

ALPHA 1 ANTITRYPSINE

DEFINITION

L'alpha-1-antitrypsine (AAT) est une glycoprotéine de petite taille (51 kDa) à synthèse hépatique. Elle représente 90 % des alpha 1-globulines de l'électrophorèse des protéines. Dans le plasma, c'est un inhibiteur des sérine protéases, enzymes protéolytiques dont font partie l'élastase, la trypsine, la chymotrypsine, la plasmine et la thrombine. Le déficit en α1-antitrypsine (AAT) est une maladie génétique se transmettant sur un mode autosomique récessif. Cette affection est responsable, chez l'enfant, d'une atteinte de la fonction hépatique et chez l'adulte, d'une atteinte de la fonction pulmonaire. Le déficit en alpha-1 antitrypsine est une maladie retrouvée plus fréquemment dans les populations d'Europe du Nord.

Synonymes : α 1-antitrypsine (AAT) ; alpha 1-protéinase ou *protease inhibitor* (α 1-Pi) ; *Prolastin* ; Anti-élastase ; *Trypsin inhibitor proteinase* ou *protease* ; *AAT gene* ou α 1AT gene; Serpin A1.

BIOPATHOLOGIE

■ RÔLE PHYSIOLOGIQUE

L'a1-antitrypsine est une glycoprotéine plasmatique, synthétisée principalement par le foie et, à un moindre degré, par les cellules épithéliales pulmonaires et les monocytes. L'a1-antitrypsine appartient à la famille des serpines (serine proteinase inhibitor), dont l'activité biologique consiste à inhiber l'activité catalytique de différentes sérines protéases, enzymes libérées par diverses cellules (neutrophiles, macrophages) au cours des accès inflammatoires. Le rôle de al'1-antitrypsine est de protéger le tissu pulmonaire vis-à-vis de l'activité catalytique de l'élastase des neutrophiles (HNE: human neutrophil elastase). En cas de déficit, les tissus ne sont plus protégés de l'élastase des polynucléaires qui les détruit. Ainsi, un déficit constitutionnel peut entraîner un emphysème du poumon ou une cirrhose évolutive.

■ LE GENE ET SES VARIANTS

Le gène codant l'α1-antitrypsine est hautement polymorphe et plus de 100 allèles différents ont été décrits. La majorité de ces allèles codent des variants protéiques dont le niveau de synthèse et l'activité biologique sont normaux. Initialement, ces variants furent identifiés selon leur différence de mobilité électrophorétique par isoélectrofocalisation. Une lettre en début d'alphabet et en fin d'alphabet fut choisie respectivement pour les variants ayant une migration

anodique ou cathodique (M pour *medium* ou normal, F pour *fast*, S pour *slow*, Z pour *very slow*). Pour le phénotype normal (M), 8 variants ont été décrits (M1, M2, ..., M8) sans conséquence clinique. Les variants associés à un déficit en α1-antitrypsine sont les variants S, Z et null *(tableau 2)*.

Le gène codant l'α1-antitrypsine (ou locus Pi pour proteinase inhibitor) est localisé sur le bras long du chromosome 14 en 14q32.1. Ce gène constitué de 7 exons (la, lb, lc, ll, lll, lV, V) s'étend sur environ 12,2 kb et code une protéine de 52 kDa composée de 394 aminoacides (figure 1). La protéine est sécrétée dans le plasma où sa concentration se situe entre 1,32 à 2,5 g/l. L' α1-antitrypsine représente la protéine majoritaire de la fraction α1 globuline identifiée à l'électrophorèse sérique.

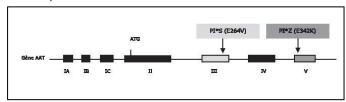


Fig. 1. Représentation du gène codant l M1-antitrypsine et localisation des mutations correspondant aux variants S et Z (Chr. 14q32.1).

Chez un individu, chaque allèle du gène AAT s'exprime: on parle d'allèles codominants. La transmission génétique d'un déficit en α1-antitrypsine est autosomique et co-dominante. Un sujet présentant une forme normale de l' α 1-antitrypsine (PiM) a recu de chacun de ses parents un allèle M normal (génotype PI*MM). Le déficit héréditaire en α1-antitrypsine est la conséquence soit d'une mutation empêchant la transcription du gène (absence de synthèse, variants PI*null-null), soit d'une mutation empêchant la sécrétion d'⊠α1-antitrypsine des hépatocytes vers le plasma (variant PI*ZZ). Ce déficit survient lorsque les parents transmettent chacun à leur enfant un allèle nul ou un allèle Z (sujets homozygotes PI*null-null ou PI*ZZ). Selon le génotype des individus, le déficit en α 1antitrypsine peut être faible, modéré ou sévère, expliquant la variabilité d'expression de la maladie.

