



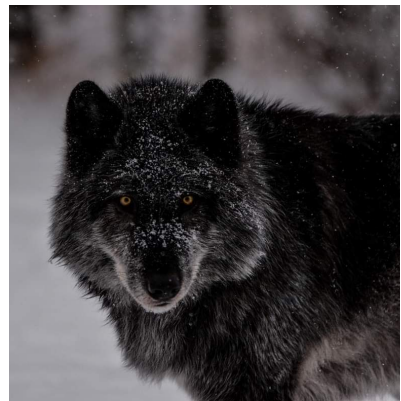
ULPGC
Universidad de
Las Palmas de
Gran Canaria

**ESTUDIO DE ALFA-1
ANTITRIPSINA EN
PACIENTES ASMÁTICOS
ALÉRGICOS A ÁCAROS DE
POLVO DOMÉSTICO EN EL
ÁREA NORTE DE GRAN
CANARIA**

Tesis doctoral

Isadora Suárez-Lorenzo
Las Palmas de Gran Canaria, 2022

Dedicado a Amelia y Lucas



“He aquí los ingredientes del éxito en todo su esplendor: pasión, talento y esfuerzo”
Malcon Gladwell

AGRADECIMIENTOS

El origen de este trabajo comenzó durante mis años de residencia en el HUGCDN, donde se me ofreció la oportunidad de elaborar esta tesis. Por lo que, el mayor de mis agradecimientos va dirigido a mi directora (Teresa Carrillo) y codirector (Carlos Rodríguez), por el esfuerzo, tiempo y cariño que me han dedicado, y sin los cuales este proyecto no hubiera salido adelante.

Desde el punto de vista profesional, necesito dar las gracias profundamente a todos los antiguos compañeros alergólogos del HUGDN (Rodolfo Castillo, José Cumplido, Antonio G. Dumpierrez, Nancy Ortega y, sobre todo David Cruz) que me han ayudado a recopilar los pacientes. Me gustaría hacer mención especial a Lourdes Almeida como mi tutora que, no solo me ha guiado durante la residencia, sino que me ha tratado con el afecto y disciplina que te da una madre. Gracias a las que fueron mis compañeros de residencia: Elena, David, Ría y Pilar, con las cuales llegué a formar muy buen equipo a pesar de ser pocos. Obviamente este viaje no hubiera sido posible sin las incansables enfermeras (Nuria, Elizabeth, Teresa, Conchi, Esther, Blanca), auxiliares (Carmen, Luisa, Noelia) y administrativas (Nereida y Gloria). Mención especial a Gloria que me ayudó a avanzar más rápido con las fichas de los pacientes. También necesito dar las gracias a todos los técnicos de laboratorio de Inmunología, fundamentalmente Ana, Yanira y Nereida, que me ayudaron a procesar los datos y las muestras. Gracias a las biólogas Fanny y Marta que me ilustraron con su sabiduría en el mundo de la investigación, las bases de datos y recursos múltiples que desconocía.

Desde el punto de vista personal, necesito comenzar con agradecer a mis padres (José e Isidora) que han hecho posible que pudiera completar mis estudios sin pedir nada a cambio y que, junto con mi hermano (José Manuel), me han empujado en los momentos de debilidad y desánimo. Y no puedo terminar esta página de agradecimiento sin mencionar a mi compañero de vida, de viaje, mi media mitad y mi referente, Alejandro Peiró, que ha vivido este duro trabajo desde el inicio, que me ha permitido sacar tiempo para que fuera posible, que me ha empujado una y otra vez cuando todo parecía perdido y que me ha enseñado que los sueños son posibles con esfuerzo, ganas y dedicación. Gracias también por haber hecho posible empezar una nueva familia y crear a mis dos amores: Amelia y Lucas que han aparecido en mi vida durante este tiempo de elaboración de la tesis.

¡Muchas gracias a todos!

LISTA DE PUBLICACIONES

La presente tesis doctoral, con título “ESTUDIO DE ALFA-1 ANTITRIPSINA EN PACIENTES ASMÁTICOS ALÉRGICOS A ÁCAROS DE POLVO DOMÉSTICO EN EL ÁREA NORTE DE GRAN CANARIA”, de acuerdo con el informe correspondiente, autorizado por los directores de Tesis y el Órgano Responsable del Programa de Doctorado, se presenta como un compendio de tres trabajos previamente publicados.

Las referencias completas de los artículos que constituyen el cuerpo de la tesis son los siguientes, detallándose el nombre y afiliación de cada uno de los autores, la referencia completa de la revista o editorial y el DOI de cada uno de ellos

I.- Primera publicación

*Título: Epidemiological Study of the Allergic Population in the North of Gran Canaria

*Autores (P.O. de firma): Isadora Suárez-Lorenzo¹, David Cruz-Niesvaara², Carlos Rodríguez-Gallego³, Felipe Rodríguez de Castro⁴, Teresa Carrillo-Díaz⁵

*Afiliaciones:

1. Programa Doctorado Biomedicina, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.
2. Servicio de Alergología, Hospital General de Fuerteventura, España.
3. Servicio Inmunología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, España.
4. Servicio Neumología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, España.
5. Servicio Alergología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, España.

*Datos publicación: Investig Allergol Clin Immunol 2018; Vol. 28(3): XX-XX doi: 10.18176/jiaci.0253. Factor impacto (JCR-2018): 3,802. Posición 12/27 Alergología (Q2)

II.- Segunda publicación

*Título: Alpha 1 antitrypsin distribution in an allergic asthmatic population sensitized to house dust mites.

*Autores (P.O. de firma): Isadora Suárez-Lorenzo¹, Felipe Rodríguez de Castro², David Cruz-Niesvaara³, Estefanía Herrera Ramos⁴, Carlos Rodríguez-Gallego⁴, Teresa Carrillo-Díaz⁵

*Afiliaciones:

1. Programa Doctorado Biomedicina, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.
2. Servicio Neumología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, España.
3. Servicio de Alergología, Hospital General de Fuerteventura, España.
4. Servicio Inmunología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, España.
5. Servicio Alergología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, España.

*Datos publicación: Suárez-Lorenzo et al. Clin Transl Allergy (2018) 8:44 <https://doi.org/10.1186/s13601-018-0231-x>. Factor impacto (JCR-2018): 4,232. Posición 9/27 Alergología (Q2)

III.- Tercera publicación

*Título: Alpha-1 antitrypsin deficiency hidden in allegedly normal variants

*Autores (P.O. de firma): Isadora Suárez-Lorenzo¹, Elisa Hernández-Brito²³, Lourdes Almeida-Quintana⁴, Cesar García-de Llanos⁵, Nereida González-Quevedo³, Teresa Carrillo-Díaz⁴, Carlos Rodríguez-Gallego³

*Afiliaciones:

1. Programa Doctorado Biomedicina, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.
2. Departamento Ciencias médico y quirúrgicas, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.
3. Servicio Inmunología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, España.
4. Servicio Alergología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, España.
5. Servicio Neumología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, España.

*Datos publicación: J Asthma 2021 Jul 13;1-4. doi: 10.1080/02770903.2021.1944186. Factor impacto (JCR-2020): 2,515. Posición 21/28 Alergología (Q3)

INDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	19
LISTA DE FIGURAS	21
LISTA DE TABLAS	22
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	25
▪ PECULIARIDADES DE LA POBLACIÓN DE GRAN CANARIA	25
▪ ÁCAROS DEL POLVO	26
▪ RELEVANCIA ASMA ALÉRGICO EN CANARIAS	32
▪ DÉFICIT ALFA-1 ANTITRIPSINA	32
▪ PAPEL DE LA ALFA-1 ANTITRIPSINA A NIVEL BRONQUIAL	36
▪ VARIANTES RARAS DE LA ALFA-1 ANTITRIPSINA	37
II. HIPÓTESIS	43
III. OBJETIVOS	47
IV. CAPITULO I	
▪ OBJETIVOS	51
▪ MATERIAL Y MÉTODOS	51
▪ RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
▪ CONCLUSIONES	56
V. CAPITULO II	
▪ OBJETIVOS	59
▪ MATERIAL Y MÉTODOS	59
▪ RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
▪ CONCLUSIONES	68
VI. CAPITULO III	
▪ OBJETIVOS	73
▪ MATERIAL Y MÉTODOS	73
▪ RESULTADOS Y DISCUSIÓN	73
▪ CONCLUSIONES	76
VII. CONCLUSIONES FINALES	79
VII. BIBLIOGRAFÍA	83
VIII. ANEXOS	
▪ HOJA RECOGIDA DE DATOS	97
▪ PRIMERA PUBLICACIÓN	98
▪ SEGUNDA PUBLICACIÓN	101
▪ TERCERA PUBLICACIÓN	109

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	grados Celsius
AAT	alfa-1 antitripsina
ADAM17	ADAM metalopeptidasa del dominio 17
ATS	American Thoracic Society
<i>B. trop.</i>	<i>Blomia tropicalis</i>
CCL17	quimioquina (<i>C-C motif</i>) <i>ligando 17</i>
CD ₄	cluster de diferenciación 4
CVF	capacidad vital forzada
CXCR1	receptor de quimiocina tipo 1
<i>D. pte.</i>	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
Der p 1	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> grupo 1
<i>D. far.</i>	<i>Dermatophagoides farinae</i>
Der f 1	<i>Dermatophagoides farinae</i> grupo 1
DAAT	déficit de alfa-1 antitripsina
DSAAT	déficit severo de alfa-1 antitripsina
DT	desviación típica
<i>E. may.</i>	<i>Euroglyphus maynei</i>
ELISA	ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas
EN	elastasa de neutrófilo
EPOC	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
ERS	European Respiratory Society
FcεR1	receptor de IgE de alta afinidad
FcγRIIIb	receptor de IgG de baja afinidad IIIB
FENO	fracción exhalada de óxido nítrico
GEMA	Guía Española del Manejo del Asma
HUGCDN	Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín
ICS	siglas en inglés de corticoide inhalado
IgA	inmunoglobulina A
IgE	inmunoglobulina E
IgEt	inmunoglobulina E total
sIgE	inmunoglobulina E específica
IL-4	interleucina 4
IL-5	interleucina 5
IL-8	interleucina 8
IL-9	interleucina 9
IL-13	interleucina 13
IL-24	interleucina 24
IL-25	interleucina 25
IL-33	interleucina 33
ILC ₂	células linfocíticas innatas tipo 2
kD	kilodalton
<i>L. des.</i>	<i>Lepidoglyphus destructor</i>
LABA	siglas en inglés de β ₂ agonista de acción larga, "long acting beta agonist"
LPS	lipopolisacáridos
LTP	siglas en inglés de proteína transportadora de lípidos, "lipid transfer protein"
MD-2	proteína de diferenciación mielocítica
OMS	Organización Mundial de la Salud

PAR2	siglas en inglés de receptor de proteinasa 2, “proteinase activated receptor 2”
PRRs	siglas en inglés de receptores de reconocimiento de patrones, “pattern recognition receptors”
PR3	proteinasa 3
PT	prick test
RCL	siglas en inglés de bucle central reactivo, “reactive central loop”
REDAAT	Registro Español de DAAT
RI	rango intercuartílico
RT- PCR	siglas en inglés de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real, “real time - polymerase chain reaction”
SNV	siglas en inglés de variantes en un único nucleótido o “single nucleotide variants”
<i>T. put</i>	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>
TAC	tomografía axial computarizada
Th ₂	linfocitos colaboradores tipo 2, “T helper 2”
TLR-2	siglas en inglés de receptores tipo toll 2, “toll like receptor 2”
TLR-4	siglas en inglés de receptores tipo toll 4, “toll like receptor 4”
TSLP	linfopoyetina estromal tímica
UI	unidad internacional
VEMS	volumen espiratorio máximo en el primer segundo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: a) climograma de Las Palmas de Gran Canaria en 2012 b) Diagrama de temperatura y humedad provincia de Las Palmas.

Figura 2: a) localización geográfica de las Islas Canarias b) Imagen en color del 28 de abril de 2010 mostrando el polvo en suspensión sobre Canarias, fundamentalmente Gran Canaria, según satélite Suomi NPP. NASA.

Figura 3: porcentaje de muestras positivas para los diferentes ácaros en la comunidad de Canarias (A) y en la isla de Gran Canaria (B). Las imágenes han sido añadidas con el permiso de laboratorios LETI Pharma.

Figura 4: vías de entrada de alérgenos en el epitelio respiratorio. Imagen no original obtenida de Gandhi VD et al., 2013.

Figura 5: visión esquemática de activación sistema inmunitario adaptativo bronquial. Imagen no original obtenida de Kubo M., 2017.

Figura 6: visión esquemática de la activación del sistema inmunitario innato bronquial. Imagen no original obtenida de Kubo M., 2017.

Figura 7: visión esquemática de interacción entre la activación de sistema inmunitario y adaptativo. Imagen no original obtenida de Kubo M., 2017.

Figura 8: imagen de la estructura de AAT. Imagen no original obtenida de Wood AM y Stockley RA, 2007.

Figura 9: gen SERPINA1. Imagen no original obtenida de Foil KE., 2021.

Figura 10: herencia autosómica del gen SERPINA1. Se presentan 4 ejemplos de posible herencia: (a) "normal" con heterocigosis PI*MZ (b) "normal" con homocigosis PI*ZZ (c) ambos con heterocigosis PI*MZ (d) heterocigosis PI*MZ con homocigosis PI*ZZ. Imagen no original obtenida de Foil KE., 2021.

Figura 11: gráfica comparativa de los niveles de AAT entre los diferentes genotipos AAT.

Figura 12: genograma familiares directos del paciente 5.

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1:** valores de normalidad de AAT suero según el genotipo PI* presente.
- Tabla 2:** algunas de las mutaciones descritas de alelo deficitario de AAT.
- Tabla 3:** algunas de las mutaciones descritas de alelo nulo de AAT.
- Tabla 4:** datos demográficos comparativos entre el estudio actual y “Alergológica 2015” – CAPITULO I.
- Tabla 5:** pruebas complementarias in vivo e in vitro realizadas a la población de estudio – CAPITULO I.
- Tabla 6:** comparación de frecuencia de pruebas complementarias positivas en diferentes grupos de estudio en población canaria – CAPITULO I.
- Tabla 7:** proporción de las diferentes patologías alérgicas encontradas en nuestros pacientes y su comparación con “Alergológica 2015” – CAPITULO I.
- Tabla 8:** características clínicas y demográficas de todos los grados de severidad de asma – CAPITULO II.
- Tabla 9:** función respiratoria y resultados analítica de todos los grupos de severidad de asma – CAPITULO II.
- Tabla 10:** comparación de la proporción de los diferentes genotipos AAT en nuestra población y otras descritas previamente – CAPITULO II.
- Tabla 11:** características clínicas y demográficas de los genotipos deficientes AAT – CAPITULO II.
- Tabla 12:** pruebas de función respiratoria y análisis de laboratorio de los diferentes genotipos de AAT – CAPITULO II.
- Tabla 13:** comparación de eosinófilos en sangre y en citología nasal entre el genotipo PI*MS y los otros genotipos – CAPITULO II.
- Tabla 14:** correlación entre los niveles séricos de AAT y valores de función respiratoria – CAPITULO II.
- Tabla 15:** estudio de riesgo de desarrollo de asma persistente severo en todos los genotipos AAT, el DSAAT y el DAAT– CAPITULO II.
- Tabla 16:** información clínica y analítica de los cinco pacientes portadores de la mutación Mmalton– CAPITULO III.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1.- PECULIARIDADES DE LA POBLACIÓN GRAN CANARIA

Gran Canaria es una de ocho islas volcánicas situadas cerca del noroeste de África constituyendo un archipiélago en medio del Océano Atlántico. Aunque su origen es motivo de polémica, una de las teorías más aceptadas sobre su formación es el denominado “modelo de punto caliente” que se basa en el ascenso de material caliente con formación de magmatismo y creación de las diferentes islas en 4 etapas: etapa submarina, escudo invertido, etapa de reposo eruptivo y etapa de rejuvenecimiento volcánico (1).

En el caso particular de Gran Canaria, se encontraría en una fase de desmantelamiento mayor que Tenerife, pero conservando aún una altura máxima central de 1949 m (correspondiente al Pico de Las Nieves). Esto implica que, en una superficie de 1560km², se alcanza una altura de casi 2000m en la zona central de la isla, generando una desigualdad en la altitud, con disposición radial de barrancos; todo ello modifica la nubosidad, las lluvias y las temperaturas, creando lo que se denomina “microclimas”, con cambios bruscos de la climatología en escasos kilómetros de distancia y pasando de la suavidad térmica a nivel del mar, humedad en valles orientados al norte, aridez en el sur de la isla y mar de nubes en medianías expuestas a los vientos alisios (2). Existen, por tanto, varios tipos de climas en las islas Canarias, pero los más comunes son: climas calientes de desierto, semiáridos calientes y mediterráneo de verano cálido. En Gran Canaria, concretamente, el clima predominante es el primero de ellos y en la capital de la isla la temperatura media anual es de 20.7°C con una precipitación anual media de 160mm y un porcentaje de humedad que fluctúa entre 70 y 77% como podemos ver en las Figuras 1a y 1b (3,4).

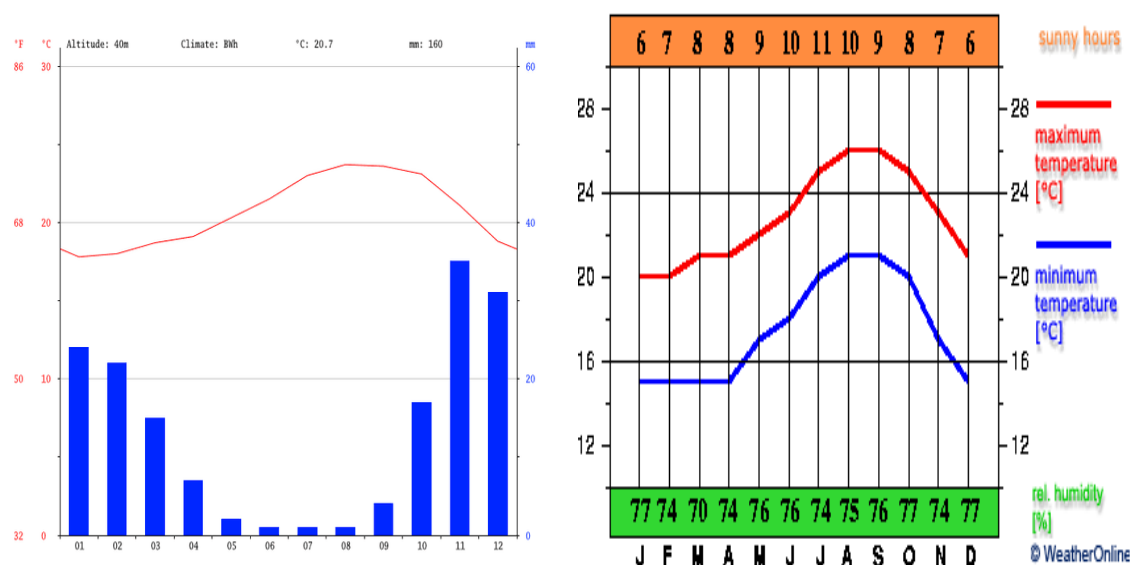


Figura 1a: Climograma de Las Palmas de Gran Canaria en 2012. 1b: Diagrama de temperatura y humedad provincia de Las Palmas.

Estas condiciones climáticas, como se verá a continuación, convierten al archipiélago canario en un lugar ideal para para el crecimiento y reproducción de ácaros, junto a la producción masiva de sus alérgenos.

Además, el archipiélago canario se encuentra próximo a las costas africanas, frente a Marruecos y el Sahara Occidental (figura 2a). Ello implica que las islas están expuestas,

aproximadamente un tercio del año, a la llegada de polvo del desierto como se puede observar en la Figura 2b y, aunque aún no se haya podido demostrar la relación directa de partículas de polvo en el ambiente con la mayor predisposición a padecer asma, sí que se ha demostrado que produce un aumento persistente de las temperaturas en las Islas Canarias y, por lo tanto, de manera indirecta podría favorecer la presencia de patología respiratoria (5).

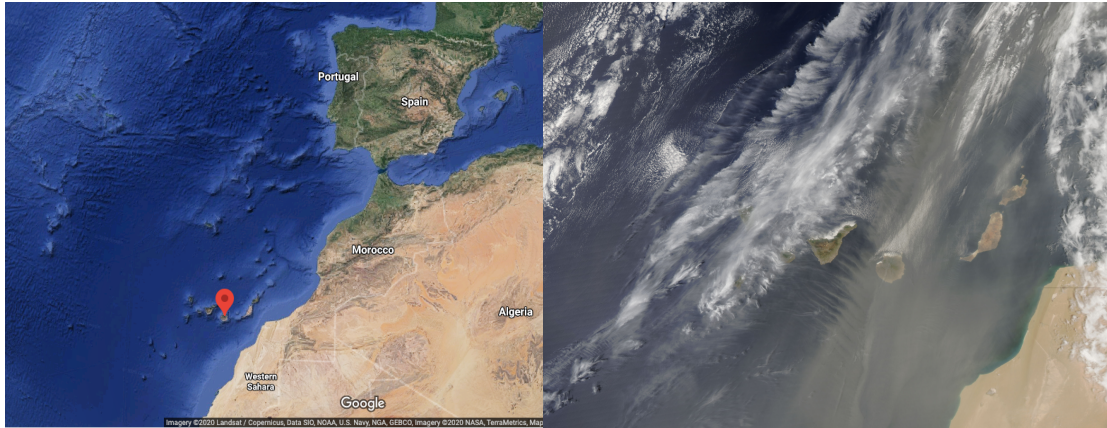


Figura 2a: localización geográfica de las Islas Canarias. **2b:** Imagen en color del 28 de abril de 2010 mostrando el polvo en suspensión sobre Canarias, fundamentalmente Gran Canaria, según satélite Suomi NPP. NASA.

La suma de las condiciones ambientales de alta temperatura y humedad, con partículas de polvo en suspensión varias veces al año, favorece que sea un lugar propenso al desarrollo de asma alérgico, fundamentalmente a ácaros del polvo (6–8).

2.- ÁCAROS DEL POLVO

Los ácaros son, desde el punto de vista taxonómico, arácnidos microscópicos que pertenecen a la subclase “Astigmata” y son los principales responsables de inducir reacciones mediadas por inmunoglobulina E (IgE). Los más frecuentes van a ser *Dermatophagoides pteronyssinus* (*D. pte.*), *Dermatophagoides farinae* (*D. far.*), *Euroglyphus maynei* (*E. may.*) y, en zonas tropicales y semitropicales, también *Blomia tropicalis* (*B. tro.*).

Tienen una vida media de 65 a 100 días y su supervivencia está estrechamente relacionada con la temperatura y la humedad ambiental, fundamentalmente ésta última:

***Humedad:** la proliferación máxima de ácaros tiene lugar con una humedad relativa del 75%; por debajo de dicho valor, se produce un descenso en la alimentación, reproducción y producción de alérgenos. Por debajo del 50% de humedad de manera constante, se produce una deshidratación de los ácaros adultos y finalmente su muerte.

***Temperatura:** de forma similar, el metabolismo, reproducción y producción alérgica, se verán afectados por la temperatura. Sin embargo, en esta ocasión, el rango de temperatura es mucho más amplio y variará dependiendo de la especie. Tomando como ejemplo el ácaro más estudiado, *D. pte.*, el aumento de la temperatura producirá un descenso de la reproducción y destrucción total de ácaros y huevos a los 50°C. En cuanto a temperaturas frías, por debajo de 3°C se inmovilizan, a -17°C mueren los ácaros adultos y se precisa de temperaturas inferiores a -70°C para destruir los huevos. En situaciones de cultivo estudiadas previamente, se estima que la temperatura ideal es 25±2°C con disminución del crecimiento bajo -10°C y por encima de 35°C (9,10).

La distribución de los diferentes ácaros en el territorio español es una información de la que se dispone a partir del año 2000, gracias a un estudio realizado por una muestra representativa de diferentes servicios de Alergología de todo el país y financiado por los Laboratorios LETI Pharma, que permitió elaborar el mapa acarológico de España cuyos datos se pueden ver en las Figuras 3a y 3b. En ellas se reflejan los porcentajes de muestras positivas obtenidas en los colchones de pacientes con sintomatología alérgica para los diferentes ácaros presentes (11). Basándonos en estos datos, los ácaros más comunes en Canarias son: *D. pte* (88%), *D. far* (39,8%) y *B. tro* (20,8%). Sin embargo, también es posible encontrar, aunque en menor medida, *Tyrophagus putrescentiae* (*T. put.*) y *Lepidoglyphus destructor* (*L. des.*) en el 7.6% y 4.7% respectivamente. Estos datos, aunque varían ligeramente entre islas, se puede observar que, en el caso concreto de Gran Canaria, la frecuencia es muy similar: *D. pte* (93,9%), *D. far* (31,8%) y *B. tro* (19,6%) (11).

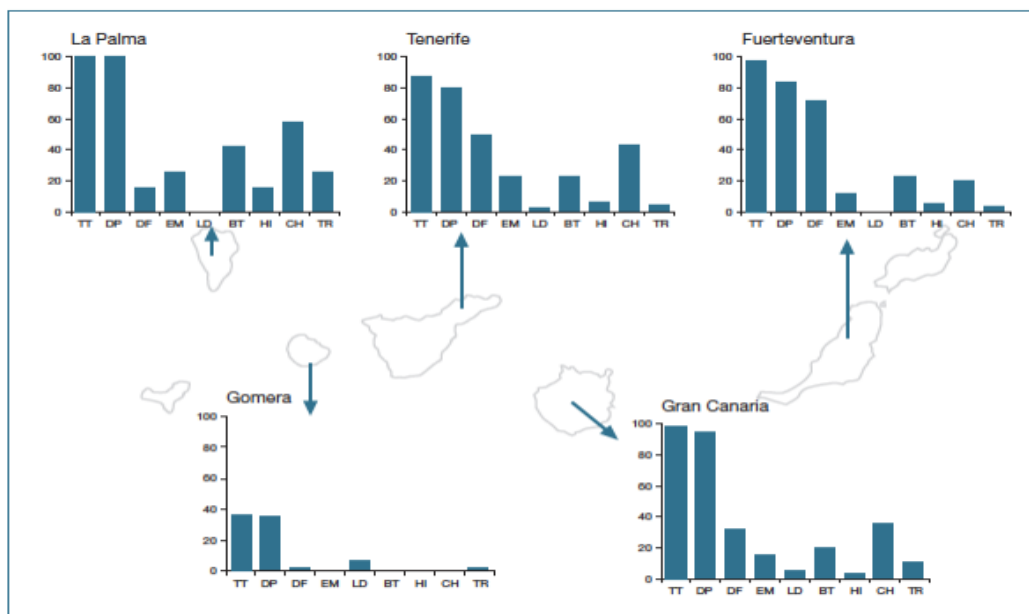
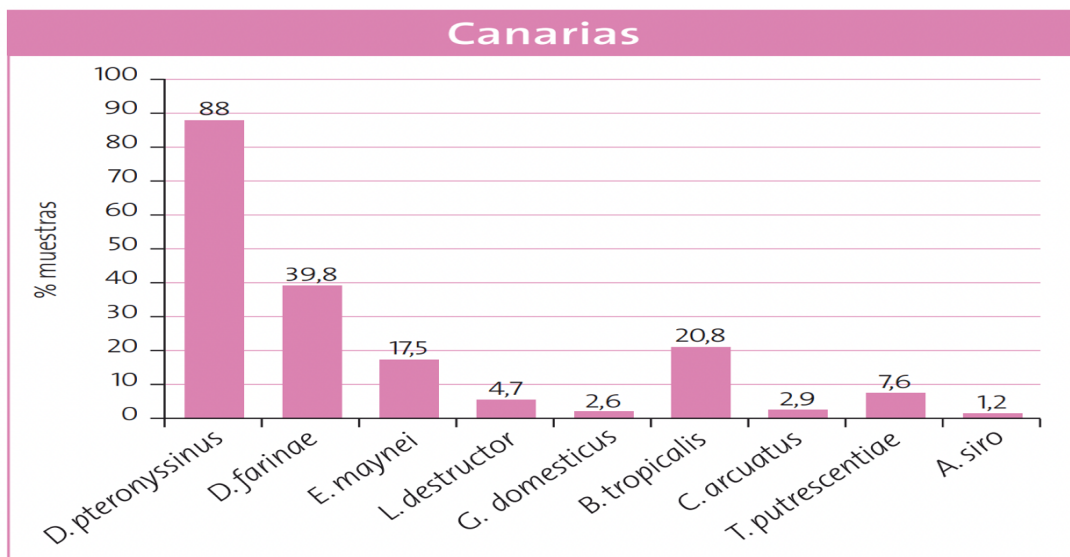


Figura 9-1. Histograma (porcentaje de aparición) de las principales especies de ácaros por isla. TT: número total de ácaros; DP: *D. pteronyssinus*; DF: *D. farinae*; EM: *E. maynei*; LD: *L. destructor*; BT: *B. tropicalis*; HI: *Histioglyphus*; CH: *Cheyletus*; TR: *Tarsonemus*.

Figura 3: porcentaje de muestras positivas para los diferentes ácaros en la comunidad de Canarias (A) y en la isla de Gran Canaria (B). Las imágenes han sido añadidas con el permiso de laboratorios LETI Pharma (11).

A nivel molecular, se han identificado hasta la fecha, un total de 38 alérgenos en los ácaros del polvo; de ellos, se consideran antígenos mayores los grupos 1 y 2 de las especies *D. pte.* (Der p1 y Der p2) y *D. far.* (Der f1 y Der f2) ya que son reconocidos por la inmunoglobulina E total (IgEt) de más del 70% de pacientes alérgicos a ácaros del polvo (6,12). Sin embargo, recientemente, se ha identificado a Der p23, una peritrofina, como otro alérgeno mayor de *D. pte.* (13,14). Dichos alérgenos mayores van a localizarse en las heces de los ácaros, fundamentalmente las proteasas de cisteína pertenecientes al grupo 1 que se localizan en lumen intestinal. Aunque en menor proporción, y tomando siempre como referencia el *D. pte.*, también es posible identificar otros alérgenos en restos fecales como Der p15, Der p6, Der p2, Der p3 y Der p9 que, a día de hoy, son considerados alérgenos menores (15).

Es importante tener en cuenta que los alérgenos de grupo 1 de los ácaros del polvo son miembros de la familia C1 de las proteasas de cisteína, pertenecientes al grupo de superfamilia de proteasas CA. De esta manera, igual que los prototipos de familia C1, papaína y catepsinas B, K y S, sus estructuras se caracterizan por 2 dominios globulares separados de una hendidura catalítica que contiene los siguientes residuos de aminoácidos: "C₁₁₄, H₂₅₀, and N₂₇₀". Sin embargo, los alérgenos del grupo 1 de los ácaros, se consideran un subgrupo dentro de esta familia debido a diferencias estructurales y funcionales en su predominio. Si tomamos Der p1 como ejemplo del grupo 1 de ácaros doméstico, la forma inactiva de esta proteína permanece enzimáticamente latente y, por lo tanto, es menos inmunogénica que la forma madura.

