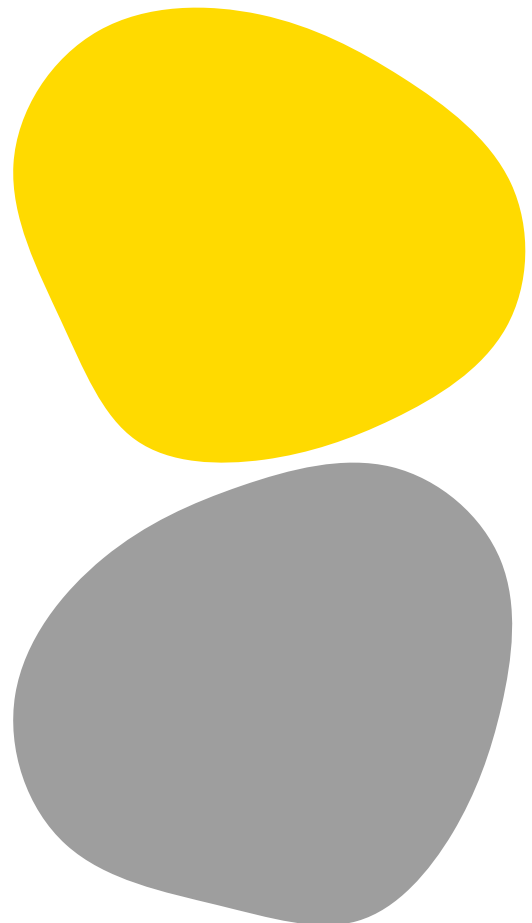




# Avaliação dos Níveis de Alfa-1-Antripsina numa População de Utentes de um Laboratório na Ilha da Madeira

Mariana Aguiar Santos

09/2025



ESCOLA  
SUPERIOR  
DE SAÚDE

## **Avaliação dos Níveis de Alfa-1-Antripsina numa População de utentes de um Laboratório na Ilha da Madeira**

**Autor**

Mariana Aguiar Santos

**Orientadores**

Prof.<sup>a</sup> Doutora Sandra Marlene da Silva Mota/REQUIMTE / LAQV, ESSIP.Porto

Dr. Nuno Miguel Anacleto Canhoto/ Serviço de Patologia Clínica do SESARAM, EPERAM

*Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em **Análises Clínicas e Saúde Pública** – Área de Especialização em **Imunohemoterapia e Transplantação** pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.*



## Agradecimentos

A concretização deste trabalho representou uma etapa desafiante e enriquecedora do meu percurso académico, que só foi possível graças ao contributo, apoio e incentivo de várias pessoas, a quem deixo o meu mais sincero agradecimento.

Em primeiro lugar, expresso a minha profunda gratidão à minha orientadora, Professora Doutora Sandra Marlene da Silva Mota, pela orientação científica, disponibilidade constante, sugestões valiosas e encorajamento ao longo de todo o processo. O seu rigor académico e exigência foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Expresso igualmente o meu sincero agradecimento ao meu orientador externo, Doutor Nuno Miguel Anacleto Canhoto, pela disponibilidade, acompanhamento atento e contributos relevantes prestados ao longo desta investigação. A sua experiência prática e visão aplicada foram essenciais para enriquecer a vertente técnica deste trabalho e para garantir a sua ligação ao contexto real do laboratório.

À Instituição onde desenvolvi a minha atividade profissional, agradeço profundamente pela cedência dos dados que serviram de base a este estudo, bem como por todo o apoio técnico e logístico que permitiu a concretização deste trabalho. A todos os colegas do laboratório, deixo também o meu sincero agradecimento pela colaboração, partilha de conhecimentos e pelo ambiente de trabalho motivador e cooperante.

À Escola Superior de Saúde do Porto, expresso o meu reconhecimento por ter proporcionado a base científica e formativa que sustentou esta investigação, bem como pelo apoio institucional ao longo do percurso académico.

À minha melhor amiga, Mariana, pela amizade incondicional, pelas palavras certas nos momentos difíceis e por estares sempre ao meu lado, com paciência, bom humor e compreensão. Obrigada por nunca me deixares esquecer quem sou e por me lembrares, vezes sem conta, que era capaz.

Aos meus pais, agradeço com todo o amor e admiração. O vosso apoio incondicional, os vossos valores e o exemplo de trabalho e dedicação foram fundamentais para que este objetivo se concretizasse. Obrigada por acreditarem sempre em mim, mesmo quando o caminho pareceu incerto.

A toda a minha família e amigos, deixo uma palavra de profundo agradecimento pelo carinho, paciência e incentivo constantes. A vossa presença foi essencial para manter o equilíbrio e a motivação ao longo de todo este processo.



## Resumo

O défice de alfa-1 antitripsina (AATD) é uma condição genética associada a várias doenças respiratórias e hepáticas, particularmente à doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) e ao enfisema. A alfa-1 antitripsina (AAT) é uma glicoproteína produzida principalmente no fígado, cuja principal função é inibir enzimas proteolíticas, como a elastase. Quando ocorre défice desta proteína, a proteção dos tecidos pulmonares é comprometida, aumentando significativamente o risco de lesões progressivas e de doenças respiratórias graves.

Estima-se que o AATD afete entre 1 em cada 2.000 a 6.000 pessoas a nível mundial, sendo frequentemente subdiagnosticado devido à ampla variabilidade clínica e à ausência de estratégias sistemáticas de rastreio. Na Região Autónoma da Madeira, um estudo descreveu, pela primeira vez, a prevalência dos dois alelos de deficiência de AAT mais comuns, PIS e PIZ (PI de *Protease Inhibitor*, é a designação do locus genético do gene *SERPINA1*, responsável pela produção da AAT), evidenciando uma das frequências alélicas mais elevadas mundialmente para ambas as variantes. Esta realidade reforça a necessidade de aprofundar o conhecimento sobre os níveis de AAT na população local e de identificar fatores associados ao possível défice.

O presente estudo observacional e transversal analisou 384 utentes de um laboratório clínico da Madeira, entre janeiro de 2022 e janeiro de 2023, recorrendo a imunoturbidimetria. Foram avaliadas variáveis demográficas (sexo, idade, região geográfica) e clínicas (presença de doenças crónicas) através de múltiplas análises estatísticas descritivas e comparativas com o objetivo de caracterizar os níveis séricos desta proteína e explorar possíveis associações com estas variáveis.

Através dos resultados não se verificaram associações estatisticamente significativas entre os níveis de AAT e as demais variáveis analisadas. Foram identificados 16 indivíduos com valores séricos inferiores a 90 mg/dL, classificados como valores diminuídos e potencialmente compatíveis com défice (4,2%) os quais se verificaram maioritariamente em indivíduos do sexo masculino, adultos e residentes na Região Oeste da ilha.

Deste modo, pode concluir-se que, nesta população, fatores genéticos e ambientais poderão desempenhar um papel mais relevante nos níveis de AAT, face às variáveis sociodemográficas e clínicas analisadas. Assim, estes achados sustentam a necessidade de implementar rastreios mais dirigidos e confirmação genética, com o objetivo de otimizar a deteção e a intervenção clínica precoce em possíveis casos de défice.



**Palavras-chave:** Alfa-1-Antitripsina; Défice de Alfa-1-Antitripsina; Diagnóstico precoce; Prevalência; Subdiagnóstico; Rastreamento; Epidemiologia; Doença pulmonar obstrutiva crónica; Região Autónoma da Madeira; Estudos transversais.



## Abstract

Alpha-1 antitrypsin deficiency (AATD) is a genetic condition associated with various respiratory and liver diseases, particularly chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and emphysema. Alpha-1 antitrypsin (AAT) is a glycoprotein produced mainly in the liver, whose primary function is to inhibit proteolytic enzymes, such as elastase. When this protein is deficient, lung tissue protection is compromised, significantly increasing the risk of progressive damage and severe respiratory diseases.

It is estimated that AATD affects approximately 1 in every 2,000 to 6,000 individuals worldwide, and it is often underdiagnosed due to its wide clinical variability and the lack of systematic screening strategies. In the Autonomous Region of Madeira, a study described, for the first time, the prevalence of the two most common AAT deficiency alleles, PIS and PIZ (PI stands for Protease Inhibitor, referring to the genetic locus of the SERPINA1 gene responsible for AAT production), revealing one of the highest allele frequencies worldwide for both variants. This highlights the need to further investigate AAT levels in the local population and identify factors associated with possible deficiency.

This cross-sectional observational study analysed 384 individuals from a clinical laboratory in Madeira, between January 2022 and January 2023, using immunoturbidimetry. Demographic variables (sex, age, geographic region) and clinical variables (presence of chronic diseases) were assessed through multiple descriptive and comparative statistical analyses, aiming to characterise the serum levels of this protein and explore potential associations with these variables.

The results revealed no statistically significant associations between AAT levels and the analysed variables. However, 16 individuals were identified with serum levels below 90 mg/dL, classified as decreased and potentially compatible with deficiency (4.2%), most of whom were male, adults, and residents of the Western region of the island.

Thus, it can be concluded that, in this population, genetic and environmental factors may play a more relevant role in AAT levels than the sociodemographic and clinical variables analysed. These findings support the need to implement more targeted screening and genetic confirmation, with the aim of optimising early detection and clinical intervention in potential deficiency cases.



**Keywords:** Alpha-1 antitrypsin; Alpha-1 antitrypsin deficiency; Early diagnosis; Prevalence; Underdiagnosis; Screening; Epidemiology; Chronic obstructive pulmonary disease; Autonomous Region of Madeira; Cross-sectional studies.



## Índice

1.	Introdução.....	1
1.1.	Função e definição da alfa-1-antitripsina .....	1
1.2.	O défice de AAT .....	2
1.2.1.	Causas Genéticas.....	2
1.2.2.	Manifestações Clínicas .....	3
1.3.	Diagnóstico e Relevância do Rastreio Laboratorial.....	4
1.4.	Prevalência e Lacunas no Conhecimento .....	8
2.	Objetivo.....	10
3.	Material e Métodos .....	10
3.1.	Tipo de estudo, População e Amostra .....	10
3.2.	Procedimento .....	10
3.3.	Análise e tratamento de dados .....	12
4.	Resultados.....	14
4.1.	Caracterização da amostra global.....	14
4.2.	Distribuição dos níveis séricos de AAT na população estudada.....	15
4.3.	Associação entre os níveis de AAT e as variáveis independentes .....	16
4.3.1.	Sexo .....	16
4.3.2.	Idade classificada como Variável Contínua.....	17
4.3.3.	Idade classificada através de Grupos Etários .....	18
4.3.4.	Doenças Crónicas.....	19
4.3.5.	Região Geográfica .....	20
4.3.6.	Região Geográfica Recodificada.....	22
4.4.	Caracterização da amostra com níveis de AAT diminuídos .....	24
4.4.1.	Frequência dos níveis de AAT .....	24
4.4.2.	Comparação entre indivíduos com e sem valores diminuídos de AAT .....	24
5.	Discussão.....	25
5.1.	Caracterização da amostra global.....	25
5.2.	Caracterização da amostra com níveis de AAT diminuídos .....	30
6.	Conclusão.....	33
	Referências Bibliográficas .....	34



7. Anexos .....38



## Lista de Abreviaturas

AAT	Alfa-1 antitripsina
AATD	Défice de alfa-1 antitripsina
ATS	Do Inglês, <i>American Thoracic Society</i>
c-ANCA	Do Inglês, <i>Cytoplasmic Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibodies</i>
DP	Desvio Padrão
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica
EQAS	Do Inglês, <i>External Quality Assessment Scheme</i>
ERS	Do Inglês, <i>European Respiratory Society</i>
IC	Intervalo de Confiança
IEF	Focalização isoelétrica
IQR	Intervalo Interquartil
kDa	Kilodalton
PCR	Do Inglês, <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PCR	Proteína C Reativa
PI	Do Inglês, <i>Protease Inhibitor</i>



## Índice de Tabelas

Tabela 1: Contextos clínicos recomendados para o rastreio do défice de AAT .....	5
Tabela 2: Valores séricos normais e limiares de proteção da AAT segundo diferentes métodos analíticos .....	5
Tabela 3: Principais genótipos de AAT e níveis séricos associados .....	7
Tabela 4: Pontos-Chave no diagnóstico do défice de AAT .....	8
Tabela 5: Caracterização da amostra (n=384) segundo as diferentes variáveis (sexo, idade, grupo etário, região geográfica e doenças crónicas) .....	15
Tabela 6: Análise descritiva dos níveis de AAT segundo o sexo .....	16
Tabela 7: Análise descritiva dos níveis de AAT com a idade classificada como variável contínua .....	17
Tabela 8: Análise descritiva dos níveis de AAT com a idade classificada através de grupos etários .....	18
Tabela 9: Análise descritiva dos níveis de AAT segundo a presença de doenças crónicas .....	19
Tabela 10: Análise descritiva dos níveis de AAT segundo a região geográfica .....	21
Tabela 11: Análise descritiva dos níveis de AAT segundo a região geográfica recodificada nas três zonas .....	22
Tabela 12: Caracterização descritiva dos indivíduos com níveis de AAT diminuídos (n=16) segundo as variáveis independentes .....	24

## Índice de Figuras

Figura 1: Algoritmo diagnóstico do défice de AAT .....	6
Figura 2: Esquema representativo das duas fases do estudo: análise da amostra total e análise dos casos com níveis de AAT diminuídos .....	12
Figura 3: Distribuição da amostra por grupos etários (jovens, adultos e idosos) .....	15
Figura 4: Distribuição da amostra por concelho da Região Autónoma da Madeira .....	15
Figura 5: Histogramas da distribuição dos níveis séricos de AAT por sexo (n=384) .....	16
Figura 6: Boxplot dos níveis séricos de AAT por sexo (n=384) .....	17
Figura 7: Histogramas da distribuição dos níveis séricos de AAT por idade (n=384) .....	17
Figura 8: Boxplot dos níveis de AAT por idade (n=384) .....	18
Figura 9: Histogramas da distribuição dos níveis séricos de AAT por grupo etário (n=384) .....	19
Figura 10: Boxplot dos níveis séricos de AAT por grupo etário (n=384) .....	19
Figura 11: Histograma da distribuição dos níveis séricos de AAT em relação à presença de doenças crónicas (n=384) .....	20



Figura 12: Boxplot dos níveis séricos de AAT em relação à presença de doenças crónicas (n=384) .....	20
Figura 13: Gráfico de médias dos níveis séricos de AAT por região geográfica (n = 384) .....	22
Figura 14: Boxplot dos níveis séricos de AAT em relação à região geográfica (n=384) .....	22
Figura 15: Histogramas dos níveis séricos de AAT em relação à região geográfica recodificada: Funchal; Oeste; Este/Norte (n=384) .....	23
Figura 16: Boxplot dos níveis séricos de AAT em relação à região geográfica recodificada: Funchal; Oeste; Este/Norte (n=384) .....	23



## 1. Introdução

### 1.1. Função e definição da alfa-1-antitripsina

A alfa-1-antitripsina (AAT) é uma glicoproteína composta por 394 aminoácidos, com um peso molecular aproximado de 52 kilodalton (kDa). É constituída por três cadeias laterais de hidratos de carbono ligadas a resíduos de asparagina, o que promove a sua estabilidade estrutural e prolonga a sua semivida plasmática.<sup>1</sup>

Estruturalmente, a AAT apresenta uma conformação tridimensional típica das serpinas, constituída por três folhas  $\beta$  principais e nove hélices  $\alpha$ , destacando-se o *loop* reativo (*reactive centre loop*), uma região funcional situada na superfície da proteína e essencial para a sua atividade inibitória. Neste *loop* destaca-se a ligação peptídica Met358-Ser359 (P1-P1'), que mimetiza o substrato das proteases e é o principal local de clivagem.<sup>1,2</sup>