■ Les variants alléliques :

Variant Z

biomnis - biomnis

C'est le variant le plus fréquemment rencontré dans les populations d'Europe du Nord et d'Europe occidentale avec une fréquence allélique de 1 à 3 %.

Le déficit en α1-antitrypsine lié à l'homozygotie PI*ZZ est observé avec une fréquence de 1/2000 à 1/4000 dans les populations caucasiennes. Cette fréquence des sujets porteurs de l'allèle Z s'établit selon un gradient décroissant Nord/Ouest-Sud/Est. Le variant Z (E342K) résulte d'une mutation ponctuelle située dans l'exon 5 du gène conduisant, au niveau de la protéine, à la substitution d'un ac. glutamique (E) en position 342 par une lysine (K). Cette mutation est responsable d'un mauvais repliement de la protéine, qui est alors retenue



au sein du réticulum endoplasmique des hépatocytes. La rétention et l'accumulation d' α 1-antitrypsine sont responsables des lésions hépatiques en période néonatale et du déficit plasmatique. Ainsi, les sujets PI*ZZ ont une concentration plasmatique en α 1-antitrypsine de l'ordre de 10 à 15 % de celle retrouvée chez les sujets normaux de génotype PI*MM.

La fréquence estimée des sujets porteurs hétérozygotes d'un allèle Z (PI*MZ) est de 3 à 5 %. Les sujets hétérozygotes PI*MZ ont une concentration plasmatique en α 1-antitrypsine de l'ordre de 50 à 60 % de celle retrouvée chez les sujets normaux PI*MM sans manifestation clinique associée.

Variant S

L'allèle S est observé avec la plus grande fréquence dans les populations Sud-Européennes. Cette fréquence des sujets porteurs de l'allèle S s'établit selon un gradient décroissant Sud/Ouest-Nord/Est. C'est dans la péninsule Ibérique que l'allèle S est observé avec la plus grande fréquence (jusqu'à 28 % de sujets porteurs) Le variant S (E264V) résulte d'une mutation ponctuelle située dans l'exon 3 du gène conduisant, au niveau de la protéine, à la substitution d'un ac glutamique (E) en position 264 par une valine (V). Chez les sujets caucasiens, 5 à 10 % de la population sont porteurs d'un allèle S (génotype PI*MS). Les sujets homozygotes PI*SS ont une concentration plasmatique en ⊠1antitrypsine de l'ordre de 50 à 60 % de celle retrouvée chez les sujets normaux PI*MM. Aucun signe clinique n'est observé chez les sujets homozygotes PI*SS et hétérozygotes PI*MS. Seuls les sujets hétérozygotes composites PI*SZ pourraient être affectés cliniquement (résultats discutés). Chez les sujets PI*SZ, la concentration plasmatique en alantitrypsine est de l'ordre de 30 % à 35 % de celle retrouvée chez les sujets normaux PI*MM.

Les autres variants

Deux autres variants (en dehors du variant Z) sont associés à un déficit en α1-antitrypsine, il s'agit du variant AAT Siiyama (S53F - substitution d'une sérine en position 53 par une phénylalanine) qui est le variant le plus fréquent au Japon, et du variant Mmalton (aussi dénommé Mnichinan ou Mcagliari - delF52- délétion d'une phénylalanine en position 52) qui est un variant fréquent en Sardaigne.

Variants null

Si de nombreux variants null ont été identifiés, la fréquence de ces allèles dans la population caucasienne est rare. Ces variants résultent de délétion, microdélétion ou mutation ponctuelle au sein du gène, conduisant à l'apparition d'un codon stop prématuré (PI* null *Granite Falls* Y160X; PI*null *Bellingham* L217X; PI*null *Procida* 17Kbdel). Chez les sujets homozygotes PI* null-null, le déficit est total par absence de synthèse d'α1-antitrypsine par les hépatocytes.