Hay que tener en cuenta, también, que los alérgenos de los ácaros del grupo 1 impulsan mediante su actividad enzimática, una serie de mecanismos inmunológicos innatos que influirán, no solo en el desarrollo de enfermedad, sino también en la progresión de ésta (16). Estos mecanismos celulares del sistema inmunológico innato se han descrito con frecuencia en relación a los ácaros del polvo, no estando tan clara su activación ante otros aeroalérgenos como los pólenes (17). De este modo, los alérgenos son inhalados junto a productos derivados de bacterias tales como liposacáridos (LPS) que actuarían como coadyuvantes y que permitirán la entrada de los alérgenos.

El epitelio respiratorio expresa una serie de receptores de reconocimiento de patrones (PRRs - pattern recognition receptors) que permitirán la entrada y mediarán en la respuesta inmunológica pulmonar como puede observarse en la figura 4. Los componentes de los ácaros del polvo podrán acceder e interactuar con el epitelio respiratorio por diferentes vías:

- Rotura de las uniones proteicas entre células epiteliales (zonula occludens-1, ocludina, cadherinas)
- Activación de receptor de proteinasa 2 (PAR2 – proteinase activated receptor 2)
- Unión de LPS a receptores tipo toll 4 (TLR-4)
- Unión de β -glucanos, fracciones fúngicas del tracto gastrointestinal de los ácaros, a receptor dectina-1 o receptores tipo toll 2 (TLR-2) (18,19)

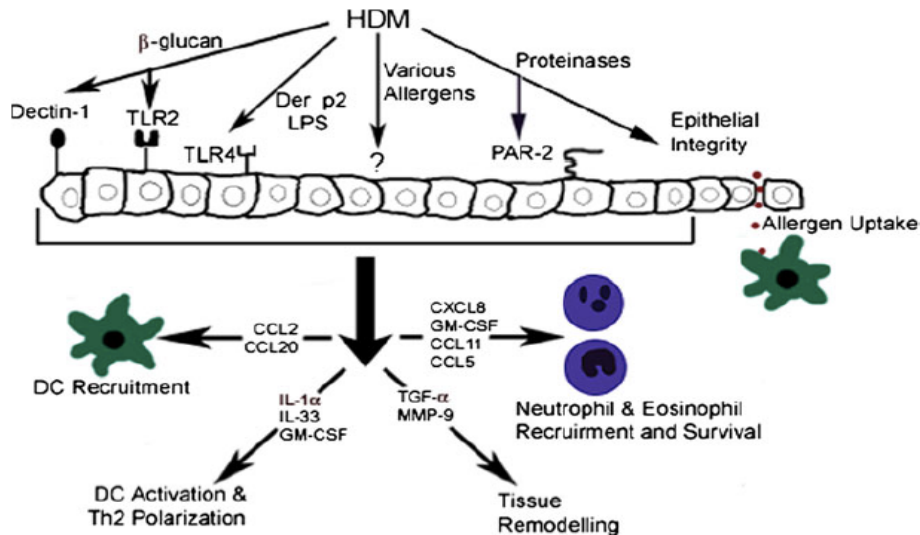


Figura 4: vías de entrada de alérgenos en el epitelio respiratorio. Imagen no original obtenida de Gandhi VD et al., 2013 (18)

Por lo tanto, basándonos en modelos murinos de asma, tras la inhalación de productos fecales de ácaros, los alérgenos comentados previamente, Der p1 fundamentalmente, se acumulan en la superficie del epitelio respiratorio humano activando una serie de reacciones inmunológicas a nivel del sistema inmunitario innato y del sistema inmunitario adaptativo.

Por un lado, como puede observarse en la figura 5, los alérgenos son internalizados por células dendríticas, las cuales son células presentadoras de antígenos que, tras procesar la proteína, presentarán los péptidos en el contexto de las moléculas de histocompatibilidad de clase II a los linfocitos T CD4. Esta activación, promueve la diferenciación preferente de linfocitos T CD4 vírgenes a linfocitos T CD4 colaboradores tipo 2 (T helper 2, Th₂). Esta respuesta Th₂ es, a su vez, regulada por varias citoquinas (IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13). La IL-4 se encargará de promover la producción de IgE específica (sIgE) frente al alérgeno, con el que los linfocitos B han estado previamente en contacto. Estos anticuerpos IgE específicos se unirán a los receptores de alta afinidad “Fcε receptor 1 – FcεR1” de basófilos y mastocitos, activándolos e induciendo liberación de componentes de los gránulos, fundamentalmente histamina. La presencia de dichos anticuerpos podrá ser detectada midiendo sus niveles en suero por diversas técnicas, entre ellas los ensayos tipo «sándwich» en fase sólida, como el ImmunoCap (Phadia, Suecia), o bien mediante prueba cutánea intraepidérmica midiendo la reacción a dicho alérgeno (20). Ambas pruebas complementarias serán aplicadas a nuestra población más adelante. A su vez, las IL-5 e IL-9 secretadas, producirán eosinofilia e incremento del número de mastocitos, y la IL-13 aumentará la proliferación de células caliciformes y la producción de moco y de mucina (21).

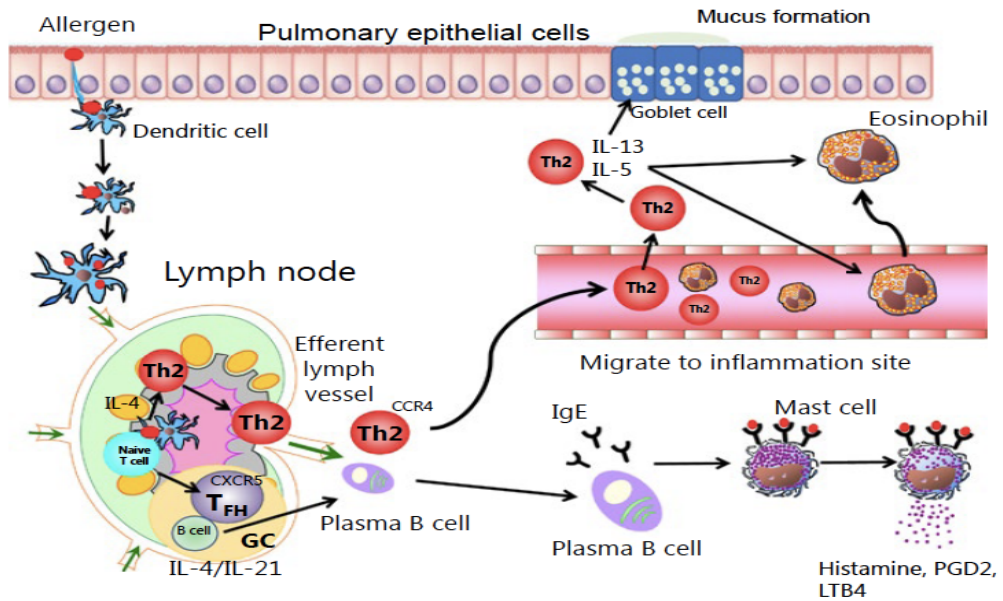


Figura 5: visión esquemática de activación sistema inmunitario adaptativo bronquial. Imagen no original obtenida de Kubo M., 2017 (21).

Por otro lado, tal y como se muestra en la figura 6, a nivel bronquial también participarán células del sistema inmune innato como las células linfocíticas innatas (ILC₂), eosinófilos y basófilos que son activadas, en este caso, por las proteasas de los ácaros del polvo. En primer lugar, las proteasas romperán las uniones proteicas (zónula ocludens-1, ocludina, cadherinas) que facilitarán el acceso de los alérgenos de ácaros del polvo y el contacto con células del sistema inmunológico del tejido subepitelial (ILC₂ y células dendríticas como vimos anteriormente). El estrés que supone la rotura de dichas barreras, favorecerá el incremento de la síntesis y la liberación de una serie de citoquinas asociadas a daño como pueden ser IL-25, IL-33 y la linfopoyetina estromal tímica (TSLP) que provocarán hiperreactividad bronquial, eosinofilia y producción de moco sin la necesidad de la presencia de linfocitos B ni T (21).

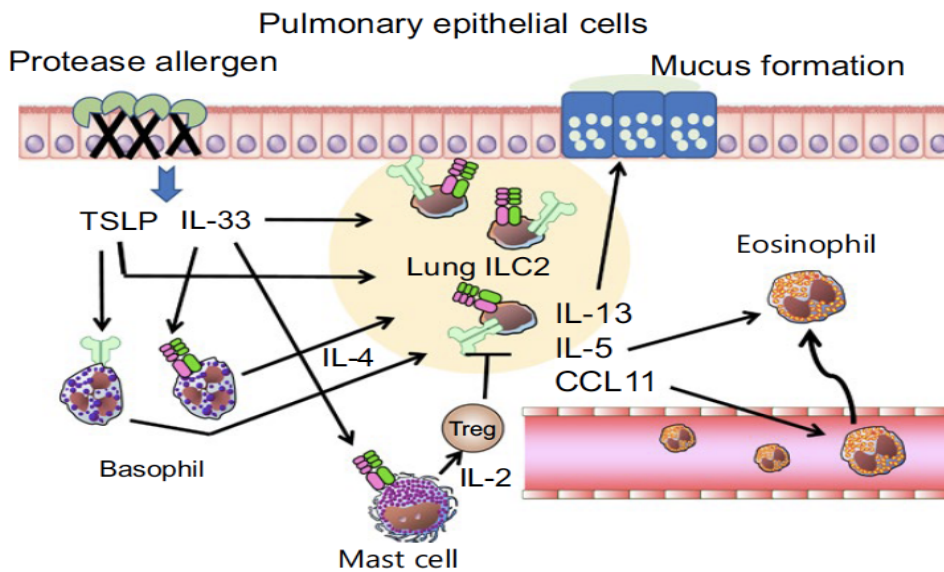


Figura 6: visión esquemática de la activación del sistema inmunitario innato bronquial. Imagen no original obtenida de Kubo M., 2017 (21)

Sin embargo, estas respuestas inmunológicas no se producen de manera independiente ya que, como se refleja en las figuras 7a y 7b existe una interacción estrecha entre las cascadas de citoquinas. Si nos centramos, por ejemplo, en la IL-33, esta citoquina puede ser secretada por macrófagos, células dendríticas, mastocitos, fibroblastos, células epiteliales, células del músculo liso y células sinoviales y va a estar especialmente elevada en pacientes asmáticos en la fase aguda de la enfermedad.

En el caso de las ILC₂, se activarán tras el contacto con proteasas y la liberación de IL-25, IL-33 y TLSP, tal y como se comentó anteriormente y, favorecerán la liberación de IL-5, IL-6 e IL-13, citoquinas implicadas, fundamentalmente, en el remodelado epitelial y en la fase crónica del asma. Las ILC₂ van a facilitar una producción rápida de IL-13, que es fundamental en la transformación de linfocitos CD4 indiferenciados en linfocitos TH₂, con la consecuente liberación de las citoquinas citadas con anterioridad. La IL-13

derivada de ILC₂, induce a su vez, la producción de la quimioquina CCL17 por parte de las células dendríticas CD11b+ IRF4+, para atraer células TH₂. Por todo ello, se cree en la actualidad que el eje IL-33- ILC₂- IL-5/ IL-13 es crucial en el proceso de inflamación de vía aérea.

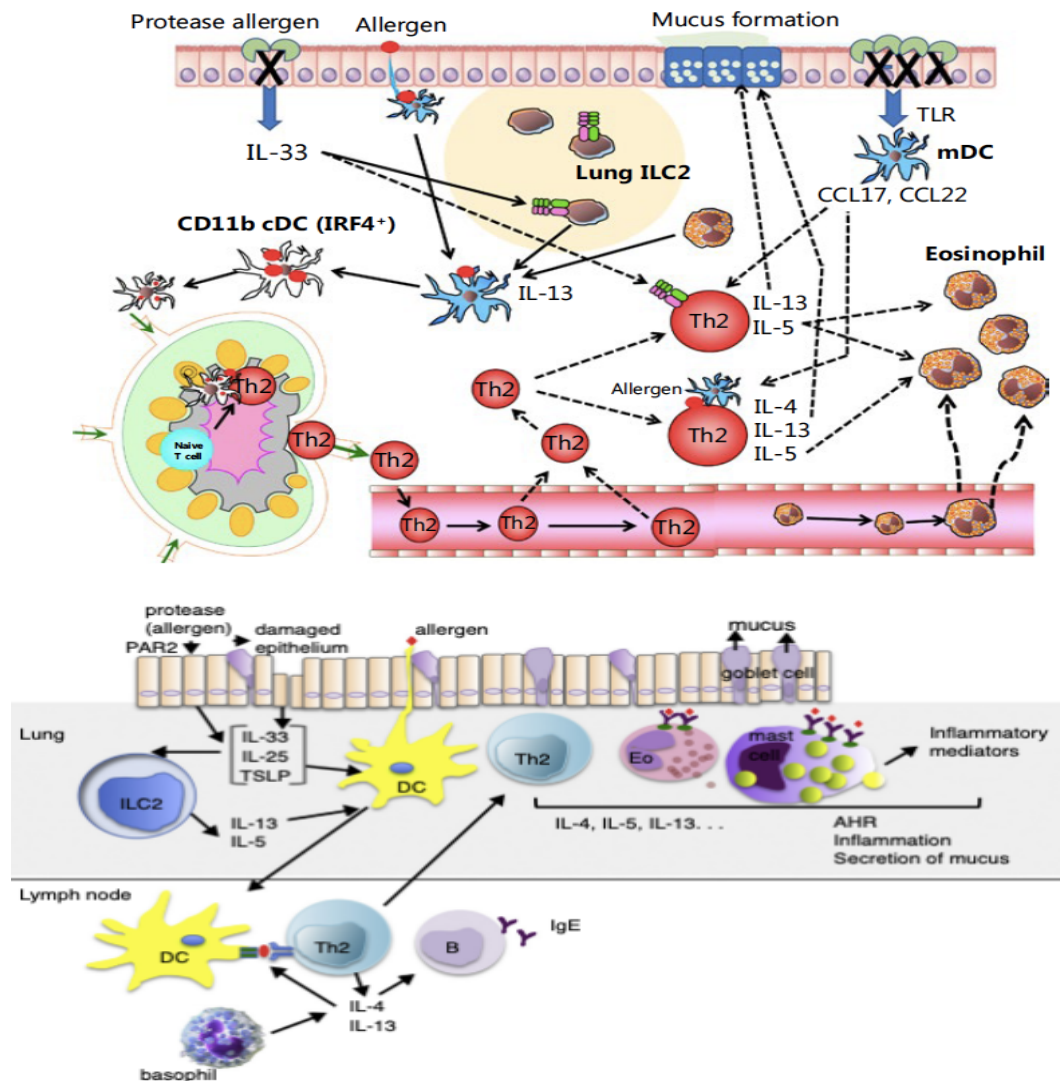


Figura 7: visión esquemática de interacción entre la activación de sistema inmunitario y adaptativo. Imágenes no originales, obtenidas de Kubo M., 2017 (a) y Pelletier L. et al 2018 (b) (21,22).

Además de todas las cascadas inmunológicas comentadas con anterioridad, las proteasas de los ácaros del polvo pueden también degradar una serie de antiproteasas pulmonares (alfa1antitripsina, elafina, inhibidor proteasas secretado por leucocitos) y proteínas surfactantes A y D (17).

3.- RELEVANCIA DE ASMA ALÉRGICO EN CANARIAS

Según los últimos datos publicados por la OMS, se estima que el asma afectó a 262 millones de personas en 2019 causando un total de 461.000 fallecidos. A nivel nacional, basándonos en los datos recogidos en el estudio “Alergológica 2015” de pacientes alérgicos que solicitaban atención alergológica (estimación muy probablemente mayor que la población general), el 21,2% tenían asma y el 82,2% de éste era asma extrínseco. En dichos datos, filtrados por comunidad autónoma, en Canarias la prevalencia de asma sería de un 26,4% (23).

En cuanto a la positividad de pruebas cutáneas diagnósticas aportadas por el estudio “Alergológica 2015” en pacientes que acudieron a consulta de Alergología, para la población española en general era: 65,6% a pólenes, 46,5% ácaros, 21,3% epitelios y 10,1% hongos. Fijándonos en la frecuencia de sensibilización aportada por Alergológica 2015 de Canarias, el 85% estaba sensibilizado a ácaros del polvo.

No se dispone de datos regionales posteriores a “Alergológica 2015” aunque sí previos a ésta. Según los datos publicados en 2011 por Juliá-Serdá et al. (24), basados en información recogida por cuestionario, con síntomas típicos de asma de pacientes de Gran Canaria y Tenerife (islas principales de la comunidad de Canarias), la prevalencia de asma se estima en torno al 13,6%. En cuanto a la sensibilización de dichos pacientes, hasta un 30,6% estaba sensibilizado a ácaros del polvo (teniendo en cuenta a la especie *B. tro.*) testado con pruebas cutáneas y con determinación de IgE específica.

En un trabajo anterior realizado por García-Robaina et al. (25) en pacientes asmáticos y/o con rinitis, aunque no se evaluó la prevalencia de asma, analizaron el porcentaje de sensibilización de dichos pacientes mediante pruebas *in vivo* e *in vitro*, obteniendo un 97,6% de positividad para ambas técnicas. En este estudio, tuvieron en cuenta al ácaro *B. tro.* de manera independiente y se obtuvo un 54,7% de positividad en pruebas cutáneas y un 66% en la determinación de IgE específica.

4.- DÉFICIT DE ALFA-1 ANTITRIPSINA

La alfa-1 antitripsina (AAT) es una glicoproteína de cadena única de 52-kD compuesta por un total de 394 residuos de aminoácidos y 3 cadenas laterales de complejos de carbohidratos unidos a aspargina. Se secreta fundamentalmente por el hígado, aunque otras células como las de intestino, alveolos, neutrófilos, macrófagos, e incluso córnea también la pueden secretar en menores cantidades, teniendo una vida media en sangre de 3 a 5 días (26). Es una de varias proteínas llamadas serpinas, y constituyen una de las mayores familias de inhibidores de proteasas, fundamentalmente proteasas de serina. La estructura química general de las serpinas se puede observar en la figura 8, y se basa en:

- -Tres láminas β (nominadas de A a C)
- -Entre 8 y 9 hélices α (nominadas de A a I)
- -Bucle central reactivo o “RCL” donde se van a unir las proteasas (27,28).

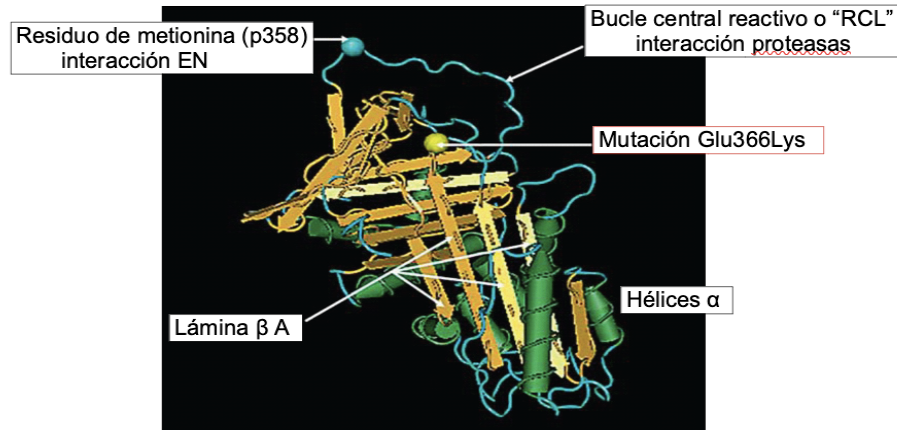


Figura 8: imagen de la estructura de AAT.
Imagen no original obtenida de Wood AM y Stockley RA, 2007 (28).

El Déficit de Alfa-1 antitripsina (DAAT) es una alteración genética autosómica codominante que fue descrita por primera vez en 1963 por Laurell y Erikson, los cuales comprobaron que podía producir enfisema pulmonar, aunque algunos pacientes permanecían asintomáticos (29). Se dispone de información acerca de qué proporción aproximada de pacientes testados para AAT presentan enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), en torno al 65% (30) y de qué proporción de población sana son portadores de las diferentes mutaciones en el gen *SERPINA1* (31). Sin embargo, sigue resultando bastante complicado saber qué proporción exacta de pacientes con DAAT desarrollarán patología pulmonar, incluso tras la publicación de un cribado poblacional con seguimiento a largo plazo realizado en recién nacidos portadores de la mutación PI*Z en población sueca, en la que no encontraron diferencias significativas entre controles sanos y portadores de mutación PI*Z (32). Es quizás por ello, que la indicación de determinación de niveles de AAT no queda aún clara y que existe cierto desconocimiento de su manejo en atención primaria (33).

*GENOTIPOS AAT

El gen que codifica la AAT, *SERPINA1*, se localiza en el brazo largo del cromosoma humano 14 en la posición 32.13 (14q32.13), el cual dispone de 3 exones no codificantes (1a,1b,1c) y 4 exones codificantes (2, 3, 4, y 5) como puede observarse en la figura 9 (34).

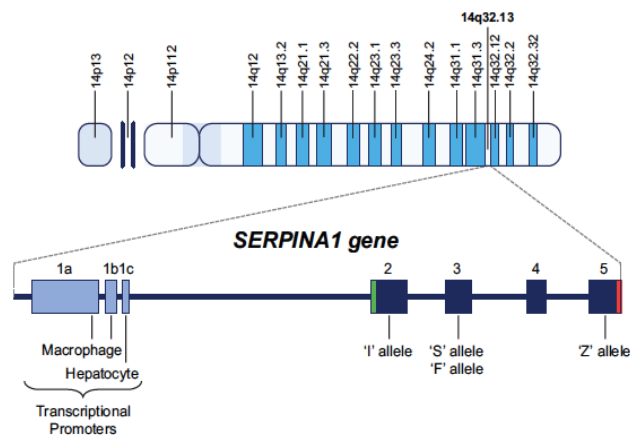


Figura 9: gen *SERPINA1*.
Imagen no original obtenida de Foil KE., 2021 (34).

Se han descrito muchas mutaciones en el gen *SERPINA1*, la mayoría suelen ser por variantes de un único nucleótido (SNVs). Se han identificado en la actualidad más de 200 variantes genéticas de AAT, aunque las más frecuentes siguen siendo las mutaciones S y Z. Tradicionalmente, la denominación de los alelos se establece en base a la velocidad con la que migran en electroforesis. De esta manera, la variante normal sería PI*M (“median mobility”) y el resto recibirían la denominación A-L cuando migran a mayor velocidad, o N-Z si, por el contrario, migraran más lento, siendo Z la migración más lenta. Los alelos nulos no producirían AAT y reciben el nombre de “null”, aunque más recientemente se ha denominado como Q0 + lugar de descubrimiento (34).

La variante normal PI*M se cree que está presente en el 94-96% de la población caucásica, confirmando unos niveles normales de proteína AAT funcionante en sangre. En el caso de PI*Z, se produce una sustitución de una carga positiva de lisina por una carga negativa de ácido glutámico en la posición 366 (p.Glu366Lys, c.1096G>A), o previamente p.Glu342Lys (ClinVar accession VCV000017967.26) (35). Esta mutación va a condicionar una alteración en la estructura química de la AAT, permitiendo una apertura de la lámina β A y la entrada del RCL de otra proteína para terminar formando dímeros y una cadena de polímeros no funcionantes. Por lo tanto, aunque se producen niveles adecuados de AAT, sólo el 15% aproximadamente alcanzaría el torrente sanguíneo, quedando el 85% restante atrapado en el retículo endoplasmático de los hepatocitos pudiendo condicionar la aparición de patología hepática crónica en caso de ausencia de degradación, debido al estrés del retículo endoplasmático (27). La frecuencia de esta mutación es muy variable en Europa, variando desde 1/500-5000 en el noroeste hasta 1/10.000-1/90.000 en el este y sur del continente (36). La variante deficitaria leve S o PI*S, parece no condicionar patología hepática y tampoco está clara su implicación a nivel respiratorio. Esta variante es el resultado del cambio de valina por ácido glutámico en la posición 288 (p.Glu288Val, c.863A>T), (ClinVar accession VCV000017969.21) (35). Se localiza con mayor frecuencia en la península Ibérica (150/1000) (36). En cuanto a la prevalencia de la heterocigosis compuesta PI*SZ en Europa es también muy variable con rangos que oscilan desde 1/200 en Portugal hasta 1/25.000 en Rusia (37). Recientemente, también se han obtenido datos acerca de la prevalencia aproximada de la heterocigosis PI*MZ en Europa siendo aproximadamente del 2% con un porcentaje estimado del 3% de la población española afectada por esta mutación (38).

En uno de los mayores registros de la distribución de las mutaciones del gen *SERPINA1* en población general alemana, con o sin afectación respiratoria, y sin tener en cuenta los niveles de AAT en suero, se observó 6919 pacientes (37,12%) con al menos un alelo deficitario y con la siguiente distribución de genotipos: 62,97% PI*MM, 21,47% PI*MZ, 6,92% PI*ZZ, PI*MS 5,04%, PI*SZ 1,86% y 0.29% PI*SS además de 271 genotipos raros identificados (39). En otro estudio en población europea en el que se incluyeron pacientes Españoles, se detectó un total de 2458 pacientes con alelos deficitarios, lo cual, asumiendo una población de 40.280.780 habitantes, resultaría en una estimación poblacional de 9.187.643 posibles alelos deficitarios (23%) en España con la siguiente distribución de genotipos: 1/92 (1,1%) PI*MZ, 1/3.344 (0,03%) PI*ZZ, PI*MS 1/5 (20%), PI*SZ 1/278 (0,36%) y 1/33 (3%) PI*SS (40).

Se han descritos otras dos mutaciones puntuales frecuentes en el gen *SERPINA1* para las cuales no se ha evidenciado disminución de los niveles séricos de AAT ni clínica asociada: la variante I (c.187C>T o p.Arg63Cys, VCV000017974.18) y la variante F (c739C>T o p.Arg247Cys, VCV000017961.10)

*CONSEJO GENÉTICO

El DAAT sigue un patrón de herencia autosómica recesiva codominante, en la que ninguno de los alelos heredados de los progenitores es recesivo y se expresa el fenotipo de ambos alelos. Si se diagnostica a un paciente de DAAT, fundamentalmente en los casos de homocigosis PI*ZZ, los hermanos claramente deben ser testados por el alto riesgo de presentar la enfermedad como puede verse en la figura 10 (34,41). Sin embargo, el estudio de ascendientes y descendientes debe ser discutido con el paciente. No está aconsejado el diagnóstico prenatal ni el cribado en población sana, tanto de niños como de adultos, salvo que en dicha población exista una alta prevalencia (> 1/1,500) (42,43).

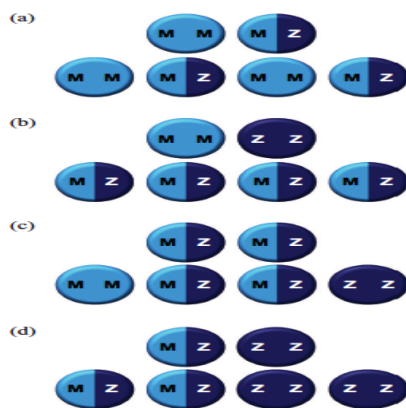


Figura 10: herencia autosómica de gen *SERPINA1*. Se presentan 4 ejemplos de posible herencia: (a) "normal" con heterocigosis PI*MZ (b) "normal" con homocigosis PI*ZZ (c) ambos con heterocigosis PI*MZ (d) heterocigosis PI*MZ con homocigosis PI*ZZ.

Imagen no original obtenida de Foil KE., 2021 (34).

Aunque el consejo genético está claramente indicado en pacientes que presenten homocigosis PI*ZZ, no está tan clara la actitud a seguir en pacientes con heterocigosis (PI*MZ y SZ) o incluso en aquellos pacientes con otras variantes no catalogadas como de riesgo por sus niveles séricos dentro de normalidad de AAT (PI*SS, PI*MS).

Hasta el momento, aunque existe escasa bibliografía, se ha demostrado que los pacientes PI*MZ tienen mayor predisposición a desarrollar obstrucción pulmonar, sobre todo cuando se añade como cofactor el hábito tabáquico (44). Existe, sin embargo, información contradictoria con respecto a los pacientes PI*SZ que impiden llegar a una conclusión clara de recomendación de diagnóstico como en los pacientes PI*MZ (45). Por otro lado, también se dispone de variantes raras de mutaciones en AAT como pueden ser PI*FZ, PI*IZ, Mmalton y Mnulo en las cuales se ha observado mayor gravedad de afectación en aquellos pacientes con DAAT y que, también deberían tenerse en consideración.

*DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS ALFA-1 ANTITRIPSINA

Usando las recomendaciones de la "American Thoracic Society (ATS)" y la "European Respiratory Society (ERS)", los valores establecidos como rango de normalidad de AAT es 83-220mg/dl medido por nefelometría, estableciendo 50mg/dl o 35% del valor medio esperado, como el umbral de seguridad por debajo del cual habría riesgo de enfisema. Si, además, subdividimos los niveles por el genotipo identificado, tendríamos las variaciones reflejadas en la tabla 1 (42,46).

Tabla 1: valores de normalidad de AAT suero según el genotipo PI* presente.

Genotipo AAT (PI*)	Rango de normalidad 2003 (mg/dl o µM)	Rango de normalidad 2013 (mg/dl o µM)
PI*MM	150–350 o 20–48	102-254 o 19-47
PI*MZ	90–210 o 17–33	62-151 o 11-28
PI*SS	100–200 o 15–33	43-154 o 8-28
PI*SZ	75–120 o 8–16	38-108 o 7-20
PI*ZZ	20–45 o 2,5–7	≤29-52 o ≤5-10

Nota Fuente: American Thoracic Society/European Respiratory Society statement, 2003. y Bornhorst et al., 2013 (42,46).

