

I contributi versati a favore dell'Associazione Nazionale Alfa1-AT ONLUS sono deducibili dalla dichiarazione dei redditi. Le persone fisiche possono detrarre dall'imposta lorda (Mod. 730 o Mod. Unico Persone Fisiche) il 19% dell'importo donato a favore delle ONLUS fino ad un massimo di 2.065,83 Euro, ai sensi dell'art. 13-bis, lettera i-bis del Testo Unico Imposte sui Redditi D.P.R. n. 917/86.

Per le imprese il beneficio fiscale detraibile, ai sensi dell'art. 65, del Testo Unico Imposte sui Redditi D.P.R. n. 917/86, è pari ad un importo non superiore a 2.065,83 Euro o, se superiore, al 2% del reddito di impresa dichiarato.

Per ottenere le agevolazioni fiscali è necessario conservare tutte le ricevute dei bonifici effettuati, unici documenti giustificativi per la deduzione in dichiarazione.

Associazione Nazionale Alfa1-AT - ONLUS di diritto
Sede Legale: Via Galilei, 24 - 25068 Sarezzo (BS) Sede Operativa: Via Puccini, 25/A 25068 Sarezzo (BS)
tel. 030 8901057 - 335 7867955/57 - 335 7599026 - fax 030 8907455
C/C postale 30986210 - C/C bancario n. 10001 - Banco di Brescia - ABI 3500 - CAB 55220

e-mail: info@alfa1at.org - sito internet http://www.alfa1at.org

Stampa Litografia ellemoduli - Sarezzo (BS)





#### Numero cinque - maggio 2006

Foglio informativo dell'Associazione Alfa1-AT ONLUS - redatto, stampato e distribuito in proprio



# LA STRADA È TRACCIATA

Carissimi,

dedichiamo interamente questo numero del nostro foglio informativo Clifabello allo screening genetico che ha coinvolto la popolazione adulta del comune di Pezzaze (BS) nel mese di aprile 2005.

Vogliamo ripercorrere con voi la storia di quella che, finora, rappresenta la nostra più importante iniziativa; il rilievo che essa ha già ottenuto è, per tutti coloro che hanno collaborato, un riconoscimento della qualità del lavoro fin qui svolto. La nostra Associazione, che l'ha fortemente voluta, patrocinata e finanziata, vuole ora rendere partecipi tutti gli interessati di una sintesi dei risultati cui si è pervenuti.

Il primo passo compiuto nella direzione ora tracciata è stata la "battaglia" da noi vinta grazie alla quale, nel corso del 2003, è stata riattivata presso gli Spedali Civili di Brescia la metodologia di agnostica della genotipizzazione, precedentemente sospesa; infatti, l'Associazione stipulò nell'occasione un accordo con gli Spedali Civili offrendo la collaborazione della Dr.ssa Medicina, esperta di genotipizzazione del deficit di α1-antitripsina.

Nel frattempo aveva visto la luce la prima bozza del progetto di ricerca: firmata nel febbraio del 2003 dal Prof. Callea, all'epoca Presidente del Comitato Scientifico dell'Associazione, si trattava di un documento dal titolo "Deficit di αl-antitripsina: ricerca delle Mutazioni con rilevanza in patologia" che il Prof. Callea (ora all'Ospedale Bambin Gesù di Roma) presentò ai membri dello stesso Comitato: questo rappresenta l'avvio, a tutti gli effetti, del progetto di screening di massa in alcune zone ad ipotetica alta concentrazione di portatori del deficit.

Fin dall'inizio si è previsto di testare tutta la popolazione di due Comuni campione, dove si ipotizzava esserci una incidenza della patologia più elevata rispetto ad altre zone. Tali ipotesi, basate sull'analisi dei dati del Centro di Riferimento bresciano per il deficit, nei quali si evidenziava che numerosi portatori del deficit stesso provengano da questi Comuni, si sono rivelate per ora (il dubbio rimane solamente sulla popolazione del secondo Comune inizialmente individuato, non ancora indagata) decisamente fondate.

Nel 2004 il progetto è stato perfezionato e presentato con il titolo "Deficit di  $\alpha 1$ -antitripsina: ricerca delle mutazioni con rilevanza in patologia nelle popolazioni della Val Trompia" al Comitato Etico dell'ASL di Brescia, che l'ha vagliato ed ha espresso parere favorevole al suo compimento.

