

VALOR DE LA ALFA-1-ANTITRIPSINA EN CIRROSIS HEPATICA Y EN OTRAS HEPATOPATIAS

YOLANDA LOGROÑO DI VANNA

INTRODUCCION:

Hace sólo diez y seis años, en el 1963, Laurell y Eriksson observaron en exámenes electroforéticos sistemáticos, que en cinco de 1,500 sueros la banda de la alfa-1-globulinas estaba casi completamente ausente. Tres de estos cinco pacientes padecían una insuficiencia respiratoria crónica. Se ha podido observar que existía una deficiencia heredada de alfa-1-antitripsina. Desde entonces, numerosos autores han encontrado esta carencia en enfermos afectados de broncopatías graves. Estos resultados permiten la conclusión de que en enfermos de bronquitis y enfisema deben efectuarse exámenes séricos sistemáticos de estas globulinas.

El déficit heterocigótico y su relación con enfermedades pulmonares todavía es controversial.

Seis años después, en el 1969, Sharp y colaboradores observaron y describieron también el déficit homocigótico de alfa-1-antitripsina, pero esta vez asociado a Hepatitis Neonatal, la cual progresa frecuentemente hacia una Cirrosis Juvenil.

Estas observaciones fueron confirmadas luego por Portier y colaboradores en cinco niños afectados de Hepatitis Neonatal que poseían un déficit de tipo homocigótico en alfa-1-antitripsina. En tres de éstos niños se ha podido detectar también el antígeno de la Hepatitis B, por lo que algunos autores consideran que la deficiencia en alfa-1-antitripsina determinaría una predisposición a la infección viral.

Posteriormente también fue descrita esta deficiencia asociada con la Cirrosis Hepática en el adulto y con el Hepatocarcinoma, habiéndose reportado en la literatura mundial un número elevado de estos casos.

En 1969, Lieberman encontró concentraciones intermedias de alfa-1-antitripsina en el 15 o/o de un pequeño grupo de pacientes hospitalizados que sufrían de enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Actualmente está muy claro el hecho de que individuos con deficiencia sérica severa de la globulina, son mucho más susceptibles a desarrollar Enfisema Pulmonar, Bronquitis crónica, Hepatitis Neonatal, Cirrosis Juvenil y Cirrosis del adulto, que aquellos que poseen una concentración normal de la misma.

Los trabajos realizados hasta ahora sugieren que la deficiencia de alfa-1-antitripsina en Enfisema Pulmonar y en enfermedades hepáticas está ligado al mismo defecto genético.

Aunque la deficiencia de esta globulina fue reportada en el 1963, ha proliferado enormemente el número de artículos sobre este tema en los últimos cinco años, notándose así la importancia actual del mismo. Por eso, Labade califica la alfa-1-antitripsina como "glicoproteína de la actualidad".

En vista de la elevada incidencia de enfermedades hepáticas en nuestro medio, muy particularmente de Cirrosis, Hepatitis Viral Aguda, y Neoplasmas primarios, y en razón de que son cada día más frecuentes los reportes de la deficien-

cia de alfa-1-antitripsina en la literatura médica mundial asociada no solo a Cirrosis de tipo juvenil, sino también a la del adulto, nuestro interés en el presente trabajo preliminar está dirigido a investigar los valores de la alfa-1-antitripsina en individuos dominicanos jóvenes y sanos de ambos sexos, así como conocer y comparar con las tablas internacionales las dosificaciones de esta globulina alfa-1-, particularmente en todas las variedades de Cirrosis y de otras múltiples hepatopatías.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo consiste en una determinación cuantitativa de la globulina alfa-1-antitripsina, que fue practicada a un total de 51 pacientes de distintos hospitales de la ciudad de Santo Domingo.

El centro hospitalario en el cual conseguimos la mayoría de los casos fue el Hospital Dr. Salvador B. Gautier, con un número de 30

TABLA DE LOS PACIENTES NORMALES

No.	INICIALES	EDAD	SEXO
1	C.C.	25	F
2	M.B.	30	F
3	Y. L.	21	F
4	M. R.	25	F
5	L. K.	22	F
6	C. L.	25	F
7	J. P.	28	F

No.	INICIALES	EDAD	SEXO
1	G.M.	19	M
2	M.D.	24	M
3	J.A.	27	M
4	E. M.T.	27	M
5	A. P.	25	M
6	E.L.D.	19	M
7	H. S.	21	M

casos; también obtuvimos 9 casos del Hospital Moscoso Puello, 7 del Hospital Padre Billini, 4 del Hospital Dr. Robert Reid Cabral, y 1 del Hospital Dr. Ramón de Lara.

Tomamos muestras de sangre a pacientes cirróticos o con alguna otra hepatopatía a los cuales se les había practicado previamente una punción biopsia del hígado. Solo a uno de ellos se le hizo una laparotomía exploradora con toma de biopsia cuneiforme. Así pues, todos los pacientes seleccionados para nuestro trabajo no solo tenían diagnóstico clínico especializado y pruebas hepáticas funcionales, sino con confirmación diagnóstica por medio de estudios histopatológicos.

Los casos que investigamos, en su mayoría correspondieron a personas adultas. De éstos, 33 fueron del sexo masculino, con edades entre 16 y 70 años, y 14 del sexo femenino, con edades que oscilaban entre 18 y 63 años! Solo hubo 4 casos de niños varones con edades comprendidas entre 41/2 y 11 años de edad.

A cada paciente le tomamos 5 cc. de sangre venosa total, ya que el método que empleados requiere uso de suero.

Es importante mencionar el hecho de que también le cuantificamos la globulina a algunos pacientes enfisematosos, con el fin de detectar el déficit de la alfa-1-antitripsina ya descrito en esta enfermedad.

Así mismo, escogimos un grupo de personas jóvenes y sanas de ambos sexos, entre ellos, 7 mujeres con edades comprendidas entre los 21 y 30 años, y 7 hombres, con edades que oscilaban entre los 19 y 27 años, y también le cuantificamos la globulina para que nos sirvieran de control en la investigación, así como también para tratar de obtener los valores promedios normales que existen en nuestro país de individuos jóvenes y sanos.

Gran parte de los sueros fueron enviados posteriormente al hospital de Danbury, en Conn., E.U.A., con el fin de realizar la cuantificación de la globulina por el método de Nefelometría, que es bastante sensible y moderno y de esta forma comprobar nuestros resultados; pero lamentablemente los reactivos de dicho método fueron descontinuados y se realizaron las pruebas por el mismo método de Inmunodifusión Radial que nosotros practicamos aquí, concordando perfectamente los resultados. De esta manera nos sirvió como control y observamos además la gran confiabilidad que posee el método.

