

## Série de Revisão

### DEFICIÊNCIA DE ALFA<sub>1</sub>-ANTITRIPSINA · 6: TRATAMENTOS NOVOS E EMERGENTES PARA A DEFICIÊNCIA DE $\alpha_1$ -ANTITRIPSINA

R. A. Sandhaus

.....  
*Thorax* 2004; **59**: 904-909 Reproduzido com autorização de BMJ Publishing Group.

A Deficiência de Alfa<sub>1</sub>-antitripsina (AAT) é uma condição genética que aumenta o risco de desenvolver uma doença pulmonar ou hepática assim como outras patologias associadas. A maioria dos tratamentos dos indivíduos afectados não está dirigida especificamente á Deficiência de AAT senão que se focaliza na doença resultante. Actualmente, o único agente terapêutico específico disponível, a reposição endovenosa com a proteína AAT derivada do plasma se comercializa num número limitado de países. Estão começando a emergir tratamentos dirigidos a corrigir a anormalidade genética subjacente, suplementando ou estão modificando o produto gênico e parando ou revertendo o dano tissular. Estas estratégias inovadoras poderiam ser eficazes em modificar ou eliminar as doenças associadas á Deficiência de AAT.

.....  
A Deficiência de Alfa<sub>1</sub>-antitripsina, também conhecida como deficiência do inibidor de proteinase  $\alpha_1$  ou simplesmente Alfa-1, é uma doença genética que aumenta o risco de desenvolver uma variedade de patologias incluindo, enfisema pulmonar e cirrose hepática. Está causada por mutações no gene que codifica á glicoproteína de 52 kDa  $\alpha_1$ -antitripsina (AAT)<sup>1, 2</sup>, a principal serpina<sup>3</sup> do organismo. Este gene está localizado no braço longo do cromossoma 14 genoma humano<sup>4</sup>. Quando a Deficiência de AAT foi descrita pela primeira vez em 1963<sup>5</sup>, foi vista como uma doença rara que afectava a indivíduos jovens com enfisema severo. Actualmente está considerada uma condição genética com uma prevalência relativamente elevada, que pode ter várias apresentações clínicas que vão da ausência de efeitos sobre a saúde, passando pela típica doença crônica do pulmão ou fígado nos indivíduos maiores, até a mais clássica cirrose neonatal ou enfisema precoce nos adultos jovens<sup>6-8</sup>.

Foram identificadas mais de 100 variantes alélicas deste gene das quais 34 foram associadas com uma deficiência quantitativa ou funcional do AAT circulante<sup>9</sup>. Em sua forma clássica, uma mutação herdada no gene AAT causa a fabricação de um AAT anormal nos hepatócitos do fígado, que é transportado á circulação com menor velocidade. O fígado é a fonte principal do AAT circulante e este problema de transporte conduz a níveis baixos do AAT no sangue e nos tecidos.

O inibidor de proteinase ou sistema Pi foi utilizado para dar nome ás numerosas mutações do gene AAT<sup>10</sup>. O genótipo normal é o Pi M e a clássica deficiência severa se associa com o genótipo Pi Z. Os indivíduos com o genótipo Pi Z tendem a ter níveis circulantes de AAT que são um 10-15% dos níveis de indivíduos com o genótipo Pi M<sup>11</sup>. Outros genótipos associados com deficiência severa incluem ao Pi SZ, Pi Z/Null e Pi Null, assim como outros tipos mais raros<sup>1, 12</sup>. Foram identificados genótipos que conduzem á produção de uma proteína que é disfuncional como inibidor da elastase e implicam um risco aumentado de desenvolver enfisema, mas se liberam em níveis normais á circulação<sup>9, 13</sup>. Foi considerado que há aproximadamente 100.000 indivíduos deficientes severos em Estados Unidos e cerca de 25 milhões de portadores ao menos com um gene AAT deficiente<sup>14, 15</sup>. Sugeriram-se cifras similares para a população europeia. Se estima que actualmente menos de 6% dos deficientes severos foram identificados. Em general, a expressão Co-dominante do gene AAT faz que os portadores tenham níveis intermedios de AAT na circulação. A deficiência severa de AAT e, em menor grau, o ter um só gene deficiente conduzem a um maior risco para desenvolver o enfisema pulmonar<sup>16, 17</sup>, insuficiência hepática em recém-nascidos e crianças<sup>6, 18</sup>, dano hepático com cirrose em adultos<sup>19, 20</sup>, paniculite necrotizante<sup>21-24</sup>, bronquiectasias<sup>25, 26</sup> e provavelmente outras doenças<sup>21, 27, 28</sup>.

#### ROLO DO AAT

Não parece que haja um mecanismo unificado para a colecção de doenças associadas á Deficiência de AAT. Enquanto que o AAT é o arquétipo da familia das serpinas e, é um muito efectivo inibidor de enzimas proteolíticas como a elastase dos neutrófilos<sup>29, 30</sup>, demonstraram também que tem propiedades tanto pro- como anti-inflamatórias<sup>31-34</sup>. O clássico modelo de enfisema pulmonar, patogênese devido á proteinase, baseado em modelos animais de enfisema e a nossa compreensão da actividade de serpina da AAT sugerem que o enfisema pulmonar associado com Deficiência de AAT é devido á actividade proteolítica desenfreada da elastase dos neutrófilos sobre o tecido conectivo pulmonar que conduz á destruição dos alvéolos<sup>29, 35-37</sup>. Este modelo contínua aceitado actualmente, embora há evidência crescente que os caminhos que conduzem ao enfisema pulmonar são mais complexos e sinuosos<sup>38-40</sup>.

Apesar que não se discute a eficácia do AAT como inibidor de proteinases do serin, existem evidências de outras propriedades que também podem jogar uma função na doença devido á sua deficiência. Viu-se que a mutação Pi Z faz exame á produção duma proteína que tende a polimerizar-se tanto dentro do hepatócito<sup>11</sup> como nos pulmões<sup>41</sup>. Este AAT polimerizado pode ser pro-inflamatória<sup>32-42</sup>, agindo como (ou simulando a liberação de) um quimioatractante de células fagocíticas. Além, da inactivação oxidativa de AAT parece jogar uma função principal no regulamento local deste antiproteinase<sup>43-47</sup> e, talvez, nos efeitos do fumo do cigarro sobre o pulmão, ainda mesmo em indivíduos com AAT normal<sup>48-49</sup>.

