

# Utilidad de la cuantificación de la banda alfa-1 del proteinograma sérico en el cribado del déficit de alfa-1-antitripsina

M. Miravittles, R. Jardí<sup>a</sup>, F. Rodríguez-Frías<sup>a</sup>, M. Torrella, D. Pelegrí<sup>a</sup> y R. Vidal

Servicios de Neumología y <sup>a</sup>Bioquímica. Hospital General Vall d'Hebron. Barcelona.

**FUNDAMENTO:** Estudios poblacionales indican que el déficit de alfa-1-antitripsina (AAT) es una enfermedad infradiagnosticada. A pesar del conocimiento general de que se acompaña de un descenso de las alfa-1 proteínas séricas, no existen estudios que evalúen el valor diagnóstico de la cuantificación de la banda alfa-1 en el cribado del déficit de AAT.

**SUJETOS Y MÉTODO:** Durante 3 meses se han seleccionado los proteinogramas que presentaban una banda alfa-1 inferior a los valores de referencia. Sobre estos sueros se ha determinado el fenotipo Pi de la AAT por enfoque isoeléctrico. La distribución de fenotipos se ha comparado con la obtenida en la población de la misma área geográfica (n = 440). Los valores de referencia de la banda alfa-1 se han obtenido en 73 individuos sanos de fenotipo Pi no deficiente. Además, se ha cuantificado la banda alfa-1 en un grupo de 17 pacientes deficitarios Pi ZZ.

**RESULTADOS:** Se han analizado 7.305 proteinogramas. De ellos, 104 (1,4%) presentaban valores de alfa-1 inferiores al límite de referencia, establecido en el 2,3%, y pertenecían a individuos sin hipoproteinemia. La distribución de fenotipos en este grupo fue de: Pi MM 25 (24%), MS 52 (54%), MZ 13 (12,5%), SS 5 (5%); respecto a la población normal las *odds ratio* (IC de 95%) fueron respectivamente 0,10 (0,16-0,06); 4,58 (2,97-7,04); 4,35 (2,09-9,04) y 5,51 (1,66-18,16);  $p < 10^{-5}$  en todos los casos excepto para SS ( $p < 0,05$ ). Los valores en los pacientes Pi ZZ fueron de 1,4%  $\pm$  0,3% (intervalo = 1,0-2,1%).

**CONCLUSIONES:** Entre los individuos con valores descendidos de la banda alfa-1 del proteinograma sérico encontramos 3 veces menos sujetos con el fenotipo normal Pi MM y muchos más individuos portadores heterocigotos del alelo Z. Los valores de la banda alfa-1 en pacientes con déficit de AAT (fenotipo Pi ZZ) presentan de forma constante valores de la banda alfa-1 por debajo de los límites de referencia. La determinación de la banda alfa-1 del proteinograma es un método sencillo y al alcance de cualquier laboratorio que puede ser muy útil en el cribado del déficit de AAT en pacientes con enfermedades respiratorias crónicas.

**Palabras clave:** Alfa-1-antitripsina. Enfisema pulmonar. Proteinograma sérico. Cribado. Fenotipos de la alfa-1-antitripsina.

(Arch Bronconeumol 1998; 34: 536-540)

Usefulness of analyzing the alpha-1 serous protein band to screen for alpha-1-antitrypsin deficiency

**BACKGROUND:** Population studies indicate that alpha-1-antitrypsin (AAT) deficiency is an under diagnosed disease. Although alpha-1 serum protein is widely known to accompany AAT deficiency, the diagnostic utility of measuring the alpha-1 band to screen for this condition has not been assessed in the literature.

**SUBJECTS AND METHOD:** Electropherograms with alpha-1 band widths under the reference values were collected over a period of 3 months. The Pi phenotype of AAT was identified for these sera by isoelectric point determination. The phenotypes were compared to those obtained for the population of the same geographic area (n = 440). The alpha-1 band reference values were obtained from 73 healthy individuals with no Pi phenotype deficiency. Moreover, the alpha-1 band was also measured for a group of 17 PiZZ deficient patients.

