

## Variantes de alfa-I-antitripsina en Cuba

Por:

BARBARA BARRIOS,<sup>1</sup> HILDA GRANDA\* y LUIS HEREDERO<sup>2</sup>

Barrios, B. y otros. *Variantes de alfa-1-antitripsina en Cuba*. Rev Cub Med 17: 1, 1978.

Se expone que la alfa-1-antitripsina es una proteína del suero humano cuya deficiencia ha sido relacionada a enfermedades pulmonares obstructivas crónicas y enfermedades hepáticas en la niñez. Es importante el estudio de la incidencia de los alelos responsables de esta deficiencia en Cuba, para lograr técnicas que permitan una detección temprana de las personas deficientes y el consejo médico adecuado. En este trabajo analizamos 1 082 muestras de suero por medio de electroforesis acida en gel de almidón y se obtuvieron frecuencias fenotípicas de 3,23% para el fenotipo MZ, 2,31% para el MS, 1,01% para el SS y 0,55% para el ZZ.

### INTRODUCCION

La alfa-1-antitripsina es una proteína del suero humano cuya función principal es la de inhibir las proteasas, especialmente la tripsina.

En 1967 fue descubierto el polimorfismo genético de esta proteína, el cual consta hasta el momento de 19 alelos,<sup>1,2</sup> que por su movilidad electroforética son designados:

PiB, PiC, PiD, PiE, PiE,, PiF, PiG, PiI, PiL, PiM, PiMLamb, PiMBaldwin, PiN, PiP, PiS, PiV, PiW, PiX, PiZ y Pi .

De todos los alelos el M es el más comúnmente encontrado en todas las poblaciones en que se ha estudiado este sistema.

Los alelos de mayor importancia médica son el S y el Z por ser los responsables de una disminución de la concentración de esta proteína, siendo del 65% y el 10% respectivamente comparándolos con la concentración que presentan los individuos con fenotipo MM.<sup>M</sup>

Los individuos con fenotipo ZZ presentan una alta predisposición a padecer enfermedades pulmonares obstructivas crónicas del tipo enfisema pulmonar panlobular de los lóbulos inferiores.<sup>113</sup>

Se ha demostrado que los individuos deficientes ZZ presentan una acumulación de esta proteína en sus hepatocitos la cual ha sido relacionada con las enfermedades hepáticas en niños del tipo de coleostasis infantil y cirrosis.<sup>14-17</sup>

Los individuos con fenotipos SS y MZ presentan menos predisposición a padecer enfermedades pulmonares por lo que padecen

<sup>1</sup> Profesor asistente del instituto de ciencias básicas "Victoria de Girón".

<sup>2</sup> Profesor auxiliar del instituto de ciencias básicas "Victoria de Girón". Departamento de genética médica. Avenidas 31 y 146, Cubanacán, Ciudad de La Habana. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana.

preferentemente bronquitis crónica, según ha sido señalado por algunos autores, los individuos portadores del alelo Z presentan alterados ciertos parámetros pulmonares como son: la resistencia a la distensión, la elasticidad y otros, lo cual conlleva al desarrollo de enfermedades pulmonares obstructivas lo que depende del grado de contaminación ambiental.<sup>1\*</sup>

La relación existente entre esta deficiencia hereditaria y las afecciones antes mencionadas hacen necesario el estudio de la incidencia de estos genes en nuestra población y el posterior desarrollo de técnicas más sencillas en su detección, lo que permite aplicar al portador del alelo S o Z que trabaje en medios con alta contaminación, el consejo médico y la consiguiente prevención de las posibles enfermedades pulmonares obstructivas.

#### MATERIAL Y METODO *Origen y*

##### *preparación de la muestra*

Se analizaron 1 082 muestras de suero humano, obtenidas de donantes voluntarios del Banco de Sangre Provincial de La Habana.

Se tomó un mililitro de sangre total en cada caso, utilizando heparina como anticoagulante. Se centrifugaron las muestras a 3 500 rpm y el suero fue almacenado a 4°C hasta su análisis.

Las soluciones amortiguadoras tienen la

composición que se expone en el cuadro I.

