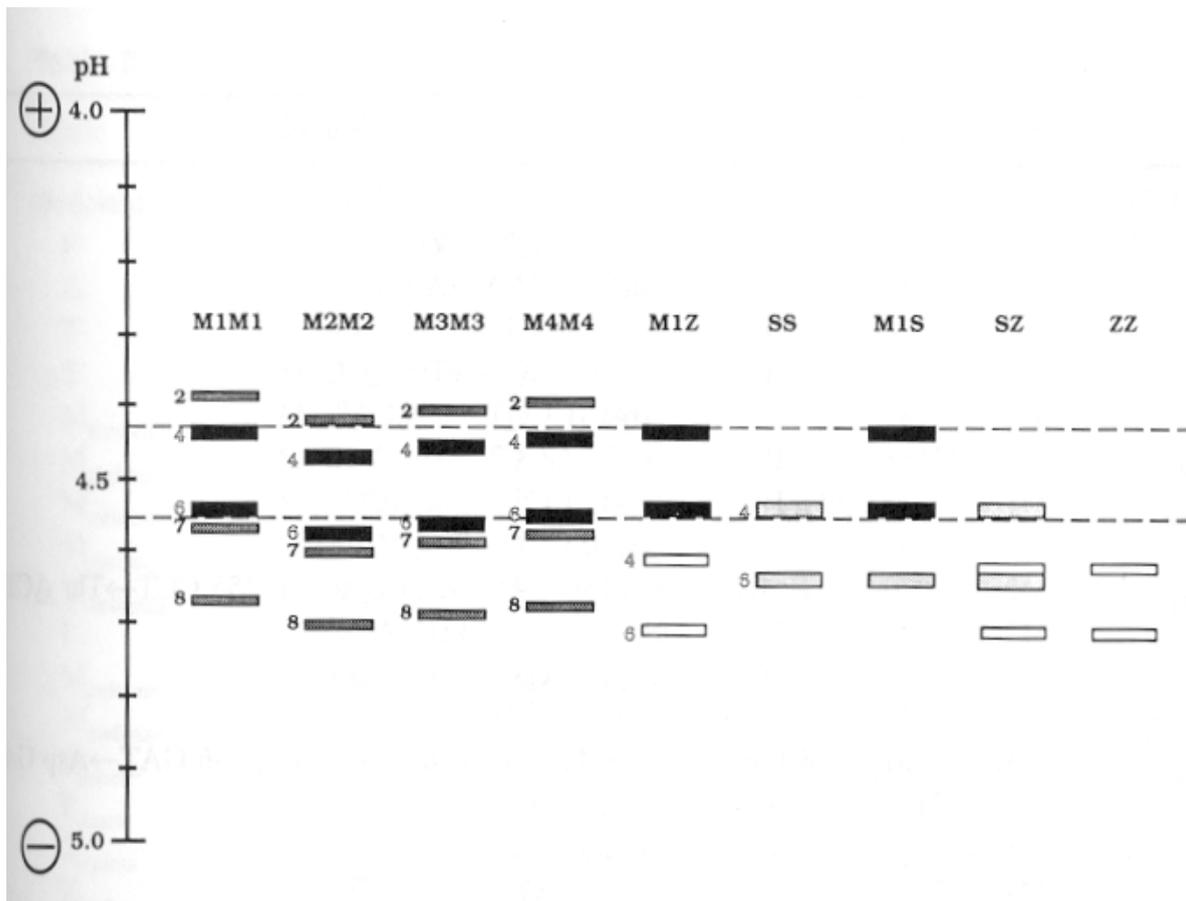
El diagnóstico de laboratorio del déficit de  $\alpha$ -1-AT se inició en 1963, cuando CB. Laurell y S. Eriksson utilizaron una combinación de electroforesis sobre papel, electroforesis sobre agar-gel e inmunoelectroforesis para descubrir la asociación de enfisema familiar y la ausencia de banda  $\alpha$ -1-globulina<sup>15</sup>. El uso de la electroforesis con gel de almidón para evaluar el polimorfismo electroforético en la región prealbúmina sirvió para la identificación del sistema multialelo Pi (proteasa inhibidor). Posteriormente, estas técnicas fueron reemplazadas por el isoelectroenfoque (IEF) del suero en gel de policrilamida, las cuales tienen una mayor resolución de la banda  $\alpha$ -1-AT<sup>36</sup>. El desarrollo de gradientes pH inmovilizados a inicios de los 80 pudo incrementar la resolución entre diferencias de pH inferiores a 1/100 de una unidad de pH<sup>37</sup>. Finalmente, la clonación y la secuenciación del DNA de la  $\alpha$ -1-AT y, posteriormente, del segmento génico, ha aportado la información necesaria para identificar prácticamente el genotipo de todos los individuos<sup>19</sup>.

#### **1.3.1. Fenotipos y genotipos de la $\alpha$ -1-AT**

Las variantes de la  $\alpha$ -1-AT se denominan de acuerdo a sus características migratorias en una IEF y son la consecuencia de la sustitución de aminoácidos que varía la carga eléctrica de la proteína. A las variantes más positivas se les asignan letras del inicio del alfabeto y en las más negativas se utilizan letras del final del alfabeto. En un gradiente de pH de 4-5 las variantes de  $\alpha$ -1-AT migran principalmente como 2 bandas de mayor tamaño designadas 4 y 6. El alelo normal M tiene 4 subtipos (M1, M2, M3 y M4). La variante Z se encuentra localizada más cerca del cátodo, mientras la variante S se localiza en una posición intermedia entre M y Z. Los sueros de los individuos heterocigotos (MZ, SZ y MS) muestran un patrón más complejo debido a la contribución

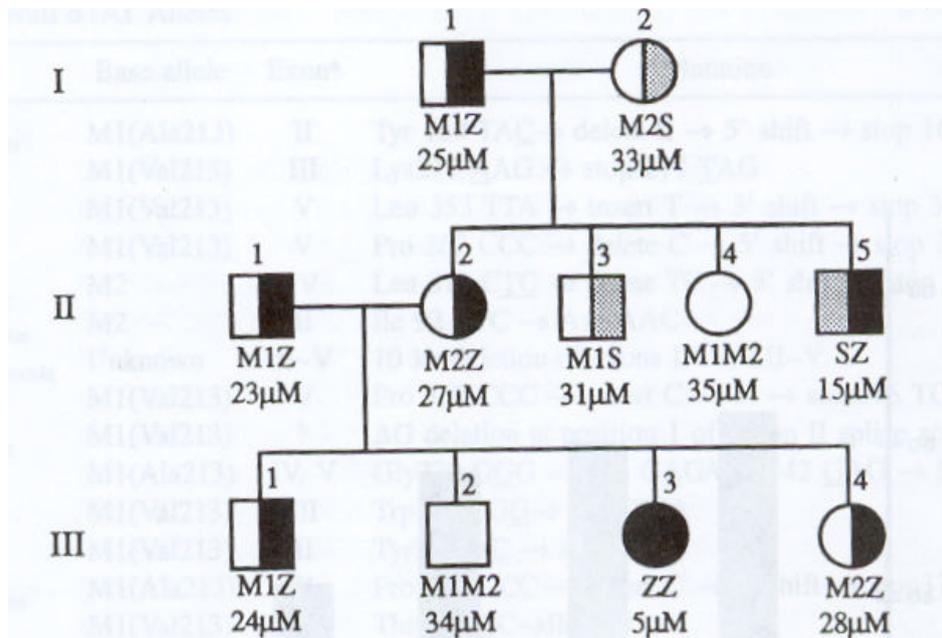
de cada alelo en el fenotipo (figura 1).

Aunque los términos fenotipo y genotipo son utilizados indistintamente para designar el tipo Pi de los individuos, el concepto fenotipo se refiere específicamente a la variante proteica determinada por IEF y basada en la diferencia de cargas de éstas, mientras el genotipo implica la identificación específica de los 2 alelos.



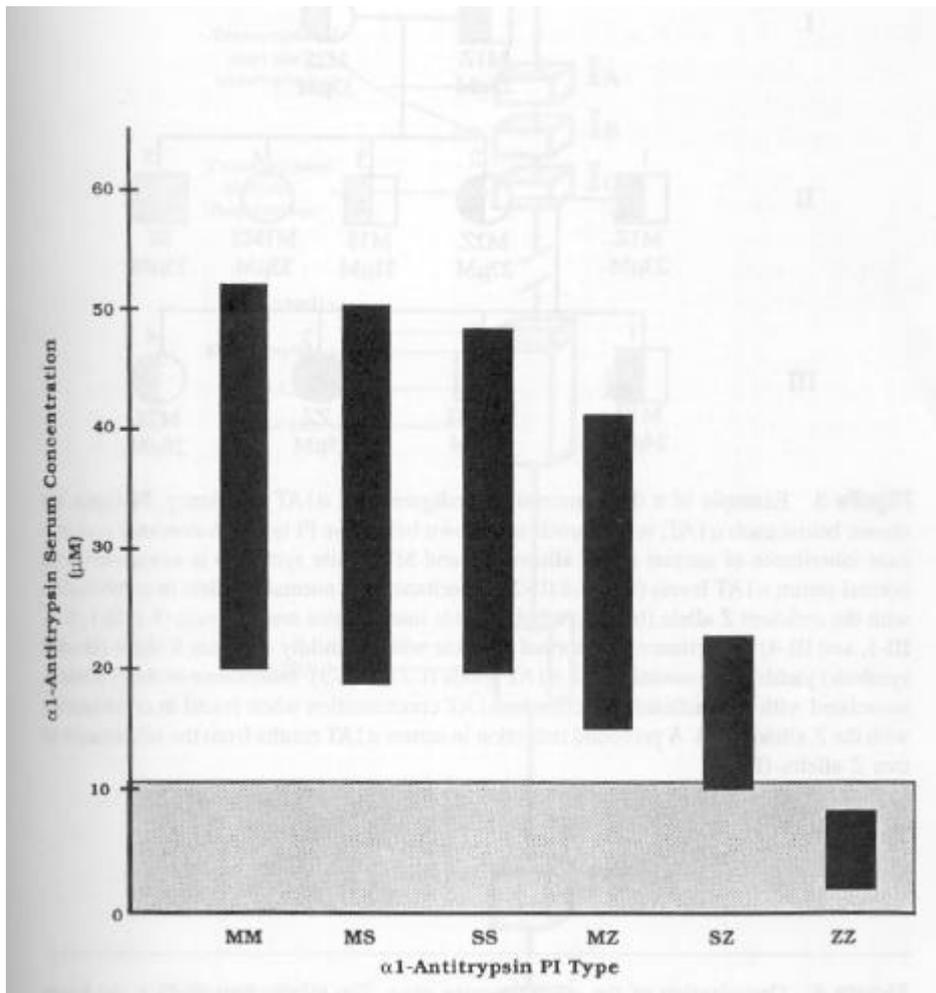
**FIGURA 1.** Fenotipos de la  $\alpha$ -1-AT en función de su punto isoeléctrico

El fenotipo es el resultado de una herencia autosómica codominante de 2 alelos de la  $\alpha$ -1-AT. La transmisión de estos alelos sigue un sistema mendeliano básico, como se aprecia en la figura 2.



**FIGURA 2.** Ejemplo de un árbol genealógico de tres generaciones de una familia con déficit de  $\alpha$ -1-AT.

El tipo Pi de la  $\alpha$ -1-AT determina su concentración en el suero. Así una combinación de la variante deficitaria Z y la normal M provoca una concentración sérica de  $\alpha$ -1-AT intermedia (figura 3). No obstante, cabe destacar que al ser la  $\alpha$ -1-AT un reactante de fase aguda encontraremos variaciones notables de sus concentraciones séricas dependiendo de la actividad inflamatoria del individuo.



**FIGURA 3.** Correlación entre el fenotipo de la  $\alpha$ -1-AT y sus concentraciones séricas

## 1.4. MANIFESTACIONES CLINICAS DEL DEFICIT DE $\alpha$ -1-AT

El déficit de  $\alpha$ -1-AT se caracteriza por una marcada reducción de los valores séricos de  $\alpha$ -1-AT y un alto riesgo de desarrollar enfisema pulmonar a partir de los 30-40 años<sup>8, 9,38</sup>. La variante deficitaria Z se encuentra con una frecuencia entre un 1 y 2 % en caucasianos de Estados Unidos de América<sup>39</sup>. En cambio, el número de individuos diagnosticados de déficit de  $\alpha$ -1-AT en esta región es menor de lo que cabría esperar, lo que sugiere una alta incidencia de enfermos no diagnosticados.

No se conoce con certeza el curso clínico de esta enfermedad. No obstante, no hay dudas de que el déficit de  $\alpha$ -1-AT se asocia con una disminución de la supervivencia en fumadores. Este hecho es particularmente evidente en individuos con déficit e historia de tabaquismo. La destrucción pulmonar asociada con el déficit de  $\alpha$ -1-AT es mayor que la pérdida de función pulmonar anual en los individuos sanos, incluyendo el volumen espiratorio máximo en un segundo (VEMS) y la capacidad de difusión, finalizando con la muerte por insuficiencia respiratoria o por complicaciones cardiovasculares<sup>40</sup>.

### 1.4.1. Epidemiología

El enfisema pulmonar asociado con el déficit de  $\alpha$ -1-AT es mayoritariamente una enfermedad de raza caucasiona, que se manifiesta entre la 3<sup>a</sup> y 4<sup>a</sup> década de la vida, en individuos con historia de tabaquismo<sup>5, 38</sup>. Varios estudios muestran una preponderancia en hombres<sup>5, 38</sup>, pero probablemente ello refleja el hecho de un mayor porcentaje de fumadores que fumadoras, aunque datos epidemiológicos recientes reflejan un cambio en esta tendencia.

El déficit de  $\alpha$ -1-AT es raro en el sur de Europa (frecuencia del alelo Z 1,5 %) y en americanos de origen africano (0,4%) y es desconocido en la población asiática<sup>41-43</sup>. Se estima que

el déficit de  $\alpha$ -1-AT es la causa de aproximadamente el 2 % de los casos de enfisema en los Estados Unidos<sup>1</sup>.

#### **1.4.2. Fenotipos asociados con el déficit de $\alpha$ -1-AT**

En los individuos homocigotos para el alelo M los valores de  $\alpha$ -1-AT se encuentran dentro del rango de la normalidad (91-239 mg/dl ó 20-53  $\mu$ mol/L). Aunque hay descritos unos 20 alelos asociados con déficits graves de  $\alpha$ -1-AT, el más común es el alelo Z que representa el 95% del total aproximadamente. Los individuos homocigotos para el alelo Z habitualmente tienen una concentración sérica media de  $\alpha$ -1-AT de unos 5  $\mu$ mol/L (22,5 mg/dl)<sup>6</sup> y, por lo tanto, tienen un alto riesgo de desarrollar enfisema, enfermedad hepática y paniculitis<sup>8, 9,14</sup>.

El siguiente alelo más común, asociado con déficit, es el alelo S que, aunque es más común que el Z, no se encuentra tan frecuentemente asociado con enfisema. Este hecho es debido a que los homocigotos S tienen unos valores de  $\alpha$ -1-AT suficientes para proteger el pulmón de la elastasa del neutrófilo. Sin embargo, si el alelo S se encuentra combinado con el alelo Z, las cifras de  $\alpha$ -1-AT se encuentran entre 10 y 23  $\mu$ mol/L (45-103 mg/dl)<sup>6</sup> y aproximadamente un 10% de estos individuos desarrollará enfisema, particularmente si tienen historia de tabaquismo<sup>8, 38</sup>. El resto de alelos deficitarios son extremadamente raros.

En referencia a los individuos heterocigotos MZ y MS está en discusión si estos fenotipos predisponen a desarrollar enfisema. No obstante, la opinión mayoritaria es que presentan un incremento de riesgo, aunque de poca magnitud<sup>44-46</sup>.

### 1.4.3. Afectación hepática en el déficit de $\alpha$ -1-AT

La asociación entre déficit de  $\alpha$ -1-AT y enfermedad hepática fue descrita por primera vez por Sharp et al. en 1969<sup>47</sup> y se considera que es la enfermedad hereditaria hepática más frecuente, afectando aproximadamente al 10% de los neonatos ZZ<sup>48</sup>. La incidencia de enfermedad hepática clínicamente relevante en adultos con déficit de  $\alpha$ -1-AT es desconocida, aunque se sabe que puede presentarse como cirrosis en adultos sin haber presentado enfermedad hepática en la infancia<sup>14, 49</sup>. En un estudio realizado sobre 35.000 autopsias, se detectaron 17 pacientes con déficit de alfa-1-antitripsina de los cuales 8 tenían cirrosis y 5 carcinoma hepatocelular<sup>14</sup>.

En niños, el déficit de  $\alpha$ -1-AT se manifiesta habitualmente como una hepatitis neonatal con colestasis. Aproximadamente el 45 % de estos neonatos presentan bajo peso para su edad gestacional, lo que sugiere algún efecto intrauterino del déficit de  $\alpha$ -1-AT<sup>48,49</sup>.

Los signos de colestasis aparecen entre el 4º día y el 2º mes después del nacimiento. La regresión clínica espontánea es frecuente y ocurre normalmente antes de los 6 meses de edad. No obstante, las anormalidades bioquímicas pueden persistir posteriormente apareciendo cirrosis hepática en el 20-30% de los neonatos que desarrollan colestasis<sup>48, 49</sup>. En la mayoría de estos niños, el fallo hepático progresivo comporta su fallecimiento, a menos que se realice un trasplante hepático.

Frecuentemente, el diagnóstico de  $\alpha$ -1-AT no se sospecha en adultos. La enfermedad hepática precoz se manifiesta con alteraciones de las pruebas de función hepática y con evidencia histológica de hepatitis crónica. Posteriormente, puede progresar hacia una cirrosis rápidamente progresiva falleciendo habitualmente a los 2 años del diagnóstico de ésta<sup>14</sup>. Además los adultos con déficit de  $\alpha$ -1-AT tienen un riesgo mayor de desarrollar carcinoma hepatocelular con o sin cirrosis concomitante<sup>50</sup>.

#### ***1.4.3.a. Morfología de la enfermedad hepática***

El acúmulo de  $\alpha$ -1-AT dentro de los hepatocitos es el hallazgo constante en la enfermedad hepática asociada al déficit de  $\alpha$ -1-AT. Morfológicamente se evidencian cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos, sobretodo en los hepatocitos periportales, apareciendo como glóbulos ovoides de tamaño variable en la tinción para Hematoxilina-Eosina. En el examen inmunohistoquímico se evidencia que el contenido de estos glóbulos es  $\alpha$ -1-AT y el microscopio electrónico nos permite observar que se encuentran en las cisternas del retículo endoplásmico<sup>51, 52</sup>.

#### ***1.4.3.b. Fenotipos asociados con la enfermedad hepática***

La patogénesis no es bien conocida. Si la enfermedad asociada al déficit de  $\alpha$ -1-AT es el resultado del ataque proteolítico, como ocurría en el pulmón, esperaríamos que todos los alelos causantes de déficit de  $\alpha$ -1-AT se asociaran a un incremento en el riesgo de enfermedad hepática. Por el contrario, sólo los alelos Z y M<sub>malton</sub> se han asociado con enfermedad hepática y los individuos null-null (sin alfa-1-antitripsina en el suero) no presentan enfermedad hepática. El hecho de que ambos alelos (Z y M<sub>malton</sub>) se asocien con un acúmulo intracelular de  $\alpha$ -1-AT sugiere que la enfermedad hepática es debida a un depósito intracelular de  $\alpha$ -1-AT más que a un ataque proteolítico extracelular<sup>8, 53, 54</sup>.

Curiosamente, aunque la mayoría de los casos de enfermedad pulmonar y hepática ocurren en individuos ZZ, raramente coexisten ambas manifestaciones en el mismo paciente<sup>8, 9</sup>.

#### **1.4.4. Enfermedad cutánea en el déficit de $\alpha$ -1-AT**

Se han observado distintas formas de paniculitis ulcerativas en el grupo de individuos con déficit, especialmente en los pacientes ZZ y MZ. La biopsia de estas lesiones muestra paniculitis neutrofílica, paniculitis linfocitocítica y necrosis extensa. La mayoría de estas lesiones se localizan en el tronco y en la zona proximal de las extremidades, caracterizándose por la tendencia a la ulceración y por acompañarse de síntomas sistémicos demostrándose, en muchos casos, inducción traumática.

La patogénesis de esta asociación es desconocida, pero existe evidencia de que las lesiones cutáneas pueden responder favorablemente al reemplazamiento de  $\alpha$ -1-AT, sugiriendo que la disminución de las antiproteasas se asocia con la patogénesis de la paniculitis<sup>55</sup>.

#### **1.4.5. Afectación pulmonar en el déficit de $\alpha$ -1-AT**

La sintomatología sugestiva de enfisema en el déficit de  $\alpha$ -1-AT habitualmente se inicia en la 4<sup>a</sup> -5<sup>a</sup> década de la vida<sup>5, 8,38</sup> y los síntomas más habituales son la disnea, tos, expectoración y frecuentes infecciones respiratorias e hiperreactividad bronquial.

La exploración de estos pacientes no difiere a la que encontramos en otros pacientes con enfisema. Así, el diámetro antero-posterior del tórax se encuentra aumentado y hay poco movimiento del diafragma durante la inspiración<sup>5, 38</sup>.

Radiológicamente se detecta hiperinsuflación pulmonar con un ángulo diafragmático anterior mayor de 90° y un aumento del espacio retroesternal (> 3,5 cm). El índice cardiotorácico suele estar disminuido y podemos encontrar bullas hasta en el 50% de los pacientes sintomáticos. Habitualmente, la afectación es más basal comparada con los no deficitarios de  $\alpha$ -1-AT que acostumbra a ser en lóbulos superiores<sup>5, 38</sup>.

#### **1.4.5.a. Funcionalismo pulmonar**

Las anormalidades espirométricas incluyen una reducción en los índices de flujo espiratorio (VEMS y FEF 25-75) y una normal o discreta reducción de la capacidad vital forzada (CVF). La reducción del VEMS/FVC es consistente con una alteración obstructiva, siendo estos cambios debidos a la pérdida de la elasticidad del parénquima pulmonar. Por otro lado, el intercambio de gases está alterado con una reducción en la capacidad de difusión (DLCO)<sup>5</sup>.