**RESULTS:** We analyzed 7,305 electropherograms. One hundred four individuals (1,4%) without hypoproteinemia had alpha-1 readings below reference (set at 2,3%). The phenotypes in this group were 25 PiMM (24%), 52 PiMS (54%), 13 PiMZ (12,5%) and 5 PiSS 5 (5%). The odds ratios (CI 95%) in comparison with the normal population were, respectively, 0,10 (0,16-0,06); 4,58 (2,97-7,04); 4,35 (2,09-9,04) and 5,51 (1,66-18,16) ( $p < 10^{-5}$  in all cases except PiSS, which was  $p < 0,05$ ). The levels for PiZZ patients were 1,4%  $\pm$  0,3% (range 1,0%-2,1%).

**CONCLUSIONS:** Three times fewer subjects with a normal PiMM phenotype are found among individuals with low alpha-1 band serum protein levels, and many more of such individuals are carriers of Z allele heterozygotes. Alpha-1 band readings in patients with AAT deficiency (PiZZ phenotype) have alpha-1 values below reference. Measuring alpha-1 protein is an easy technique, within the expertise of any laboratory, and may be very useful for screening for AAT deficiency in patients with chronic respiratory diseases.

**Key words:** Alpha-1-antitrypsin. Pulmonary emphysema. Serum protein. Screening. Alpha-1-antitrypsin phenotypes.

Correspondencia: Dr. M. Miravittles.  
Servicio de Neumología. Hospital General Vall d'Hebron.  
Pg. Vall d'Hebron, 119-129. 08035 Barcelona.  
Correo electrónico: marcm@hg.vhebron.es

Recibido: 9-3-98; aceptado para su publicación: 7-7-98

## Introducción

El fenotipo homocigoto Pi ZZ de la alfa-1-antitripsina (AAT) se asocia con un riesgo elevado de enfisema pulmonar en la edad adulta, especialmente en fumadores.

res. A pesar de tratarse de una enfermedad poco frecuente, su diagnóstico temprano es relevante por cuanto se dispone de un tratamiento sustitutivo específico destinado a frenar la destrucción pulmonar progresiva<sup>1</sup>.

La AAT es una globulina alfa que constituye aproximadamente el 90% de las proteínas que migran en la banda alfa-1 del proteinograma sérico<sup>2</sup>. Por tanto, es de esperar que las concentraciones bajas de AAT se acompañen de descensos significativos en los valores de dicha banda. De hecho, el descubrimiento de esta enfermedad en 1962 por Laurell y Eriksson<sup>3</sup> se debió a la observación de varios pacientes con enfisema pulmonar que carecían casi por completo de la banda alfa-1 del proteinograma.

De los resultados derivados de estudios epidemiológicos poblacionales se concluye que el déficit de AAT es una enfermedad infradiagnosticada en la mayoría de países occidentales incluida España<sup>4</sup>. El diagnóstico de sospecha se fundamenta en la aparición de un enfisema pulmonar en una persona joven, escasamente fumadora o con historia familiar de enfermedad respiratoria. En estos casos la confirmación se suele obtener con la determinación de las concentraciones de AAT séricas, normalmente mediante nefelometría. No obstante, muchos pacientes con déficit no presentan las características enunciadas previamente; además, la determinación de la AAT sérica por nefelometría no siempre está fácilmente disponible, sobre todo para los médicos de atención primaria tanto general como especializada y, además, la inexistencia de un estándar universal hace difícil en ocasiones la interpretación de los resultados<sup>5</sup>. Por estos motivos, la observación de una concentración baja de las alfa-1 globulinas del proteinograma sérico podría ser de gran ayuda en el cribado para el déficit de AAT en pacientes con EPOC.