Le realtà coinvolte in tale progetto, che nel frattempo ha ottenuto finanziamenti dalla Provincia di Brescia, dalla Comunità Montana della Valtrompia, dalla Fondazione della Comunità Bresciana, dall'Amministrazione Comunale di Sarezzo (BS) e da numerosi benefattori privati. sono state molteplici, a partire in primo luogo dalla nostra Associazione di pazienti, con il supporto dei medici della Fondazione Maugeri di Gussago/Lumezzane e degli Spedali Civili di Brescia, dell'ASL di Brescia e del Comune di Pezzaze (BS) e con la collaborazione dei medici di Medicina Generale che assistono la popolazione del Comune stesso; innumerevoli volontari, cui va ancora e sempre il nostro ringraziamento, hanno supportato il lavoro necessario per portare a compimento questa nostra idea.

Dopo essere stato presentato alla popolazione in occasione di un'Assemblea pubblica il 18 marzo 2005, nel successivo mese di aprile, nel Comune di Pezzaze (BS), più di ottocento cittadini si sono volontariamente sottoposti ad un prelievo del sangue per le analisi di laboratorio, condotte dal Laboratorio di Analisi dell'Ospedale di Gardone V.T., A.O. Spedali Civili, diretto dal dr. Moretti, e dal reparto di Prima Anatomia Patologica degli Spedali Civili di Brescia, diretto dal Prof. Facchetti.

Nel seguito di Clfabello, come detto in precedenza, troverete maggiori dettagli sugli aspetti ed i risultati scientifici dello screening: da parte nostra evidenziamo che sono dati davvero inaspettati e sorprendenti, laddove sulla popolazione complessivamente sottoposta ad analisi mediche, ovvero 816 persone, ben 100 sono risultate avente mutazione eterozigote e 2 mutazione omozigote. Come termine di paragone,

ricordiamo che una malattia viene considerata rara, in base all'attuale legislazione italiana, quando non interessa più di 1 persona su 5000; inoltre sono stati identificati dei casi di varianti genetiche rare che, nel mondo intero, rappresentano poche unità.

Vale qui la pena di ricordare nuovamente che la ragione principale per cui la nostra Associazione ha promosso e voluto l'iniziativa è quella di permettere una diagnosi precoce del deficit di cal-antitripsina ed offirire adeguata assistenza a tutti coloro che ne sono portatori. L'esito di questo studio ci permetterà inoltre di avere maggior peso nei confronti del Sistema Sanitario Nazionale, così da sostenere sempre di più e meglio i portatori del deficit, con l'obiettivo di poter disporre di tecnologie nuove, di strutture e mezzi per le persone portatrici e per stimolare la ricerca scientifica e la diffusione della diagnosi precoce di questa condizione genetica.

Cogliamo infine l'occasione per segnalarvi che alla fine di questo mese si terrà a San Diego, in California (USA), un convegno medico di prim'ordine in occasione del quale verrà presentato, in forma di poster, il lavoro di screening di cui sopra, mentre il giorno 9 del prossimo mese di giugno, presso l'Università degli Studi di Brescia avrà luogo un convegno interamente dedicato al deficit di α1-antitripsina, in collaborazione con l'Associazione e gli Spedali Civili di Brescia: un'ulteriore occasione per parlare del progetto di screening. Troverete maggiori dettagli su questo appuntamento nell'ultima pagina di Clifabello.

Ringraziamo nuovamente di cuore tutti coloro che ci hanno sostenuto ed aiutato a vario titolo; confidiamo che lo screening rappresenti davvero l'inizio di una nuova strada, ormai tracciata, per tutti i pazienti affetti dal deficit e per i loro familiari.

Il Segretario Alessandro Capretti

II Presidente

#### Lo screening di Pezzaze: esempio di positiva collaborazione tra Enti

Prof. Valentino Maffina Sindaco di Pezzaze (BS)

Quando Nuccia Gatta più di un anno fa mi presentò il progetto di sottoporre la popolazione adulta di Pezzaze ad uno screening per la verifica dell'eventuale deficit della proteina alfa-l antitripsina, chiedendo la collaborazione dell'Amministrazione comunale, diedi subito la massima disponibilità alla buona riuscita dell'esame genetico che per la prima volta veniva esteso ad un campione così numeroso.