Variants	Anomalies moléculaires	α1-antitrypsine/ sujet normal en %	Atteinte chez le sujet homozygote	Fréquence estimée en %
M1 (Ala ²¹³⁾		100	aucune	20-23
M1 (Val ²¹³)	A237 V	100	aucune	44-49
M2 (His ¹⁰¹)	R101 H	100	aucune	10-11
M3 (Asp ²¹³)	E376 D	100	aucune	14-19
F	R223 C	-	aucune	rare
P _{St. Albans}	D341 N	100	aucune	rare
S	E264 V	40-70	Pulmonaire	2-4
Z	E342 K	<15	Pulmonaire et Hépatique	1-2
M _{malton}	delF52	-	Hépatique	Sardaigne
M _{procida}	L41P	-	Pulmonaire	rare
M _{heerlen}	P369 L	2-5	Pulmonaire	rare
AAT Siiyama	S53F	<15	Pulmonaire et Hépatique	Japon
null	Délétions et mutations non sens	0	Pulmonaire et/ou Hépatique	rare

Tableau 2. Fréquences des allèles et concentrations plasmatiques en 🛭 1antitrypsine chez les sujets homozygotes (données pour la population blanche des États-Unis).

CLINIQUE

- Chez le nouveau-né, lors d'un déficit sévère, on observe une atteinte hépatique se manifestant par une hépatite cholestatique néonatale accompagnée d'une hypertrophie du foie et de la rate, d'un prurit, d'un ictère, et d'un bilan hépatique perturbé (augmentation des transaminases). Une biopsie du foie révèle la présence d'agrégats constitués d'α1-antitrypsine polymérisée. Si la fonction hépatique n'est que modérément perturbée, une évolution vers la guérison survient entre 6 et 12 mois. Cependant, une évolution vers la cirrhose est possible avant l'âge de 20 ans.
- Chez le sujet adulte, en fonction de l'importance du déficit en α1-antitrypsine, on observe principalement une atteinte pulmonaire qui se traduit par un emphysème. Le risque de développer un emphysème est majoré chez les patients fumeurs, asthmatiques et lors d'infections pulmonaires.

Système pulmonaire	Adulte symptomatique - asthme résistant aux bronchodilatateurs - Emphysème - bronchopneumopathie chronique - bronchiectasie inexpliquée - vascularite à ANCA	
	Adulte asymptomatique - réduction des performances pulmonaires inexpliquée - sensibilité pulmonaire suite à une maladie chronique	
Système hépatique	Atteinte hépatique idiopathique Sensibilité hépatique suite à une maladie chronique Enfant symptomatique : hépatite cholestatique néonatale.	
Enquête familiale	Histoire familiale d'un déficit en AAT Histoire familiale de trouble hépatique ou pulmonaire Bilan prénatal des parents en cas d'un déficit en AAT connu	



INDICATIONS DU DOSAGE ET DE LA RECHERCHE D'UN DEFICIT

- Suspicion clinique d'un déficit en 1-antitrypsine et/ou concentration sérique d'1-antitrypsine diminuée.

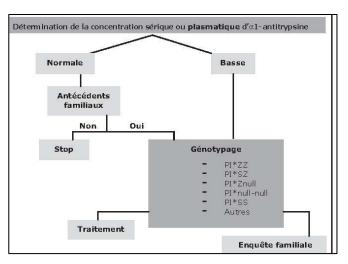


Tableau 1. Stratégie diagnostique d'un déficit en α 1-antitrypsine.

- L'AAT est un marqueur positif de l'inflammation (synthèse hépatique). Son dosage peut être proposé dans ce cadre.

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT – CONSERVATION, TRANSPORT

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

Pour le génotypage:

Obligations légales à demander au patient

L'attestation de consultation génétique accompagnée de l'ordonnance du médecin prescripteur (ou à défaut l'ordonnance du médecin prescripteur et le consentement éclairé du patient) sont indispensables pour réaliser le prélèvement et permettre la réalisation de l'analyse (décret n° 2008-321 du 4 avril 2008). Le résultat et, selon l'analyse, un compte-rendu sont adressés uniquement au médecin prescripteur (article R. 1131-19).

Bon de demande

Renseigné sur la raison de l'examen génétique, à savoir les informations cliniques et biologiques faisant suspecter un déficit en $\alpha 1$ -antitrypsine et l'arbre généalogique si le cas index est identifié.

QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Le déficit peut être masqué dans les situations suivantes associées à une augmentation des concentrations en AAT. On questionnera le patient pour savoir s'il y a une grossesse en cours (doublement des concentrations), une prise de contraceptifs oraux ou de stéroïdes (augmentation), un syndrome infectieux inflammatoire (augmentation), une opération récente (augmentation), un cancer du foie et du pancréas (variation indépendante de la constitutionnelle). Il est préférable de reporter le prélèvement en période d'asthme allergique (augmentation) et après un exercice physique récent (augmentation).