## Métodos

### *Determinación de los valores de referencia de la banda alfa-1*

En primer lugar, se han determinado los valores de referencia de la concentración de proteínas alfa-1 globulinas del proteinograma sérico. Para ello, se ha estudiado un grupo control formado por 73 voluntarios sanos cuyos fenotipos Pi no son deficientes y presentan, además, una distribución fenotípica idéntica a la de la población de nuestra área<sup>4</sup>.

### *Determinación de los valores de la banda alfa-1 en pacientes con déficit grave de AAT*

Para conocer los valores que adopta la banda alfa-1 en pacientes con déficit grave de AAT (fenotipo Pi ZZ) se ha estudiado un grupo de 17 individuos con dicho fenotipo. En el momento de la determinación ninguno de los pacientes estaba recibiendo tratamiento sustitutivo con AAT exógena.

### *Utilidad de la banda alfa-1 en el cribado de fenotipos deficientes de la AAT*

Se han recogido prospectivamente todos los proteinogramas séricos realizados en el laboratorio de bioquímica de nuestro centro durante un período de 3 meses (de octubre a diciembre de 1994).

Se han seleccionado aquellos que presentaban unas concentraciones de la banda de alfa-1 globulinas por debajo del límite inferior de referencia. A aquellos sueros así identificados se les han determinado la concentración de AAT por inmunonefelometría y el fenotipo Pi por enfoque isoeléctrico.

Se han excluido del estudio aquellos proteinogramas derivados de sueros con hipoproteinemia (concentración de proteínas inferior a 55 g/l) o con hiperproteinemia (concentración superior a 90 g/l).

Se ha comparado la frecuencia de los diferentes fenotipos hallados en las muestras analizadas con la frecuencia de fenotipos de la población normal de nuestra área geográfica.

### *Determinación de valores séricos de AAT y fenotipo Pi*

La determinación de los valores sanguíneos de AAT se realizó por inmunonefelometría con un autoanalizador Array<sup>TM</sup> Protein System (Beckman-Instruments, Brea, California, EE.UU.).

La determinación de los fenotipos Pi se realizó según la técnica descrita por Weidinger et al<sup>6</sup>. Brevemente, consiste en una técnica de isoelectroenfoco en geles de poli(acrilamida) (100 × 125 × 0,5 mm). Los geles contenían 4,5 ml de una solución de acrilamida al 29% y de 4,5 bis-acrilamida al 0,1%, 1,2 ml de anfolines con un rango de pH de 4,2-4,9 (Pharmalyte, Pharmacia, Suecia), 2,4 ml de glicerol al 87% y 5,4 ml de agua. La polimerización se realizó añadiendo 5 µl de TEMED y 180 µl de persulfato de amonio al 3%. Posteriormente, las muestras de suero (5 µl) se aplicaron en la superficie del gel, a 2 cm del cátodo, utilizando papel de filtro (Whatman 1). La migración electroforética se efectuó a 5 °C, durante 4 h, en unas condiciones máximas de 1.800 V, 15 mA y 15 W. Finalmente, los geles fueron fijados en una solución de metanol y ácido sulfosalicílico, durante una hora, y las bandas proteicas se identificaron mediante tinción con azul de Coomassie Brilliant R-250.

### *Análisis estadístico*

Para determinar los valores que utilizaremos como referencia de la banda alfa-1 se calculó la media ± una desviación estándar de su distribución en el grupo de voluntarios sanos con fenotipo normal conocido. Se utilizó una desviación estándar para ganar sensibilidad a costa de una pérdida de especificidad, ya que no se trata de una prueba diagnóstica sino de cribado y el déficit de AAT es una enfermedad de muy baja prevalencia. Previamente se comprobó la normalidad de la distribución mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

La comparación de los resultados entre grupos se realizó mediante la *odds ratio* (OR) y su intervalo de confianza del 95% (IC del 95%). Se utilizó la prueba exacta de Fisher cuando los valores esperados en alguna de las celdas fueron inferiores a 5.