La proposta dell'Associazione Nazionale Alfa-1 AT, a cui avevano aderito gli Spedali Civili, l'ASL e la Comunità Montana di Valle Trompia, è stata fatta propria con estrema convinzione da tutta la comunità di Pezzaze: Comune, Parrocchie, Casa di Riposo "Istituto Bregoli", Gruppi Avis, medici di famiglia, cittadini.

In tale contesto, l'Amministrazione comunale, per favorire l'informazione e far cadere eventuali diffidenze, ha distribuito a tutte le famiglie una lettera con l'invito ad avere fiducia nella proposta dell'Associazione, peraltro utile alla salute di ciascuno e anche al progresso della ricerca scientifica nello specifico settore.

Il risultato della campagna di sensibilizzazione è stato soddisfacente: alla presentazione del progetto, tenutasi il 18 marzo 2005, la sala

## Non solo screening, anche un'epopea

Dr. Luciano Corda - Dirigente Medico, Prima Divisione di Medicina Interna, Spedali Civili-Brescia Centro di Riferimento Deficit Alfa I-antitripsina

Arduo il compito del sottoscritto: ricreare in due fogli una magica atmosfera e farla vivere a chi non ha partecipato, farla ricordare a chi l'ha creata. Lo sforzo è quasi impossibile e mi chiedo: ma chi me l'ha fatto fare? Risposta: me stesso (e mi mando a quel paese) e il famoso Vulcano (tutto intento a eruttare, non mi ascolta nemmeno). Finisco coi riferimenti personali: raramente ho vissuto così intensamente un'esperienza collettiva come quella dei giorni dello screening di Pezzaze; pur rischiando la retorica ricordo il silenzioso sforzo comune senza volti arrabbiati o senza sentore di umore alterato: tutti eravamo allegri e ben disposti verso la gente a sua volta impegnata senza fretta o maleducazione a sottoporsi al prelievo e al questionario. Riguardando le foto che ci siamo scattati, vi rivedo tutti più belli del solito mentre ci impegniamo alla riuscita dell'iniziativa. Ricordo anche il lavoro della sala colazioni dove c'era qualcuno dispnoico per l'enfisema ma allegro...ricordo una mattina che siamo arrivati e abbiamo trovato la neve appena caduta qualche metro più in alto di noi, in un'aria freschissima!

Si è proprio trattato di un'epopea, se per epopea si intende qualcosa di molto simile a un insieme di gesti e fatti indimenticabili che ben resteranno impressi nella memoria di chi li ha compiuti o di chi ne ha beneficiato. Epopea sarà a maggior ragione se chi ne ha il preciso dovere sarà in grado di valorizzame i risultati e gli effetti.

La premessa fu particolarmente incoraggiante: la sera della presentazione del progetto alla popolazione - svoltasi nella sala comunale di Pezzaze di fronte a centinaia di persone, inclusi Sindaco, Assessori, Medici di Famiglia, Parroco e rappresentanti della Comunità Montana - riscontrò un certo successo e noi, all'inizio molto emozionati, ne uscimmo soddisfatti e rinfrancati.

Ottocentosedici (816) prelievi, 816 questionari, 816 registrazioni anagrafiche, 816 colazioni, 2448 provette, lettini, sedie, poltrone, tavolini e tavoloni, decine di faldoni, decine di scatoloni, centinaia di brioches e cappuccini, decine di salami e prosciutti preparati in otto giorni: questo è un tentativo di approssimato bilancio crudamente numerico. Ma se in principio ci credeva una sola persona - la Nuccia - alla fine ci hanno creduto tutti, intensamente. E ci hanno creduto i Pezzazesi che alle 7 di mattina già trovavamo in coda ansiosi di sottoporsi allo screening. Grazie a tutti, insomma! (Evviva l'Associazione Alfa1-AT!)