A inibição irreversível das enzimas-alvo, através da formação de um complexo estável AAT-enzima é o principal mecanismo de ação desta proteína. Esta interação promove uma alteração na conformação da protéase, o que, conseqüentemente, bloqueia o seu local catalítico e conduz à sua inativação e posterior remoção da circulação.<sup>1</sup>

Esta proteína, pertencente à família das serina-protéases inibidoras, é codificada pelo gene *SERPINA1*, localizado no cromossoma 14. É sintetizada predominantemente pelos hepatócitos, mas também pode ser produzida, em menor quantidade, por monócitos, macrófagos, neutrófilos e células epiteliais do pulmão e do intestino.<sup>2-5</sup>

A principal função da AAT consiste na inibição de enzimas proteolíticas libertadas durante processos inflamatórios ou infecciosos, nomeadamente a elastase dos neutrófilos, a catepsina G e a proteinase 3. Adicionalmente, tem-se revelado capaz de inibir outras protéases tais como as calicreínas 7, a matriptase e a caspase-3. Ao exercer esta atividade, a AAT protege os tecidos, particularmente o tecido conjuntivo pulmonar, que previne a degradação da elastina e do colagénio tipo IV. Além do seu papel anti-proteásico, têm-lhe sido atribuídas funções imuno-moduladoras e anti-inflamatórias, revelando uma participação mais significativa na homeostasia e na resposta imune.<sup>1-3</sup>

A AAT é também considerada uma proteína de fase aguda, com níveis plasmáticos que aumentam significativamente em resposta a processos inflamatórios. A avaliação laboratorial dos seus níveis séricos, que variam normalmente entre 90 e 200 mg/dL, dependendo do método analítico utilizado, devem ter em conta esta característica.<sup>1,4-6</sup>



## 1.2. O défice de AAT

### 1.2.1. Causas Genéticas

A deficiência de AAT é herdada de forma autossómica codominante, o que significa que os indivíduos afetados necessitam de herdar uma variante anormal do gene *SERPINA1* de ambos os progenitores. Cada alelo é tradicionalmente representado por uma letra (M, S, Z), baseada na mobilidade eletroforética da proteína AAT correspondente. Esta nomenclatura é habitualmente integrada no sistema de classificação **PI**, originando designações como **PI<sup>\*</sup>M**, **PI<sup>\*</sup>S** ou **PI<sup>\*</sup>Z**. Até ao momento, já foram identificados mais de 150 alelos distintos deste gene.<sup>7,8</sup>

O alelo M é o mais prevalente na população geral, sendo o genótipo homocigótico **MM** considerado o padrão funcional ("normal"). Os alelos S e Z são os mais comuns perante variantes associadas ao défice, que conduzem a níveis séricos de AAT inferiores a 35% do valor médio normal e, consequentemente, originam uma proteína deficiente tanto do ponto de vista quantitativo como funcional.<sup>7,8</sup>

Níveis moderadamente reduzidos de AAT associam-se ao alelo S e raramente apresentam consequências clínicas relevantes. Os genótipos MS ou SS geralmente originam níveis de AAT suficientes para proteger o tecido pulmonar. Contudo, a combinação com o alelo Z (genótipo SZ), especialmente em indivíduos fumadores, pode aumentar o risco de desenvolvimento de doença pulmonar, sobretudo enfisema.<sup>7-9</sup>

Por outro lado, o alelo Z é fortemente ligado a níveis muito reduzidos de AAT e, consequentemente, a um risco aumentado de enfisema pulmonar. Este alelo resulta da mutação Glu342Lys, que promove alterações conformacionais na AAT, o que culmina na sua polimerização e retenção no retículo endoplasmático dos hepatócitos. Esta acumulação intracelular está fortemente relacionada com a patogénese hepática verificada em alguns indivíduos. Assim, indivíduos homocigóticos (ZZ) revelam quase invariavelmente, deficiência clínica significativa, com manifestações predominantemente pulmonares e, por vezes, hepáticas.<sup>7,10,11</sup>

Por outro lado, indivíduos com o genótipo MZ, podem apresentar um risco ligeiramente acrescido de disfunção pulmonar ou hepática, sobretudo na presença de fatores de risco como o tabagismo ou exposição ambiental prolongada.<sup>7,12</sup>

O alelo **PI<sup>\*</sup>F** representa uma variante pouco comum, mas considerada patogénica, que apesar de originar uma proteína com níveis quantitativamente normais, funcionalmente é deficiente na atividade inibitória da elastase dos neutrófilos. Outras variantes raras, como o alelo **PI<sup>\*</sup>I**, associa-se a uma deficiência quantitativa ligeira, geralmente sem grandes implicações clínicas.<sup>7,8,12</sup>



Finalmente, os genótipos com alelos nulos são genótipos raros, que não produzem qualquer proteína e que se associam a um risco elevado de desenvolvimento de doença pulmonar grave. Como não ocorre acumulação intracelular da proteína anormal no fígado, este tipo de alelo não se associa a patologia hepática.<sup>7,8,12</sup>

Globalmente, estima-se que, cerca de 161 milhões de pessoas são heterozigóticas para os alelos S ou Z, com uma cópia anormal (S ou Z) e uma cópia normal (M) do gene *SERPINA1*.<sup>8</sup>

### 1.2.2. Manifestações Clínicas

O défice de AAT é uma condição genética que favorece o desenvolvimento de várias doenças, sobretudo a nível pulmonar e hepático. Fatores genéticos, ambientais e comportamentais, sobretudo o tabagismo, fator agravante da expressão pulmonar, influenciam o curso clínico desta patologia.

Apesar desta condição apresentar uma expressão multissistémica e evolução variável, pode ser detetada através de rastreios familiares, mesmo em indivíduos assintomáticos.<sup>3,7,9</sup>

A nível respiratório, o principal fator genético associado ao desenvolvimento precoce de enfisema panacinar e doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) é o défice de AAT, decorrente de um desequilíbrio entre protéases e anti-protéases, que conduz à destruição da matriz pulmonar. Genótipos homozigóticos (PI\*ZZ), associados frequentemente a níveis muito reduzidos de AAT, bem como genótipos com alelos nulos, exibem risco superior de doença pulmonar grave.<sup>1,7,9,12</sup>

O início dos sintomas varia entre indivíduos, no entanto, raramente ocorre antes dos 25 anos. Sintomas como dispneia de esforço, pieira, tosse crónica e produção de expetoração são comuns e a sua progressão pode ser acelerada pelo tabagismo ou exposição a poluentes.<sup>3,5,7,9</sup>

É importante realçar que o défice de AAT é uma das principais causas genéticas da DPOC em não fumadores, o que implica que haja um diagnóstico diferencial da obstrução crónica ao fluxo aéreo em idade precoce. As manifestações pulmonares da doença podem incluir bronquiectasias, pneumotórax espontâneo e fenótipos de asma relacionados com uma maior limitação funcional e redução da qualidade de vida.<sup>3,9,12,13</sup>

A nível hepático, a patogénese caracteriza-se pela acumulação intracelular de formas anómalas da AAT, nos hepatócitos, o que leva a stress celular, apoptose e fibrose, sobretudo quando presente o alelo Z. Esta acumulação pode causar doença hepática em qualquer idade, com manifestações neonatais ou progressão, na idade adulta, para cirrose ou carcinoma hepatocelular. Na população pediátrica, a apresentação mais frequente é a colestase neonatal prolongada nas primeiras semanas de vida. Embora



muitos casos se resolvam espontaneamente, uma proporção pode evoluir para hepatopatia crónica ainda na infância.<sup>10,11</sup>

A expressão clínica hepática é mais prevalente no sexo masculino e é bastante heterogénea. Pode estar associada a alterações assintomáticas das transaminases, em adultos, com alguns casos com possível progressão para doença hepática grave, mesmo na ausência de fatores de risco externos. Adicionalmente, alguns estudos indicam que, indivíduos heterozigóticos (PI\*MZ) quando coexistem com fatores como obesidade, consumo excessivo de álcool ou infeção viral crónica podem ter risco aumentado de doença hepática.<sup>10,11</sup>

Em casos excecionais, o défice desta proteína pode manifestar-se a nível cutâneo sob a forma de paniculite necrosante, ou associar-se a vasculite c-ANCA (*cytoplasmic Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibodies*) positiva, apesar destas manifestações serem pouco frequentes, devem ser consideradas em contextos clínicos sugestivos.<sup>3,14</sup>

### 1.3. Diagnóstico e Relevância do Rastreio Laboratorial

O diagnóstico do défice de AAT representa um dos principais desafios clínicos associados a esta condição hereditária. De entre os indivíduos afetados, menos de 10% são clinicamente diagnosticados, com um atraso médio de 5 a 6 anos até à obtenção de um diagnóstico definitivo. Esta realidade evidencia a necessidade urgente de melhorar a consciencialização clínica e as medidas diagnósticas.<sup>3,5,6,12</sup>

Existem vários contextos, quer a nível pulmonar como extrapulmonar, em que o défice de AAT tem de ser considerado. Entre os mais relevantes destaca-se a DPOC, o enfisema precoce (<45 anos), obstruções persistentes ao fluxo aéreo sem causa aparente, doenças hepáticas que se desconhece a etiologia e determinadas manifestações sistémicas como a paniculite ou a vasculite c-ANCA positiva. A Tabela 1 apresenta uma síntese dos principais contextos clínicos em que se recomenda o rastreio do défice de AAT.<sup>3,14</sup>

**Tabela 1:** Contextos clínicos recomendados para o rastreio do défice de AAT

Situações clínicas recomendadas para rastreio do défice de AAT
Suspeita clínica de défice de AAT: Candidatos à determinação dos níveis de AAT
Todos os doentes com DPOC
Enfisema pulmonar precoce (< 45 anos)
Enfisema em não fumadores ou sem exposição a fatores de risco conhecidos (tabagismo ou ocupacionais)
Enfisema panlobular predominantemente basal
Asma com espirometria que não normaliza apesar de tratamento adequado
Adultos com bronquiectasias
Adolescentes com obstrução persistente na função respiratória
História clínica de dispneia e tosse crónica em múltiplos membros da mesma família
Doença hepática de causa desconhecida
Diminuição isolada da AAT no proteinograma
Paniculite ou vasculite de causa desconhecida
Familiares de doentes com défice de AAT (irmãos, filhos, pais)

Adaptado de Lopes et al (2018)<sup>3</sup>

Segundo as principais sociedades científicas *American Thoracic Society (ATS)* e *European Respiratory Society (ERS)*, o primeiro passo preconizado para o diagnóstico do défice de AAT é a quantificação dos níveis séricos da proteína, realizada por vários métodos como se verifica na Tabela 2, sendo o mais amplamente utilizado a nefelometria.<sup>7</sup>

**Tabela 2:** Valores séricos normais e limiares de proteção da AAT segundo diferentes métodos analíticos

Método	Valores normais	Limiar de proteção
Teste-padrão purificado	20–53 $\mu$ M	11 $\mu$ M
Nefelometria	83–120 a 200–220 mg/dL	57 mg/dL
Imunodifusão radial	150–200 a 350–400 mg/dL	80 mg/dL

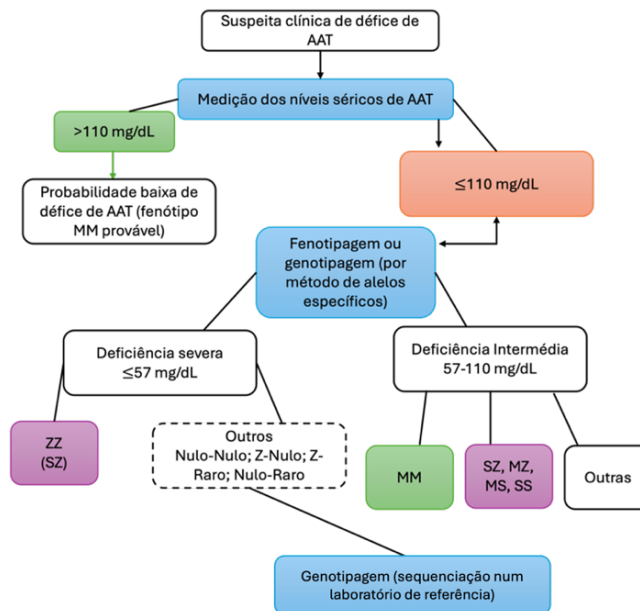
Adaptado de Lopes et al (2018)<sup>3</sup>

Apesar da existência de diferentes intervalos de referência e limiares de proteção consoante o método utilizado, os pontos de corte clínicos podem variar não só entre técnicas analíticas, mas também entre laboratórios.<sup>3,7</sup>

Indivíduos com valores inferiores a 57 mg/dL, através do método nefelométrico, apresentam risco superior de desenvolvimento de manifestações pulmonares da doença.<sup>7,9,12</sup> No entanto, indivíduos com níveis abaixo do intervalo de referência ou dentro da faixa do limítrofe (entre 90–140 mg/dL) também devem ser submetidos a testes qualitativos complementares como fenotipagem e/ou genotipagem.<sup>7,9,12</sup> Estes níveis poderão ser compatíveis com fenótipos de défice intermédio como SZ, SS ou MZ com relevância clínica tanto para o doente como para familiares em risco de défice grave.<sup>7,9,12</sup> O valor de 110 mg/dL, embora se localize acima do limite inferior do intervalo de referência, para o método nefelométrico, é amplamente utilizado na prática clínica como ponto de corte para investigação adicional.



Vários estudos revelam que este limiar apresenta boa sensibilidade e especificidade para a identificação de alelos S e Z, mesmo em indivíduos aparentemente normais.<sup>3</sup> Esta abordagem está refletida no algoritmo representado na Figura 1.<sup>3,7</sup>



**Figura 1:** Algoritmo diagnóstico do défice de AAT

Adaptado de Lopes et al (2018)<sup>3</sup>

Adicionalmente, a literatura tem proposto diferentes pontos de corte como: 100 mg/dL para a identificação de genótipos com maior risco de enfisema (sensibilidade de 95,8% e especificidade de 94,8%); 110 mg/dL recomendável para a deteção de todos os portadores dos alelos S e Z; 113 mg/dL através do qual não se observam alelos Z nem indivíduos com genótipo SS (sensibilidade de 100% e especificidade de 78%).<sup>3</sup>

É importante realçar que, como a AAT é uma proteína de fase aguda, os seus níveis podem estar falsamente aumentados em situações de infeção, inflamação, gravidez ou uso de contraceptivos orais. Por outro lado, as crianças apresentam, naturalmente, níveis mais baixos.<sup>7,9,12,15,16</sup> Assim, a interpretação isolada desta proteína deve ser interpretada com cautela, quando possível com complemento de testes qualitativos complementares sempre que os níveis estejam diminuídos ou próximos do limite inferior, com o objetivo de caracterizar a variante proteica envolvida.