Con posterioridad, algunos autores han definido el umbral de nivel de AAT adecuado para distinguir entre genotipo normal PI*MM de otros alelos deficitarios S o Z, en 24,4 µM o 113 mg/dl con una sensibilidad del 73,4% y una especificidad del 88,5%. Este grupo de trabajo define también el valor de <90mg/dl como riesgo intermedio y <50mg/dl como riesgo alto de enfisema (47). Por otro lado, en 2013 el grupo de Bornhorst y colaboradores (46) definieron los rangos de niveles de AAT en relación a los diferentes genotipos en la mayor población estudiada hasta ahora, y establecieron el umbral <60mg como los niveles descendidos de AAT que mejor se relacionan con la presencia del genotipo PI*ZZ, con una sensibilidad del 98,5% y especificidad de 99,8%. En nuestro laboratorio el rango de normalidad está establecido en 100-200 mg/dl y éste es el umbral que hemos definido para normalidad a lo largo de este trabajo; además también se ha considerado el umbral de <60mg/dl como déficit severo de AAT (DSAAT).

La determinación de AAT en suero va a ser el primer paso del algoritmo diagnóstico de DAAT, seguido de la determinación de genotipo, fenotipo y/o secuenciación de exón *SERPINA1* según las recomendaciones nacionales de diagnóstico (48). En los últimos años, incluso se ha difundido la posibilidad de realización de la detección en muestra de sangre seca para agilizar el estudio de un posible déficit, aunque en este estudio la determinación se hizo mediante extracción de sangre periférica por la necesidad de realizar también estudio genético.

El algoritmo a seguir, por tanto, ante una sospecha de DAAT se inicia con la determinación de los niveles en suero de AAT, seguido de fenotipado y/o genotipado de las variantes comunes y, en el caso de sospecha de variantes nulas, o poco frecuentes, la secuenciación del gen *SERPINA1* (45).

5.- PAPEL DE AAT A NIVEL BRONQUIAL

La función principal de la AAT a nivel bronquial es proteger los alveolos de la destrucción de la elastasa de neutrófilo (EN), la proteinasa 3 (PR-3) y la catepsina G (49,50). Se ha observado, por ello, en pacientes con DAAT, la presencia de enfisema pulmonar tras un desequilibrio entre estas proteasas-antiproteasas, sobre todo en pacientes fumadores (26,42). Sin embargo, aunque es cierto que la mayor gravedad clínica la presentan los fumadores, no existe una clara relación entre ser fumador y presentar enfisema pulmonar con un DAAT (45). En el caso de otros genotipos no PI*ZZ, se ha descrito en estudios previos que, con genotipos PI*MZ y PI*SZ, existe un mayor riesgo de

desarrollar EPOC, solamente en caso de asociarse a hábito tabáquico. Otros genotipos, según las últimas recomendaciones de la ERS, tienen una dudosa relación con afectación pulmonar (45).

Las directrices propuestas inicialmente por la OMS indicaban que se debería sospechar DAAT en cualquier paciente con EPOC y/o asma de inicio en edad adulta (51). Con posterioridad, sin embargo, en el acuerdo internacional establecido en 2003 por la ATS/ERS, se decidió que se recomendaba el estudio genético en aquellos pacientes asintomáticos con obstrucción crónica al flujo aéreo y algún factor de riesgo asociado como el tabaco y se desaconsejó la realización de estudio genético en asmáticos (42). Sin embargo, dichos acuerdos se realizaron sin suficiente evidencia científica de que los pacientes asmáticos pudieran tener asociado un DAAT, y por ello, en el consenso posterior de la ERS en 2017, se volvió a considerar la posibilidad de infra diagnóstico de DAAT en pacientes catalogados como asmáticos (45). El mayor registro de pacientes con niveles de AAT por debajo del umbral de seguridad ($\leq 11 \mu\text{M/L}$) corresponde al “Registro del Instituto Nacional de corazón, pulmón y sangre”, publicado en 1997 por McElvaney NG et al. (52) y en el cual se reflejaba que, la gran mayoría de los pacientes presentaban disnea al ejercicio y hasta un 62% de los pacientes tenían sibilancias sin relación con procesos infecciosos. Como consecuencia de ello, en la actualidad, entre las recomendaciones de una determinación cuantitativa de AAT, se encuentra la presencia de asma con obstrucción parcialmente reversible obtenida en pacientes asmáticos. Se ha descrito, además, que incluso hasta casi la cuarta parte de los pacientes con DAAT, pueden tener asma con reversibilidad completa de la obstrucción, con presencia de atopia y/o elevación de IgE (53).

***PRUEBAS DE FUNCIÓN RESPIRATORIA EN DAAT**

A lo largo del tiempo se ha objetivado que es muy complicado realizar un seguimiento de estos pacientes con pruebas de función respiratoria, dado que la determinación del volumen espiratorio máximo en el primer segundo (VEMS o FEV₁) no se correlaciona con la presencia de mayor severidad del cuadro clínico (45). Es por ello, que, aunque se suele usar la espirometría simple para diagnóstico y seguimiento, se recomienda efectuar, también, una Tomografía Axial Computarizada (TAC) para la decisión de terapia sustitutiva y el seguimiento a largo plazo (54).

6.- VARIANTES RARAS DE AAT

Dado que más del 95% de pacientes con déficit severo de AAT son portadores del genotipo PI*ZZ, al resto de variantes no Z o no S se las ha considerado tradicionalmente como “variantes raras” del gen *SERPINA1*. Según datos registrados previamente, se considera que el porcentaje de dichas variantes en pacientes con DAAT, puede variar desde 1,6% hasta 12,3% en España (55,56). Aunque son muchas las mutaciones identificadas hoy en día, los alelos deficitarios más comunes descritos son PI*I (p.Arg39Ser) en el 34% de los casos y PI*Malton (delPhe52) en el 20% de los casos (55). Por ello, algunas técnicas de genotipado, que sólo son capaces de identificar las mutaciones PI*Z y PI*S, diagnosticarían erróneamente a pacientes con alelos nulos o variantes deficitarias raras, como variantes normales PI*M (57,58).

El proceso de polimerización que condicionaría un descenso en los niveles plasmáticos de AAT y la presencia de inclusiones a nivel hepático en la mutación PI*Z, justificaría también el déficit severo de AAT presente en otras mutaciones no Z, como la mutación Mmalton (ΔPhe52) (27). Algunos de los alelos deficitarios menos frecuentes se

encuentran especificados en la tabla 2, aunque su asociación con desarrollo de enfermedad no está del todo claro (27):

Tabla 2: algunas de las mutaciones descritas de alelo deficitario de AAT.

Nombre alelo deficitario	Mutación	Repercusión clínica	Referencia
Baghdad	Ala336Pro	Caso clínico: niveles AAT moderadamente descendidos sin aparente afectación hepática ni bronquial.	Haq I et al, 2016 (59)
ETokyo	Lys335Glu	No descrita, aparentemente asintomáticos.	QL Ying et al, 1984 (60)
Iners	Gly349Arg	No descrita, se estima posibilidad de afectación pulmonar.	Laffranchi M et al, 2019 (61)
King's	Hisp334Asp	Caso clínico: ictericia neonatal.	Miranda E. et al, 2010 (62)
MHeerlen	Pro369Leu	Riesgo enfisema en homocigosis. No clara afectación hepática.	Poller W et al, 1999 (63)
MMalton	del52Phe	Riesgo elevado de enfisema en homocigosis y riesgo de hepatopatía por acúmulo de polímeros, aunque menos frecuente.	Figueira Gonçalves JM et al, 2017 (64)
MMineral Springs	Gly67Glu	Riesgo elevado de enfisema en homocigosis.	Curiel DT et al, 1990 (65)
MNichinan	del52Phe y Gly148Arg	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema en homocigosis. Riesgo de hepatopatía por acúmulo de polímeros.	Matsunaga E et al, 1990 (66)
MPalermo	del51Phe	Caso clínico: riesgo elevado de hepatopatía y enfisema	Alfonso M et al, 2020 (67) y Faber Jp et al., 1994 (68)
MProcida	Leu41Pro	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema en homocigotos	Annunziata A et al, 2021 (69) y Takahashi H et al. 1988 (70)
MVall d'hebron (=Mwurzburg)	Pro369Ser	Caso clínico: niveles descendidos que podrían provocar enfisema.	Jardi R et al. 2000 (71)
MVarallo	del41-51	Caso clínico: niveles descendidos que podrían provocar enfisema.	Coni p et al. 2003 (72)
NNagato	Leu276 CTG-pro CCG	No descrita	Yuasa et al. 2001 (73)
Pittsburgh	Met358Arg	Caso clínico: hemorragia.	Owen M e tal.1983 (74)
Sliyama	Ser53Phe	Riesgo elevado de enfisema en homocigosis y riesgo de hepatopatía por acúmulo de polímeros. Frecuente en Japón.	Yuasa i et al. 1993 (75) Miyahara et al. 2001
Trento	Glu75Val	Caso clínico: niveles descendidos que podrían provocar enfisema.	Miranda E, 2017 (76)
WBethesda	Ala336Thr	Caso clínico: riesgo elevado de hepatopatía y enfisema	Holmes MD et al. 1990 (77)
Ybarcelona	Asp256Val y Pro391His	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Jardi R et al, 1998 (78)
ZAusburg (=Ztun)	Glu342Lys	Caso clínico: riesgo elevado de hepatopatía y enfisema	Weidinger S et al.,1985 (79) y Whitehouse DB et al, 1989 (80)
ZWrexham	Ser19Leu y Glu342Lys	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Graham A et al., 1990 (81)

Nota Fuente: contenido modificado de Lomas DA et al. (2019) (27) y Dickens JA et al. (2011) (82)

También se han descrito alelos nulos que se producen por una mutación puntual que genera un codón de parada o “stop codon” prematuro y, como consecuencia de ello, sintetizan una proteína truncada no funcionante. No habría producción de AAT y, por lo tanto, no se acumularía en hepatocitos, pero sus niveles descendidos en suero conllevarían la presencia de enfisema pulmonar. Las mutaciones descritas hasta la actualidad se resumen en la tabla 3 (27).

Tabla 3: algunas de las mutaciones descritas de alelo nulo de AAT.

Nombre alelo nulo	Mutación	Repercusión clínica	Referencia
QOBellingham	Lys217 codón de parada	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Satoh et al, 1988 (83) Cook L et al 1994 (84)
QOBolton	del1bp Pro362 causa codón de parada en 373	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Fraizer GC et al, 1989 (85)
QOCairo	Lys259 codón de parada	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Zorzetto et al., 2005 (86)
QOClayton	Pro362insC causa codón de parada en 376	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Brantly et al., 1997 (87) Rosenbaum EM et al., 2017 (88)
QODevon (=QONewport)	Gly115Ser y Glu342Lys (mutación Z)	Caso clínico: riesgo elevado de hepatopatía y enfisema en heterocigosis con Z	Graham et al., 1990 (81)
QOGranite Falls	del 1bpTyr160 causa codón de parada	Caso clínico: enfisema severo en heterocigosis con Z.	Nukiwa et al., 1987 (89)
QOHong Kong	del 2bp Leu318 causa codón de parada en 334	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema en heterocigosis con Z	Sifers RN et al., 1988 (90)
QOIsole di Procida	del 17Kb inc. exones II-V	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Takahashi et al., 1990 (91)
QOLisbon	Thr68Ile	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Faber et al., 1994 (68)
QOLudwigshafen	Ile92Asn	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Frazier et al., 1990 (92)
QOMadrid	Duplicación de timina en posición +2 (+2dupT)	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Lara B et al., 2014 (93)
QOMattawa / QOOurém	Leu353Phe causa codón de parada en 376	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Curiel et al., 1989(94) y Vaz et al., 2012 (95)

QOMilano	Delección de 17 nucleótidos (AAA CTA CAG CAC CTG GA)	Caso clínico: hepatopatía sin afectación pulmonar	Rametta et al., 2013 (96)
QORiedenburg	Delección del gen completo	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Poller et al., 1991 (97)
QOSaarbueken	1158dupC causa codón de parada en 376	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema	Faber et al. ,1994(68)
QOTrastevere	Try194 codón de parada	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema en heterocigosis	Lee et al., 1998 (98)
QO West	delGly164-Lys191	Caso clínico: riesgo elevado de enfisema en heterocigosis	Laubach VE et al.,1993 (99)

Nota Fuente: contenido modificado de Lomas DA et al. (2019) (27) y Dickens JA et al. (2011) (82)

***MUTACIÓN Mmalton**

La mutación Mmalton fue descubierta en 1976 por Col et al. (100) al detectar una velocidad en electroforesis muy similar a PI*M pero con niveles séricos de AAT descendidos. Podrían confundirse en situación de heterogeneidad (Mmalton/M), pero observaríamos unos niveles de AAT por debajo de 100mg/dL que deberían alertarnos de la posible presencia de un alelo Mmalton (101). Casi 10 años después, en 1987, se describieron los primeros casos de mutación Mmalton con asociación a enfisema pulmonar y cirrosis hepática. De la misma manera que la mutación del gen PI*Z, va a producir una proteína mal plegada que, en el 80-90% polimerizará en el hepatocito y, por lo tanto, menos del 15% pasará al torrente sanguíneo aumentando el riesgo de enfisema pulmonar y de hepatopatía (85). El alelo PI*Mmalton contiene una delección del residuo de fenilalanina en la posición 52 (p.Phe52del , c.227 229delTCT), siendo la repercusión clínica muy similar a la del fenotipo Z con presencia de cirrosis y enfisema pulmonar, sobre todo en homocigosis (102). Cabe resaltar, no obstante, que se ha observado gran heterogeneidad en la presentación clínica de dicha mutación (64,101).

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

- Existe una mayor sensibilización a ácaros y una mayor prevalencia de asma en Canarias con respecto al resto del territorio nacional.
- Basándose en que, las proteasas de los ácaros del polvo degradan a diversas antiproteasas pulmonares, entre ellas la alfa-1antitripsina, es posible que la mayor prevalencia de asma esté condicionada por un posible aumento de las variantes genéticas más frecuentes (PI*Z y PI*S) de *SERPINA1* en la población canaria.
- Es posible que exista, en población canaria, alguna variante genética rara, no S no Z, de AAT no detectable por las técnicas genéticas tradicionales.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

1.- El primer objetivo es definir bien el perfil de sensibilización a ácaros de la población canaria a partir de los datos extraídos de la población valorada en un hospital de tercer nivel del norte de la Isla de Gran Canaria, el cual cubre la mitad de población de dicha isla, y que es una de las islas más pobladas de la comunidad autónoma de Canarias.

- Estudiar la patología alérgica de dicha población, centrándose fundamentalmente, en el porcentaje de población con asma alérgico.
- Comparar los resultados obtenidos en esta población con los publicados a nivel nacional mediante el estudio "Alergológica 2015".

2.- El segundo objetivo es seleccionar a la población asmática alérgica a ácaros del polvo para evaluar las frecuencias de alelos y genotipos de las variantes genéticas de *SERPINA1* más frecuentes.

- Realizar la determinación sérica de AAT e inmunoglobulinas específicas a los ácaros considerados domésticos en Canarias: *D. Pte.*, *D. far.* y *B. tro.*
- Analizar los alelos PI*Z, PI*S y PI*M (no S, no Z) de *SERPINA1* a todos los pacientes seleccionados para conocer las frecuencias alélicas y genotípicas, y correlacionar los genotipos con los niveles séricos de AAT y con la sintomatología y gravedad de su enfermedad alérgica.

3.- El tercer objetivo es analizar la frecuencia de la variante genética Mmalton, que ha sido descrita en otras islas de la comunidad canaria.

CAPÍTULO I

CAPÍTULO I

Aunque, tras lo comentado en la introducción, parece lógico pensar que la mayoría de la población canaria estará sensibilizada a ácaros del polvo por la alta presión alérgica a la que están sometidos, no hay evidencia científica suficiente que demuestre esta teoría. En ello se centra la primera parte del estudio, demostrar que esta teoría es cierta, tal y como se recoge en el primer artículo “Epidemiological Study of the Allergic Population in the North of Gran Canaria” (103) - ANEXO I.

OBJETIVO

Definir de forma precisa el perfil de sensibilización de la población del norte de la Isla de Gran Canaria y comparar los resultados obtenidos con los publicados a nivel nacional mediante el estudio “Alergológica 2015”.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se seleccionaron, de forma consecutiva, a todos los pacientes mayores de 14 años que acudieron rutinariamente al Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín (HUGCDN) y quisieron colaborar en el mismo en un período de tiempo de 2 años (2010-2012). El HUGCDN atiende a la mitad norte de la población de Gran Canaria (GC), una de las principales islas de la Comunidad Autónoma de Canarias; en 2010, el registro poblacional en Canarias fue de 2.118.519 habitantes (4,5% de la población española), de los cuales 845.676 (39,9%) se encontraban residiendo en Gran Canaria (104). Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes antes de participar en el estudio, el cual fue aprobado por el Comité Ético del hospital.

Se reclutó un total de 1022 pacientes a los que, tras realizarles historia clínica alérgica dirigida, se les efectuaron las pruebas complementarias requeridas para comprobar su perfil de sensibilización mediante pruebas cutáneas intraepidérmicas o prick (laboratorio ALK Abelló, España), y la determinación sérica de inmunoglobulinas E específicas o sIgE (ImmunoCap Phadia, Suecia) detalladas en la hoja de recogida de datos presentes en el ANEXO II. Se consideró resultado positivo en aquellos casos en los que el diámetro mayor de la pápula fuera igual o superior a 3mm o dicho tamaño superior al control negativo siguiendo las guías vigentes en dicho momento (20).

Además de estudiar el perfil de sensibilización de los pacientes, también se valoró la implicación clínica de dicha sensibilización mediante el diagnóstico alérgico de dichos pacientes.

Dado que se dispone de un registro nacional del motivo de visita y diagnóstico alérgico tras la consulta, elaborado por la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) con la colaboración de todos los socios, “Alergológica 2015” (105), se realizó una comparativa de nuestro registro local con este registro nacional.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos demográficos recogidos en nuestra población de estudio se presentan en la tabla 4; algunos de ellos han podido ser comparados con los de “Alergológica 2015”, al

objeto de constatar si son poblaciones comparables entre sí, a pesar de no presentar el mismo diseño de elaboración. Como se puede observar, la edad media de ambos grupos es muy similar (32 y 34 años respectivamente) y la proporción de mujeres en los dos estudios es mayor a la de hombres. La obesidad y el índice de masa corporal (IMC) no pudieron ser comparados ya que no se recogieron dichos datos en “Alergológica 2015”. Por último, aunque el porcentaje de fumadores es similar entre ambos estudios, el número de exfumadores es significativamente menor en nuestra población ($p=0.0287$); es posible que este dato haya sido recogido erróneamente, bien por la definición de exfumador utilizada o bien por no reconocimiento por parte del paciente.

Tabla 4: datos demográficos comparativos entre el estudio actual y Alergológica 2015.

		POBLACIÓN ESTUDIO n=1022	ALERGOLÓGICA 2015 n=2051
EDAD			
Media (DT)		32 (13)	34 (19)
SEXO (%)			
Mujeres		679 (66,44)	58%
Hombres		343 (35,56)	42%
IMC			
Media (DT)		24,9 (5,6)	
OBESIDAD		189 (18,49)	
HÁBITO TABÁQUICO	FUMADORES (%)	98 (9,59%)	13,5%
	*Nº cigarrillos/día Media (DT)	10,25 (6,99)	
	EX-FUMADORES (%)	27 (2,64%)	11,9%
	FUMADORES PASIVOS (%)	11 (1,08%)	

Nota: DT (desviación típica)

En la siguiente tabla (tabla 5) se detallan los resultados obtenidos en las pruebas cutáneas y las determinaciones de sIgE:

Tabla 5: pruebas complementarias in vivo e in vitro realizadas a la población de estudio.

<i>alérgeno</i>	<i>PT Positivo n (%)</i>	<i>IgE Positiva n (%)</i>	<i>IgE Media- DT</i>
Ácaros del polvo doméstico*	900 (88,2)		
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	886 (86,8)	873 (85,5)	46,8 41,1
<i>Dermatophagoides farinae</i>	876 (85,8)	830 (81,3)	37,57 35,1
<i>Euroglyphus maynei</i>	605 (59,3)	114 (11,2)	8,83 11,5

Ácaros de depósito	769 (75,3)		
<i>Blomia tropicalis</i> ^a	734 (71,9)	664 (65)	13,5 20,5
<i>Acarus sirus</i>	394 (38,6)	178 (17,4)	8,14 21,6
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	568 (55,6)	481 (47,1)	5,07 10,1
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	584 (57,2)	460 (45,1)	5,25 9,5
Derivados dérmicos animales	514 (50,3)		
<i>Perro</i>	363 (35,6)	250 (24,5)	8,09 20,3
<i>Gato</i>	377 (36,9)	270 (26,4)	8,84 19
<i>Conejo</i>	52 (5,1)	15 (1,5)	4,5 9,2
<i>Caballo</i>	50 (4,9)	22 (2,2)	3,7 4,7
<i>Plumas</i>	8 (0,8)	4 (0,4)	0,31 0,1
<i>Cucaracha</i>	80 (7,8)	26 (2,6)	3,81 8,1
<i>Hamster</i>	1 (0,2)	-	-
Pólenes	152 (14,9)		
<i>Artemisia vulgaris</i>	82 (8)	52 (5,1)	5,62 14,4
<i>Olea europeae</i>	66 (6,5)	37 (3,6)	4,52 7,5
<i>Lolium perenne</i>	51 (5)	-	-
Otros ^b	26 (2,6)		
Latex	12 (1,2)	8 (0,8)	3,84 2,9
Hongos	27 (2,6)		
<i>Alternaria</i>	15 (1,6)	-	-
<i>Aspergillus</i>	10 (1)	-	-
<i>Cladosporium</i>	3 (0,4)	-	-
<i>Penicillium</i>	2 (0,2)	-	-
Alimentos	139 (13,6)		
<i>Frutos secos</i>	36 (3,5)	-	-
<i>Huevo</i>	7 (0,7)	-	-
<i>Pescado</i>	4 (0,4)	-	-
<i>Frutas</i>	32 (3,1)	-	-
<i>LTP</i>	6 (0,6)	-	-
<i>Leche</i>	2 (0,2)	-	-
<i>Mariscos</i>	62 (6,1)	-	-
Otros alimentos	12 (1,2)	-	-

Nota:

^a *Blomia tropicalis* está catalogado como ácaro de depósito, pero en zonas tropicales se considera ácaro de polvo doméstico.

^b *Parietaria judaica*, *Poa pratensis*, *Chrysanthemum*, *Taraxacum*, *Anthoxanthum odoratum*, *Salsola*, *Phoenix canariensis* entre otros

PT ("prick test" o test cutáneo intraepidérmico), IgE (inmunoglobulina E), DT (desviación típica), LTP ("Lipid Transfer Protein" o proteína transportadora de lípidos)

Al analizar los resultados de las pruebas alergológicas realizadas en los pacientes valorados en la consulta de Alergología, destaca que el porcentaje de sensibilización se correlaciona con los resultados obtenidos de las muestras de ácaros más prevalentes en las islas canarias, según el Mapa Acarológico de España presentado anteriormente

(11); la gran mayoría de los pacientes son alérgicos a ácaros *D. pte* y *D. far.*, seguido de *B. tro.*

Si se compara estos resultados con algunos datos publicados previamente en las Islas Canarias por García-Robaina et al. (25), se objetiva que el porcentaje de pacientes sensibilizados a ácaros es igualmente elevado: 86,8% prick tests positivos y 85,5% sIgE positivas para *D. pte.* en nuestra población frente a 97,6% tanto en pruebas cutáneas como determinación analítica descritas previamente. Lo mismo sucede con los pacientes sensibilizados a *B. tro.* 71,9% prick positivos y 65% sIgE positivas frente a 54,7% y 66% respectivamente. Sin embargo, otro grupo que estudió previamente pacientes asmáticos alérgicos (Juliá-Serdá et al. (106)) mostró unos niveles algo inferiores de sensibilización a *B. tro.*: 13,8% prick positivos y 19,7% IgE específicas positivas. Los datos están resumidos en la tabla 6.

Tabla 6: comparación de frecuencia de pruebas complementarias positivas en diferentes grupos de estudio en población canaria.

	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>		<i>Blomia tropicalis</i>
	Prick test	IgE específica	Prick test
Trabajo actual	86,8%	85,5%	71,9%
García-Robaina et al. (2003)	97,6%	97,6%	54,7%
Juliá-Serdá et al. (2012)			13,8%

Aunque en “Alergológica 2015” no se reflejó el porcentaje total de pacientes con prick test positivos para los diferentes aeroalérgenos, sí que se dispone de dicho dato para la población asmática siendo el 65,6% alérgica a pólenes, el 46,5% a ácaros, el 21,3% a

epitelios y el 10,1% a hongos (23). En nuestra población, si nos limitamos a aquellos pacientes asmáticos, presentaban un patrón diferente: 652 (91,8%) a ácaros del polvo doméstico, 563 (79,3%) a ácaros de depósito, (54%) a epitelios 384, 107 (15%) a pólenes y 22 (3%) a hongos.

En la tabla 7 se describe, de forma detallada y comparada, la relación de la patología alérgica de nuestra población, con la obtenida en el estudio “Alergológica 2015”. Inicialmente, destaca en el análisis realizado, el porcentaje muy superior de pacientes asmáticos en nuestra muestra (69,64%) frente al descrito en “Alergológica 2015” (19,3%). De hecho, dichas variaciones en el número de pacientes asmáticos de la población canaria frente a otras poblaciones, ya había sido descrito con anterioridad tanto en adultos como en niños (8, 24,107,108). Sin embargo, es llamativo comprobar que la proporción de este grupo de asmáticos con asma intermitente y persistente sea similar en ambos estudios.

Por lo tanto, nuestra población, no solo tiene una alta exposición inhalada a ácaros del polvo y una alta sensibilización, sino que dicha exposición muy posiblemente provoque sintomatología bronquial, como ya se ha descrito en la bibliografía con anterioridad (109), asociándose, además, a una mayor gravedad del asma (110,111). Sin embargo, la asociación entre alta exposición a ácaros y desarrollo de asma continúa siendo controvertida y algunos trabajos no han conseguido encontrar dicha asociación (112).

Resulta destacable, también, el número de pacientes afectados por rinoconjuntivitis en nuestra población, considerablemente superior al número de asmáticos. Sin embargo, en esta ocasión nos hemos centrado, únicamente, en población asmática para evaluar el efecto que la AAT podría tener a nivel bronquial en estos pacientes. Aunque hay que matizar que, centrándose sólo en el porcentaje de pacientes asmáticos (711), el número absoluto de pacientes asmáticos sin rinitis asociada es ínfimo (14,2% de los pacientes asmáticos).

Tabla 7: proporción de las diferentes patologías alérgicas encontradas en nuestros pacientes y su comparación con Alergológica 2015.

		POBLACIÓN CANARIA n=1022	ALERGOLOGICA 2015 n=2051	p valor*
CONJUNTIVITIS (%)		184 (18)		
RINITIS (%)		986 (96,57)		
*Intermitente (%)	Leve	139 (14,1)	128 (91,4)	
	Moderado		11 (7,9)	
	Severo		1 (0,7)	
*Persistente (%)	Leve	841 (85,5)	539 (63,8)	66%
	Moderado		288 (34,1)	
	Severo		17 (2)	
POLIPOSIS		26 (2,55)		
SINUSITIS CRÓNICA		54 (5,29)		
CONJUNTIVITIS O RINITIS (%)		986 (96,57)	1217 (54,1)	1,64 e-13‡
ASMA (%)		711(69,64)	434 (19,3)	9,07e-13‡
*Intermitente (%)		264 (37,5)	38,3%	0,884
*Persistente (%)	Leve	440 (62,5)	255 (58)	
	Moderada		115 (26,1)	
	Severa		70 (15,9)	
BRONQUITIS CRÓNICA		7 (0,68)		
NEUMONIA PREVIA		8 (0,78)		
>3 INFECCIONES RESPIRATORIAS AL AÑO		14 (1,37)		
DERMATITIS ATÓPICA (%)		29 (2,84)	59 (2,6)	1
ALERGIA ALIMENTARIA (%)		125 (12,24)	228 (10,1)	0,822
ANAFILAXIA (%)		62 (6,07)		
*Alimentos		27 (60)		

*Harinas contaminadas (ácaros)	19 (30,6)		
*Medicamentos	10 (16,1)		
*Desconocido	5 (8,1)		
*Látex	1 (1,6)		
INTOLERANCIA AINE (%)	99 (9,69)		
CELIAQUIA (%)	4 (0,39)		

Nota: *Análisis estadístico Chi cuadrado o test Fisher para variables nominales

‡ Significancia estadística valor p <0,01

Por lo tanto, en el servicio de Alergología del HUGCDN se atiende a una población con una alta exposición a ácaros, una alta sensibilización a éstos y un elevado desarrollo de asma. Sin embargo, como también se ha descrito en publicaciones previas, la asociación entre la sensibilización a ácaros y el desarrollo de asma, no es siempre evidente. Se especula que deben existir otros factores adicionales que influyen en el desarrollo de asma.

CONCLUSIONES

- Al analizar los resultados de las pruebas alérgicas realizadas en los pacientes valorados en la consulta de Alergología del HUGCDN, destaca que la gran mayoría de los pacientes son alérgicos a ácaros, fundamentalmente a ácaros de polvo del género *Dermatophagoides* seguido de *B. tro*.
- La patología alérgica más frecuente en la población estudiada es la rinitis seguida de asma, siendo el porcentaje de asmáticos mayor al descrito previamente en población similar.
- Comparando los datos actuales con los de "Alergológica 2015", aunque ambos coinciden en que la Rinitis es la patología alérgica más frecuente, la proporción de población afectada es considerablemente mayor en nuestro estudio. De manera similar ocurre con los pacientes asmáticos. Hay que destacar nuevamente que el número de pacientes sensibilizados a ácaros es llamativamente mayor en la población de estudio con respecto a la analizada en "Alergológica 2015". Sin embargo, hay que tener en cuenta que la población estudiada pertenece únicamente a la asistencia a hospital terciario de referencia sin tener en cuenta, como en "Alergológica 2015", los pacientes valorados en Atención Primaria y en asistencia privada. Por todo ello, el presente estudio no pretende reflejar la prevalencia de patología alérgica de la Comunidad de Canarias, sino destacar que, la población que acude al servicio de Alergología del HUGCDN, padece con alta frecuencia patología respiratoria con sensibilización a ácaros del polvo.

CAPÍTULO II

CAPÍTULO II

Aunque se han llevado a cabo múltiples estudios genéticos y moleculares investigando la asociación con el desarrollo de asma (113–118), el DAAT es una de las condiciones a tener en cuenta en pacientes asmáticos, sobre todo en aquellos asmáticos que presentan un mal control y/o ausencia de broncodilatación en el diagnóstico. Basándonos, además, en estudios previos *in vitro*, se ha demostrado que el principal componente mayoritario de la especie de ácaro de polvo doméstico *D. pte.* - *Der p1*- puede inhibir la AAT, una molécula que protege la vía aérea inferior del daño provocado por las proteasas del neutrófilo durante el proceso de inflamación (119).