En la mayoría de los niños PiZ hasta los 18 años la función pulmonar es normal, lo que sugiere que el crecimiento pulmonar y su desarrollo no se ven afectados. En contraste con la disminución de la función pulmonar relacionada con la edad en no fumadores sin déficit de  $\alpha$ -1-AT (el VEMS disminuye 15-20 ml/año) los individuos PiZ no fumadores tienen una disminución del VEMS anual que oscila entre 60-105 ml y entre los PiZ fumadores encontramos una pérdida anual entre 80 y 150 ml<sup>56, 57</sup>. No obstante, en la actualidad este concepto clásico se encuentra en discusión, observándose una amplia variabilidad en las pruebas de función pulmonar en pacientes asintomáticos con fenotipo Pi ZZ.

Actualmente es motivo de discusión si en los individuos heterocigotos (MZ, MS y SZ) es más frecuente o no la presencia de broncopatía. No obstante, parece que todos los datos orientan a que la afectación pulmonar está en relación con el valor sérico de  $\alpha$ -1-AT. Así los individuos con fenotipo SZ tendría más riesgo que los MZ y MS, respectivamente. No obstante, el fenotipo MZ en ausencia de otros factores de riesgo no parece predisponer al desarrollo precoz de EPOC<sup>58, 59</sup>.

### ***1.4.5.b. Afectación de la vía aérea***

#### **a) Proteasas en la enfermedad aérea**

En los pacientes con bronquitis crónica y, especialmente en aquellos con fibrosis quística, se encuentran una gran acumulación de células inflamatorias, particularmente neutrófilos, en el esputo y en el BAL<sup>60, 61</sup>. La elastasa de los neutrófilos es la proteasa más frecuentemente implicada en la fisiopatología del enfisema debida al déficit de  $\alpha$ -1-AT y también se detecta en forma activa en aquellos pacientes con bronquitis crónica y fibrosis quística<sup>62, 63</sup>. El papel de los neutrófilos en el desarrollo de la bronquitis crónica y el asma no queda claro, ya que sólo un pequeño porcentaje (20-30%) de fumadores tienen incrementados los neutrófilos en el BAL. Por lo tanto, parece que son necesarios otros factores, entre los que se encuentra la susceptibilidad del huésped.

En el asma, los eosinófilos y los mastocitos se encuentran con mayor frecuencia que los neutrófilos en la vía aérea y en el BAL<sup>64</sup>. Los mastocitos segregan una variedad de sustancias (histamina, prostaglandinas, leucotrienos, factor activador de las plaquetas-PAF-) además de 2 proteasas, triptasa y quimasa. El PAF activa los eosinófilos y su liberación es estimulada por las proteasas e inhibido por la  $\alpha$ -1-AT y la alfa-1-antiquimotripsina<sup>65</sup>. Los eosinófilos generan citoquinas similares a los mastocitos y, además, una "major basic protein" (MBP) que es conocida por ser tóxica para el epitelio bronquial<sup>64</sup>. El daño y la pérdida de epitelio debida a la triptasa, quimasa y MBP se cree que provoca hiperreactividad bronquial por diferentes mecanismos: pérdida del efecto protector del epitelio, exposición de nervios intraepiteliales o generación de mediadores. El análisis del fluido del BAL en sujetos con asma extrínseca revela una correlación entre la hiperreactividad bronquial y el porcentaje de mastocitos, eosinófilos y, en particular, de la cantidad de MBP<sup>64</sup>.

La triptasa y quimasa constituyen más del 20% de las proteínas de los mastocitos. La quimasa es una proteasa emparentada con la catepsina G del neutrófilo e inhibida por la alfa-1-antitripsina y alfa-2 macroglobulina, pero no por la  $\alpha$ -1-AT. La quimasa aumenta la permeabilidad vascular debido a la histamina, estimula la degranulación de las células del suero e inactiva los neuropéptidos sensoriales (sustancia P y VIP). La triptasa es más abundante que la quimasa en los mastocitos de las vías aéreas de los humanos. Ha sido implicada en el aumento de la broncoconstricción como consecuencia de la inactivación del VIP (un neuropéptido broncodilatador, entre otras funciones) y también potencia la acción de la histamina<sup>66</sup>.

Los macrófagos derivan de los monocitos periféricos y se concentran en gran número en el alvéolo y el intersticio pulmonar, pero también parece encontrarse en la vía aérea adheridos a las células epiteliales. Los enzimas elastolíticos encontrados en los macrófagos alveolares incluyen la catepsina B y D. Estos enzimas no son inhibidos por la  $\alpha$ -1-AT pero pueden degradarla o inactivarla<sup>67</sup>.

En consecuencia, hay una gran variedad de proteasas activas en la vía aérea, la mayoría de ellas inhibidas por la  $\alpha$ -1-AT, aunque es posible que existan otros inhibidores de las proteasas en la vía aérea.

#### b) Antiproteasas en la vía aérea

Las secreciones pulmonares contienen diferentes inhibidores de la elastasa, pero los más importantes son la  $\alpha$ -1-AT y el inhibidor de la secreción de la proteasa antileucocítica (SLPI). En las secreciones traqueo-bronquiales, la cantidad de SLPI es tres veces mayor que la de  $\alpha$ -1-AT, sugiriendo que la SLPI es el inhibidor más importante de las proteasas en la protección del epitelio bronquial. La SLPI es un inhibidor reversible de varias proteasas séricas, incluyendo la elastasa del neutrófilo y la catepsina G<sup>68</sup>.

Al contrario de lo que ocurría en las secreciones traqueo-bronquiales, el fluido del BAL de los espacios aéreos periféricos muestra que la concentración de la  $\alpha$ -1-AT es diez veces mayor que la SLPI<sup>69</sup>.

La alfa-2 microglobulina puede ser otra antiproteasa con un papel importante en la vía aérea, donde llega mediante difusión desde la sangre. Es el único inhibidor que secuestra pero no inactiva la elastasa<sup>70</sup>.

La alfa-1-Antiquimiotripsina es un inhibidor de la elastasa del neutrófilo y de la catepsina G. Se encuentra en una alta concentración en el plasma, aumenta con la inflamación y también se encuentra en alta concentración en el esputo<sup>71</sup>.

#### c) Asociaciones epidemiológicas entre inhibidor de las proteasas y enfermedad de la vía aérea

En 1990 dos estudios plantearon la cuestión de la asociación entre PiMS y asma. Colp et al.<sup>72</sup> encontraron una alta incidencia de fenotipo MS en el grupo constituido por asmáticos. Detectaron que muchos de los sujetos MS no eran fumadores y sugirieron que el gen MS y el tabaco eran factores asociados con el asma. Por otro lado, Townley et al.<sup>73</sup> en un extenso estudio de 489 sujetos de familias asmáticas encontraron diferencias significativas entre MS y MM, pero no entre MZ y MM, afirmando que los sujetos MS tenían más hiperreactividad bronquial que los MZ y MM.

El estudio más reciente de 90 asmáticos en Sudáfrica objetivó la disminución en la capacidad inhibitoria de la elastasa ya que detectó una alta concentración de  $\alpha$ -1-AT en el plasma de los asmáticos, sugiriendo disfunción en la formación del complejo de la  $\alpha$ -1-AT<sup>74</sup>.

Lieberman y Colp<sup>75</sup> argumentaron que la labilidad del alelo S es posiblemente un factor en la reducción de la protección de la vía aérea en la respuesta al insulto inmunológico. Así, si la  $\alpha$ -1-

AT es importante en la respuesta inmunológica, una  $\alpha$ -1-AT lábil o reducida puede contribuir a aumentar la concentración de proteasas, aumentar la lesión y provocar enfermedad en la vía aérea. No obstante, el asma es una enfermedad multifactorial y aunque el balance proteasa-antiproteasa puede tener importancia, no está bien definido el papel de la  $\alpha$ -1-AT y otras antiproteasas en el desarrollo del asma y la enfermedad de la vía aérea reactiva.

## 1.5. TRATAMIENTO DEL DEFICIT DE $\alpha$ -1-AT

Existen marcadas diferencias en la patogénesis de las alteraciones pulmonares y hepáticas en el déficit de  $\alpha$ -1-AT. Por lo tanto, no debe sorprender que la estrategia terapéutica de estas manifestaciones sea marcadamente diferente.

### 1.5.1. Afectación hepática

El trasplante hepático constituye la única alternativa terapéutica para la enfermedad hepática asociada al déficit de  $\alpha$ -1-AT<sup>76,77</sup>. Esta es la segunda indicación más frecuente de trasplante hepático en niños y la supervivencia a los 5 años en estos pacientes es superior al 70%<sup>76</sup>. Por el contrario, en los adultos que precisan trasplante hepático debido al déficit de  $\alpha$ -1-AT la supervivencia es algo menor, aproximadamente un 60%<sup>77</sup>.

El tratamiento mediante  $\alpha$ -1-AT intravenosa a partir de plasma purificado no ha probado su eficacia en la enfermedad hepática asociada al déficit de  $\alpha$ -1-AT<sup>8</sup>. Este hecho es congruente con el concepto de que la enfermedad hepática no es debida a una falta de protección de las antiproteasas, sino al depósito intracelular de  $\alpha$ -1-AT.

Otra posibilidad terapéutica podría ser la terapia génica. Los pacientes homocigotos Z son los únicos que tienen riesgo de desarrollar hepatopatía clínicamente significativa, mientras que en los pacientes heterocigotos MZ esto no ocurre<sup>14</sup>. Por lo tanto, la estrategia consistiría en insertar el cDNA  $\alpha$ -1-AT normal en el interior de los hepatocitos, convirtiéndolos en células heterocigotas.

## 1.5.2. Afectación pulmonar

### 1.5.2.a. Aumento de la síntesis hepática y/o secreción de la $\alpha$ -1-AT

Dado que el hígado es el principal órgano productor de  $\alpha$ -1-AT, una posibilidad terapéutica sería aumentar la secreción hepática de  $\alpha$ -1-AT y así incrementar la protección antiproteasa pulmonar. Esto sería posible con el trasplante hepático, con lo que teóricamente podría curarse las manifestaciones pulmonar y hepática de este desorden. Así, en los trasplantes hepáticos en homocigotos Z cambiarían el fenotipo para la  $\alpha$ -1-AT del hígado transplantado, muchas veces con normalización de los valores séricos de  $\alpha$ -1-AT<sup>76</sup>. No obstante, la mortalidad y morbilidad asociada al trasplante hepático no es aceptable en adultos con enfermedad pulmonar, que puede ser tratada con otras terapias.

Se han utilizado varios métodos para incrementar la producción endógena de  $\alpha$ -1-AT del hígado. Es conocido que los valores plasmáticos de  $\alpha$ -1-AT aumentan con la fiebre, trauma, shock y el embarazo. Así los pacientes con déficit de  $\alpha$ -1-AT han sido tratados en algunos estudios con vacuna tifoidea y combinaciones estrógeno-progesterona, aunque sin conseguir un aumento significativo en sus valores séricos<sup>78, 79</sup>. Otras estrategias han incluido el uso de danazol, un derivado sintético de la 17 alfa-etinil testosterona, que tiene propiedades similares a la testosterona pero sin sus efectos androgénicos. El danazol ha mostrado su eficacia en el aumento de la concentración de C1 esterasa en el angioedema hereditario, caracterizado por el déficit de la producción hepática de antiproteasas. Aunque el danazol produce un discreto aumento en los valores de  $\alpha$ -1-AT es insuficiente para producir una adecuada protección en el epitelio respiratorio<sup>80, 81</sup>.

Otro fármaco que ha sido utilizado es el tamoxifeno que bloquea los receptores estrogénicos intracitoplasmáticos y que simula el aumento de  $\alpha$ -1-AT asociado con el embarazo. Sin embargo, los ensayos con tamoxifeno sólo han mostrado incrementos en el suero de  $\alpha$ -1-AT

consiguiendo valores protectores en individuos SZ y PZ, pero no consigue restablecer la protección pulmonar normal contra la elastasa del neutrófilo en homocigotos Z<sup>82</sup>.

### ***1.5.2.b. $\alpha$ -1-AT plasmática purificada***

La forma más directa para aumentar la protección contra la elastasa del pulmón de los individuos con déficit es administrar  $\alpha$ -1-AT exógena, sea por vía sistémica o directamente en el pulmón. Es conocido que en pacientes con valores séricos de  $\alpha$ -1-AT superiores a 11  $\mu\text{mol/L}$  (50 mg/dl) es poco habitual la aparición de enfisema. Por otro lado, en estudios de BAL se ha demostrado que la cantidad mínima de  $\alpha$ -1-AT necesaria para obtener protección es de 1 a 2  $\mu\text{mol/L}$  (4.5-9 mg/dl). Gadek et al.<sup>83</sup> demostraron que es posible aumentar la  $\alpha$ -1-AT en el suero y en el pulmón en los pacientes con déficit de  $\alpha$ -1-AT administrando  $\alpha$ -1-AT plasmática purificada semanalmente. Así en la actualidad está aprobada por la FDA la administración de 60 mg/Kg de forma semanal.

## 1.6. DEFICIT DE $\alpha$ -1-AT Y ENFERMEDADES SISTEMICAS AUTOINMUNES

Desde que en 1963 Laurell y Eriksson<sup>15</sup> asociaran el déficit de  $\alpha$ -1-AT con la aparición de enfisema pulmonar, varios autores han encontrado una relación entre el déficit de  $\alpha$ -1-AT y la presencia de trastornos inmunológicos.

El déficit de  $\alpha$ -1-AT se acompaña de trastornos de la función linfocitaria. Individuos deficitarios (Pi ZZ) muestran una respuesta exagerada de los linfocitos a la estimulación con fitohemaglutinina (PHA), y esta respuesta es dosis-dependiente respecto a las concentraciones plasmáticas de  $\alpha$ -1-AT<sup>84-85</sup>. La respuesta exagerada de la inmunidad mediada por células, se manifiesta también “in vivo” por un aumento en la respuesta de hipersensibilidad retardada<sup>84</sup>. Sin embargo, no parece existir una relación directa con los linfocitos T, sino más bien con las células de estirpe monocito-macrofágicas, probablemente inhibiendo la producción de interleucina-1<sup>86</sup>.

Por otra parte, la presencia de enzimas proteolítica como la elastasa humana del neutrófilo, la catepsina G<sup>87-88</sup>, el activador del plasminógeno y la urokinasa<sup>89</sup> entre otras, influyen de forma indirecta sobre la función linfocitaria, ya que son mitógenas y refuerzan la síntesis de anticuerpos por las células B. Dado que la  $\alpha$ -1-AT es el principal inhibidor de las proteasas en nuestro organismo, es razonable suponerle una capacidad moduladora, por lo que un déficit más o menos intenso de  $\alpha$ -1-AT, disminuirá la inhibición sobre estas enzimas activando el sistema inmune y quizás favoreciendo la aparición de enfermedades de naturaleza autoinmune. La inhibición de las reacciones citotóxicas de los linfocitos, incluida la citotoxicidad dependiente de las células T y la citotoxicidad mediada por células anticuerpo dependiente, así como la actividad de las células asesinas (NK) son otras funciones sobre las que interfiere la  $\alpha$ -1-AT<sup>90-91</sup>.

Todos estos datos sugieren que la  $\alpha$ -1-AT es capaz de modular la proliferación de células T debido a su acción sobre los monocitos, al mismo tiempo que inhibe la activación policlonal de proteasas séricas y la función de las células B. Es probable que un déficit parcial o total de la

función de la  $\alpha$ -1-AT, conduzca a un incremento de la actividad de los linfocitos T helper y a una activación policlonal de linfocitos B, dando lugar a una mayor facilidad para el desarrollo de enfermedades autoinmunes<sup>86</sup>.

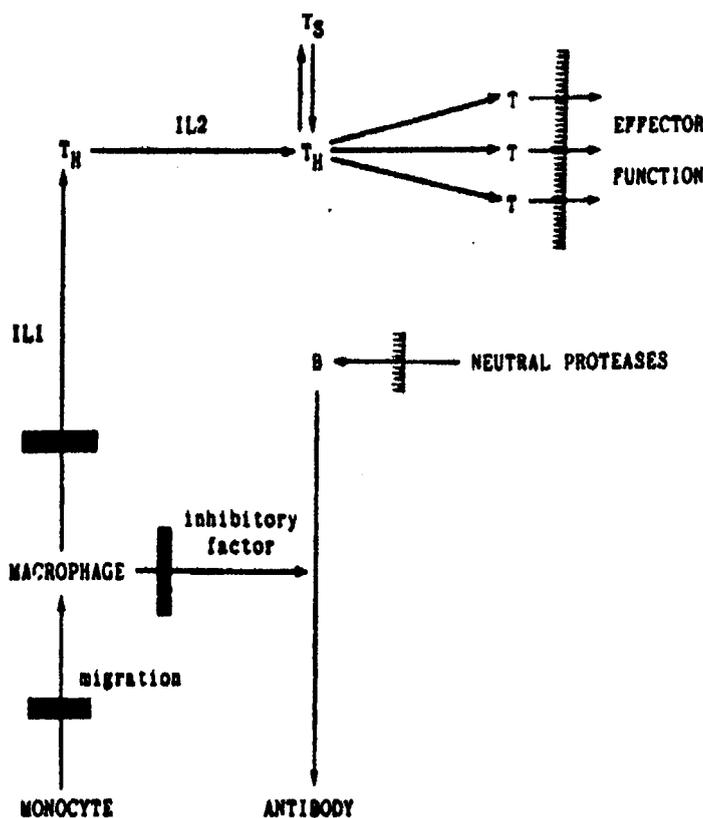
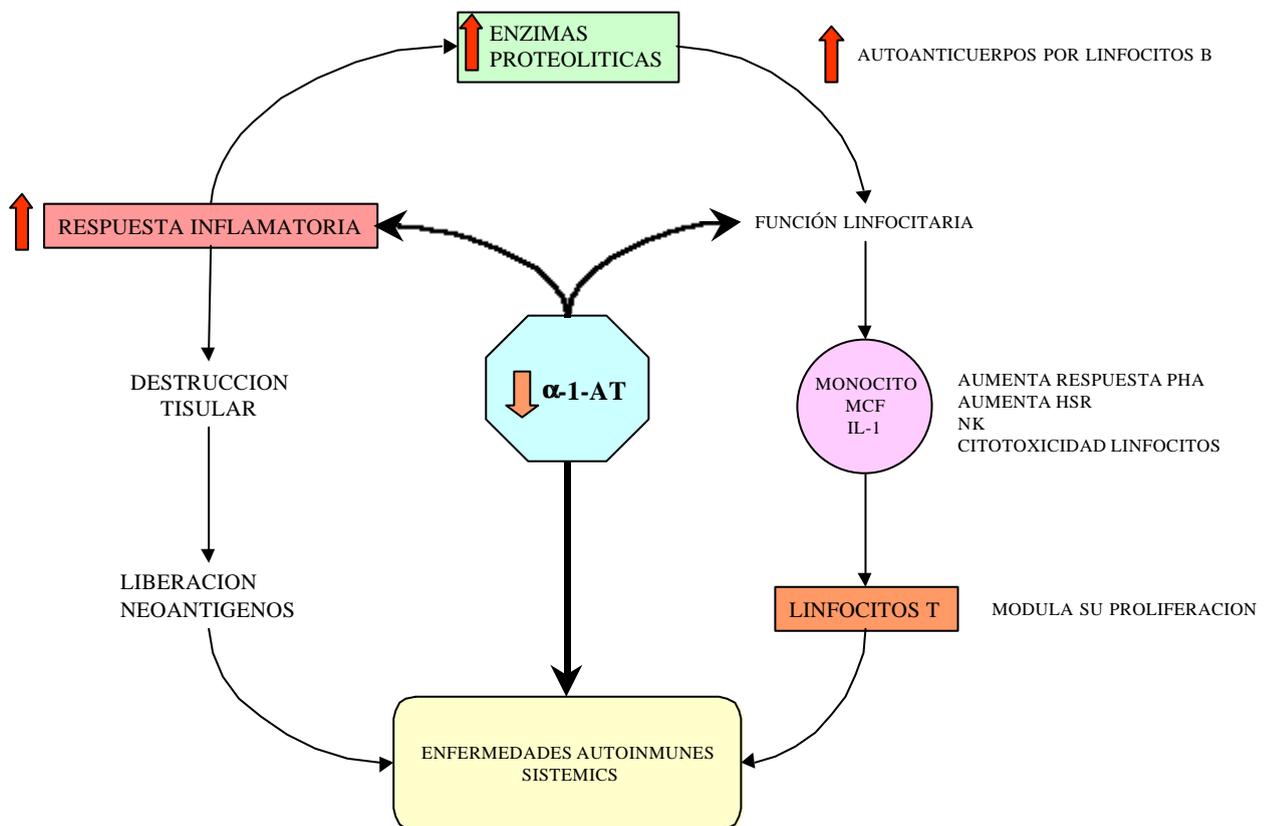


FIGURA 4. Posibles lugares de actuación de la  $\alpha$ -1-At sobre la función de las células B y T

Si bien los datos mencionados anteriormente, favorecen la evidencia de un trastorno inmunoregulador en el déficit de  $\alpha$ -1-AT, también existe una cierta evidencia de que la respuesta inflamatoria que de forma indefectible se produce tras cualquier daño tisular es excesiva en los pacientes deficitarios de la  $\alpha$ -1-AT. Las proteasas secretadas por los monocitos y neutrófilos (elastasa, colagenasa, catepsina G...) son potencialmente inhibidos por la  $\alpha$ -1-AT, no sólo en el torrente circulatorio, sino también en los fluidos extravasculares, gracias al peso molecular de la  $\alpha$ -1-AT, que le permite difundir con facilidad<sup>86</sup>. La persistencia de estos enzimas, favorece la

destrucción tisular y la respuesta inflamatoria sobre sustancias como la fibronectina<sup>95</sup>, cartílago, colágeno estructural<sup>96, 97</sup>, fibrina<sup>98</sup> y membranas basales<sup>99</sup>, generándose factores quimiotácticos que acaban activando otras células como los macrófagos y linfocitos. Es muy probable, pues, que debido al déficit más o menos intenso de  $\alpha$ -1-AT, la falta de inhibición de estos enzimas ocasione un aumento de la lesión tisular, amplificada a partir de la activación de otras células y sistemas mediadores de la inflamación. La liberación de neoantígenos por la persistencia del proceso inflamatorio, puede contribuir a modo de círculo vicioso o bio-feed back positivo en el desarrollo de enfermedades autoinmunes o sistémicas<sup>86</sup>.