## Resultados

### *Determinación de los valores de la banda alfa-1 en la población normal*

Los 73 individuos del grupo control tenían un fenotipo Pi MM en 57 ocasiones (78%) y Pi MS en 16 (22%). Su distribución de valores de la banda alfa-1 cumplía los criterios de normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y los valores hallados se exponen en la tabla I. Los límites de referencia quedaron establecidos en 2,3-3,7% (X ± DE).

*Valores de la banda alfa-1 del proteinograma en pacientes con déficit de AAT*

Se han estudiado 17 pacientes con déficit de AAT, fenotipo homocigoto Pi ZZ. Sus concentraciones séricas de AAT fueron de 26 ± 4 mg/dl; intervalo de 20-31 mg/dl (valores normales: 116-232 mg/dl).

Los valores obtenidos de la banda alfa-1 se exponen en la tabla I, junto a los obtenidos en el grupo control.

*Fenotipos hallados en los sueros con valores bajos de alfa-1 globulinas*

Durante el período de estudio se realizaron en nuestro laboratorio 7.305 proteinogramas séricos. De ellos, 209 fueron seleccionados por presentar valores de la banda alfa-1 inferiores a 2,3% (209/7.305; 2,8%). De éstos, 99 fueron excluidos del estudio por presentar concentraciones de albúmina sérica inferiores a 55 g/l, quedando 104 muestras válidas para el estudio (104/7.305; 1,4%). La distribución de los fenotipos más frecuentes de la AAT se expone en la tabla II comparán-

dola con la observada en la población normal de nuestra área. En la tabla III se observa la distribución de fenotipos infrecuentes en el grupo de estudio y en la población de referencia. En ambos casos se han utilizado dos puntos de corte: el 2,3% por ser el límite inferior del intervalo de referencia obtenido en el grupo control, y el 2,1% por ser el límite inferior de la distribución de valores de la banda alfa-1 en los pacientes Pi ZZ.

**Discusión**

Los individuos que presentan unos valores de la banda alfa-1 globulinas del proteinograma inferiores al 2,3% tienen una probabilidad muy elevada de ser portadores de un fenotipo deficiente de la AAT. Entre nuestra población de estudio sólo una cuarta parte de los individuos con concentraciones inferiores al 2,3% tenían el fenotipo normal Pi MM, frente a las tres cuartas partes de la población normal. Por el contrario, un 12,5% eran portadores heterocigotos del alelo Z, mientras que sólo un 3% de la población normal lo posee. Estas diferencias fueron aún más evidentes al utilizar el punto de corte del 2,1%; en este caso, solamente un 10% de sujetos tienen el fenotipo normal Pi MM y hasta un 21% el heterocigoto Pi MZ. La prevalencia del fenotipo heterocigoto Pi MS es también significativamente superior entre los individuos con concentraciones de alfa-1 globulinas descendidas, pero este hallazgo tiene escasa relevancia, ya que el alelo S no se asocia con mayor riesgo de enfermedad respiratoria, ni heredado de forma homocigota Pi SS, ni heterocigota Pi MS<sup>7</sup>.

TABLA I

**Valores de la banda alfa-1 del proteinograma sérico en individuos con fenotipo Pi no deficiente y en pacientes Pi ZZ**

	n	$\bar{X}$ (DE)	Intervalo	Valores normales
Grupo control	73	3,0% (0,7%)	2,1-4,6%	2,3-3,7%
Pi ZZ	17	1,4% (0,3%)	1,0-2,1%	

TABLA II

**Distribución de fenotipos Pi en la población de referencia y en los individuos con valores de la banda alfa-1 inferiores a los puntos de corte establecidos. Fenotipos más frecuentes**