A fenotipagem, realizada por focalização isoelétrica (IEF), possibilita a separação das isoformas da AAT baseada na sua mobilidade elétrica, identificando variantes como M, S, Z e outras. Em contrapartida, este método possui limitações na identificação de alelos nulos ou variantes *M-like*,



podendo induzir a diagnósticos parciais ou erróneos.<sup>16,17</sup> Nestas situações, é recomendável a genotipagem por *Polymerase Chain Reaction* (PCR), que tem a capacidade de detetar mutações mais comuns nos alelos S (rs17580) e Z (rs28929474).<sup>17</sup> Embora estes testes sejam mais acessíveis e amplamente utilizados, não permitem a identificação de variantes raras, como algumas prevalentes em Portugal.<sup>3,18</sup> Deste modo, a sequenciação completa do gene *SERPINA1*, incluindo os exões codificantes (II a V) e regiões promotoras (Ia a Ic), surge como o método de referência para o despiste de variantes raras, deficitárias ou nulas, como QOOporto, QOFaro ou MPalermo.<sup>3,8,17,18</sup>

Também pode ser avaliada a capacidade inibitória da elastase neutrofílica, quando os níveis de AAT estão dentro dos valores normais, mas se suspeita de atividade funcional comprometida. Em casos de DPOC sem causa aparente ou para estudo de exacerbações pulmonares, onde se pretende determinar se o aumento de AAT corresponde a um aumento efetivo da sua atividade anti-proteásica, a avaliação funcional revela-se útil.<sup>1,3,8,9</sup>

A Tabela 3 apresenta os níveis séricos de AAT habitualmente associados a diferentes genótipos, que permite apoiar a interpretação dos resultados laboratoriais. Combinações de alelos deficientes (Z, MMalton ou outros alelos raros) e nulos (QOOurém ou outros), em homozigotia ou heterozigotia, como ZZ, SQO, ZQO, QOQO, estão ligados a concentrações inferiores a 11  $\mu$ M ou 57 mg/dL. Por outro lado, o défice intermédio definido operacionalmente entre 57-110 mg/dL, está relacionado com diversas combinações genóticas em homozigotia ou heterozigotia, como SS, SZ, MZ, MS, SQO e MQO, entre outras. Adicionalmente, genótipos com alelos propensos à polimerização intracelular, como Z, S, MMalton e MPalermo, apresentam maior risco de desenvolvimento de patologia hepática.<sup>3</sup>

**Tabela 3:** Principais genótipos de AAT e níveis séricos associados

Genótipo	Nível sérico de AAT: Nefelometria (mg/dL)	Nível sérico de AAT: Teste de Padrão Purificado ( $\mu$ M)
MM	103–200	20–39
MS	100–180	19–35
SS	70–105	14–20
MZ	66–120	13–23
SZ	45–80	9–15
ZZ	10–40	2–8
QOQO	0	0

Adaptado de Lopes et al (2018)<sup>3</sup>



O prognóstico do défice de AAT é muito variável, nem os níveis séricos nem o fenótipo conseguem prever com precisão a evolução clínica. A progressão da doença é significativamente influenciada por fatores genéticos, epigenéticos, ambientais e comportamentais.<sup>9,12,19</sup>

A disfunção hepática surge geralmente nas primeiras décadas de vida, enquanto as manifestações pulmonares geralmente se tornam mais relevantes numa fase mais tardia.<sup>9-12</sup>

A monitorização das funções pulmonares, a adesão ao tratamento e o controlo das comorbilidades têm um impacto direto no desfecho clínico.<sup>9,12</sup>

A terapia génica e os moduladores da AAT têm sido explorados como terapias emergentes e revelam-se promissores na alteração do curso da doença, sobretudo se aplicados precocemente.<sup>2,20</sup> De modo a melhorar o prognóstico e a reduzir a morbimortalidade associada ao défice, são fundamentais a investigação de novos biomarcadores e a implementação de estratégias de rastreio precoce.<sup>16,21,22</sup>

Em suma, o diagnóstico do défice de AAT implica uma abordagem integrada e individualizada, atendendo às características clínicas, laboratoriais e genéticas de cada doente, que é imprescindível para uma intervenção precoce e eficaz. Os principais critérios a ter em conta neste processo estão sintetizados na Tabela 4, que apresenta os pontos-chave para o diagnóstico do défice de AAT.<sup>3,9,12,15</sup>

**Tabela 4:** Pontos-Chave no diagnóstico do défice de AAT

<b>Pontos-chave para o diagnóstico do défice de AAT</b>
O diagnóstico do défice de AAT começa com a suspeita clínica, que deve ser confirmada pelos níveis séricos e pela fenotipagem e/ou genotipagem.
Níveis séricos de AAT <110 mg/dL (por nefelometria) devem conduzir à fenotipagem e/ou genotipagem.
Deve existir concordância entre os níveis séricos e o fenótipo/genótipo; caso contrário, pode estar presente um alelo raro.
Na presença de suspeita de alelo raro, as amostras devem ser enviadas para um laboratório de referência para diagnóstico correto.

Adaptado de Lopes *et al* (2018)<sup>3</sup>

#### 1.4. Prevalência e Lacunas no Conhecimento

Estima-se que 1 em cada 2.000 a 6.000 indivíduos tenha deficiência de AAT, sendo esta mais prevalente entre pessoas de ascendência europeia e menos comum em populações asiáticas ou de outras origens.<sup>1,4,23</sup>

A prevalência estimada, na Europa, situa-se entre 1 em cada 1.500 a 3.000 indivíduos, com uma frequência de deficiência homozigótica entre 0,01% e 0,02%.<sup>23,24</sup> Além dos casos homozigóticos, estima-se que milhões de indivíduos sejam heterozigóticos para alelos de risco, podendo apresentar formas clínicas mais ligeiras, mas ainda assim relevantes do ponto de vista respiratório e hepático.<sup>1,8</sup>



Globalmente, mais de 3 milhões de pessoas terão combinações de alelos associadas à deficiência grave.<sup>1,8</sup> Contudo, devido à escassez de estudos populacionais em larga escala, a prevalência real continua pouco definida na maioria dos países europeus.<sup>23</sup>

Na Região Autónoma da Madeira, o único estudo disponível revelou uma frequência alélica particularmente elevada para os alelos deficitários S e Z, com prevalências estimadas de 18% e 2,5%, respetivamente. Além disso, a frequência combinada dos genótipos de deficiência de AAT (PIZZ, PISS e PISZ) foi estimada em 41 por 1.000 indivíduos (4,1%), considerada uma das mais altas do mundo.<sup>18</sup> Este dado contrasta com a escassez de investigações posteriores e com a ausência de caracterização sérica nesta população.

Assim, observa-se um paradoxo: enquanto uma das maiores frequências alélicas do mundo é registada na região<sup>18</sup>, há ainda importantes lacunas no entendimento sobre a prevalência real do défice de AAT, o seu impacto clínico e a extensão do subdiagnóstico. Diante dessa realidade, é fundamental aprofundar o conhecimento epidemiológico sobre os níveis de AAT na população madeirense, a fim de esclarecer a magnitude do problema e fornecer evidências que possam orientar estratégias de rastreio e intervenções em saúde pública.

A relevância do foco deste estudo sobretudo a nível das doenças pulmonares na Madeira prende-se a fatores históricos e geográficos. Desde o século XVIII, a ilha da Madeira tornou-se reconhecida na Europa pelas condições climáticas favoráveis ao tratamento de várias patologias respiratórias, atraindo doentes de outros países que procuravam recuperar de lesões pulmonares. Este fluxo histórico de indivíduos com doença respiratória, aliado à diversidade populacional resultante do processo de colonização iniciado no século XV, contribui para um contexto particularmente pertinente para investigar condições que afetam a função pulmonar, como o défice de AAT.<sup>18</sup>

Tal como acontece com muitas patologias raras, o défice de AAT está amplamente subdiagnosticado.<sup>7,12</sup> Estima-se que mais de 85% dos casos permanecem por diagnosticar por fatores como a falta de sensibilização para a doença e para os seus métodos de rastreio, a perceção de ineficácia ou inacessibilidade dos tratamentos disponíveis em certas regiões e a complexidade do algoritmo diagnóstico, que pode desencorajar a investigação clínica.<sup>12,16,23</sup> Consequentemente, o diagnóstico é frequentemente tardio, com uma idade média a rondar os 45 anos.<sup>9,22</sup>

Neste contexto geográfico específico, onde os dados disponíveis são escassos e apontam para uma prevalência preocupante, torna-se imperioso promover novos estudos sobre o esclarecimento do panorama epidemiológico regional.<sup>18</sup>



## 2. Objetivo

O objetivo deste estudo foi caracterizar os níveis séricos de AAT numa amostra da população da Ilha da Madeira, com vista a identificar possíveis casos de défice e a contribuir para o conhecimento epidemiológico regional.

## 3. Material e Métodos

### 3.1. Tipo de estudo, População e Amostra

Este estudo enquadra-se num estudo observacional, descritivo e transversal, uma vez que pretende caracterizar uma população num momento específico no tempo, sem qualquer intervenção direta nos indivíduos. Adicionalmente, pode também ser classificado como um estudo unicêntrico, visto que todos os dados foram recolhidos e analisados a partir de uma única unidade laboratorial, funcionando como ponto comum de origem de todas as informações e participantes envolvidos.

A população-alvo corresponde aos utentes de um laboratório localizado na Ilha da Madeira que efetuaram a análise de AAT.

Considerando que, em média, são realizadas entre 30 a 40 análises de AAT por mês no laboratório em questão, estimou-se que seriam necessários aproximadamente 12 meses para atingir o tamanho amostral calculado. Consequentemente, foi selecionado o intervalo entre janeiro de 2022 e janeiro de 2023, que proporcionou uma recolha cronologicamente contínua, com dados recentes, completos e representativos da realidade laboratorial, minimizando potenciais efeitos sazonais.

### 3.2. Procedimento

Para a determinação do **n amostral**, utilizou-se a fórmula:<sup>25,26</sup>

$$n = \frac{Z^2 \times P \times (1 - P)}{d^2} = \frac{(1,96)^2 \times 0,5 \times (1 - 0,5)}{(0,05)^2} = 384$$

Nesta equação, **n** representa o tamanho amostral necessário; **Z** é o valor correspondente ao nível de confiança (1,96 para 95%); **P** é a proporção esperada da população; e **d** é a margem de erro tolerável (0,05).<sup>25,26</sup>

Na ausência de dados prévios sobre a proporção de indivíduos com níveis séricos de AAT abaixo do intervalo de referência na Ilha da Madeira, foi adotado  $P=0,5$ , assegurando uma estimativa conservadora e maximizando o tamanho da amostra necessária. O valor obtido foi de 384 indivíduos.<sup>25,26</sup>

Foram aplicados os seguintes critérios de inclusão: todos os registos de utentes com doseamento de AAT no período selecionado e com informação disponível para as variáveis consideradas



no estudo (sexo, idade e região geográfica). No caso específico da variável "presença de doenças crónicas", os dados em falta foram codificados como "999" e definidos como valores ausentes no SPSS. Esses casos foram excluídos de todas as análises estatísticas que envolviam esta variável, incluindo as realizadas no subgrupo que apresenta níveis de AAT inferior a 90 mg/dL, mantendo-se apenas nas restantes análises em que se apresentavam dados válidos.

A amostra final foi constituída por 384 utentes e a informação foi extraída da base de dados eDeiaLab® do laboratório em questão, com base nos registos analíticos e clínicos disponíveis.

De modo a garantir o anonimato e a confidencialidade dos utentes, todos os dados foram previamente anonimizados. Posteriormente, foram exportados para um ficheiro em *Microsoft Excel*, armazenado em condições seguras e em conformidade com os princípios éticos e legais da proteção de dados pessoais.<sup>27</sup>

No laboratório em questão, a determinação dos níveis séricos de AAT é realizada através do equipamento *Cobas 6000® (Roche Diagnostics)* utilizando um ensaio imunoturbidimétrico. Este método baseia-se na reação da AAT presente na amostra com um anti-soro específico, originando um complexo imune que forma um precipitado. A turbidez gerada é posteriormente medida turbidimetricamente, sendo diretamente proporcional à concentração de AAT. Os reagentes utilizados neste ensaio incluem um tampão fosfato e um anticorpo anti-AAT humano de origem de coelho.<sup>28</sup>

A partir da ficha técnica do fabricante, o limite de deteção do ensaio é de 20 mg/dL, que assegura a fiabilidade dos resultados mesmo perante concentrações muito baixas, como aquelas observadas em utentes da amostra que serão posteriormente descritos (50,5 mg/dL).<sup>28</sup>

Os intervalos de referência específicos, definidos para este método, são estabelecidos pelo fabricante do reagente. Assim, foi adotado como intervalo de referência o valor de 90–200 mg/dL, todos os valores abaixo dos 90 mg/dL foram classificados como valores diminuídos, correspondendo a potenciais casos de défice. Esta classificação tem um carácter operacional e descritivo, não sendo equivalente a um diagnóstico clínico definitivo de défice de AAT, o qual requer investigação complementar nomeadamente através de testes qualitativos (fenotipagem e/ou genotipagem) e análise integrada do contexto clínico.<sup>3,29–31</sup>

A colheita das amostras foi realizada em tubos de soro secos, os utentes encontravam-se em jejum sempre que possível (apesar desta informação nem sempre estar disponível de forma sistematizada). Após a colheita, os soros são centrifugados (4500 x g durante 15 minutos) e analisados no próprio dia, nos casos em que tal não foi possível foram armazenados a -20°C até a análise, não excedendo este período um mês. Segundo as recomendações do fabricante do reagente a estabilidade



da AAT é de até 3 meses quando conservada entre  $-15^{\circ}\text{C}$  e  $-25^{\circ}\text{C}$ .<sup>28</sup> O transporte das amostras até ao laboratório é sempre realizado mediante condições controladas de temperatura. Desta forma, assegura-se a estabilidade analítica da AAT, minimizando as possíveis interferências pré-analíticas nos resultados obtidos.

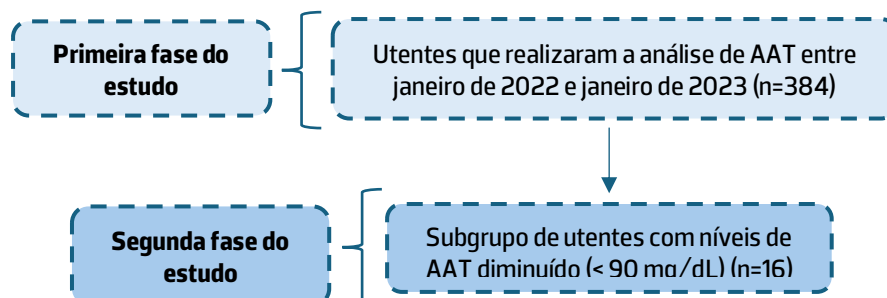
O método é sujeito a um controlo interno diário, assegurando a estabilidade dos reagentes e a fiabilidade dos resultados analíticos. Paralelamente, este método, integra um programa de controlo externo mensal, o *External Quality Assessment Scheme (EQAS)*, que contribui para a monitorização e validação contínua do desempenho do ensaio.

### 3.3. Análise e tratamento de dados

Os dados foram analisados com recurso ao programa *IBM SPSS Statistics@*, versão 29.0.2.0, para o qual foi importado o ficheiro de *Excel* contendo os dados anonimizados, onde foram realizadas todas as análises estatísticas.<sup>32</sup>

As variáveis do estudo incluíram o nível sérico de AAT, o sexo (masculino/feminino), a idade (considerada como variável contínua e codificada em três grupos etários: jovens:  $\leq 30$  anos; adultos: 31–60 anos; idosos:  $> 60$  anos), a região geográfica (numa primeira análise foram analisados os dez concelhos da ilha da Madeira e numa segunda análise esta variável foi recodificada em três zonas: Funchal, Região Oeste: Câmara de Lobos, Ribeira Brava, Ponta do Sol e Calheta e Região Este/Norte: Santa Cruz, Machico, São Vicente, Porto Moniz e Santana) e a presença de doenças crónicas (sim/não). A variável “presença de doenças crónicas” foi definida como a existência de patologias persistentes registadas no processo clínico do utente, incluindo doenças respiratórias crónicas (como asma ou DPOC), doenças metabólicas, cardiovasculares e autoimunes. Esta informação foi considerada apenas quando disponível nos registos clínicos.