Embora balanço da proteinase-antiproteinase também possa jogar uma função na doença hepática causada pela Deficiência de AAT, a maioria pensa que os culpáveis mais prováveis desta doença associada são a retenção da proteína que é dobrada incorrectamente e é polimerizada no retículo endoplásmico dos hepatócitos de indivíduos afectados, assim como a resposta dos hepatócitos a esta proteína retida<sup>7, 11, 50-52</sup>. As vasculites, paniculite necrotizante e a granulomatose de Wegner associadas á Deficiência de AAT têm fisiopatologias ainda mais escuras.

### TRATAMENTOS ESPECÍFICOS PASSADOS E PRESENTES

Com estes conhecimentos de base, os cientistas de dentro e fora da industria farmacêutica tentaram desenvolver tratamentos específicos para a Deficiência de AAT. O AAT é um reactante de fase aguda e, como assim, sua síntesis aumenta durante episódios de inflamação sistêmica ou *stress*. Os primeiras tentativas de planejar tratamentos específicos para a Deficiência de AAT foram baseadas neste atributo<sup>53</sup>. O Danazol, um andrógeno, é capaz de estimular a resposta da fase aguda e foi utilizado para estimular a produção hepática de AAT. Embora com este tratamento se documentaram incrementos nos níveis de AAT circulante estadísticamente significativos, foi impossível detectar uma resposta clínica aquelas mudanças pequenas.

Na década de '80 observou-se que a AAT poderia ser purificada em uma quantidade do plasma de indivíduos saudáveis e ser injectado pela via endovenosa a indivíduos com Deficiência de AAT<sup>55</sup>. Esta terapia de reposição endovenosa amostrou incrementar os níveis circulantes de AAT assim como os níveis na lavagem bronco alveolar (BAL, por suas siglas em inglês). Na base da avaliação dos níveis de AAT circulante num grupo pequeno de pacientes Pi SZ com e sem enfisema pulmonar, encontrou-se que os indivíduos com níveis de AAT circulante > 15 µM (80 mg/dl) pareciam estar protegidos da destruição pulmonar e esse nível transformou-se no mínimo a alcançar na terapia de reposição endovenosa. Uma dose de 60 mg/kg de peso corporal de esta AAT purificada administrada semanalmente, mantinha os níveis por em cima desse umbral e aumentava significativamente os níveis de AAT no BAL. Este transformou-se na dose recomendada de Prolastin quando a sua comercialização por parte do laboratório Cutter foi aprovada nos Estados Unidos no fim de 1987<sup>56, 57</sup>. Actualmente, Bayer Biologicals (West Haven, Connecticut, USA) está comercializando nos Estados Unidos, Canadá, Alemanha, Espanha, Itália e Suíça e continúa sendo o tratamento específico mais extensamente prescrito para a doença pulmonar associada com a Deficiência de AAT. Nos Estados Unidos dois produtos novos derivados do plasma humano, receberam últimamente aprovação para a sua comercialização, para serem administrados por via endovenosa (Zemaira, ZLB Behring, PA, e Aralast, Baxter Healthcare, IL). Baseados em estudos clínicos em execução, se espera que outras duas companhias incorporem no mercado da terapia de reposição endovenosa nos próximos anos.

Uma preocupação importante com respeito a estes produtos é a falta de documentação concluyente sobre a sua eficácia para prevenir a doença pulmonar associada á Deficiência de AAT. Nos países onde se comercializam, a aprovação destes produtos se realizou somente na base da sua sua eficácia bioquímica e aos critérios de segurança. Nenhum deles foi avaliado utilizando um projecto de estudo clínico controlado com placebo, randomizado e duplo-cego para documentar a sua eficácia para tratar ou prevenir o enfisema. Até os dois novos produtos comercializados nos Estados Unidos foram aprovados na base de estudos pequenos que documentam a sua "não inferioridade" com respeito a Prolastin nos níveis de AAT circulante, no BAL e na sua segurança<sup>58</sup>.

A eficácia de Prolastin foi avaliada numa quantidade de estudos não controlados assim como num randomizado com um regime de doses não convencional e numa população pequena de pacientes. Ao começo dos 90, os Registos de (pacientes) AAT americano e alemão fixaram-se na mortalidade e grau de declive da função pulmonar dos pacientes alistados comparando os que recebiam Prolastin e aqueles que não<sup>59-60</sup>. Ambos grupos relataram de que os pacientes que recebiam Prolastin tinham um grau menor de declive da função pulmonar e uma menor mortalidade comparado com os que nunca a receberam. O grau menor de declive da função pulmonar alcançou significação estadística somente no grupo que teve a obstrucção pulmonar moderada. A equipe alemã foi mais além ao confirmar que, quando os pacientes foram usados como seus próprios controis, comparando a declinação da função pulmonar antes e depois de iniciar o tratamento com Prolastin nos mesmos indivíduos, se pode documentar uma diminuição da declinação da função pulmonar na etapa post-Prolastin, especialmente em indivíduos que tiveram rápida declinação da função pulmonar no período basal<sup>61</sup>. Um estudo adicional comparou os pacientes alemães que recebiam Prolastin com pacientes dinamarqueses que não a recebiam<sup>62</sup>. Novamente, o grupo de pacientes com obstrucção pulmonar moderada que recebia Prolastin demonstrou ter uma redução significativa da declinação da sua função pulmonar. Um estudo randomizado com 56 pacientes em Dinamarca e

Holanda amostrou tendência a uma perda menor de tecido pulmonar nos pacientes tratados com Prolastin, a julgar pela densitometria pulmonar na tomografia computada dos pulmões<sup>63</sup>. Finalmente, um estudo baseado num exame realizado por Internet sugeriu que o tratamento com Prolastin reduziu a frequência das exacerbações nos indivíduos afectados do pulmão com Deficiência de AAT<sup>64</sup>. Nenhuma das evidências acumuladas até agora tem sido o suficientemente forte como para expandir a aprovação da terapia de reposição endovenosa ao resto de Europa.