A algunos casos de pacientes cirróticos se les practicó, además, una coloración con el ácido periódico de Schiff (PAS), con el propósito de buscar las inclusiones o cuerpos citoplasmáticos que se observan frecuentemente en casos de déficit de alfa-1-antitripsina.

Fue de nuestro interés también el realizar las determinaciones de la globulina por métodos cualitativos más sensibles y sofisticados, como son la Electroforesis, Inmunolectroforesis y "Electrofocusing", ya que de esta forma hubiéramos podido saber exactamente el fenotipo de cada individuo para la alfa-1-antitripsina; esto es, si el individuo es homocigótico o heterocigótico. Desgraciadamente estos procedimientos no están al alcance de nuestro medio, y hasta donde nosotros sabemos, el más reciente de estos métodos: "Electrofocusing", solo se está realizando en Suecia.

METODOLOGIA

Utilizamos para nuestro trabajo práctico el método de Inmunodifusión Radial de Mancini de la Casa Behring Diagnostics, en forma de discos cilíndricos llamados M-Partigen. Con estos pueden determinarse 21 proteínas normales y una proteína patológica, la alfa-1-feto-

proteína, ausente en el suero normal, pero demostrable en casos de carcinoma primario de hígado; particularmente el Hepatocarcinoma que ocurre en el África.

Este método de determinación cuantitativa de las proteínas es la técnica más sencilla de las actualmente empleadas de manera rutinaria, debido a los trabajos de Mancini, Carbonara y Heremans.

La Inmunolectroforesis y la Inmunodifusión Radial son actualmente los métodos cuantitativos más frecuentemente empleados. Son métodos confiables de Laboratorio que han encontrado aceptación en la rutina médica, ya sea para ampliar las posibilidades diagnósticas o reconocer una carencia de una proteína, seguir la evolución de una enfermedad, o controlar la actividad de una terapéutica.

Los discos M-Partigen contienen en el gel un anticuerpo mono-específico contra una determinada proteína, en este caso, contra la alfa-1-antitripsina. Todos los discos tienen 12 pocillos de aplicación, de los cuales los tres primeros se utilizan para construir la curva de referencia. En éstos se depositan 5 microlitros de concentraciones diferentes (1:1, 1:2 y 1:4) del Standard de Proteínas Plasmáticas. Los demás pocillos sirven para la dosificación de los diferentes sueros o muestras. En ellos también se depositan 5 microlitros de suero diluido 1:10 empleando para ello un dispensador especial. Las diluciones se realizan con solución salina normal.

La difusión del antígeno aplicado y el anticuerpo se verifica en dos o tres días a temperatura ambiente y en presencia de humedad para evitar que se cuarte el gel, procediéndose luego a su lectura. Se puede leer el diámetro del anillo de precipitación formado por la reacción Ag/Ac, ya sea con una reglilla especial graduada en milímetros, así como con instrumentos modernos, precisos y sensibles, tales como un Visor del Instituto Behring y un lente de aumento con una reglilla graduada en milímetros de la casa Dade. Nosotros utilizamos los aparatos accesorios antes mencionados para leer los resultados con mayor exactitud.

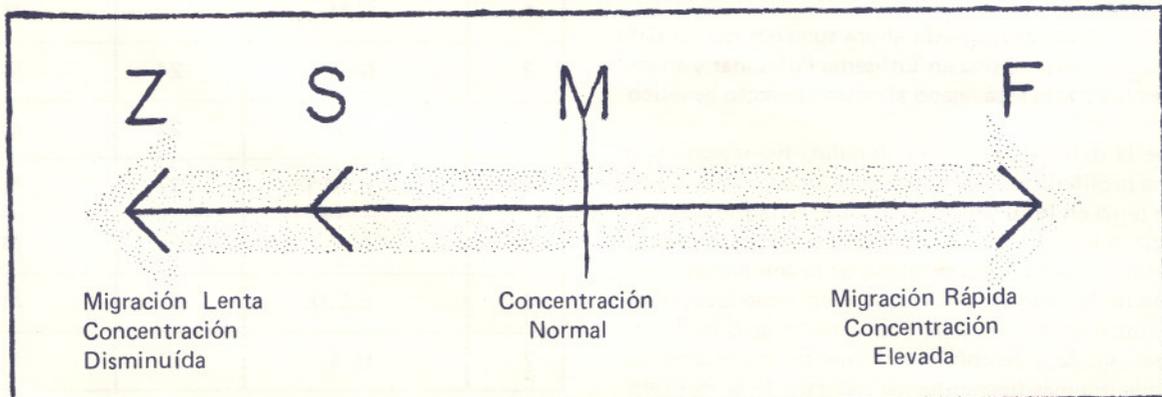
"En el punto final de la difusión, el diámetro de los anillos de precipitación es directamente proporcional a la cantidad de antígeno aplicado".

El valor del diámetro al cuadrado se traslada a papel milimetrado en el eje de las ordenadas, encontrándose la concentración respectiva en el eje de las abscisas. Los valores obtenidos para las tres diluciones del standard permiten trazar una recta, la cual debe interceptar la ordenada a nivel de $11 + 2.5 \text{ mm}^2$, y en la que puede leerse la concentración de cualquier muestra a realizar por medio de interpolación.

OBSERVACIONES DEL METODO

Las siguientes observaciones son esenciales para que los resultados a obtener sean totalmente confiables.

- 1) Todos los reactivos contienen agentes preservativos.
- 2) El standard de proteínas plasmáticas contiene proteínas lábiles, y por esta razón viene en forma liofilizada, ya que esta es la mejor manera de mantener la estabilidad de las proteínas. Se reconstituye con 0.5 ml. de agua destilada y solo es estable una semana en nevera luego de preparado.
- 3) Los discos deben conservarse entre $+4^{\circ}$ y $+6^{\circ}\text{C}$. La congelación daña la capa de gelatina y causa desnaturalización de las proteínas de los standards.
- 4) Antes de su empleo hay que dejar los discos abiertos de 5 a



10 minutos a la temperatura ambiente, en caso de que se forme agua de condensación.

5) — Los pocillos de aplicación no utilizados de un disco Partigen pueden emplearse varios días después de la primera utilización, siempre que se preste atención a la fecha de expiración, también que la caja haya sido cerrada debidamente luego de su empleo, y que se conserve entre $+4^{\circ}$ y $+6^{\circ}\text{C}$.