A análise estatística foi então conduzida em duas fases complementares, representadas na Figura 2.



**Figura 2:** Esquema representativo das duas fases do estudo: análise da amostra total e análise dos casos com níveis de AAT diminuídos.



Na primeira fase, analisou-se a totalidade da amostra ( $n = 384$ ) com o objetivo de caracterizar a população, avaliar a distribuição dos níveis séricos de AAT e explorar possíveis associações com variáveis demográficas (sexo, idade, região geográfica) e clínicas (presença de doenças crónicas).

Para a análise e tratamento dos dados foi efetuada uma análise descritiva das variáveis, incluindo medidas de tendência central (média, mediana, estimador robusto M), de dispersão (desvio padrão (DP)) e identificação de valores extremos.<sup>33</sup> A escolha dos testes inferenciais foi orientada pelos pressupostos de normalidade e a homogeneidade das variâncias.<sup>34</sup> A normalidade foi avaliada através do teste de *Shapiro-Wilk*, por ser o mais adequado para amostras com menos de 2000 observações, apresentando maior sensibilidade na deteção de desvios à normalidade em comparação com o teste de *Kolmogorov-Smirnov*. A homogeneidade das variâncias foi verificada pelo teste de *Levene*.<sup>35</sup>

Para a comparação entre dois grupos (sexo e presença de doenças crónicas) foi aplicado o teste de *Mann-Whitney*, dado o incumprimento da normalidade em algumas distribuições. A variável idade foi analisada como variável contínua, com a aplicação do coeficiente de correlação de *Spearman* e também como variável categorizada em grupos etários, com a aplicação do teste de *Kruskal-Wallis*. A comparação entre mais de dois grupos, nomeadamente no caso da região geográfica codificada nos dez conselhos, foi efetuada através dos testes ANOVA e *Kruskal-Wallis*, mediante a verificação dos pressupostos paramétricos. Por outro lado, aquando da recodificação desta variável nas três zonas (Funchal, Região Oeste e Região Este/Norte) foi aplicado o teste de *Kruskal-Wallis*, dado que o pressuposto da normalidade foi violado em dois dos três grupos.<sup>26,34,36</sup>

A análise exploratória foi complementada por diversos gráficos produzidos, incluindo histogramas, *boxplots*, gráficos de ramos e folhas, gráficos Q-Q normais e gráficos Q-Q sem tendência, bem como gráficos de dispersão.<sup>32,34</sup>

Na segunda fase do estudo, procedeu-se a uma análise descritiva dos indivíduos com níveis de AAT inferiores a 90 mg/dL, valor de corte definido com base no intervalo de referência do laboratório (90–200 mg/dL), com o objetivo de caracterizar detalhadamente esta subamostra.<sup>28</sup>

De modo a garantir a robustez estatística face ao reduzido número de casos por concelho, foi também realizada a recodificação da variável “região geográfica” nas três zonas agregadas referidas anteriormente.<sup>37,38</sup>

Nesta fase, procedeu-se à determinação das frequências dos níveis séricos de AAT, bem como à estimativa da prevalência de valores diminuídos de AAT, a partir da proporção de indivíduos da amostra com concentrações séricas de AAT inferiores a 90 mg/dL, valor correspondente ao limite inferior do



intervalo de referência considerado (90–200 mg/dL). O valor foi expresso em percentagem, tendo sido também calculado o intervalo de confiança (IC) a 95%, estes cálculos estão presentes no Anexo E.<sup>7,9,12</sup>

Além desta caracterização interna, realizou-se uma análise comparativa entre o grupo que apresentava níveis de AAT abaixo de 90 mg/dL (n=16) e o grupo com valores dentro do intervalo de referência (n=368). Foram utilizados exclusivamente testes estatísticos não paramétricos, uma vez que o grupo que apresentava níveis de AAT abaixo do intervalo de referência apresentava reduzida dimensão amostral (n = 16) e não cumpria os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Assim, aplicaram-se o teste exato de Fisher (sexo e doenças crónicas), o teste de Mann–Whitney (idade) e o teste de Fisher–Freeman–Halton (região geográfica recodificada nas três zonas).<sup>26,34</sup>

#### 4. Resultados

Como foi mencionado, o estudo divide-se em duas fases: a primeira que se refere à análise da amostra total (n=384), e a segunda referente à análise dos indivíduos com concentrações séricas de AAT inferiores ao intervalo de referência (n=16), considerados como casos com valores diminuídos e potencialmente compatíveis com défice. Deste modo, todos os valores séricos, incluindo aqueles localizados nos extremos da distribuição, foram integralmente considerados. Apesar de alguns puderem ser classificados como *outliers*, mediante critérios estatísticos, não foram tratados como tal. Estes dados não resultam de erros laboratoriais ou da introdução de dados, correspondem a situações clínicas relevantes, nomeadamente casos compatíveis com possível défice de AAT.<sup>26,33,34</sup>

Esta abordagem tem por objetivo garantir uma análise rigorosa e representativa da população estudada, deste modo o termo “valores extremos” refere-se à posição na distribuição e não a dados inválidos.<sup>26,34,38</sup>

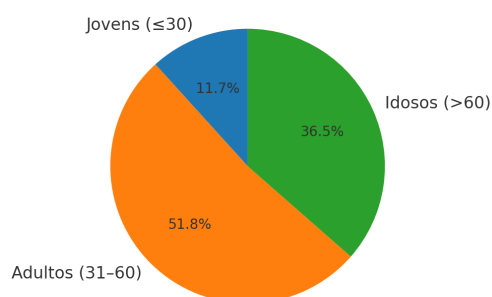
##### 4.1. Caracterização da amostra global

A amostra foi constituída por 384 indivíduos maioritariamente do sexo masculino (71,4%), com uma média de idade de 52,5±16,9, anos, situando-se sobretudo no grupo dos adultos (31–60 anos). A distribuição geográfica revelou maior representatividade do Funchal e de Câmara de Lobos e cerca de um terço dos participantes apresentava a presença de alguma condição crónica. A Tabela 5 e as Figuras 3 e 4 apresentam a caracterização detalhada da presente amostra.

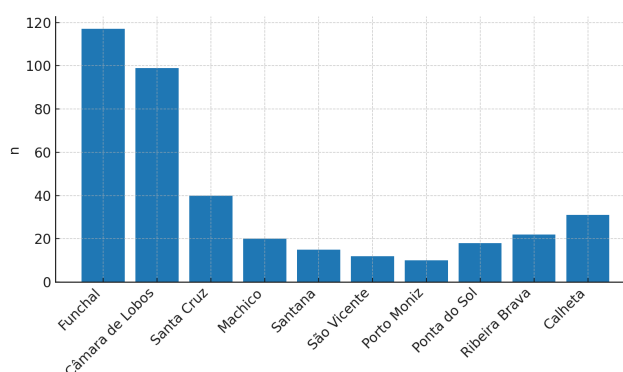


**Tabela 5:** Caracterização da amostra (n=384) segundo as diferentes variáveis (sexo, idade, grupo etário, região geográfica e doenças crónicas)

Variável	Categoria	N	%
Sexo	Masculino	274	71,4
	Feminino	110	28,6
Idade (anos)	Média ± DP	52,5 ± 16,9	-
	Mediana	53	-
Grupo Etário	Jovens (≤30)	45	11,7
	Adultos (31–60)	199	51,8
	Idosos (>60)	140	36,5
Região Geográfica (concelho)	Funchal	117	30,5
	Câmara de Lobos	99	25,8
	Outros concelhos*	168	43,8
Doenças Crónicas	Com doença crónica	118	30,7
	Sem doença crónica	225	58,6
	Sem informação (999)	41	10,7



**Figura 3:** Distribuição da amostra por grupos etários (jovens, adultos e idosos)



**Figura 4:** Distribuição da amostra por concelho da Região Autónoma da Madeira

#### 4.2. Distribuição dos níveis séricos de AAT na população estudada

Os níveis séricos de AAT na população total (n=384) apresentaram uma média de 143,6±34,9 mg/dL, mediana de 146,8 mg/dL e valores compreendidos entre 50,5 e 200 mg/dL. Foram identificados 16 indivíduos (4,2%) com valores inferiores a 90 mg/dL e 368 indivíduos (95,8%) com



concentrações dentro do intervalo de referência (90–200mg/dL). Acima dos 200 mg/dL não foram observados casos. A análise da normalidade revelou que a distribuição dos níveis de AAT não seguia a normalidade, através do teste de *Shapiro-Wilk* ( $p < 0,001$ ).

### 4.3. Associação entre os níveis de AAT e as variáveis independentes

#### 4.3.1. Sexo

Os níveis de AAT foram semelhantes entre homens e mulheres com dispersão considerável em ambos, como se verifica na Tabela 6.

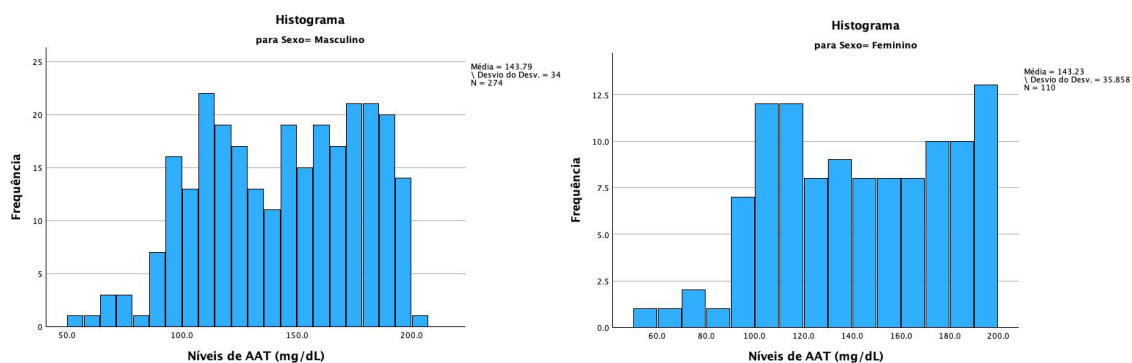
**Tabela 6:** Análise descritiva dos níveis de AAT segundo o sexo

	N	Média (mg/dL)	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	IQR	Assimetria	Curtose
<b>Masculino</b>	274	143,8	34,5	147,5	50,5	200,0	60,0	-0,248	-0,910
<b>Feminino</b>	110	143,2	35,9	144,8	57,1	199,1	65,5	-0,110	-1,020

DP–Desvio Padrão IQR–Intervalo Interquartil

A distribuição dos valores não seguiu a normalidade ( $p < 0,001$ ), pelo que foi utilizado o teste de *Mann-Whitney*, que não revelou diferenças estatisticamente significativas entre sexos ( $U=14.952,5$ ;  $p=0,905$ ). Paralelamente, também foi calculado o tamanho do efeito ( $r$ ), com base na fórmula  $r = \frac{z}{\sqrt{N}} = \frac{-0.119}{\sqrt{384}} \approx -0,006$ , que, em termos absolutos, revela que este efeito é nulo ou desprezável.<sup>26,34,36</sup>

Estes resultados confirmam que os níveis séricos de AAT são comparáveis entre homens e mulheres nesta amostra, o que é também visível nos histogramas e nos *boxplot* presentes na Figura 5 e 6, bem como na análise complementar presente no Anexo A.<sup>26,34</sup>



**Figura 5:** Histogramas da distribuição dos níveis séricos de AAT por sexo (n=384)

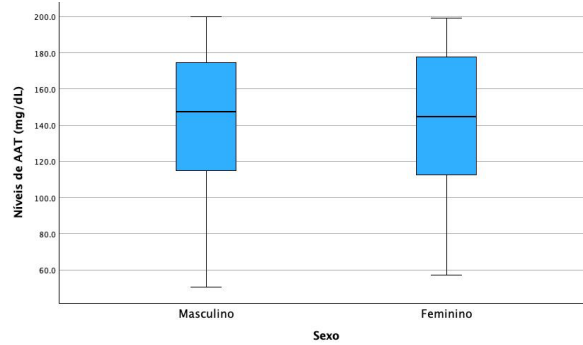


Figura 6: Boxplot dos níveis séricos de AAT por sexo (n=384)

#### 4.3.2. Idade classificada como Variável Contínua

Com base na Tabela 7, foi utilizada a correlação de *Spearman*, para avaliar a relação entre a idade e os níveis séricos de AAT, obtendo-se  $\rho=0,025$ , valor que indica uma associação muito fraca, praticamente nula. O valor de significância ( $p=0,619$ ) corrobora a ausência de relação estatisticamente significativa.<sup>37,38</sup> Estes resultados são também evidenciados através dos histogramas e *boxplot* presentes na Figura 7 e 8, bem como pela análise complementar no Anexo B.

Tabela 7: Análise descritiva dos níveis de AAT com a idade classificada como variável contínua

	N	Média (mg/dL)	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	IQR	Assimetria	Curtose
Idade (anos)	384	52,5	16,9	53,0	20,0	80,0	28,0	-0,166	-1,009

DP-Desvio Padrão IQR-Intervalo Interquartil

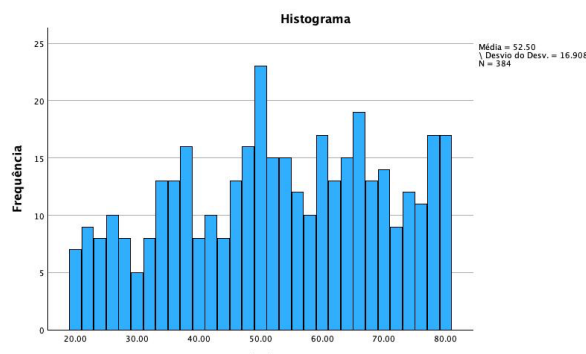


Figura 7: Histogramas da distribuição dos níveis séricos de AAT por idade (n=384)

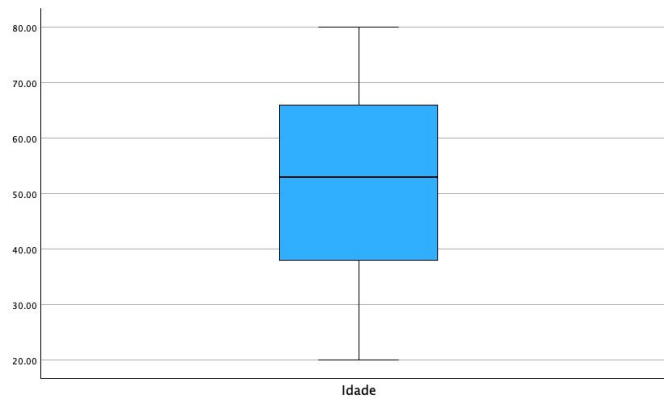


Figura 8: Boxplot dos níveis de AAT por idade (n=384)

#### 4.3.3. Idade classificada através de Grupos Etários

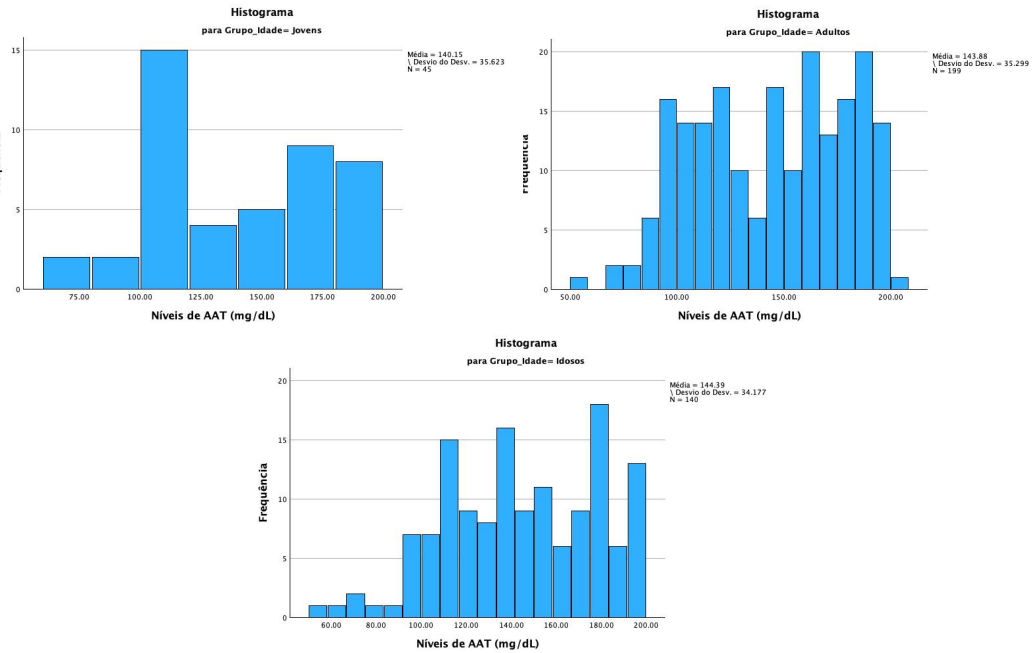
A Tabela 8 apresenta os níveis séricos médios de AAT segundo as três categorias etárias (jovens, adultos e idosos) revelando valores muito próximos entre os três grupos.