## **SURGIMENTO DE NOVOS TRATAMENTOS**

### **Vias alternativas de administração do tratamento actual**

Ainda onde está disponível, o uso actual da terapia de reposição endovenosa está limitado pelo fornecimento de droga, a falta de documentação da sua eficácia e a extremamente inconveniente forma de administração. Estas três limitações estão sendo consideradas na avaliação de vias alternativas de administração. A maioria dos estudos são focalizados na administração da droga por inalação. Houve uma resistência inicial á prosecução do desenvolvimento inalado de AAT devido a que era difícil documentar que a proteína inalada poderia chegar ao interstício pulmonar onde se achava que tinha lugar a actividade proteolítica que provocava o dano no enfisema pulmonar<sup>65</sup>. Não obstante, nos últimos anos tem-se visto que as vias aéreas dos indivíduos com Deficiência de AAT estão sob a constante artilharia inflamatória<sup>31</sup> e que a administração exógena de AAT inalada pode reconstituir a tela antiproteínase das vias respiratórias inferiores e potencialmente reduzir a inflamação<sup>65, 66</sup>. Por esta razão se renovou o interesse nesta via de administração.

Várias companhias que desenvolveram produtos para administração endovenosa produziram os agentes formulados para a administração inalada e foram provados em seres humanos. A facilidade da administração comparada com a via endovenosa é óbvia. Já que estes agentes se administram directamente aos pulmões, se requerem doses menores do que para a via endovenosa, potencialmente concedendo que a disponibilidade limitada do plasma permita tratar um maior número de pacientes. Finalmente, espera-se que estes produtos sejam avaliados em estudos clínicos de eficácia, randomizados e cegos. Desafortunadamente, no momento na qual se escreve esta revisão, ninguém tomou a iniciativa de começar tal estudo de eficácia, presumivelmente pelo custo e pelo tempo requerido para este programa clínico tão importante.

### **Fontes alternativas de terapia de reposição endovenosa**

Um outro aspecto problemático da terapia de reposição endovenosa é a fonte da droga, ou seja o plasma humano. A preocupação preliminar se refere ao limitado fornecimento desta matéria prima e á potencialidade de transmitir agentes infecciosos. Devido a estas preocupações, começaram-se a buscar fontes alternativas para a terapia de reposição. Isto deu origem ao desenvolvimento de fontes recombinantes/transgênicas da proteína AAT humana e á avaliação de inibidores sintéticos da elastase dos neutrófilos. A elaboração de AAT transgênica humana foi obtida tanto em ovelhas (PPL Therapeutics, Escocia, UK e Bayer Biologicals, West Haven, Conn., USA<sup>67</sup>) como em cabras (Genzyme, Boston, Mass, USA)<sup>68</sup>. Também se produziu AAT humana nas leveduras usando a tecnologia recombinante (Baxter Healthcare IL, USA e Arriva Pharmaceuticals, Alameda, CA, USA<sup>69</sup>). Devido a que nestas espécies se produzem anomalias de glicosilação da proteína AAT humana, a mesma se elimina muito rápidamente da circulação do ser humano fazendo a via endovenosa destas proteínas pouco prática. O produto de PPL e o obtido das leveduras foram avaliados em estudos de segurança nos seres humanos utilizando a via inalatória. Fica por saber se estes produtos são seguros e efectivos para a prevenção da destruição pulmonar.

Durante décadas utilizaram-se potentes inibidores sintéticos da elastase dos neutrófilos humanos. Alguns foram avaliados nos seres humanos, incluindo agentes administrados por via endovenosa e oral<sup>70-74</sup>. Numa tentativa de registar algum atisbo precoce de eficácia, estes agentes foram utilizados para tratar o SDRA (síndrome de distresse respiratório agudo), fibrose cística, bronquite crónica, e exacerbações da DPOC. Nenhum destes estudos deu ainda resultados o suficientemente promissórios que justifiquem embarcar-se em custosos estudos a longo prazo com o objecto de modificar a progressão do enfisema pulmonar por Deficiência de AAT.

### **Tratamentos para o enfisema pulmonar**

Se estão desenvolvendo uma quantidade de agentes para o tratamento do enfisema pulmonar devido ao cigarro. Embora estes tratamentos fossem dirigidos á população de indivíduos com DPOC, a avaliação clínica destes agentes em pacientes com Deficiência de AAT provou ser atractiva já que estes pacientes são mais jovens, têm menores complicações médicas e têm enfisema “puro”. Há vários agentes que se destacam neste grupo.

Primeiramente são os retinóides. Nos estudos que utilizaram ratos aos que se lhes induziu o enfisema com elastase se sugeriu que a administração de ácido todo-trans retinóico (*all-trans retinoic acid* o ATRA, por suas siglas em inglês) estava associada a uma reversão das mudanças enfisematosas<sup>75</sup>. Baseado nestes descobrimentos se sugeriu que o ATRA poderia estimular o crescimento de novos alvéolos nos seres humanos com enfisema. Os estudos clínicos nos humanos com enfisema têm falhado, até agora, em demonstrar melhoras apreciáveis nos índices de destruição pulmonar, mas estes estudos ainda estão em marcha<sup>76</sup>.

Outra linha de investigação foi baseada na observação que os pulmões de indivíduos com enfisema tendem a ter importantes reduções no conteúdo de ácido hialurônico<sup>77</sup>. Quando é administrado ácido hialurônico a animais, estes ficam protegidos da indução de enfisema por acção da elastase exógena<sup>78, 79</sup>. Estes descobrimentos originaram a realizar exames com ácido hialurônico inalado em indivíduos com Deficiência de AAT com a esperança de prevenir a progressão da doença pulmonar.