El almidón utilizado fue hidrolizado en nuestro laboratorio según el método descrito por *Fagerhol\**

El gel de almidón fue preparado al 14%, añadiendo 14 g de almidón hidrolizado, 7 ml de solución amortiguadora stock gel y 93 ml de H<sub>2</sub>O, después de cocerlo en agitación constante sin pasar de 80°C fue vertido en una placa de cristal de 24 x 20 x 0,4 cm. Se mantuvo durante 15 minutos a temperatura ambiente y luego 15 minutos a 4 C, hasta lograr una consistencia adecuada.

Cada placa permite que sean analizadas 10 muestras de suero; que fueron insertadas en papel *Whatman* 3 mm de

1 x 0,4 cm. La corrida se realizó a voltaje constante con 5 volts/cm hasta que la línea borato migró 3 cm por delante de la línea de inserción de las muestras, extrayendo los papeles sembrados y elevando el voltaje a 10 volts/cm hasta que la línea borato alcance 9 cm por delante de la línea de inserción y terminando la corrida. Inmediatamente el gel es cortado horizontalmente mediante un hilo quirúrgico y coloreado en solución al 1% de *amidoblack* 2B durante 1 minuto. Decolorándose en solución compuesta de agua, metanol y ácido acético en proporción de 5:5:1 volúmenes hasta lograr la visualización de las bandas. El zimograma de esta proteína se muestra en la figura 1.

CUADRO I

Solución amortiguadora stock gel	Solución amortiguadora cátodo Acido bórico 9,25 g	Solución amortiguadora ánodo
Acido cítrico 21 g		Acido cítrico 11.7 g
TRIS 23 g	NaOH 3,00 g	PO.HNa, 12,5 g
1 litro de H <sub>2</sub> O	1 litro de H <sub>2</sub> O	1 litro de H <sub>2</sub> O
desionizada	desionizada	desionizada
pH 4,8	pH 9,0	pH 4,5





Figura 1-A.

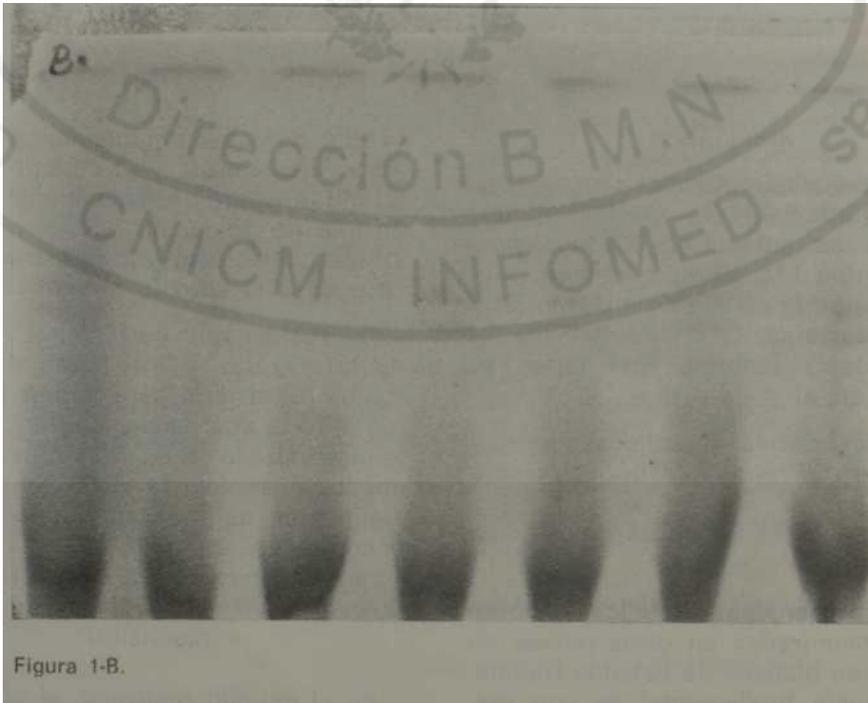
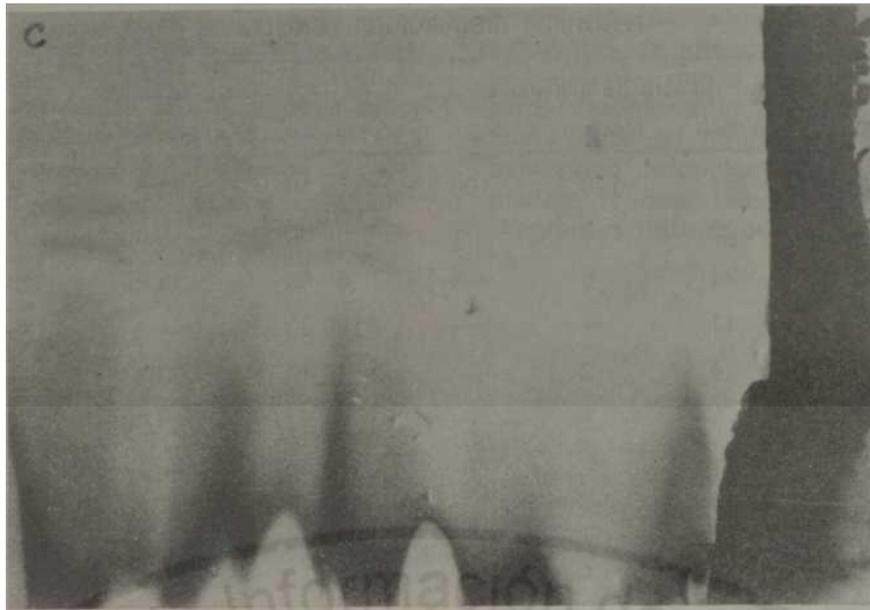