Tabela 8: Análise descritiva dos níveis de AAT com a idade classificada através de grupos etários

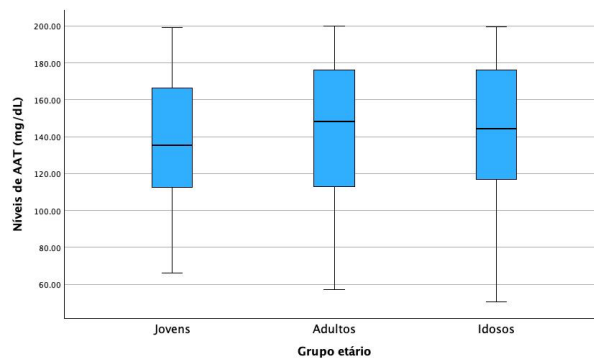
	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	IQR	Assimetria	Curtose
<b>Jovens (≤ 30 anos)</b>	45	140,2	35,6	135,5	66,2	199,1	54,7	-0,093	-0,962
<b>Adultos (31–60 anos)</b>	199	143,9	35,3	158,1	57,1	200,0	63,3	-0,199	-1,105
<b>Idosos (&gt; 60 anos)</b>	140	144,4	34,2	144,3	50,5	199,0	60,0	-0,255	-0,657

DP–Desvio Padrão IQR–Intervalo Interquartil

A aplicação do teste estatístico não paramétrico *Kruskal–Wallis* não revelou diferenças estatisticamente significativas ( $\chi^2=0,534$ ;  $p=0,766$ ). Estes resultados confirmam que os níveis de AAT são semelhantes entre os diferentes grupos etários, o que é evidenciado também pelos histogramas e *boxplots* apresentados na Figura 9 e 10, respetivamente, bem como pela análise complementar no Anexo B.



**Figura 9:** Histogramas da distribuição dos níveis séricos de AAT por grupo etário (n=384)



**Figura 10:** Boxplot dos níveis séricos de AAT por grupo etário (n=384)

#### 4.3.4. Doenças Crónicas

Através da análise da Tabela 9, os níveis médios e medianos de AAT foram semelhantes entre os grupos.

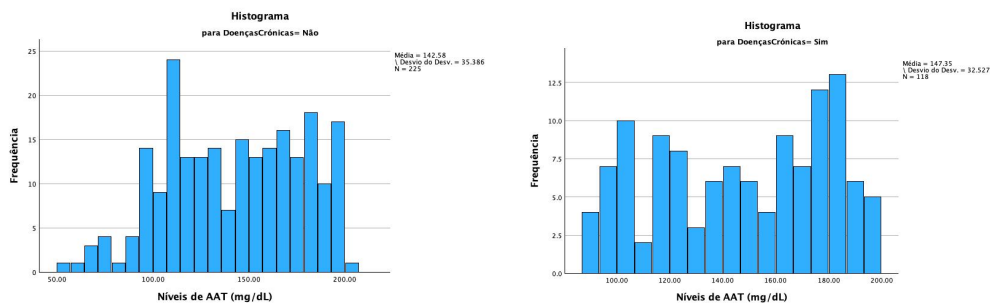
**Tabela 9:** Análise descritiva dos níveis de AAT segundo a presença de doenças crónicas

	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	IQR	Assimetria	Curtose
<b>Sem doenças crónicas</b>	225	142,6	35,4	147,0	50,5	200,0	59,8	-0,202	-0,884
<b>Com doenças crónicas</b>	118	147,4	32,5	149,1	90,1	197,6	58,9	-0,213	-1,299

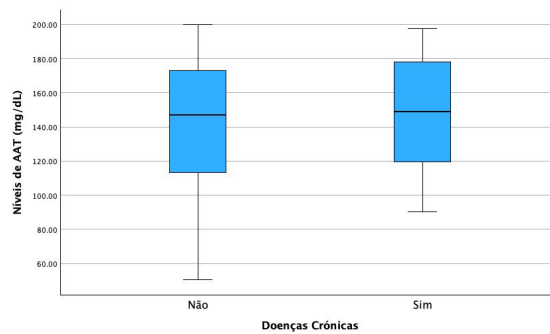
DP–Desvio Padrão IQR–Intervalo Interquartil



Os desvios à normalidade e a confirmação da homogeneidade das variâncias ( $p=0,336$ ) levaram à aplicação do teste de *Mann–Whitney (U)*, cujo resultado revelou ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados ( $U=12\ 374,500$ ;  $Z=-1,032$ ;  $p=0,302$ ). Os postos médios foram ligeiramente superiores nos indivíduos com doenças crónicas (179,6) face ao grupo sem doenças crónicas (168,0), mas com tamanho do efeito desprezável ( $r = \frac{z}{\sqrt{N}} = \frac{-1,032}{\sqrt{343}} \approx 0,056$ ).<sup>34,36</sup> Estes resultados confirmam que a presença de doenças crónicas não se associou a diferenças nos níveis de AAT, o que é apoiado pelas Figuras 11 e 12, bem como pela análise complementar do Anexo C.



**Figura 11:** Histograma da distribuição dos níveis séricos de AAT em relação à presença de doenças crónicas (n=384)



**Figura 12:** Boxplot dos níveis séricos de AAT em relação à presença de doenças crónicas (n=384)

#### 4.3.5. Região Geográfica

A Tabela 10 apresenta a distribuição dos níveis de AAT pelos dez concelhos da Região Autónoma da Madeira.



**Tabela 10:** Análise descritiva dos níveis de AAT segundo a região geográfica

	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>Mediana</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>IQR</b>	<b>Assimetria</b>	<b>Curtose</b>
<b>Funchal</b>	117	143,8	33,7	144,8	68,4	199,5	59,2	-0,088	-1,000
<b>Câmara de Lobos</b>	99	143,9	35,7	150,4	50,5	199,0	59,8	-0,387	-0,869
<b>Ribeira Brava</b>	21	155,0	36,4	167,3	93,2	105,2	71,2	-0,500	-1,317
<b>Calheta</b>	27	133,3	38,9	125,2	67,2	195,5	69,0	0,122	-1,170
<b>Porto Moniz</b>	18	149,9	37,5	161,7	87,3	197,7	68,4	-0,334	-1,449
<b>São Vicente</b>	23	143,7	37,8	145,8	94,2	197,6	74,1	0,137	-1,665
<b>Ponta do Sol</b>	23	142,4	39,5	150,9	57,1	196,3	60,5	-0,553	-0,302
<b>Santana</b>	17	145,9	28,1	147,9	90,4	193,6	44,8	-0,231	-0,539
<b>Machico</b>	21	138,3	33,6	133,4	68,9	198,3	43,5	0,042	-0,338
<b>Santa Cruz</b>	21	143,8	27,4	148,7	100,9	200,0	37,7	0,222	-0,535

DP-Desvio Padrão IQR-Intervalo Interquartil

A média de AAT variou entre 133,3 mg/dL (Calheta) e 155,0 mg/dL (Ribeira Brava), com variabilidade semelhante entre os concelhos. De forma consistente, os valores centrais mais elevados foram detetados na Ribeira Brava, enquanto a Calheta apresentou as concentrações mais baixas. Nos restantes concelhos os valores situaram-se entre 141-146 mg/dL.

A normalidade da distribuição revelou desvios nos concelhos do Funchal, Câmara de Lobos, São Vicente e Ribeira Brava, embora a homogeneidade das variâncias, tenha sido confirmada pelo teste de Levene ( $p = 0,213$ ).

Tanto a ANOVA ( $p=0,761$ ) como o teste *Kruskal-Wallis* ( $p=0,829$ ) confirmaram a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os concelhos. Foi também calculado o tamanho do efeito ( $\eta^2 = 0,015$ ) que se revelou desprezável.<sup>34,36,37</sup> Estes resultados são consistentes com a representação da Figura 13, que apresenta o gráfico de médias por concelho para os níveis de AAT, complementada pelos resultados do gráfico da Figura 14 e Anexo D.

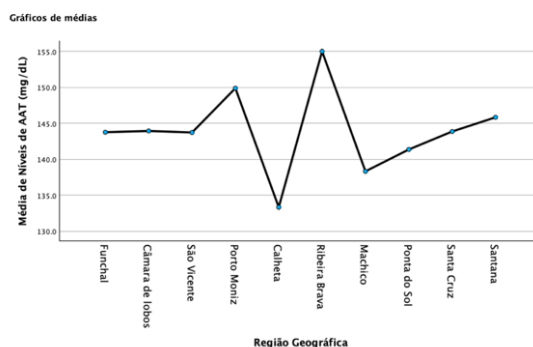


Figura 13: Gráfico de médias dos níveis séricos de AAT por região geográfica (n = 384)

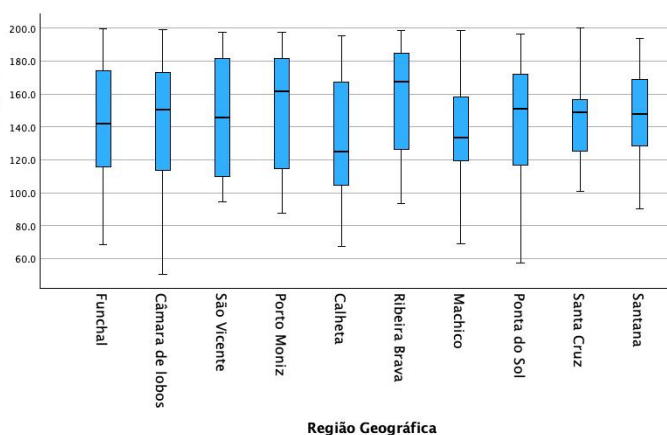


Figura 14: Boxplot dos níveis séricos de AAT em relação à região geográfica (n=384)

#### 4.3.6. Região Geográfica Recodificada

A Tabela 11 apresenta a distribuição dos níveis de AAT de acordo com a região geográfica recodificada em três grupos (Funchal, Região Oeste e Região Este/Norte).

Tabela 11: Análise descritiva dos níveis de AAT segundo a região geográfica recodificada nas três zonas

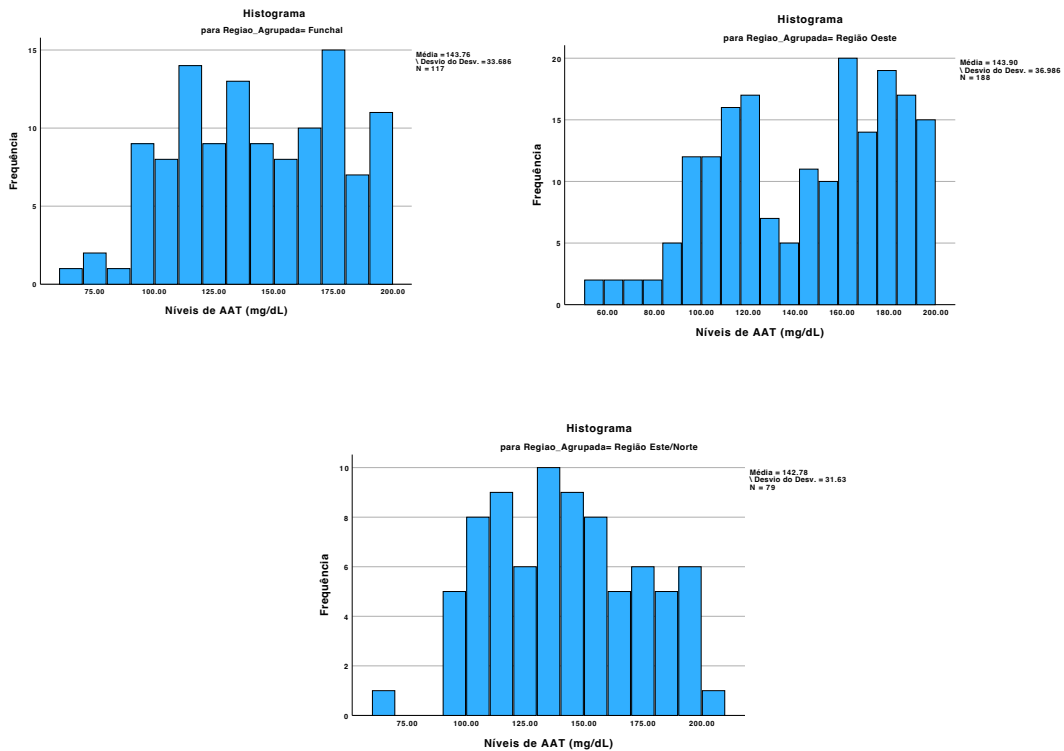
	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	IQR	Assimetria	Curtose
<b>Funchal</b>	117	143,8	33,7	141,8	68,4	199,5	59,2	-0,088	-1,000
<b>Região Oeste</b>	188	143,9	36,9	150,2	50,5	199,0	64,4	-0,331	-0,973
<b>Região Este/Norte</b>	79	142,8	31,6	145,2	68,9	200,0	52,8	0,043	-0,875

DP–Desvio Padrão IQR–Intervalo Interquartil

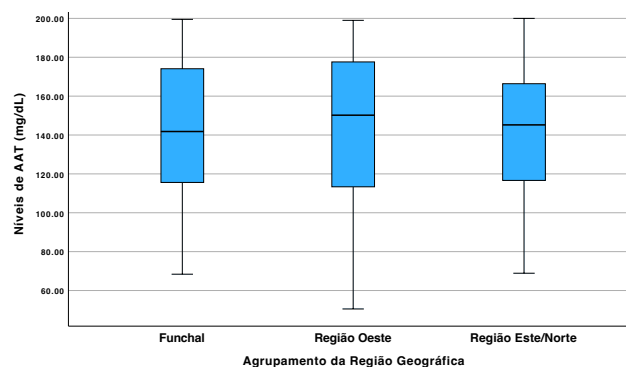
As médias dos níveis de AAT foram semelhantes entre os grupos. A normalidade foi rejeitada no Funchal ( $p=0,004$ ) e Região Oeste ( $p<0,001$ ), enquanto foi aceite na Região Este/Norte ( $p=0,088$ ). Face



à violação do pressuposto em dois dos três grupos, aplicou-se o teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*. Este não revelou diferenças estatisticamente significativas entre as três regiões agrupadas ( $H(2)=0,190$ ;  $p=0,909$ ). O tamanho do efeito foi nulo indicando ausência de diferenças relevantes entre os grupos. Estes resultados são consistentes com a representação dos histogramas e *boxplots* presentes na Figura 15 e 16 respetivamente, bem como no Anexo D.