Finalmente, nossa compreensão de que a inactivação da AAT pode conduzir a uma perda de actividade antiproteínase, levou á consideração de fármacos com potencial antioxidante para o tratamento do enfisema por Deficiência de AAT. Em base a isto, os médicos estiveram sugerindo o uso de suplementos que contêm vitaminas A, C e/ou E e outros antioxidantes mais potentes também se estão avaliando<sup>80-82</sup>. Até agora há pouca evidência de que os indivíduos com Deficiência de AAT se beneficiem com estes tratamentos.

### **Tratamentos para o fígado**

Devido a que a maioria dos genótipos deficientes conduzem á produção de uma proteína AAT que tem uma capacidade anti-elastase neutrofílica pouco poderosa, um conceito terapêutico foi tratar de lograr a liberação da AAT aprisionada no fígado, liberando desta maneira a congestão do hepatócito e restaurando a circulação da tela antielastasa. Os candidatos mais promissórios para esta estratégia são os chaperones sintéticos e agentes moleculares que tratam de impedir a polimerização intracelular da AAT anormal.

Os chaperones sintéticos foram utilizados em doenças de transporte protéico intracelular como a fibrose cística<sup>83</sup>. O candidato mais estudado foi o ácido 4-fenil-butírico (4-PBA, por suas siglas em inglês) e foi estudado para a Deficiência de AAT em diversos centros<sup>84</sup>. Os resultados iniciais indicam que a melhoria na retenção de AAT no fígado e os incrementos nos níveis séricos desta proteína são, no melhor dos casos, modestos e que os efeitos secundários gastrointestinais limitam a dosificação deste tratamento. Apesar disto, segue-se investigando activamente nesta área.

Com a dilucidação dos mecanismos moleculares da polimerização da proteína Z no fígado, o trabalho foi focalizado para os agentes moleculares que poderam prevenir estas interacções intermoleculares e permitir a liberação de moléculas AAT monoméricas á circulação. Até agora se descreveram duas tentativas. A primeira utiliza pequenos péptidos desenhados para adaptar-se especificamente ao sítio da lâmina beta aberta da molécula anormal de AAT, onde tem lugar a interacção molecular, obstruindo desta maneira la inserção do laço inibitório de uma molécula de AAT na “lâmina” da seguinte<sup>85</sup>.

A segunda tentativa trata de localizar aminoácidos específicos situados em cavidades apropriadas da superfície da molécula de AAT e substituídos por aminoácidos mais voluminosos ou mais carregados. Esta estratégia pretende fechar directamente o ponto de inserção do “laço” modificando a conformação da molécula de AAT<sup>86</sup>.

### **Estratégias genéticas**

Devido a que a Deficiência de AAT é uma patologia produzida por mutações muito bem caracterizadas de um único gene, baralharam-se distintas opções genéticas para mitigar ou curar esta doença. Se reportaram estudos onde se inseriu o gene humano normal da AAT em células musculares ou hepáticas. Também se estudaram técnicas novissimas de reparação génica. Além disso, foi considerada a possibilidade de desenvolver agentes que possam “extinguir” ou interromper a produção do produto génico anormal.

Na Universidade de Florida foram realizados estudos em animais que lograram com êxito introduzir o gene normal humano da AAT em células do músculo estriado, utilizando um vector viral associado ao adenovirus<sup>87-88</sup>. Estes animais mantêm níveis no sangue da potencialmente terapêutica AAT humana durante vários meses<sup>89-90</sup>. Se espera que os estudos clínicos nos seres humanos comecem pronto. Em outros centros estão sendo consideradas estratégias que utilizam outros vectores e outros órgãos como branco<sup>91-92</sup>.

A clássica terapia génica que consiste em introduzir um gene normal em células de um indivíduo com uma mutação genética apresenta todavia inconvenientes no caso da Deficiência de AAT. A introdução de um gene normal não “extingue” nem interrompe a produção endógena do produto génico anormal. Então, ainda se fosse obtida uma prolongada expressão do gene normal com uma copiosa produção de AAT normal, esta estratégia não seria terapêutica para aqueles indivíduos com risco de dano hepático devido á Deficiência de AAT. Se estão considerando uma variedade de métodos para apagar a produção da AAT anormal. Estes incluem o uso de oligonucleótidos *antisense* ou antisentido e a tecnologia das ribozimas para impedir a tradução da mensagem do mRNA da proteína mutada<sup>92-95</sup>. Embora estes estudos sejam promissórios em cultivos celulares e em células animais, a eficácia destas estratégias em humanos é ainda teórica.

Mais especulativo ainda é o conceito de reparação dos genes. Esta tecnologia foi projectada inicialmente para a quimeroplastia<sup>96</sup> que é o uso de quimeras de oligonucleótidos DNA/RNA para “emendar” uma única mutação puntual. Se sintetizou o RNA complementário á área vizinha á mutação puntual com um oligonucleótido de DNA contíguo, contendo a sequência corrigida. No modelo de sistemas, as construções de quimeroplastos foram

capazes de corrigir mutações genéticas num único sítio. Embora este procedimento foi seguido com atenção pelo seu potencial para curar doenças genéticas fatais, esta tecnologia não cumpriu com o prometido em base ao seu potencial inicial. Actualmente, esta técnica de reparação de genes avançou mais além do uso de oligonucleótidos quiméricos. Oligonucleótidos de DNA descoberto, corrente simples, parecem dar melhores resultados *in vitro* e *in vivo* que os métodos descritos previamente<sup>97</sup>. Na actualidade se está contemplando o uso desta tecnologia para o tratamento da Deficiência de AAT.

As estratégias para tratar a Deficiência de AAT baseadas no uso de células-mãe (*stem cells*) estão nos começos. Se contempla a possibilidade de modificar as células-mãe de um indivíduo *ex vivo* de modo a que contenham o gene normal do AAT, para obter a sua maturação para hepatócitos e introduzir-los no fígado do indivíduo afectado<sup>98</sup>.

O estado actual dos tratamentos específicos para a Deficiência de AAT resumem-se na Tabela 1.