Fenotipo Pi	Población de referencia (n = 440)	Alfa-1 < 2,3% (n = 104)			Alfa-1 < 2,1% (n = 48)		
		n (%)	OR (IC del 95%)	p	n (%)	OR (IC del 95%)	p
MM	333 (75,6)	25 (24)	0,10 (0,16-0,06)	< 10 <sup>-5</sup>	5 (10,4)	0,04 (0,07-0,02)	< 10 <sup>-5</sup>
MS	84 (19)	54 (52)	4,58 (2,97-7,04)	< 10 <sup>-5</sup>	23 (48)	3,90 (2,17-6,98)	< 10 <sup>-5</sup>
MZ	14 (3,1)	13 (12,5)	4,35 (2,09-9,04)	< 10 <sup>-5</sup>	10 (21)	8,01 (3,74-17,12)	< 10 <sup>-5</sup>
SS	4 (0,9)	5 (5)	5,51 (1,66-18,16)	< 0,05	4 (8)	9,91 (3,07-31,92)	< 0,01

n = número de casos; OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza.

TABLA III

**Distribución de fenotipos Pi en la población de referencia y en los individuos con valores de la banda alfa-1 inferiores a los puntos de corte establecidos. Fenotipos infrecuentes**

Fenotipo Pi	Población de referencia (n = 440)	Alfa-1 < 2,3%	Alfa-1 < 2,1%
		(n = 104)	(n = 48)
	n (%)	n (%)	n (%)
SZ	0 (0)	2 (2)	2 (4)
ZZ	0 (0)	2 (2)	2 (4)
M-	3 (0,6)	0 (0)	0 (0)
MF	1 (0,2)	0 (0)	0 (0)
MP	1 (0,2)	2 (2)	1 (2)
SP	0 (0)	1 (1)	1 (2)

n = número de casos.

El descubrimiento del déficit de AAT tuvo lugar cuando dos investigadores suecos, Laurell y Eriksson<sup>3</sup>, observaron en algunos de sus pacientes con enfisema pulmonar la práctica ausencia de la banda alfa-1 del proteinograma. A pesar de la importancia que tradicionalmente se ha atribuido a la observación de valores descendidos de la banda alfa-1, hasta donde conocemos, no existen estudios en la bibliografía destinados a conocer el valor diagnóstico de su cuantificación para el cribado del déficit de AAT. Según nuestros resultados, los pacientes con un déficit grave de AAT (fenotipo Pi ZZ) presentan de forma constante unas concentraciones de alfa-1 globulinas por debajo de los límites de normalidad establecidos, su media es de tan sólo 1,4% y el valor más alto es de 2,1%. Es importante resaltar que to-

dos los casos tenían valores inferiores al límite de normalidad y que no existe apenas solapamiento, ya que 2,1% es a la vez el límite inferior del intervalo que hemos establecido de referencia y el superior de los individuos Pi ZZ; sólo un suero perteneciente a un paciente Pi ZZ presentó valores de alfa-1 globulinas superiores al 2%. Por tanto, unas concentraciones de alfa-1 globulinas iguales o superiores a 2,3% en un paciente con enfisema hacen muy improbable la existencia de un déficit de AAT. Sin embargo, lo contrario no siempre es cierto; debido a la escasa prevalencia del déficit de AAT y a las diversas causas que pueden producir un descenso en las proteínas séricas, unas concentraciones bajas de la banda alfa-1 no siempre serán indicativas de un déficit de AAT. En estas circunstancias será obligado confirmarlo o descartarlo cuantificando la AAT sérica por nefelometría y, en caso de obtenerse valores disminuidos, determinar el fenotipo Pi por enfoque isoeléctrico. Por ser el déficit de AAT una enfermedad de baja prevalencia y por tratarse de una prueba de cribado y no de un test diagnóstico, hemos utilizado como límite inferior del intervalo de referencia la media menos una desviación estándar. El valor así obtenido ha demostrado ser un buen estimador de referencia. No se han calculado las variables que caracterizan un test diagnóstico (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo) debido a que se trata de una prueba de cribado de una enfermedad muy infrecuente. De este modo, a pesar de observarse valores descendidos de la banda alfa-1, la probabilidad de un déficit grave de AAT es aún baja, y lo único que indica es la necesidad de determinar la concentración sérica de AAT.