**FIGURA 5.** Relación entre  $\alpha$ -1-AT y Enfermedades Autoinmunes Sistémicas

En general, la mayoría de los estudios en la literatura parecen sustentar esta relación entre fenotipos deficitarios de  $\alpha$ -1-AT y las enfermedades sistémicas autoinmunes. Así, en un estudio realizado en Suecia sobre 246 individuos con fenotipo PiZZ se observó una alta incidencia de artritis reumatoide (4,5%), un 0,8% de Lupus Eritematoso Sistémico (LES), un 15% de glomerulonefritis y un 0,4% de espondilitis anquilosante. Estos datos sugieren que la frecuencia de enfermedades de origen inmunológico en el grupo de pacientes PiZZ es elevada<sup>40</sup>.

Existen pocos trabajos que estudien la asociación entre el déficit de  $\alpha$ -1-AT y la esclerodermia<sup>86,100</sup>. En un estudio epidemiológico de 48 pacientes con esclerodermia se encontraron únicamente un 6% de fenotipos deficitarios<sup>86</sup> y Seibold et al<sup>100</sup> objetivaron un 5% de fenotipos deficitarios en 46 pacientes con esclerosis sistémica. No obstante, en los 2 estudios no se analizaron de forma diferenciada los enfermos con esclerodermia difusa y limitada. Finalmente, Michalski et al.<sup>101</sup> no pudieron asociar la afectación pulmonar de la esclerodermia con fenotipos deficitarios concluyendo que probablemente la afectación intersticial de la artritis reumatoide (donde si encontraron relación) tenía una fisiopatología diferente a la de la esclerodermia.

Breit et al.<sup>86</sup> son el único grupo de trabajo que han realizado un trabajo controlado valorando la incidencia de los fenotipos deficitarios de la  $\alpha$ -1-AT. Estos autores observaron un aumento de la incidencia de PiMS estadísticamente significativo en los pacientes diagnosticados de LES aunque no diseñaron el estudio para valorar si estos pacientes tenían un comportamiento clínico más agresivo.

Algún autor ha detectado una asociación entre el déficit de  $\alpha$ -1-AT y la artritis reumatoide, sin poder demostrar una afectación más grave entre los pacientes con déficit<sup>86</sup>. No obstante, en los sujetos con afectación pulmonar intersticial secundaria a la artritis reumatoide se ha encontrado un 22% de fenotipos deficitarios, lo que podría sugerir que estos fenotipos pueden predisponer a presentar una afectación pulmonar en esta patología<sup>101</sup>.

Asimismo, Papiha et al.<sup>102</sup> realizaron un estudio en 225 pacientes con artritis reumatoide y en 60 pacientes con formas agresivas de esta enfermedad ( grado III y IV). Estos autores no detectaron un incremento de los fenotipos no M en esta patología, sino que observaron una incidencia mayor del fenotipo Pi M1M2 tanto en el grupo de artritis reumatoide como en el grupo con afectación más agresiva de la enfermedad. Este resultado es difícil de explicar ya que estos subgrupos no muestran “in vitro” una alteración en su función de inhibir la tripsina y la elastasa. Este mismo autor estudió a 145 pacientes con síndrome de Sjögren que fueron divididos en 4 grupos: 56 enfermos con síndrome de Sjögren primario, 46 pacientes asociados a artritis reumatoide, 15 enfermos asociados a otras enfermedades sistémicas diferentes a la artritis reumatoide y 28 pacientes con síndrome seco. En los pacientes de los cuatro subgrupos se les realizó determinación de sus respectivos fenotipos sin poder demostrar ninguna asociación entre los diferentes grupos y los fenotipos deficitarios para la  $\alpha$ -1-AT.

La Espondilitis Anquilopoyética (EA) es otra enfermedad inflamatoria que afecta fundamentalmente el esqueleto axial y las grandes articulaciones. Sobre esta patología se realizó un estudio epidemiológico de 175 pacientes que mostró un 3 % de PiZZ y un 9% con fenotipo PiMF. Este incremento de la variante fenotípica PiMF es difícil de explicar ya que se trata de un alelo infrecuente y es un fenotipo no deficitario<sup>86</sup>. En otro trabajo realizado por Brewerton et al.<sup>103</sup> no se detectó un aumento en la frecuencia de PiMZ en 30 pacientes con EA no complicada, mientras que si observaron un 30% de PiMZ en aquellos pacientes con uveitis anterior. Estos mismos autores encontraron en 80 pacientes con uveitis anteriores idiopáticas o asociadas a Espondilitis anquilopoyética un 25% de PiMZ. No obstante, otros estudios realizados en este grupo de pacientes no han corroborado estos resultados, debiendo suspenderse uno de ellos al no detectar ningún caso de PiMZ en 133 enfermos estudiados<sup>104</sup>.

Por otro lado, Breit et al.<sup>86</sup> observaron una asociación de fenotipos deficitarios ( MS y MZ) en aquellos pacientes con uveítis anterior que eran de predominio bilateral, recurrentes y crónicas. Estos resultados no se asociaron a la presencia del antígeno HLA B27.

En referencia a las uveítis posteriores y las vasculitis retinianas al tratarse de patologías con una incidencia baja es preciso un largo periodo de recogida de sujetos para demostrar una asociación con fenotipos deficitarios de la  $\alpha$ -1-AT y, en consecuencia, prácticamente no hay estudios al respecto. Wakefield et al.<sup>105</sup> estudiaron 25 pacientes con vasculitis retinianas y no encontraron una asociación de ésta con los fenotipos deficitarios de la  $\alpha$ -1-AT.

Existen algunas publicaciones interesantes en que se describen casos de Paniculitis de Weber Christian en pacientes con fenotipos PiZZ, sugiriendo que los traumatismos, las infecciones focales y los fenómenos inmunológicos pueden desencadenar estas lesiones de paniculitis al presentar un déficit de inhibidores de las proteasas<sup>106</sup>. No obstante, en nuestra experiencia no hemos observado fenotipos deficitarios en las paniculitis asociadas a dermatomiositis<sup>107</sup>.

Guitart et al.<sup>108</sup> describieron el caso de un paciente con un déficit de  $\alpha$ -1-AT y una vasculitis cutánea que presentó un síndrome de Muir-Torre. Por otro lado, Vaillant et al.<sup>109</sup> describieron la asociación de un pénfigo autoinmune en un enfermo con fenotipo PiZZ.

Finalmente en un trabajo realizado en enfermos con psoriasis se objetivó un 12% de PiMZ, aunque no parecían existir diferencias en la presentación clínica de esta patología en los fenotipos deficitarios<sup>110</sup>.

En 1985 se publicó el caso de dos pacientes con fenotipo MZ que presentaban una artritis reumatoide y una hepatopatía que se atribuyó al déficit de  $\alpha$ -1-AT<sup>111</sup>.

La primera asociación entre el déficit de  $\alpha$ -1-AT y la enfermedad renal fue descrita en 1969 en un paciente con PiZZ, glomerulonefritis, enfisema y poliarteritis nodosa<sup>112</sup>. Algunos años más tarde, se publicó otro trabajo en el que se describían los casos de tres niños con PiZZ que presentaban cirrosis y una glomerulonefritis membranoproliferativa asociada<sup>113</sup>. Por otro lado, Lewis

et al.<sup>114</sup> describieron el caso de un paciente con un déficit de  $\alpha$ -1-AT asociada a vasculitis cutánea y una glomerulonefritis rápidamente progresiva.

Un comentario más extenso requiere la asociación de vasculitis sistémica y los fenotipos deficitarios de alfa-1-antitripsina. Hasta 1991 únicamente se habían descrito tres casos de asociación de vasculitis con déficits graves de  $\alpha$ -1-AT<sup>112, 115, 116</sup>. A partir de 1993 se han publicado diferentes estudios en pacientes con enfermedad de Wegener que han mostrado una mayor frecuencia de fenotipos anómalos<sup>117</sup>, sobretodo en aquellos pacientes con vasculitis ANCA positivos.

Los anticuerpos contra el citoplasma del neutrófilo (ANCA) se encuentran en el suero de los pacientes con vasculitis necrotizante. Estos anticuerpos se han implicado en la patogénesis de estas enfermedades, correlacionándose con sus valores séricos con la actividad de la enfermedad. Se ha demostrado que el ANCA induce la activación del neutrófilo "in vivo" liberándose, de este modo, proteasas y radicales oxígeno tóxicos que son los responsables de las alteraciones morfológicas de estas enfermedades. Los principales blancos antigénicos de los ANCA son la proteasa 3 (PR3) y la mieloperoxidasa (MPO).

La  $\alpha$ -1-AT es el mayor inhibidor de la PR3, una proteasa del leucocito polimorfonuclear que inicialmente se describió como un agente productor de enfisema en los Hámsters. Esnault et al.<sup>118</sup> observaron un 62% de fenotipos deficitarios en 14 pacientes con vasculitis PR3-ANCA positivas mientras sólo un 17% de los 6 pacientes con vasculitis MPO-ANCA positivas presentaban fenotipos deficitarios. Los autores proponían que los pacientes con déficit de alfa-1-antitripsina presentan un desequilibrio entre la actividad proteasa y la antiproteasa que causa un aumento de los valores de PR3 y una amplificación de la respuesta inflamatoria. Posteriormente, Lhotta et al.<sup>119</sup> en una serie más amplia de vasculitis c-ANCA positivos (n=32) mostró únicamente un 25% de pacientes con fenotipos deficitarios, aunque observaron que el alelo PiZ se encontraba en el 10,9% de éstos. En 1994 se publicó un estudio realizado sobre un total de 105 pacientes

PR3-ANCA positivos donde se encontró un 17,1% de fenotipos anómalos y se evidenció una clara relación entre éstos y la enfermedad de Wegener a diferencia de lo que ocurría en la poliarteritis microscópica donde esta asociación era infrecuente. Por otro lado, Hallaron una mayor mortalidad en el seguimiento del grupo de pacientes con el alelo Z <sup>120</sup>.

Segelmark et al. <sup>121</sup> estudiaron el comportamiento clínico de 18 pacientes con vasculitis PR3-ANCA positivos portadores del alelo PiZ comparándolos con 99 pacientes no PiZ. Estos autores observaron una afectación más diseminada, valorada por el número de órganos afectados, en los sujetos con alelo PiZ. Además, no detectaron ningún paciente con factor reumatoide positivo en este grupo de enfermos por lo que sugirieron que las vasculitis con factor reumatoide positivos podrían presentar características diferentes comparadas con las vasculitis factor reumatoide negativas.

Unicamente conocemos un trabajo en el que se demostrara una asociación entre las vasculitis p-ANCA positivas y el alelo PiS objetivándose una frecuencia dos veces mayor de este alelo (9,1 % frente 4,6% en los controles)<sup>122</sup>.

Esta discusión existente en la literatura nos ha movido a estudiar en nuestro medio la posible relación entre fenotipos deficitarios de la  $\alpha$ -1-AT y las enfermedades autoinmunes.

Así los objetivos principales de la tesis son los siguientes:

1. Evaluar si en nuestra población existe una mayor prevalencia de fenotipos deficitarios graves (PiZZ) y moderados (Pi MZ, SS y MS) de la  $\alpha$ -1-AT en las enfermedades sistémicas o conectivopatías, comparándola con la población general.
2. Valorar si la esclerodermia, el Lupus eritematoso sistémico, las miopatías inflamatorias idiopática y las vasculitis presentan un curso clínico y un pronóstico diferente en aquellos pacientes con fenotipos deficitarios de la  $\alpha$ -1-AT.

3. Analizar si existe una mayor incidencia de afectación pulmonar, renal y hepática en este grupo de enfermedades en los sujetos con fenotipos deficitarios graves y moderados.
  
4. Estudiar si los resultados que se puedan derivar respecto al fenotipo se correlacionan con los valores séricos de la  $\alpha$ -1-AT.

## 2. PACIENTES, MATERIAL Y METODOS

### 2.1. PACIENTES Y GRUPO CONTROL

Los pacientes que se incluyeron en el presente estudio fueron sujetos con enfermedades sistémicas autoinmunes. El estudio del fenotipo y la determinación de la Alfa-1-antitripsina se realizó mediante suero que fue extraído en consultas externas, durante un ingreso hospitalario, en el servicio de extracciones del hospital Vall d'Hebrón o analizando una muestra de la seroteca de nuestro servicio.

Los datos clínicos del estudio fueron evaluados a partir de las historias clínica de los pacientes o a través de bases de datos del servicio de Medicina Interna durante el periodo junio-diciembre de 1997, identificándose los pacientes mediante su número de historia clínica.

La población control está constituida por 440 individuos sanos (determinado por anamnesis y exploración física), que acudieron al servicio de medicina preventiva del hospital para un examen periódico de salud. A partir de la muestra de sangre extraída a cada individuo para las determinaciones hematológicas y bioquímicas habituales, se reservó una alícuota de suero para la determinación de los valores séricos de  $\alpha$ -1-AT y el fenotipo Pi. No se realizó apareamiento de la población control debido a que la variable principal del estudio (fenotipo de la  $\alpha$ -1-AT) se determina genéticamente y por lo tanto es invariable.

Además del estudio de prevalencia de los fenotipos de la  $\alpha$ -1-AT en las diferentes enfermedades autoinmunes se ha realizado un estudio caso-control para el análisis de las variables clínicas, analíticas y pronósticas en función del fenotipo. Para realizar este estudio observacional se han englobado los fenotipos deficitarios como Pi No MM y se han comparado con aquellos con fenotipo normal (Pi MM)

## **2.2. FENOTIPO Y VALORES SÉRICOS DE LA ALFA-1-ANTITRIPSINA. DESCRIPCION DE LA TECNICA.**

La determinación de los valores sanguíneos de  $\alpha$ -1-AT se realizó por inmunofelometría con un autoanalizador Array<sup>TM</sup> Protein System (Beckman-Instruments, Brea, California, Estados Unidos).

La determinación de los fenotipos Pi se realizó según la técnica descrita por Weidinger et al.<sup>123</sup> Brevemente, consiste en una técnica de isoelectroenfoque en geles de poliacrilamida (100 x 125 x 0,5 mm). Los geles contenían 4,5 ml de una solución de acrilamida al 29% y de 4,5 bis-acrilamida al 0.1%, 1,2 ml de anfolines con un rango de pH 4,2-4,9 (Pharmalyte, Pharmacia, Suecia), 2,4 ml de glicerol al 87% y 5,4 ml de agua. La polimerización se realizó añadiendo 5  $\mu$ l de TEMED y 180  $\mu$ l de persulfato de amonio al 3%. Posteriormente, las muestras de suero (5  $\mu$ l) se aplicaron en la superficie del gel, a 2 cm del cátodo, utilizando papel de filtro (Whatman 1). La migración electroforética se efectuó a 5°C durante 4 h, en unas condiciones máximas de 1800 V, 15 mA y 15W. Finalmente, los geles fueron fijados en una solución de metanol y ácido sulfosalicílico, durante una hora y las bandas proteicas se identificaron mediante tinción con azul de Coomassie Brilliant R-250.

En el presente estudio sólo nos referimos a la banda M como integrada por la suma de sus subtipos. Por otro lado, hemos agrupado los fenotipos deficitarios (PiMS, PiMZ y PiSS) con el nombre de Pi no MM.

## 2.3. VARIABLES ESTUDIADAS

### 2.3.1 Epidemiológicas

- **SEXO**
- **AÑO DE INICIO DE LOS SINTOMAS**
- **EDAD DE INICIO DE LOS SINTOMAS**

### 2.3.2 Diagnóstico clínico

- **DIAGNOSTICO PRINCIPAL:**

En el caso de que presentara alguna asociación entre enfermedades sistémicas se consideraba como diagnóstico principal aquella enfermedad con las manifestaciones clínicas más predominantes.

- **FENÓMENO DE RAYNAUD PRIMARIO:** Se definió como cambios episódicos del color de los dedos (palidez, cianosis, eritema) que ocurrían en respuesta al frío o un estrés emocional. Se consideró primario porque no se asociaron a manifestaciones sistémicas, alteraciones capilaroscópicas ni a la presencia de ANA.

- **PRESCLERODERMIA:** Se definió como aquellos pacientes con fenómeno de Raynaud, asociados a una capilaroscopia patológica (presencia de megacapilares y/o pérdida difusa de capilares) y con anticuerpos antinucleares (ANA) positivos sin presentar esclerosis cutánea ni afectación visceral característica de la esclerosis sistémica.

Todos los enfermos con esclerodermia cumplían los criterios de clasificación de esclerodermia aceptados por la American College of Rheumatology (ACR)<sup>124</sup>.

- Criterio mayor: esclerosis proximal
- Criterios menores: esclerodactilia, cicatrices puntiformes en los pulpejos de los dedos y fibrosis pulmonar bibasal.

Se define esclerosis sistémica definida ante un criterio mayor o 2 o más criterios menores.

Se consideraron los subtipos de esclerodermia difusa y limitada definidos por Medsger<sup>125</sup>.

- **ESCLERODERMIA LIMITADA:** La esclerosis cutánea se localiza distalmente a los codos y rodillas, pudiendo afectar la cara y el cuello.
- **ESCLERODERMIA DIFUSA:** La esclerosis cutánea se localiza en el tronco, cara y en las extremidades a nivel proximal y distal.
- **LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO:** Se han utilizado los criterios de la ACR revisados en 1982.<sup>126</sup> Para realizar el diagnóstico es preciso 4 criterios:
  - Eritema malar: eritema fijo, plano o elevado, sobre las eminencias malares, con tendencia a evitar los pliegues nasolabiales.
  - Rash discoide: placas elevadas eritematosas con escamas queratóticas adherentes y espículas foliculares. En las lesiones antiguas pueden existir cicatrización atrófica.
  - Fotosensibilidad: Exantema cutáneo como reacción inusual a la exposición solar.

- Úlceras orales: úlceras orales o nasofaríngeas, generalmente indoloras.
  - Artritis: artritis no erosiva que afecte dos o más articulaciones periféricas.
  - Serositis: pleuritis o pericarditis
  - Alteraciones renales: proteinuria superior a 0.5 gr/día o superior a 3 + si no se realiza cuantificación o cilindros celulares-hematíes, hemoglobina, granulares, tubulares o mixtos.
  - Alteraciones neurológicas: convulsiones en ausencia de fármacos convulsivantes y alteraciones metabólicas o psicosis en ausencia de drogas psicóticas o alteraciones metabólicas.
  - Alteraciones hematológicas: anemia hemolítica con reticulocitosis o leucopenia inferior a 4000/ $\mu$ l en dos determinaciones o linfopenia inferior a 1500/ $\mu$ l en dos determinaciones o trombopenia inferior a 100000/ $\mu$ l.
  - Alteraciones inmunológicas: Células LE, anti-DNA o anti-Sm positivos o serología luética falsamente positiva.
  - Anticuerpos antinucleares: positivos
- **VASCULITIS POR HIPERSENSIBILIDAD**: Se han utilizado los criterios de la American College of Rheumatology de 1990<sup>127</sup>. Se precisan 3 criterios para establecer el diagnóstico:
- Edad de inicio de los síntomas mayor de 16 años
  - Presencia de un fármaco que pueda ser un factor precipitante

- Presencia de púrpura palpable
  - Rash maculo-papular
  - Cambios histológicos que muestre granulocitos a nivel perivascular o extravascular en arteriolas y venulas
- **GRANULOMATOSIS DE WEGENER:** Se han utilizado los criterios de la American College of Rheumatology de 1990<sup>127</sup>. Se precisa 2 o más criterios para establecer el diagnóstico:
- Inflamación oral o nasal
  - Alteraciones radiológicas en la Rx de tórax (nódulos, infiltrados fijos o cavidades)
  - Sedimento urinario patológico ( microhematuria o cilindros hemáticos)
  - Inflamación granulomatosa en la biopsia
- **POLIARTERITIS NODOSA:** Se ha utilizado los criterios de 1990 de la American College of Rheumatology<sup>127</sup>, precisándose 3 de los 10 criterios para establecer el diagnóstico:
- Pérdida > 4 Kg de peso
  - Presencia de lívido reticularis
  - Dolor testicular
  - Mialgias o debilidad muscular
  - Mononeuropatía o polineuropatía
  - Tensión arterial diastólica > 90 mm Hg

- Elevación de la BUN o la creatinina
  - Presencia del HBsAg
  - Arteriografía patológica con presencia de aneurismas u oclusiones no debidas a otras causas
  - Presencia de PMN en la biopsia de las arterias de mediano y pequeño tamaño.
- **POLIANGITIS MICROSCOPICA:** Se han utilizado los criterios de Chapel Hill<sup>128, 129</sup>:
- Presencia de glomerulonefritis necrotizante rápidamente progresiva y/o hemorragia alveolar, los cuales pueden estar asociados a otras manifestaciones de vasculitis sistémica
  - Demostración histológica de vasculitis de pequeño vaso
  - Sintomas sugestivos de afectación de pequeño vaso (púrpura)
- **ARTERITIS DE HORTON:** Se han utilizado los criterios de 1990 de la American College of Rheumatology<sup>127</sup>, precisándose 3 de los 5 criterios para establecer el diagnóstico:
- Edad de inicio de la sintomatología mayor de 50 años
  - Aparición de cefalea de características diferentes a las previas
  - Anormalidades de la arteria temporal como disminución de la pulsación o signos de tumefacción en la arteria temporal
  - Velocidad de sedimentación globular elevada (≥50 mm/h)
  - Biopsia de la arteria temporal patológica. Habitualmente se objetiva vasculitis con una predominancia de células mononucleares

o la presencia de granulomas, usualmente con células gigantes multinucleadas.

- **SINDROME DE CHURG-STRAUSS:** Se han utilizado los criterios de 1990 de la American College of Rheumatology<sup>127</sup>, precisándose 4 de los 6 criterios para establecer el diagnóstico:

- Asma
- Eosinofilia > 10%
- Mono o polineuropatía
- Infiltrados pulmonares no fijos
- Alteraciones de los senos paranasales
- Objetivar en la biopsia eosinófilos extravascularmente.