**Figura 15:** Histogramas dos níveis séricos de AAT em relação à região geográfica recodificada: Funchal; Oeste; Este/Norte (n=384)



**Figura 16:** Boxplot dos níveis séricos de AAT em relação à região geográfica recodificada: Funchal; Oeste; Este/Norte (n=384)



#### 4.4. Caracterização da amostra com níveis de AAT diminuídos

##### 4.4.1. Frequência dos níveis de AAT

A prevalência dos valores diminuídos de AAT na amostra foi de 4,2% (IC 95%: 2,2%–6,2%). Através da análise da Tabela 12, identifica-se que dos 16 indivíduos com valores diminuídos, a maioria eram do sexo masculino (68,8%) e encontravam-se sobretudo no grupo etário dos adultos (43,8%), com uma média de idades de 51,6 ±19,13. A maior concentração de casos verificou-se na Região Oeste (68,8%) e não foram observados indivíduos com presença de doenças crónicas.

**Tabela 12:** Caracterização descritiva dos indivíduos com níveis de AAT diminuídos (n=16) segundo as variáveis independentes

Variável	Categoria	N	%
Sexo	Masculino	11	68,8
	Feminino	5	31,2
Grupo Etário	Jovens ( $\leq 30$ )	3	18,8
	Adultos (31–60 anos)	7	43,8
	Idosos (>60 anos)	6	37,4
Região Geográfica	Funchal	4	25,0
	Região Oeste	11	68,8
	Região Este/Norte	1	6,2
Doenças Crónicas	Presente	0	0,0
	Ausente	6	100

##### 4.4.2. Comparação entre indivíduos com e sem valores diminuídos de AAT

Com o objetivo de avaliar possíveis diferenças entre estes dois grupos (n=16 e n=368) foram aplicados testes estatísticos não paramétricos, adequados ao reduzido n amostral no grupo com valores abaixo do intervalo de referência.<sup>34,37</sup> As variáveis analisadas incluíram o sexo, a idade, presença de doenças crónicas e região geográfica.

Na análise comparativa entre os indivíduos de ambos os grupos, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas relativamente ao sexo (teste exato de Fisher,  $p=0,783$ ), à idade analisada como variável contínua (teste de Mann–Whitney,  $U=2883,0$ ;  $p=0,888$ ) ou à região geográfica agrupada (teste exato de Fisher–Freeman–Halton,  $p=0,232$ ). Apenas a variável presença de doenças crónicas apresentou associação estatisticamente significativa (teste exato de Fisher,  $p=0,004$ ), sugerindo uma menor frequência destas condições nos indivíduos com valores de AAT diminuídos.<sup>8,12</sup>



## 5. Discussão

Este trabalho contribui para o conhecimento epidemiológico dos níveis séricos diminuídos de AAT, compatíveis com possível défice, numa população insular onde os dados são muito escassos.<sup>18</sup> A nível global, o défice de AAT continua a ser amplamente subdiagnosticado, apesar do seu impacto, sobretudo a nível hepático e pulmonar.<sup>7,9,12</sup> A nível regional, este estudo representa um contributo relevante na caracterização laboratorial da amostra analisada, possibilitando uma compreensão preliminar dos perfis dos níveis de AAT na população estudada.

### 5.1. Caracterização da amostra global

O presente estudo concentra-se na análise dos níveis séricos de AAT numa amostra laboratorial de 384 indivíduos da Região Autónoma da Madeira. De um modo geral, os valores médios situam-se em torno dos 145 mg/dL, apresentando uma elevada dispersão entre os participantes, com predominância de concentrações dentro do intervalo de referência laboratorial. Observou-se apenas uma pequena proporção de valores inferiores a 90 mg/dL, considerados como potencialmente compatíveis com défice, numa perspetiva laboratorial.

A amostra estudada foi composta maioritariamente por indivíduos do sexo masculino e por adultos de meia-idade, concordante com a distribuição demográfica mais frequente em estudos laboratoriais semelhantes.<sup>39-41</sup> A maior proporção de indivíduos do sexo masculino na amostra pode refletir padrões específicos de acesso ou utilização de serviços laboratoriais, não sendo necessariamente indicativo de diferenças biológicas nos níveis de AAT entre sexos. Em termos etários, a média da idade ronda os 53 anos, comparável a outras investigações populacionais.<sup>39-42</sup> A presença de doenças crónicas em cerca de um terço dos participantes é concordante com a prevalência esperada para a faixa etária estudada, devido ao aumento progressivo da carga de comorbilidades com a idade.<sup>39</sup> A distribuição geográfica, que inclui os dez conselhos que integram a ilha da Madeira, apresentou uma maior representatividade no Funchal e em Câmara de Lobos, refletindo uma maior densidade populacional destes concelhos. Esta representatividade mais alargada contribui para a heterogeneidade da amostra e a possibilidade de captar diferentes perfis clínicos e genéticos.<sup>8,18</sup>

Os resultados obtidos neste estudo revelam maioritariamente níveis séricos de AAT dentro do intervalo de referência laboratorial utilizado (90-200mg/dL), com valores médios semelhantes aos descritos na literatura europeia, onde os níveis tendem a situar-se entre 140-160 mg/dL. Apesar disto, é importante reforçar que muitos destes estudos utilizam diferentes metodologias, nomeadamente a nefelometria o que condiciona a comparabilidade direta dos valores absolutos. Por conseguinte, as



semelhanças identificadas devem ser todas interpretadas com cautela, dadas as diferenças metodológicas subjacentes.<sup>39,40</sup>

Neste estudo o sexo não se revelou um fator determinante dos níveis séricos de AAT, resultado que se mostra consistente com a evidência internacional disponível. Apesar de alguns estudos referirem algumas variações discretas associadas ao sexo, em contextos inflamatórios específicos, a literatura aponta para o genótipo, as condições inflamatórias e os fatores fisiológicos como os principais determinantes dos níveis de AAT, enquanto a influência hormonal, em condições basais, parece ser limitada.<sup>1,8,23,39,40</sup> Estes resultados estão em coerência com estudos populacionais, que mesmo após considerarem fatores potencialmente influenciadores (idade, índice de massa corporal e hábitos tabágicos) reportam algumas diferenças mínimas ou inexistentes entre os sexos, nos níveis de AAT.<sup>39,40,42</sup>

A distribuição dos níveis séricos de AAT foi ampla e assimétrica, com presença de valores mais baixos e mais altos em ambos os sexos, no entanto, sem predomínio sistemático. Esta variabilidade poderá refletir a coexistência de indivíduos com valores reduzidos, potencialmente associados a défice, e de outros com concentrações mais elevadas associados a processos inflamatórios agudos, sem predomínio em qualquer um dos sexos. Assim, estes resultados reforçam que a estratificação por sexo não acresce valor significativo na interpretação dos níveis de AAT.<sup>1,12,39,40,42</sup>

Além do sexo, outra variável frequentemente considerada na literatura como potencial influenciadora dos níveis sérios de AAT é a idade.<sup>22,23</sup> Na presente análise, quer tratada de forma contínua como categorizada em grupos etários, não se verificou qualquer associação, em concordância com o descrito na literatura.<sup>1,42,43</sup> Estudos mostram que ocorrem variações fisiológicas desta proteína durante o desenvolvimento, com evidência de níveis mais baixos em recém-nascidos e um aumento progressivo até à idade adulta.<sup>1</sup> Após a maturação hepática, os níveis de AAT tendem a estabilizar permanecendo constantes ao longo das fases seguintes da vida.<sup>1,43</sup> Este comportamento contrasta com o de outros marcadores bioquímicos, cujos valores podem sofrer alterações cumulativas com o avançar da idade.<sup>43</sup>

No presente estudo, composto por uma população laboratorial diversificada, não se verificou qualquer tendência de variação etária sistemática dos níveis de AAT, o que pode estar relacionado com a concentração etária entre os 45 e os 65 anos, limitando a variabilidade suficiente para detetar associações mais robustas.<sup>1,39</sup> Apesar de se ter verificado uma ligeira tendência crescente com a idade, esta não atingiu significância estatística.<sup>43</sup>

Ainda que a AAT seja uma glicoproteína de fase aguda, suscetível a alterações decorrentes de processos inflamatórios, infecciosos ou metabólicos, a literatura disponível é pouco conclusiva face ao



comportamento basal desta proteína ao longo do envelhecimento.<sup>1</sup> Embora alguns estudos indiquem que as elevações possam ocorrer com a idade devido a fenómenos inflamatórios subclínicos, aumento da resistência insulínica ou alterações hepáticas relacionadas com o envelhecimento, estes efeitos parecem ser mais acentuados em contextos de doença do que em populações não selecionadas por critérios clínicos, como é o caso da presente amostra.<sup>1,22</sup>

Para além das variáveis sexo e idade, a presença de doenças crónicas foi igualmente analisada como potencial fator associado aos níveis de AAT. Na presente amostra, não foram observadas diferenças entre os subgrupos com e sem doenças crónicas, o que remete para que a presença desta condição não se associe a alterações significativas desta proteína.<sup>1,9,12</sup>

A natureza das doenças crónicas incluída nesta amostra deve ser considerada com cautela na interpretação dos resultados, uma vez que estas não foram especificadas nem estratificadas (por exemplo: hepáticas, pulmonares, autoimunes). Esta ausência de detalhe pode ter condicionado a análise, já que diferentes condições apresentam diferentes implicações distintas na síntese ou degradação da AAT.<sup>1,9,12</sup>

Vários estudos consideram que os níveis de AAT podem ser influenciados tanto por mecanismos genéticos como por respostas inflamatórias, agudas ou crónicas, que induzem o aumento da produção desta proteína a nível hepático, dado o seu papel como proteína de fase aguda. Entre estas condições incluem-se por exemplo, doenças hepáticas ou a DPOC, no entanto, esta associação não é universal, sendo influenciada por diversos fatores como a função hepática, estado nutricional, grau de inflamação e polimorfismos do gene *SERPINA1*.<sup>1,22,23</sup> A ausência de associação pode refletir a heterogeneidade clínica e a natureza inespecífica da variável considerada, pelo que estes achados sugerem que a presença de doenças crónicas não deve ser interpretada de forma isolada como causa de alterações nos níveis séricos de AAT.

Para além destas variáveis, também a região geográfica foi considerada como potencial fator explicativo da variabilidade nos níveis de AAT. Através da análise comparativa entre os concelhos, quer na ANOVA ( $p=0,12$ ), quer no teste de *Kruskal-Wallis* ( $p=0,09$ ), verifica-se que a localização geográfica não constitui, por si só, um fator determinante nesta amostra.

Estudos prévios acerca da distribuição geográfica dos níveis de AAT são limitados, sobretudo em contextos insulares como a Madeira. Contudo, investigações que foram realizadas noutros locais apontam para a influência de fatores locais como por exemplo, prevalência de alelos de défice, hábitos tabágicos ou exposição a poluentes, como explicações para padrões regionais noutros países. Através de um estudo demográfico identificou-se, por exemplo, agregados geográficos de fenótipos ZZ e MZ no



sul da Europa, relacionados com a distribuição de variantes do gene *SERPINA1*.<sup>44</sup> Não obstante, os dados obtidos neste estudo não revelaram um padrão de variação que pudesse ser atribuído a influências geográficas consistentes. Assim, a hipótese de que a AAT apresenta uma distribuição relativamente homogénea na população madeirense, é sustentada pela semelhança entre valores médios e medianos nos diferentes concelhos.

Observaram-se valores extremos em diferentes concelhos, nomeadamente concentrações inferiores a 90 mg/dL, concordante com possível défice de AAT, e também valores próximos do limite superior do intervalo de referência laboratorial. Estes achados apesar de isolados e dispersos, podem refletir fenótipos deficitários ou situações inflamatórias, mas não configuram padrões regionais consistentes.<sup>3,7,9,12,22</sup>

A ausência de diferenças estatisticamente significativas podem associar-se a uma homogeneidade genética e ambiental da população madeirense devido à proximidade geográfica, baixa diversidade étnica e acesso equitativo aos serviços de saúde.<sup>18</sup> Por outro lado, o reduzido número de participantes em alguns concelhos poderá ter limitado o poder estatístico para detetar diferenças reais, devendo os resultados ser interpretados com cautela.<sup>38</sup> A nível clínico e laboratorial, os resultados propõem que a localização geográfica não deverá ser aplicada como critério prioritário na triagem de indivíduos para estudo de défice de AAT na Madeira. No entanto, a deteção de valores anormalmente baixos em diferentes concelhos justifica a implementação e manutenção de estratégias de vigilância ativas e uniformes em todo o território.<sup>3</sup> Em estudos futuros, seria relevante expandir o tamanho amostral nos concelhos com menor representação, assim como integrar outras variáveis adicionais, tais como antecedentes familiares, exposição ocupacional ou hábitos de vida, que possam revelar padrões mais subtis de variação.<sup>3,18,38</sup>

Além da análise da variável região geográfica considerando os dez concelhos da ilha da Madeira, procedeu-se à sua recodificação em três zonas geográficas agregadas: Funchal, Região Oeste e Região Este/Norte. Esta abordagem revela uma distribuição aparentemente mais homogénea entre os grupos e foi útil para determinar se os padrões detetados se mantinham quando os dados seguiam a distribuição inicial dos dez concelhos. A diferença entre as duas abordagens evidencia o impacto da granularidade da variável região geográfica na análise estatística.<sup>25,26,45,46</sup> Ao agrupar os concelhos é possível diluir variações reais, conduzindo a uma falsa homogeneidade estatística.<sup>25,34,45,46</sup> Deste modo, esta recodificação pode ser vantajosa, sobretudo em contextos com limitações amostrais pois permitem uma maior robustez e simplificam a análise.<sup>25,36,45,46</sup> Ambas as abordagens são complementares, a análise por concelho promove uma leitura mais sensível e geograficamente mais específica, com maior interesse



epidemiológico e clínico.<sup>3,18,45,46</sup> Por outro lado, a análise por zona agregada contribui para uma visão mais geral e interpretativamente estável da distribuição dos níveis de AAT.<sup>45,46</sup> Importa referir, que em ambas as circunstâncias os resultados devem ser interpretados com cautela, dada a limitação causada pela ausência de fatores como história familiar, exposição ambiental e antecedentes clínicos que podem influenciar os níveis de AAT.<sup>3,7,9</sup>

A ausência de variáveis laboratoriais ou biomarcadores inflamatórios no modelo que poderiam contribuir significativamente para explicar as flutuações nos níveis de AAT, especialmente em contextos clínicos mais agudos, apresentam-se como uma limitação importante a considerar. Vários estudos apontam para a importância da resposta inflamatória sistémica, mediada por proteínas como a Proteína C Reativa (PCR), na elevação transitória da AAT em situações de inflamação aguda.<sup>7,9</sup> Da mesma forma, a ausência de informação sobre hábitos tabágicos, índice de massa corporal (IMC), uso de esteroides ou contraceptivos hormonais limita a análise dos fatores que poderão reduzir ou elevar os níveis de AAT de forma não genética.<sup>9,39</sup> A não inclusão de dados genéticos pode ter impedido também a deteção de variações associadas a alelos deficientes ou mutações raras do gene *SERPINA1*.<sup>8,44</sup>

Para além das limitações referenciadas, importa realçar que não foram incluídos critérios de exclusão clínicos (gravidez, presença de infeções ativas ou estados inflamatórios agudos), devido à indisponibilidade dessas informações na base de dados utilizada.<sup>7,9</sup> Esta observação reforça a inclusão, em estudos futuros, de mais informação clínica detalhada e contextualizada, nomeadamente sobre condições clínicas como o uso de medicação ou outros fatores relevantes<sup>9</sup> com o objetivo de aumentar a fiabilidade da interpretação dos resultados e reduzir o viés nos níveis de AAT observados minimizando os enviesamentos e aumentando a fiabilidade da interpretação.