Hasta 1987, el diagnóstico del déficit de AAT en un paciente con enfisema no tenía ninguna implicación terapéutica especial; sin embargo, ese año, la Food and Drug Administration autorizó la utilización de la AAT procedente de plasma de donantes por vía intravenosa para el tratamiento de esta enfermedad congénita<sup>8</sup>. En 1989 se inició el primer protocolo de tratamiento en España<sup>9</sup> y desde entonces múltiples experiencias clínicas han sugerido que el tratamiento sustitutivo puede ser útil para frenar el deterioro rápidamente progresivo de la función pulmonar de estos pacientes<sup>10-14</sup>. Si el beneficio que podemos obtener del tratamiento es frenar la evolución del enfisema, resulta obvio que el diagnóstico temprano será fundamental para optimar sus resultados. En este sentido, es descorazonador comprobar que el déficit de alfa-1-antitripsina es una enfermedad infra-diagnosticada, y cuando se diagnostica, la mayoría de las veces es muy tarde. Así, los individuos integrantes del Registro Norteamericano tienen una media de FEV<sub>1</sub> de tan sólo 1.700 ml<sup>15</sup>, similar al de los pacientes incluidos en el Registro Español (1.800 ml)<sup>16,17</sup>.

Pero debemos ser conscientes, además, de que la mayoría de pacientes están por diagnosticar. Estudios poblacionales en España han comunicado una frecuencia del alelo Z del 1,5%<sup>4</sup>, lo que implica que deben existir unos 7.000-8.000 individuos Pi ZZ en nuestro país. Estas estimaciones se han confirmado mediante cribado de donantes de sangre en los EE.UU. que han detectado

aproximadamente un individuo Pi ZZ por cada 3.000 donantes<sup>18</sup>. Las razones del infradiagnóstico pueden ser dos: a) individuos Pi ZZ con función pulmonar normal que no reclaman atención médica, y b) individuos con función pulmonar alterada mal diagnosticados como asmáticos o, más frecuentemente, como bronquíticos o enfisematosos por causa del tabaco.

Otro beneficio de la detección de personas con valores descendidos de la banda alfa-1 sería la posible identificación de otras variantes deficientes de la AAT menos conocidas. Diversos trabajos recientes en España demuestran que estas variantes no son tan infrecuentes como se pensaba<sup>4,19-21</sup>.