En la segunda parte de este trabajo se analiza la posible relación entre el DAAT y el asma con sensibilización a ácaros del polvo, resultados recogidos en el segundo estudio “Alpha 1 antitrypsin distribution in an allergic asthmatic population sensitized to house dust mites” (120) ANEXO III.

OBJETIVO

Por un lado, el objetivo principal de este estudio fue analizar la distribución de los diferentes genotipos comunes del gen codificante de la AAT, en una cohorte de pacientes asmáticos alérgicos a ácaros del polvo extraídos del estudio anterior. Además, en una segunda fase se intentó evaluar la posible influencia del DAAT en la presencia de mayor severidad del asma diagnosticado en este tipo de pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio transversal realizado en una cohorte de pacientes asmáticos alérgicos a ácaros del polvo tras la realización de pruebas cutáneas intraepidérmicas y determinación de IgEs. Estos pacientes fueron reclutados, tal y como ya se ha indicado con anterioridad, en el servicio de Alergología del HUGCDN, hospital que recibe al área norte de la isla Gran Canaria, una de las más pobladas de las 8 islas del archipiélago Islas Canarias en España.

Todos los pacientes incluidos eran Caucásicos, mayores de 12 años y con diagnóstico de asma; presentaban en los últimos dos años, algún síntoma sugestivo como sibilancias, disnea, tos y/u otros. Esta población se dividió en 4 grandes grupos, según la gravedad de la enfermedad establecida por la Guía Española de Manejo del Asma, vigente en el momento del estudio GEMA 4.0 (121): intermitente, persistente leve, persistente moderado y persistente severo. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes antes de participar en el estudio, el cual fue aprobado por el Comité Ético del hospital.

El diagnóstico de asma se sustentó en la suma de una historia clínica detallada evaluada por su alergólogo responsable, exploración clínica sugestiva (disnea, dolor torácico, sibilancias, tos) y acompañado de reversibilidad completa del VEMS, medida por espirometría (Flowscreen, Viasys, Germany) tras la administración de broncodilatador

(4 inhalaciones de 100µg de salbutamol) o alternativas diagnósticas propuestas por GEMA 4.0, tales como la determinación de fracción exhalada de óxido nítrico - FENO (NIOX-MINO® Aerocrine), en al menos una de las visitas realizadas al servicio durante el diagnóstico o seguimiento de su asma.

*Se realizaron pruebas cutáneas en prick para los considerados principales ácaros del polvo doméstico en las Islas Canarias: *D. Pte*, *D. far.*, *B. tro.* (laboratorios ALK Abelló, España). El resultado se consideró positivo en aquellos casos en que el diámetro mayor de la pápula fuera igual o superior a 3mm o dicho tamaño superior al control negativo siguiendo las guías vigentes en ese momento (20).

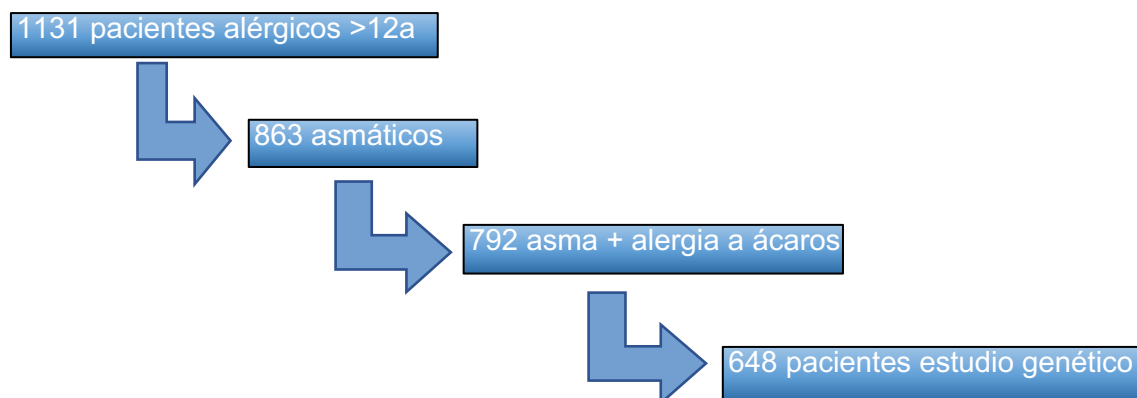
*Se cuantifico el número de eosinófilos y neutrófilos mediante hemograma, determinación semicuantitativa de eosinófilos en citología nasal y determinaciones de inmunoglobulina A (IgA), IgE e IgG *D. Pte*, *D. Far*, *B. tro* (ImmunoCap, Phadia, Suecia). El estudio cuantitativo de AAT se efectuó mediante nefelometría (BNII, Siemens, Erlangen, Alemania).

*Se realizó estudio de genotipos mediante el uso de RT-PCR en un equipo LigthCycler 2.0 (Roche Diagnostics, USA) con el objetivo de detectar las mutaciones de variantes comunes descritas con anterioridad con estas técnicas (122).

El análisis estadístico se llevó a cabo usando la prueba de Kruskal-Wallis para variables cuantitativas y Chi cuadrado o test de Fisher para variables cualitativas. La regresión logística binaria se usó para intentar determinar la asociación entre genotipos y la presencia o ausencia de asma persistente severo ajustando por edad, hábito tabáquico, comorbilidades, tratamiento recibido previamente y algunos valores analíticos. La posible correlación entre los valores séricos de AAT y parámetros de función respiratoria se evaluaron mediante el coeficiente de correlación de Spearman. Se consideró estadísticamente significativos valores de $p < 0,05$. El análisis estadístico se elaboró usando proyecto R (Versión 1.0.153) (123).

RESULTADOS

Se reclutaron un total de 648 pacientes asmáticos alérgicos a ácaros del polvo mayores de 12 años (edad mediana 29 años) durante un período de 22 meses (véase diagrama).



Tal y como se muestra en la tabla 8, del total de pacientes, 425 (66%) eran mujeres y 54 (8%) eran fumadores. Todos los detalles demográficos y clínicos se especifican en la tabla 8. En base a la clasificación de gravedad de GEMA 4.0, 253 pacientes presentaban asma intermitente y 395 asma persistente (246 leve, 101 moderado, 48 grave). Se observa que los pacientes con asma más severo eran significativamente mayores ($p = 1.72^{-12}$), como ya se había descrito previamente (124).

Aunque el porcentaje de fumadores entre grupos no variaba, se observó un aumento de pacientes ex-fumadores con asma grave, factor que se tuvo en cuenta en el análisis multivariante posterior. Otras comorbilidades como la conjuntivitis se encontraron en

gran proporción en pacientes con asma intermitente ($p = 0.008201$) y, la poliposis, en el asma persistente moderado ($p = 0.00013$). Sin embargo, la proporción de otras patologías como la rinitis, sinusitis crónicas, frecuencia de infecciones respiratorias el año anterior al estudio y dermatitis atópica no variaba entre los grupos establecidos de gravedad de asma.

Table 8: características clínicas y demográficas de todos los grados de severidad de asma.

	GLOBAL (n=648)	Intermitente (n=253)	Leve (n=246)	Moderado (n=101)	Severo (n=48)	p valor*
SEXO, n (%) Hombre Mujer	233 (34) 425 (66)	90 (36) 163 (64)	84 (34) 162 (66)	38 (38) 62 (62)	11 (23) 37 (77)	0,316
Edad, años Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	29 (20-38)	27 (20-36)	27 (19-35)	34 (24-44)	41 (34-53)	1,72e-12 [‡]
Fumador n (%)	54 (8)	24 (9,5)	21 (8,5)	9 (9)	0	0,369
Ex-fumador n (%)	15 (2,3)	6 (2,4)	6 (2,4)	1 (1)	2 (4,2)	0,0301
Fumador pasivo n (%)	8 (1,2)	4 (1,6)	3 (1,2)	0	1 (2,1)	0,621
Obesidad n (%)	115 (18)	46 (18,2)	36 (14,9)	19 (19,2)	13 (27)	0,221
Conjuntivitis n (%)	107 (16,5)	54 (21,3)	40 (16,3)	11 (11)	2 (4,2)	0,00593 [‡]
Rinitis n (%)	640 (98,8)	250 (98,8)	244 (99,2)	99 (99)	47 (97,9)	0,885
Poliposis n (%)	17 (2,62)	1 (0,8)	2 (0,8)	9 (9)	4 (8,3)	0,000053 [‡]
Sinusitis crónica n (%)	32 (4,94)	11 (4,3)	11 (4,5)	8 (8)	2 (4,2)	0,519
Dermatitis atópica n (%)	23 (3,55)	12 (4,7)	5 (2)	5 (5)	1 (2,1)	0,295
Neumonía previa n (%)	5 (0,77)	1 (0,4)	2 (0,8)	1 (1)	1 (2,1)	0,332
>3 infecciones respiratorias/año n (%)	4 (0,62)	1 (0,4)	2 (0,8)	0	1 (2,1)	0,425

Nota: *Análisis estadístico Kruskal-Wallis para variables no normales continuas y Chi cuadrado o test Fisher para variables nominales

‡ Significancia estadística valor $p < 0,01$

RI: rango intercuartil.

Por otro lado, la función respiratoria registrada como VEMS y FENO, y los valores analíticos se detallan en la tabla 9. Como cabe esperar, el VEMS expresado tanto en volumen como porcentaje ajustado por sexo y edad, es menor a medida que aumenta el grado de severidad del asma, fluctuando desde 3050ml-95% en asma intermitente

hasta 2030ml-74% en asma persistente grave. Lo mismo sucede con la CVF, con una oscilación de 3590-95% en asma intermitente y 2560ml-79,5% en asma persistente grave. No ocurre así en relación a la determinación de FENO que mantiene unos niveles muy similares entre grupos clasificados según la gravedad de asma, con un valor global de 40ppb (24,105).

La mediana de eosinófilos en sangre periférica era $0,3 \times 10^9$ (0,2-0,5) y el porcentaje de eosinófilos en citología nasal era de 37,5% (10,70) no observando, en esta ocasión, diferencias significativas entre grupos. Los niveles globales de IgEt, como era de esperar por tratarse de pacientes asmáticos alérgicos a ácaros, eran elevados, 255 UI/ml (117-563), con respecto al rango de normalidad (<100 UI/ml), pero no se observó valores extremos entre grupos de asma. De manera similar, los niveles de sIgE a ácaros, tanto domésticos como de depósito, eran muy similares entre grupos.

Sin embargo, sí que se obtuvo un valor mucho más elevado de IgA en los pacientes con asma persistente severo (268 mg/dl), aunque dentro del rango de normalidad establecido por nuestro laboratorio (80-310 mg/dl), en relación con otros grupos de asma: persistente moderado (205,5 mg/dl), persistente leve (205,5 mg/dl) e intermitente (220,5 mg/dl), ($p = 0.00024$).

Por último, el análisis cuantitativo de AAT era normal en los pacientes asmáticos con un valor mediano de 134 mg/dl (RI 118-154) sin observar diferencias significativas entre los grupos de severidad de asma.

Tabla 9: función respiratoria y resultados analítica de todos los grupos de severidad de asma.

	GLOBAL (n=648)	Intermitente (n=253)	Leve (n=246)	Moderado (n=101)	Severo (n=48)	P valor*
VEMS (ml) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	2890 (2500-3410)	3050 (2700-3620)	2920 (2600-3460)	2585 (2193-3048)	2030 (1653-2458)	3,98e-22[‡]
VEMS (%) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	90 (81-100)	95 (88-104)	90,5 (84-98)	78 (68-90)	74 (60-81)	1,14e-24[‡]
CVF (ml) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	3380 (2933-4001)	3590 (3080-4190)	3430 (3040-4040)	3200 (2550-3600)	2560 (1918-2898)	2,77e-17[‡]
CVF (%) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	92 (83-100)	95 (88-104)	92 (84-100)	83 (75-92)	79,5 (65-84)	7,7e-19[‡]
VEMS/CVF (%) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	99 (89-105)	101 (92-107)	100 (90-105)	93,5 (84-102)	94,5 (86-101)	0,000109[‡]
FENO (ppb) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	40 (23-72)	41 (23-73)	41 (26-72)	35,5 (19-69)	38 (21-60)	0,873
IgEt (UI/ml) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	255 (117-563)	225 (111,5-533)	274 (113,3-615)	305 (124-711)	213 (93-426)	0,0789
sIgE D. pte Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	42 (15-100)	34 (13-99)	51 (21-101)	44 (16-100)	42 (5,8-98)	0,0637
sIgE D. far Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	27 (11-79)	21 (10-66)	34 (12-81)	26 (11-85)	32 (5,7-78,8)	0,119
sIgE B. tro Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	7 (2,1-21)	7 (2-19)	6,8 (2,9-23)	8,8 (2,1-20)	6,9 (3,4-19)	0,931
sIgE Lepidoglyphus destructor Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	2,4 (1-7)	2,6 (0,9-6)	2,1 (1-6)	2,1 (1-11)	4,1 (1,8-9)	0,448

slgE <i>Tyrophagus putrescentiae</i> Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	2 (1-7,5)	3 (1-7)	2 (1-7)	2 (1-8,5)	3,1 (1-1,9)	0,743
slgE <i>Acarus siro</i> Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	2,6 (1-7)	2,7 (0,9-7,5)	2,4 (1-7)	5 (1-9)	1,3 (0,7-1,8)	0,389
IgA (mg/dL) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	217 (162-279)	220,5 (164-292)	205,5 (157-260)	205,5 (161-271,5)	268 (220-334)	0,00024‡
Eosinófilos sangre (10⁹/L) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	0,3 (0,2-0,5)	0,3 (0,2-0,5)	0,3 (0,2-0,5)	0,3 (0,2-0,5)	0,3 (0,1-0,5)	0,153
Eosinófilos citología nasal (%) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	37,5 (10-70)	40 (10-70)	40 (15-70)	30 (5-50)	40 (5-60)	0,265
Neutrófilos sangre (10⁹/L) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	3,5 (2,8-4,4)	3,4 (2,7-4,2)	3,6 (2,8-4,6)	3,4 (2,9-4,2)	3,9 (2,9-4,7)	0,137
AAT (mg/dL) Mediana (IRI ₂₅₋₇₅)	134 (118-154)	135 (115-159)	134 (118-154)	133 (116-149)	135 (119-144)	0,945

Nota: *Análisis estadístico Kruskal-Wallis.

‡ Significancia estadística valor p <0,01

§ Valores de normalidad IgE: 10–179 IU/ml; IgA: 80–310 mg/dl; eosinófilos sangre: 0–0.54 x 10⁹/L; ATT: 100–200 mg/dL (1,0–2,0 g/L)

CVF (capacidad vital forzada), VEMS (volumen espiratorio máximo en un segundo), FENO (fracción exhalada de óxido nítrico), RI: rango intercuartil.

Un total de 145 pacientes (22,38%) asmáticos alérgicos a ácaros del polvo tenían al menos un alelo considerado deficiente de AAT. No encontramos ningún paciente con el genotipo PI*ZZ de deficiencia severa de AAT. La distribución de frecuencias genotípicas del resto de mutaciones para PI*Z y PI*S fue la siguiente: 6 (0,93%) PI*SZ, 14 (2,16%) PI*SS, 15 (2,31%) PI*MZ y 110 (16,98%) PI*MS, presentando el resto de los pacientes el genotipo homocigoto PI*MM para variantes normales (no S, no Z) de AAT, 503 (77,62%).

En la tabla 10 se comparó la proporción de pacientes que presentaban cada uno de los genotipos habituales de AAT con datos previos de otros grupos españoles (40,125), datos que difieren de las frecuencias descritas en otras poblaciones (39).

Tabla 10: comparación de la proporción de los diferentes genotipos AAT en nuestra población y otras descritas previamente.

	PI*MM	PI*MS	PI*MZ	PI*SS	PI*SZ	PI*ZZ
Nuestra población (n=648)	503 (77,62%)	110 (16,98%)	15 (2,31%)	14 (2,16%)	6 (0,93%)	0
Estudio población general española (Blanco I et al.)	-	1/5 (20%)	1/33 (3%)	1/92 (1,1%)	1/278 (0,36%)	1/3,344 (0,03%)
Estudio población asmática española (Miravittles et al.)	89 (80,2%)	19 (17,1%)	2 (1,8%)	0	1 (0,9%)	0

El número de pacientes asmáticos que tenía niveles de AAT por debajo de la normalidad (100 mg/dl) fue de 66 (10%) y tan sólo 3 pacientes (0,5%) tenían deficiencia grave (<50 mg/dl). No se encontró ningún paciente con genotipo deficiente severo PI*ZZ aunque sí se identificaron 145 pacientes (22,4%) con algún genotipo AAT deficiente. Las características demográficas y clínicas en relación con el tipo de genotipo se especifican

en la tabla 11. Comprobamos que, los diferentes tipos de asma según su gravedad no variaban significativamente entre los diferentes genotipos; tampoco, el tratamiento recibido antes de participar en el estudio parecía influir en la clasificación de los pacientes asmáticos alérgicos a ácaros por genotipos de AAT. Otras patologías concomitantes tales como obesidad, poliposis nasal, sinusitis crónica o alérgicas, tales como conjuntivitis, rinitis y/o dermatitis atópica que los pacientes pudieran padecer, no destacan, tampoco, de forma significativa en ninguno de los genotipos estudiados.

Tabla 11: características clínicas y demográficas de los genotipos deficientes AAT.

	PI*MM (n=503)	PI*MS (n=110)	PI*MZ (n=15)	PI*SS (n=14)	PI*SZ (n=6)	p valor*
Sexo n (%) Varón Mujer	178 (35) 325 (65)	35 (32) 75 (68)	3 (20) 12 (80)	6 (43) 8 (57)	1 (17) 5 (83)	0,525
Edad - años Mediana (Rl ₂₅₋₇₅)	28 (20-38)	31 (23-38)	30 (24-38)	32 (20-36)	20,5 (19-35,5)	0,818
Fumadores n (%)	37 (7,4)	11 (10)	4 (26,7)	2 (14,3)	0	0,0882
Ex- fumador n (%)	11 (2,2)	4 (3,7)	0	0	0	0,981
Fumador pasivo n (%)	4 (0,8)	1 (0,9)	1 (7,1)	2 (14,3)	0	0,0089
Obesidad n (%)	89 (17,9)	21 (19,1)	1 (6,7)	3 (21,4)	1 (16,7)	0,837
Conjuntivitis n (%)	82 (16,3)	22 (20)	2 (13,3)	0	1 (16,7)	0,393
Rinitis n (%)	498 (99)	108 (98,2)	15 (100)	13 (92,9)	6 (100)	0,227
Poliposis nasal n (%)	9 (1,8)	6 (5,5)	2 (13,3)	0	0	0,104
Sinusitis crónica n (%)	24 (4,8)	3(2,7)	2 (13,3)	2 (14,3)	1 (16,7)	0,0516
Dermatitis atópica n (%)	17 (3,4)	4 (3,6)	0	1 (7,1)	1 (16,7)	0,271
Neumonía previa n (%)	4 (0,8)	1 (0,9)	0	0	0	1
>3 infecciones al año n (%)	4 (0,8)	0	0	0	0	1
Asma intermitente n (%)	191 (38)	45 (41)	4 (26,7)	9 (64,3)	4 (66,7)	0,134
Asma persistente leve n (%)	194 (38,6)	39 (35,5)	6 (40)	5 (35,7)	2 (33,3)	0,981
Asma persistente moderado n (%)	78 (15,5)	18 (16,4)	4 (26,7)	0	0	0,303
Asma persistente severo n (%)	39 (7,8)	8 (7,3)	1 (6,7)	0	0	0,958
Tratamiento previo: antileucotrieno n (%)	114 (22,7)	27 (24,5)	3 (20)	2 (14,3)	0	0,768
Tratamiento previo: ICS dosis baja n (%)	44 (8,7)	19 (17,3)	0	1 (7,1)	0	0,0719
Tratamiento previo: ICS dosis media n (%)	12 (2,4)	3 (2,7)	1 (6,7)	1 (7,1)	0	0,328
Tratamiento previo: ICS dosis alta n (%)	4 (0,8)	0	0	0	0	1
Tratamiento previo: ICS/LABA dosis baja n (%)	228 (45,3)	50 (45,5)	4 (26,7)	7 (50)	2 (33,3)	0,657

Tratamiento previo: ICS/LABA dosis media n (%)	58 (11,5)	11 (10)	3 (20)	1 (7,1)	0	0,758
Tratamiento previo: ICS/LABA dosis alta n (%)	31 (6,2)	7 (6,4)	4 (26,7)	0	1 (16,7)	0,0421
Tratamiento previo: anticolinérgicos n (%)	8 (1,6)	2 (1,8)	0	0	0	0,827
Tratamiento previo: corticoides orales n (%)	10 (2)	2 (1,8)	0	0	0	1
Tratamiento previo: teofilina n (%)	7 (1,4)	0	0	0	0	0,568
Tratamiento previo: inmunoterapia específica n (%)	38 (7,6)	10 (9,1)	0	0	0	0,804
Tratamiento previo: Omalizumab n (%)	1 (0,2)	0	0	0	0	1

Nota: *Análisis estadístico Kruskal-Wallis para variables no normales continuas y Chi cuadrado o test Fisher para variables nominales

‡ Significancia estadística valor $p < 0,01$

ICS (siglas en inglés de corticoide inhalado), LABA (siglas en inglés de β_2 agonista de acción larga)

RI: rango intercuartil

En la tabla 12 se detalla una clasificación adicional de los pacientes asmáticos según el genotipo de AAT, y se incluye nuevamente los valores de función respiratoria y analíticos de cada uno de los grupos. Se constata que no existen diferencias significativas entre los parámetros de función respiratoria de los diversos genotipos y tampoco se observa cambios analíticos llamativos entre ellos. Se obtuvieron, sin embargo, valores de recuento de eosinófilos en sangre menores en el grupo PI*MS ($p = 0,0228$); este hallazgo se pudo corroborar comparando este grupo con el resto de genotipos tal y como se muestra en la tabla 13, obteniendo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,0067$); no se reprodujo, por contra, al comparar el porcentaje de eosinófilos en el exudado nasal ($p=0,0544$). En la figura 11, además, queda claramente reflejado que los niveles de AAT eran llamativamente inferiores en los grupos PI*MZ y PI*SZ ($p = 1,18e-25$).

Tabla 12: pruebas de función respiratoria y análisis de laboratorio de los diferentes genotipos de AAT.

	PI*MM (n=503)	PI*MS (n=110)	PI*MZ (n=15)	PI*SS (n=14)	PI*SZ (n=6)	p valor*
VEMS (ml) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	2880 (2498-3420)	2915 (2443-3398)	2940 (2675-3245)	3110 (2818-3703)	3295 (3203-3328)	0,23
VEMS (%) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	90 (81-100)	91 (76-101)	92 (84-105)	97 (86-99)	101 (99-111)	0,0763
CVF (ml) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	3380 (2930-4001)	3365 (2883-3828)	3310 (2990-3870)	3565 (3300-4483)	3930 (3795-4088)	0,21
CVF (%) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	91 (83-100)	92 (81-101)	97 (85-105)	92 (89-95)	105 (103-105)	0,0877

VEMS/VCF (%) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	99 (89-105)	100 (90-105)	101 (92-111)	102 (94-106)	98 (89-100)	0,726
FENO (ppb) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	40,5 (25-72)	32 (19-63)	80 (67-119)	33 (25-57)	41 (31-74)	0,119
IgEt (mg/dL) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	272 (124-576)	207 (74-538)	165 (115-399)	151 (127-646)	169 (90-582)	0,194
slgE D. pte Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	45 (17-100)	31 (9-101)	70 (11-101)	34 (20-89)	61 (30-101)	0,372
slgE D. Far Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	29 (12-80)	17 (6,6-54)	41 (14-79)	24 (8,8-74)	31 (21-84)	0,273
IgE B. Tro Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	7 (2,1-22)	8 (2,5-19)	6 (5,2-9,6)	9,5 (2-17,5)	4,5 (1-8,5)	0,89
slgE Lepidoglyphus destructor Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	2 (1-6)	3,1 (1,1-8)	4 (3,6-10)	4 (2-8)	2,2 (1,5-16)	0,348
slgE Tyrophagus putrescentiae Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	2,3 (1-8)	2,3 (1,4-5)	1 (1-1,01)	1,6 (0,7-7,5)	2,1	0,409
slgE Acarus siro Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	2 (0,9-7)	4 (3-5)	10 (4,3-35)	5,5 (0,9-11)	23,3	0,129
IgA (mg/dL) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	216,5 (164-285)	204 (150,8-261)	261 (181-331)	224 (193-238)	255 (160-267)	0,333
Eosinófilos sangre (10⁹/L) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	0,3 (0,2-0,5)	0,28 (0,16-0,41)	0,4 (0,3-0,6)	0,5 (0,3-0,6)	0,3 (0,2-0,4)	0,0228
Eosinófilos citología nasal (%) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	40 (10-70)	20 (7,5-60)	45 (33-65)	50 (30-65)	50	0,378
Neutrófilos sangre(10⁹/L) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	2,9 (0,2-3,5)	3,5 (2,6-4,3)	3,9 (3-4,5)	3,6 (2,7-3,9)	4,4 (2,9-5,5)	0,808
AAT (mg/dL) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	138 (123-159)	116 (104-137)	80 (78-87)	89 (86-96)	64 (61,3-70,5)	1,18e-25 [‡]

Nota: *Análisis estadístico Kruskal-Wallis.

‡ Significancia estadística valor p <0,01

RI: rango intercuartil

Tabla 13: comparación de eosinófilos en sangre y en citología nasal entre el genotipo PI*MS y los otros genotipos.

	PI*MS	No PI*MS	p valor*
RECUESTO EOSINÓFILOS SANGRE (mg/dL) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	0,28 (0,16-0,41)	0,3 (0,2-0,5)	0,0067 [‡]
EOSINÓFILOS EXUDADO NASAL (%) Mediana (RI ₂₅₋₇₅)	20 (7,5-60)	40 (10-70)	0,0544

Nota: *Test estadístico Mann Whitney para variables numéricas no paramétricas

‡ Significancia estadística valor p <0,01

RI: rango intercuartil

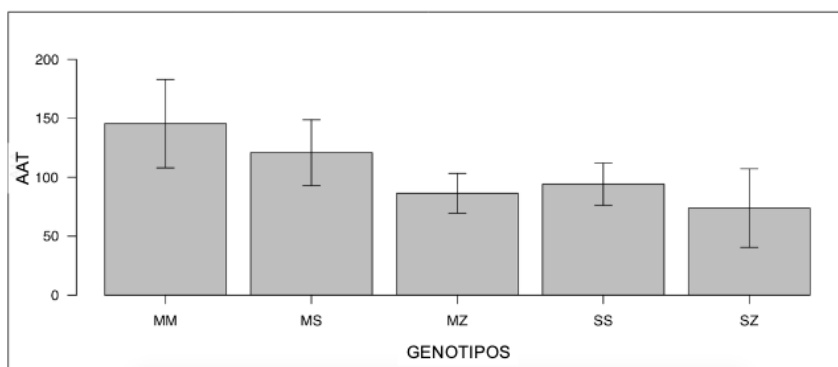


Figura 11: gráfica comparativa de los niveles de AAT entre los diferentes genotipos AAT.

Seleccionando, exclusivamente, a los pacientes asmáticos alérgicos a ácaros del polvo que tenían un déficit cuantitativo de AAT, definido como AAT <100mg, y comparándolo con los diferentes parámetros de los que disponíamos para medir la función respiratoria de los pacientes asmáticos, no encontramos una correlación relevante entre ellos como queda reflejado en la tabla 14.

Tabla 14: correlación entre los niveles séricos de AAT y valores de función respiratoria.

	ATT (mg/dl) coeficiente rho	p valor*
VEMS (ml)	0,0409	0,741
VEMS (%)	-0,0535	0,665
CVF (ml)	-0,0235	0,849
CVF (%)	-0,145	0,24
VEMS/CVF (%)	0,111	0,367
FENO (ppb)	-0,15	0,369

Nota: *Coeficiente de correlación de rango Spearman

Finalmente, en un intento de encontrar alguna asociación entre la presencia de un DAAT y la presencia de asma persistente grave, o bien estudiar si había mayor asociación de algún genotipo de AAT en particular con el desarrollo de asma persistente grave, se llevó a cabo un análisis multivariante y se ajustó para diversos posibles factores de confusión tal y como se puede ver en la tabla 15 sin encontrarse hallazgos significativos.

Tabla 15: estudio de riesgo de desarrollo de asma persistente severo en todos los genotipos AAT, el DSAAT y el DAAT.

	Asma persistente severo OR (95%IC)	p valor*	Corrección multivariable**
PI*MM	1,2700 (0,6-2,69)	0,532	0,864
PI*MS	0,9760 (0,44-2,15)	0,953	0,743
PI*SS	0,00000078 (0-Inf)	0,983	0,991
PI*MZ	0,8910 (0,12-6,92)	0,912	0,993
PI*SZ	0,000000791 (0-Inf)	0,989	0,994
DSAAT	6,3600 (0,57-71,5)	0,134	0,711
DAAT	0,5680 (0,17-1,88)	0,355	0,992

Nota: *Regresión logística binaria. **Ajuste por edad, conjuntivitis, poliposis, ex-fumadores y fumadores pasivos, tratamientos previos con altas dosis de ICS/LABA, todos los valores espirométricos, eosinófilos en sangre y citología nasal, AAT, IgA e IgE a *Acarus siro*.

DSAAT: déficit severo de AAT (AAT <50mg/dl), DAAT (AAT <100mg/dl).

IC: intervalo de confianza

DISCUSIÓN

Se conoce desde hace años la participación de la AAT en el balance entre inflamación y reparación en un pulmón sano, y ello implica la presencia de citoquinas pro y antiinflamatorias, además de la intervención de otras células efectoras del sistema inmunológico (126). Por este motivo, parece lógico esperar que un déficit cuantitativo de AAT pueda ocasionar daño en el epitelio respiratorio derivado de dicho desequilibrio y se ha descrito ampliamente la presencia de enfisema pulmonar en DSAAT (127).

Numerosos autores han sugerido incluso un mayor riesgo de padecer asma ante la presencia de algunos genotipos del gen *SERPINA1*. Eden et al. (128), por ejemplo, tras analizar la prevalencia de asma y atopia en pacientes con DAAT, mostró que el 44% de los pacientes con DAAT estaban diagnosticados de asma siendo más frecuente en los que presentaban el genotipo PI*ZZ; estos valores son incluso superiores a los obtenidos en estudios previos (21% de asmáticos entre los pacientes con DAAT) (129). No obstante, es preciso tener en cuenta que estos valores se obtuvieron a partir de cuestionarios auto cumplimentados por los propios pacientes y la proporción de alérgicos descendía si se les interrogaba y si el diagnóstico de alergia había sido realizado por un médico. Piitulainen y colaboradores (130), en los años 70, llevaron a cabo un cribado neonatal de DAAT en niños nacidos en Suecia y los siguieron cada 4 años; a los 20 años de edad, hicieron una evaluación de estos pacientes y se dieron cuenta de que presentaban síntomas muy similares al asma, como puede ser la presencia de tos, sibilancias y/o disnea al ejercicio, habiendo sido catalogados como asmáticos hasta el 15% de ellos (131).