Si el disco vuelve a utilizarse quince o más días después de la primera determinación, es preciso construir una nueva curva de referencia.

6) — Bajo condiciones apropiadas de refrigeración los anillos de precipitina son estables indefinidamente.

7) — Estabilidad: La fecha de expiración viene especificada en cada disco. Una carencia de reacción cuantitativa con los standards apropiados, puede ser evidencia de inestabilidad biológica.

8) — Sustancias interferentes: La contaminación bacteriana puede causar desnaturalización de las proteínas.

9) — La muestra o suero debe conservarse en nevera o debe ser congelada.

VALORES NORMALES

El rango de variación normal para la alfa-1-antitripsina es de 200 a 400 mg/dl.

ALFA-1-ANTITRIPSINA: GENERALIDADES

La Alfa-1-Antitripsina es una glicoproteína sérica humana que migra electroforéticamente con la Alfa-1-Globulina. Es separable por técnicas tales como Electroforesis, Inmunolectroforesis y "Electrofocusing". Es una proteína termolábil que se destruye por calentamiento a 56°C .

FUNCION

Su función principal es inactivar las enzimas proteolíticas, principalmente la tripsina, que se han escapado de los espacios citoplasmáticos de los granulocitos y de los macrófagos. También se ha aceptado la hipótesis de que su función consiste en inhibir las proteasas de origen leucocitario que ejercen un efecto destructor sobre el parénquima pulmonar. Por esto se denomina a la Alfa-1-antitripsina como "potente inhibidora de proteinasas". Cerca del 91 o/o de la inhibición de la tripsina del suero se debe a la Alfa-1-Globulina.

Entre las enzimas que se ven afectadas por ésta se encuentran: tripsina, quimotripsina, trombina, elastasa pancreática, colagenasa cutánea, renina, uroquinasa, factor y cofactor de Hageman, y las proteasas de los leucocitos polimorfonucleares. También puede inhibir la proteasa ácida presente en los macrófagos alveolares, pero ésta es inhibida en una proporción mucho menor que la elastasa de los leucocitos. Por lo tanto, vemos que no es un inhibidor específico de una sola proteasa.

La Alfa-1-Antitripsina puede aislarse de numerosos fluidos del organismo como son: suero, lágrimas, perilinfa, linfa, saliva, calostro, leche materna, fluido duodenal, bilis, líquido sinovial, mucus cervical, semen y líquido amniótico.

Esta glicoproteína es sintetizada y secretada por el hígado, específicamente por el hepatocito. Su peso molecular es 54,000, y como éste es más bajo que el de la albúmina puede abandonar la circulación y encontrarse en otros tejidos y fluidos biológicos, tal y como hemos mencionado anteriormente.

Su estructura química consiste en una cadena sencilla de polipéptidos con cuatro cadenas de carbohidratos de dos diferentes tipos. Su contenido en péptidos es 86 o/o.

La concentración normal en Europa Central se ha establecido que corresponde a 290 mg/100 ml. con un margen de variación entre 200 y 400 mg/100 ml. No está clara aún la causa que determina los niveles basales.

ASPECTO GENETICO

La deficiencia de Alfa-1-Antitripsina se hereda como un trastorno autosómico y recesivo no ligado al sexo, esto es que afecta por igual a hombres y mujeres. Veinte y seis alelos codominantes determinan la estructura y concentración en el suero de la Alfa-1-Antitripsina. Se ha evidenciado, pues, que la deficiencia hereditaria es codominante,

esto es que cada alelo controla la producción de un tipo de Alfa-1-Antitripsina sin dejarse influenciar por el alelo correspondiente del otro miembro del cromosoma par. Presumiblemente estos alelos se encuentran en un locus simple, pero el cromosoma específico que contiene los genes del sistema inhibidor de proteinasas todavía no se ha determinado. Por todas estas razones sabemos entonces que un individuo heterocigoto tiene dos variantes de Alfa-1-Antitripsina, mientras que el homocigoto sólo posee una variante.

Un sistema basado en las letras del alfabeto ha sido adoptado para diferenciar las veinte y seis variantes de la Alfa-1-Antitripsina que se presentan al realizar la separación electroforética. Se ha llamado a éste, Sistema Pi (proteasa-inhibidor). Se han descrito más de treinta fenotipos hasta la fecha, comprobándose que varían con factores étnicos y geográficos. La determinación de éstos se realiza en base a la lentitud o rapidez con que se separan las fracciones. A la variante que migra más lentamente se le ha llamado "Z". El fenotipo "S" también migra lentamente pero no tanto como el primero. Luego tenemos el fenotipo "M", el cual migra con una velocidad media o normal, y por último tenemos la fracción que migra más rápidamente, que es la "F".

El fenotipo más común es el Pi MM; se encuentra en el 80 al 95 o/o de la población y se asocia con niveles normales de Alfa-1-Antitripsina. Los individuos homocigóticos con fenotipo Pi ZZ se asocian con un déficit severo de Alfa-1-Antitripsina y poseen sólo del 10 al 15 o/o de la concentración normal de la misma.

Los fenotipos Pi SS y Pi SZ son formas intermedias de la deficiencia de Alfa-1-Antitripsina, con sólo 60 y 40 o/o de la concentración normal, respectivamente.

La diferencia básica entre las moléculas del fenotipo Z y del M ha sido demostrada por electroforesis en dos dimensiones (Peptide Mapping), lo cual revela que el ácido glutámico de un fragmento peptídico de la Alfa-1-Antitripsina normal es reemplazado por la lisina en la cadena anormal Z. Se piensa que este cambio interfiere con la habilidad de la molécula para atacar el ácido siálico.

Una representación gráfica de los diferentes fenotipos de la Alfa-1-Antitripsina podría ser la siguiente:

Talamo descubrió otro fenotipo o variante. Este es el Pinull ó Pi-. Se atribuye a la delección del gen Pi y conlleva un defecto en la regulación de la producción de Alfa-1-Antitripsina. Este hecho necesita ser estudiado más a fondo ya que sabemos que una simple delección de un gen no puede ser detectada aún con técnicas modernas.

El déficit severo de la glicoproteína (Pi ZZ) ocurre solamente en uno de cada 3,630 individuos, siempre y cuando se mantenga el equilibrio de Hardy-Weinberg. En los Estados Unidos se ha establecido que uno de cada 676 individuos blancos tienen una deficiencia severa de Alfa-1-Antitripsina. El fenotipo Pi SZ ocurre en uno de cada 830 individuos.