Por este motivo, es importante conocer el valor de una técnica sencilla y al alcance de cualquier laboratorio como la realización de un proteinograma sérico para establecer la sospecha de un déficit de AAT. Esta técnica puede ser muy útil sobre todo en niveles de atención primaria, donde no siempre se tiene fácil acceso a la cuantificación de la AAT y donde se atiende a una gran proporción de los pacientes con enfermedades respiratorias agudas y crónicas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Miravittles M, Vidal R, De Gracia J. Enfisema por déficit de alfa-1-antitripsina. Situación actual y nuevas perspectivas para el tratamiento. Arch Bronconeumol 1992; 28: 296-302.
2. Rodríguez Cuartero A. Alfa-1-antitripsina: estudio general, bioquímico, genético y clínico. Med Clin (Barc) 1975; 64: 311-317.
3. Laurell CB, Eriksson SA. The electrophoretic alpha-1-globulin pattern of serum in alpha-1-antitrypsin deficiency. Scand J Clin Lab 1963; 15: 132-140.
4. Vidal R, Miravittles M, Jardí R, Torrella M, Rodríguez-Frías F, Moral P et al. Estudio de la frecuencia de los diferentes fenotipos de la alfa-1-antitripsina en una población de Barcelona. Med Clin (Barc) 1996; 107: 211-214.
5. Brantly ML, Wittes JT, Vogelmeier CF, Hubbard RC, Fells GA, Crystal RG. Use of a highly purified alpha-1-antitrypsin standard to establish ranges for the common normal and deficient alpha-1-antitrypsin phenotypes. Chest 1991; 100: 703-708.
6. Weidinger S, Jahn W, Cujnik F, Schwarzfischer F. Alpha-1-antitrypsin: evidence for a fifth PiM subtype and a new deficiency allele Pi\*Z Augsburg. Hum Genet 1985; 71: 27-29.
7. Ogushi F, Hubbard RC, Fells GA, Casolaro A, Curiel DT, Brantly ML et al. Evaluation of the S-type of alpha-1-antitrypsin as an in vivo and in vitro inhibitor of neutrophil elastase. Am Rev Respir Dis 1988; 137: 364-370.
8. American Thoracic Society. Guidelines for the approach to the patient with severe hereditary alpha-1-antitrypsin deficiency. Am Rev Respir Dis 1989; 140: 1.494-1.497.
9. Vidal R, Miravittles M, de Gracia X, Gallego B, Morell F. Tratamiento sustitutivo del enfisema por déficit de alfa-1-antitripsina. Med Clin (Barc) 1991; 96: 180-182.
10. Konietzko N. Alpha-1-antitrypsin substitution treatment or prevention of emphysema. Lung 1990; 168 (Supl): 592-598.
11. Carles P, Constans J, Pujazon MC, Arnaud J, Lauque D, Goude-mand M. Bilan à deux ans du traitement substitutif de l'emphysème Pi ZZ par l'alpha-1-antitrypsine. Neuf cas. Presse Med 1990; 19: 514-518.
12. Barker AF, Siemsen F, Pasley D, D'Silva R, Buist S. Replacement therapy for hereditary alpha-1-antitrypsin deficiency. A program for long-term administration. Chest 1994; 105: 1.406-1.410.
13. Miravittles M, Vidal R, Torrella M, Bofill JM, Cotrina M, de Gracia J. Evaluación del tratamiento sustitutivo del enfisema por déficit de alfa-1-antitripsina. Arch Bronconeumol 1994; 30: 479-484.

14. Schwaiblmair M, Volgemeier C, Fruhmann G. Long-term augmentation therapy in twenty patients with severe alpha-1-antitrypsin deficiency- Three-year follow-up. *Respiration* 1997; 64: 10-15.
15. McElvaney NG, Stoller JK, Buist AS, Prakash UBS, Brantly ML, Schluchter MD et al. Baseline characteristics of enrollees in the National Heart, Lung and Blood Institute Registry of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Chest* 1997; 111: 394-403.
16. Vidal R, Miravittles M y Registro Nacional de Pacientes con Déficit de alfa-1-antitripsina. Informe del Registro Español de Pacientes con déficit de alfa-1-antitripsina. *Arch Bronconeumol* 1995; 31: 299-302.
17. Miravittles M, Vidal R, Barros-Tizón JC, Bustamante A, España PP, Casas F et al. Usefulness of a national registry of alpha-1-antitrypsin deficiency. The Spanish experience. *Respir Med* 1998 (en prensa).
18. Silverman EK, Miletich JP, Pierce JA, Endicott SK, Broze GJ et al. Alpha-1-antitrypsin deficiency. High prevalence in the St. Louis area determined by direct population screening. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 961-966.
19. López-Abadía I, Bandrés F, Jaquetí J, Chicharro L. Asociación de fenotipos infrecuentes con déficit parciales de alfa-1-antitripsina. *Med Clin (Barc)* 1994; 102: 44.
20. Jardí R, Rodríguez-Frías F, Casas F, Cotrina M, Vidal R, Miravittles M et al. Caracterización molecular de dos variantes deficitarias de la alfa-1-antitripsina: Pi Mpalermo y Pi Plovel. *Med Clin (Barc)* 1997; 109: 463-466.
21. Jardí R, Rodríguez 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<sub>barcelona</sub> (Asp<sup>256</sup>-Val and Pro<sup>391</sup>-His). *Human Mutation*, Mutation in brief 174 (1988) Online.