In questo momento il gruppo di "cervelloni" fumanti, formato dal Dr. Balbi "un dottore dalla laringe debole, visto che a Pezzaze si è ammalata", dalla Dr.ssa Medicina "molto calata nella parte", dalla Dr.ssa Bertella "alla fin fine orgogliosa della

sua razza triumplina" e dal redattore, valuta i risultati dello screening e mette a punto le strategie di analisi e di comunicazione dei risultati. Tutti e quattro sono ansiosissimi riguardo alla Nuccia, capace di scotennarli se qualcosa "non la sconfinfera" (toscanismo che significa "non le garba") in fatto di tempistica e gestione dei dati.

Alcune citazioni personali, imprescindibili. Abbiamo acquistato due autentici campioni come Marzio Maffina e Gigliola Cottali. Il loro impegno e la loro serietà è stata di esempio per tutti e i loro suggerimenti particolarmente preziosi. Nessuno ha dei dubbi sul fatto che per il futuro non potremo fare a meno di loro e della loro cultura organizzativa. Non dimenticheremo lo stile di Francesco Moretti. primario del Laboratorio di Analisi di Gardone Val Trompia, e delle sue collaboratrici che accoglievano col sorriso sulla bocca le nostre centinaia di provette anche la domenica mattina verso mezzogiorno. Moretti non ha mai chiesto niente per sé o per i suoi collaboratori, a causa della nostra distrazione qualche volta in sedi pubbliche o sui giornali ci siamo dimenticati di ricordarlo ma non ha mai alzato il telefono per protestare.

Dopo lo screening la nostra Associazione non sarà né potrà essere la stessa di prima. Siamo cresciuti e di molto. L'esempio di organizzazione è stato magistrale: la macchina ha funzionato perfettamente, oliata a puntino, e le famose squadre (ciascuna composta da prelevatore, medico, addetto alla segreteria e ristoratore) hanno vinto la loro personale Coppa dei Campioni. Stiamo facendo scuola - almeno a livello locale - in campo di screening: ci hanno già chiesto il modello del consenso informato per altri screening e membri universitari del Comitato Etico dell'ASL ci trattano con un certo rispetto, Bovegno chiede a gran voce quando lo screening sarà esteso sul suo territorio e tra la sua popolazione. Qualcuno chiede cosa ne faremo del DNA di Pezzaze (di cui, ovviamente, siamo molto gelosi e di fronte al quale abbiamo messo di guardia due mastini feroci).

L'Associazione è ormai nota in campo internazionale anche per lo screening. Mai nessuno al mondo ha eseguito uno screening del deficit di alfa1-antitripsina così esteso con la genotipizzazione e alcuni ci invidiano. I dati scientifici che ne verranno fuori potrebbero essere anche clamorosi, ma, soprattutto, avrà una importanza preminente l'attenzione alla salute dei pezzazesi.

Due degli obiettivi principali dell'Associazione - diagnosi precoce e diagnosi estesa - sono stati brillantemente raggiunti grazie al serio e approfondito impegno di tutti i membri, ciascuno in proporzione alle sue capacità, al suo tempo a disposizione e al suo entusiasmo.

sulla possibilità di rivolgersi al centro di riferimento in 1a Medicina o Maugeri, per eventuali chiarimenti e precisazioni o per sottoporsi a un programma di controlli utili per personalizzare e valutare la propria personale condizione.

In base ai parametri considerati (dosaggio di glicoproteina nel sangue, transaminasi, genotipo, questionario respiratorio) sono state identificate 5 tipologie di pazienti: soggetti sani in cui tutti i parametri risultavano nella norma; soggetti con transaminasi e/o sintomi respiratori leggermente alterati ma con nessuna evidenza di alterazioni specifiche per il deficit di Alfa-1-Antitripsina: eterozigoti per una variante comune associata a deficit; soggetti omozigoti con deficit di Alfa-1-Antitripsina; categoria interlocutoria di persone in cui il risultato genetico di assenza di una delle due varianti S o Z più comuni del gene Alfa-1-Antitripsina non collimava perfettamente con il dosaggio della proteina sierica leggermente inferiore alla norma che richiedono un approfondimento genetico.

A queste persone va un particolare ringraziamento per la fiducia che hanno dimostrato verso di noi e verso la scienza in generale.