Sigue sin aclararse, sin embargo, la implicación de niveles bajos de AAT secundarios a mutaciones del gen *SERPINA1* no consideradas como genotipos deficitarios de AAT (PI*MS, PI*SS) a pesar de que, como se ha mencionado previamente, tienen unos niveles en sangre menores a la variante normal (PI*M) (42). Investigadores como McGee et al. (132) sugerían la posibilidad de mayor afectación respiratoria en forma de asma en pacientes con el genotipo PI*SS si bien no pudieron obtener diferencias significativas al compararlo con los pacientes con genotipo PI*MM.

Otros grupos como Miravittles et al. (125), no han encontrado una distribución diferente de los diversos genotipos de AAT en población asmática, sin especificar si es o no alérgica, aunque sí que observaron que los niveles de AAT eran significativamente menores en la población asmática PI*MS comparándola con la PI*MM.

Al utilizar como población a analizar a la de pacientes con asma, es imprescindible indicar si existe sensibilización a aeroalérgenos o no, en especial en el caso de alérgicos a ácaros, dada la importante implicación de sus alérgenos en la inflamación bronquial. Se sabe desde hace años que los ácaros pueden producir inflamación local bronquial por múltiples mecanismos; fundamentalmente a través de la inducción de respuesta alérgica IgE mediada a través de linfocitos CD4+ TH2, pero también son capaces de activar el sistema inmunológico innato como vimos previamente (6). Las vías por las que actúan los componentes moleculares de los ácaros, sobre todo *D. pte.*, y más concretamente los alérgenos del grupo 1 (*Der p 1*), han sido ampliamente descritas con anterioridad (133). Además, se ha observado que, otros alérgenos no considerados mayoritarios como *Der p 3* y *Der p 6*, también pueden contribuir a la respuesta alérgica bronquial ocasionada por ácaros, lo cual complica aún más el conocimiento de la respuesta inflamatoria bronquial (134). Finalmente, por si todo lo anterior no fuera suficiente se ha descrito que los alérgenos de los ácaros del polvo pueden, también, activar directamente los mastocitos sin que sea necesaria una interacción mediada por IgE (135).

Como se ha citado con anterioridad, la AAT se encarga de inhibir a las proteasas de serinas del neutrófilo y de regular la quimiotaxis de neutrófilos de dos formas diferentes: por inhibición de la interacción IL-8 con su receptor CXCR1 y mediante la modulación de la actividad de ADAM17, impidiendo la liberación de los receptores de IgG de baja

afinidad FcγRIIIb (136). Por otro lado, también se ha descrito previamente el bloqueo de AAT por el alérgeno mayor de los ácaros del polvo Der p1 (119).

La mayoría de nuestros pacientes (96,5%) estaban sensibilizados a *D. pte.*, por lo que, basándonos en la información anterior, el efecto antiinflamatorio que ejerce la AAT a nivel bronquial se debería ver afectado en esta población. Era, por tanto, tentador pensar que podía existir una asociación entre el DAAT y la gravedad del asma. Sin embargo, no hemos encontrado una asociación significativa entre DAAT o DSAAT y asma grave, tal y como había descrito van Veen et al. (137) en una cohorte de asma grave exclusivamente, y sin sensibilización a aeroalérgenos, en la cual tampoco pudo observar una mayor presencia de alelos deficitarios para AAT. Una curiosa observación es que ni los valores de IgE ni de sIgE estaban más elevados en los pacientes con asma grave en contra a lo que se ha descrito previamente en España por Dávila y colaboradores (138). En la población estudiada encontramos un aumento de los niveles de IgA en los pacientes con asma severo como ha sido reflejado con anterioridad por el grupo de Kim (139), y es por ello que este factor se incluyó en el análisis multivariante.

La distribución de los diferentes genotipos AAT de nuestros pacientes no difiere de la descrita por varios autores en nuestro país (40,140), y coincide también con lo publicado previamente en pacientes asmáticos (125). Junto a lo anterior, aunque casi un cuarto de los pacientes asmáticos son portadores de al menos un alelo deficitario AAT, no se encontraron características clínicas ni analíticas diferentes a las observada en los pacientes que presentaban el genotipo PI*MM, como se ya se había reflejado previamente en población asmática en general (125) y en población con asma grave en particular (137).

Como cabía esperar, los niveles en sangre de AAT eran menores en los pacientes portadores del alelo Z (47,141), pero no se observó correlación alguna entre los parámetros de función respiratoria y el análisis cuantitativo y genotipos de AAT, como también adelantaban otros grupos de trabajo en población general y en pacientes asmáticos severos (137,142). En un estudio realizado en niños por el grupo de von Ehrenstein y colaboradores (143), aunque no se encontró una relación directa entre los niveles de AAT y el riesgo de desarrollar asma, sí que se objetivó que aquellos niños que tenían concentraciones séricas inferiores de AAT tenían peores parámetros respiratorios, por lo que sugieren que, un desajuste en el control de AAT bronquial, podría deteriorar la función respiratoria. Cabe destacar, sin embargo, que sus conclusiones se basan en un tamaño muestral muy bajo.

En contra a lo que se había descrito previamente, que en pacientes asmáticos no había relación entre los niveles de eosinófilos y los diferentes genotipos de AAT (125), nuestro grupo encontró unos niveles descendidos de eosinófilos en el genotipo PI*MS en comparación con otros genotipos. De la misma manera, se apreció un ligero descenso del porcentaje de eosinófilos en citología nasal en el mismo grupo (PI*MS) aunque no se observó diferencias significativas con otros grupos.

CONCLUSIONES

- En el presente trabajo, realizado en pacientes asmáticos alérgicos a ácaros del polvo, no se ha encontrado un predominio de un genotipo de AAT concreto ni una distribución de genotipos que difiera de la descrita previamente para población normal española.
- Tampoco se ha podido relacionar la severidad de asma con la presencia de DAAT o DSAAT.
- Aunque se observaron ciertas variaciones en los niveles de eosinófilos en sangre periférica y citología nasal en pacientes con el genotipo PI*MS respecto a otros genotipos del gen *SERPINA1*, serían necesarios más estudios que confirmen este hallazgo.

CAPÍTULO III

CAPÍTULO III

Esta última parte del estudio se basa en la observación de niveles muy descendidos de AAT en algunos pacientes que presentan al menos un alelo de variante normal "PI*M". Se decidió reanalizar a todos los pacientes asmáticos que habían sido evaluados para las variantes "S" y "Z" previamente y testar la variante atípica Mmalton. Los resultados están recogidos en la tercera publicación "Alpha-1 antitrypsin deficiency hidden in allegedly normal variants" (144)

Los motivos por los cuales se seleccionó esta variante y no otras variantes atípicas, son los datos publicados previamente que la convierten en una de las variables atípicas más frecuente en España (55) pero sobre todo, por la descripción previa de dicha variante en habitantes de otras islas del archipiélago canario y por los datos que la sitúan en la tercera variante deficitaria de AAT más frecuente en Tenerife, tras los alelos Z y S (145,146).

OBJETIVO

Reanalizar las variantes genéticas en busca de una posible variante genética Mmalton que ha sido descrita en otras áreas de la comunidad canaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio transversal de todos los pacientes que acudieron al servicio de Alergología del Hospital de Gran Canaria Doctor Negrín y que habían participado en el estudio descrito con anterioridad, dando su autorización para la realización de futuras pruebas con su material genético conservado en el servicio de Inmunología del mismo hospital.

Los valores séricos de AAT se midieron mediante nefelometría (BNII, Siemens, Erlangen, Germany). Los genotipos se determinaron mediante reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (RT-PCR) en el dispositivo LigthCycler 2.0, tal y como se ha descrito con anterioridad con ligeras modificaciones (147). El genotipo Mmalton fue confirmado por la secuenciación de Sanger en pacientes homocigotos y heterocigotos para la mutación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio presentado con anterioridad, se reclutaron 648 pacientes, mostrando la gran mayoría al menos un alelo M (628/648- 96,9%). Se procedió a reanalizar la presencia de la variante Mmalton a los 648 pacientes asmáticos alérgicos a ácaros del polvo y se encontró que 3 pacientes (0,46%) tenían dicha mutación en heterocigosis (frecuencia alélica 0,23%). Los datos demográficos, clínicos, analíticos y radiológicos de estos tres pacientes (pacientes 1, 2 y 3) se detallan en la tabla 16. Los familiares directos de la paciente 1 fueron también analizados para niveles séricos de AAT y para el genotipo Mmalton ya que tenían asma y/o rinitis alérgica. Se encontró que uno de los hijos (paciente 4 en tabla 1) tenía niveles muy bajos de AAT y su análisis genético confirmó la presencia de heterocigosis Z-Mmalton cuando previamente se había informado como MZ. Sin embargo, dicho paciente, no fumador, sólo refería síntomas nasales sin afectación bronquial.

Se decidió incluir en el estudio a un paciente no añadido en la base de datos de pacientes asmáticos (paciente 5, tabla 16) dado que su hermana fue diagnosticada de DAAT fuera de las Islas Canarias. Se encontraron niveles extremadamente bajos de AAT (14 mg/dL) y el estudio genético mostró homocigosis para el alelo Mmalton. Sin embargo, este paciente estaba completamente asintomático. Los datos demográficos, clínicos, analíticos y radiológicos se detallan en la tabla 16. Se amplió el estudio familiar a sus descendientes, encontrando que una hija y un hijo tenían heterocigosis S/Mmalton con niveles séricos descendidos de 55 y 49,6 mg/dL. Sin embargo, otra hija e hijo del paciente 5, tenían genotipo M/Mmalton, con niveles de AAT de 77,3 y 87,9 mg/dL. Los detalles de dicha familia se detallan en la figura 12.

Tabla 16: información clínica y analítica de los cinco pacientes portadores de la mutación Mmalton.

	PACIENTE 1	PACIENTE 2	PACIENTE 3	PACIENTE 4 (hijo de P1)	PACIENTE 5
SEXO	Mujer	Mujer	Hombre	Hombre	Hombre
EDAD (años)	59	53	43	25	72
FUMADOR	No	Si (20cig/día)	Si (3-4cig/día)	No	No
AAT (mg/dL)	53,9	90	61	21	14
ESPIROMETRÍA FORZADA	CVF 2950 (106%) VEMS 2530 (109%) VEMS/ CVF 109%	CVF 2780 (85%) VEMS 1940 (68%) VEMS/ CVF 85%	CVF 4000 (95%) VEMS 3470 (86%) VEMS/ CVF 90%	CVF 4760 (105%) VEMS 4450 (119%) VEMS/ CVF 112%	CVF 2600 (84%) VEMS 1640 (69%) VEMS/ CVF 63%
FUNCIÓN HEPÁTICA (U/L) *	AST 18 ALT 17 GGT 17	AST 19 ALT 17 GGT 16	AST 23 ALT 33 GGT 35	AST 23 ALT 23 GGT 13	AST 33 ALT: 14 GGT: 20
TAC TÓRAX	Normal, sin enfisema.	TAC no realizado. Radiografía de tórax normal.	Normal, sin enfisema.	Normal, sin enfisema.	Enfisema paraseptal en lóbulo medio derecho y ambos lóbulos inferiores. Bulla subpleural (4cm)
DIAGNÓSTICO	Asma intermitente	Asma intermitente	Asma persistente leve	Rinitis alérgica. No asma	Asintomático
GENOTIPO ORIGINAL	PI*MS	PI*MM	PI*MM	PI*MZ	PI*MM
NUEVO GENOTIPO	PI*Mmalton/S	PI*Mmalton/M	PI*Mmalton/M	PI*Mmalton/Z	PI*Mmalton/ PI*Mmalton

Nota: *Rango de normalidad: AST 0-41 U/L; ALT 0-40 U/L; GGT 8-61 U/L

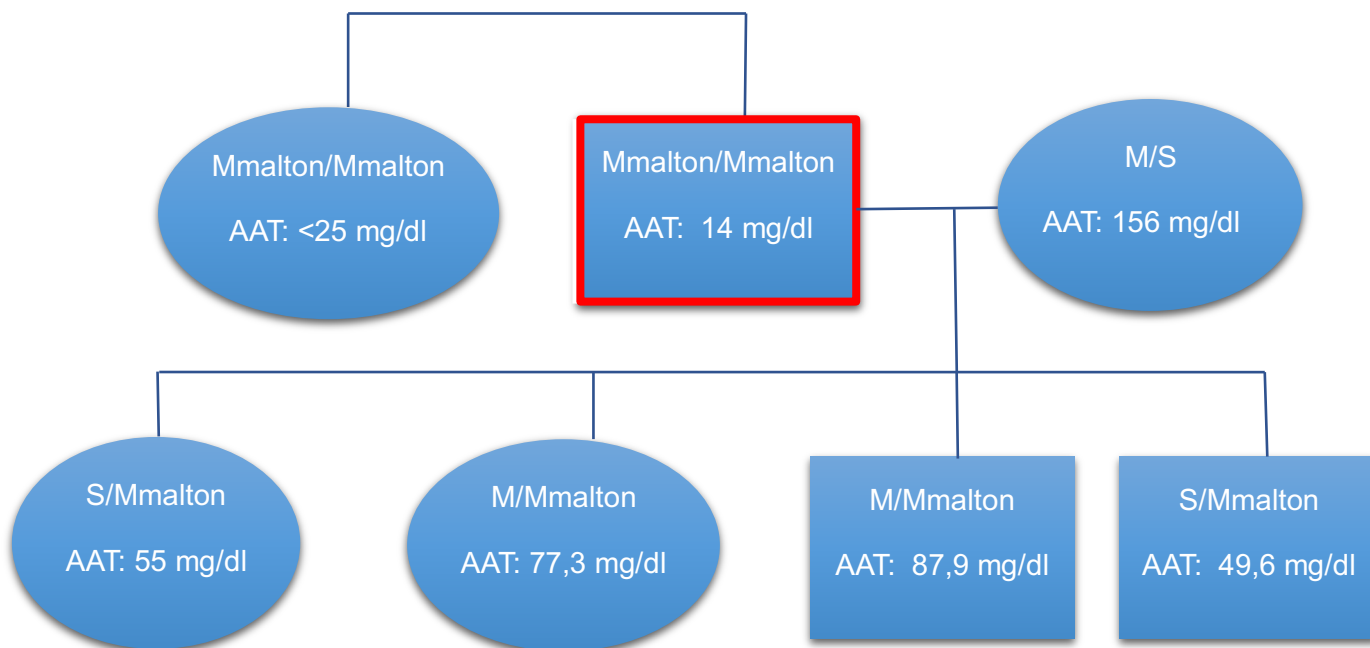


Figura 12: genograma familiares directos del paciente 5.

Según el Registro Español de DAAT (REDAAT), hasta un 4.5% de los pacientes registrados presenta variantes raras de la enfermedad (148). De manera similar, Martínez-Bugallo et al. han descrito previamente la presencia de alrededor de un 7% de variantes raras en población canaria con DAAT y, que hasta el 80% de éstos tiene la mutación Mmalton en el gen *SERPINA1* (149).

En relación a las manifestaciones clínicas que presentaban los pacientes de nuestra serie, es muy variable y poco concordante con los niveles séricos de AAT como han descrito previamente varios grupos de trabajo (58,101). Los tres pacientes asmáticos positivos para Mmalton, identificados en nuestra población de estudio, cumplían criterios de asma leve sin afectación de parénquima pulmonar a pesar de ser 2 de ellos fumadores y tampoco se observó elevación de transaminasas. Los otros dos pacientes incluidos, por estudio familiar, tenían unos niveles extremadamente bajos, pero ambos estaban asintomáticos desde el punto de vista respiratorio, incluso a pesar de detectarse enfisema en uno de ellos.

Estos resultados se asemejan a los publicados por J.M. Figuera Gonçalvez et al. (150) en población canaria estudiada por primera vez para mutación Mmalton con estudio de familiares directos de un paciente afectado en los que se observa una gran heterogeneidad clínica. Difieren ligeramente, sin embargo, de lo publicado con posterioridad por el mismo grupo en el que se habla una mayor repercusión bronquial que hepática, con el 17% de su serie afectados de EPOC (64).

CONCLUSIONES

Aunque es cierto que la mayoría de los pacientes con DAAT presentan mutaciones PI*Z con presencia o no de PI*S, es importante tener en consideración otras variantes raras, sobre todo cuando se observa unos niveles muy descendidos de AAT en suero. Ello va a permitir un diagnóstico temprano más eficiente y la posibilidad de consejo genético en el DAAT. En este sentido, es importante también estudiar siempre a los familiares directos de pacientes con DAAT, ya que la variabilidad clínica de esta patología no nos permite establecer la gravedad del cuadro de familiares y nos facilita el diagnóstico y posterior seguimiento de pacientes asintomáticos no diagnosticados.

CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

CAPÍTULO I:

- La mayoría de los pacientes valorados en la consulta de Alergología del HUGCDN, son alérgicos a ácaros, fundamentalmente a ácaros de polvo del género *Dermatophagoides* seguido de *B. tro*.
- La patología alérgica más frecuente en la población estudiada es la rinitis seguida de asma, siendo el porcentaje de asmáticos mayor al descrito previamente en población similar.
- Comparando los datos actuales con los de “Alergológica 2015”, aunque ambos coinciden en que la Rinitis es la patología alérgica más frecuente, la proporción de población afectada es considerablemente mayor en nuestro estudio. De manera similar ocurre con los pacientes asmáticos. Hay que destacar nuevamente que el número de pacientes sensibilizados a ácaros es llamativamente mayor en la población de estudio con respecto a la analizada en “Alergológica 2015”.

CAPÍTULO II:

- En pacientes asmáticos alérgicos a ácaros del polvo, no se ha encontrado un predominio de un genotipo de AAT concreto ni una distribución de genotipos que difiera de la descrita previamente para población normal española.
- Tampoco se ha podido relacionar la severidad de asma con la presencia de DAAT o DSAAT.
- Aunque se observaron ciertas variaciones en los niveles de eosinófilos en sangre periférica y citología nasal en pacientes con el genotipo PI*MS respecto a otros genotipos del gen *SERPINA1*, serían necesarios más estudios que confirmen este hallazgo.

CAPÍTULO III:

- Aunque es cierto que la mayoría de los pacientes con DAAT presentan mutaciones PI*Z con presencia o no de PI*S, es importante tener en consideración otras variantes raras, sobre todo cuando se observa unos niveles muy descendidos de AAT en suero. Ello va a permitir un diagnóstico temprano más eficiente y la posibilidad de consejo genético en el DAAT.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Carracedo JC. El relieve de las Islas Canarias. Enseñanza de las ciencias de la tierra: Revista de la Asociación Española para la Enseñanza de las Ciencias de la Tierra. 2007;15(2):196-205.
2. Situación, forma y extensión - GEOGRAFÍA FÍSICA - (GEVIC) Gran Enciclopedia Virtual Islas Canarias.
3. Datos climáticos mundiales - Climate-Data.org [Internet]. [citado 25 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://es.climate-data.org/>
4. Pronóstico España - Estado actual del tiempo - woespana.es - WeatherOnline [Internet]. [citado 25 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://www.woespana.es/>
5. Menéndez I, Derbyshire E, Carrillo T, Caballero E, Engelbrecht JP, Romero LE, et al. Saharan dust and the impact on adult and elderly allergic patients: the effect of threshold values in the northern sector of Gran Canaria, Spain. *Int J Environ Health Res.* abril de 2017;27(2):144-60.
6. Calderón MA, Linneberg A, Kleine-Tebbe J, De Blay F, Hernandez Fernandez de Rojas D, Virchow JC, et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? *J Allergy Clin Immunol.* julio de 2015;136(1):38-48.
7. D'Amato G, Holgate ST, Pawankar R, Ledford DK, Cecchi L, Al-Ahmad M, et al. Meteorological conditions, climate change, new emerging factors, and asthma and related allergic disorders. A statement of the World Allergy Organization. *World Allergy Organ J.* 14 de julio de 2015;8(1):1-52.
8. Julià Serdà G, Cabrera Navarro P, Acosta Fernández O, Martín Pérez P, Batista Martín J, Alamo Santana F, et al. High prevalence of asthma symptoms in the Canary Islands: climatic influence? *J Asthma Off J Assoc Care Asthma.* agosto de 2005;42(6):507-11.
9. Wharton GW. House dust mites. *J Med Entomol.* 20 de febrero de 1976;12(6):577-621.
10. Miller JD. The Role of Dust Mites in Allergy. *Clin Rev Allergy Immunol.* diciembre de 2019;57(3):312-29.
11. Víctor Iraola Calvo, Enrique Fernández Caldas et al. Mapa Acarológico de España. Elsevier España, S.L. Travesera de Gracia, 17-21. 08021 Barcelona. España.;
12. WHO/IUIS Allergen Nomenclature Home Page [Internet]. [citado 29 de abril de 2020]. Disponible en: <http://www.allergen.org/>
13. Matos Semedo F, Dorofeeva Y, Pires AP, Tomaz E, Taborda Barata L, Inácio F, et al. Der p 23: Clinical Relevance of Molecular Monosensitization in House Dust Mite Allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2019;29(4):314-6.
14. Posa D, Perna S, Resch Y, Lupinek C, Panetta V, Hofmaier S, et al. Evolution

and predictive value of IgE responses toward a comprehensive panel of house dust mite allergens during the first 2 decades of life. *J Allergy Clin Immunol.* febrero de 2017;139(2):541-549.e8.

15. Erban T, Harant K, Hubert J. Detailed two-dimensional gel proteomic mapping of the feces of the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* and comparison with *D. farinae*: Reduced trypsin protease content in *D. pteronyssinus* and different isoforms. *J Proteomics.* 6 de junio de 2017;162:11-9.

16. Zhang J, Chen J, Robinson C. Cellular and Molecular Events in the Airway Epithelium Defining the Interaction Between House Dust Mite Group 1 Allergens and Innate Defences. *Int J Mol Sci.* 10 de noviembre de 2018;19(11):3549.

17. Chevigné A, Jacquet A. Emerging roles of the protease allergen Der p 1 in house dust mite-induced airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;142(2):398-400.

18. Gandhi VD, Davidson C, Asaduzzaman M, Nahirney D, Vliagoftis H. House dust mite interactions with airway epithelium: role in allergic airway inflammation. *Curr Allergy Asthma Rep.* junio de 2013;13(3):262-70.

19. Jacquet A. The role of innate immunity activation in house dust mite allergy. *Trends Mol Med.* octubre de 2011;17(10):604-11.

20. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy.* enero de 2012;67(1):18-24.

21. Kubo M. Innate and adaptive type 2 immunity in lung allergic inflammation. *Immunol Rev.* 2017;278(1):162-72.

22. Pelletier L, Savignac M. Involvement of ion channels in allergy. *Curr Opin Immunol.* junio de 2018;52:60-7.

23. Delgado-Romero J. *Alergológica 2015* [Internet]. SEAIC. SEFAC. Faes Farma. Vol. Capítulo 4. Draft Grupo de Comunicación Healthcare; 2015. 144-165 p. Disponible en: <http://www.seaic.org/inicio/en-portada/alergologica-2015.html>

24. Juliá-Serdá G, Cabrera-Navarro P, Acosta-Fernández O, Martín-Pérez P, Losada-Cabrera P, García-Bello MA, et al. High prevalence of asthma and atopy in the Canary Islands, Spain. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis.* abril de 2011;15(4):536-41.

25. García Robaina JC, Sánchez Machín I, Fernández-Caldas E, Iraola Calvo V, Vázquez Moncholi C, Bonnet Moreno C, et al. Skin tests and conjunctival and bronchial challenges with extracts of *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus* in patients with allergic asthma and/or rhinoconjunctivitis. *Int Arch Allergy Immunol.* julio de 2003;131(3):182-8.

26. Strnad P, McElvaney NG, Lomas DA. Alpha1-Antitrypsin Deficiency. *N Engl J Med.* 9 de abril de 2020;382(15):1443-55.

27. Lomas DA, Irving JA, Gooptu B. Serpinopathies. In: Strnad P, Brantly ML, Bals R, eds. α 1-Antitrypsin Deficiency (ERS Monograph). Sheff Eur Respir Soc. 2019;6-26.
28. Wood AM, Stockley RA. Alpha one antitrypsin deficiency: from gene to treatment. *Respir Int Rev Thorac Dis*. 2007;74(5):481-92.
29. Laurell CB, Eriksson S. The electrophoretic α 1-globulin pattern of serum in α 1-antitrypsin deficiency. 1963. *COPD*. marzo de 2013;10 Suppl 1:3-8.
30. Veith M, Tüffers J, Peychev E, Klemmer A, Kotke V, Janciauskiene S, et al. The Distribution of Alpha-1 Antitrypsin Genotypes Between Patients with COPD/Emphysema, Asthma and Bronchiectasis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 6 de noviembre de 2020;15:2827-36.
31. Al-Jameil N, Hassan AA, Hassanato R, Isac SR, Otaiby MA, Al-Shareef F, et al. The prevalence of PI*S and PI*Z SERPINA1 alleles in healthy individuals and COPD patients in Saudi Arabia: A case-control study. *Medicine (Baltimore)*. octubre de 2017;96(42):e8320.
32. Tanash HA, Nystedt-Düzakin M, Montero LC, Sveger T, Piitulainen E. The Swedish α 1-Antitrypsin Screening Study: Health Status and Lung and Liver Function at Age 34. *Ann Am Thorac Soc*. junio de 2015;12(6):807-12.
33. Barrecheguren M, Monteagudo M, Simonet P, Llor C, Rodriguez E, Ferrer J, et al. Diagnosis of alpha-1 antitrypsin deficiency: a population-based study. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 10 de mayo de 2016;11:999-1004.
34. Foil KE. Variants of SERPINA1 and the increasing complexity of testing for alpha-1 antitrypsin deficiency. *Ther Adv Chronic Dis*. 2021;12_suppl:20406223211015950.
35. SERPINA1[gene] - ClinVar - NCBI [Internet]. [citado 31 de enero de 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>
36. Blanco I, Fernández E, Bustillo EF. Alpha-1-antitrypsin PI phenotypes S and Z in Europe: an analysis of the published surveys. *Clin Genet*. julio de 2001;60(1):31-41.
37. Blanco I, Bueno P, Diego I, Pérez-Holanda S, Lara B, Casas-Maldonado F, et al. Alpha-1 antitrypsin Pi*SZ genotype: estimated prevalence and number of SZ subjects worldwide. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 8 de junio de 2017;12:1683-94.
38. Martínez-González C, Blanco I, Diego I, Bueno P, Miravittles M. Estimated Prevalence and Number of PiMZ Genotypes of Alpha-1 Antitrypsin in Seventy-Four Countries Worldwide. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 17 de septiembre de 2021;16:2617-30.
39. Greulich T, Nell C, Herr C, Vogelmeier C, Kotke V, Wiedmann S, et al. Results from a large targeted screening program for alpha-1-antitrypsin deficiency: 2003 - 2015. *Orphanet J Rare Dis*. 10 de junio de 2016;11:75.
40. Blanco I, de Serres FJ, Fernandez-Bustillo E, Lara B, Miravittles M. Estimated numbers and prevalence of PI*S and PI*Z alleles of alpha1-antitrypsin deficiency in

European countries. *Eur Respir J.* enero de 2006;27(1):77-84.

41. Chorostowska-Wynimko J, Jezela-Stanek A. Genetic counselling. In: Strnad P, Brantly ML, Bals R, eds. α 1-Antitrypsin Deficiency (ERS Monograph). Sheff Eur Respir Soc. 2019;143-9.
42. American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 de octubre de 2003;168(7):818-900.
43. Brantly M, Campos M, Davis AM, D'Armiento J, Goodman K, Hanna K, et al. Detection of alpha-1 antitrypsin deficiency: the past, present and future. *Orphanet J Rare Dis.* 19 de abril de 2020;15:96.
44. Molloy K, Hersh CP, Morris VB, Carroll TP, O'Connor CA, Lasky-Su JA, et al. Clarification of the risk of chronic obstructive pulmonary disease in α 1-antitrypsin deficiency PiMZ heterozygotes. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 de febrero de 2014;189(4):419-27.
45. Miravittles M, Dirksen A, Ferrarotti I, Koblizek V, Lange P, Mahadeva R, et al. European Respiratory Society statement: diagnosis and treatment of pulmonary disease in α 1-antitrypsin deficiency. *Eur Respir J.* noviembre de 2017;50(5):1700610.
46. Bornhorst JA, Greene DN, Ashwood ER, Grenache DG. α 1-Antitrypsin phenotypes and associated serum protein concentrations in a large clinical population. *Chest.* abril de 2013;143(4):1000-8.
47. Ferrarotti I, Thun GA, Zorzetto M, Ottaviani S, Imboden M, Schindler C, et al. Serum levels and genotype distribution of α 1-antitrypsin in the general population. *Thorax.* agosto de 2012;67(8):669-74.
48. Miravittles M, Herr C, Ferrarotti I, Jardi R, Rodriguez-Frias F, Luisetti M, et al. Laboratory testing of individuals with severe alpha1-antitrypsin deficiency in three European centres. *Eur Respir J.* mayo de 2010;35(5):960-8.
49. Cosio MG, Bazzan E, Rigobello C, Tinè M, Turato G, Baraldo S, et al. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Beyond the Protease/Antiprotease Paradigm. *Ann Am Thorac Soc.* agosto de 2016;13 Suppl 4:S305-310.
50. McCarthy C, Reeves EP, McElvaney NG. The Role of Neutrophils in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Ann Am Thorac Soc.* agosto de 2016;13 Suppl 4:S297-304.
51. Alpha 1-antitrypsin deficiency: memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ.* 1997;75(5):397-415.
52. McElvaney NG, Stoller JK, Buist AS, Prakash UB, Brantly ML, Schluchter MD, et al. Baseline characteristics of enrollees in the National Heart, Lung and Blood Institute Registry of alpha 1-antitrypsin deficiency. Alpha 1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group. *Chest.* febrero de 1997;111(2):394-403.
53. Eden E, Mitchell D, Mehlman B, Khouli H, Nejat M, Grieco MH, et al. Atopy,

asthma, and emphysema in patients with severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med.* julio de 1997;156(1):68-74.

54. Barrecheguren M, Bals R, Miravittles M. Clinical approach to diagnosis and assessment. In: Strnad P, Brantly ML, Bals R, eds. *α1-Antitrypsin Deficiency (ERS Monograph)*. Sheff Eur Respir Soc. 2019;64-77.