El órgano que se ve más afectado por el déficit de Alfa-1-Antitripsina es el pulmón, y la mayoría de los individuos de fenotipo Pi Z desarrollan enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Se ha demostrado que los individuos fumadores de fenotipo Pi Z pueden desarrollar Enfisema Pulmonar a edad temprana (35 a 40 años), mientras que los no fumadores en este grupo pueden estar libres de la enfermedad hasta los 60-65 años.

Se han encontrado niveles bajos de complemento por razones no conocidas aún, en pacientes con fenotipo Pi ZZ y en enfermedad hepática.

La vida media de la Alfa-1-Antitripsina normal en el suero es de una semana, ya que es catabolizada por el hígado, pero la vida media de sus variantes polimorfas es más corta.

Se ha demostrado que microorganismos como *Proteus Mirabilis* y *Pseudomona Aeruginosa* inhiben la Alfa-1-Antitripsina, pero in vitro.

En individuos Pi M, un 92 o/o de la elastasa es inhibida por la Alfa-1-Antitripsina y solo un 8 o/o lo es con la Alfa-2-macroglobulina, que es otra antiproteasa, pero en fenotipo Pi Z la proporción es 50o/o para cada uno.

La glicoproteína fue aislada por vez primera en la década del 1950 por Moll y colaboradores. Esta resultó ser impura, o sea, que estaba mezclada con otras proteínas, pero en los últimos diez años numerosos investigadores han reportado técnicas de aislamiento de una proteína más pura.

Se hace indispensable mencionar, dada la gran importancia que

tiene, el hecho de que existen algunos factores que influyen directamente sobre los valores normales de la Alfa-1-Antitripsina, entre estos tenemos: Sexo, raza, clima, alimentación, medicamentos, etc. Esta es la razón por la cual los valores normales varían de un país o un continente a otro.

ALTERACIONES PATOLOGICAS DE LA ALFA-1-ANTITRIPSINA

AUMENTO

Procesos Inflamatorios	a)– Inflamación aguda	↑↑
	b)– Inflamación crónica	↑
	c)– Gastroenteritis	↑
	d)– Síndrome post-operatorio	↑
	e)– Infarto de miocardio	↑
Hepatopatías	f)– Hepatitis Viral aguda	↑
	g)– Cirrosis alcohólica	↑
	h)– Tumores malignos	↑↑
Enfermedad del Colageno	i)– Artritis reumatoidea	↑

DISMINUCION

Hepatopatías	a)– Hepatitis crónica	↓
	b)– Trastornos graves del parénquima hepático	↓
Nefropatías	c)– Síndrome Nefrótico	↓

CONCENTRACION NORMAL

Hepatopatías	a)– Cirrosis biliar primaria	
	b)– Cirrosis hepática activa	
Otras	c)– Infecciones	
	d)– Glomerulonefritis	
	e)– Diabetes Mellitus	

FACTORES QUE INTERFIEREN CON EL RANGO NORMAL DE LA PROTEINA

FACTOR	EFEECTO	COMENTARIOS
1)– Acido aminocaproico.	Aumento	Inhibe la activación del plasminógeno en plasmina y tripsina.
2)– Estrógenos y derivados	Aumento	Efectos metabólicos. Aumenta la síntesis.
3)– Ejercicio muscular	Aumento	-----
4)– Contraconceptivos orales	Aumento	Ejerce cambios metabólicos. Aumenta la síntesis.
5)– Embarazo	Aumento	En el último trimestre.
6)– Estreptoquinasa	Aumento	Aumento significativo en pacientes con infarto.

De los alelos codominantes que determinan la síntesis de la Alfa-1-Antitripsina sérica, solo el gen Pi Z ha sido asociado con enfermedad. En estos pacientes es muy común que exista enfermedad pulmonar obstructiva crónica. El cuadro clínico difiere de caso a caso pero la regla es que se desarrolle a edad temprana Enfisema Pulmonar de tipo panacinar o bronquitis crónica, o ambos, en individuos con déficit severo de Alfa-1-Antitripsina.

El interés de la mayoría de los estudios sobre esta glicoproteína ha recaído básicamente en las manifestaciones pulmonares que resultan como consecuencia de este trastorno genético.

En 1969, un nuevo aspecto de la deficiencia fue descrito por Sharp y colaboradores, los cuales reportaron diez casos de niños con Cirrosis asociada a defectos bioquímicos y con un patrón hereditario

que parecía ser idéntico al del Enfisema Pulmonar y familiar.

Se estima que de un 10 a un 20 o/o de los niños con déficit de Alfa-1-Antitripsina desarrollan enfermedad hepática. La Cirrosis Hepática en la edad pediátrica no es tan rara como antes se creía y sigue aumentando cada día más. Esto se debe en parte, al aumento de las formas virales de la Hepatitis, las cuales son hoy universalmente reconocidas como una de las causas principales de la Cirrosis Infantil. Pero todavía, en relación con la Cirrosis del adulto, la enfermedad es rara en los niños. El curso clínico de la Cirrosis en éstos es variable y depende mayormente de la etiología.

Hoy sabemos que una Hepatitis Colestática en el período Neonatal puede ser la primera evidencia de un déficit de Alfa-1-Antitripsina, por lo tanto, resultaría sumamente importante determinar esta glicoproteína a niños recién nacidos con ictericia persistente. Este podría ser un tema interesante de trabajo que aportaría grandes conocimientos al campo de la Medicina.

Luego se demostró que tanto el Enfisema Pulmonar como la Cirrosis Hepática estaban ligados al mismo defecto genético. Sin embargo, según Lieberman, no exceden del 10 o/o los pacientes que sean homocigotos para la deficiencia de Alfa-1-Antitripsina.

El déficit fue asociado posteriormente con la Cirrosis en el adulto y el Hepatocarcinoma, en individuos con fenotipos Pi ZZ y Pi SZ. El hígado de estos pacientes generalmente es nodular, mientras que las formas infantiles del déficit están asociadas más frecuentemente a una Cirrosis de tipo Biliar.

En todas las muestras de hígado con déficit de Alfa-1-Antitripsina (Pi ZZ y Pi SZ), con o sin enfermedad hepática, fueron observados por Sharp y colaboradores numerosos hepatocitos con inclusiones típicas, en secciones tratadas con diastasa y coloreadas con ácido periódico de Schiff. Estas inclusiones son de color rojo intenso, de forma globular u oval, se observaron principalmente en las áreas periportales del lobulillo hepático. Son estrictamente intracelulares y varían en tamaño; generalmente miden de 2 a 3 micrometros. También es importante destacar que son resistentes a la diastasa.