Ces situations doivent être connues pour le dépistage des sujets hétérozygotes. En cas d'inflammation, une concentration de CRP élevée devrait faire reporter le dosage de l'AAT à 10-14 jours pour conclure. Chez les sujets homozygotes, la concentration sérique en AAT n'est pas influencée.

METHODES DE DOSAGE

oiomnis - biomnis

- Dosage de l'AAT : techniques immunonéphélémétriques. La méthode évaluant la mesure du pouvoir antiprotéasique du sérum n'est plus utilisée.
- Détermination du phénotype de l'AAT : techniques d'immunoélectrophorèse sur gel d'amidon.

De nombreuses méthodes ont été développées pour la recherche des variants S et Z. Ces méthodes sont fondées sur l'amplification par PCR (polymerase chain reaction) d'une région du gène AAT ciblant la mutation. Les modalités opératoires permettant de mettre en évidence la mutation à partir du produit de PCR sont diverses. On peut citer :

- traitement des produits d'amplification à l'aide d'endonucléases de restriction (méthode de **PCR-RFLP** pour PCR-Restriction fragment length polymorphism);
- amplification des formes alléliques sauvage et mutée à l'aide d'amorces spécifiques (**PCR-SSP** pour PCR sequence-specific primers) ou modifiées (**PCR-ARMS** pour PCR-amplification-refractory mutation system);
- révélation du produit d'amplification à l'aide de sondes spécifiques des formes alléliques sauvage et mutée (*PCR-ASO* pour *PCR-allele-specific* oligonucleotide);
- **PCR temps réel** fondée sur la détection d'un signal de fluorescence (sondes d'hydrolyse, sondes en tandem, balises moléculaires, sondes scorpions, amorces fluorescentes);
- traitement des produits d'amplification par extension d'amorce (**miniséquençage** ou *SNaPshot, Single base* extension ELISA);
- **séquençage** des produits d'amplification.

VALEURS DE REFERENCE

A titre indicatif:

- Adultes: 0,9 - 2,1 g/l



- Enfants : Nouveau-nés : 1,25 - 2,5 g/l 1 mois - 15 ans : 0,98 - 1,96 g/l.

VARIATIONS PHYSIOPATHOLOGIQUES

■ VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

La concentration sérique en AAT augmente en cas de prise de contraceptifs oraux contenant des estrogènes et au cours de la grossesse.

■ VARIATIONS PATHOLOGIQUES

Un profil électrophorétique des protéines est un bon indicateur des déficits en AAT, car l'AAT est la protéine principale du pic des alpha-1 globulines. Un dosage inférieur à 0,7 g/l fait fortement suspecter un déficit homozygote.

L'immunoélectrophorèse permet d'avoir le phénotype exact des patients.

L'augmentation de l'AAT est observée au cours des processus inflammatoires évolutifs, des cancers du pancréas et du foie, des hépatites aiguës, des troubles hématologiques et en cas d'asthme allergique.

TRAITEMENT D'UN DEFICIT

Dans les cas où la maladie évolue vers l'insuffisance hépatique, le recours à la transplantation hépatique est le seul traitement efficace. Le traitement de l'atteinte pulmonaire consiste en l'administration d' α 1-antitrypsine par perfusion.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Feldmann G., Foie et déficit héréditaire en -1antitrypsine, Encycl Med Chir (Elsevier, Paris), Hépatologie 7-220-A-10, 1998; 5p.
- American Thoracic Society, European Respiratory Society, Standards for the diagnosis and management of individuals with α -1-antitrypsin deficiency, Am J Res Crit Care Med, 2003; 168:818-900.
- Dahl M., Tybjaerg-Hansen A., Lange P., Vestbo J., Nordestgaard B., Change in lung function and morbidity from chronic obstructive pulmonary disease in -1 antitrypsin MZ heterozygotes: A longitudinal study of the general population, Ann Intern Med. 2002;136:270-9.
- DeMeo D.L., Silverman E.K., Alpha1-antitrypsin deficiency. 2: Genetic aspects of alpha(1)-antitrypsin deficiency: phenotypes and genetic modifiers of emphysema risk. Thorax, 2004;59:259-64.
- Lomas D.A., Parfrey H., Alpha1-antitrypsin deficiency. 4: Molecular pathophysiology. Thorax, 2004;59:529-35.
- Luisetti M., Seersholm N., Alpha1-antitrypsin deficiency. 1: Epidemiology of alpha1-antitrypsin deficiency. Thorax, 2004;59:164-9.
- Needham M., Stockley R.A., Alpha 1-antitrypsin deficiency. 3: Clinical manifestations and natural history. Thorax, 2004;59:441-5.

iomnis - biomnis