Ora lo studio genetico è ancora in corso e, anzi, è in quella fase che di più interessa il ricercatore e dalla quale ci si aspettano nuove e più importanti scoperte, visto che si stanno compiendo minuziosi approfondimenti sulle varianti più rare del gene correlate a difetti di funzionamento. Questo nuovo livello di indagine più approfondito del precedente ha lo scopo di evidenziare mutazioni rare o nuove che comportano difetti nel gene con conseguente

alterazione della proteina che produce, e quindi anomalie nel funzionamento e maggiore rischio di sviluppare un fenotipo patologico.

Le ulteriori analisi genetiche sono stato eseguite fino ad oggi su una selezione di 20 pazienti, scelti in base al dosaggio sierico di glicoproteina circolante inferiore alla norma, e che quindi, erano ritenuti probabilmente portatori di una qualche anomalia. In questo gruppo selezionato abbiamo trovato che nel 65% dei casi era presente una mutazione rara associata a deficit di Alfa-1-Antitripsina.

Finora 4 tipi di mutazioni rare associate a deficit di Alfa-1-Antitripsina sono state evidenziate in portatori eterozigoti.

L'impegno del nostro gruppo per il prossimo futuro sarà quello di lavorare in stretta collaborazione per far emergere quanti più possibili risultati da questo lavoro, che si è dimostrato estremamente interessante non solo per il ritrovamento di mutazioni rarissime dal punto di vista genetico, ma che ha portato a risultati epidemiologici, clinici e prognostici importanti.

Al termine di questa parte di lavoro si aprirà un nuovo capitolo di ricerca.

Infatti il nostro nuovo obiettivo sarà quello di approfondire dal punto di vista scientifico le eventuali correlazioni con altre proteine e geni coinvolti nel meccanismo di degradazione delle proteine anomale e di accumulo soprattutto a livello epatico, con la proposta di progetti di ricerca futuri per esplorare sempre di più il "fantastico mondo dell'Alfa-1-Antitripsina" che si è configurata come una "condizione" non così rara come si è creduto fino ad oggi.



Nella pagina seguente compare un articolo già apparso in precedenza su culfabello: abbiamo deciso di riproporlo perché, scritto poco dopo lo svolgimento dello screening sul "campo", ne parla "a caldo". Buona (ri)lettura.

La Redazione

consiliare era infatti gremita di cittadini che hanno dimostrato vivo interesse e disponibilità a collaborare e, nei due fine settimana del successivo mese di aprile previsti per l'effettuazione dei prelievi di sangue, ben 816 persone si sono messe in coda per sottoporsi allo screening.

Ora, esattamente un anno dopo, possiamo tranquillamente affermare che la tenace volontà di conseguire un risultato, sfociata in positiva sinergia tra Enti, la capacità di coinvolgere l'intera comunità, presentando con semplicità e chiarezza un tema delicato come quello che attiene alla salute personale, l'ottima organizzazione delle varie fasi del progetto sono stati gli ingredienti che hanno consentito di raggiungere in modo brillante il duplice obiettivo di effettuare la diagnosi precoce e la diagnosi estesa nella nostra comunità.

Esprimo pertanto un vivo ringraziamento alla Presidente dell'Associazione Alfa-1 AT Nuccia Gatta, che ha fortemente creduto nel progetto, alla sua équipe medica e a tutti coloro che, a vario titolo, hanno offerto il proprio fattivo contributo.

In particolare voglio segnalare il discreto, ma prezioso lavoro organizzativo svolto da Marzio Maffina, rivelatosi fondamentale al buon esito dello screening.

Possa essere questo un esempio di positiva collaborazione in grado di indicare la strada su cui camminare anche per analoghe future iniziative.