Estas observaciones incitaron a estudios sistemáticos de la relación que hay entre la deficiencia de la glicoproteína y enfermedad hepática en el adulto.

En estudios de enfermedades hepáticas infantiles con deficiencia de Alfa-1-Antitripsina, Sharp encontró cuerpos de inclusión similares a los descritos anteriormente en muestras de hígado de varios niños afectados. Estos también fueron observados en las áreas periportales del lobulillo hepático.

Resulta sumamente importante el hecho de mencionar que estas inclusiones tienen características bioquímicas únicas, siendo morfológica e histoquímicamente diferentes de los Cuerpos de Councilman que son característicos de la Fiebre Amarilla, así como de los Cuerpos de Mallory que se observan en la Hepatitis y Cirrosis Alcohólica. Igualmente son diferenciables por medio de estudios de microscopía electrónica y por medios histoquímicos, de los cuerpos acidofílicos que están presentes en la Hepatitis Viral Aguda. Los cuerpos de inclusión anteriormente descritos fueron observados por medio del ultramicroscopio, así como con técnicas de Inmunofluorescencia e Inmunoperoxidasa. Más tarde se observaron también con el microscopio electrónico, demostrándose que los cuerpos de inclusión se localizan en el retículo endoplásmico rugoso, en vez de ser lanzados al torrente sanguíneo.

Algunos pacientes con deficiencia sérica severa de Alfa-1-Antitripsina (Pi ZZ), y sin evidencia clínica de enfermedad hepática durante la niñez, desarrollan Cirrosis Hepática en la edad adulta, y a veces ésta se complica con Hepatoma Maligno.

Actualmente sabemos que la necrosis hepatocelular grave frecuentemente se asocia a una disminución de las globulinas alfa séricas. Esto se observa en las enfermedades hepáticas agudas, sub-agudas y crónicas.

La capacidad inhibidora de la proteasa disminuye notablemente en pacientes con deficiencia sérica severa de Alfa-1-Antitripsina (Pi Z). Lo que ocurre es que las enzimas proteolíticas abandonan libremente el hepatocito y se comportan como hepatotoxinas, directa o indirectamente a través de la formación de metabolitos hepatotóxicos.

En los casos heterocigóticos (déficit intermedio), las alteraciones primarias hepáticas son muy leves, evolucionando en la mayoría de las ocasiones hacia la curación.

ASLAMIENTO DE LOS CUERPOS DE INCLUSION

La purificación de la Alfa-1-Antitripsina hepática es un prerrequisito para comprender la patogénesis de la enfermedad hepática en la deficiencia de la glicoproteína en niños y en adultos.

El componente principal de los cuerpos de inclusión es una proteína con aproximadamente el mismo peso molecular que la Alfa-1-Antitripsina sérica. Análisis químicos demostraron la ausencia completa de ácido siálico en la molécula. La antitripsina hepática tiene una tendencia pronunciada a formar macroagregados insolubles. Una sialización insuficiente de la antitripsina en el hígado parece ser uno de los defectos básicos en la deficiencia de Alfa-1-Antitripsina.

Sharp propuso que el déficit de la glicoproteína es un defecto en el transporte de la misma, lo cual causa su acumulación dentro del hepatocito.

Bell y Carell propusieron que en el estado de deficiencia Pi ZZ hay una adición incompleta de ácido siálico a la Alfa-1-Antitripsina sérica.

Cox propuso que a la proteína sérica ZZ le falta por lo menos una o quizás dos cadenas de carbohidratos terminadas en ácido siálico.

La tendencia marcada de la Alfa-1-Antitripsina hepática de formar macroagregados puede ser otro factor en combinación con la deficiencia de ácido siálico.

Hasta la fecha hay suficientes datos que soportan el concepto de que la acumulación de Alfa-1-Antitripsina en el retículo endoplásmico es asociado con una sialización insuficiente de la proteína.

RESULTADOS

En este trabajo tomamos muestras de sangre a 48 pacientes con diferentes hepatopatías. De éstos, 31 eran cirróticos, y les fue cuantificada en suero la glicoproteína Alfa-1-Antitripsina. Hicimos también la determinación a 3 pacientes enfisematosos con el fin de tratar de detectar el déficit de la glicoproteína que se observa en esta enfermedad pulmonar, con lo cual suman 51 los casos patológicos estudiados por nosotros en el presente trabajo de grado. Trece de los 51 casos mostraron déficit de Alfa-1-Antitripsina, dando resultados por debajo de los valores normales (200-400 mg/dl).

A continuación expondremos los diferentes casos estudiados junto con los valores mínimos y máximos obtenidos para la concentración de Alfa-1-Antitripsina, así como también el promedio calculado de cada uno de ellos.

1)– Cirrosis Nutricional Grasa.

Número de Casos: 26
Resultados: Valor mínimo: 60 mg/dl.
Valor máximo: 465 mg/dl.
Promedio : 237.3 mg/dl.

2)– Cirrosis Biliar.

Número de Casos: 3
Resultados: Valor mínimo: 130 mg/dl.
Valor máximo: 420 mg/dl.
Promedio : 310 mg/dl.

3)– Cirrosis Postnecrótica.

Número de casos: 2
Resultados: Valor mínimo: 150 mg/dl.
Valor máximo: 380 mg/dl.
Promedio : 265 mg/dl.

4)– Hepatocarcinoma.

Número de Casos: 2
Resultados: Valor mínimo: 275 mg/dl.
Valor máximo: 490 mg/dl.
Promedio : 382.5 mg/dl.

5)– Colangiocarcinoma.

Número de Casos: 1
Resultados: 700 mg/dl..

6)– Adenocarcinoma metastásica en hígado.

Número de Casos: 1
Resultados: 290 mg/dl.

7)– Hepatitis Crónica Activa en vía de transformación cirrótica.

Número de Casos: 2
Resultados: Valor mínimo: 130 mg/dl..
Valor máximo: 315 mg/dl.
Promedio : 222.5 mg/dl.

8)– Hepatitis Crónica Persistente.

Número de Casos: 1
Resultados: 550 mg/dl.

9)– Hepatitis Viral (en niños)

Número de Casos: 2
Resultados: Valor mínimo: 375 mg/dl.
Valor máximo: 390 mg/dl.
Promedio : 382.5 mg/dl..

10)– Hepatitis reaccional inespecífica.