<b>Tabela 1</b> Tratamentos específicos para a Deficiência de $\alpha_1$ -antitripsina (AAT)	
<b>Classe Terapêutica</b>	<b>Estado de uso em humanos com Deficiência de AAT</b>
Terapia de reposição endovenosa com derivados plasmáticos	Três companhias elaboradoras com aprovação pelo menos num país. Duas companhias elaboradoras esperando aprovação.
Terapia inalatória com derivados plasmáticos	Duas companhias elaboradoras aprovaram drogas por esta via. Outras duas companhias estão considerando começar.
Terapia de reposição com produtos recombinantes/transgênicos	Tratamento endovenoso não prático. Duas companhias elaboradoras estão considerando a via inalatória.
Inibidores sintéticos da elastase	Pelo menos seis companhias desenvolveram inibidores biodisponíveis de uso oral. Ao menos quatro foram provados em humanos, nenhum deles provados actualmente em Deficiência de AAT.
Chaperones e bloqueadores da polimerização	Estudo com 4-PBA. Se estão desenvolvendo outros chaperones. Os bloqueadores da polimerização não estão todavia em estudos clínicos em humanos.
Antioxidantes	Uso empírico de vitaminas com potencial antioxidante. Candidatos terapêuticos cerca de começar estudos em humanos.
Terapias gênicas	Estudos de segurança em humanos por começar.

## CONCLUSÕES

Com a introdução da terapia de reposição endovenosa em 1987, nasceu uma grande esperança para o tratamento da Deficiência de AAT. Apesar de que é muito popular entre aqueles que tratam as doenças pulmonares associadas á Deficiência de AAT nos países onde este tratamento está aprovado, a sua eficácia ainda deve ser provada rigorosamente. Além disso, é muito cara e tem havido desabastecimento. As novas terapias de reposição, com fontes diferentes do plasma e diferentes vias de administração terão que mostrar evidências da sua eficácia antes da aprovação regulatória. Até que se disponha desta informação, estes estudos clínicos serão de longa duração e, portanto, esses produtos não estarão disponíveis durante vários anos.

Foi revisado o estado das estratégias mais inovadoras, incluindo a terapia gênica e as terapêuticas destinadas a prevenir a doença hepática associada á Deficiência de AAT. Devido a que há muitos indivíduos com Deficiência de AAT que nunca desenvolvem doença pulmonar ou hepática, para evitar os factores de risco já sabidos como a exposição ao fumo do tabaco, infecções pulmonares frequentes e exposição ocupacional ao pó e químicos, são provavelmente os tratamentos mais efectivos actualmente disponíveis<sup>99</sup>. É provável que haja outros genes

adicionais, ainda por serem identificados, que alterem a possibilidade que um indivíduo com Deficiência de AAT desenvolva ou não a doença<sup>100-101</sup>.

Entre as estratégias descritas, a maioria sé aplicada á população geral de indivíduos com doença destructiva de pulmão ou fígado. Uma grande porcentagem dos que são tratados em forma rotinária por DPOC têm Deficiência de AAT não detectada<sup>8,102</sup>. Muito do que sabemos neste momento sobre a patogênese da DPOC evolução da nossa compreensão da doença pulmonar associada á Deficiência de AAT. De maneira similar, nossa compreensão das doenças causadas pela conformação anormal de proteínas foi facilitada por estudos sobre a síntese e tráfego intracelular da molécula AAT. É razoável supor, então, que esta patologia hereditária continuará dirigindo o nosso conhecimento para novas terapêuticas para uma variedade de doenças.

#### **AFILIAÇÃO DO AUTOR**

**Dr. R. Sandhaus**, Professor em Medicina, Director do Programa Alfa-1, National Jewish Medical and Research Center, Denver, Colorado, USA

**Correspondência: Dr. R. Sandhaus**, Professor em Medicina, Director do Programa Alfa-1, National Jewish Medical and Research Center, Southside Building G106, 1400 Jackson Street, Denver, CO 80206 – USA; Correio Electrónico: rasandhaus@alphaone.org

#### **TRADUÇÃO**

Por: Amadeu Monteiro, paciente afectado com enfisema pulmonar pelo Déficit de AAT, (assistência ao paciente com DPOC) Associação Alfa-1 de Espanha

Correio electrónico: alfa1info@arrakis.es e amadeujfmonteiro@hotmail.com

Colaboração de: Sonia Iujvidin, Ph.D. Ciências Químicas, Pro-Asociación Alfa-1 de Argentina e FundDPOC (Fundação argentina de assistência ao paciente com DPOC)

Correio Electrónico: alfa1@fundepoc.or

Elaine Alfonzo, Presidenta, Fundação Alfa-1 de Porto Rico

Correio Electrónico: ealfonzo@alfa1.org

Com autorização dos autores e de BMJ Publishing Group

#### **BIBLIOGRAFIA**

1. Brantly M, Nukiwa T, Crystal RG. Molecular basis of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Am J Med* 1998; 84(Suppl 6A):13–31.
2. Kurachi K, Chandra T, Degen SJ, et al. Cloning and sequence of cDNA coding for alpha 1-antitrypsin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 6826–30.
3. Silverman GA, Bird PI, Carrell RW, et al. The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins. Evolution, mechanism of inhibition, novel functions, and a revised nomenclature. *J Biol Chem* 2001; 276:33293–6.
4. Billingsley GD, Walter MA, Hammond GL, et al. Physical mapping of four serpin genes: alpha 1-antitrypsin, alpha 1-antichymotrypsin, corticosteroidbinding globulin, and protein C inhibitor, within a 280-kb region on chromosome 14q32.1. *Am J Hum Genet* 1993; 52:343–53.
5. Laurell CB, Eriksson S. The electrophoretic alpha 1-globulin pattern of serum in alpha 1-antitrypsin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest.* 963;15:132–40
6. Sveger T. The natural history of liver disease in alpha 1-antitrypsin deficient children. *Acta Paediatr Scand* 1988; 77:847–51.
7. Mahadeva R, Lomas DA. Genetics and respiratory disease. 2. Alpha 1-antitrypsin deficiency, cirrhosis and emphysema. *Thorax* 1998; 53:501–5.
8. Lieberman J, Winter B, Sastre A. Alpha 1-antitrypsin Pi-types in 965 COPD patients. *Chest* 1986; 89:370–3.
9. Alpha 1-antitrypsin deficiency: memorandum from a WHO meeting. *Bull WHO* 1997;75: 397–415.
10. Fagerhol MK, Laurell CB. The Pi system-inherited variants of serum alpha 1-antitrypsin. *Prog Med Genet* 1970; 7:96–111.
11. Lomas DA, Evans DL, Finch JT, et al. The mechanism of Z alpha 1-antitrypsin accumulation in the liver. *Nature* 1992;357:605–7.
12. Lee JH, Brantly M. Molecular mechanisms of alpha1-antitrypsin null alleles. *Respir Med* 2000; 94(Suppl C):S7–11.
13. Beckman G, Stjernberg NL, Eklund A. Is the PiF allele of alpha 1-antitrypsin associated with pulmonary disease? *Clin Genet* 1984; 25:491–5.
14. Silverman EK, Miletich JP, Pierce JA, et al. Alpha-1-antitrypsin deficiency. High prevalence in the St Louis area determined by direct population screening. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140:961–6.
15. de Serres FJ. Worldwide racial and ethnic distribution of alpha1-antitrypsin deficiency: summary of an analysis of published genetic epidemiologic surveys. *Chest* 2002; 122:1818–29.