# I risultati, protagonisti anche di una scoperta scientifica? Confermata l'elevata incidenza negli asintomatici

Dr. Bruno Balbi - Presidente Comitato Scientifico Associazione Nazionale Alfal-AT Primario, Divisione di Pneumologia, Fondazione Maugeri, I.R.C.C.S., Veruno (NO)

Dr. Luciano Corda - Membro Comitato Scientifico Associazione Nazionale Alfa1-AT Dirigente Medico, Prima Divisione di Medicina Interna, Spedali Civili- Brescia Centro di Riferimento Deficit Alfa1-antitripsina

Come già molti ricordano lo screening prevedeva:

- 1. la cosiddetta somministrazione di un questionario sui sintomi respiratori
- 2. il dosaggio dell'alfa1-antitripsina plasmatica
- 3. il dosaggio delle transaminasi per valutare la funzione del fegato
- 4. l'esame genetico sul DNA che regola la produzione dell'alfa1-antitripsina

Nei sei giorni dedicati ai prelievi (15, 16, 17, 22, 23, 24 aprile 2005) attendevamo i residenti maggiorenni a Pezzaze, in totale 1344.

Si sono presentate 816 persone, pari al 60,8% del totale.

619 risultati definitivi su altrettante persone sono disponibili sin dai primi giorni del gennaio scorso quando abbiamo provveduto a distribuire una lettera a ciascuno degli 816 cittadini di Pezzaze che hanno partecipato allo studio.

Al primo, più importante, esame genetico, quello della ricerca a tappeto delle varianti di deficit più comuni – la variante S e la variante Z - abbiamo individuato:

- 590 soggetti senza deficit di alfa1-antitripsina di tipo Z o di tipo S
- 2 soggetti omozigoti di cui uno ZZ (con dosaggio di alfa1antitripsina plasmatica pari a 23 mg/dL, transaminasi normali, questionario respiratorio normale) e uno SS (con dosaggio di alfa1antitripsina plasmatica pari a 86 mg/dL, transaminasi alterate, questionario respiratorio

normale)

- 48 eterozigoti MZ (tra cui 8 soggetti avevano transaminasi alterate e 4 avevano un questionario respiratorio alterato)
- 52 eterozigoti MS (tra cui 4 soggetti avevano transaminasi alterate e 5 avevano un questionario respiratorio alterato)

A questi soggetti abbiamo dato la disponibilità a valutare la loro situazione presso i nostri Centri di Riferimento come venivano segnalati nelle lettere inviategli. Risulta utile in questi casi eseguire una spirometria e valutare l'indicazione all'esecuzione di una Ecografia epatica. Molti di loro si sono già rivolti a noi e hanno eseguito questi approfondimenti clinici.

Un gruppo di soggetti non ha mostrato nessun segno di deficit di alfa1-antitripsina, ma abbiamo rilevato esclusivamente delle alterazioni delle transaminasi e/o del questionario respiratorio. Nelle lettere inviategli abbiamo consigliato di rivolgersi al loro medico curante non essendoci problemi riguardanti l'alfa1-antitripsina. Non abbiamo comunicato al curante il loro nome direttamente per motivi di privacy: è stata quindi loro premura rivolgersi al loro medico di fiducia.

Resta un gruppo di soggetti con un esito ancora interlocutorio (197 in totale), esito del quale abbiamo accennato nella lettera inviata specificamente a questi soggetti. Si tratta di persone che, a nostro giudizio, hanno un dosaggio di alfa1-antitripsina non perfettamente coincidente con il risultato genetico. Questa situazione da definire (i primi 20 risultati sono in corso di

distribuzione agli interessati mentre i dati finali degli altri 177 saranno pronti entro l'autunno) necessita di un approfondimento genetico attualmente in corso e a buon punto, utile a individuare altre varianti meno comuni, ancora più rare della S e della Z. Dai primi approfondimenti eseguiti, appunto, su 20 soggetti selezionati, abbiamo trovato ben 13 soggetti portatori di varianti rare di deficit, alcune delle quali rarissime, altre addirittura mai descritte scientificamente.

Il commento su questi dati si può riassumere nei seguenti punti:

- É confermata abbondantemente l'elevata incidenza del deficit a Pezzaze, quindi siamo riusciti ad individuare una comunità dove valeva perfettamente la pena di essere svolto lo sforzo di uno screening.
- La stragrande maggioranza di soggetti portatori di deficit è asintomatica, quindi è stato centrato l'obiettivo di una individuazione precoce, a tutto vantaggio del soggetto interessato.
- 3. Vi è qualcosa di molto più concreto di una sensazione che riguarda la scoperta di nuove variati rare, ancora più rare delle varianti Z ed S, già presenti a Pezzaze. Questa osservazione ha un duplice significato: un significato scientifico che pone questa ricerca all'avanguardia anche a livello internazionale e, di nuovo, un significato di prevenzione eguale al punto 2 dal momento che una individuazione di varianti nuove prima di una loro eventuale manifestazione patologica è tutta a vantaggio del portatore.
- 4. La metodologia genetica attuata, probabilmente per la prima volta in ambito internazionale, è stata particolarmente efficace.
- Tutti questi risultati non si sarebbero mai potuti raggiungere senza la grande collaborazione tra medici, biologi, volontari e amministrazione comunale.