55. Rodríguez-Frias F, Miravittles M, Vidal R, Camos S, Jardi R. Rare alpha-1-antitrypsin variants: are they really so rare? *Ther Adv Respir Dis.* abril de 2012;6(2):79-85.

56. Lara B, Blanco I, Martínez MT, Rodríguez E, Bustamante A, Casas F, et al. Spanish Registry of Patients With Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Database Evaluation and Population Analysis. *Arch Bronconeumol.* enero de 2017;53(1):13-8.

57. Rodríguez-Frías F, Vila-Auli B, Homs-Riba M, Vidal-Pla R, Calpe-Calpe JL, Jardi-Margalef R. [Diagnosis of alpha-1 antitrypsin deficiency: limitations of rapid diagnostic laboratory tests]. *Arch Bronconeumol.* agosto de 2011;47(8):415-7.

58. Belmonte I, Barrecheguren M, López-Martínez RM, Esquinas C, Rodríguez E, Miravittles M, et al. Application of a diagnostic algorithm for the rare deficient variant Mmalton of alpha-1-antitrypsin deficiency: a new approach. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2016;11:2535-41.

59. Haq I, Irving JA, Saleh AD, Dron L, Regan-Mochrie GL, Motamedi-Shad N, et al. Deficiency Mutations of Alpha-1 Antitrypsin. Effects on Folding, Function, and Polymerization. *Am J Respir Cell Mol Biol.* enero de 2016;54(1):71-80.

60. Ying QL, Liang ZQ, Zhang ML, Zhou CF. Evidence for the nonpathogenicity of alpha1-antitrypsin variant Etokyo. *Chin Med J (Engl).* marzo de 1984;97(3):211-4.

61. Laffranchi M, Elliston ELK, Gangemi F, Berardelli R, Lomas DA, Irving JA, et al. Characterisation of a type II functionally-deficient variant of alpha-1-antitrypsin discovered in the general population. *PLoS ONE.* 11 de enero de 2019;14(1):e0206955.

62. Miranda E, Pérez J, Ekeowa UI, Hadzic N, Kalsheker N, Gooptu B, et al. A novel monoclonal antibody to characterize pathogenic polymers in liver disease associated with alpha1-antitrypsin deficiency. *Hepatol Baltim Md.* septiembre de 2010;52(3):1078-88.

63. Poller W, Merklein F, Schneider-Rasp S, Haack A, Fechner H, Wang H, et al. Molecular characterisation of the defective alpha 1-antitrypsin alleles PI Mwurzburg (Pro369Ser), Mheerlen (Pro369Leu), and Q0lisbon (Thr68Ile). *Eur J Hum Genet EJHG.* abril de 1999;7(3):321-31.

64. Figueira Gonçalves JM, Martínez Bugallo F, Díaz Pérez D, Martín Martínez MD, García-Talavera I, Pitti Pérez R. Clinical manifestations of the Mmalton alpha-1 antitrypsin deficiency variant. *Pulmonology.* 12 de diciembre de 2017;

65. Curiel DT, Vogelmeier C, Hubbard RC, Stier LE, Crystal RG. Molecular basis of alpha 1-antitrypsin deficiency and emphysema associated with the alpha 1-antitrypsin

- Mmineral springs allele. *Mol Cell Biol.* enero de 1990;10(1):47-56.
66. Matsunaga E, Shiokawa S, Nakamura H, Maruyama T, Tsuda K, Fukumaki Y. Molecular analysis of the gene of the alpha 1-antitrypsin deficiency variant, Mnichinan. *Am J Hum Genet.* marzo de 1990;46(3):602-12.
67. Afonso M, Silva C, Pinho I, Vale A, Fernandes A. A rare mutation on alpha-1 antitrypsin deficit and lung fibrosis: case report. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis Off J WASOG.* 2020;37(4):e2020019.
68. Faber JP, Poller W, Weidinger S, Kirchgesser M, Schwaab R, Bidlingmaier F, et al. Identification and DNA sequence analysis of 15 new alpha 1-antitrypsin variants, including two PI*Q0 alleles and one deficient PI*M allele. *Am J Hum Genet.* diciembre de 1994;55(6):1113-21.
69. Annunziata A, Ferrarotti I, Coppola A, Lanza M, Imitazione P, Spinelli S, et al. Alpha-1 Antitrypsin Screening in a Selected Cohort of Patients Affected by Chronic Pulmonary Diseases in Naples, Italy. *J Clin Med.* 7 de abril de 2021;10(8):1546.
70. Takahashi H, Nukiwa T, Satoh K, Ogushi F, Brantly M, Fells G, et al. Characterization of the gene and protein of the alpha 1-antitrypsin «deficiency» allele Mprocida. *J Biol Chem.* 25 de octubre de 1988;263(30):15528-34.
71. Jardi R, Rodriguez-Frias F, Lopez-Talavera JC, Miravittles M, Cotrina M, Costa X, et al. Characterization of the new alpha-1-antitrypsin-deficient PI M-type allele, PI M(vall d'hebron) (Pro(369)-->Ser). *Hum Hered.* octubre de 2000;50(5):320-1.
72. Coni P, Pili E, Convertino G, Pichiri G, Balestrino A, Delmastro M, et al. MVarallo: a new M(Like) alpha 1-antitrypsin-deficient allele. *Diagn Mol Pathol Am J Surg Pathol Part B.* diciembre de 2003;12(4):237-9.
73. Yuasa I, Umetsu K, Ago K, Iijima K, Nakagawa M, Irizawa Y. Molecular characterization of four alpha-1-antitrypsin variant alleles found in a Japanese population: a mutation hot spot at the codon for amino acid 362. *Leg Med Tokyo Jpn.* diciembre de 2001;3(4):213-9.
74. Owen MC, Brennan SO, Lewis JH, Carrell RW. Mutation of antitrypsin to antithrombin. alpha 1-antitrypsin Pittsburgh (358 Met leads to Arg), a fatal bleeding disorder. *N Engl J Med.* 22 de septiembre de 1983;309(12):694-8.
75. Yuasa I, Sugimoto Y, Ichinose M, Matsumoto Y, Fukumaki Y, Sasaki T, et al. PI*S(iiyama), a deficiency gene of alpha 1-antitrypsin: evidence for the occurrence in western Japan. *Jpn J Hum Genet.* junio de 1993;38(2):185-91.
76. Miranda E, Ferrarotti I, Berardelli R, Laffranchi M, Cerea M, Gangemi F, et al. The pathological Trento variant of alpha-1-antitrypsin (E75V) shows nonclassical behaviour during polymerization. *FEBS J.* julio de 2017;284(13):2110-26.
77. Holmes MD, Brantly ML, Fells GA, Crystal RG. Alpha 1-antitrypsin Wbethesda: molecular basis of an unusual alpha 1-antitrypsin deficiency variant. *Biochem Biophys Res Commun.* 16 de agosto de 1990;170(3):1013-20.

78. Jardi R, Rodriguez F, Miravittles M, Vidal R, Cotrina M, Quer J, et al. Identification and molecular characterization of the new alpha-1-antitrypsin deficient allele PI Y barcelona (Asp256-->Val and Pro391-->His). Mutations in brief no. 174. Online. Hum Mutat. 1998;12(3):213.
79. Weidinger S, Jahn W, Cujnik F, Schwarzfischer F. Alpha-1-antitrypsin: evidence for a fifth PI M subtype and a new deficiency allele PI*Z augsburg. Hum Genet. 1985;71(1):27-9.
80. Whitehouse DB, Abbott CM, Lovegrove JU, McIntosh I, McMahon CJ, Mieli-Vergani G, et al. Genetic studies on a new deficiency gene (PI*Z_{tun}) at the PI locus. J Med Genet. diciembre de 1989;26(12):744-9.
81. Graham A, Kalsheker NA, Bamforth FJ, Newton CR, Markham AF. Molecular characterisation of two alpha-1-antitrypsin deficiency variants: proteinase inhibitor (Pi) Null(Newport) (Gly115----Ser) and (Pi) Z Wrexham (Ser-19----Leu). Hum Genet. octubre de 1990;85(5):537-40.
82. Dickens JA, Lomas DA. Why has it been so difficult to prove the efficacy of alpha-1-antitrypsin replacement therapy? Insights from the study of disease pathogenesis. Drug Des Devel Ther. 2011;5:391-405.
83. Satoh K, Nukiwa T, Brantly M, Garver RI, Hofker M, Courtney M, et al. Emphysema associated with complete absence of alpha 1- antitrypsin in serum and the homozygous inheritance [corrected] of a stop codon in an alpha 1-antitrypsin-coding exon. Am J Hum Genet. enero de 1988;42(1):77-83.
84. Cook L, Janus ED, Brenton S, Tai E, Burdon J. Absence of alpha-1-antitrypsin (Pi Null Bellingham) and the early onset of emphysema. Aust N Z J Med. junio de 1994;24(3):263-9.
85. Fraizer GC, Harrold TR, Hofker MH, Cox DW. In-frame single codon deletion in the Mmalton deficiency allele of alpha 1-antitrypsin. Am J Hum Genet. junio de 1989;44(6):894-902.
86. Zorzetto M, Ferrarotti I, Campo I, Balestrino A, Nava S, Gorrini M, et al. Identification of a novel alpha1-antitrypsin null variant (Q0Cairo). Diagn Mol Pathol Am J Surg Pathol Part B. junio de 2005;14(2):121-4.
87. Brantly M, Lee JH, Hildesheim J, Uhm CS, Prakash UB, Staats BA, et al. alpha1-antitrypsin gene mutation hot spot associated with the formation of a retained and degraded null variant [corrected; erratum to be published]. Am J Respir Cell Mol Biol. marzo de 1997;16(3):225-31.
88. Rosenbaum EM, Chapaton-Rivard E, Overdorf C. Alpha 1 Antitrypsin Deficiency, Two Cases of Heterozygous S and Clayton Null Alleles. Spartan Med Res J. 19 de diciembre de 2017;2(2):6382.
89. Nukiwa T, Takahashi H, Brantly M, Courtney M, Crystal RG. alpha 1-Antitrypsin null Granite Falls, a nonexpressing alpha 1-antitrypsin gene associated with a frameshift to stop mutation in a coding exon. J Biol Chem. 5 de septiembre de

1987;262(25):11999-2004.

90. Sifers RN, Brashears-Macatee S, Kidd VJ, Muensch H, Woo SL. A frameshift mutation results in a truncated alpha 1-antitrypsin that is retained within the roughendoplasmic reticulum. *J Biol Chem.* 25 de mayo de 1988;263(15):7330-5.
91. Takahashi H, Crystal RG. Alpha 1-antitrypsin Null(isola di procida): an alpha 1-antitrypsin deficiency allele caused by deletion of all alpha 1-antitrypsin coding exons. *Am J Hum Genet.* septiembre de 1990;47(3):403-13.
92. Frazier GC, Siewertsen MA, Hofker MH, Brubacher MG, Cox DW. A null deficiency allele of alpha 1-antitrypsin, QO Ludwigshafen, with altered tertiary structure. *J Clin Invest.* diciembre de 1990;86(6):1878-84.
93. Lara B, Martínez MT, Blanco I, Hernández-Moro C, Velasco EA, Ferrarotti I, et al. Severe alpha-1 antitrypsin deficiency in composite heterozygotes inheriting a new splicing mutation QOMadrid. *Respir Res.* 7 de octubre de 2014;15:125.
94. Curiel D, Brantly M, Curiel E, Stier L, Crystal RG. Alpha 1-antitrypsin deficiency caused by the alpha 1-antitrypsin Nullmattawa gene. An insertion mutation rendering the alpha 1-antitrypsin gene incapable of producing alpha 1-antitrypsin. *J Clin Invest.* abril de 1989;83(4):1144-52.
95. Vaz Rodrigues L, Costa F, Marques P, Mendonça C, Rocha J, Seixas S. Severe α -1 antitrypsin deficiency caused by Q0(Ourém) allele: clinical features, haplotype characterization and history. *Clin Genet.* mayo de 2012;81(5):462-9.
96. Rametta R, Nebbia G, Dongiovanni P, Farallo M, Fargion S, Valenti L. A novel alpha1-antitrypsin null variant (PIQ0Milano). *World J Hepatol.* 27 de agosto de 2013;5(8):458-61.
97. Poller W, Faber JP, Weidinger S, Olek K. DNA polymorphisms associated with a new alpha 1-antitrypsin PIQ0 variant (PIQ0riedenburg). *Hum Genet.* marzo de 1991;86(5):522-4.
98. Lee J, Novoradovskaya N, Rundquist B, Redwine J, Saltini C, Brantly M. Alpha 1-antitrypsin nonsense mutation associated with a retained truncated protein and reduced mRNA. *Mol Genet Metab.* abril de 1998;63(4):270-80.
99. Laubach VE, Ryan WJ, Brantly M. Characterization of a human alpha 1-antitrypsin null allele involving aberrant mRNA splicing. *Hum Mol Genet.* julio de 1993;2(7):1001-5.
100. Cox DW. A new deficiency allele of AAT: PI Mmalton. In: Peeters H. *Protides of the biological fluids.* Vol. Volume 23. Oxford: Pergamon; 1975. 375-8 p.
101. Joly P, Guillaud O, Hervieu V, Francina A, Mornex JF, Chapuis-Cellier C. Clinical heterogeneity and potential high pathogenicity of the Mmalton Alpha 1 antitrypsin allele at the homozygous, compound heterozygous and heterozygous states. *Orphanet J Rare Dis [Internet].* 7 de octubre de 2015 [citado 18 de marzo de

2018];10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4596512/>

102. Brantly M, Nukiwa T, Crystal RG. Molecular basis of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Am J Med.* 24 de junio de 1988;84(6A):13-31.
103. Suárez-Lorenzo I, Cruz-Niesvaara D, Rodríguez-Gallego C, Rodríguez de Castro F, Carrillo-Díaz T. Epidemiological Study of the Allergic Population in the North of Gran Canaria. *J Investig Allergol Clin Immunol.* junio de 2018;28(3):212-5.
104. Instituto Canario de estadística. Cifras oficiales de población [Internet]. Disponible en: http://www.gobiernodecanarias.org/istac/temas_estadisticos/demografia/poblacion/cifraspadronales/E30245A.html
105. Sastre-Domínguez J, Ojeda P, Olaguibel-Ribera JM. *Alergológica 2015* [Internet]. SEAIC. SEFAC. Faes Farma. Vol. Capítulo 2. Draft Grupo de Comunicación Healthcare; 2015. 98-121 p. Disponible en: <http://www.seaic.org/inicio/en-portada/alergologica-2015.html>
106. Juliá-Serdá G, Cabrera-Navarro P, Acosta-Fernández O, Martín-Pérez P, García-Bello MA, Antó-Boqué J. Prevalence of sensitization to *Blomia tropicalis* among young adults in a temperate climate. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma.* mayo de 2012;49(4):349-54.
107. Sánchez-Lerma B, Morales-Chirivella FJ, Peñuelas I, Blanco Guerra C, Mesa Lugo F, Aguinaga-Ontoso I, et al. High prevalence of asthma and allergic diseases in children aged 6 to [corrected] 7 years from the Canary Islands. [corrected]. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2009;19(5):383-90.
108. Asher MI, García-Marcos L, Pearce NE, Strachan DP. Trends in worldwide asthma prevalence. *Eur Respir J.* diciembre de 2020;56(6).
109. Alvarez MJ, Olaguibel JM, Acero S, Quirce S, García BE, Carrillo T, et al. Indoor allergens and dwelling characteristics in two cities in Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol.* diciembre de 1997;7(6):572-7.
110. Virost E, Godet J, Khayath N, Ott M, Dazy A, de Blay F. Cluster analysis of indoor environmental factors associated with symptoms of mite allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol.* 6 de junio de 2019;
111. Sensitization to dust mite defines different phenotypes of asthma: A multicenter study. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 29 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28783215>
112. Bakolis I, Heinrich J, Zock JP, Norbäck D, Svanes C, Chen CM, et al. House dust-mite allergen exposure is associated with serum specific IgE but not with respiratory outcomes. *Indoor Air.* 1 de junio de 2015;25(3):235-44.
113. Willis-Owen SAG, Cookson WOC, Moffatt MF. The Genetics and Genomics of Asthma. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 31 de agosto de 2018;19(1):223-46.
114. Huang MT, Chiu CJ, Chiang BL. Multi-Faceted Notch in Allergic Airway

Inflammation. *Int J Mol Sci.* 17 de julio de 2019;20(14).

115. Saeki M, Nishimura T, Kitamura N, Hiroi T, Mori A, Kaminuma O. Potential Mechanisms of T Cell-Mediated and Eosinophil-Independent Bronchial Hyperresponsiveness. *Int J Mol Sci.* 18 de junio de 2019;20(12).

116. Kytikova O, Novgorodtseva T, Denisenko Y, Antonyuk M, Gvozdenko T. Pro-Resolving Lipid Mediators in the Pathophysiology of Asthma. *Med Kaunas Lith.* 18 de junio de 2019;55(6).

117. Feketea G, Bocsan CI, Popescu C, Gaman M, Stanciu LA, Zdrenghea MT. A Review of Macrophage MicroRNAs' Role in Human Asthma. *Cells.* 08 de 2019;8(5).

118. Kaczmarek KA, Clifford RL, Knox AJ. Epigenetic Changes in Airway Smooth Muscle as a Driver of Airway Inflammation and Remodeling in Asthma. *Chest.* 2019;155(4):816-24.

119. Kalsheker NA, Deam S, Chambers L, Sreedharan S, Brocklehurst K, Lomas DA. The house dust mite allergen Der p1 catalytically inactivates alpha 1-antitrypsin by specific reactive centre loop cleavage: a mechanism that promotes airway inflammation and asthma. *Biochem Biophys Res Commun.* 5 de abril de 1996;221(1):59-61.

120. Suárez-Lorenzo I, de Castro FR, Cruz-Niesvaara D, Herrera-Ramos E, Rodríguez-Gallego C, Carrillo-Diaz T. Alpha 1 antitrypsin distribution in an allergic asthmatic population sensitized to house dust mites. *Clin Transl Allergy.* 2018;8:44.

121. Plaza Moral V, Comité Ejecutivo de GEMA. [GEMA(4.0). Guidelines for Asthma Management]. *Arch Bronconeumol.* enero de 2015;51 Suppl 1:2-54.

122. Ahsen N von, Oellerich M, Schütz E. Use of Two Reporter Dyes without Interference in a Single-Tube Rapid-Cycle PCR: α 1-Antitrypsin Genotyping by Multiplex Real-Time Fluorescence PCR with the LightCycler. *Clin Chem.* 1 de febrero de 2000;46(2):156-61.

123. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. [Internet]. Vienna, Austria.: R Foundation for Statistical Computing,; 2017. Disponible en: <https://www.R-project.org/>

124. Mincheva R, Ekerljung L, Bossios A, Lundbäck B, Lötvall J. High prevalence of severe asthma in a large random population study. *J Allergy Clin Immunol.* 19 de septiembre de 2017;

125. Miravittles M, Vilà S, Torrella M, Balcells E, Rodríguez-Frías F, de la Roza C, et al. Influence of deficient alpha1-anti-trypsin phenotypes on clinical characteristics and severity of asthma in adults. *Respir Med.* marzo de 2002;96(3):186-92.

126. Stockley RA. The multiple facets of alpha-1-antitrypsin. *Ann Transl Med.* junio de 2015;3(10):130.

127. Tejwani V, Stoller JK. The spectrum of clinical sequelae associated with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Ther Adv Chronic Dis.* 29 de julio de 2021;12_suppl:2040622321995691.

128. Eden E, Strange C, Holladay B, Xie L. Asthma and allergy in alpha-1 antitrypsin deficiency. *Respir Med.* agosto de 2006;100(8):1384-91.
129. Eden E, Hammel J, Rouhani FN, Brantly ML, Barker AF, Buist AS, et al. Asthma features in severe alpha1-antitrypsin deficiency: experience of the National Heart, Lung, and Blood Institute Registry. *Chest.* marzo de 2003;123(3):765-71.
130. Piitulainen E, Sveger T. Respiratory symptoms and lung function in young adults with severe alpha(1)-antitrypsin deficiency (PiZZ). *Thorax.* agosto de 2002;57(8):705-8.
131. Piitulainen E, Montero LC, Nystedt-Düzakin M, Stoel BC, Sveger T, Wollmer P, et al. Lung Function and CT Densitometry in Subjects with alpha-1-Antitrypsin Deficiency and Healthy Controls at 35 Years of Age. *COPD.* abril de 2015;12(2):162-7.
132. McGee D, Schwarz L, McClure R, Peterka L, Rouhani F, Brantly M, et al. Is PiSS Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Associated with Disease? *Pulm Med.* 2010;2010:570679.
133. Bouche-careilh M, Balch WE. Proteostasis, an emerging therapeutic paradigm for managing inflammatory airway stress disease. *Curr Mol Med.* agosto de 2012;12(7):815-26.
134. Jacquet A, Campisi V, Szpakowska M, Dumez ME, Galleni M, Chevigné A. Profiling the Extended Cleavage Specificity of the House Dust Mite Protease Allergens Der p 1, Der p 3 and Der p 6 for the Prediction of New Cell Surface Protein Substrates. *Int J Mol Sci.* 27 de junio de 2017;18(7).
135. Takai T, Ikeda S. Barrier dysfunction caused by environmental proteases in the pathogenesis of allergic diseases. *Allergol Int Off J Jpn Soc Allergol.* marzo de 2011;60(1):25-35.
136. Bergin DA, Reeves EP, Meleady P, Henry M, McElvaney OJ, Carroll TP, et al. α -1 Antitrypsin regulates human neutrophil chemotaxis induced by soluble immune complexes and IL-8. *J Clin Invest.* diciembre de 2010;120(12):4236-50.
137. van Veen IH, ten Brinke A, van der Linden AC, Rabe KF, Bel EH. Deficient alpha-1-antitrypsin phenotypes and persistent airflow limitation in severe asthma. *Respir Med.* septiembre de 2006;100(9):1534-9.
138. Davila I, Valero A, Entrenas LM, Valveny N, Herráez L, SIGE Study Group. Relationship between serum total IgE and disease severity in patients with allergic asthma in Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2015;25(2):120-7.
139. Kim WJ, Choi IS, Kim CS, Lee JH, Kang HW. Relationship between serum IgA level and allergy/asthma. *Korean J Intern Med.* enero de 2017;32(1):137-45.
140. Blanco I, Fernández-Bustillo E, de Serres FJ, Alkassam D, Rodríguez Menéndez C. [PI*S and PI*Z alpha 1-antitrypsin deficiency: estimated prevalence and number of deficient subjects in Spain]. *Med Clin (Barc).* 4 de diciembre de 2004;123(20):761-5.

141. Zorzetto M, Russi E, Senn O, Imboden M, Ferrarotti I, Tinelli C, et al. SERPINA1 gene variants in individuals from the general population with reduced alpha1-antitrypsin concentrations. *Clin Chem*. agosto de 2008;54(8):1331-8.
142. Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, Barbee RA. A longitudinal study of alpha1-antitrypsin phenotypes and decline in FEV1 in a community population. *Chest*. mayo de 2003;123(5):1435-40.
143. von Ehrenstein OS, Maier EM, Weiland SK, Carr D, Hirsch T, Nicolai T, et al. Alpha1 antitrypsin and the prevalence and severity of asthma. *Arch Dis Child*. marzo de 2004;89(3):230-1.
144. Suárez-Lorenzo I, Hernández-Brito E, Almeida-Quintana L, Llanos CG de, González-Quevedo N, Carrillo-Díaz T, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency hidden in allegedly normal variants. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma*. 13 de julio de 2021;1-4.
145. Martínez Bugallo F, Figueira Gonçalves JM, Martín Martínez MD. Molecular Detection of the Frequent Allele F52del in Alpha 1 Antitrypsin Deficiency. *Arch Bronconeumol*. abril de 2018;54(4):236.
146. Martínez Bugallo F, Figueira Gonçalves JM, Martín Martínez MD, Díaz Pérez D. Espectro de mutaciones deficitarias de alfa-1 antitripsina detectadas en Tenerife. *Arch Bronconeumol*. 1 de octubre de 2017;53(10):595-6.
147. Orrù G, Faa G, Pillai S, Pilloni L, Montaldo C, Pusceddu G, et al. Rapid PCR real-time genotyping of M-Malton alpha1-antitrypsin deficiency alleles by molecular beacons. *Diagn Mol Pathol Am J Surg Pathol Part B*. diciembre de 2005;14(4):237-42.
148. Lara B, Miravittles M. Spanish Registry of Patients With Alpha-1 Antitrypsin Deficiency; Comparison of the Characteristics of PISZ and PIZZ Individuals. *COPD*. mayo de 2015;12 Suppl 1:27-31.
149. Martínez Bugallo F, Figueira Gonçalves JM, Martín Martínez MD, Díaz Pérez D. Spectrum of Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Mutations Detected in Tenerife. *Arch Bronconeumol*. octubre de 2017;53(10):595-6.
150. Figueira Gonçalves JM, Martínez Bugallo F, Díaz Pérez D, Martín Martínez MD, García-Talavera I. Alpha-1 antitrypsin deficiency associated with the Mmalton variant. Description of a family. *Arch Bronconeumol*. diciembre de 2016;52(12):617-8.

ANEXOS

ANEXO I: hoja de recogida de datos de los pacientes

FICHA RECOGIDA DATOS CLÍNICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS ESTUDIO ALERGIA/ASMA

NOMBRE: ESP/ CAUCASICO; ♂ // ♀	F. NAC:	Nº Hª Cª:
FECHA ESTUDIO: Fecha 1º estudio:		
Peso:	Talla:	Otros:
TRATAMIENTO (1º visita): A-H1 CO s/n A-H1 s/n B2AAC B2AAL Antileucot. Colirios-AH		
CO inh DB - CO inh DM - CO inh DA CO inh DB+B2AAL - CO inh DA+B2AAL- CO inh DM+B2AAL		
CO.oral OMALIZUMAB ITE Teofilinas		
TRATAMIENTO (Visita día estudio):		
sin cambios <input type="checkbox"/> modificado <input type="checkbox"/>		
A-H1 CO s/n A-H1 s/n B2AAC B2AAL Antileucot. Colirios-AH		
CO inh DB - CO inh DM - CO inh DA CO inh DB+B2AAL - CO inh DA+B2AAL- CO inh DM+B2AAL		
CO.oral OMALIZUMAB ITE Teofilinas		
CONJUNTIVITIS: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>		
RINITIS: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> INTERMITENTE <input type="checkbox"/> PERSISTENTE <input type="checkbox"/> // LEVE <input type="checkbox"/> MODERADO <input type="checkbox"/> GRAVE <input type="checkbox"/>		
ASMA: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> INTERMITENTE <input type="checkbox"/> PERSISTENTE <input type="checkbox"/> // LEVE <input type="checkbox"/> MODERADO <input type="checkbox"/> GRAVE <input type="checkbox"/>		
POLIPOSIS: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> SINUSITIS CRÓNICA.: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> BRONQUITIS CRÓNICA.: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>		
INTOLERANCIA A AINES NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> D. ATÓP.: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>		
ALERGIA A ALIMENTOS NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> VEGETALES <input type="checkbox"/> MARISCOS <input type="checkbox"/> OTROS <input type="checkbox"/>		
ANAFILAXIA POR HARINAS: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> OTROS EPIS. DE ANAFILAXIA: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>		
TABAQUISMO NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> Cigarrillos día: Fumador pasivo: NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/>		
PARÁMETROS BIOLÓGICOS Y ESTUDIOS FUNCIONALES:		
Hb: _____; Leuco: _____ Neut _____; Neut _____% Linfo _____; Linfo _____% Monoci: _____; Mon: _____%; Eosinof _____ Eos _____% Cito exud nasal: _____%		
IgG _____; IgM _____ IgA _____; IgE.T _____ A1A.: _____ mg/dL		
Genética Alpha 1-AT (M/S/Z): Negativo MM Portador: MS MZ SS SZ /// ZZ		
EFR: Normal <input type="checkbox"/> ; Restricción leve <input type="checkbox"/> ; mod <input type="checkbox"/> ; grave <input type="checkbox"/> Obstrucción leve <input type="checkbox"/> ; mod <input type="checkbox"/> ; grave <input type="checkbox"/>		
FVC : _____ % ; FEV1 : _____ % ; I. Tiffeneau : _____ %;		
NIOX: _____		
Test de Broncodilatación NO <input type="checkbox"/> (+) <input type="checkbox"/> (-) <input type="checkbox"/> // Metacolina: NO <input type="checkbox"/> (+) <input type="checkbox"/> (-) <input type="checkbox"/>		
IgE específicas y pruebas cutáneas en prick: en KU/L		
Dp: _____; Df _____; A.sir: _____ Lepi d.: _____; Tyr p.: _____; E.may: _____; B.Tro: _____; Olea eur: _____ Loli per: _____; Art vulg.: _____; Plumas.: _____; D.perro: _____; D.gato: _____; D.cone: _____; D.cucar: _____; D.cab: _____; Látex: _____		
Prick (+) frente ácaros del polvo doméstico No <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> . ¿Cuáles?		
Prick (+) frente ácaros del depósito No <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> . ¿Cuáles? + Blomia		
Prick (+) frente a hongos No <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> . ¿Cuáles? ◆.....		
Prick (+) frente a pólenes No <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> . ¿Cuáles?		
Prick (+) frente a látex No <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> . ¿Cuáles?		
Prick (+) frente epitelios animales No <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> . ¿Cuáles?		
Prick (+) frente alimentos No <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> . ¿Cuáles?		
Nuevas sensibilizaciones tras último estudio: Es 1 estudio <input type="checkbox"/> ; No <input type="checkbox"/> ; Si <input type="checkbox"/> ¿Cuáles?.....		
CELIAQUÍA: NO <input type="checkbox"/> ; SI <input type="checkbox"/> ; DESC <input type="checkbox"/>		
NEUMONÍA PREVIA: NO <input type="checkbox"/> ; SI <input type="checkbox"/> ; DESC <input type="checkbox"/> ; Cuantas.....		
INFECC. RESPIRATORIAS DE REPETICION (>3/AÑO): NO <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO CONOCIDO <input type="checkbox"/>		
Infecciones relevantes (tipo, recurrencia): _____		
Otras enfermedades.....		

ANEXO II: primera publicación

Epidemiological Study of the Allergic Population in the North of Gran Canaria

Suárez-Lorenzo I¹, Cruz-Niesvaara D², Rodríguez-Gallego C³, Rodríguez de Castro F⁴, Carrillo-Díaz T⁵

¹Doctoral Program in Biomedicine, Doctoral School, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

²Allergy Unit, Hospital General de Fuerteventura, Puerto del Rosario, Spain

³Immunology Unit, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

⁴Pneumology Unit, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

⁵Allergy Unit, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Spain

J Invest Allergol Clin Immunol 2018; Vol. 28(3): XX-XX
doi: 10.18176/jiaci.0253

Key words: Sensitization profile. Allergic diseases. Asthma. Rhinitis. House dust mites.