- **MIOPATIA INELAMATORIA IDIOPATICA:** se han utilizado los criterios de Bohan y Peter<sup>130</sup>. Únicamente hemos incluido aquellos pacientes con polimiositis definida. Es decir, aquellos que cumplen los cuatro criterios:

- Debilidad muscular proximal y simétrica.
- Elevación de las enzimas musculares (CK, GOT, GPT, Aldolasa, LDH).
- Alteraciones electromiográficas compatibles: unidades motoras polifásicas, fibrilación espontánea y descargas de alta frecuencia.
- Biopsia muscular compatible: necrosis de fibras musculares I y II e infiltrado inflamatorio de predominio perivascular y de linfocitos B y T Helper junto a atrofia perifascicular en la Dermatomiositis y de distribución endomisial (linfocitos T Supresores) en la Polimiositis.

- Y la afectación cutánea característica en el caso de la Dermatomiositis (signo del Chal, papulas de Gottron y exantema heliotropo).

Se han agrupado a los pacientes con miopatía inflamatoria idiopática en 5 grupos<sup>131</sup>:

- I. Polimiositis (PM) del adulto
- II. Dermatomiositis (DM) del adulto
- III. PM/DM asociada a neoplasia
- IV. PM/DM infantil
- V. PM/DM asociadas a otras enfermedades sistémicas autoinmunes o de entrecruzamiento.

- **ENFERMEDAD DE BEHÇET:** se han utilizado los criterios del International Study Group for Behçet disease<sup>132</sup>:

En ausencia de otra explicación clínica pacientes que presenten:

- Úlceras orales recurrentes

Junto con dos de los siguientes criterios:

- Úlceras genitales recurrentes
- Afectación ocular: uveítis anterior, uveítis posterior, visualización de células en el vítreo mediante la lámpara de hendidura o vasculitis retiniana.
- Lesiones cutáneas: eritema nodoso, pseudofoliculitis, lesiones papulopustulares o nódulos acneiformes en pacientes postadolescentes que no reciban corticoides
- Presencia de patergia

- **SINDROME SECO:** presencia de xerostomía o xeroftalmia
  
- **SINDROME DE SJÖGREN:** se han utilizado los criterios europeos para el diagnóstico de esta patología<sup>133</sup>:
  - Síntomas oculares
  - Síntomas orales
  - Signos oculares: Test de Schirmer y Rosa de Bengala positivos
  - Signos orales: Sialografía y Gammagrafía salivar
  - Datos histopatológicos: biopsia `positiva de la glándula labial accesoria ( 2 focos linfocitarios por 4 mm<sup>2</sup>).
  - Autoanticuerpos: Ro y La/ ANA/ Factor Reumatoide
  
- **ARTRITIS REUMATOIDE:** se han utilizado los criterios de la American Rheumatology Association revisados en 1987<sup>134</sup>:
  - Rigidez matutina de duración superior a una hora presente más de 6 semanas
  - Artritis de 3 o más articulaciones. Al menos 3 articulaciones han presentado simultáneamente tumefacción de tejidos blandos o derrame observadas por un médico. Las 14 posibles articulaciones son (derecha e izquierda): interfalángicas proximales, metacarpofalángicas, muñeca, codo, tobillo, rodilla y metatarsfalángica. Deben estar presentes al menos 6 semanas.
  - Artritis de las articulaciones de las manos. Al menos una de las articulaciones tumefactas debe corresponder a la muñeca, metacarpofalángica o interfalángica proximal.

- Artritis simétrica.
- Nódulos reumatoides. Nódulos subcutáneos sobre prominencias óseas, superficies extensoras o en regiones yuxtaarticulares.
- Factor reumatoide positivo
- Cambios radiológicos. Deben incluir erosiones o descalcificación ósea inequívoca localizada en la proximidad de la articulación afectada.

Se acepta que un paciente presenta una artritis reumatoide si reúne al menos 4 de los 7 criterios.

- **PANICULITIS:** inflamación del tejido celular subcutáneo objetivada mediante biopsia.
- **GLOMERULONEERITIS RAPIDAMENTE PROGRESIVA:** síndrome clínico caracterizado por el desarrollo rápido de insuficiencia renal asociado al desarrollo de lesiones glomerulares inflamatorias con predominio de proliferación extracapilar.

### 2.3.3. Afectación de órganos

- **NUMERO DE ORGANOS AFECTADOS EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE ENFERMEDADES SISTEMICAS AUTOINMUNES:** ORL, pulmón, renal, ocular, cutánea, musculo-articular, gastrointestinal, hepática, neurológica, cardiaca y pleural.
- **AFEECTACION ORL:** Presencia de úlceras nasales u orales, sinusitis o epixtasis
- **AFEECTACION PULMONAR:** Presencia de alteraciones radiológicas pulmonares o alteración en las pruebas funcionales respiratorias. La gravedad de la afectación pulmonar se ha valorado en función de la alteración de las pruebas funcionales respiratorias según la clasificación propuesta por el American College of Chest Physicians<sup>135</sup>.

<b>GRAVEDAD</b>	<b>VEMS, CVF O AMBOS EXPRESADOS COMO % DEL VALOR DE REFERENCIA</b>
<b>LIGERA</b>	HASTA EL 65%
<b>MODERADA</b>	ENTRE EL 64 Y EL 50%
<b>GRAVE</b>	MENOR DEL 49%

VEMS: volumen espiratorio máximo en el primer segundo. CVF: capacidad vital forzada

**TABLA 1.** Clasificación de la gravedad de las alteraciones espirométricas

La progresión de las PFR se ha valorado comparando dos determinaciones separadas como mínimo 3 años entre ellas, definiéndose los siguientes patrones:

- Normalización: si las PFR inicialmente eran patológicas y posteriormente se normalizan.
  - Mejoría: si en las segundas PFR se ha evidenciado una mejoría al pasar de un estadio más grave a otro con menor afectación espirométrica.
  - Estable: Si las 2 PFR presentan el mismo estadio de gravedad espirométrica.
  - Empeoramiento: Si las PFR de control constatan una mayor afectación espirométrica pasando a un estadio más grave.
- 
- **AFECTACION RENAL**: Definida por la presencia de hematuria, HTA, proteinuria o deterioro de la función renal
  - **PRESENCIA DE HIPERTENSION ARTERIAL**: Aparición de cifras tensionales superiores a 140/95 detectadas en 3 ocasiones
  - **PRESENCIA DE HEMATURIA**: Se ha definido microhematuria como la presencia de más de 6 hematíes por campo en el estudio del sedimento. Hablamos de macrohematuria en aquella que se ha detectado visualmente.
  - **PROTEINURIA**: excreción urinaria de proteínas superior a 150 mg/día. La proteinuria dentro del rango nefrótico es definida como aquella pérdida de proteínas superior a 3.5 gramos diarios

- **DETERIORO DE LA FUNCION RENAL:** dentro de esta variable hemos considerado tres posibles situaciones:
  - El paciente durante el periodo de seguimiento no ha presentado alteraciones de la función renal.
  - El fracaso renal se ha producido en los 5 primeros años desde el inicio de la sintomatología.
  - La insuficiencia renal se produce transcurridos más de 5 años desde el inicio de la sintomatología.
  
- **ULTIMO CONTROL DE LA FUNCION RENAL:** para evaluar esta variable hemos considerado la última determinación de creatinina que constaba en su Historia Clínica. Hemos definido 3 posibilidades:
  - Creatinina normal
  - Creatinina < 5 mg/dl
  - Creatinina  $\geq$  5 mg/dl
  
- **HISTOLOGIA RENAL:** hemos valorado las siguientes posibilidades en función del estudio anatomopatológico de la biopsia renal: presencia de esclerosis glomerular, glomerulonefritis proliferativa, glomerulonefritis mesangial, glomerulonefritis focal y segmentaria, evidencia de signos de vasculitis y necrosis fibrinoide.
  
- **INMUNOELIORESCENCIA RENAL:** evaluando su positividad para IgG, IgM, IgA o al complemento.

- **AFEECTACION OCULAR:** la hemos definido como la presencia de uveitis anterior o posterior, retinitis y signos de síndrome seco objetivables (prueba de Schirmer, de Rosa de Bengala y/o de la rotura lagrimal patológico).
- **AFEECTACION MUCOCUTANEA:** definida por la presencia de púrpura vasculítica, úlceras cutáneas, aftas orales o ginecológicas, nódulos subcutáneos, fenómeno de Raynaud, eritema nodoso, aparición y extensión de la esclerosis (distinguiendo sí esta se inició antes de 5 años del inicio de la sintomatología o, por el contrario, aparecían después de los 5 primeros años de evolución de la enfermedad) y sintomatología cutánea sugestiva de Lupus agudo o Lupus discoide.
- **CAPILAROSCOPIA:** en la valoración de la capilaroscopia periungueal hemos incidido en 2 parámetros fundamentalmente: en la presencia de megacapilares (capilares extremadamente dilatados en dos dedos como mínimo) y en la presencia de áreas avasculares amplias en dos dedos como mínimo.
- **AFEECTACION ARTICULAR Y MUSCULAR:** dentro del análisis de esta variable hemos considerado las siguientes posibilidades: presencia de artritis de pequeñas o grandes articulaciones, artromialgias o debilidad muscular manifiesta por clínica o electromiografía.
- **AFEECTACION GASTROINTESTINAL:** se ha determinado como la presencia de dolor abdominal no explicable por otras etiologías que la enfermedad de base, disfagia y la evidencia de una manometría esofágica patológica (considerandola como una variable específica en aquellos casos que la manometría demostrara una afectación importante).

- **AFECTION HEPATICA:** hemos considerado básicamente 2 patrones: patrón de hepatitis predominante (cuando el paciente presentaba una elevación de las transaminasas fundamentalmente) o colestasis (elevación de las fosfatasas alcalinas y  $\gamma$ GT sin o con poco aumento de las transaminasas).
- **ECOGRAFIA ABDOMINAL:** para valorar otras potenciales causas de la alteración de la función hepática (patología biliar o lesiones ocupantes de espacio hepáticas)
- **HISTOLOGIA HEPATICA:** incidiendo en la presencia de signos histológicos de vasculitis o un patrón de hepatitis inespecífica.
- **AFECTION NEUROLOGICA:** definida como afectación del SNC (accidente vascular cerebral, crisis comiciales o cuadro psicóticos en el LES).
- **AFECTION CARDIACA:** definida como la presencia de pericarditis, hipertensión pulmonar o Raynaud cardiaco (fenómenos de isquemia/reperfusión detectados por gammagrafía miocárdica).
- **AFECTION PLEURAL:** definida como la presencia de dolor torácico de características pleuríticas y/o derrame pleural.
- **SINTOMATOLOGIA GENERAL:** aparición en algún momento del curso de la enfermedad de fiebre, astenia o pérdida de más del 10% del peso.

#### 2.3.4. Parámetros analíticos de laboratorio

- **FENOTIPO**
  
- **DETERMINACION DE ALFA-1-ANTITRIPSINA EN SUERO**
  
- **VALORES ANALITICOS EN EL MOMENTO DEL DIAGNOSTICO:**
  - VSG
  - UREA Y CREATININA
  - GOT, GPT, FOSFATASAS ALCALINAS, GGT, BILIRRUBINA DIRECTA E INDIRECTA
  - PROTEINAS TOTALES, ALBUMINA Y ALFA<sub>1</sub> GLOBULINA
  - LDH Y CK
  - LEUCOCITOS Y FORMULA LEUCOCITARIA
  - HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO
  - PLAQUETAS
  - PRUEBAS DE COAGULACION (QUICK Y TTP)
  - FIBRINOGENO
  
- **DATOS INMUNOLOGICOS:**
  - TITULO Y PATRON DE LOS ANTICUERPOS ANTINUCLEARES  
(ANA): patrón homogéneo, patrón moteado y patrón nucleolar.
  - CRIOGLOBULINAS
  - ANTICUERPOS ANTI-RO (SS-A) Y ANTI-LA(SS-B)

- ANTICUERPOS ANTI-SM
- ANTICUERPOS CONTRA EL CITOPLASMA DEL NEUTRÓFILO (ANCA): PR3-ANCA Y MPO-ANCA
- ANTICUERPOS ANTI-SCL-70 Y ANTICENTROMERO
- ANTICUERPOS ANTIMITOCONDRIALES
- FACTOR REUMATOIDE
- VALORES DEL COMPLEMENTO (C3, C4, CH50 Y C3PA)
- DOSIFICACION DE LAS SIGUIENTES INMUNOGLOBULINAS:  
IgG, IgM, IgA
- ANTICUERPOS ANTI-DNA
- ANTICUERPOS ANTI-RNP
- ANTICUERPOS ANTI-JO-1
- ANTICUERPOS ANTI PARED GASTRICA Y ANTIMUSCULO LISO
- ANTICOAGULANTE LUPICO Y ANTIFOSFOLIPIDO
- ANTICUERPOS ANTIPLAQUETA Y ANTIHEMATIE
- SEROLOGIA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B Y C.

### 2.3.5. Tratamiento y pronóstico

- **TRATAMIENTOS ADMINISTRADOS:** hemos valorado la administración de corticoides orales, pulsos de corticoides endovenosos, ciclofosfamida vía oral, pulsos de ciclofosfamida endovenosos, plasmaféresis e inmunoglobulinas.
- **NUMERO DE RECAIDAS/AÑO:** entendiendo por tales aquellas que obligan a cambiar la estrategia terapéutica en consultas externas o precisa ingreso hospitalario.

- **MESES DE SEGUIMIENTO DEL PACIENTE:** número de meses desde el inicio de la sintomatología hasta el momento de la recogida de los datos.
- **EXITUS:** si el paciente durante el seguimiento ha fallecido y la causa de ésta.
- **NÚMERO DE MESES DESDE EL INICIO DE LA SINTOMATOLOGIA HASTA EL MOMENTO DEL FALLECIMIENTO.**

## 2.4. ANALISIS ESTADISTICO

El análisis de los datos se ha realizado mediante el programa estadístico SPSS.

La descripción de las variables cualitativas se ha realizado mediante la distribución de frecuencias de cada una de las categorías. Las variables cuantitativas se describen mediante su media ( $\xi$ ) y su desviación estándar (DE).

El análisis de las diferencias entre dos variables categóricas se realizó a través de la prueba del  $\chi^2$ , utilizando el test exacto de Fisher cuando más del 20% de las celdas tenían valores esperados inferiores a 5 ó cuando en alguna de las celdas había algún cero.

La comparación de las medias de los grupos se ha realizado, cuando las muestras seguían una distribución normal, mediante la “t” de Student. En el caso contrario o cuando la “n” tenía valores bajos (< 30) se compararon mediante la prueba no paramétrica de la U de Mann-Whitney.

Para la estimación de riesgos se ha empleado la “odds ratio” con un intervalo de confianza del 95% calculada mediante regresión logística, lo que nos da una medida del efecto de cada una de estas variables independientes sobre la dependiente.

La supervivencia de los pacientes fue estudiada mediante la curva de supervivencia de Kaplan-Meier.

Los valores de la “p” inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. GRUPO CONTROL (n=440)<sup>41</sup>

Los resultados de las distintas frecuencias de los fenotipos de la  $\alpha$ -1-AT y su valor sérico en el grupo control se recogen en la tabla 2:

<i>FENOTIPO</i>	<i>NUMERO</i>	<i>PORCENTAJE</i>	<i>ALFA-1-ANTITRIPSINA</i>
<i>Pi MM</i>	336	76,4%	170 (60)
<i>Pi MS</i>	84	19,1%	141 (29)
<i>Pi MZ</i>	14	3,2%	108 (35)
<i>OTROS</i>	6	1,3%	115 (28)

TABLA 2. Frecuencia de los diferentes fenotipos en la población control.

#### 3.2. ENFERMEDADES SISTEMICAS AUTOINMUNES

Se estudiaron un total de 224 pacientes con enfermedades sistémicas autoinmunes, realizándose en todos ellos la determinación del fenotipo para la  $\alpha$ -1-AT. Posteriormente, se pudo acceder a la totalidad de los datos de la historia clínica en 154 de éstos. Disponiendo de los diagnósticos y parte de los datos clínicos de los 70 pacientes restantes mediante acceso a bases de datos.

Los dos grupos, no diferían en la edad en el momento de revisar la historia clínica y en el año del inicio de la sintomatología.

### Edad en el momento de revisar los datos de la historia clínica

Pi MM	(n=163)	54,8 (16.8)
Pi No MM	(n=61)	50.8 (19.0)

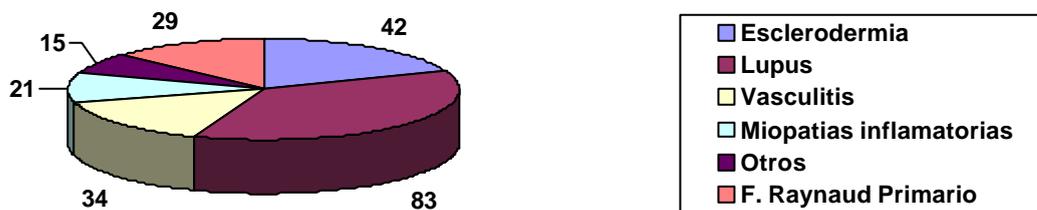
p = 0,21

### Año de inicio de la sintomatología

Pi MM	1985 (9)
Pi No MM	1988 (8)

P = 0,15

Los 224 pacientes estudiados fueron diagnosticados de 270 enfermedades sistémicas. Los considerados diagnósticos principales de estos pacientes fueron clasificados en 5 grandes grupos para su estudio:



**FIGURA 6.** Descripción por grupos de diagnósticos principales

## **RELACION DE DIAGNOSTICOS PRINCIPALES**

**Fenómeno de Raynaud primario** 29 pacientes

### **Esclerodermia**

- Presclerodermia 5 pacientes
- Esclerodermia limitada 27 pacientes
- Esclerodermia difusa 10 pacientes

**Lupus eritematoso sistémico** 83 pacientes

### **Vasculitis**

- Vasculitis por hipersensibilidad 1 paciente
- Granulomatosis de Wegener 7 pacientes
- Síndrome de Churg-Strauss 4 pacientes
- Panarteritis nodosa 7 pacientes
- Poliangeitis microscópica 5 pacientes
- Arteritis de Horton 6 pacientes
- Vasculitis del SNC 1 paciente
- Vasculitis indefinidas 3 pacientes

### **Miopatías inflamatorias**

- Polimiositis 5 pacientes
- Dermatomiositis 12 pacientes
- Miopatías asociadas a neoplasias 4 pacientes

### **Otras**

- Enfermedad de Behçet 2 pacientes
- Artritis reumatoide 4 pacientes
- Síndrome de Sjögren 1 paciente

- Paniculitis 1 paciente
- Glomerulonefritis rápidamente progresiva 2 pacientes
- Otras 5 pacientes

### **RELACION DE DIAGNOSTICOS SECUNDARIOS**

- Esclerodermia limitada 2 pacientes
- Síndrome antifosfolípido 6 pacientes
- Vasculitis por hipersensibilidad 1 paciente
- Otras vasculitis 13 pacientes
- Miopatías inflamatorias 3 pacientes
- Síndrome seco 15 pacientes
- Artritis reumatoide 2 pacientes
- Síndrome de Sjögren 3 pacientes
- Otras 1 paciente

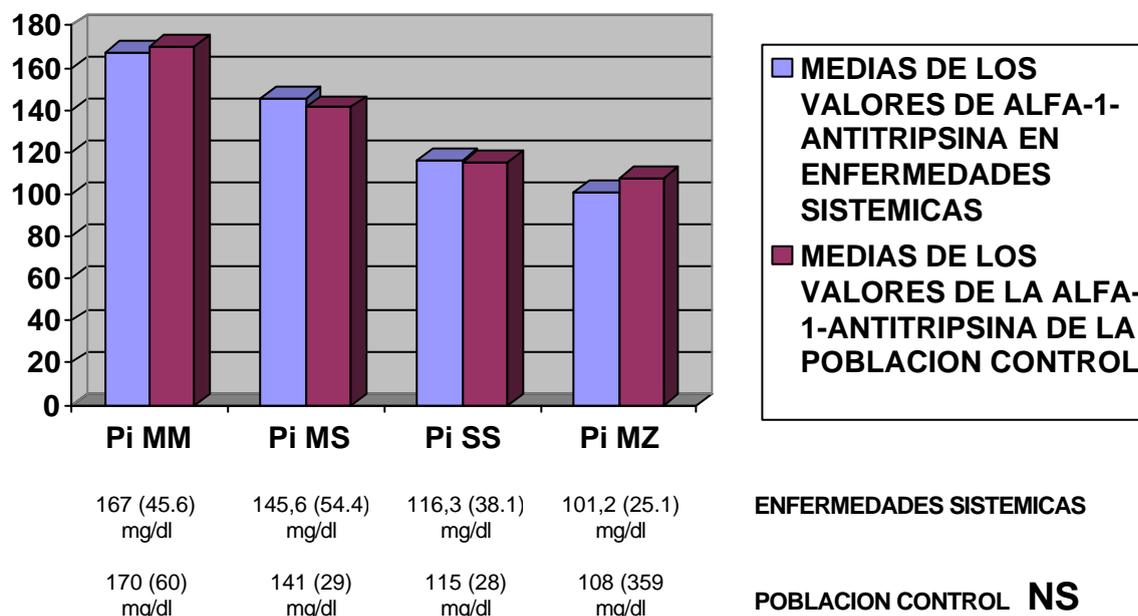
El diagnóstico se realizó según criterios clínicos en el 75,9% de los casos, mediante biopsia cutánea en el 3,1% de los casos, a través de la biopsia renal en el 4,5%, mediante la biopsia hepática en el 0,4%, a través del estudio biopsico muscular o nervioso en el 13,4% y finalmente, el diagnóstico se realizó por biopsia de la arteria temporal en el 2,7% del total de pacientes.