Para além das limitações clínicas e epidemiológicas mencionadas, é imperioso refletir acerca de alguns aspetos laboratoriais que também condicionam a interpretação dos resultados. O presente estudo utilizou a imunoturbidimetria, que é também uma técnica automatizada, robusta e amplamente adotada na prática laboratorial.<sup>28,31</sup> Assim como a nefelometria, a imunoturbidimetria baseia-se na formação de complexos antigénios-anticorpo em suspensão e apresenta uma elevada reprodutibilidade, precisão e compatibilidade com sistemas automáticos.<sup>28,31</sup> De acordo com a literatura, ambas as técnicas são equivalentes para fins clínicos embora possam apresentar diferenças nos intervalos de referência em função do reagente e do equipamento utilizado.<sup>7,9,28</sup> Esta particularidade metodológica tem impacto direto na interpretação e definição operacional do défice, pois os valores obtidos por diferentes métodos não são diretamente comparáveis. No entanto, é importante realçar que o uso da imunoturbidimetria não compromete a validade dos resultados, é uma técnica reconhecida e recomendada em diversos



protocolos clínicos e circuitos laboratoriais.<sup>9,28</sup> Deste modo, é imperioso que qualquer estratégia laboratorial adotada considere a padronização e a validação de métodos analíticos utilizados, com o objetivo de garantir consistência na identificação de casos suspeitos de défice.<sup>7,28</sup>

É importante considerar que apesar da nefelometria ser frequentemente adotada como método de referência em vários estudos e protocolos, como é o caso da ATS/ERS<sup>7</sup>, a imunoturbidimetria também se apresenta como uma alternativa igualmente válida para a quantificação da AAT em contexto laboratorial de rotina.<sup>9,28,31</sup> Vários estudos indicam que ambas as técnicas oferecem uma boa correlação para concentrações normais e ligeiramente reduzidas, embora a nefelometria apresente vantagem em termos de sensibilidade nas concentrações mais baixas, o que a torna preferível em contextos de confirmação diagnóstica em casos de défice.<sup>9,31</sup> Por outro lado, a imunoturbidimetria destaca-se pela maior acessibilidade, custo-efetividade, automatização e aplicabilidade em larga escala.<sup>28,31</sup> Assim, é justificável a sua aplicabilidade neste estudo, sendo fundamental, reconhecer que os valores absolutos não devem ser diretamente comparáveis com limiares clínicos definidos para outros métodos.<sup>7,28</sup>

Em conclusão, os resultados do presente estudo evidenciam que nenhuma das variáveis analisadas exercem influencia estatisticamente significativa nos níveis de AAT. Apesar da identificação de padrões descritivos e alguns valores extremos, estes não configuram tendências consistentes que sustentem hipóteses de variação sistemática. Estes achados sugerem que a modulação dos níveis de AAT dependem sobretudo de determinantes genéticos e inflamatórios, mais do que de fatores sociodemográficos, de acordo com a literatura disponível. Assim, é importante a implementação de abordagens multidimensionais que integrem dados clínicos, genéticos e biomarcadores inflamatórios de forma a aprofundar a compreensão desta proteína.<sup>8,44</sup>

A integração futura de estudos genéticos direcionados poderá clarificar a eventual presença de mutações ou variantes alélicas associadas ao défice, mesmo em populações em que as médias globais se mantenham dentro do intervalo de referência.<sup>3,7,8,17</sup> Deste modo, esta abordagem poderá contribuir para um diagnóstico mais precoce, uma caracterização epidemiológica mais precisa e para o aumento da eficácia das estratégias de saúde pública, nomeadamente na vigilância laboratorial, que deve manter-se universal e equitativa com foco no risco individual e não em critérios sociodemográficos ou geográficos isolados.<sup>22,44</sup>

## 5.2. Caracterização da amostra com níveis de AAT diminuídos

Apesar do número reduzido de indivíduos com níveis séricos de AAT abaixo do intervalo de referência, a sua identificação reveste-se de interesse clínico e epidemiológico, ao sinalizar potenciais



casos de défice que justificam investigação adicional.<sup>3,9</sup> O estudo desta subpopulação permitiu uma caracterização preliminar dos utentes potencialmente afetados, com o intuito de detetar padrões demográficos ou geográficos que possibilitem e promovam a adoção de estratégias futuras de rastreio e acompanhamento mais direcionado.<sup>7,22</sup>

Até ao momento, mediante as pesquisas efetuadas, não foi verificada evidência robusta que permita uma estratificação do défice de AAT especificamente validado para o método imunoturbidimétrico. A literatura existente salienta que os limiares de risco (<57 mg/dL) são de natureza clínica e frequentemente aplicados independentemente da técnica utilizada, desde que se assegure a exatidão por meio de calibração apropriada e que os resultados sejam traçáveis a padrões de referência internacionalmente estabelecidos.<sup>7,9,28</sup> Por oposição, os intervalos de referência são específicos do método em uso e definidos pelos fabricantes ou pelos laboratórios, não devendo ser confundidos com pontos de decisão clínica.<sup>28</sup> Como no presente estudo o método aplicado foi o imunoturbidimétrico, com intervalo de referência validado de 90–200 mg/dL, a definição de categorias de défice adaptada a esta técnica exige evidência externa que não foi localizada. Deste modo, considerou-se evitável a estratificação específica do défice para a imunoturbidimetria e, em alternativa, optou-se por classificar apenas os valores abaixo do intervalo de referência, como possíveis casos compatíveis com défice e tratá-los de forma exploratória.

Na presente amostra, 16 indivíduos (4,2%) apresentaram níveis de AAT inferiores a 90 mg/dL, sendo estes potencialmente compatíveis com défice, numa perspetiva laboratorial e descritiva.<sup>3,7</sup> Dentro desta subamostra, observou-se uma predominância do sexo masculino (68,8%). Esta distribuição mostra-se consistente com alguns estudos que reportam maior frequência de défice diagnosticado em homens,<sup>8,12</sup> que poderá estar associado a fatores comportamentais e ambientais como é o caso do tabaco e da exposição ocupacional a agentes nocivos.<sup>9,12</sup> Apesar do défice desta proteína apresentar uma base genética autossómica codominante<sup>7</sup>, a sua expressão clínica pode ser regulada por estas variáveis de risco,<sup>7,16</sup> o que, em certa parte, explica a maior representatividade do sexo masculino nesta subamostra.

Relativamente ao grupo etário, a maior concentração de casos foi identificada entre os adultos (31–60 anos), representando 43,8 % da subamostra, seguidos dos idosos (> 60 anos, 37,5 %) e finalmente os jovens ( $\leq$  30 anos, 18,8%). Esta distribuição poderá demonstrar um diagnóstico mais frequente em fases da vida onde começam a surgir sintomas compatíveis com enfisema precoce ou alterações respiratórias, frequentemente subvalorizadas ou atribuídas a outras causas.<sup>9,12</sup>



Quanto à distribuição geográfica, verifica-se uma clara concentração de observações na Região Oeste da Ilha (68,8 %), contrastando com proporções mais reduzidas no Funchal (25,0 %) e na Região Este/Norte (6,3 %). Dado o tamanho amostral reduzido, este padrão pode apenas refletir flutuações aleatórias, no entanto, é sustentável considerar a hipótese de possíveis agregados familiares com variantes deficitárias nestas regiões.<sup>18</sup> Deste modo, o aprofundamento futuro através de estudos genéticos ou fenotípicos em amostras alargadas e representativas justificam esta observação.

Finalmente, no que diz respeito às doenças crónicas, nenhum dos 16 participantes demonstrou a presença desta condição durante a recolha dos dados. A inexistência da variabilidade observada poderá ser explicada pelo facto de a seleção populacional não ter assentado em critérios clínicos, aliados à natureza frequentemente assintomática ou subclínica do défice de AAT, especialmente nos casos heterozigóticos ou em idades mais precoces.<sup>7,12,13</sup>

Através da análise comparativa com a os participantes cujos níveis de AAT se encontravam dentro do intervalo de referência (n = 368), não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas no sexo, idade ou região geográfica. No entanto, verificou-se uma associação significativa com a variável doenças crónicas, sugerindo menor frequência destas condições nos indivíduos com níveis de AAT diminuídos. Este resultado, apesar de inesperado, pode surgir devido ao reduzido número de casos, a um viés de seleção ou à possibilidade de representar indivíduos numa fase pré-clínica.<sup>7,12,13</sup>

Em conclusão, esta análise, apesar das várias limitações identificadas, permitiu delinear alguns padrões demográficos e geográficos que poderão orientar futuras investigações. Todavia, é importante reconhecer as limitações inerentes a este estudo, nomeadamente o reduzido tamanho amostral do grupo com níveis de AAT reduzidos (n=16), que compromete a robustez estatística e impede a generalização dos resultados, conferindo aos achados um carácter preliminar que deve ser interpretado com prudência. Ainda assim, a análise conjunta da amostra total e da subamostra com níveis reduzidos de AAT permitiu uma abordagem mais abrangente e representativa, assegurando a maior validade externa e evitando potenciais vieses de seleção. Destaca-se, assim, a necessidade de implementar estratégias de rastreio mais dirigidas e de reforço da vigilância em populações laboratoriais ou comunitárias com características semelhantes, com o objetivo de confirmar estes achados através estudos genéticos ou fenotípicos, contribuindo assim para uma deteção precoce mais eficaz e uma intervenção clínica adequada em casos de possível défice de AAT.

Apesar do carácter preliminar dos resultados, a prevalência descrita neste estudo (4,2%) mostra-se relativamente elevada, sobretudo em comparação com estudos internacionais que se baseiam em genótipos,<sup>8,44</sup> incluindo os que apontam para uma elevada prevalência genética na Madeira.<sup>18</sup> Tais



observações reforçam a necessidade de aprofundar a vigilância local e a implementação de estratégias de rastreio, consolidando a importância de considerar a região como potencialmente subdiagnosticada. Assim, propõem-se como linha de investigação futura a implementação de um protocolo de rastreio local, adaptado à realidade epidemiológica regional.<sup>3,7,9</sup> Este protocolo deverá incluir a definição de um valor de corte laboratorial, seguido de confirmação genotípica ou fenotípica dos casos suspeitos.<sup>7,9,15</sup> A inclusão de critérios clínicos de risco na seleção de indivíduos a testar possibilita uma deteção precoce contribuindo para intervenções clínicas mais apropriadas.<sup>9,15,16</sup> Além disso, a avaliação preliminar do custo-efetividade destas estratégias poderá justificar a sua aplicabilidade em contextos reais, reforçando o papel do laboratório na vigilância ativa e equitativa do défice de AAT.<sup>22,47</sup>

## 6. Conclusão

O presente estudo permitiu caracterizar os níveis séricos de AAT numa população de um laboratório da ilha da Madeira, analisando a sua distribuição através de variáveis sociodemográficas e clínicas. Os resultados obtidos demonstraram que na amostra total (n=384) não se verificaram diferenças estatisticamente significativas nos níveis de AAT entre sexos, idade ou regiões geográficas, embora tenham sido identificados alguns padrões descritivos que podem justificar investigações futuras. A prevalência dos casos com valores de AAT diminuídos, compatíveis com possível défice (n=16), é relevante no contexto epidemiológico da ilha (4,2%) e revelou um predomínio do sexo masculino, com maior frequência no grupo etário dos adultos e uma maior proveniência na Região Oeste. No que respeita às doenças crónicas, nenhum dos participantes apresentou esta condição.

Estes achados sugerem o potencial benefício da implementação de estratégias de rastreio, de uma vigilância mais direcionada e favorecem uma melhoria na abordagem ao conhecimento epidemiológico do défice de AAT na ilha da Madeira. A caracterização da distribuição dos níveis séricos desta proteína em diferentes subgrupos permite gerar hipóteses relevantes e poderá apoiar, em estudos futuros, a deteção precoce de casos e o desenvolvimento de intervenções mais eficazes, com vista à redução do impacto clínico associado a este défice.

Apesar da relevância dos resultados obtidos, é importante destacar as várias limitações associadas a este estudo nomeadamente, o reduzido tamanho amostral da subpopulação com níveis de AAT diminuídos, o possível viés de seleção decorrente da natureza laboratorial da amostra e também a ausência de confirmação genética dos casos identificados. Futuramente, as investigações devem integrar amostras mais amplas e representativas, incluindo a análise genotípica com possível exploração entre os níveis de AAT e outros marcadores clínicos, de modo a expandir o conhecimento acerca desta condição na população madeirense e auxiliar na tomada de decisões a nível da saúde pública.



## Referências Bibliográficas

1. Janciauskiene SM, Bals R, Koczulla R, Vogelmeier C, Köhnlein T, Welte T. The discovery of  $\alpha$ 1-antitrypsin and its role in health and disease. Vol. 105, *Respiratory Medicine*. 2011. p. 1129–39.
2. Xiang S, Yang L, He Y, Ding F, Qiao S, Su Z, et al. Alpha-1 Antitrypsin as a Regulatory Protease Inhibitor Modulating Inflammation and Shaping the Tumor Microenvironment in Cancer. Vol. 14, *Cells*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2025.
3. Lopes AP, Mineiro MA, Costa F, Gomes J, Santos C, Antunes C, et al. Portuguese consensus document for the management of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Pulmonology*. 2018 Dec 1;24:1–21.
4. Meseeha M, Sankari A, Attia M. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Continuing Education Activity. 2024.
5. 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. Vol. 15, *Orphanet Journal of Rare Diseases*. BioMed Central Ltd.; 2020.
6. Greulich T, Vogelmeier CF. Alpha-1-antitrypsin deficiency: Increasing awareness and improving diagnosis. Vol. 10, *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*. SAGE Publications Ltd; 2016. p. 72–84.
7. American Thoracic Society Documents. American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: Standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. Vol. 168, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. American Lung Association; 2003. p. 818–900.
8. de Serres FJ, Blanco I. Prevalence of  $\alpha$ 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. Vol. 6, *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*. 2012. p. 277–95.
9. Sandhaus RA, Turino G, Brantly ML, Campos M, Cross CE, Goodman K, et al. The Diagnosis and Management of Alpha-1 Antitrypsin Deficiency in the Adult. *Chronic Obstructive Pulmonary Diseases: Journal of the COPD Foundation*. 2016;3(3):668–82.
10. Tanash HA, Piitulainen E. Liver disease in adults with severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *J Gastroenterol*. 2019 Jun 5;54(6):541–8.
11. Mitchell EL, Khan Z. Liver Disease in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Current Approaches and Future Directions. Vol. 5, *Current Pathobiology Reports*. Springer; 2017. p. 243–52.