Número de casos: 3
Resultados: Valor mínimo: 300 mg/dl.
Valor máximo: 435 mg/dl.
Promedio : 366.6 mg/dl.

11)– Esteatosis Hepática.

Número de Casos: 1
Resultados: 180 mg /dl.

12)– Enfisema Pulmonar.

Número de Casos: 3
Resultados: Valor mínimo: 110 mg /dl.
Valor máximo: 330 mg /dl.
Promedio : 291.6 mg /dl.

13)– Cirrosis Biliar asociada a Hepatocarcinoma.

Número de Casos: 1
Resultados: 490 mg/dl.

14)– Hepatoma acompañado de Enfisema Pulmonar.

Número de Casos: 1
Resultados: 330 mg/dl.

15)– Adenocarcinoma metastásico en hígado acompañado de masa tumoral en pulmón (posible carcinoma broncogénico).

Número de Casos: 1
Resultados: 340 mg/dl.

16)– Cirrosis Hepática asociada a Hepatocarcinoma.

Número de Casos: 1
Resultados: 275 mgs/dl.

Si comparamos estos resultados con los de las tablas internacionales, notaremos que estas últimas señalan el aumento de la Alfa-1-Antitripsina en la Cirrosis Nutricional Grasa o Alcohólica, mientras que nuestros resultados promedio cayeron dentro de los valores normales de la glicoproteína (237 mg /dl.). Resulta controversial a veces, pero lo que ocurre en sí es que desde 1969 se han venido reportando algunos casos del déficit en Cirrosis Alcohólica, no pasando éstos del 10 o/o

TABLAS CON LOS PRINCIPALES DATOS DE LOS PACIENTES QUE FUERON ESCOGIDOS PARA ESTE TRABAJO

INICIALES	EDAD	SEXO	PUNCION O LAPAROTOMIA	HOSPITAL	No. LAB.	FECHA	DIAGNOSTICO
R. P.	55	M	P	IDSS	23478	15-3-79	Cirrosis Hepática
D.M.	53	M	P	IDSS	23725	10-5-79	Cirrosis Hepática
R. M.	60	M	P	IDSS	23746	16-5-79	Cirrosis Postnecrótica
F.M.	57	M	P	IDSS	23739	14-5-79	Cirrosis Biliar
A.M.J.	34	F	P	IDSS	23754	18-5-79	Cirrosis Postnecrótica
R.P.	30	M	P	IDSS	23916	21-6-79	Hepatitis Crónica en vía de Cirrosis
A.V.	59	M	P	IDSS	24012	9-7-79	Cirrosis Hepática
L.Q.J.	45	M	P	IDSS	24028	6-7-79	Cirrosis Biliar asociada a Hepatocarcinoma
B.P.	18	F	P	IDSS	24055	19-7-79	Esteatosis Hepática
A.R.	62	M	-	IDSS	24012	30-7-79	Enfisema Pulmonar - Posible Tumor Hepático
M.G.	38	F	P	IDSS	24108	1-8-79	Colangiocarcinoma
J.B.R.	63	M	P	IDSS	24113	6-8-79	Cirrosis Hepática
P.T.	52	M	L	IDSS	24119	6-8-79	Cirrosis Hepática
J.B.M.	47	M	P	IDSS	22126	3-11-77	Cirrosis Hepática
I.A.H.	40	F	P	IDSS	22899	7-7-78	Hepatitis Reaccional Inespecífica
P.F.	48	M	P	IDSS	24138	12-8-79	Cirrosis Hepática
J. A.	70	M	-	IDSS	23696	15-8-79	Enfisema Pulmonar
J. C.	50	M	-	IDSS	24036	15-8-79	Enfisema Pulmonar
L.E.T.	46	F	P	IDSS	23668	25-4-79	Cirrosis Hepática
F.J.M.	62	M	P	IDSS	22967	15-8-78	Cirrosis Hepática
Y. S.	60	M	P	IDSS	24097	22-8-79	Hepatoma
A. M.	47	M	P	IDSS	23235	7-12-78	Hepatitis Crónica; cambio sugestivo de Cirrosis
R.S.	16	M	P	IDSS	23304	22-1-79	Cirrosis Hepática
C. E.	51	M	P	IDSS	24196	22-8-79	Cirrosis Biliar
J. T.	38	M	P	IDSS	24211	28-8-79	Cirrosis Hepática
E. M.	50	M	P	IDSS	24215	5-9-79	Cirrosis Biliar Secundaria
E. A.	57	M	-	IDSS	24156	10-9-79	Enfisema Pulmonar
A. V.	60	M	P	IDSS	24223	13-9-79	Cirrosis Hepática
H. P.	63	M	P	IDSS	24236	18-9-79	Cirrosis Hepática
I. R.	45	M	P	IDSS	24241	18-9-79	Cirrosis Hepática

de la población total. Por eso, aunque nuestros trabajos hayan sido confirmados por varios autores, necesitan seguirse estudiando en el futuro próximo.

En la Cirrosis Biliar primaria hay una concentración sérica normal de Alfa-1-Antitripsina, lo cual fue demostrado por nosotros, obteniendo resultados promedio de 310 mg./dl.

Las tablas internacionales sostienen que la Alfa-1-Antitripsina se encuentra elevada en la Hepatitis Viral Aguda.

En dos casos de niños con esta hepatopatía nuestros resultados promedio fueron de 382.5 mg./dl., que aunque cae dentro de los valores normales de la glicoproteína, podríamos decir que nos dió cerca del límite superior de la concentración normal, o sea, que tiene una tendencia a aumentar.