Figura 1-B.



Figuras 1-A, 1-B y 1-C. En la A se ve, en la muestra número 6, un fenotipo ZZ. En la B las muestras números 2 y 3 presentan fenotipos MS. En la C, en la muestra número 4, aparece un fenotipo ZZ. La numeración es de izquierda a derecha.

CUADRO II

FENOTIPOS ENCONTRADOS POR ELECTROFORESIS EN GEL DE ALMIDON

Fenotipo	Número de individuos	Frecuencia fenotípica %
MM	1 001	92,51
MS	25	2,31
MZ	35	3,23
SS	11	1,01
ZZ	6	0,55
FZ	1	0,09
MX	1	0,09
FM	2	0,18
Total	1 082	99,97

CUADRO III

COMPARACION DE LAS FRECUENCIAS FENOTIPICAS HALLADAS EN DIFERENTES POBLACIONES Y NUESTRA POBLACION

Población	Frecuencia fenotípica %		
	MM	MS	MZ
Noruega	89,75	4,10	2,86
España	75,40	18,78	1,85
Estados Unidos (blancos)	95,75	3,93	0,49
Cuba (La Habana)	92,61	2,31	3,23

CUADRO IV FENOTIPOS DISTRIBUIDOS POR RAZA

Fenotipo	Número de individuos			Frecuencia fenotípica (%)		
	Blanco	Mestizo	Negro	Blanco	Mestizo	Negro
MM	751	150	100	59,40	13,8	9,24
MS	22	2	1	88,00	8,00	4,00
MZ	24	6	5	66,60	16,60	13,88
SS	11	—	—	100,00	—	—
ZZ	4	2	—	66,66	33,33	—
FZ	—	1	—	—	100,00	—
MX	1	—	—	100,00	—	—
FM	1	—	1	50,00	—	50,00

frecuencia de 13,88% para el fenotipo MZ en la raza negra, hecho que no se corresponde con la ausencia total hallada por *Fagerhol'* en negros de Estados Unidos. Esta discrepancia puede ser explicada por el alto grado de mestizaje que existe en nuestra población.

En el cuadro V aparece el cálculo de las frecuencias génicas de los alelos M, S y Z que fue de: 0,951 para el alelo M, 0,019 para el S y 0,022 para el Z. Es de señalar que el cálculo de Chi Cuadrado realizado entre los fenotipos observados y esperados arrojó resultados significativos, siendo la cifra de fenotipos MS obtenidos tan baja (25 observados: 39

esperados), la responsable fundamental de esta significación. Estos hallazgos pueden explicarse si tenemos en cuenta el carácter cualitativo de la técnica utilizada en nuestro trabajo, así como el hecho de ser ésta una proteína de fase reactante aguda lo que provoca un incremento en la concentración de la proteína M al suministrarse diferentes fármacos como: dietilelbestrol, vacuna tifoidea, anticonceptivos por vía oral y otros,<sup>2</sup> que puede haber afectado el diagnóstico de algunos fenotipos MS. No obstante esta discrepancia, es importante destacar que existe una alta frecuencia de este fenotipo en nuestra población.