El estudio de los fenotipos de la  $\alpha$ -1-AT en las enfermedades sistémicas autoinmunes mostró las siguientes frecuencias:

FENOTIPO	NUMERO	PORCENTAJE
Pi MM	163	72,77%
Pi MS	46	20,54%
Pi SS	5	2,23%
Pi MZ	10	4,46%
TOTAL	224	100%

**TABLA 3.** Distribución de los fenotipos de la  $\alpha$ -1-AT en las enfermedades sistémicas autoinmunes estudiadas.

Los valores de la  $\alpha$ -1-AT en función del fenotipo quedan reflejadas en el siguiente gráfico:



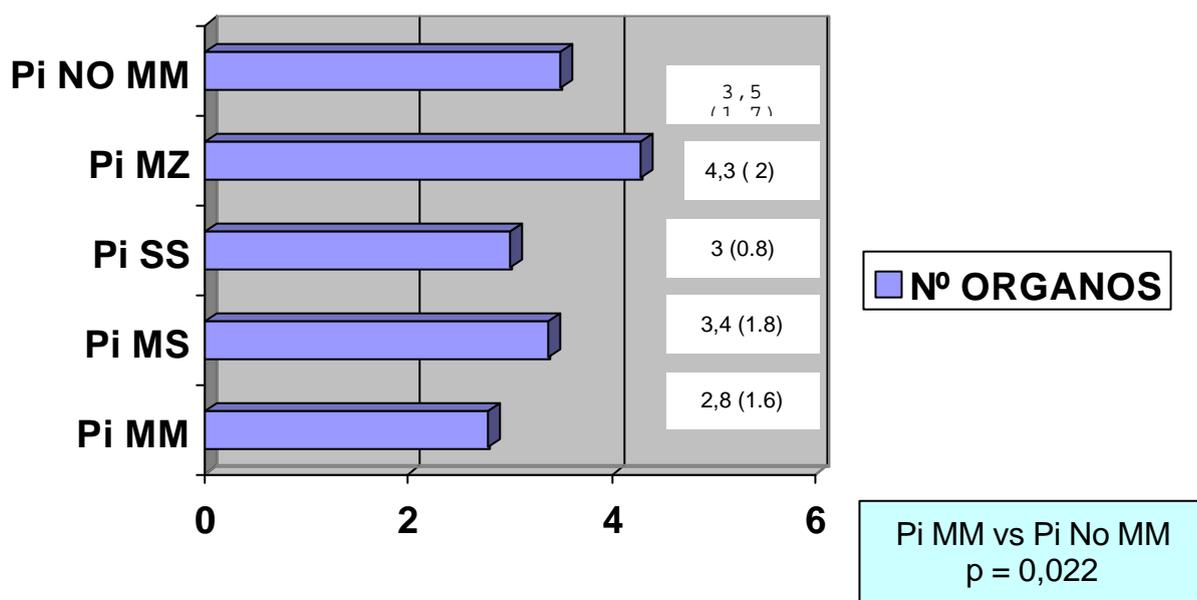
**FIGURA 7.** Distribución de los valores de  $\alpha$ -1-AT en función del fenotipo comparando la población control y las enfermedades sistémicas autoinmunes.

De forma global, la frecuencia de cada uno de los diferentes fenotipos y sus valores de  $\alpha$ -1-AT no difiere de la población control.

El sexo tanto en el grupo de pacientes con fenotipo normal (Pi MM) y en aquellos con fenotipo deficitario (Pi no MM) no mostró diferencias estadísticamente significativas. En los sujetos con fenotipo Pi MM el índice H/V fue de 3,4 mientras que en aquellos con fenotipo deficitario fue de 4 (p = 0,6).

La media de edad del inicio de la sintomatología en los pacientes estudiados con enfermedades sistémicas fue prácticamente idéntica en los pacientes con fenotipo normal respecto aquellos con fenotipos deficitarios. En los pacientes Pi MM la edad media fue de 42,95 (18,2) años mientras en los Pi no MM fue de 42,79 (21.7 años)

(p = 0,96).



**FIGURA 8.** Número de órganos afectados en función del fenotipo.

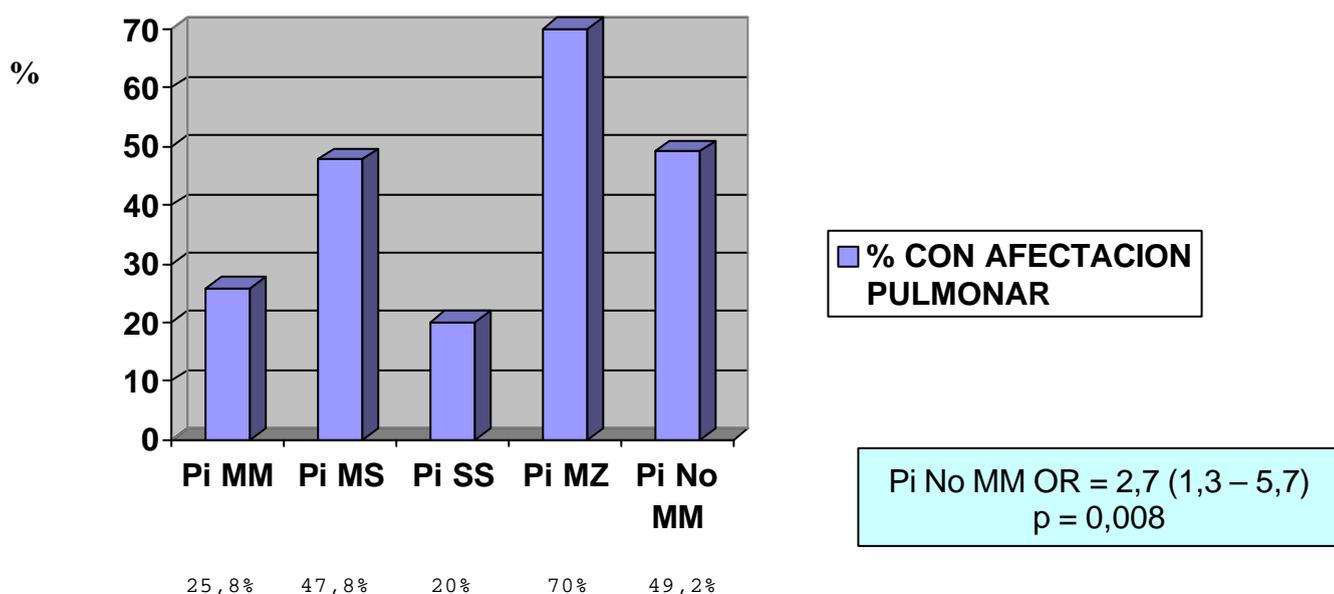
En los pacientes con enfermedades autoinmunes sistémicas la presencia de un fenotipo Pi no MM se asoció de forma significativa a una afectación de un mayor número de órganos.

### **I. AFECTACION ORL**

No se ha observado diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes fenotipos de la  $\alpha$ -1-AT. Los Pi MM presentaban afectación ORL en el 6,75% de los casos, mientras los Pi no MM lo hacían en el 6,6% ( $p = 1$ ).

### **II. AFECTACION PULMONAR**

Los pacientes con enfermedades sistémicas autoinmunes y fenotipo Pi no MM presentaban un riesgo de más del doble de presentar afectación pulmonar que aquellos que presentaban un fenotipo Pi MM.



**FIGURA 9.** Afectación pulmonar en función del fenotipo

En relación con el tabaquismo los grupos eran equiparables tanto en el número de fumadores activos (Pi MM 29,4% - Pi noMM 31,1%) como en exfumadores (Pi MM 10,4% - Pi noMM 6,5%).

## IIa. **RX TORAX** (n = 96)

De las 96 Rx de tórax evaluadas 65 (67,7%) fueron normales y 31 (32,3%) mostraron hallazgos radiológicos patológicos:

- 4 presentaban una condensación alveolar (4,2%)
- 8 mostraron un patrón intersticial (8,3%)
- 5 evidenciaban bronquiectasias (5,2%)
- 10 presentaban un patrón apanalado compatible con fibrosis pulmonar (10,4%)
- 3 mostraron uno o más nódulos pulmonares (3,1%)
- y 1 fue diagnosticado de hemorragia pulmonar (1%).

En función del fenotipo para la  $\alpha$ -1-AT el porcentaje de Rx patológicas varía. Así:

Pi MM	el 22,7% de las Rx de tórax fueron patológicas
Pi MS	el 57,1% de las Rx de tórax fueron patológicas
Pi SS	el 100% de las Rx de tórax fueron normales
Pi ZZ	el 66,7% de las RX de tórax fueron patológicas
Pi no MM	el 53,3 % de las Rx de tórax fueron patológicas

Pi No MM OR = 3,9 (1,5 – 9,7)  
p = 0,003

Si analizamos los diferentes patrones pulmonares independientemente y los relacionamos

con su fenotipo para la  $\alpha$ -1-AT:

### Condensación alveolar

Pi MM	3 (75%)
Pi MS	1 (25%)
Pi No MM	1 (25%)

p = 0,87

### Patrón intersticial

Pi MM	3 (37,5%)
Pi MS	3 (37,5%)
Pi MZ	2 (25%)
Pi No MM	5 (62,5%)

Pi No MM OR = 6,1 (1,3 – 28,6)  
p = 0,022

### Bronquiectasias

Pi MM	2 (40%)
Pi MS	3 (60%)
PI No MM	3 (60%)

p = 0,07

### Fibrosis pulmonar

Pi MM	6 (60%)
Pi MS	3 (30%)
Pi MZ	1 (10%)
Pi No MM	4 (40%)

p = 0,21

### Nódulo pulmonar

Pi MM	1 (33,3%)
Pi MS	1 (33,3%)
Pi MZ	1 (33,3%)
Pi No MM	2 (66,6%)

p = 0,11

### Hemorragia pulmonar

Pi MS	1 (100%)
-------	----------

p = 0,73

Aquellos pacientes portadores de un fenotipo Pi no MM tenían una probabilidad casi cuatro veces mayor de presentar alteraciones radiológicas y seis veces mayor de desarrollar un patrón intersticial.

### IIb. PRUEBAS FUNCIONALES RESPIRATORIAS (n = 57)

	<i>Pi MM</i>	<i>Pi MS</i>	<i>Pi SS</i>	<i>Pi MZ</i>	<i>Pi No MM</i>	<i>TOTAL</i>
<i>NORMAL</i>	25 (58,1 %)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	2 (14,3%)	27 (52,9%)
<i>OBSTRUCTIVO</i>	3 (7%)	2 (22,2%)	0 (0%)	2 (66,7%)	4 (28,6%)	7 (12,3%)
<i>RESTRICTIVO</i>	11 (25,6%)	6 (66,7%)	0 (0%)	1 (33,3%)	7 (50%)	18 (31,6%)
<i>PEQUEÑA VIA</i>	4 (9,3%)	1 (11,1%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (7,1%)	5 (8,8%)
<i>TOTAL</i>	43	9	2	3	14	57

**TABLA 4.** Alteraciones de las pruebas funcionales respiratorias en función del fenotipo

El 41,9% de los enfermos con fenotipo Pi MM estudiados presentaban unas pruebas funcionales respiratorias patológicas, mientras en los Pi no MM encontramos un 85,7% de pruebas funcionales respiratorias alteradas (**p = 0,014**).

#### Patrón obstructivo

Pi MM	3 (42,8%)
Pi MS	2 (28,6%)
Pi MZ	2 (28,6%)
Pi No MM	4 (57,2%)

Pi No MM OR = 16,7 (2,1 – 133)  
p = 0,007

#### Patrón restrictivo

Pi MM	11 (61,1%)
Pi MS	6 (33,3%)
Pi MZ	1 (5,6%)
Pi No MM	7 (38,9%)

Pi No MM OR = 7,9 (1,4 – 44,6)  
p = 0,01

La **gravedad de la afectación** en las pruebas funcionales respiratorias fue objetivada en 51 de los 57 casos:

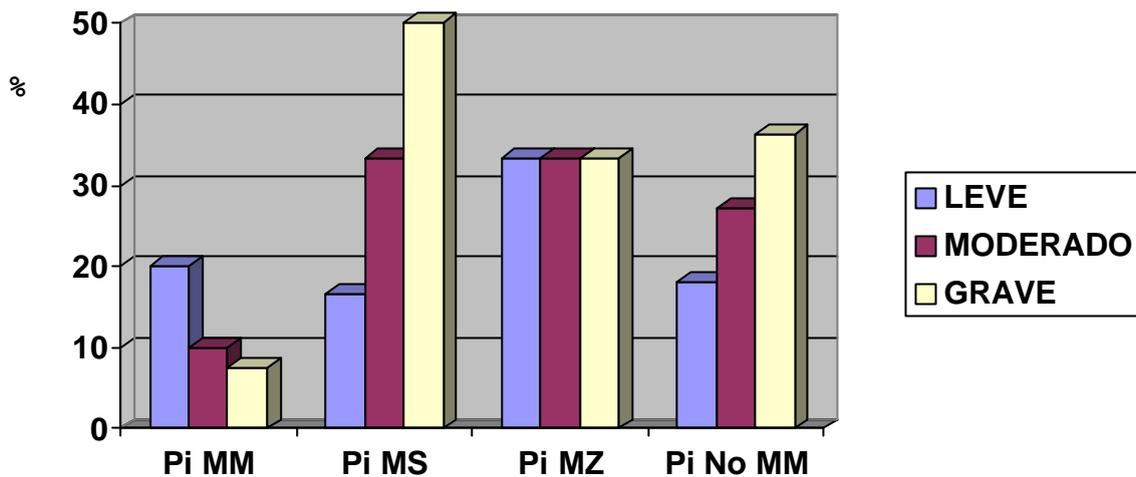


FIGURA 10. Gravedad de la afectación de las pruebas funcionales respiratorias en función del fenotipo.

Afectación PFR moderada

Pi No MM OR = 9,4 (1,2 – 74,8)  
p = 0,03

Afectación PFR grave

Pi No MM OR = 16,7 (2,1 – 133)  
p = 0,008

Se pudo disponer de los datos cuantitativos de las pruebas funcionales respiratorias en 43 casos. La determinación del VEMS fue menor de forma estadísticamente significativa ( $p = 0,049$ ) en aquellos pacientes con fenotipos deficitarios para la  $\alpha$ -1-AT (Pi no MM) comparándola con pacientes con fenotipo PiMM.

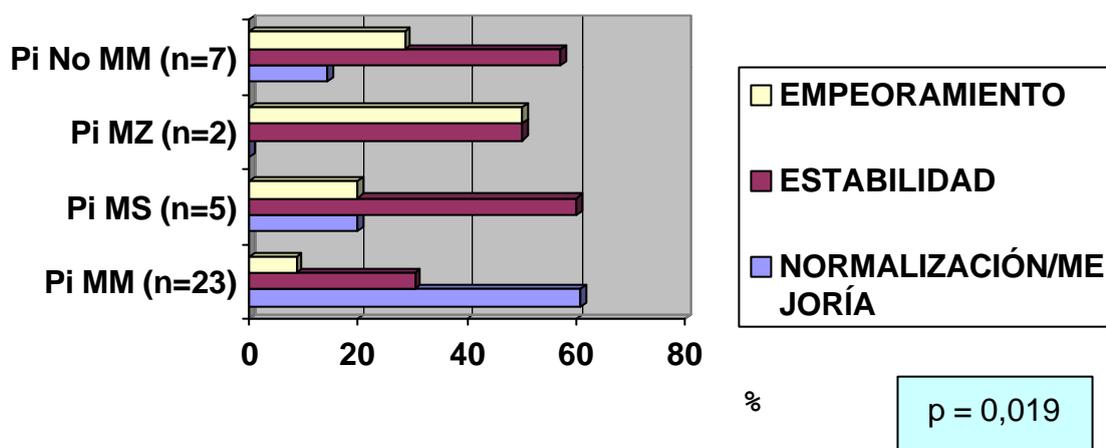
Media del VEMS en Pi MM 90,2% (25,4)

Media del VEMS en Pi no MM 73,3% (19,3)

Por otro lado, a pesar que la media de la Capacidad Vital media fue menor en los pacientes con fenotipo Pi no MM (77,6% -24,3-) comparándola con aquellos con fenotipo normal (86,6% -23,6-) no se alcanzó significación estadística ( $p = 0,28$ ).

El estudio de la **DLCO** se ha podido analizar en 46 casos y ha mostrado que los pacientes con fenotipo Pi MM en el 57,1% de los casos fue normal, en el 31,4% fue bajo pero se corregía con el VA y en el 11,4% fue bajo. Por el contrario en los fenotipos Pi MS, Pi SS y Pi MZ en el 45,5% fue normal, en el 9% bajo pero se corregía con el VA y en el 45,5% fue bajo (**p =0,048**).

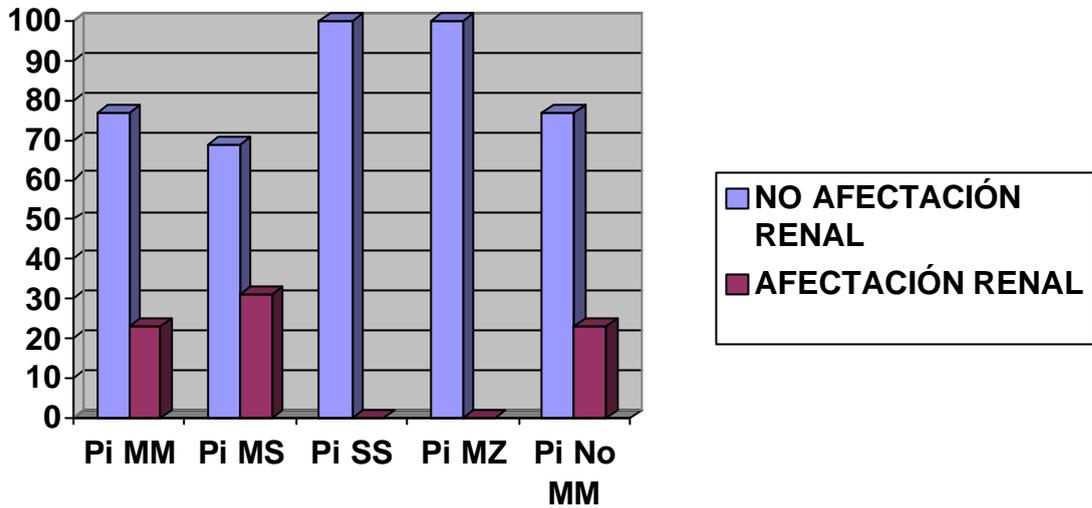
Finalmente **el estudio evolutivo de las PFR** se pudo realizar en 30 enfermos objetivándose un peor pronostico funcional en los pacientes con fenotipo Pi no MM:



**FIGURA 11.** Evolución de las pruebas funcionales respiratorias en función del fenotipo

### **III. AFECTACIÓN RENAL**

No se ha podido establecer ningún tipo de relación entre la afectación renal de las enfermedades sistémicas autoinmunes estudiadas y los fenotipos de la  $\alpha$ -1-AT.



p = 0,99

FIGURA 12. Afectación renal en función del fenotipo

Se ha estudiado la presencia de **hipertensión** atribuida a la patología de base, **hematuria**, **proteinuria** y **el deterioro de la función renal** sin poder establecer diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

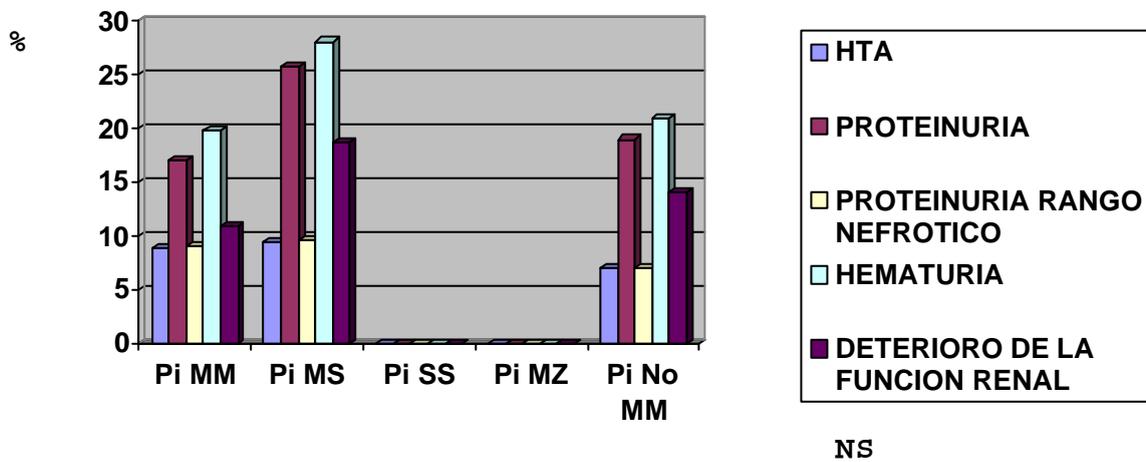


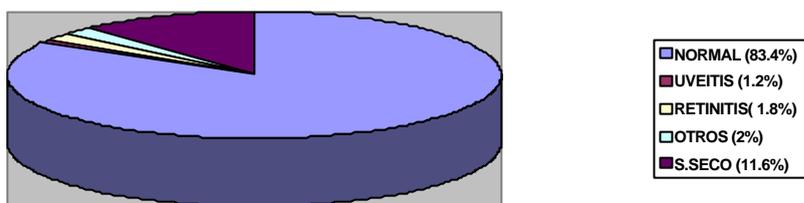
FIGURA 13. Presencia de HTA, proteinuria, hematuria y deterioro de la función renal en función del fenotipo.

No obstante, destaca el hecho que ninguno de los pacientes con fenotipo Pi SS y Pi MZ presentaran afectación renal de sus enfermedades sistémicas. Por otro lado, no se han evidenciado

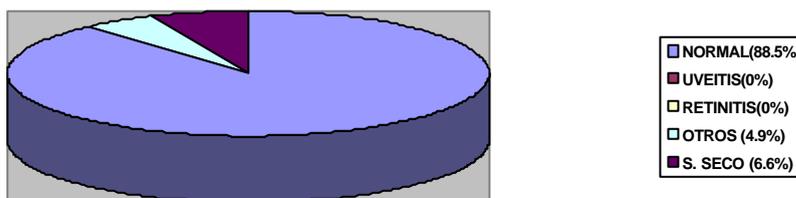
diferencias en los hallazgos anatomopatológicos y en la inmunofluorescencia de las biopsias renales de los pacientes con fenotipo Pi MM comparándolas con aquellos Pi MS.

#### IV. AFECTACION OCULAR

Analizando globalmente las enfermedades sistémicas estudiadas, la afectación ocular de los pacientes con diferentes fenotipos no difiere de forma estadísticamente significativa. No obstante, cabe destacar una mayor prevalencia de síndrome seco en los pacientes con fenotipo Pi MM comparándolas con aquellos con fenotipos deficitarios.



**PiMM**



**Pi No MM**

NS

**FIGURA 14.** Afectación ocular en función si el paciente presenta fenotipo normal (Pi MM) o fenotipo deficitario (Pi No MM).