Pezzaze, insomma, anche grazie a questa iniziativa, è all'avanguardia.

### Aspetti e risultati genetici dello screening

Dr.ssa Daniela Medicina Laboratorio di Biologia Molecolare del 1º Servizio di Anatomia Patologica, Spedali Civili- Brescia

Due anni fa ho ricominciato con grande entusiasmo la mia attività presso gli Spedali Civili di Brescia. Sono stati anni di lavoro impegnativo ma proficuo, a cominciare dal fatto che ho potuto riprendere ad occuparmi di Alfa-1-Antitripsina che, oltre ad essere stata il mio primo vero interesse professionale, mi ha spronato a perseverare anche durante le ricerche oncologiche che ho svolto nella mia città natale e mi ha consentito di raggiungere importanti risultati. Ricordavo con grande affetto anche le persone con cui avevo collaborato a Brescia, Luciano, Nuccia, il professor Grassi, tanti colleghi sia medici che ricercatori o pazienti o familiari di pazienti, che avevo conosciuto o con cui avevo discusso i casi di "sospetto deficit di AAT".

Il nostro gruppo ha individuato e catalogato diverse varianti rare associate a deficit di Alfa-1-Antitripsina, le abbiamo studiate e approfondite sia dal punto di vista genetico-proteico conformazionale che clinico, cercando di fare una valutazione multidisciplinare dei risultati trovati.

La gratitudine verso la città che mi ha accolta con affetto ed è stata testimone di molti miei successi professionali mi ha suggerito di nominare variante NULL BRESCIA e variante M BRESCIA due mutazioni riconosciute dall'organismo preposto (la Gene Bank Americana) come nuove mutazioni associate a deficit di Alfa-1-Antitripsina.

Nel laboratorio di Biologia Molecolare in 1a Anatomia Patologica, dove sono tornata a lavorare, tra le nuove cose di cui mi occupo, uno spazio "speciale" è dedicato all'indagine genetica del deficit di Alfa-1-Antripsina. Il laboratorio si è dotato di tutte le tecnologie necessarie per studiare in maniera approfondita questo tipo di difetto genetico che può portare anomalie funzionali a diversi organi (soprattutto fegato e polmone).

L'opportunità di poter effettuare un tipo di studio su larga scala, quale è lo screening sulla popolazione di Pezzaze, è stato però possibile solo grazie all'Associazione dei pazienti, coordinata dalla Sig.ra Nuccia Gatta, che ha svolto instancabilmente il lavoro organizzativo e promozionale di tutta l'iniziativa, al Dott. Luciano Corda e suoi collaboratori della la Medicina degli Spedali Civili e al Dott. Bruno Balbi della Fondazione Maugeri che hanno stilato i protocolli operativi e i questionari e si occupano della parte clinica di questo difetto.

Dopo una maratona di tre più tre giorni estenuanti di prelievi e questionari che hanno coinvolto un numero impressionante di persone tra operatori del settore e volontari, le provette di sangue periferico sono pervenute al laboratorio di Biologia Molecolare in forma anonima, con il solo numero di riconoscimento del campione, e sono state congelate a -20°C per una ottimale conservazione.

Successivamente, sono state processate in gruppi e sottoposti a metodiche di lavaggio e purificazione allo scopo di estrarre il DNA genomico.

Compito del nostro laboratorio è stato quello di studiare il gene dell'Alfa-1-Antitripsina per evidenziare se erano presenti anomalie genetiche associate a difetti della proteina circolante che potessero essere coinvolte nel deficit di Alfa-1-Antitripsina e tipizzare le varie mutazioni.