Palabras clave: Perfil de sensibilización. Enfermedades alérgicas. Asma. Rinitis. Ácaros de polvo doméstico.

The prevalence of allergic diseases has increased considerably around the world during the last few decades. Although many factors contribute to this increase, climate change is one of the most important [1]. Gran Canaria is a volcanic island located off the western coast of North Africa. It is close to the Sahara Desert—a major source of natural mineral particles—and is impacted by Saharan dust for around 30% of the year [2]. The weather on the island is hot and humid, resulting in a high prevalence of allergic asthma [3]. Reliable data on other allergic conditions are scarce. Likewise, the sensitization profile of patients from the Canary Islands has never been compared with patients from other parts of Spain.

We conducted a descriptive, retrospective study from January 2010 through December 2012. The study population comprised all patients over the age of 14 attended at 1 of the 6 outpatient clinics of the Allergy Department at Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín and who agreed to participate in the study. According to the latest government statistics, the Canary Islands have 2,118,519 inhabitants, of whom 845,676 live on Gran Canaria Island (40%). Our hospital is the core health center for the north of Gran Canaria, covering the needs of 336,000 people. In this study, we present demographic and clinical data and compare them with those reported in “Alergológica 2015”, a multicenter descriptive and prospective study performed in Spain [4]. Patients underwent skin prick tests (SPT) with extracts of mite, animal dander, molds, latex, and pollens (ALK Abelló). A positive SPT was defined as a mean wheal diameter of at least 3 mm [5]. Total and specific serum IgE levels (ImmunoCap, Phadia) were

determined. Qualitative variables were expressed as frequency and percentages, and quantitative variables as mean (SD). The χ^2 test was used for between-group comparisons. The consent of the Spanish Society of Allergy and Clinical Immunology (SEAIC) was requested for analysis of variables from the “Alergológica 2015” study. All analyses were performed using the R Project (Version 1.0.153). A P value <0.05 was considered significant.

During the study period, 1022 allergic patients were recruited. The mean (SD) age was almost identical in our series and in the Alergológica 2015 survey (32 [13] years and 33.6 [19] years, respectively). Most patients were females in both studies (66.4% and 58%, respectively). A total of 986 patients (96.6%) had rhinitis. The prevalence of persistent rhinitis (85.5%) was significantly higher than that reported in Alergológica 2015 (66%, $P=0.00149$). As for severity, 667 patients (65.3%) were classified as having mild rhinitis and 299 (29.3%) moderate rhinitis. Only 18 patients (1.8%) had a severe form of the disease. The number of patients with allergic conjunctivitis was moderately low (184 [18%]). Nevertheless, there was a significant difference between the proportion of patients with rhinitis or conjunctivitis in the study population (96.6%) and that reported in Alergológica 2015 (62%, $P=0.0241$). The percentage of patients with asthma was also higher in our series (69.6%) than in Alergológica 2015 (23.4%, $P=0.0147$). According to the Spanish guidelines GEMA4.2 [6], patients were classified as having intermittent (37.5%) and persistent asthma (62.5%). Only 15.9% had severe asthma; this percentage was slightly lower than those reported in the literature [7]. No significant differences were found in the percentage of patients with atopic dermatitis (29 [2.8%]) and food allergy (125 [12.2%]) compared with Alergológica 2015. Around 6% of the study population had had an anaphylactic reaction, mostly triggered by food (60%) and by ingestion of mite-contaminated flour (30.6%), followed by drugs (16.1%) and latex (1.2%). No specific triggers could be found in 8.1% of cases. The proportion of positive SPT results and determination of specific IgE to each allergen, as well as the mean value of specific IgE, are shown in the Table. The percentage of positive SPT results for house dust mite (HDM) was remarkably high. The mean values of specific IgE to HDM were also elevated in comparison with other allergens. Likewise, the segment of the Canarian population sensitized to *Blomia tropicalis* was significantly higher (71.9% in SPT and 65% in IgE) than percentages published by others in the same type of population (29.9% for SPT) [8].

This study shows a higher prevalence of persistent rhinitis and asthma in our series than in the population of the Spanish mainland, probably owing to the high exposure to perennial allergens as a consequence of the meteorological conditions in the Canary Islands [1]. These conditions promote the development of mites, thus explaining the high frequency of positive results with HDM allergy tests observed in our study [9]. Similarly, the high serum levels of specific IgE against HDM in comparison with other allergens tested might also be related to the high exposure to indoor allergens of the Canarian population, as previously suggested [10]. Our findings also confirmed *Blomia tropicalis* to be a prevalent antigen in this population [8], and a higher proportion of

Table. Results of Allergen Testing

Allergen	Positive SPT, No. (%)	Positive IgE Test, No. (%)	Mean (SD) IgE
House dust mites	900 (88.2)		
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	886 (86.8)	873 (85.5)	46.8 (41.1)
<i>Dermatophagoides farinae</i>	876 (85.8)	830 (81.3)	37.57 (35.1)
<i>Euroglyphus maynei</i>	605 (59.3)	114 (11.2)	8.83 (11.5)
Storage mites	769 (75.3)		
<i>Blomia tropicalis</i>	734 (71.9)	664 (65)	13.5 (20.5)
<i>Acarus siro</i>	394 (38.6)	178 (17.4)	8.14 (21.6)
<i>Lepidoglyphus destructor</i>	568 (55.6)	481 (47.1)	5.07 (10.1)
<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	584 (57.2)	460 (45.1)	5.25 (9.5)
Animal epithelium	514 (50.3)		
Dog	363 (35.6)	250 (24.5)	8.09 (20.3)
Cat	377 (36.9)	270 (26.4)	8.84 (19)
Rabbit	52 (5.1)	15 (1.5)	4.5 (9.2)
Horse	50 (4.9)	22 (2.2)	3.7 (4.7)
Feathers	8 (0.8)	4 (0.4)	0.31 (0.1)
Cockroach	80 (7.8)	26 (2.6)	3.81 (8.1)
Hamster	1 (0.2)	–	–
Pollens	152 (14.9)		
<i>Artemisia vulgaris</i>	82 (8)	52 (5.1)	5.62 (14.4)
<i>Olea europaea</i>	66 (6.5)	37 (3.6)	4.52 (7.5)
<i>Lolium perenne</i>	51 (5)	–	–
Other ^a	26 (2.6)	–	–
Latex	12 (1.2)	8 (0.8)	3.84 (2.9)
Molds	27 (2.6)		
<i>Alternaria</i>	15 (1.6)	–	–
<i>Aspergillus</i>	10 (1)	–	–
<i>Cladosporium</i>	3 (0.4)	–	–
<i>Penicillium</i>	2 (0.2)	–	–
Food	139 (13.6)		
Dry fruits	36 (3.5)	–	–
Egg	7 (0.7)	–	–
Fish	4 (0.4)	–	–
Fruits	32 (3.1)	–	–
LTP	6 (0.6)	–	–
Milk	2 (0.2)	–	–
Seafood	62 (6.1)	–	–
Other foods	12 (1.2)	–	–

Abbreviation: SPT, skin prick test.

^aIncludes *Parietaria judaica*, *Poa pratensis*, *Chrysanthemum species*, *Taraxacum species*, *Anthoxanthum odoratum*, *Salsola species*, and *Phoenix canariensis*.

positive allergy tests was observed. Since this type of mite has clearly been associated with warm environments, its presence is likely to increase further in the Canary Islands in the coming years.

The main limitation of our study is that only those patients attended at a tertiary reference hospital were included. Therefore, allergic patients followed up in primary care facilities or private clinics were not registered, as opposed to Alergológica 2015, which included outpatient units and private clinics. Additionally, our study design is different from that of Alergológica 2015; therefore, they are not strictly comparable.

As a consequence, a selection bias cannot be ruled out, and our study may not actually represent the whole allergic population from Gran Canaria Island.

To our knowledge, this is the first study to analyze the complete sensitization profile of allergic patients in the Canary Islands, as well as the proportion of allergic diseases attended at a specialized service. Allergy and development of asthma are considerably affected by climate changes. Most studies on allergens and climate changes focus on pollens and molds [11]. Our study not only showed sensitization to HDM to be more common in warm areas than in lower-

temperature areas with a similar socioeconomic profile, but also highlighted the increased risk of developing persistent rhinitis and asthma with rising temperatures in developed countries.

Funding

The authors declare that no funding was received for the present study.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

References

1. D'Amato G, Holgate ST, Pawankar R, Ledford DK, Cecchi L, Al-Ahmad M, et al. Meteorological conditions, climate change, new emerging factors, and asthma and related allergic disorders. A statement of the World Allergy Organization. *World Allergy Organ J* [Internet]. 2015 Jul 14 [cited 2017 Nov 18];8(1):1-52. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4499913/>
2. Menéndez I, Derbyshire E, Carrillo T, Caballero E, Engelbrecht JP, Romero LE, et al. Saharan dust and the impact on adult and elderly allergic patients: the effect of threshold values in the northern sector of Gran Canaria, Spain. *Int J Environ Health Res*. 2017 Apr;27(2):144-60.
3. Julià Serdà G, Cabrera Navarro P, Acosta Fernández O, Martín Pérez P, Batista Martín J, Alamo Santana F, Rodríguez de Castro F, Antó Boqué JM. High prevalence of asthma symptoms in the Canary Islands: climatic influence? *J Asthma*. 2005 Aug;42(6):507-11.
4. de la Hoz-Caballero B. (Chapter 8). *Alergológica 2015* [Internet]. SEaic. SEFAC. Faes Farma. Draft Grupo de Comunicación Healthcare; 2015. 352 p. Available from: <http://www.seaic.org/inicio/en-portada/alergologica-2015.html>
5. Heinzerling L, Mari A, Bergmann K-C, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, et al. The skin prick test - European standards. *Clin Trans Allergy* [Internet]. 2013 Feb 1 [cited 2017 Nov 18];3:3. Available from: <https://doi.org/10.1186/2045-7022-3-3>
6. GEMA4.2 [Internet]. Gemasma. 2017. Available from: <https://www.gemasma.com/gema4-2-la-nueva-actualizacion-de-gema/>
7. Peters SP, Ferguson G, Deniz Y, Reisner C. Uncontrolled asthma: A review of the prevalence, disease burden and options for treatment. *Respiratory Medicine* [Internet]. 2006 Jul 1 [cited 2017 Nov 18];100(7):1139-51. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0954611106001788>
8. Julià-Serdà G, Cabrera-Navarro P, Acosta-Fernández O, Martín-Pérez P, García-Bello MA, Antó-Boqué J. Prevalence of sensitization to *Blomia tropicalis* among young adults in a temperate climate. *J Asthma*. 2012 May;49(4):349-54.
9. Artian LG, Platts-Mills TA. The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Mar;107(3 Suppl):S406-13.
10. Bakolis I, Heinrich J, Zock JP, Norbäck D, Svanes C, Chen CM, et al. House dust-mite allergen exposure is associated with serum specific IgE but not with respiratory outcomes. *Indoor*

Air [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2017 Nov 18];25(3):235-44. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com.ezproxy.lib.ucalgary.ca/doi/10.1111/ina.12137/abstract>

11. D'Amato G, Vitale C, Lanza M, Molino A, D'Amato M. Climate change, air pollution, and allergic respiratory diseases: an update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2016 Oct;16(5):434-40.

■ Manuscript received December 29, 2017; accepted or publication March 6, 2018.

Isadora Suárez Lorenzo

Doctoral Program in Biomedicine
Doctoral School, Universidad de Las Palmas de Gran
Canaria (ULPGC)
Postgraduate and Doctoral Unit - Camino Real de San
Roque, 1
35015 Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas, Spain
E-mail: isadora.suarez101@alu.ulpgc.es

RESEARCH

Open Access



Alpha 1 antitrypsin distribution in an allergic asthmatic population sensitized to house dust mites

I. Suárez-Lorenzo^{1*}, F. Rodríguez de Castro², D. Cruz-Niesvaara³, E. Herrera-Ramos⁴, C. Rodríguez-Gallego⁴ and T. Carrillo-Díaz⁵**Abstract**

Background and objective: Severe alpha 1 antitrypsin deficiency has been clearly associated with pulmonary emphysema, but its relationship with bronchial asthma remains controversial. Some deficient alpha 1 antitrypsin (AAT) genotypes seem to be associated with asthma development. The objective of this study was to analyze the distribution of AAT genotypes in asthmatic patients allergic to house dust mites (HDM), and to assess a possible association between these genotypes and severe asthma.

Methods: A cross-sectional cohort study of 648 patients with HDM allergic asthma was carried out. Demographic, clinical and analytical variables were collected. Pi*S and Pi*Z AAT deficient alleles of the SERPINA1 gene were assayed by real-time PCR.

Results: Asthma was intermittent in 253 patients and persistent in 395 patients (246 mild, 101 moderate and 48 severe). One hundred and forty-five asthmatic patients (22.4%) with at least one mutated allele (S or Z) were identified. No association between the different genotypes and asthma severity was found. No significant differences in all clinical and functional tests, as well as nasal eosinophils, IgA and IgE serum levels were observed. Peripheral eosinophils were significantly lower in patients with the Pi*MS genotype ($p = 0.0228$). Neither association between deficient AAT genotypes or serum ATT deficiency (AATD) and development of severe asthma, or correlation between ATT levels and FEV1 was observed.

Conclusion: In conclusion, the distribution of AAT genotypes in HDM allergic asthmatic patients did not differ from those found in Spanish population. Neither severe AATD or deficient AAT genotypes appear to confer different clinical expression of asthma.

Keywords: Alpha 1 antitrypsin, Alpha 1 antitrypsin deficiency, House dust mites, Asthma, Allergy

Background

Alpha-1 antitrypsin (AAT) is a serine proteinase inhibitor (PI) that protects alveoli against the destructive effects of neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G, which cause destruction of pulmonary parenchyma [1, 2]. Alpha-1 antitrypsin deficiency (AATD) is an autosomal codominant genetic condition first described by Laurell

and Erikson in 1963 [3]. Multiple genetic variants in the gene encoding AAT, *SERPINA1*, are associated with low serum AAT levels. The most common deficient alleles are protease inhibitor Pi*S and Pi*Z, being Pi*M the normal variant. Pi*ZZ individuals have severe AAT deficiency, with only 10% of normal serum levels as compared to Pi*M subjects. Individuals homozygous for the Pi S (Pi SS) alleles have approximately 60% of normal serum ATT levels [4, 5]. Although AATD was initially thought of as a rare disease, it has proven to be underdiagnosed in many countries [5, 6]. The distribution of deficient alleles depends on the location; for example, Z variant is more

*Correspondence: isadora.suarez101@alu.ulpgc.es

¹ Postgraduate and Doctoral School, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Camino Real de San Roque, 1, 35015 Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas, Spain

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2018. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

prevalent in North and Western Europe, while S variant has a higher prevalence in the South of Europe, particularly in Spain [7]. Nowadays, different national registries provide the exact prevalence of AATD. However, it is still not considered sufficiently by physicians in the diagnostic phase [8, 9].

Worldwide, AATD has been frequently related to chronic obstructive pulmonary disease (COPD), premature emphysema and liver failure [10–13], but its relationship with asthma remains controversial [14]. AATD is associated with wheezing and dyspnea, which are also characteristic symptoms of asthma. That is why it is sometimes difficult to differentiate between these conditions [14–16] and, according to the American Thoracic Society (ATS)/European Respiratory Society (ERS) and the World Health Organization (WHO), diagnosis of asthma is one of the clinical indications for genetic AATD testing [17, 18].

The aim of this study is to analyze the distribution of the most common ATT genotypes in a cohort of asthmatic patients sensitized to house dust mites (HDM). Furthermore, this study attempts to investigate the influence of AATD and the presence of certain genotypes on the severity of allergic asthma.

Methods

A cross-sectional cohort study of HDM-sensitive asthmatic patients (skin prick test and specific immunoglobulin E) was carried out. Asthmatic subjects were recruited through the Allergy Clinic of the “Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín” (Canary Islands). All of them were Caucasian, aged over 12. They all had a diagnosis of asthma, with or without rhinitis or other allergic conditions, and complained of typical asthma symptoms such as wheezing, dyspnea and/or other symptoms which they had suffered from over the previous two years. Patients were divided into four groups (intermittent and persistent mild, moderate and severe), according to the severity of their disease and following the Spanish asthma guideline—GEMA4.0 [19]. Written informed consent was obtained from all subjects before participating in the study, which was approved by the Ethics Committee of the hospital.

Asthma was diagnosed on the basis of a history of asthma symptoms and clinical examination (dyspnea, chest tightness, wheezing, cough), and a significant reversibility of their forced expiratory volume in one second (FEV1), as measured with a spirometer (FlowScreen, Viasys, Germany) upon treatment with bronchodilators, at least in one visit during the patient follow-up [19]. Fractional exhaled nitric oxide (FeNO) was also performed (NIOX-MINO® Aerocrine).

Skin-prick tests were performed with several dust mite allergens (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor* and *Tyrophagus putrescentiae*) from ALK Abelló, Spain. A positive skin-prick test was defined as a mean wheal diameter of at least 3 mm or larger than that of the negative control following current guidelines [20].

In all subjects, blood eosinophils and neutrophils, and total serum immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin E (IgE) and specific IgE to *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *B. tropicalis*, *A. siro*, *L. destructor* and *T. putrescentiae* (ImmunoCap, Phadia, Sweden) were determined. ATT serum levels were measured by nephelometry (BNII, Siemens, Erlangen, Germany).

ATT genotypes were determined by using real-time polymerase chain reaction (PCR) and LighCycler 2.0 for the detection of the mutation according to the technique previously described [21].

Statistical analysis was performed using the nonparametric Kruskal–Wallis test for quantitative variables and Chi square or Fisher tests for qualitative variables. Binary logistic regression was used to determine the association between genotypes and the presence or absence of severe persistent asthma, adjusting for age, smoking habit, significant comorbidity, previous treatment received and some analytical values. The possible correlation between the serum levels of ATT and bronchial functional test parameters was evaluated by Spearman’s rank correlation coefficient. A value of $p < 0.05$ was considered to be statistically significant. All analyses were performed using the R Project (Version 1.0.153) [22].

Results

During a period of 22 months, 648 asthmatic patients over 12 years (median age 29 years) who were allergic to HDM were recruited into the study. Four hundred and twenty-five (66%) were females and 54 (8%) were smokers. Demographic and clinical characteristics of the patients are listed in Table 1.

According to the GEMA4.0, 253 asthmatic patients were classified as intermittent and 395 as persistent (246 mild, 101 moderate, and 48 severe). Patients with severe asthma were significantly older ($p = 1.72^{-12}$) as has been previously reported [23]. In addition, a slightly higher percentage of ex-smokers were seen in the group with severe asthma ($p = 0.0301$), which was considered in the posterior multivariate analysis. Regarding the clinical comorbidity, there was a significantly higher proportion of patients with conjunctivitis in the intermittent asthma group ($p = 0.008201$) and polyposis in the moderate group ($p = 0.00013$), while no significance was observed in terms of rhinitis, chronic sinusitis, atopic dermatitis,

Table 1 Demographic, clinical and analytical features of the studied population

	Global (n = 648)	Intermittent (n = 253)	Mild (n = 246)	Moderate (n = 101)	Severe (n = 48)	P value*
Sex, n (%)						0.316
Male	233 (34)	90 (36)	84 (34)	38 (38)	11 (23)	
Female	425 (66)	163 (64)	162 (66)	62 (62)	37 (77)	
Age, years						1.72e-12 [†]
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	29 (20-38)	27 (20-36)	27 (19-35)	34 (24-44)	41 (34-53)	
Smoker n (%)	54 (8)	24 (9.5)	21 (8.5)	9 (9)	0	0.369
Obesity n (%)	115 (18)	46 (18.2)	36 (14.9)	19 (19.2)	13 (27)	0.221
Conjunctivitis n (%)	107 (16.5)	54 (21.3)	40 (16.3)	11 (11)	2 (4.2)	0.008201 [†]
Rhinitis n (%)	640 (98.8)	250 (98.8)	244 (99.2)	99 (99)	47 (97.9)	0.885
Polyposis n (%)	17 (2.62)	1 (0.8)	2 (0.8)	9 (9)	4 (8.3)	0.00013 [†]
Chronic sinusitis n (%)	32 (4.94)	11 (4.3)	11 (4.5)	8 (8)	2 (4.2)	0.519
Atopic dermatitis n (%)	23 (3.55)	12 (4.7)	5 (2)	5 (5)	1 (2.1)	0.295
Previous pneumonia n (%)	5 (0.77)	1 (0.4)	2 (0.8)	1 (1)	1 (2.1)	0.332
FEV1 (l)						3.98e-22 [†]
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	2.9 (2.5-3.4)	3.1 (2.7-3.6)	2.9 (2.6-3.5)	2.6 (2.2-3.1)	2.0 (1.7-2.5)	
FEV1 (%)						1.14e-24 [†]
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	90 (81-100)	95 (88-104)	90.5 (84-98)	78 (68-90)	74 (60-81)	
Feno (ppb)						0.873
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	40 (23-72)	41 (23-73)	41 (26-72)	35.5 (19-69)	38 (21-60)	
Total IgE (IU/ml) [§]						0.0789
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	255 (117-563)	225 (111.5-533)	274 (113-615)	305 (124-711)	213 (93-426)	
IgE Dermatophagoides pteronyssinus						0.0637
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	42 (15-100)	34 (13-99)	51 (21-101)	44 (16-100)	42 (5.8-98)	
IgE Dermatophagoides farinae						0.119
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	27 (11-79)	21 (10-66)	34 (12-81)	26 (11-85)	32 (5.7-78.8)	
IgE Blomia tropicalis						0.931
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	7 (2.1-21)	7 (2-19)	6.8 (3-23)	8.8 (2.1-20)	6.9 (3-19)	
IgE Lepidoglyphus destructor						0.448
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	2.4 (1-7)	2.6 (0.9-6)	2.1 (1-6)	2.1 (1-11)	4.1 (2-9)	
IgE Tyrophagus putrescentiae						0.743
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	2 (1-7.5)	3 (1-7)	2 (1-7)	2 (1-8.5)	3.1 (1-1.9)	
IgE Acarus siro						0.389
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	2.6 (1-7)	2.7 (0.9-7.5)	2.4 (1-7)	5 (1-9)	1.3 (0.7-1.8)	
IgA (mg/dL) [§]						0.00024 [†]
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	217 (162-279)	220.5 (164-292)	205.5 (157-260)	205.5 (161-271.5)	268 (220-334)	
Eosinophils (10 ⁹ /L) [§]						0.153
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	0.3 (0.2-0.5)	0.3 (0.2-0.5)	0.3 (0.2-0.5)	0.3 (0.2-0.5)	0.3 (0.1-0.5)	
Nasal cytology eosinophils (%)						0.265
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	37.5 (10-70)	40 (10-70)	40 (15-70)	30 (5-50)	40 (5-60)	
AAT (mg/dL) [§]						0.945
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	134 (118-154)	135 (115-159)	134 (118-154)	133 (116-149)	135 (119-144)	

FEV1 (forced expiratory volume in the 1 s), FENO (fractional exhaled nitric oxide), IgE (immunoglobulin E), IgA (immunoglobulin A), AAT (alpha1 antitrypsin)

* Kruskal-Wallis statistic analysis for continuous non normal variables and Chi square or F-test for nominal ones

[†] Statistical significance, p value < 0.01

[§] Normal value IgE: 10-179 IU/ml; Normal value of IgA: 80-310 mg/dl; Normal value of blood eosinophils: 0-0.54 10⁹/L; Normal value ATT: 100-200 mg/dL (1.0-2.0g/L)

previous pneumonias or even frequent respiratory infections the year before entering the study. Respiratory function values and analytical determinations are also represented in Table 1.

Median blood eosinophil count was $0.3 \times 10^9/L$ (0.2–0.5). Median percentage of eosinophils found in the nasal cytology was 37.5% (10–70), with no significant differences among all stages of disease severity. The median serum IgE was high, 255 IU/ml (117–563) as compared to the normal value (< 100 IU/ml), but there was no significant difference among asthma groups. The values of specific IgE were quite similar among all groups. IgA serum levels were significantly higher in patients with severe asthma (268 mg/dl- normal value 80–310 mg/dl) as compared to the other groups (moderate [205.5 mg/dl], mild [205.5 mg/dl] and intermittent [220.5 mg/dl]) ($p = 0.00024$).

Median AAT value was 134 mg/dl (118–154), within normal range (100–200 mg/dL), and no significant difference was observed according to the severity of the disease. Sixty-six (10.2%) asthmatics had serum AAT levels below the lower limit of normal (< 100 mg/dl) and only three (0.5%) had severe deficiency (<57 mg/dl) [24].

One hundred and forty-five patients (22.4%) had a deficient AAT genotype. No individual with severe AAT deficiency genotype (PI*ZZ) was identified in our series.

Demographic and clinical characteristics according to PI genotype are shown in Table 2. The distribution of all different severity asthma stages among all AAT

genotypes was similar, and no significant difference was observed. However, peripheral eosinophils were significantly lower in the PI*MS group ($p = 0.0228$). As was expected, the serum levels of ATT were lower in PI*MZ and PI*SZ groups ($p = 1.18^{-25}$). Analytical and functional respiratory test variables are illustrated in Table 3. Finally, we did not find any significant association between AATD and AAT genotypes and the risk of having severe persistent asthma (Table 4).

Discussion

Many authors have suggested an increased risk of asthma with some AAT genotypes. Eden et al. [16] showed that 44% of patients with AATD (20–25% of them with an allergy) had asthma, which was three times more prevalent in PI*MZ subjects than in PI*ZZ individuals. Other investigators have found an even higher percentage of asthmatics among PI*SS population when compared to subjects without deficient alleles [25]. We have not found any clinical association between AATD and AAT genotypes and severity of asthma among HDM sensitized patients. Indeed, the distribution of deficient genotypes among all asthma severity categories was very similar to that described previously in Spanish asthmatic population (Table 5).

The balance between normal lung inflammation and repair is a complex process that involves pro- and anti-inflammatory cytokines and the accumulation of inflammatory and immune effector cells [26]. In this work,

Table 2 Demographic and clinical characteristics according to alpha 1 antitrypsin genotypes

	PI*MM (n = 503)	PI*MS (n = 110)	PI*MZ (n = 15)	PI*SS (n = 14)	PI*SZ (n = 6)	P value
Sex n (%)						0.525
Male	178 (35)	35 (32)	3 (20)	6 (43)	1 (17)	
Female	325 (65)	75 (68)	12 (80)	8 (57)	5 (83)	
Age, years						0.818
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	28 (20-38)	31 (23-38)	30 (24-38)	32 (20-36)	20.5 (19-36)	
Smokers n (%)	37 (7.4)	11 (10)	4 (26.7)	2 (14.3)	0	0.0882
Intermittent asthma n (%)	191 (38)	45 (41)	4 (26.7)	9 (64.3)	4 (66.7)	0.134
Mild persistent asthma (%)	194 (38.6)	39 (35.5)	6 (40)	5 (35.7)	2 (33.3)	0.981
Moderate persistent asthma n (%)	78 (15.5)	18 (16.4)	4 (26.7)	0	0	0.303
Severe persistent asthma n (%)	39 (7.8)	8 (7.3)	1 (6.7)	0	0	0.958
Polyposis n (%)	9 (1.8)	6 (5.5)	2 (13.3)	0	0	0.104
Chronic sinusitis n (%)	24 (4.8)	3 (2.7)	2 (13.3)	2 (14.3)	1 (16.7)	0.0516
Atopic dermatitis n (%)	17 (3.4)	4 (3.6)	0	1 (7.1)	1 (16.7)	0.271
Previous pneumonia n (%)	4 (0.8)	1 (0.9)	0	0	0	1
> 3infections/year n (%)	4 (0.8)	0	0	0	0	1
Previous treatment: oral glucocorticosteroids n (%)	10 (2)	2 (1.8)	0	0	0	1
Previous treatment: immunotherapy n (%)	38 (7.6)	10 (9.1)	0	0	0	0.804
Previous treatment: omalizumab n (%)	1 (0.2)	0	0	0	0	1

* Kruskal-Wallis statistic analysis for continuous non normal variables and Chi square or F-test for nominal ones

Table 3 Analytical and functional respiratory tests according to alpha 1 antitrypsin genotype

	PI*MM (n = 503)	PI*MS (n = 110)	PI*MZ (n = 15)	PI*SS (n = 14)	PI*SZ (n = 6)	P value*
FEV1 (l)						0.23
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	2.9 (2.5-3.4)	2.9 (2.4-3.4)	2.9 (2.7-3.3)	3.1 (2.8-3.7)	3.3 (3.2-3.3)	
FEV1 (%)						0.0763
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	90 (81-100)	91 (76-101)	92 (84-105)	97 (86-99)	101 (99-111)	
Total IgE (IU/dL) [‡]						0.194
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	272 (124-576)	207 (74-538)	165 (115-399)	151 (127-646)	169 (90-582)	
IgE Dermatophagoides pteronyssinus						0.372
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	45 (17-100)	31 (9-101)	70 (11-101)	34 (20-89)	61 (30-101)	
IgE Dermatophagoides farinae						0.273
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	29 (12-80)	17 (6.6-54)	41 (14-79)	24 (8.8-74)	31 (21-84)	
IgE Blomia tropicalis						0.89
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	7 (2.1-22)	8 (2.5-19)	6 (5.2-9.6)	9.5 (2-18)	4.5 (1-8.5)	
IgE Lepidoglyphus destructor						0.348
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	2 (1-6)	3.1 (1.1-8)	4 (3.6-10)	4 (2-8)	2.2 (2-16)	
IgE Tyrophagus putrescentiae						0.409
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	2.3 (1-8)	2.3 (1.4-5)	1 (1-1.01)	1.6 (0.7-8)	2.1	
IgE Acarus siro						0.129
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	2 (0.9-7)	4 (3-5)	10 (4.3-35)	5.5 (1-11)	23.3	
IgA (mg/dL) [‡]						0.333
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	216.5 (164-285)	204 (150.8-261)	261 (181-331)	224 (193-238)	255 (160-267)	
Eosinophils (10 ³ /L) [‡]						0.0228 [‡]
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	0.3 (0.2-0.5)	0.3 (0.2-0.4)	0.4 (0.3-0.6)	0.5 (0.3-0.6)	0.3 (0.2-0.4)	
Nasal cytology eosinophils (%)						0.378
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	40 (10-70)	20 (7.5-60)	45 (33-65)	50 (30-65)	50	
AAT (mg/dL) [‡]						1.18e-25 [‡]
Median (IQ ₂₅₋₇₅)	138 (123-159)	116 (104-137)	80 (78-87)	89 (86-96)	64 (61.3-70.5)	

FEV1 (forced expiratory volume in the 1 s), IgE (immunoglobulin E), IgA (immunoglobulin A), AAT (alpha1 antitrypsin)

* Kruskal-Wallis statistic analysis

[‡] Statistical significance, p value < 0.05

[§] Normal value IgE: 10–179 IU/ml; Normal value of IgA: 80–310 mg/dl; Normal value of blood eosinophils: 0–0.54 10⁹/L; Normal value ATT: 100–200 mg/dL (1.0–2.0g/L)

Table 4 Relationship between AATD or AAT genotypes and severe persistent asthma

	Severe persistent asthma OR (95%CI)	P value*	Multivariable correction**
PI*MM	1.2700 (0.6-2.69)	0.532	0.382
PI*MS	0.9760 (0.44-2.15)	0.953	0.665
PI*SS	0.00000078 (0-Inf)	0.983	0.992
PI*MZ	0.8910 (0.12-6.92)	0.912	0.953
PI*SZ	0.000000791 (0-Inf)	0.989	0.995
SAATD	6.3600 (0.57-71.5)	0.134	0.711
AATD	0.5680 (0.17-1.88)	0.355	0.992

PI: protease inhibitor, SAATD (severe alpha 1 antitrypsin deficiency, < 57 mg/dl), AATD (alpha1 antitrypsin deficit, < 100 mg/dl)

* Binary logistic regression

** Adjusted for age, conjunctivitis, polyposis, ex-smokers, passive smokers

contrary to previous investigations, we studied a specific group of asthmatic patients sensitized to HDM. It has

been proved that mites produce a huge inflammatory reaction in the lung, not only through CD4 + Th2 cells

that induce an IgE allergic response, but also through the innate immune system [27]. Different researchers have provided ample evidence that some components of *D pteronyssinus*, such as group 1 allergens (Der p 1), can activate different routes that alter the immune system [28]. Other allergens, such as Der p 3 and Der p 6, also seem to contribute to the HDM allergic response [29]. It is even more intriguing how these allergens can also

directly damage the respiratory epithelium by activating mast cell independent of IgE [30].