16. Ganrot PO, Laurell CB, Eriksson S. Obstructive lung disease and trypsin inhibitors in alpha-1-antitrypsin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest* 1967; 19:205–8.
17. Laurell CB. Is emphysema in alpha 1-antitrypsin deficiency a result of autodigestion? *Scand J Clin Lab Invest* 1971;28:1–3.
18. Sharp HL, Bridges RA, Krivit W, et al. Cirrhosis associated with alpha-1-antitrypsin deficiency: a previously unrecognized inherited disorder. *J Lab Clin Med* 1969; 73:934–9.
19. Eriksson S, Carlson J, Velez R. Risk of cirrhosis and primary liver cancer in alpha 1-antitrypsin deficiency. *N Engl J Med* 1986; 314:736–9.
20. Eriksson S. Alpha 1-antitrypsin deficiency and liver cirrhosis in adults. An analysis of 35 Swedish autopsied cases. *Acta Med Scand* 1987; 221:461–7.
21. Warter J, Storck D, Grosshans E, et al. Weber-Christian syndrome associated with an alpha-1 antitrypsin deficiency. Familial investigation (in French). *Ann Med Interne (Paris)* 1972; 123:877–82.
22. Rubinstein HM, Jaffer AM, Kudrna JC, et al. Alpha1-antitrypsin deficiency with severe panniculitis. Report of two cases. *Ann Intern Med* 1977; 86:742–4.
23. Smith KC, Pittelkow MR, Su WP. Panniculitis associated with severe alpha 1-antitrypsin deficiency. Treatment and review of the literature. *Arch Dermatol* 1987;123:1655–61.
24. O’Riordan K, Blei A, Rao MS, et al. Alpha 1-antitrypsin deficiency associated panniculitis: resolution with intravenous alpha 1-antitrypsin administration and liver transplantation. *Transplantation* 1997; 63:480–2.
25. Longstreth GF, Weitzman SA, Browning RJ, et al. Bronchiectasis and homozygous alpha-1-antitrypsin deficiency. *Chest* 1975; 67:233–5.
26. Sandford AJ, Weir TD, Pare PD. Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1997; 10:1380–91.
27. Baslund B, Szpirt W, Eriksson S, et al. Complexes between proteinase 3, alpha 1-antitrypsin and proteinase 3 anti-neutrophil cytoplasm autoantibodies: a comparison between alpha 1-antitrypsin PiZ allele carriers and non-carriers with Wegener’s granulomatosis. *Eur J Clin Invest* 1996; 26:786–92.
28. Segelmark M, Elzouki AN, Wieslander J, et al. The PiZ gene of alpha 1-antitrypsin as a determinant of outcome in PR3-ANCA-positive vasculitis. *Kidney Int* 1995; 48:844–50.
29. Gadek JE, Fells GA, Zimmerman RL, et al. Antielastases of the human alveolar structures. Implications for the protease-antiprotease theory of emphysema. *J Clin Invest* 1981; 68:889–98.
30. Janoff A. Inhibition of human granulocyte elastase by serum alpha-1-antitrypsin. *Am Rev Respir Dis* 1972;105:121–2.
31. Rouhani F, Paone G, Smith NK, et al. Lung neutrophil burden correlates with increased pro-inflammatory cytokines and decreased lung function in individuals with alpha (1)-antitrypsin deficiency. *Chest* 2000; 117:250S–1S.
32. Parmar JS, Mahadeva R, Reed BJ, et al. Polymers of alpha(1)-antitrypsin are chemotactic for human neutrophils: a new paradigm for the pathogenesis of emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26:723–30
33. Stockley RA, Bayley DL, Unsal I, et al. The effect of augmentation therapy on bronchial inflammation in alpha1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:1494–8.
34. Panyutich AV, Hiemstra PS, van Wetering S, et al. Human neutrophil defensin and serpins form complexes and inactivate each other. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 12:351–7
35. Janoff A, Sandhaus RA, Hospelhorn VD, et al. Digestion of lung proteins by human leukocyte granules in vitro. *Proc Soc Exp Biol Med* 1972; 140:516–9.
36. Werb Z, Banda MJ, McKerrow JH, et al. Elastases and elastin degradation. *J Invest Dermatol* 1982; 79(Suppl 1):154-9s.
37. Stockley RA. The role of proteinases in the pathogenesis of chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:S109–13.
38. Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, et al. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Science* 1997; 277:2002–4.
39. Kasahara Y, Tudor RM, Taraseviciene-Stewart L, et al. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest* 2000; 106:1311–9.
40. Shapiro SD. Elastolytic metalloproteinases produced by human mononuclear phagocytes. Potential roles in destructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:S160–4.
41. Elliott PR, Bilton D, Lomas DA. Lung polymers in Z alpha-1-antitrypsin deficiency-related emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 18:670–4.
42. Parfrey H, Mahadeva R, Lomas DA. a1-Antitrypsin deficiency, liver disease and emphysema. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35:1009–14.
43. Gadek JE, Fells GA, Crystal RG. Cigarette smoking induces functional antiprotease deficiency in the lower respiratory tract of humans. *Science* 1979; 206:1315–6.
44. Janoff A, Carp H, Laurent P, et al. The role of oxidative processes in emphysema. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:S31–8.
45. Campbell EJ, Senior RM, McDonald JA, et al. Proteolysis by neutrophils. Relative importance of cell-substrate contact and oxidative inactivation of proteinase inhibitors in vitro. *J Clin Invest* 1982; 70:845–52.
46. Janoff A, Carp H, Lee DK, et al. Cigarette smoke inhalation decreases alpha 1-antitrypsin activity in rat lung. *Science* 1979; 206:1313–4.