Es sabido también que la Alfa-1-Antitripsina se encuentra disminuída en la Hepatitis Crónica. En dos casos de Hepatitis Crónica Activa en vía de transformación a Cirrosis,

INICIALES	EDAD	SEXO	PUNCION O LAPARATOMIA	HOSPITAL	No. LAB.	FECHA	DIAGNOSTICO
A. S.	44	M	P	HMP	C-79-127	27-7-79	Cirrosis Hepática
J. C.	38	F	P	HMP	C-79-128	27-7-79	Hepatitis Crónica persistente
I.M.V.	52	M	P	HMP	C-79-130	27-7-79	Hepatitis Reaccional Inespecífica
J. C.	65	M	P	HMP	C-79-135	8-8-79	Cirrosis Hepática
J. E. B.	67	M	P	HMP	C-79-136	9-8-79	Cirrosis Hepática
D. R.	49	F	P	HMP	C-79-140	14-8-79	Cirrosis Hepática
A. T.	34	F	P	HMP	C-79-141	23-8-79	Hepatitis Reaccional Inespecífica
R. C.	55	F	P	HMP	C-79-142	27-8-79	Adenocarcinoma metastásico en hígado
D. M.	52	M	P	HMP	C-79-145	27-8-79	Cirrosis Hepática sugestivo de Hepatocarcinoma incipiente asociado
I. C.	63	F	P	HRL	79-17658	26-7-79	Adenocarcinoma metastásico en hígado, Masa tumoral en pulmón.
M. R. R.	57	F	P	HPB	56008	9-3-79	Cirrosis Hepática
J. B.	54	F	P	HPB	83040	30-3-79	Cirrosis Hepática
J.Q.	50	F	P	HPB	38201	12-3-79	Cirrosis Hepática
A. M.	63	F	P	HPB	70005	22-2-79	Cirrosis Hepática
M. C.	55	M	P	HPB	68016	5-3-79	Cirrosis Hepática
F.A.P.	53	M	P	HPB	53042	6-2-79	Cirrosis Hepática
L. C.	37	M	P	HPB	41116	26-3-79	Hepatocarcinoma
R. M.	11	M	P	HRRC	65999	24-7-79	Hepatitis Viral
G. H.	4 1/2	M	P	HRRC	063313	24-7-79	Hepatitis Viral
R. R.	9	M	P	HRRC	060628	24-7-79	Cirrosis Hepática
L. O.	10	M	P	HRRC	064993	24-7-79	Cirrosis Hepática

obtuvimos resultados promedio de 222.5 mg /dl, encontrándose así dentro de los valores normales, en vez de estar disminuída como dicen las tablas. Sin embargo, en un caso de Hepatitis Crónica persistente, la Alfa-1-Antitripsina nos dió un resultado sumamente elevado (550 mg /dl), mostrando valores totalmente opuestos a los señalados por las tablas internacionales.

En tumores malignos se ha dicho que la concentración de Alfa-1-Antitripsina se encuentra extremadamente elevada debido a la inflamación aguda que coexiste. En dos casos de Hepatocarcinoma que estudiamos obtuvimos valores de 275 y 490 mg /dl, con un promedio de 382.5 mg /dl. En un caso de Cirrosis Biliar asociado a Hepatocarcinoma el resultado fue de 490 mg /dl, y en un caso de Colangiocarcinoma obtuvimos una concentración de 700 mg /dl, siendo el resultado más elevado. Podríamos decir pues, que fue confirmada la elevación de la glicoproteína en inflamaciones agudas, tal y como nos dicen las tablas actuales estudiadas.

Por otro lado, en los tres casos de Enfisema Pulmonar que investigamos, y en los cuales quisimos detectar el déficit de la Alfa-1-Antitripsina ya descrito, obtuvimos resultados promedio de 291.6 mg /dl, o sea, dentro de los valores normales. Esto nos da a entender que hay mayores posibilidades de encontrar el déficit de la glicoproteína en individuos enfisematosos, pero no siempre ocurre.

Por último, comentaremos los resultados obtenidos por nosotros en 14 individuos a quienes se les cuantificó también la Alfa-1-Antitripsina con el fin de investigar los valores normales de la misma en dominicanos jóvenes y sanos.

Era de nuestro interés el realizar por lo menos 30 determinaciones de este tipo, pero no lo pudimos llevar a cabo por falta de material de Laboratorio.

A 7 personas del sexo femenino con edades comprendidas entre los 21 y 30 años se les cuantificó la glicoproteína, arrojando un promedio de 210.7 mg /dl. en los resultados.

A 7 personas del sexo masculino con edades que oscilan entre los 19 y 27 años se les practicó lo mismo, obteniéndose un promedio de 169.2 mg /dl. en los resultados.

Como podemos observar, ambos promedios resultaron ser un poco bajos, principalmente los del sexo masculino, si los comparamos con los valores normales del método que fue utilizado. Esto nos hace pensar que los valores normales en nuestro país podrían ser más bajos, y por lo tanto, diferentes a aquellos que ya se han determinado en Europa Central (200-400 mg;/dl.). Sabemos que estas diferencias se deben a factores como: alimentación, clima, sexo, raza, etc.

Por todas estas razones, consideramos que deberían establecerse los valores normales en nuestro país para la concentración sérica de Alfa-1-Antitripsina, dada la gran diferencia que existe en los factores antes mencionados entre Europa Central y la República Dominicana.

CONCLUSIONES

1)— De acuerdo a nuestros resultados obtenidos, observamos un 27 o/o de déficit de Alfa-1-Antitripsina en todas las Hepatopatías que fueron estudiadas.

La Cirrosis Nutricional Grasa fue la que mostró una deficiencia mayor de la misma, arrojando un resultado de 38.4 o/o.

En la Cirrosis Postnecrótica hubo un déficit de la glicoproteína de un 50 o/o, al igual que en el Hepatocarcinoma y en la Hepatitis Crónica en vías de transformación cirrótica.

En la Cirrosis Biliar obtuvimos resultados que mostraron un déficit de un 33.3 o/o, al igual que en los casos de Enfisema Pulmonar que estudiamos.

Así mismo, detectamos un 42.8 o/o de déficit de la glicoproteína en pacientes normales del sexo femenino, mientras que la deficiencia fue mucho mayor (71.4 o/o) en el sexo masculino.

2)— Aunque en nuestro trabajo no determinamos el fenotipo de cada uno de los pacientes, debido a que esto no se realiza en nuestro medio, estamos conscientes de que no exceden del 10 o/o los individuos que son homocigotos para la deficiencia de Alfa-1-Antitripsina.

3)— Realizamos la coloración con el ácido periódico de Schiff (PAS), a varias muestras de hígado de pacientes que mostraron déficit de Alfa-1-Antitripsina, y en un 60 o/o de éstos encontramos numerosos cuerpos de inclusión localizados en el citoplasma de los hepatocitos. Se observaron desde color rosa pálido hasta rojo intenso, con un tamaño promedio de 2 á 3 micrometros. Estas investigaciones nos confirmaron los estudios realizados anteriormente por otros autores.

4)— Los valores normales de la Alfa-1-Antitripsina varían de un país o continente a otro, debido a factores que influyen directamente sobre la glicoproteína, tales como: sexo, raza, clima, alimentación, medicamentos, etc.