CUADRO V

CALCULO DE FRECUENCIA GENICA

Genes	Frecuencia génica	Fenotipos	Número individuos observados	de	Número de individuos esperados
M	0,951	MM	1 001		978
Z	0,022	MZ		35	44
S	0,019	MS		25	39

R. C. M.  
ENERO - FEBRERO.

## CONCLUSIONES

Del trabajo realizado podemos concluir que el hallazgo de altas frecuencias de individuos con el fenotipo MZ y SS resulta de gran importancia, y hace necesario que se continúen los trabajos con el fin de desarrollar técnicas sencillas que permitan la detección de los heterocigotos y homocigotos deficientes, sobre todo en aquellos

pacientes que desarrollan sus actividades laborales en ambientes de alta contaminación como por ejemplo: minas, fábricas, textiles y otros, debido a la predisposición que éstos presentan en lugares con alta concentración de polvo y agentes contaminantes, lo cual resulta importante en programas futuros de medicina del trabajo.

## SUMMARY

Barrios, B. et al. *Alpha-1-antitrypsin variables in Cuba*. Rev Cub Med 17: 1, 1978.

Alpha-1-antitrypsin is a human serum protein and its lack has been related with chronic obstructive pneumonopathies and hepatopathies in children. The study of the incidence of alleles responsible for this lack in Cuba is significant regarding the design of techniques which permit an early detection of people in lack and the suggestion of appropriate medical measures. One thousand and eighty two serum samples were analyzed using acid starch-gel electrophoresis and the following phenotype frequencies were obtained: 3,23% for the MZ phenotype; 2,31% for the MS phenotype; 1.01% for the SS phenotype; and 0,55% for the ZZ phenotype.

## RESUME

Barrios, B. et al. *Variantes d'Alpha-1-antitrypsine a Cuba*. Rev Cub Med 17: 1, 1978

On expose que l'alpha-1-antitrypsine est une protéine du sérum humain dont la déficience a été liée á des maladies pulmonaires obstructives chroniques et aux maladies hépatiques pendant l'enfance. Il est important l'étude de l'incidence des alleles responsables de cette déficience á Cuba, pour parvenir á des techniques permettant un dépistage précoce des individus ayant cette déficience, ainsi que le conseil médical adéquat. 1 082 échantillons de sérum sont analysés dans ce travail au moyen de l'électrophorèse acide en gel d'amidon, et on a obtenu des fréquences phénotypiques de 3,23% pour le phénotype MZ, 2,31% pour le MS, 1,01% pour le SS et 0,55% pour le ZZ.

PE3K1V.E

Eappiio. E. yo.  
Hev Oub Med 17:1,1978.

BapnaHTU ajiBji.u-I-aHTMTpnnCMHa Ha Kyde.

yKa3HBaeTCH, HTO ajiHii-a-l-aHTMTpwnCMHa HBjmeTCH OJXHMM M3 dejiKOB CUBOpOTKH, CBOHCTBeHHOM HejiOBeKy, H HefiOCTaTOHHOCTB CBH3H-BaeTca c xpoHH^eckHMM 3aóojieBaHMHMM 3aKynopKM jierKiix a c 3ado- jiesauHHMH ne^eHH y #eTeii. O^eHB BasnuM HBjmeTCH çi3yMeHne B03 - HMKHOBeHmfl H.OJIOTCTBa, IIOBMHHOpO 3a 3TOT HeJtOCTaTOK Ha Kyde, — c uejiBio nojiy^eHHH TexHMK, KOTOpue no3BojnwM çu pacno3HOBaTb juo ieM, cTpanaiouHx stum HejjocTaTKOM, a Taiue c uejiio npeiocTaBJie- hiñ hm çoTBeTCTBeHHoro HeodxojiHi.'.oro jieMeHHH. 3 HacTOHmeñ pado Te aHajiM3MpyeM I.Ü82 odpa3ua cubopotkm c noMomBio KKcuiope 3JieK- Tpo(jiope3a b sejiATMHe KpaxMajia jî npii qeM HaónojiajivLCh (jeHOTHnHue ^acTOTHi 3,23% juih (peHOTwna<sup>112</sup> , 2,31% iyin 12S, ; 01 çyiqSS h 0,55 flJIH ZZ .