47. Carp H, Janoff A. Possible mechanisms of emphysema in smokers. In vitro suppression of serum elastase-inhibitory capacity by fresh cigarette smoke and its prevention by antioxidants. *Am Rev Respir Dis* 1978; 118:617–21.
48. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:341–57.
49. Hubbard RC, Ogushi F, Fells GA, et al. Oxidants spontaneously released by alveolar macrophages of cigarette smokers can inactivate the active site of alpha 1-antitrypsin, rendering it ineffective as an inhibitor of neutrophil elastase. *J Clin Invest* 1987; 80:1289–95.
50. Carrell RW, Lomas DA. Alpha-1-antitrypsin deficiency: a model for conformational diseases. *N Engl J Med* 2002; 346:45–53.
51. Novoradovskaya N, Lee J, Yu ZX, et al. Inhibition of intracellular degradation increases secretion of a mutant form of alpha 1-antitrypsin associated with profound deficiency. *J Clin Invest* 1998; 101:2693–701.
52. Carlson JA, Rogers BB, Sifers RN, et al. Accumulation of PiZ alpha 1-antitrypsin causes liver damage in transgenic mice. *J Clin Invest* 1989; 83:1183–90.
53. Wewers MD, Brantly ML, Casolaro MA, et al. Evaluation of tamoxifen as a therapy to augment alpha-1-antitrypsin concentrations in Z homozygous alpha-1-antitrypsin-deficient subjects. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135:401–2.
54. Wewers MD, Gadek JE, Keogh BA, et al. Evaluation of danazol therapy for patients with PiZZ alpha-1-antitrypsin deficiency. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134:476–80.
55. Wewers MD, Casolaro MA, Sellers SE, et al. Replacement therapy for alpha 1-antitrypsin deficiency associated with emphysema. *N Engl J Med* 1987; 316:1055–62.
56. Prolastin US package insert. Bayer Biologicals, West Haven, Connecticut, USA.
57. Sandhaus RA. Alpha 1-antitrypsin augmentation therapy. *Agents Actions Suppl* 1993 42:97–102.
58. Stoller JK, Rouhani F, Brantly M, et al. Biochemical efficacy and safety of a new pooled human plasma alpha (1)-antitrypsin, Respitin. *Chest* 2002; 122:66–74.
59. Wencker M, Banik N, Buhl R, et al. Long-term treatment of alpha1-antitrypsin deficiency-related pulmonary emphysema with human alpha1-antitrypsin. Wissenschaftliche Arbeitsgemeinschaft zur Therapie von Lungenerkrankungen (WATL)-alpha1-AT-study group. *Eur Respir J* 1998; 11:428–33.
60. The Alpha-1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group. Survival and FEV1 decline in individuals with severe deficiency of alpha1-antitrypsin. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:49–59.
61. Wencker M, Fuhrmann B, Banik N, et al. Longitudinal follow-up of patients with alpha(1)-protease inhibitor deficiency before and during therapy with IV alpha(1)-protease inhibitor. *Chest* 2001; 119:737–44.
62. Seersholm N, Wencker M, Banik N, et al. Does alpha1-antitrypsin augmentation therapy slow the annual decline in FEV1 in patients with severe hereditary alpha1-antitrypsin deficiency? Wissenschaftliche Arbeitsgemeinschaft zur Therapie von Lungenerkrankungen (WATL) alpha1-AT study group. *Eur Respir J* 1997; 10:2260–3.
63. Dirksen A, Dijkman JH, Madsen F, et al. A randomized clinical trial of alpha (1)-antitrypsin augmentation therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:1468–72.
64. Lieberman J. Augmentation therapy reduces frequency of lung infections in antitrypsin deficiency: a new hypothesis with supporting data. *Chest* 2000; 118:1480–5.
65. Hubbard RC, Crystal RG. Strategies for aerosol therapy of alpha 1-antitrypsin deficiency by the aerosol route. *Lung* 1990; 168(Suppl):565–78.
66. Hubbard RC, Brantly ML, Sellers SE, et al. Anti-neutrophil-elastase defenses of the lower respiratory tract in alpha 1-antitrypsin deficiency directly augmented with an aerosol of alpha 1-antitrypsin. *Ann Intern Med* 1989; 111:206–12.
67. Wright G, Carver A, Cottom D, et al. High level expression of active human alpha-1-antitrypsin in the milk of transgenic sheep. *Biotechnology (NY)* 1991;9:830–4. *Theriogenology* 1998; 49:139–44.
68. Ziomec CA. Commercialization of proteins produced in the mammary gland. *Theriogenology* 1998, 49:139-44.
69. Casolaro MA, Fells G, Wewers M, et al. Augmentation of lung antineutrophil elastase capacity with recombinant human alpha-1-antitrypsin. *J Appl Physiol* 1987; 63:2015–23.
70. Cadene M, Duranton J, North A, et al. Inhibition of neutrophil serine proteinases by suramin. *J Biol Chem* 1997; 272:9950–5.
71. Luisetti M, Sturani C, Sella D, et al. MR889, a neutrophil elastase inhibitor, in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a doubleblind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Eur Respir J* 1996; 9:1482–6.
72. Edwards PD, Bernstein PR. Synthetic inhibitors of elastase. *Med Res Rev* 1994; 14:127–94.
73. Williams JC, Falcone RC, Knee C, et al. Biologic characterization of ICI 200,880 and ICI 200,355, novel inhibitors of human neutrophil elastase. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144:875–83.
74. Kawabata K, Suzuki M, Sugitani M, et al. ONO-5046, a novel inhibitor of human neutrophil elastase. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 177:814–20.
75. Massaro GD, Massaro D. Retinoic acid treatment abrogates elastase-induced pulmonary emphysema in rats. *Nat Med* 1997; 3:675–7.