Por estas razones, resultaría de mucho interés el continuar los estudios sobre la Alfa-1-Antitripsina y tratar de detectar los valores normales que existen en nuestro país,

BIBLIOGRAFIA

- Anderson, W.A.D., Scotti, Thomas M.: Synopsis of Pathology Pages 617 and 654. Ninth edition, 1976.
- Instituto Behring: M-Partigen, discos de inmunodifusión para la valoración cuantitativa de las proteínas del plasma. Fabwerke Hoechst AG. Sp. Div. 179-VIII, 73 (3332) 7.
- Behring Diagnostics: Alpha-1-Antitrypsin. Radial Inmunodifusion Plates with standards. American Hoechst Corporation, 1975.
 - Instituto Behring: Tabla de las proteínas plasmáticas de la sangre humana. Hoechst Aktiengesellschaft. Sp. 182. April, 1975 (7469) 6.
- Instituto Behring: Partigen, discos de inmunodifusión. Hoechst Aktiengesellschaft, 1976.
- Instituto Behring: Significación clínica de los valores de proteínas plasmáticas. Hoechst Aktiengesellschaft, 1978.
- Berg, Nils O., M.D. and Eriksson, Sten, M. D.: Liver disease in adults with Alpha-1-Antitrypsin deficiency. N. Engl. J. Med. 287: 1264-1267, 1972.
- Bournigal, Vanessa de: Errores innatos del metabolismo de los aminoácidos. Deficiencia familiar de Alfa-1-Antitripsina. Cátedras de Química Clínica II, 1979.
- Cole, R.B., Nevin, N. C., Blundell, G., Merrett, J.D., Mc Donald, J. R., and Johnston, W. P.: Relation of Alpha-1-Antitrypsin phenotype to the performance of pulmonary function tests and to the prevalence of respiratory illness in a working population. Thorax, 31: 149-156, 1976.
- Craig, John R., M. D., Ph. D., Dunn, Alfred E.G., M.S. and Peters, Robert L., M. D.: Cirrhosis associated with partial deficiency of Alpha-1-Antitrypsin: A clinical study and autopsy study. Human Pathology, Volume 6, Number 1, pages 113-120, 1975.
- Chan-Yeung, Moira, Ashley, Mary Jane, Corey, Paul and Ma-

- ledy, Holly: Pi Phenotypes and the prevalence of chest symptoms and lung function abnormalities in workers employed in dusty industries. *American Review of Respiratory Disease*, Volume 117: 239-244, 1978.
- Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas. Salvat Editores, S. A., Décima Edición, 1972.
- Eriksson, Sten, M. D. and Larsson, Christer, M.D.: Purification and partial characterization of PAS-positive inclusion bodies from the liver in Alpha-1-Antitrypsin deficiency. *N. Engl. J. Med.* 292: No. 4: 176-180, 1975.
- 14 Harrison, Wintrobe, Thorn, Adams, Bennett, Braunwald, Isselbacher, Petersdorf: *Medicina Interna*, Tomo II, 4ta. Edición en español, 1973.
- Kaplan, Marshall M. and De Lellis, Ronald A.: Liver failure in an 11-Month-old child. *N. Engl. J. Med.* 287: 763-768, 1972.
- Kueppers, F., and Christopherson, M. J.: Alpha-1-Antitrypsin: Further genetic heterogeneity revealed by Isoelectric Focusing. *Am. J. Hum. Genet.* 30: 359-365, 1978.
- Larsson, Christer, Eriksson, Sten, and Dirksen, Hans: Smoking and intermediate Alpha-1-Antitrypsin deficiency and lung function in middle-aged men. *British Medical Journal* 2: 922-924, 1977.
- Larsson, Christer: Natural history and life expectancy in severe Alpha-1-Antitrypsin deficiency, Pi Z. *Acta Med. Scand* 204: 345-351, 1978.
- Larsson, Christer: Intermediate Alpha-1-Antitrypsin deficiency, Pi M. *Acta Med. Scand* 204, 353-356, 1978.
- Lee, Sok Kyn, Thibeault, Donald W., and Heiner, Douglas C.: a-1-antitrypsin and a-1-acid glycoprotein levels in the cord blood and amniotic fluid of infants with Respiratory Distress Syndrome. *Pediat. Res.* 12: 775-777 (1978).
- Mittman, Charles: The Pi MZ Phenotype: Is it a significant risk factor for the development of chronic obstructive lung disease? *American Review of Respiratory Disease*, Vol. 118: 649-652, 1978.
- Morse, James, O., M.D.: Alpha-1-Antitrypsin Deficiency. *Medical Progress*, Vol. 299, No.19 and 20 (first and second part), 1978.
- Ritzmann, Stephan E., M. D.: Factors interfering with protein assays. *Behring Diagnostics Newsletter*, No.21, Page 5.
- Robbins, Stanley L.: *Patología Estructural y Funcional*, pags. 772-773, 1975.
- Robbins, Stanley L., M. D., and Cotran Ramzi, S., M. D.: Pathologic basis of disease. Pages 834 and 1,059, 1979.
- Rodríguez Cuartero, A., Rodríguez Cuartero, F., Núñez Carril, J., y López Cueto, A.: Déficit en Alfa-1-Antitripsina (excluidas enfermedades pulmonares). *Revista Clínica Española*. Tomo 149, No. 5, 1978.
- Ampholine Electrofocusing. *Science Tools*, Vol. 26, No.1, 1979.
- Sharp, Harvey L., M. D.: The current status of A-1-Antitrypsin, a protease inhibitor in gastrointestinal disease. *Gastroenterology* 70: 611-621, 1976.
- Shiff, Leon, M. D., Ph.D.: *Diseases of the liver*. Third edition, 1969.
- Shigeoka, J.W., Hall, W.J., Hyde, R.W., Schwartz, R. H., Muddholkar, G. S., Speers, D. M., and Lin, C. C.: The prevalence of Alpha-1-Antitrypsin heterozygotes (Pi MZ) in patients with Obstructive Pulmonary Disease, Vol. 114: 1077-1083, 1976.
- Sveger, Tomas, M. D.: Liver disease in Alpha-1-Antitrypsin deficiency detected by screening of 200,000 infants. *N. Engl. J. Med.* 294: 1316-1321, 1976.
- Todd-Sanford: *Diagnóstico Clínico por el Laboratorio*. Salvat Editores, S. A. Quinta Edición, 1976.
- Weiser, Milton M., M. D., Lamont, J. Thomas, M. D., Walker, W. Allan, M. D.: A-1-Antitrypsin deficiency - A defect of secretion. *Editorials* 292: 205-206, 1975.