## V. AFECTACION CUTÁNEA

La incidencia de afectación cutánea entre los grupos estudiados no ha demostrado variaciones estadísticamente significativas. Únicamente la presencia de púrpura vasculítica asociada a las enfermedades sistémicas es claramente más prevalente en el grupo de pacientes con fenotipos deficitarios para la  $\alpha$ -1-AT.

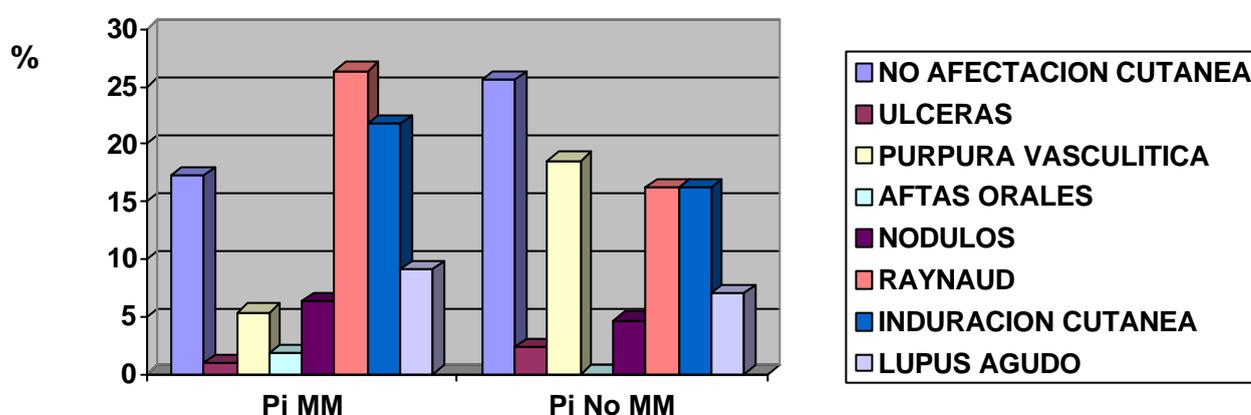


FIGURA 15. Distribución de la afectación cutánea en función si presenta fenotipo Pi MM o Pi no MM.

## VI. AFECTACION MUSCULO-ARTICULAR

En los enfermos con fenotipo normal la afectación musculoesquelética aparece en el 58.3% mientras en los fenotipos deficitarios aparece en el 67.2% de los pacientes estudiados lo que no alcanza significación estadística. Ésta se distribuye de la siguiente forma:

	Pi MM	Pi No MM	
• Artromialgias	22,1%	32,8%	NS
• Artritis	19,6%	23%	NS
• Debilidad muscular	16,6%	11,4%	NS

## VII. AFECTACION GASTROINTESTINAL

La incidencia de afectación gastrointestinal en los pacientes con fenotipo PiMM y no Pi MM no ha mostrado diferencias estadísticamente significativas, siendo del 22,7% y del 18% respectivamente.

## VIII. AFECTACION HEPATICA

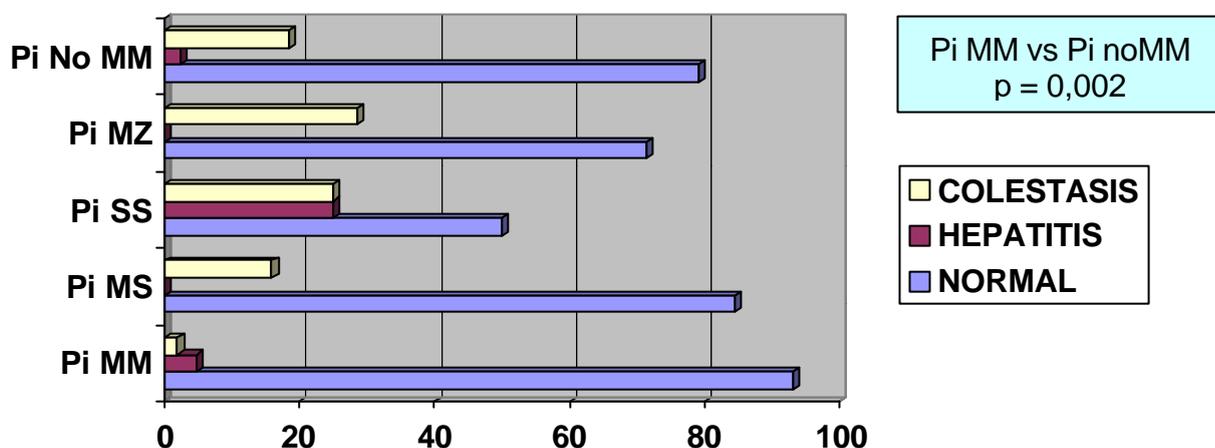


FIGURA 16. Afectación hepática en función de los diferentes fenotipos.

Hay una relación entre la frecuencia de aparición de la colestasis hepática y el déficit de  $\alpha$ -1-AT. En estos pacientes la ecografía abdominal fue en todos los casos normal y la serología de las hepatitis víricas B y C no mostró variaciones estadísticamente significativas respecto el grupo de pacientes con fenotipo Pi MM:

### Serología VHB (HBsAg positivo) (n=33)

Pi MM	8,3 %	
Pi No MM	0%	p = 0,523

### Serología VHC positiva (n=21)

Pi MM	14,29%	
Pi No MM	14,29%	p = 1

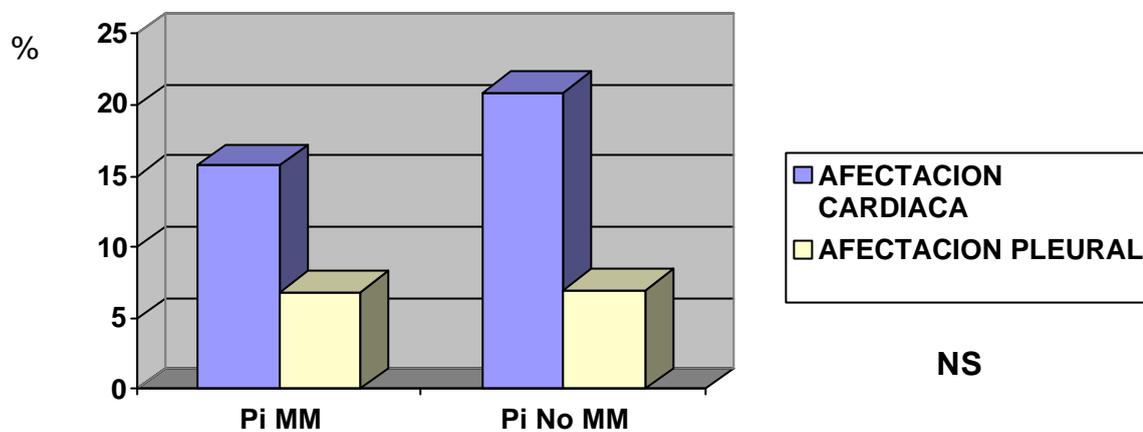
### **IX. AFECTACION NEUROLOGICA**

Se ha observado una mayor afectación neurológica en los fenotipos anómalos analizando globalmente las enfermedades sistémicas estudiadas. Así presentan:

- Pi MM 17,8% de los pacientes tienen sintomatología SN
- Pi MS 19,6%
- Pi SS 40%
- Pi MZ 40%
- Pi No MM 24,6% **p = 0,003**

## **X. AFECTACION CARDIACA Y PLEURAL**

No se ha demostrado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.



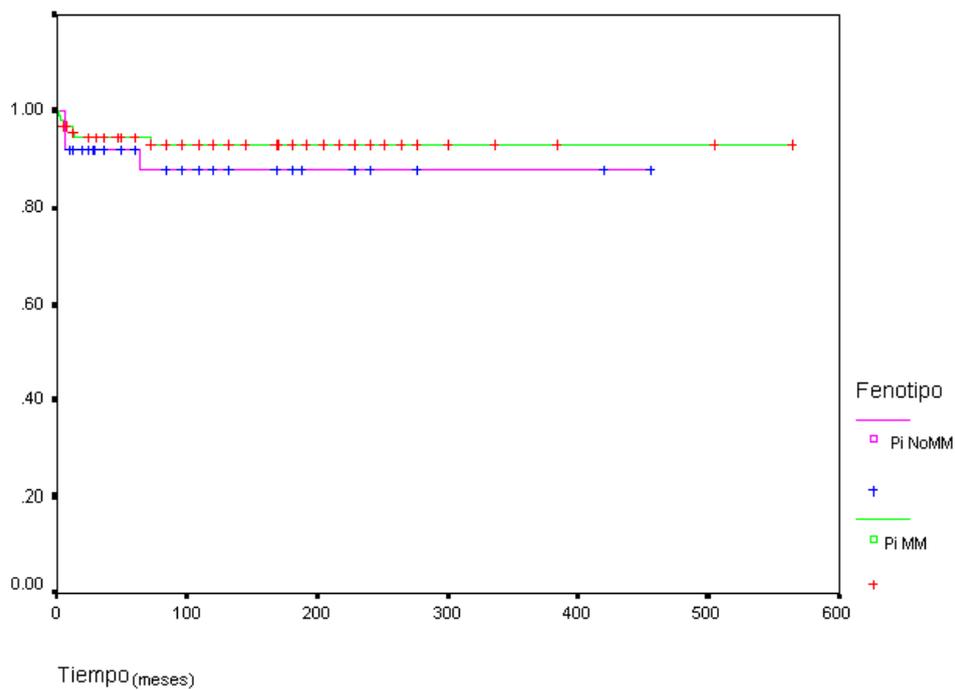
**FIGURA 17.** Afectación cardiaca y pleural en los pacientes con fenotipo normal (Pi MM) y deficitario (Pi No MM).

## **XI. SINTOMAS GENERALES**

No se ha demostrado diferencias relevantes en la presencia de fiebre, astenia y pérdida de peso en el grupo de pacientes con fenotipo Pi MM comparándolas con los fenotipos Pi no MM.

## **XII. PRONOSTICO Y MORTALIDAD**

La media del seguimiento de los pacientes con fenotipos normales fue de 135 (110) meses mientras que la de los fenotipos deficitarios fue de 107 (103) meses. Durante dicho seguimiento, aquellos enfermos con Pi MM presentaron una media de recaídas anuales inferiores (1.21 (2)) a aquellos con Pi no MM (1.55 (2.3)). Por otro lado, la mortalidad de los pacientes con fenotipos deficitarios fue discretamente mayor (93,44%) respecto aquellos con fenotipo normal (90,8 %). No obstante, en ninguno de los casos se objetivaron diferencias estadísticamente significativas.



**FIGURA 18.** Mortalidad en función del fenotipo del paciente, comparando los fenotipos Pi MM con los Pi No MM.

### 3.2.1. ESCLERODERMIA

FENOTIPO	NUMERO	PORCENTAJE
Pi MM	33	78,57%
Pi MS	5	11,90%
Pi SS	1	2,38%
Pi MZ	3	7,14%
TOTAL	42	100%

**TABLA 5.** Distribución de los fenotipos en los pacientes estudiados con esclerodermia.

La comparación de la frecuencia de los diferentes fenotipos en los pacientes con esclerodermia y la población control no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,74$ ).

La media de edad del inicio de la sintomatología en la esclerodermia varía en relación con el fenotipo, siendo más joven en los fenotipos deficitarios pero sin ser estadísticamente significativa:

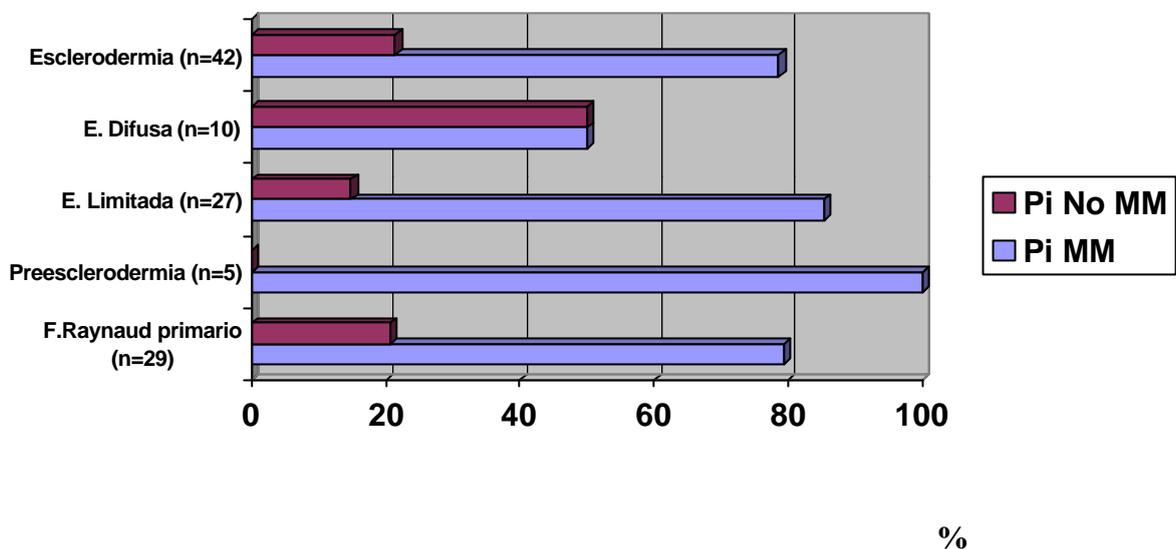
Pi MM            39,28 (14,93) años

Pi No MM        35,33 (13,8) años

$p = 0,09$

Tampoco hemos encontrado diferencias significativas respecto la relación entre sexos (H/V) en esta patología. En el fenotipo Pi MM la relación H/V es de 5,6, mientras en los fenotipos Pi no MM es de 3,5 ( $p = 0,61$ ).

La relación de fenotipos en las diferentes formas de esclerodermia y en los pacientes con fenómeno de Raynaud primario es la siguiente:



**FIGURA 19.** Distribución de los fenotipos Pi MM y Pi No MM en las diferentes formas de presentación de la esclerodermia y en los pacientes con fenómeno de Raynaud primario.

Los pacientes con esclerodermia han mostrado un patrón fenotípico muy similar a aquellos enfermos con fenómeno de Raynaud primario ( $p = 0,94$ ). En cambio, los enfermos con esclerodermia difusa presentan con mayor frecuencia fenotipos Pi No MM de forma estadísticamente significativa ( $p = 0,04$  comparándola con el grupo esclerodermia limitada y  $p = 0,049$  comparándola con la población control). Así hemos objetivado que los pacientes con fenotipo deficitario tienen un riesgo 5,75 veces mayor de desarrollar esclerodermia difusa respecto a aquellos con fenotipo normal.

Pi No MM OR = 5,75 (1,1 – 29,4)

En esta enfermedad existe una buena correlación entre el fenotipo y el valor sérico de  $\alpha$ -1-AT ( $p < 0.001$ ), con resultados comparables a los de la población control.

Nueve de estos 42 pacientes tenían otras enfermedades sistémicas asociadas: en un caso se trataba de una vasculitis, en 2 se asociaba una miopatía inflamatoria y en 6 un síndrome seco. Cabe destacar, aunque no alcanzó significación estadística ( $p = 0,22$ ), que todos los casos con síndrome seco y miopatías inflamatorias concomitantes presentaban un fenotipo Pi MM, mientras el paciente

que tenía una vasculitis asociada presentaba un fenotipo Pi no MM.

El número de órganos afectados en la esclerodermia era similar en los dos grupos: en el fenotipo no deficitario la media de órganos fue de 3,2, siendo de 3,42 en los fenotipos Pi no MM ( $p = 0,59$ ).

## **I. AFECTACION PULMONAR**

La afectación pulmonar en la esclerodermia es más frecuente en los fenotipos deficitarios pero sin alcanzar valores estadísticamente significativos ( $p = 0,25$ ). Lo mismo ocurre cuando analizamos en esta enfermedad las alteraciones radiológicas en función del fenotipo (analizamos 36 Rx de tórax). En relación al tabaquismo no hemos encontrado entre los grupos diferencias significativas tanto en el número de fumadores activos como en exfumadores (22,2% en el grupo Pi no MM y 28,6% en el grupo Pi MM.  $p = 0,76$ ).

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>	
<b>Afectación pulmonar</b>	45,45%	66,6%	
<b>No afectación pulmonar</b>	54,54%	33,3%	$p = 0,25$
<b>Rx tórax normal</b>	21 (70%)	2 (33,3%)	
<b>Patrón intersticial</b>	1 (3,33%)	1 (16,66%)	
<b>Bronquiectasias</b>	2 (6,66%)	0 (0%)	
<b>Fibrosis pulmonar</b>	6 (20%)	3 (50%)	
<b>Rx tórax patológica</b>	9 (30%)	5 (66,66%)	$p = 0,08$

**Ia. PRUEBAS FUNCIONALES RESPIRATORIAS (N = 30)**

	<i>Pi MM</i>	<i>Pi No MM</i>	<i>TOTAL</i>
<i>NORMAL</i>	15 (60%)	0 (0%)	15 (50%)
<i>OBSTRUCTIVO</i>	2 (8%)	0 (0%)	2 ( 6,66%)
<i>RESTRICTIVO</i>	4 (16%)	4 (80%)	8 (26,66%)
<i>PEQUEÑA VIA</i>	4 (16%)	1 (20%)	5 (16,66%)
<i>TOTAL</i>	25 (100%)	5 (100%)	30 (100%)

**TABLA 6.** Pruebas funcionales respiratorias (PFR) en los pacientes con fenotipo Pi MM y Pi no MM.

De esta forma, todos los pacientes con fenotipo anómalo tenían las PFR alteradas, por el 37% de los pacientes con fenotipo normal ( $p = 0,015$ ).

Si valoramos la **gravedad** de las PFR patológicas observamos que existe una asociación estadísticamente significativa entre ésta y los fenotipos deficitarios (Pi No MM):

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>
<b>Leve</b>	6 (24%)	1 (20%)
<b>Moderado</b>	2 (8%)	2 (40%)
<b>Grave</b>	1 (4%)	2 (40%)

$p = 0,005$

La progresión de las pruebas funcionales se pudo estudiar en 24 pacientes con esclerodermia evidenciándose, de forma estadísticamente significativa, un peor pronóstico funcional en los pacientes con fenotipos deficitarios:

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>
<b>Normalización/Mejoría</b>	12 (63,15%)	1 (20%)
<b>Estabilidad</b>	6 (31,57%)	4 (80%)
<b>Empeoramiento</b>	1 (5,26%)	0 (0%)

$p = 0,03$

Si valoramos cuantitativamente las medias de los valores del VEMS y la Capacidad Vital en los enfermos con Esclerodermia (n = 24) evidenciamos unos volúmenes pulmonares significativamente menores en los pacientes Pi No MM:

	<b>PI MM (n=21)</b>	<b>Pi No MM (n=5)</b>	<b>p</b>
<b>MEDIA VEMS</b>	93,05%	65,6%	0,01
<b>MEDIA CAPACIDAD VITAL</b>	92,1%	66,8%	0,02

Finalmente pudimos realizar el estudio de la DLCO inicial en 26 casos, demostrándose una menor capacidad de difusión en los pacientes con fenotipos anómalos:

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>
<b>NORMAL</b>	12 (54,54%)	1 (25%)
<b>Bajo corregido con VA</b>	7 (31,81%)	0 (0%)
<b>BAJO</b>	3 (13,63%)	3 (75%)

$p = 0,017$

## II. AEECTACION RENAL

En los 42 pacientes con esclerodermia estudiados únicamente se han constatado dos casos de crisis renal esclerodérmicas: en un caso se trataba de un paciente con fenotipo Pi MM y en el otro caso el fenotipo fue Pi MS. La evolución de ambos enfermos fue satisfactoria normalizándose la función renal con el tratamiento instaurado.

## III. AEECTACION OCULAR

Como hemos comentado previamente, los 6 casos en los cuales se constató un síndrome seco asociado a la Esclerodermia presentaban un fenotipo Pi MM . En 5 pacientes se constató un test de Schirmer, Rosa de Bengala y/o Test de rotura lacrimal patológico y en otro caso se objetivó, además, una Gammagrafía salivar con un estadio > III.

## IV. AEECTACION CUTÁNEA

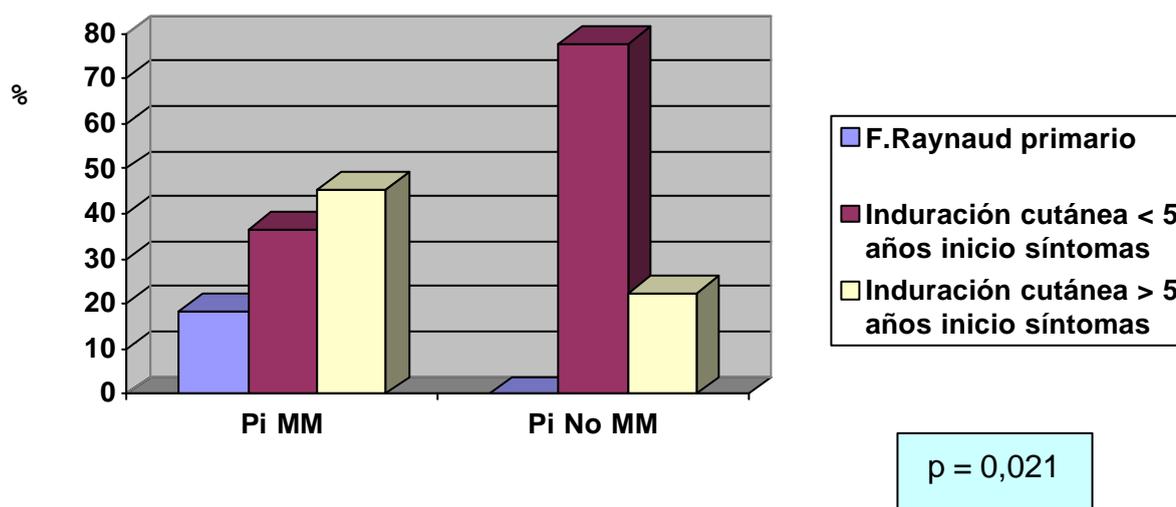


FIGURA 20. Afectación cutánea de la esclerodermia en los pacientes con fenotipo Pi MM y Pi no MM

De los 33 pacientes con esclerodermia y fenotipo Pi MM el 18,18% presentó como única manifestación un fenómeno de Raynaud, el 36,36% desarrolló induración cutánea en los primeros 5 años desde el inicio de la sintomatología y el 45,45% presentó induración cutánea tras los primeros 5 años de evolución de la enfermedad. En cambio, en ninguno de los 9 enfermos con fenotipo Pi No MM se presentó con fenómeno de Raynaud como única manifestación, en el 77,7% la induración cutánea se desarrolló en los 5 primeros años de evolución de la enfermedad y en el 22,3% tras los 5 años del inicio de la sintomatología. Estos resultados fueron estadísticamente significativos.