Lo studio molecolare non ha soltanto coinvolto il personale tecnico direttamente preposto a questa analisi (Alessia Scandella che ha eseguito l'estrazione del DNA e Mirella Barbaglio che ancora oggi sta continuando il lavoro sul deficit di Alfa-1-Antitripsina), ma ha trovato una entusiastica partecipazione da parte di tutto il Laboratorio, che ha visto in questa iniziativa una importante evoluzione delle tecnologie applicabili in Anatomia Patologica.

L'analisi genetica è stata eseguita su 816 abitanti che si sono volontariamente sottoposti a prelievo di sangue.

Di questi, 714 sono risultati normali per le varianti S e Z del gene AAT, mentre 52 risultavano possedere uno dei due alleli alterato per la mutazione S (eterozigoti S) e 48 presentavano una anomalia su un allele per la mutazione Z (eterozigoti Z).

In aggiunta abbiamo trovato due campioni con alterazioni su entrambi gli alleli per la stessa mutazione: un omozigote SS e un omozigote ZZ.

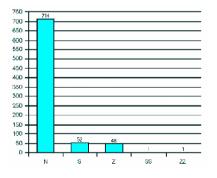


Figura 1. Risultati dello screening della popolazione adulta del comune di Pezzaze (BS), laddove: N = popolazione normale, S = con mutazione eterozigote S, Z = con mutazione eterozigote S, ZZ = con mutazione omozigote S, ZZ = con mutazione omozigote Z.

I risultati ottenuti dall'indagine genetica di screening sono estremamente interessanti e confermano che la popolazione scelta per lo studio (abitanti del Comune di Pezzaze) effettivamente risponde alle caratteristiche ipotizzate.

Infatti, le anomalie genetiche più comuni S e Z in forma eterozigote sono state riscontrate nel 12% della popolazione analizzata e questo dato mostra una frequenza più elevata rispetto alla popolazione generale.

La mutazione S è una mutazione puntiforme che si trova sul III esone del gene AAT e porta a sostituire l'amminoacido acido glutammico in posizione 264 della glicoproteina in valina.

Questa mutazione, a causa della conseguente riduzione del livello di glicoproteina circolante che non protegge efficacemente le cellule (riduzione dell'azione antiproteasica), comporta un aumentato rischio di sviluppare patologia a livello delle vie respiratorie (asma, ostruzione bronchiolare, fino ad arrivare all'enfisema polmonare).

La mutazione Z è una mutazione puntiforme dovuta al cambiamento di un nucleotide nella sequenza del V esone del gene AAT che porta alla sostituzione dell'amminoacido acido glutammico in lisina in posizione 342 nella glicoproteina AAT.

La mutazione Z è la variante più comune coinvolta in epatopatia, benche esistano numerose altre varianti, più rare, che portano allo stesso tipo di disturbo. In questi casi, oltre al problema polmonare dovuto alla scarsa quantità di glicoproteina circolante, si ha anche un difetto nelle cellule che producono l'AAT e cioè negli epatociti del fegato.

La malattia epatica è una complicanza dell'accumulo all'intemo dell'epatocita di polimeri di glicoproteina anomala che non possono uscire dalle cellule che le sintetizzano e andare nel sangue ma rimangono all'intemo e disturbano le normali funzioni del fegato.

Nei portatori della mutazione esiste un aumentato rischio di sviluppare statosi o cirrosi epatica e, soprattutto se il fegato viene sottoposto ad abusi di alcool o agenti tossici o virali (es. epatite), si può arrivare a un quadro clinico anche serio e tale da suggerire in alcuni casi il trapianto di fegato.

Nei portatori eterozigoti Z la metà della proteina prodotta viene accumulata nel fegato e si può vedere molto bene la sua presenza sia con le comuni colorazioni istochimiche che con colorazioni immunoistochimiche con anticorpi specifici sulla biopsia epatica.

Completata l'indagine genetica di screening per le varianti S e Z più comuni del gene, si è provveduto alla compilazione e all'invio, presso la sua abitazione, ad ogni singolo volontario che ha aderito all'iniziativa di un referto esplicativo della sua situazione genetica (presenza o assenza delle mutazioni S e Z), corredato da una lettera con una valutazione clinica generale di rischio diagnostico e prognostico sul fenotipo con indicazioni