76. Mao JT, Goldin JG, Dermand J, et al. A pilot study of all-trans-retinoic acid for the treatment of human emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:718–23.
77. Konno K, Arai H, Motomiya M, et al. A biochemical study on glycosaminoglycans (mucopolysaccharides) in emphysematous and in aged lungs. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126:797–801.
78. Cantor JO, Cerreta JM, Armand G, et al. Aerosolized hyaluronic acid decreases alveolar injury induced by human neutrophil elastase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217:471–5.
79. Kanno K, Cerreta JM, Keller S, et al. Modulation of airspace enlargement in elastase-induced emphysema by intratracheal instillation of hyaluronidase and hyaluronic acid. *Exp Lung Res* 1995; 21:423–36.
80. Kinnula VL, Crapo JD. Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:1600–19.
81. Smith KR, Uyeminami DL, Kodavanti UP, et al. Inhibition of tobacco smoke-induced lung inflammation by a catalytic antioxidant. *Free Radic Biol Med* 2002; 33:1106–14.
82. Thomas CE, Ohlweiler DF, Carr AA, et al. Characterization of the radical trapping activity of a novel series of cyclic nitrene spin traps. *J Biol Chem* 1996; 271:3097–104.
83. Loffing J, Moyer BD, Reynolds D, et al. PBA increases CFTR expression but at high doses inhibits Cl(-) secretion in Calu-3 airway epithelial cells. *Am J Physiol* 1999; 277:L700–8.
84. Burrows JA, Willis LK, Perlmutter DH. Chemical chaperones mediate increased secretion of mutant alpha 1-antitrypsin (alpha 1-AT) Z: A potential pharmacological strategy for prevention of liver injury and emphysema in alpha 1-AT deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:1796–801.
85. Mahadeva R, Dafforn TR, Carrell RW, et al. 6-mer peptide selectively anneals to a pathogenic serpin conformation and blocks polymerization. Implications for the prevention of Z alpha (1)-antitrypsin-related cirrhosis. *J Biol Chem* 2002; 277:6771–4.
86. Parfrey H, Mahadeva R, Ravenhill NA, et al. Targeting a surface cavity of alpha 1-antitrypsin to prevent conformational disease. *J Biol Chem* 2003; 278:33060–33066.
87. Song S, Morgan M, Ellis T, et al. Sustained secretion of human alpha-1-antitrypsin from murine muscle transduced with adeno-associated virus vectors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:14384–8.
88. Flotte TR. Recombinant adeno-associated virus gene therapy for cystic fibrosis and alpha (1)-antitrypsin deficiency. *Chest* 2002; 121:98–102S.
89. Song S, Scott-Jorgensen M, Wang J, et al. Intramuscular administration of recombinant adeno-associated virus 2 alpha-1 antitrypsin (rAAV-SERPINA1) vectors in a nonhuman primate model: safety and immunologic aspects. *Mol Ther* 2002; 6:329–35.
90. Song S, Embury J, Laipis PJ, et al. Stable therapeutic serum levels of human alpha-1 antitrypsin (AAT) after portal vein injection of recombinant adeno-associated virus (rAAV) vectors. *Gene Ther* 2001; 8:1299–306.
91. Kay MA, Graham F, Leland F, et al. Therapeutic serum concentrations of human alpha-1-antitrypsin after adenoviral-mediated gene transfer into mouse hepatocytes. *Hepatology* 1995; 21:815–9.
92. Zern MA, Ozaki I, Duan L, et al. A novel SV40-based vector successfully transduces and expresses an alpha 1-antitrypsin ribozyme in a human hepatoma-derived cell line. *Gene Ther* 1999; 6:114–20.
93. Ozaki I, Zern MA, Liu S, et al. Ribozyme-mediated specific gene replacement of the alpha 1-antitrypsin gene in human hepatoma cells. *J Hepatol* 1999; 31:53–60.
94. Hu C, Perlmutter DH. Regulation of alpha 1-antitrypsin gene expression in human intestinal epithelial cell line caco-2 by HNF-1alpha and HNF-4. *Am J Physiol* 1999; 276:G1181–94.
95. Scobie G, Jasani B, Kalsheker N. Non-specific effects of anti-sense oligonucleotides on alpha-1-antitrypsin expression in Cos cells transfected with alpha-1-antitrypsin cDNA constructs. *Biochem Soc Trans* 1992; 20:319S.
96. Cole-Strauss A, Gamper H, Holloman WK, et al. Targeted gene repair directed by the chimeric RNA/DNA oligonucleotide in a mammalian cellfree extract. *Nucleic Acids Res* 1999; 27:1323–30.
97. Agarwal S, Gamper HB, Kmiec EB. Nucleotide replacement at two sites can be directed by modified single-stranded oligonucleotides in vitro and in vivo. *Biomol Eng* 2003; 20:7–20.
98. Dominguez-Bendala J, Ricordi C. Stem cell therapies in reparative medicine. *Cell Transplant* 2003; 12:329–34.
99. Mayer AS, Stoller JK, Bucher Bartelson B, et al. Occupational exposure risks in individuals with PI\*Z alpha (1)-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:553–8.
100. Silverman EK, Chapman HA, Drazen JM, et al. Genetic epidemiology of severe, early-onset chronic obstructive pulmonary disease. Risk to relatives for airflow obstruction and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1770–8.
101. Barnes PJ. Genetics and pulmonary medicine. 9: Molecular genetics of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54:245–52.
102. Lieberman J. Heterozygous and homozygous alpha-antitrypsin deficiency in patients with pulmonary emphysema. *N Engl J Med* 1969; 281:279–84.