## **V. ESTUDIO CAPILAROSCOPICO (n=28)**

Los hallazgos capilaroscópicos de los pacientes con esclerodermia no se relacionaron estadísticamente con el fenotipo del enfermo:

	<i>Pi MM</i>	<i>Pi No MM</i>	<i>TOTAL</i>
<i>NORMAL</i>	1 (4,54%)	0 (0%)	1 (3,57%)
<i>INESPECIFICA/ PATRON LENTO</i>	7 (31,81%)	2 (33,33%)	9 (32,14%)
<i>MEGACAPILARES / PERDIDA DIFUSA/</i>	14 (63,63%)	4 (66,66%)	18 (64,28%)
<i>MEGACAPILARES + PERDIDA DIFUSA</i>			
<i>TOTAL</i>	22 (100%)	6 (100%)	28 (100%)

NS

**TABLA 7.** Hallazgos capilaroscópicos en los pacientes Pi MM y Pi no MM con esclerodermia.

## **VI. AFECTACION GASTROINTESTINAL**

Si analizamos la afectación esofágica en esta patología observamos una incidencia similar de disfagia y alteraciones de la manometría esofágica en los dos grupos estudiados:

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>	
<b>NORMAL</b>	45,45%	44,44%	
<b>DISFAGIA Y/O</b>			
<b>MANOMETRIA PATOLOGICA</b>	54,54%	55,55%	<b>p = 0,95</b>

## **VII. AFECTACION CARDIACA**

La afectación cardiaca en la esclerodermia puede presentarse en forma de fenómenos de isquemia/reperfusión detectados por gammagrafía miocárdica. En la serie que hemos estudiado está alteración se constató en 7 casos, siendo todos ellos fenotípicamente Pi MM. No obstante, el análisis no demostró significación estadística ( $p = 0,15$ ).

## **VIII. DATOS ANALITICOS (N=34)**

Los resultados de la bioquímica y la hematología en los pacientes con fenotipos deficitarios comparándolas con los fenotipos normales no han demostrado diferencias estadísticamente significativas excepto en el valor de  $\alpha_1$  globulina.

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>	<b>p</b>
<b>VSG</b>	19,07 (19,3)	20 (13,69)	NS
<b>CREATININA</b>	0,88 (0,13)	0,74 (0,05)	NS
<b>PROTEINAS TOTALES</b>	7,01 (0,45)	7.1 (0,39)	NS
<b>ALBUMINA</b>	4,47 (0,38)	4,27 (0,42)	NS
<b><math>\alpha_1</math> GLOBULINA</b>	0,24 (0,57)	0,16 (0,53)	<b>0,025</b>
<b>LEUCOCITOS</b>	6714 (3274)	8250 (2764)	NS

<b>INDICE LINFOCITARIO</b>	1,51 (0,9)	1,18 (0,22)	NS
<b>(n = 18)</b>			
<b>HEMOGLOBINA</b>	13,17 (1,23)	13,68 (1,07)	NS
<b>FIBRINOGENO</b>	3,18 (0,95)	3 (0,56)	NS

### **IX. DATOS INMUNOLOGICOS**

El resultado de los anticuerpos antinucleares (ANA) se pudo recoger en 34 casos siendo positivos en el 85,71% de los pacientes con esclerodermia y fenotipo normal y en el 100% de los pacientes con fenotipo deficitario ( $p = 0,32$ ). Por otro lado el patrón de los ANA no difería significativamente en los dos grupos:

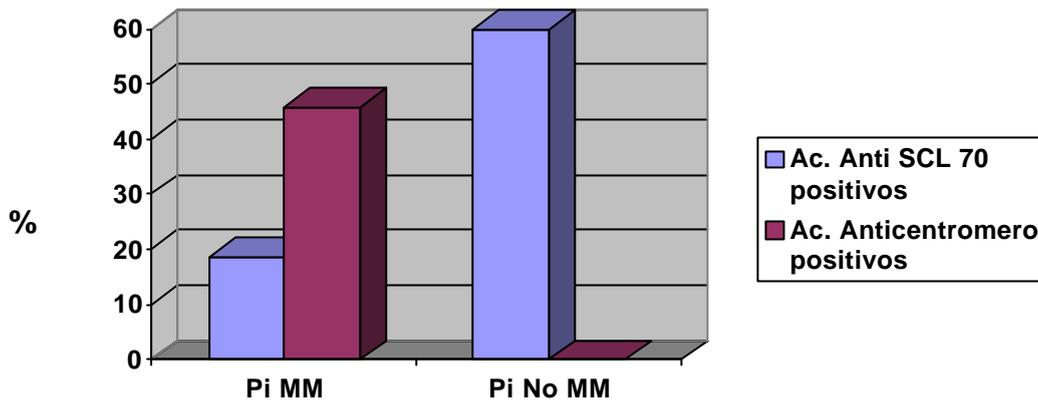
	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>
<b>HOMOGENEO</b>	12,5%	16,66%
<b>MOTEADO</b>	79,16%	83,33%
<b>NUCLEOLAR</b>	8,33%	0%

NS

Tampoco se observaron diferencias en el estudio del factor reumatoide ( $n = 39$ ) de estos pacientes. En el fenotipo Pi MM fue positivo en el 26,7% y en los fenotipos Pi no MM en el 33,3% ( $p = 0,79$ ).

Los anticuerpos anti SCL 70 se pudieron analizar en 32 pacientes siendo positivos en el 25% de éstos, presentando fenotipos deficitarios el 37,5% de los enfermos con esclerodermia y anticuerpos anti SCL 70 positivos. Esta relación ha sido estadísticamente significativa.

Por otro lado, los anticuerpos anticentrómero se evaluaron en 29 enfermos siendo positivos en el 37,93% de los casos. Cabe destacar que los 11 pacientes con anticuerpos anticentrómero positivos presentaban un fenotipo Pi MM.



**FIGURA 21.** Distribución de los fenotipos Pi MM y Pi no MM en los pacientes con esclerodermia y anticuerpos anti SCL 70 y anticentrómero positivos.

**SEGUIMIENTO Y MORTALIDAD**

$p = 0,049$

El seguimiento de los pacientes con fenotipo Pi MM y Pi no MM fue muy similar  $p = 0,054$

Pi MM 177 (122) meses de media

Pi No MM 176 (143) meses de media

Ninguno de los 71 pacientes estudiados falleció durante su seguimiento

### 3.2.2. LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

FENOTIPO	NUMERO	PORCENTAJE
Pi MM	65	78,31%
Pi MS	16	19,28%
Pi SS	0	0%
Pi MZ	2	2,41%
TOTAL	83	100%

**TABLA 8.** Distribución de los fenotipos en los pacientes con Lupus eritematoso sistémico.

La comparación de la frecuencia de los diferentes fenotipos en los pacientes con Lupus eritematoso sistémico y la población control no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,7$ ).

En el Lupus eritematoso sistémico (LES) la media de edad del inicio de la sintomatología fue menor en el grupo de pacientes con fenotipos deficitarios respecto aquellos con fenotipo normal, aunque sin alcanzar significación estadística.

Pi MM            31,3 (13,3) años

Pi No MM        23,7 (8,5) años

$p = 0,1$

Por otro lado, la relación entre sexos no variaba de forma estadísticamente significativa entre ambos grupos. En el grupo Pi MM la relación H/V fue de 4, mientras en el grupo Pi no MM fue de 8 ( $p = 0,5$ ).

El diagnóstico se realizó mediante criterios clínicos e inmunológicos en el 100% de los casos.

Respecto a las enfermedades asociadas al LES no se ha podido objetivar una relación entre la presencia de un síndrome antifosfolípido concomitante y ninguno de los fenotipos. Por otro lado, hemos evidenciado una mayor presencia de síndrome seco asociado con los fenotipos Pi MM

(62,5% de los 8 casos detectados) y una mayor incidencia de Pi no MM asociados a púrpura vasculítica (2/3 de los 12 casos detectados) pero sin tener significación estadística.

Hemos constatado una buena correlación entre el valor sérico de  $\alpha$ -1-AT y los diferentes fenotipos, presentando valores comparables a los de la población control (**p= 0,012**). Cabe destacar que 10 pacientes con LES (12%) y fenotipo Pi MM presentaban unos valores de  $\alpha$ -1-AT séricos inferior a 120 mg/dl.

El número de órganos afectados en los pacientes con LES y fenotipo normal eran similares a los de los fenotipos deficitarios:

Pi MM	4,1 (1,25)	
Pi No MM	4,2 (1,55)	NS

## **I. AFECTACION RENAL**

Objetivamos afectación renal del LES en el 60,2% de los pacientes estudiados.

De éstos el 72% presentaban un fenotipo normal, por un 28% de fenotipos anómalos ( $p = 0,46$ ). Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en la valoración de la presencia de HTA, proteinuria, hematuria y deterioro de la función renal.

## **II. AFECTACION CUTANEA**

No se han evidenciado diferencias en la presentación cutánea de ambos grupos, excepto en la aparición de púrpura vasculítica, como hemos comentado previamente, aunque sin alcanzar significación estadística.

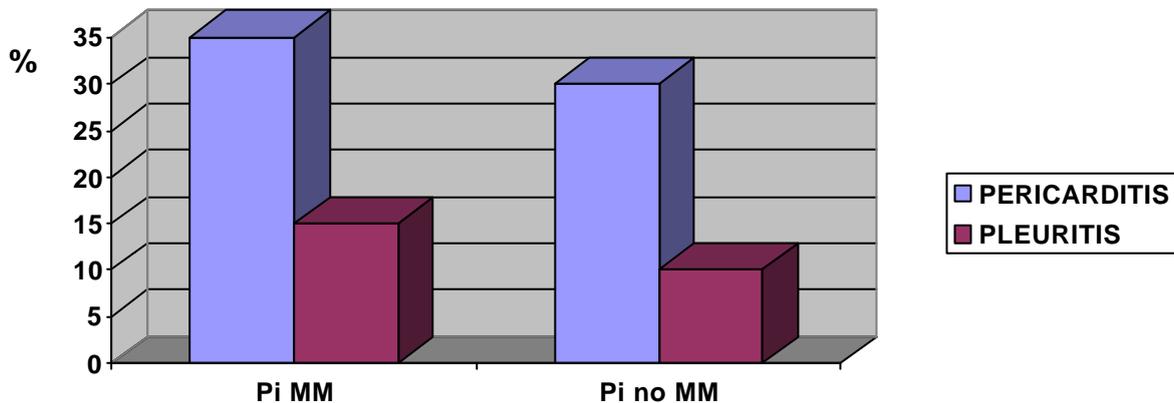
### **III. AFECTACION HEPATICA**

En 3 casos se evidenció una elevación de las transaminasas con serología vírica negativa presentado un fenotipo Pi MM ( $p = 0,54$ ).

### **IV. AFECTACION NEUROLOGICA**

El 44,6% de los pacientes con Pi MM presentaron alguna manifestación neurológica durante su seguimiento, por un 33,3% de los pacientes Pi no MM ( $p= 0,08$ ).

### **V. AFECTACION CARDIACA Y PLEURAL**



NS

**FIGURA 22.** Afectación cardiaca y pleural en los pacientes con LES en función del fenotipo (Pi MM y Pi no MM).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto la afectación de serosas entre ambos grupos.

## **VI. DATOS ANALITICOS E INMUNOLOGICOS**

No se han demostrado diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los datos analíticos e inmunológicos estudiados. Describimos los principales datos inmunológicos:

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>	<b>p</b>
<b>ANA POSITIVOS (n=83)</b>	95,4%	100%	0,51
<b>Ac. Anti Ro POSITIVOS (n=64)</b>	36,2%	47%	0,64
<b>Ac. Anti La POSITIVOS (n=58)</b>	7,1%	12,5%	0,5
<b>Ac. Anti Sm POSITIVOS (n=61)</b>	6,7%	12,5%	0,5
<b>F. REUMATOIDE POS. (n=64)</b>	31,9%	17,7%	0,39
<b>Ac. Anti DNA POSITIVOS (n=80)</b>	81%	94,1%	0,27
<b>Ac Anti RNP POSITIVOS (n=56)</b>	21,9%	20%	1
<b>Ac Antifosfolipido y/o</b>			
<b>Anticoagulante lúpico POS. (n=40)</b>	18,5%	23,1%	0,6
<b>Ac. Antiplaqueta POS. (n=31)</b>	57,9%	54,5%	1
<b>Ac. Antihematíe POS. (n=33)</b>	59,1%	63,6%	1

## **VII. TRATAMIENTOS ADMINISTRADOS**

Ninguna de las pautas terapéuticas ha mostrado diferencias estadísticamente significativas en los dos grupos tanto en el requerimiento de tratamiento con ciclofosfamida endovenosa como en la necesidad de precisar tratamiento con plasmaféresis.

### **VIII. SEGUIMIENTO Y PRONOSTICO**

El seguimiento medio de los pacientes ha sido similar en ambos grupos:

Pi MM	149 (79) meses	
Pi No MM	143 (79) meses	p = 0,83

Tampoco ha mostrado diferencias significativas el análisis del número de recaídas/año. Así en el grupo con fenotipos normales la media fue de 2,55 (2,3) y en el grupo con fenotipos deficitarios fue de 2,8 (2) (p= 0,77).

Finalmente durante el seguimiento de este grupo de pacientes con LES no se produjo ningún fallecimiento.

### 3.2.3. MIOPATIA INFLAMATORIA IDIOPATICA

FENOTIPO	NUMERO	PORCENTAJE
Pi MM	17	70,83%
Pi MS	5	20,83%
Pi SS	1	4%
Pi MZ	1	4,17%
TOTAL	24	100%

**TABLA 9.** Distribución de los diferentes fenotipos en las miopatías inflamatorias.

La comparación de la frecuencia de los distintos fenotipos entre los pacientes con miopatías inflamatorias idiopáticas (MII) y la población control no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,6$ )

La edad media del inicio de la sintomatología en las MII fue inferior en los pacientes con fenotipos deficitarios (46,5 (21,8) años) que en aquellos enfermos con fenotipo normal (54,3 (16,9) años), aunque sin presentar diferencias estadísticamente significativas.

Sorprendentemente, la relación entre los diferentes sexos (H/V) en los portadores del fenotipo Pi No MM fue de 0,5, mientras en aquellos con Pi MM fue de 6,5 ( $p = 0,03$ ).

	PiMM	Pi MS	Pi SS	Pi MZ	TOTAL
<i>Polimiositis del adulto</i>	3 (60%)	2 (40%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (20,8%)
<i>Dermatomiositis del adulto</i>	9 (75%)	1 (8,3%)	1 (8,3%)	1 (8,3%)	12 (50%)
<i>Miopatías asociadas a neoplasias</i>	3 (75%)	1 (25%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (16,7%)
<i>Miopatías asociadas a E. Sistémicas</i>	2 (66,6%)	1 (33,3%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (12,5%)
<b>TOTAL</b>	17 (70,8%)	5 (20,8%)	1 (4,2%)	1 (4,2%)	24 (100%)

**TABLA 10.** Distribución de los fenotipos en función de las diferentes formas de MII.

Existe una buena correlación entre los diferentes fenotipos y el valor sérico de  $\alpha$ -1-AT ( $p = 0,02$ ), siendo éstos muy similares a los de la población control.

Con el fin de no interferir los resultados de las diferentes afectaciones orgánicas por la asociación con otras enfermedades no hemos contemplado en dicho análisis los 3 pacientes con miopatías asociadas a otras patologías sistémicas (2 casos con esclerodermia y un caso con LES).

El número de órganos afectados en los pacientes con MII fue significativamente mayor en el grupo de pacientes con fenotipos deficitarios.

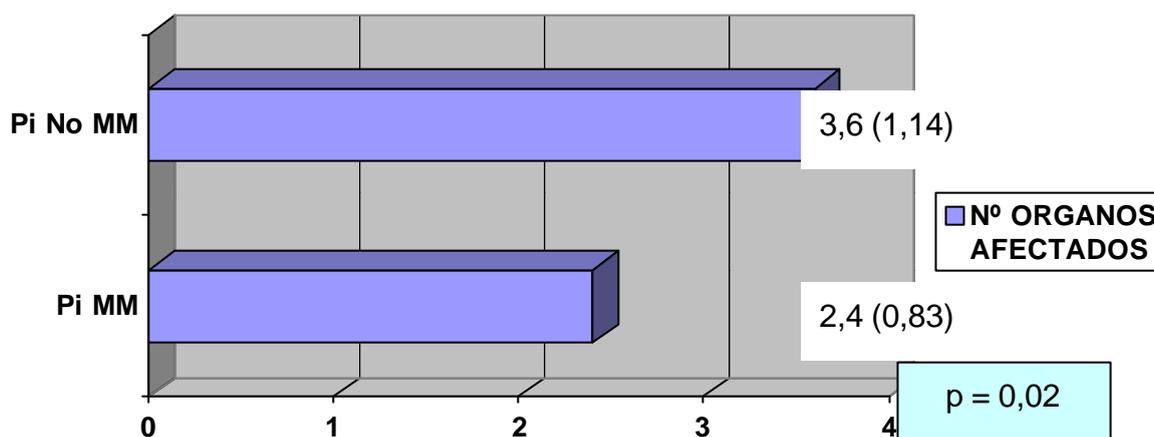
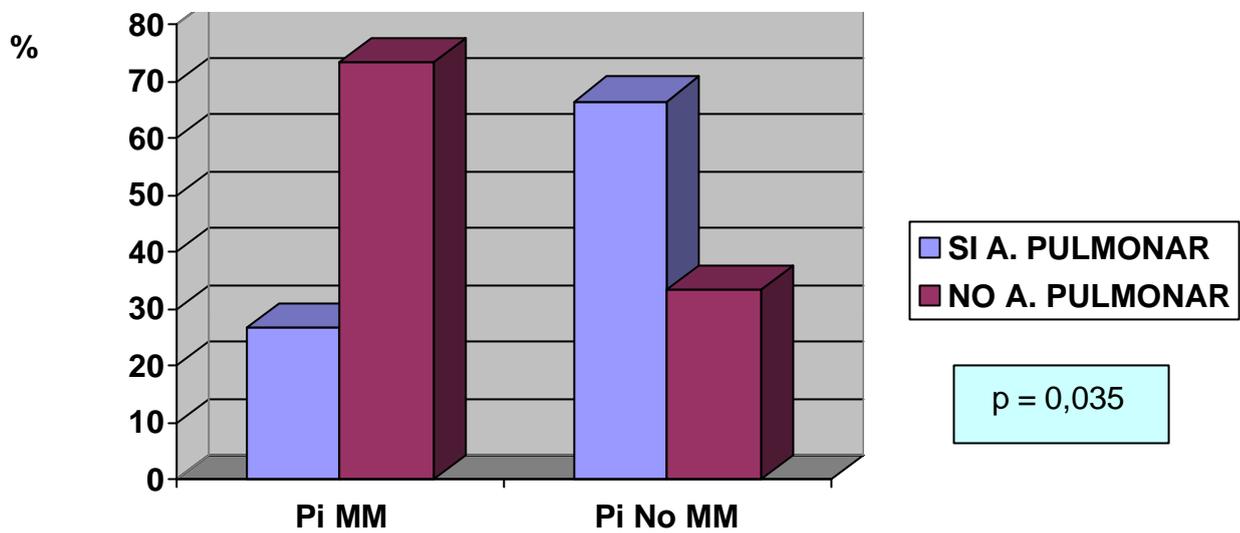


FIGURA 23. Número de órganos afectados en relación con los fenotipos normales y deficitarios.

## I. AFECTACION PULMONAR

La afectación pulmonar de los pacientes con miopatía inflamatoria estudiados se presentó en el 38,1% de los casos.



**FIGURA 24.** Afectación pulmonar en los pacientes con MII analizando el fenotipo normal y los deficientes.

Se observó, de forma estadísticamente significativa, una mayor frecuencia de afectación pulmonar en aquellos enfermos con fenotipos deficientes. En las MII los dos grupos eran comparables tanto en el número de fumadores activo como en el de exfumadores.

De estos pacientes se pudieron analizar 12 Rx de tórax siendo patológicas en el 12,5% de los enfermos con MII y fenotipo normal ( un caso de patrón intersticial) y en el 100% de aquellos con fenotipos deficientes (1 caso de condensación alveolar, 2 casos de patrón intersticial y un caso de fibrosis pulmonar) ( $p = 0,01$ ).

Por otro lado, se analizaron 9 pruebas funcionales respiratorias, el análisis de los cuales no demostró diferencias significativas entre ambos grupos:

	<b>MM</b>	<b>No MM</b>
<b>NORMAL</b>	2 (40%)	0 (0%)
<b>OBSTRUCTIVO</b>	0 (0%)	2 (50%)
<b>RESTRICTIVO</b>	3 (60%)	2 (50%)

**NS**

En 16 de los pacientes con MII se pudo realizar la determinación de anticuerpos anti-sintetasa (anti-Jo-1, siendo positivos en el 37,5% de los casos. No obstante, no se pudo establecer una asociación entre la afectación pulmonar y la presencia de Ac. Anti-Jo-1 positivos ( $p = 0,1$ ) en nuestra serie.

De estos 16 pacientes en que disponíamos de la determinación del fenotipo de la  $\alpha$ -1-AT y de los Ac. Anti-Jo-1 en la mitad de ellos se demostró afectación pulmonar. Analizando estos 8 pacientes se evidenció en el 87,5% de los casos la presencia de un fenotipo deficitario y/o Ac. Anti-Jo-1 positivos. Así la presencia de un fenotipo Pi no MM y/o Ac. Anti-Jo-1 positivos determina un riesgo 49 veces mayor de presentar afectación pulmonar.