ATT inhibits neutrophil serine proteases and can regulate the chemotaxis of neutrophils in two different ways:

Table 5 Protease inhibitor genotype distribution in different populations

	PI*MM	PI*MS	PI*MZ	PI*SS	PI*SZ	PI*ZZ
Our population (n = 648)	503 (77.62%)	110 (16.98%)	15 (2.31%)	14 (2.16%)	6 (0.93%)	0
Spanish population [7]	–	1/5 (20%)	1/33 (3%)	1/92 (1.1%)	1/278 (0.36%)	1/3344 (0.03%)
Miravittles et al. study [37]	333 (75.7%)	84 (19.1%)	14 (3.2%)	–	0	0

PI (protease inhibitor)

inhibition of IL8-CXCR1 interaction and modulation of ADAM17 activity impeding FcγRIIIb release [31]. The inactivation of ATT by some major components of *D pteronyssinus*, such as Der p 1, has already been proven [32]. The majority of our patients (96.5%) were sensitized to this mite and consequently, the anti-inflammatory action of ATT can be missing in this population. Thus, it is conceivable to think that there could be a possible association between AATD and severity of allergic asthma. However, we have not been able to find a significant association between AATD and severe asthma, as it was reported previously by van Veen et al. in asthmatic patients without a known sensitivity [33]. Neither total IgE nor HDM specific IgE were higher in the most severe asthmatic cases [34]. What we observed is higher serum levels of IgA in patients with severe asthma, as has already been reported [35]. That is why we included serum IgA in the multivariate analysis.

We have also assessed the distribution of different AAT genotypes in our series, which does not differ from the general population in our country [7, 36]. Furthermore, asthmatic carriers of deficient genotypes did not have different clinical expression of asthma, as it was reported before in a non-selected population of asthmatic patients [37] and in a population with severe asthma [33]. AAT serum levels were lower in asthmatic carriers of Z allele [38, 39], but there was no correlation of functional respiratory values neither with serum AAT levels nor AAT genotypes. These results are similar to those reported by others [33, 40]. Nevertheless, another study, conducted with children, suggested that, although low levels of AAT do not enhance the risk of developing asthma, an impaired AAT balance may potentially increase the vulnerability for decrease in lung function and bronchial hyperreactivity in asthmatic children [41].

In contrast to previous reports [37], we have found lower levels of blood eosinophils in PI MS subjects in comparison to other genotypes. Likewise, the percent-age of eosinophils in nasal cytology was also lower in the PI MS group, though not significantly.

We recognize that our study has some limitations. First of all, we did not predict the required sample size by power calculation, but we strongly believe that this sample of patients truly reflects what happens to the

asthmatic population. Moreover, our series is the largest sample studied at the moment. Secondly, we could not find any patient heterozygous for Z allele but this genotype is extremely uncommon and less prevalent in Spain. Finally, we only measured serum ATT levels and we do not know if the local production of ATT by pulmonary epithelial cells and macrophages may balance the low serum ATT levels.

To conclude, we could not find any association between AATD and asthma severity among patients sensitized to HDM. Our findings support what has been reported by others in smaller series of asthmatics. The proportion of asthmatics with deficient AAT genotypes in our series is similar to the proportion in the general population. Although the blood count and nasal eosinophils values seem to be different among the different genotypes, more studies are needed to confirm this due to the scarcity of asthmatic allergic populations with alleles PI Z. *

Abbreviations

ATT: alpha1 antitrypsin; AATD: alpha 1 antitrypsin deficiency; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; FeNO: fractional exhaled nitric oxide; FEV1: forced expiratory volume in 1 s; FVC: forced vital capacity; HDM: house dust mites; ICS: inhaled glucocorticosteroids; IgA: immunoglobulin A; IgE: immunoglobulin E; LABA: long-acting β2-agonists; PI: protease inhibitor; SABA: short-acting β2-agonists; SATTD: severe alpha 1 antitrypsin deficiency.

Authors' contributions

ISL, FRC, DCN, EHR, CRG, TCD: Conceived ideas or/and experiment design. ISL, DCN, TCD: Data collection. ISL: Data analysis. ISL, FRC, CRG, TCD: Interpretation of results. ISL, FRC, DCN, EHR, CRG, TCD: Revision of the content. All authors read and approved the final manuscript.

Author details

¹ Postgraduate and Doctoral School, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Camino Real de San Roque, 1, 35015 Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas, Spain. ² Pneumology Unit, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Spain. ³ Allergy Unit, Hospital General de Fuerteventura, Puerto del Rosario, Spain. ⁴ Immunology Unit, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Spain. ⁵ Allergy Unit, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Spain.

Acknowledgements

The authors are very grateful to ALK-Abelló for the financial support.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Availability of data and materials

Not applicable.

Consent for publication

Written informed consent was obtained from all subjects before participating in the study.

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the Ethics Committee of the hospital.

Funding

Instituto de Salud Carlos III. Award number PI12/01565 (Recipient Carlos Rodríguez-Gallego). Instituto de Salud Carlos III. Award number PI10/01718 (Recipient Carlos Rodríguez-Gallego).

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Received: 13 July 2018 Accepted: 27 September 2018

Published online: 02 November 2018

References

- Cosio MG, Bazzan E, Rigobello C, Tinè M, Turato G, Baraldo S, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency: beyond the protease/antiprotease paradigm. *Ann Am Thorac Soc*. 2016;13(Suppl 4):S305-10.
- McCarthy C, Reeves EP, McElvaney NG. The role of neutrophils in alpha-1 antitrypsin deficiency. *Ann Am Thorac Soc*. 2016;13(Suppl 4):S297-304.
- Laurell C-B, Eriksson S. The electrophoretic α 1-globulin pattern of serum in α 1-antitrypsin deficiency 1963. *COPD*. 2013;10(Suppl 1):3-8.
- Dickens JA, Lomas DA. Why has it been so difficult to prove the efficacy of alpha-1-antitrypsin replacement therapy? Insights from the study of disease pathogenesis. *Drug Des Devel Ther*. 2011;5:391-405.
- de Serres FJ, Blanco I. Prevalence of α 1-antitrypsin deficiency alleles P1*S and P1*Z worldwide and effective screening for each of the five phenotypic classes P1*MS, P1*MZ, P1*SS, P1*SZ, and P1*ZZ: a comprehensive review. *Ther Adv Respir Dis*. 2012;6(5):277-95.
- Stockley RA, Dirksen A, Stolk J. Alpha-1 antitrypsin deficiency: the European experience. *COPD*. 2013;10(Suppl 1):50-3.
- Blanco I, de Serres FJ, Fernandez-Bustillo E, Lara B, Miravittles M. Estimated numbers and prevalence of P1*S and P1*Z alleles of alpha-1-antitrypsin deficiency in European countries. *Eur Respir J*. 2006;27(11):77-84.
- Lara B, Blanco I, Martínez MT, Rodríguez E, Bustamante A, Casas F, et al. Spanish registry of patients with alpha-1 antitrypsin deficiency: database evaluation and population analysis. *Arch Bronconeumol*. 2017;53(1):13-8.
- Lara B, Miravittles M. Spanish registry of patients with alpha-1 antitrypsin deficiency: comparison of the characteristics of P1SZ and P1ZZ individuals. *COPD*. 2015;12(Suppl 1):27-31.
- Sørheim I-C, Bakke P, Gulsvik A, Pillai SG, Johannessen A, Gaarder PI, et al. α 1-Antitrypsin protease inhibitor MZ heterozygosity is associated with airflow obstruction in two large cohorts. *Chest*. 2010;138(5):1125-32.
- Dahl M, Hersh CP, Ly NP, Berkey CS, Silverman EK, Nordestgaard BG. The protease inhibitor P1*S allele and COPD: a meta-analysis. *Eur Respir J*. 2005;26(1):67-76.
- Hersh CP, Dahl M, Ly NP, Berkey CS, Nordestgaard BG, Silverman EK. Chronic obstructive pulmonary disease in alpha-1-antitrypsin PI MZ heterozygotes: a meta-analysis. *Thorax*. 2004;59(10):843-9.
- Mehta AJ, Thun GA, Imboden M, Ferrarotti I, Keidel D, Künzli N, et al. Interactions between SERPINA1 P1MZ genotype, occupational exposure and lung function decline. *Occup Environ Med*. 2014;71(4):234-40.
- Siri D, Farah H, Hogarth DK. Distinguishing alpha-1-antitrypsin deficiency from asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013;111(6):458-64.
- Strange C. Airway disease in alpha-1 antitrypsin deficiency. *COPD*. 2013;10(Suppl 1):68-73.
- Eden E, Strange C, Holladay B, Xie L. Asthma and allergy in alpha-1 antitrypsin deficiency. *Respir Med*. 2006;100(8):1384-91.
- American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(7):818-900.
- Alpha-1-antitrypsin deficiency: memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ*. 1997;75(5):397-415.
- GEMA 4.0 [Internet]. Gemasma. [cited 2017 Oct 26]. <https://www.gemasma.com/>.
- Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*. 2012;67(1):18-24.
- Ahsen N von, Oellerich M, Schütz E. Use of two reporter dyes without interference in a single-tube rapid-cycle PCR: α 1-antitrypsin genotyping by multiplex real-time fluorescence PCR with the lightcycler. *Clinical Chemistry [Internet]*. 2000 Feb 1 [cited 2018 Apr 12];46(2):156-61. <http://clinchem.aaccjnl.org/content/46/2/156>.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. [Internet]. Vienna, Austria.: R Foundation for Statistical Computing, 2017. <https://www.R-project.org/>.
- Mincheva R, Ekerljung L, Bossios A, Lundbäck B, Lötvall J. High prevalence of severe asthma in a large random population study. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141(6):2256-64.
- Stoller JK, Lacobawan FL, Aboussouan LS. Alpha-1 Antitrypsin deficiency. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mefford HC, et al. editors. *GeneReviews*([®]) [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2017 Oct 24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1519/>.
- McGee D, Schwarz L, McClure R, Peterka L, Rouhani F, Brantly M, et al. Is PiSS alpha-1 antitrypsin deficiency associated with disease? *Pulm Med*. 2010;2010:570679.
- Stockley RA. The multiple facets of alpha-1-antitrypsin. *Ann Transl Med*. 2015;3(10):130.
- Calderón MA, Linneberg A, Kleine-Tebbe J, De Blay F, de Rojas DHF, Virchow JC, et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(1):38-48.
- Bouchecareilh M, Balch WE. Proteostasis, an emerging therapeutic paradigm for managing inflammatory airway stress disease. *Curr Mol Med*. 2012;12(7):815-26.
- Jacquet A, Campisi V, Szpakowska M, Dumez M-E, Galleni M, Chevigné A. Profiling the extended cleavage specificity of the house dust mite protease allergens Der p 1, Der p 3 and Der p 6 for the prediction of new cell surface protein substrates. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7):1373.
- Takai T, Ikeda S. Barrier dysfunction caused by environmental proteases in the pathogenesis of allergic diseases. *Allergol Int*. 2011;60(1):25-35.
- Bergin DA, Reeves EP, Meleady P, Henry M, McElvaney OJ, Carroll TP, et al. α -1 Antitrypsin regulates human neutrophil chemotaxis induced by soluble immune complexes and IL-8. *J Clin Invest*. 2010;120(12):4236-50.
- Kalsheker NA, Deam S, Chambers L, Sreedharan S, Brocklehurst K, Lomas DA. The house dust mite allergen Der p1 catalytically inactivates alpha-1-antitrypsin by specific reactive centre loop cleavage: a mechanism that promotes airway inflammation and asthma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;221(1):59-61.
- van Veen IH, ten Brinke A, van der Linden AC, Rabe KF, Bel EH. Deficient alpha-1-antitrypsin phenotypes and persistent airflow limitation in severe asthma. *Respir Med*. 2006;100(9):1534-9.
- Davila I, Valero A, Entrenas LM, Valveny N, Herráez L, SIGE Study Group. Relationship between serum total IgE and disease severity in patients with allergic asthma in Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015;25(2):120-7.
- Kim W-J, Choi IS, Kim CS, Lee J-H, Kang H-W. Relationship between serum IgA level and allergy/asthma. *Korean J Intern Med*. 2017;32(1):137-45.
- Blanco I, Fernández-Bustillo E, de Serres FJ, Alkassam D, Rodríguez Menéndez C. P1*S and P1*Z alpha-1-antitrypsin deficiency: estimated prevalence and number of deficient subjects in Spain. *Med Clin (Barc)*. 2004;123(20):761-5.
- Miravittles M, Vilà S, Torrella M, Balcells E, Rodríguez-Frías F, de la Roza C, et al. Influence of deficient alpha-1-antitrypsin phenotypes on clinical characteristics and severity of asthma in adults. *Respir Med*. 2002;96(3):186-92.
- Ferrarotti I, Thun GA, Zorzetto M, Ottaviani S, Imboden M, Schindler C, et al. Serum levels and genotype distribution of α 1-antitrypsin in the general population. *Thorax*. 2012;67(8):669-74.

1. Zorzetto M, Russi E, Senn O, Imboden M, Ferrarotti I, Tinelli C, et al. SERPINA1 gene variants in individuals from the general population with reduced alpha1-antitrypsin concentrations. Clin Chem. 2008;54(8):1331-8.
2. Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, Barbee RA. A longitudinal study of alpha1-antitrypsin phenotypes and decline in FEV1 in a community population. Chest. 2003;123(5):1435-40.
3. von Ehrenstein OS, Maier EM, Weiland SK, Carr D, Hirsch T, Nicolai T, et al. Alpha1 antitrypsin and the prevalence and severity of asthma. Arch Dis Child. 2004;89(3):230-1.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year


At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions





Alpha-1 antitrypsin deficiency hidden in allegedly normal variants

Isadora Suárez-Lorenzo, MD^a , Elisa Hernández-Brito, PhD^{b,c}, Lourdes Almeida-Quintana, MD^d, César García-de Llanos, MD^e, Nereida González-Quevedo, MD, PhD^e, Teresa Carrillo-Díaz, MD, PhD^d and Carlos Rodríguez-Gallego, PhD^c

^aDoctoral Program in Biomedicine, Doctoral School, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Canary Islands, Spain; ^bDepartment of Medical and Surgical Sciences, School of Medicine, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Canary Islands, Spain; ^cImmunology Department, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Canary Islands, Spain; ^dAllergy Department, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Canary Islands, Spain; ^ePneumology Department, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria, Canary Islands, Spain

ABSTRACT

Introduction: Rare variants of Alpha-1 antitrypsin (AAT) deficiency (AATD) have been described by the Spanish registry of patients with AATD. The great majority of these rare variants are Mmalton alleles and many recent case series of them have been identified in the Canary Islands. The objective of this study was to analyze the distribution of Mmalton mutations in a Canarian population previously studied for the most common deficient alleles, namely PI*S (S) and PI*Z (Z), with PI*M (M) being the normal variant.

Methods: A cross-sectional study of 648 patients with allergic asthma was carried out. Mmalton mutation of the *SERPINA1* gene was assayed by real-time PCR.

Results: Of the 648 patients, 3 (0.46%) were carriers of a Mmalton allele. All of them had low levels of AAT (53.9 mg/dL, 90 mg/dL, and 61 mg/dL, respectively) and were asymptomatic, showing normal lung function, radiological images, and levels of hepatic transaminases.

Conclusion: In conclusion, although the most frequent AATD genotypes are Z and S alleles, it is important to consider other rare variants, particularly when low AAT serum levels are observed. Although individuals with the Mmalton mutation usually have a heterogenous clinical presentation and very low levels of AAT, all the patients in this study were asymptomatic.

ARTICLE HISTORY

Received 3 March 2021

Revised 8 June 2021

Accepted 13 June 2021

KEYWORDS

Alpha 1 antitrypsin; alpha 1 antitrypsin deficiency; Mmalton; asthma; allergy

Introduction

Alpha-1 antitrypsin (AAT) deficiency (AATD) is an autosomal co-dominant genetic condition related with the risk of developing chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and/or cirrhosis. Multiple genetic variants in the gene encoding AAT, *SERPINA1*, have been described in the literature, but the most common deficient alleles are PI*S (S) and PI*Z (Z), with PI*M (M) being the normal variant. Patients homozygous for the S and Z alleles express around 60% and 10% of the serum AAT, respectively (1).

However, other than the Z and S variants, a few different deficient alleles have also been associated with significantly reduced or absent serum AAT. In this vein, it has been previously described that 4.5% of the total number of patients in the Spanish registry of patients with AATD (REDAAT) had rare alleles, mainly Mmalton alleles (2). These rare variants have been seen also in other countries such as Canada (3).

The Mmalton variant differs from the normal allele by a deletion of the entire codon (TTC) for the residue Phe at position 51/52 (Δ Phe52, exon II) (4).

Individuals homozygous for the Mmalton mutation or compound heterozygotes for the Z and Mmalton alleles usually have AAT serum levels lower than 15%.

The Mmalton variant has been associated with the development of pulmonary emphysema and hepatic fibrosis due to accumulation of misfolded globular protein in the endoplasmic reticulum of the hepatocyte.

The aim of this study was to analyze the frequency of the Mmalton allele in a previously reported asthmatic population allergic to house dust mites (HDM) examined for the Z and S alleles.

Materials and methods

We performed a cross-sectional study of patients that attended the Allergy Department of "Hospital

CONTACT Isadora Suárez-Lorenzo  isadora.suarez@gmail.com  Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria 35001, Spain.

© 2021 Taylor & Francis Group, LLC

Universitario de Gran Canaria Doctor Negrin” who had participated in a previous study (5). During the study period, genetic analysis, including the investigation of the Mmalton variant, was performed on the members of those families who had a relative with AATD living outside the Canary Islands. The genetic study was performed at the Immunology Unit of the same hospital. All individuals signed a written consent agreement for genetic analysis according to the Declaration of Helsinki.

AAT serum levels were measured by nephelometry (BNII, Siemens, Erlangen, Germany). AAT genotypes were determined by using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) in a LigthCycler 2.0, as previously described, with minor modification (6). Mmalton genotype was confirmed by Sanger sequencing in patients homozygous and heterozygous for the mutation.

Results

A total of 648 patients were enrolled in the study performed by Suárez-Lorenzo I. et al on which we have based this investigation. Most of the patients (628/648, 96.9%) presented at least one M allele. The specific distribution of AAT genotypes in our population was 77.62% MM, 16.98% MS, 2.31% MZ, 2.16% SS, 0.93% SZ, and none with ZZ; this distribution was very similar to what has been described before by other authors in the Spanish population (7). All 648 patients were reanalyzed for MMalton-deficient genotypes and we found that three (0.46%) of our asthmatic patients were carriers of a Mmalton allele

(Patients 1, 2, and 3 in Table 1). Epidemiological, genetic, analytical, and clinical data of these patients are shown in Table 1.

Due the presence of allergic asthma and/or rhinitis in several relatives of Patient 1, AAT levels and genotype of all close family members were analyzed. A 25-year-old son of Patient 1 (Patient 4) was found to have very low serum levels of AAT and genetic analysis confirmed that he exhibited compound heterozygosity for Z and Mmalton alleles. However, he had only nasal symptoms without lower respiratory tract involvement (Table 1).

A patient not included in the database of the allergic asthmatic patients (Patient 5) was also evaluated because he had a sister with AATD living outside the Canary Islands. He was found to have extremely low AAT levels (14 mg/dL) and the genetic analysis showed that he was homozygous for the Mmalton allele. However, this patient was completely asymptomatic. Epidemiological, genetic, analytical and clinical data of Patient 5 are shown in Table 1. A daughter and a son of Patient 5 were heterozygous for the S and Mmalton alleles, and their AAT serum levels were 55.0 and 49.6 mg/dL, respectively. Another daughter and a son of Patient 5 had the genotype Mmalton/M₁ and exhibited 77.3 and 87.9 mg/dL of serum AAT, respectively.

Discussion

The frequency of the rare variants of *SERPINA1* in Spanish patients with AATD is considerably low

Table 1. Clinical and analytical data of the 4 patients with Mmalton mutation.

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4 (Son of P1)	Patient 5
SEX	Female	Female	Male	Male	Male
AGE (years)	59	53	43	25	72
SMOKER	No	Yes (20cig/day)	Yes (3-4cig/day)	No	No
AAT SERUM LEVELS (mg/dL)	53.9	90	61	21	14
FORCED SPIROMETRY	FVC 2950 (106%), FEV ₁ 2530 (109%), FEV ₁ /FVC 109%	FVC 2780 (85%), FEV ₁ 1940 (68%), FEV ₁ /FVC 85%	FVC 4000 (95%), FEV ₁ 3470 (86%), FEV ₁ /FVC 90%	FVC 4760 (105%), FEV ₁ 4450 (119%), FEV ₁ /FVC 112%	FVC: 2600 (84%), FEV ₁ : 1640 (69%), FEV ₁ /FVC: 63%
LIVER FUNCTION (U/L)*	AST 18; ALT 17; GGT 17	AST 19; ALT 17; GGT 16	AST 23; ALT 33; GGT 35	AST 23; ALT 23; GGT 13	AST 33; ALT: 14; GGT: 20
TOTAL IgE [†]	104	100	75	-	-
THORACIC COMPUTED TOMOGRAPHY	Normal, without emphysema	TCT not done. Normal chest x-ray.	Normal, without emphysema	Normal, without emphysema	Paraseptal emphysema in right middle lobe and both lower lobes of the lungs. Subpleural bullae (4 cm)
DIAGNOSIS ORIGINAL GENOTYPE	Intermittent asthma PI*MS	Intermittent asthma PI*MM	Mild persistent asthma PI*MM	Allergic rhinitis PI*MZ	Asymptomatic PI*MM
NEW GENOTYPE	PI*Mmalton/S	PI*Mmalton/M	PI*Mmalton/M	PI*Mmalton/Z	PI*Mmalton/ PI*Mmalton

*Normal values: AST 0-41 U/L; ALT 0-40 U/L; GGT 8-61 U/L; AAT 100-200mg/dL.

†IgE (immunoglobulin E) 14.00 - 120.00 UI/ml.

(4.5%), but there is evidence of some recent cases in the Canary Islands (8). However, those patients live in La Gomera, and we wanted to find out if rare variants are also frequent in the population of Gran Canaria, a different island. Using the data of a previous study on an asthmatic Gran Canarian population allergic to HDM, we extended the genotype analysis to all patients. The percentage of patients with the Mmalton variant was significantly low in this population (3/648; 0.46%), with these 3 patients being misdiagnosed with the traditional diagnostic techniques (9). Interestingly, a family study in one of these subjects, allowed the diagnosis of AATD in a healthy, previously undiagnosed man. In addition, the analysis of the Mmalton allele in another individual with very low AAT levels and no respiratory or hepatic disease allowed the diagnosis of this patient with AATD.

A striking clinical heterogeneity, ranging from normal lung and liver function to COPD and liver failure, among heterozygous and homozygous patients for the Mmalton allele has been previously reported, even in individuals with very low AAT levels (10,11). It has been described before, in a Canarian population, that until 31% of the patients studied had respiratory affection, without a clear connection between smoking habit and chronic airflow obstruction. None of the patients of our study had the classic pulmonary or hepatic features of AATD. Only three of them were classified as asthmatic patients: two had intermittent asthma and one mild persistent asthma but none of them needed emergency care or the use of systemic corticosteroids. Functional respiratory tests were within the normal range in all the patients. Figueira Gonçalves et al. found that hepatic affection is rare in the Mmalton carriers, only two out of sixteen patients (one patient homozygous for the Mmalton mutation and another with the M/Mmalton genotype) showed elevated transaminase levels in their study (12). In our study, no patient had liver disease.

In summary, although the most frequent AATD genotypes are constituted by the Z and S alleles, it is important to consider other rare variants, particularly when low AAT serum levels are observed. The results of the present study would facilitate more efficient diagnosis and genetic counseling of AATD. In addition, family studies may allow the detection and the subsequent follow-up of previously undiagnosed individuals. We are aware that this study has many limitations as we only tested asthmatic patients and we considered only Mmalton as a rare AAT mutation since it is the most frequent one. Even so, our study emphasizes the clinical heterogeneity associated with

AAT genotypes, particularly in AATD individuals with the Mmalton mutation.

Declaration of interest

The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this article.

Funding

This work was supported by grants from the Instituto de Salud Carlos III, Ministry of Health [FIS PI 12/01565 and FIS PI10/01718] with the funding of European Regional Development Fund-European Social Fund -FEDER-FSE]. E.H.B. was supported by a grant from Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. The sponsors of the study had no role in designing the study, collecting, analyzing and interpreting the data, or writing the paper.

ORCID

Isadora Suárez-Lorenzo  <http://orcid.org/0000-0002-7135-7045>

References

1. Dickens JA, Lomas DA. Why has it been so difficult to prove the efficacy of alpha-1-antitrypsin replacement therapy? Insights from the study of disease pathogenesis. *Drug Des Devel Ther.* 2011;5:391–405.
2. Lara B, Miravittles M. Spanish registry of patients with alpha-1 antitrypsin deficiency; comparison of the characteristics of PISZ and PIZZ individuals. *COPD.* 2015;12:27–31. doi:10.3109/15412555.2015.1021912.
3. Mattman A, Gilfix BM, Chen SX, DeMarco ML, Kyle BD, Parker ML, Agbor TA, Jung B, Selvarajah S, Barakauskas VE, et al. Alpha-1-antitrypsin molecular testing in Canada: a seven year, multi-centre comparison. *Clin Biochem.* 2020;81:27–33. doi:10.1016/j.clin-biochem.2020.05.001.
4. Callea F, Giovannoni I, Francalanci P, Boldrini R, Faa G, Medicina D, Nobili V, Desmet VJ, Ishak K, Seyama K, et al. Mineralization of alpha-1-antitrypsin inclusion bodies in Mmalton alpha-1-antitrypsin deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):79. doi:10.1186/s13023-018-0821-7.
5. Suárez-Lorenzo I, de Castro FR, Cruz-Niesvaara D, Herrera-Ramos E, Rodríguez-Gallego C, Carrillo-Díaz T. Alpha 1 antitrypsin distribution in an allergic asthmatic population sensitized to house dust mites. *Clin Transl Allergy.* 2018;8:44. doi:10.1186/s13601-018-0231-x.
6. Orrù G, Faa G, Pillai S, Pilloni L, Montaldo C, Pusceddu G, Piras V, Coni P. Rapid PCR real-time genotyping of M-Malton alpha-1-antitrypsin deficiency alleles by molecular beacons. *Diagn Mol Pathol.* 2005;14(4):237–242. doi:10.1097/01.pas.0000178221.44474.b3.

1. de Serres FJ, Blanco I. Prevalence of α 1-antitrypsin deficiency alleles PI*S and PI*Z worldwide and effective screening for each of the five phenotypic classes PI*MS, PI*MZ, PI*SS, PI*SZ, and PI*ZZ: a comprehensive review. *Ther Adv Respir Dis.* 2012;6(5):277–295. doi:10.1177/1753465812457113.
2. Figueira Gonçalves JM, Martínez Bugallo F, Díaz Pérez D, Martín Martínez MD, García-Talavera I. Alpha-1 antitrypsin deficiency associated with the Mmalton variant. Description of a family. *Arch Bronconeumol.* 2016;52(12):617–618. doi:10.1016/j.arbres.2016.05.005.
3. Kueppers F, Sanders C. State-of-the-art testing for alpha-1 antitrypsin deficiency. *Allergy Asthma Proc.* 2017;38(2):108–114. doi:10.2500/aap.2017.38.4031.
4. Belmonte I, Barrecheguren M, López-Martínez RM, Esquinas C, Rodríguez E, Miravittles M, Rodríguez-Frías F. Application of a diagnostic algorithm for the rare deficient variant Mmalton of alpha-1-antitrypsin deficiency: a new approach. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2016;11:2535–2541. doi:10.2147/COPD.S115940.
5. Joly P, Guillaud O, Hervieu V, Francina A, Mornex J-F, Chapuis-Cellier C. Clinical heterogeneity and potential high pathogenicity of the Mmalton Alpha 1 antitrypsin allele at the homozygous, compound heterozygous and heterozygous states. *Orphanet J Rare Dis.* 2015;10(1). [Internet]. [cited 2018 Mar 18]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PM C4596512/> do i: 10.1186/s13023-015-0350-6.
6. Figueira Gonçalves JM, Martínez Bugallo F, Díaz Pérez D, Martín Martínez MD, García-Talavera I, Pitti Pérez R. Clinical manifestations of the Mmalton alpha-1 antitrypsin deficiency variant. *Pulmonology.* 2017;24(1):48–49. doi:10.1016/j.rppnen.2017.11.004.