## BIBLIOGRAFIA

1. *Fagerhol, M. K.; Tenjford, O.* IV. Serum Pi 12. Types in some Europeans, American, Asian and African populations. *Acta Path Microb Sc* 72: 601, 1968.
2. *Martin, J. P. et al.* PiB a new allele of alpha-1-antitrypsin genetic variant. *Biomed Exp* 13: 395, 1973.
3. *Fagerhol, M. K.; Laurell, C. B.* The polymorphism of prealbumin and alpha-1-antitrypsin in Human Sera. *Acta Clin Chim* 16: 199, 1967.
4. *Eriksson, S.* Pulmonary Emphysema and alpha-1-antitrypsin deficiency. *Acta Med Sc* 175: 197, 1964.
5. *Fagerhol, M. K.* Alpha-1-antitrypsin deficiency in pulmonary and liver degeneration. *Birth Defects Original Articles Series* 10: 4, 1974.
6. *Glauser, M. P.* Alpha-1-antitrypsin deficiency associated with emphysema. *Schw Med Wschr* 27: 999, 1971.
7. *Hunter, C. C. et al.* Alpha-1-antitrypsin deficiency. A family study. *JAMA* 205: 23, 1968.
8. *Haas, C.* Early Pulmonary Emphysema associated with alpha-1-antitrypsin deficiency. *Cah Med* 3: 125, 1974.
9. *Kueppers, F.; Fallat, I?* Alpha-1-antitrypsin deficiency: A defect in protein synthesis. *Clin Chim Acta* 24: 401, 1969.
10. *Kueppers, F.; Dónhardt, A.* Obstructive lung disease in heterozygous for alpha-1-antitrypsin. *Ann Int Med* 80: 209, 1974.
11. *Lieberman, J.* Involvement of leukocyte proteases in emphysema and antitryptic deficiency. *Arch Env Health* 27: 195, 1973.
12. *Mittman, C.* Antitrypsin deficiency and abnormal protease inhibitor phenotypes. *Arch Env Health* 27: 201, 1973.
13. *Yun Ryo, U. et al.* Abnormal liver scans in patients with alpha-1-antitrypsin deficiency. *J Nuc Biol Med* 18: 39, 1975.
14. *Aagens, O. et al.* Neonatal Cholestasis in alpha-1-antitrypsin deficient children. *Acta Ped Sc* 61: 632, 1972.
15. *Feldman, G. et al.* The liver in alpha-1-antitrypsin deficiency. *Digestión* 10: 162, 1974.
16. *Greenberg, S. D. et al.* The lungs in homozygous alpha-1-antitrypsin deficiency. *AJCP* 60: 581, 1973.
17. *Wilkinson, E. J.* Familial hepatic cirrhosis in infants associated with alpha-1-antitrypsin SZ phenotypes. *J Ped* 85: 159, 1974.
18. *Kueppers, F. et al.* Obstructive lung disease and alpha-1-antitrypsin deficiency gene heterocigosity. *Science* 165: 899, 1969.
19. *Lieberman, J.* Heterozygous and Homozygous alpha-1-antitrypsin deficiency in patients with pulmonary emphysema. *New Eng J Med* 281: 279, 1969.
20. *Varpela, E.; Saris, N. E.* Hereditary alpha-1-antitrypsin deficiency. *Ann Clin Res* 3: 46, 1971.
21. *Welch, M. H. et al.* Antitrypsin deficiency in pulmonary disease: Significance of intermediate levels. *Ann Intern Med* 71: 533, 1969.
22. *Lieberman, J; Mittman, C.* Dynamic response of alpha-1-antitrypsin variants to Diethylstilbestrol. *Am J Hum Gen* 25: 610, 1973.