OR= 49 (1,76-7904) $p = 0,01$
----------------------------------

## **II. AEECTACION OCULAR**

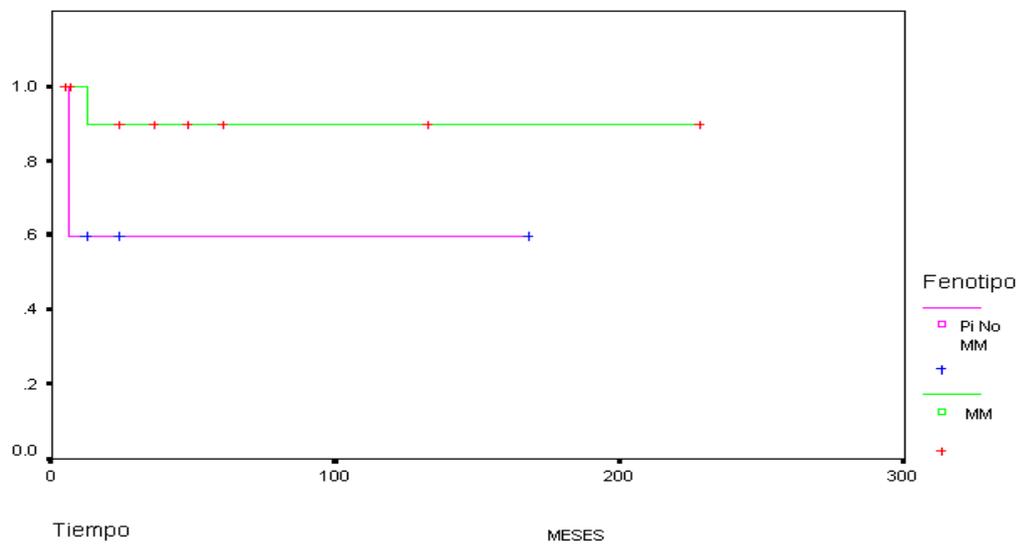
En los 3 casos en que se objetivó un síndrome seco asociado eran pacientes con fenotipo Pi MM (NS).

## **III. AEECTACION GASTROINTESTINAL**

Se constató afectación esofágica de la miopatía inflamatoria en 3 casos (14,3%): en uno de ellos al referir disfagia y en otros 2 casos objetivándose manometrías esofágicas patológicas. Dos de estos pacientes presentaban fenotipos deficitarios y el otro paciente un fenotipo normal ( $p = 0,13$ ).

#### IV. SEGUIMIENTO Y MORTALIDAD

El seguimiento de los pacientes con MII y fenotipo normal fue de 57 (63,8) meses y en el grupo con fenotipo deficitario fue de 52,5 (77,4) meses ( $p = 0,9$ ). Durante el seguimiento fallecieron 2 pacientes con fenotipo normal (11,8%) y 2 pacientes con fenotipo deficitario (28,6%). Estas diferencias de mortalidad no fueron estadísticamente significativas.



**Figura 25.** Mortalidad de los pacientes con MII en función de su fenotipo (Pi MM y Pi no MM)

### 3.2.4.VASCULITIS

FENOTIPO	NUMERO	PORCENTAJE
Pi MM	18	52,94%
Pi MS	11	32,35%
Pi SS	2	6%
Pi MZ	3	8,82%
TOTAL	34	100%

Comparándola con la población control

p = 0,02

**TABLA 11.** Distribución de los diferentes fenotipos en los pacientes con vasculitis.

La comparación de las distintas frecuencias de los fenotipos de la  $\alpha$ -1-AT mostró diferencias estadísticamente significativas respecto la población control.

La media de edad del inicio de la sintomatología en las vasculitis es diferente en función del fenotipo que presentan los pacientes. Así los enfermos con fenotipo PiMM tienen una media de edad menor (53,5 (22,7) años) que aquellos con fenotipo Pi No MM (67,7(13,3) años), pero sin alcanzar significación estadística (p = 0,58).

Por otro lado, la relación entre los diferentes sexos tampoco ha mostrado diferencias estadísticamente relevantes. En el fenotipo normal la relación H/V era de 2, mientras en los fenotipos deficitarios la relación fue de 4,3 (p = 0,45).

El valor sérico de  $\alpha$ -1-AT no se correlacionó con el fenotipo (p = 0,42), presentando, por otro lado, valores superiores a los de la población control. Así la media de  $\alpha$ -1-AT sérica en los pacientes con fenotipo Pi MM fue de 210,8 (60,1) mg/dl y de 185,3 (80,4) mg/dl en los enfermos con fenotipo Pi no MM..

El diagnóstico se realizó mediante criterios clínicos en el 28,1% y en el 71,9% restante a través de criterios clínicos junto a los resultados histológicos compatibles de una biopsia (cutánea en

el 9,4%, renal en el 21,9%, de piel, músculo y nervio en el 21,9% y de la arteria temporal en el 18,75%).

	<i>Pi MM</i>	<i>Pi MS</i>	<i>Pi SS</i>	<i>Pi MZ</i>	<i>TOTAL</i>
<i>V. Hipersensibilidad</i>	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,9%)
<i>G. Wegener</i>	4 (57,1%)	1 (14,3%)	0 (0%)	2 (28,6%)	7 (20,6%)
<i>PAN</i>	5 (71,4%)	2 (28,6%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (20,6%)
<i>PAM</i>	3 (60%)	2 (40%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (14,7%)
<i>A. Horton</i>	3 (50%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (17,6%)
<i>E. Churg-Strauss</i>	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)	0 (0%)	4 (11,8%)
<i>V. SNC</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (2,9%)
<i>V. indefinidas</i>	0 (0%)	2 (66,7%)	1 (33,3%)	0 (0%)	3 (8,8%)
<i>TOTAL</i>	18 (52,9%)	11 (32,3%)	2 (5,9%)	3 (8,8%)	34 (100%)

**TABLA 12.** Distribución de los diferentes fenotipos en las diferentes enfermedades vasculíticas.

El **número de órganos** afectados en los pacientes con vasculitis era superior en aquellos que tenían un fenotipo deficitario (4,36 (2.11)) comparándolo con los que presentaban un fenotipo normal (3,27 (2)), aunque no eran estadísticamente significativos ( $p = 0,18$ ).

## I. AFECTACION ORL

%

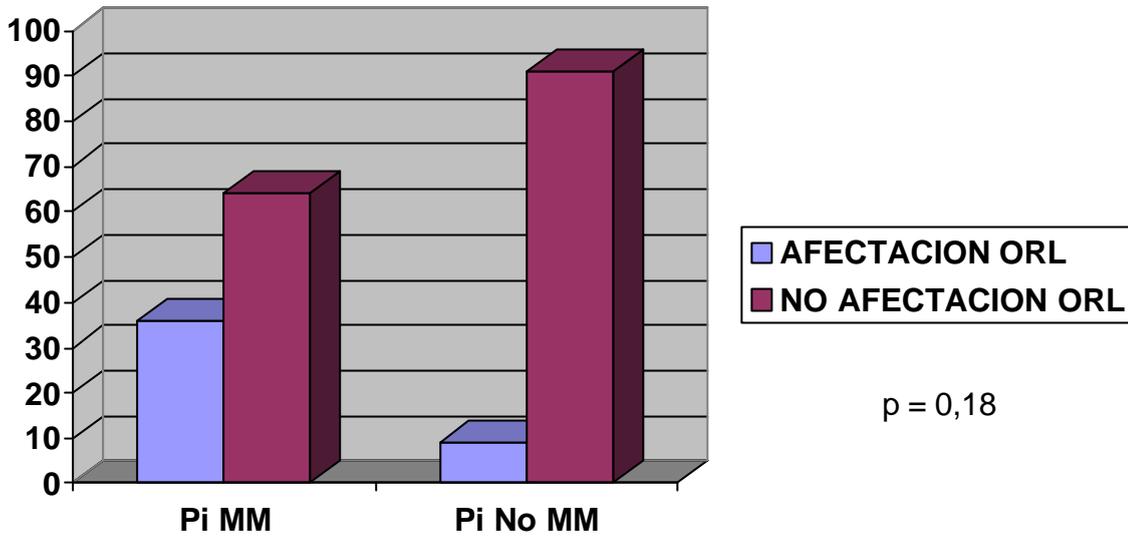


Figura 26. Afectación ORL en función del fenotipo normal o deficitario.

La afectación en el área ORL se presentó en el 23,5% de los casos, siendo más frecuente en los pacientes con fenotipo normal pero sin mostrar diferencias con significación estadística.

## II. AFECTACION PULMONAR

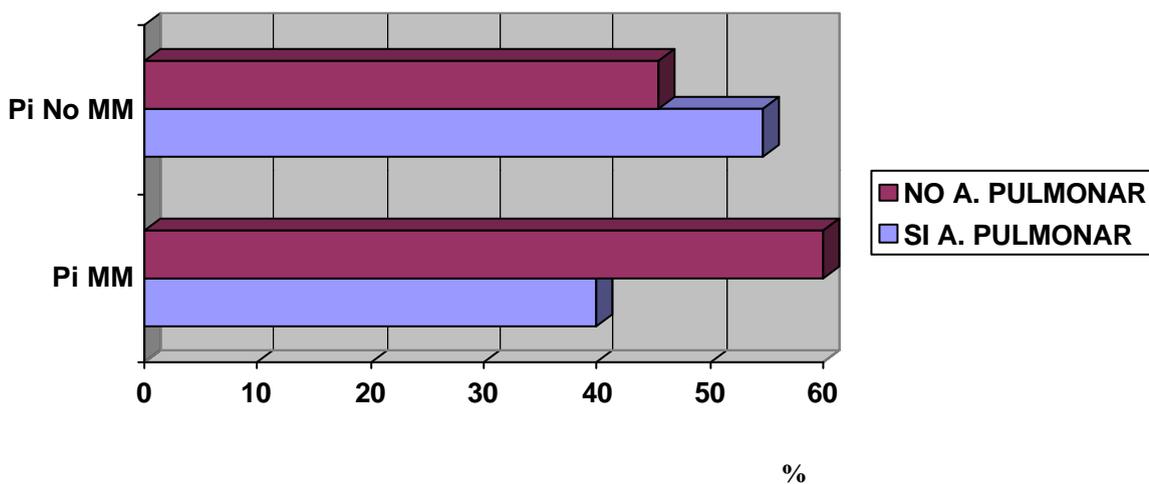


FIGURA 27. Afectación pulmonar en los pacientes con vasculitis en relación con su fenotipo.

De todos los pacientes con vasculitis analizados se demostró afectación pulmonar de su enfermedad en el 46,2% de los casos, siendo ésta más frecuente en los fenotipos Pi No MM aunque sin alcanzar significación estadística ( $p = 0,46$ ).

Los dos grupos eran comparables tanto en el número de fumadores y exfumadores.

Se pudo evaluar 22 **Rx de tórax** siendo patológicas el 40,9% de ellas:

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>	<b>Total</b>
<b>Normal</b>	7 (63,6%)	6 (54,5%)	13 (59,1%)
<b>Condensación alveolar</b>	3 (27,3%)	0 (0%)	3 (13,64%)
<b>Patrón intersticial</b>	1 (9,1%)	1 (9,1%)	2 (9,1%)
<b>Bronquiectasias</b>	0 (0%)	1 (9,1%)	1 (4,5%)
<b>Nódulo pulmonar</b>	0 (0%)	2 (18,2%)	2 (9,1%)
<b>Hemorragia pulmonar</b>	0 (0%)	1 (9,1%)	1 (4,5%)
<b>Total</b>	11 (100%)	11 (100%)	22 (100%)
			<b>NS</b>

El estudio de las **Pruebas funcionales respiratorias** iniciales se pudo realizar en 9 pacientes, sin evidenciarse diferencias significativas estadísticamente:

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>	<b>TOTAL</b>	
<b>NORMAL</b>	2 (40%)	1 (25%)	3 (33%)	
<b>OBSTRUCTIVO</b>	1 (20%)	2 (50%)	3 (33%)	
<b>RESTRICTIVO</b>	2 (40%)	1 (25%)	3 (33%)	
<b>TOTAL</b>	5 (100%)	4 (100%)	9 (100%)	<b>NS</b>

La valoración cualitativa de la gravedad de las PFR fue similar en ambos grupos:

	Pi MM	Pi No MM	TOTAL	
<b>LEVE</b>	1 (20%)	1 (25%)	2 (22,2%)	
<b>MODERADO</b>	0 (0%)	1 (25%)	1 (11,1%)	
<b>GRAVE</b>	2 (40%)	1 (25%)	3 (33,3%)	<b>NS</b>

Por otro lado, las medias del VEMS y la capacidad vital (n = 7) tampoco mostraron diferencias destacables:

	Pi MM (n = 4)	Pi No MM (n=3)	
<b>VEMS</b>	76,2 (37,6) %	69 (17,8) %	NS
<b>CAPACIDAD VITAL</b>	73,3 (26,3) %	76 (23,8) %	NS

### III. AFECTACION RENAL

Observamos algún tipo de alteración renal en el 46,1% de los pacientes estudiados con vasculitis. Esta fue más frecuente en los pacientes con fenotipo normal (53,3%) comparándola con aquellos con fenotipo deficitario (36,4%), aunque sin ser estadísticamente significativo (p = 0,39).

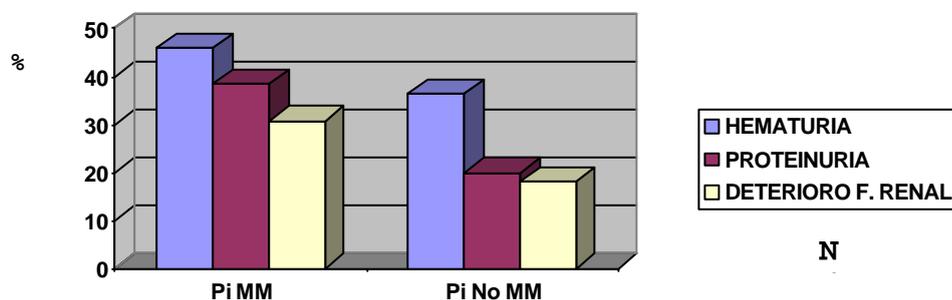


FIGURA 28. Presencia de hematuria, proteinuria y deterioro de la función renal según el fenotipo.

#### **IV. AFECTACION CUTANEA**

Aunque la incidencia de afectación cutánea era mayor en aquellos pacientes con fenotipos deficitarios (45,5%) respecto a los que presentaba fenotipo normal (28,6%) no se ha podido demostrar estadísticamente una diferencia significativa ( $p = 0,64$ ).

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>
<b>Ulceras</b>	0%	9,1%
<b>Púrpura vasculítica</b>	21,4%	27,3%
<b>Nódulos</b>	7,1%	9,1%

#### **V. AFECTACION HEPATICA**

Se ha constatado una alteración de las pruebas hepáticas en el 44 % de los pacientes con vasculitis que se han estudiado. En el 23,7% de los casos presentaban una elevación de las transaminasas predominante, mientras en el 76,3% restante tenían fundamentalmente un patrón de colestasis.

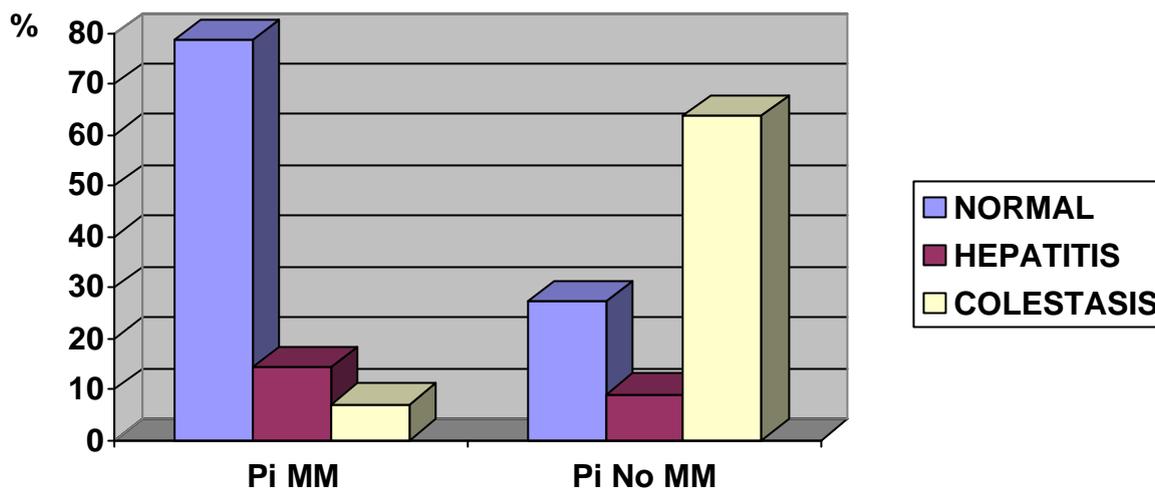


FIGURA 29. Afectación hepática en función del fenotipo en los enfermos con vasculitis.

**Colestasis hepática**

Pi No MM OR = 11,2 (2,3 – 55,3)  
p = 0,003

**Afectación hepática**

p = 0,01

	Pi MM	Pi No MM	p
<b>GOT (n = 22)</b>	21,8 (11,7)	42,3 (34,4)	0,08
<b>GPT (n = 22)</b>	18,5 (10,8)	47,7 (42,5)	p = 0,048
<b>F. Alcalinas (n = 21)</b>	177 (72,9)	440,5 (457,2)	p = 0,01

La serología VHB y VHC se realizó en 6 y 4 casos, respectivamente, de los pacientes con fenotipos deficitarios siendo en todos ellos negativa.

## **VI. AFECTACION NEUROLOGICA**

En el 35,3 % de los pacientes con vasculitis se objetivó patología del sistema nervioso periférico.

En el 20,6% de los casos ésta consistía en una polineuropatía, mientras en el 14,7% restante se

trataba de una multineuritis. Esta afectación fue más frecuente en los pacientes Pi no MM ( 25 % y 18,7% respectivamente) que en aquellos Pi MM (16,7 % y 11,1 %), aunque sin ser esta diferencia estadísticamente significativa.

#### **VII. DATOS ANALITICOS (n=21)**

	<b>Pi MM</b>	<b>Pi No MM</b>	<b>p</b>
<b>VSG</b>	70,5 (44)	82,4 (50,3)	0,53
<b>Creatinina</b>	1,7 (1,9)	1,05 (0,5)	0,3
<b>Proteínas totales</b>	6,8 (0,6)	6,7 (1)	0,64
<b>Albúmina</b>	3,5 (0,6)	3,4 (0,9)	0,8
<b><math>\alpha_1</math>-globulina</b>	0,38 (1)	0,32 (1,6)	0,34
<b>Leucocitos</b>	10521 (3146)	11791 (6279)	0,55
<b>Hemoglobina</b>	11,4 (1,88)	11,4 (2,34)	0,95
<b>Quick</b>	93 (17,5) %	88,4 (19,5) %	0,6
<b>TTP</b>	26 (4,3)	28,9 (2,8)	0,12
<b>Fibrinógeno</b>	5,53 (2,21)	5,82 (2,03)	0,76

Ninguno de los valores estudiados alcanzó significación estadística.

#### **VIII. DATOS INMUNOLOGICOS**

Los anticuerpos antinucleares (ANA) se realizaron en 19 de los pacientes estudiados con vasculitis, siendo positivos en 8 de ellos (42,1%). En los enfermos con fenotipo normal fueron positivos en el 45,4% y en los fenotipos deficitarios en el 37,5% (p = 0,4).

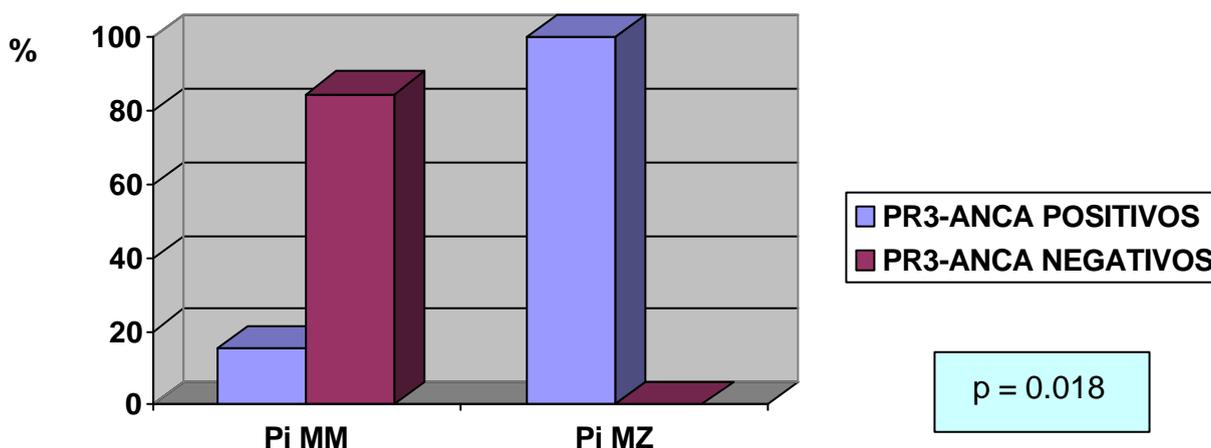
Por otro lado, el factor reumatoide ( $n = 18$ ) fue positivo en el 37,5% de los pacientes con PiMM y en el 50% de los Pi No MM ( $p = 0,38$ ).

Respecto a los anticuerpos antimitocondriales en ninguno de los 18 enfermos estudiados con vasculitis fue positivo.

El análisis de los pacientes con anticuerpos MPO-ANCA ( $n = 21$ ) positivos no ha mostrado diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos, siendo positivos en el 46,1 % de los Pi MM y en el 37,5 % de los Pi No MM ( $p = 0,69$ ).

En cambio si se ha podido establecer una relación entre las vasculitis PR3-ANCA ( $n = 21$ ) positivas y el fenotipo Pi MZ. De los 5 pacientes PR3-ANCA positivos el 60% de los pacientes presentaban un fenotipo Pi MZ

**FIGURA 30.** Frecuencia de anticuerpos PR3-ANCA positivos en función del fenotipo.



## **IX. SEGUIMIENTO Y MORTALIDAD**

El seguimiento de los pacientes con vasculitis y fenotipo normal fue de 78,6 (71,1) meses y en el grupo con fenotipo deficitario fue de 52 (52,1) meses ( $p = 0,3$ ). El número de recaídas anuales fue algo mayor en el grupo Pi no MM (2,2 (3,2)) que en el grupo Pi MM (1,9 (2,7)) ( $p = 0,82$ ). Durante el seguimiento falleció un paciente con fenotipo normal (5,6%) y 2 pacientes con fenotipo

deficitario (12,5%) pero sin ser estas diferencias estadísticamente significativas.