12. Stoller JK, Aboussouan LS. A review of  $\alpha$  1-antitrypsin deficiency. Vol. 185, American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2012. p. 246–59.
13. Martín-González E, Hernández-Pérez JM, Pérez JAP, Pérez-García J, Herrera-Luis E, González-Pérez R, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency and Pi\*S and Pi\*Z SERPINA1 variants are associated with asthma exacerbations. Pulmonology. 2023;
14. Patrícia Cardoso. Deficiência de Alfa-1-antripsina na Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica. [Coimbra]: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; 2009.
15. McElvaney NG. Diagnosing  $\alpha$ 1-antitrypsin deficiency: How to improve the current algorithm. Vol. 24, European Respiratory Review. European Respiratory Society; 2015. p. 52–7.
16. Barrecheguren M, Hidalgo PP, Gonçalves JMF, de Miguel Díez J. Diagnosis of Alpha-1 Antitrypsin Deficiency (AATD) in Primary Care. Vol. 6, Open Respiratory Archives. Elsevier Espana S.L.U; 2024.
17. Grifols. Proposta de circuito de diagnóstico para a análise genética da deficiência da alfa-1-antitripsina em Portugal. Barcelona; 2022.
18. Spínola C, Bruges-Armas J, Pereira C, Brehm A, Spínola H. Alpha-1-antitrypsin deficiency in Madeira (Portugal): The highest prevalence in the world. Respir Med. 2009 Oct;103(10):1498–502.
19. Torres-Durán M, Lopez-Campos JL, Barrecheguren M, Miravittles M, Martinez-Delgado B, Castillo S, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency: Outstanding questions and future directions. Vol. 13, Orphanet Journal of Rare Diseases. BioMed Central Ltd.; 2018.
20. Chiuchiolo MJ, Crystal RG. Gene therapy for alpha-1 antitrypsin deficiency lung disease. In: Annals of the American Thoracic Society. American Thoracic Society; 2016. p. S352–69.
21. Serban KA, Pratte KA, Strange C, Sandhaus RA, Turner AM, Beiko T, et al. Unique and shared systemic biomarkers for emphysema in Alpha-1 Antitrypsin deficiency and chronic obstructive pulmonary disease. Available from: <https://doi.org/10.1016/j>.
22. Miravittles M, Herepath M, Priyendu A, Sharma S, Vilchez T, Vit O, et al. Disease burden associated with alpha-1 antitrypsin deficiency: systematic and structured literature reviews. Vol. 31, European Respiratory Review. European Respiratory Society; 2022.
23. Greulich T, Nell C, Hohmann D, Grebe M, Janciauskiene S, Koczulla AR, et al. The prevalence of diagnosed  $\alpha$ 1-antitrypsin deficiency and its comorbidities: Results from a large population-based database. European Respiratory Journal. 2017 Jan 1;49(1).



24. Luisetti M and SN. Alfa 1 Antitripsin deficiency 1:Epidemiology of alfa 1 antitrypsin deficiency. Thorax [Internet]. 2004;59(2):164–9. Available from: [www.thoraxjnl.com](http://www.thoraxjnl.com)
25. Colosimo EA, Ufmg /. Estatística II Cálculo de Tamanho de Amostra [Internet]. Available from: <http://www.est.ufmg.br/~enricoc/>
26. OpenStax. Introductory Statistics [Internet]. 3rd ed. Houston, TX: OpenStax, Rice University; 2023 [cited 2025 Jun 11]. Available from: <https://openstax.org/books/introductory-statistics-2e/pages/2-1-stem-and-leaf-graphs-stemplots-line-graphs-and-bar-graphs>
27. Laurie G, Dove E, Ganguli-Mitra A, McMillan C, Postan E, Sethi N, et al. The Cambridge Handbook of Health Research Regulation. The Cambridge Handbook of Health Research Regulation. Cambridge University Press; 2021. 1–421 p.
28. Roche Diagnostics GmbH. Tina-quant  $\alpha$ 1-Antitrypsin ver.2 – Instruções de utilização. Mannheim, Alemanha; 2021.
29. Liu W, Wang Y. Protective role of the alpha-1-antitrypsin in intervertebral disc degeneration. J Orthop Surg Res. 2021 Dec 1;16(1).
30. Sanders C, Kim J. Genotypes, Prevalence and Serum Levels of Alpha-1 Antitrypsin F and I Variants in a Clinical Screening Program. Chest. 2016 Oct;150(4):1131A.
31. Viedma JA de la IAPMLM. A New Automated Turbidimetric Immunoassay for Quantifying  $\alpha$ 1-Antitrypsin Serum. Clinical Chemistry [Internet]. 1986 [cited 2025 Sep 24];32(6):1020–2. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/20070262\\_A\\_new\\_automated\\_turbidimetric\\_immunoassay\\_for\\_quantifying\\_alpha\\_1-antitrypsin\\_in\\_serum](https://www.researchgate.net/publication/20070262_A_new_automated_turbidimetric_immunoassay_for_quantifying_alpha_1-antitrypsin_in_serum)
32. IBM Corp. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 29.0.2.0. Armonk, NY; 2023.
33. Githui MB. ROBUST M-ESTIMATORS OF THE POPULATION MEAN. 2018.
34. Ghasemi A, Zahediasl S. Normality tests for statistical analysis: A guide for non-statisticians. Int J Endocrinol Metab. 2012;10(2):486–9.
35. Field A. Discovering Statistics Using IBM SPSS Statistics.
36. Cohen J. Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences Second Edition.
37. Terezinha Aparecida Guedes Msc Ana Beatriz Tozzo Martins D, Clédina Regina Lonardan Acorsi Msc Vanderly Janeiro M. Projeto de Ensino Aprender Fazendo Estatística Estatística Descritiva 1 INTRODUÇÃO.
38. Costa RR, Backes OP, Figueiredo P, Castro FA de S. Sampling procedures and calculation for sample size determination: Criteria and methods adopted in theses and dissertations in human



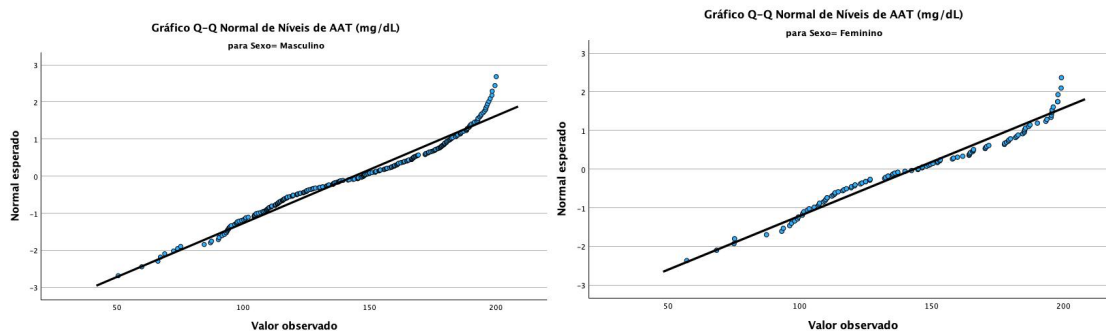
- movement sciences – A descriptive study. Vol. 20, *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano*. Universidade Federal de Santa Catarina; 2018. p. 480–90.
39. Senn O, Russi EW, Schindler C, Imboden M, von Eckardstein A, Brändli O, et al. Circulating alpha1-antitrypsin in the general population: Determinants and association with lung function. *Respir Res*. 2008 Apr 25;9.
  40. Haillet A, Pelland AA, Bossé Y, Carroll TP, Maltais F, Dandurand RJ. Intraindividual variability in serum alpha-1 antitrypsin levels. *Chronic Obstructive Pulmonary Diseases*. 2021;8(4):464–73.
  41. Miravittles M, Turner AM, Torres–Duran M, Tanash H, Rodríguez–García C, López–Campos JL, et al. Clinical and functional characteristics of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency: EARCO international registry. *Respir Res*. 2022 Dec 1;23(1).
  42. Ferrarotti I, Piloni D, Filosa A, Ottaviani S, Barzon V, Balderacchi AM, et al. Clinical features in patients with severe Alpha-1 antitrypsin deficiency due to rare genotypes. *Pulmonology*. 2025;31(1).
  43. Zhang Q, Luo Y, Wang F, Tang X, Li J, Zhang H, et al. Age- and sex-specific reference intervals for serum creatinine in healthy adults: a large cross-sectional study in Beijing, China. 2023 [cited 2025 Aug 13];15(8):2216–30. Available from: <https://www.aging-us.com/article/204872/text>
  44. Blanco I. A well-designed/conducted study on alpha-1 antitrypsin epidemiology not quoted. Vol. 51, *European Respiratory Journal*. European Respiratory Society; 2018.
  45. Jeffery C, Ozonoff A, Pagano M. The effect of spatial aggregation on performance when mapping a risk of disease [Internet]. 2014. Available from: <http://www.ij-healthgeographics.com/content/13/1/9>
  46. Roquette R, Nunes B, Painho M. The relevance of spatial aggregation level and of applied methods in the analysis of geographical distribution of cancer mortality in mainland Portugal (2009–2013). *Popul Health Metr*. 2018 Mar 27;16(1).
  47. Greulich T, Vogelmeier CF. Alpha-1-antitrypsin deficiency: Increasing awareness and improving diagnosis. Vol. 10, *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*. SAGE Publications Ltd; 2016. p. 72–84.



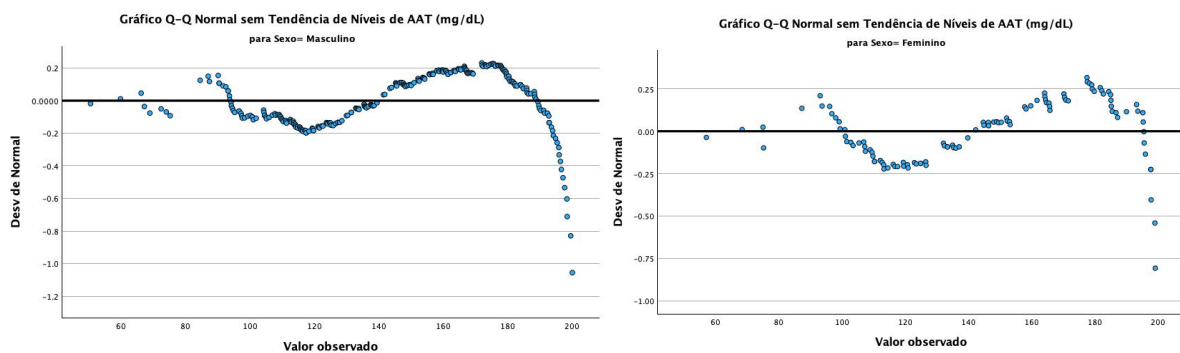
## 7. Anexos

Para além dos gráficos apresentados no corpo principal da tese, foram igualmente analisados gráficos adicionais (gráficos Q-Q normais, gráficos Q-Q sem tendência, gráficos de ramos e folhas e gráficos de dispersão) que se encontram incluídos nos vários anexos abaixo, com o intuito de documentar integralmente o processo exploratório dos dados. Estes gráficos complementam os resultados apresentados, assegurando a transparência do processo de avaliação estatística da normalidade, essencial para a escolha dos testes inferenciais mais adequados.

### Anexo A: Sexo



**Figura A1:** Gráficos Q-Q normais dos níveis séricos de AAT por sexo (n=384)



**Figura A2:** Distribuição dos níveis séricos de AAT em gráficos Q-Q sem tendência por sexo (n=384)

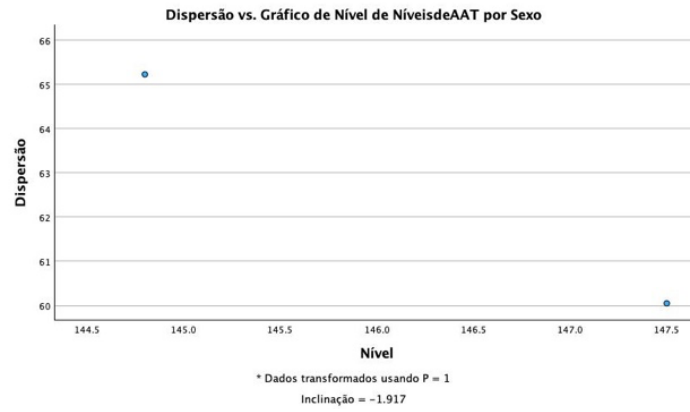
Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para Sexo= Masculino

Frequência	Raiz &	Folha
2.00	5 .	09
3.00	6 .	678
3.00	7 .	245
3.00	8 .	477
21.00	9 .	000123333444456677789
21.00	10 .	0001144444556677899999
31.00	11 .	0011122233344445556677789999
20.00	12 .	11122334455556677789
21.00	13 .	01123335555666777889
21.00	14 .	1133555667777888999
23.00	15 .	0022233445566677888999
28.00	16 .	000111223334455666677778899
27.00	17 .	1222333445556667778889999
28.00	18 .	00001112223334445566788889999
21.00	19 .	011222233445556677889

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para Sexo= Feminino

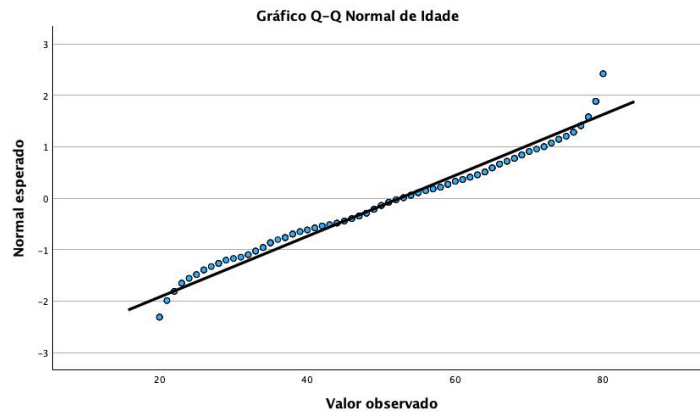
Frequência	Raiz &	Folha
1.00	5 .	7
1.00	6 .	8
2.00	7 .	55
1.00	8 .	7
7.00	9 .	3366899
12.00	10 .	011235677899
12.00	11 .	002233466799
8.00	12 .	00234466
9.00	13 .	223355679
8.00	14 .	24466889
8.00	15 .	02233789
8.00	16 .	14444555
10.00	17 .	0001778999
10.00	18 .	122455567
13.00	19 .	033555677799

**Figura A3:** Distribuição dos níveis séricos de AAT em gráficos de ramos e folhas por sexo (n=384)

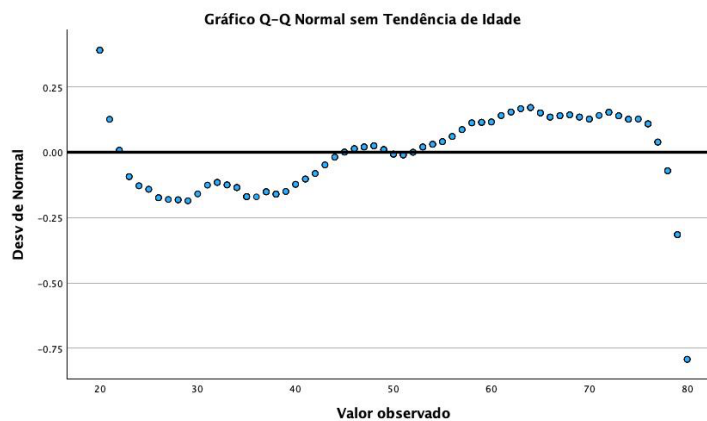


**Figura A4:** Gráfico de dispersão entre o nível médio e variabilidade dos níveis de AAT por sexo (n=384)

**Anexo B:** Idade (tratada como variável contínua)



**Figura B1:** Gráfico QQ normal dos níveis séricos de AAT por idade (n=384)



**Figura B2:** Distribuição dos níveis séricos de AAT em gráficos Q-Q sem tendência por idade (n=384)



Idade Gráfico de Ramos e Folhas

Frequência	Raiz &	Folha
24.00	2 .	0000000111222223333444
21.00	2 .	5555666667788888999
23.00	3 .	00112222233333444444
33.00	3 .	55555555556677777788888889999
22.00	4 .	00001111122223334444
43.00	4 .	55555666666777777888888899999999999
39.00	5 .	000000001111111122222333334444444
34.00	5 .	5555566666777778888899999999999
33.00	6 .	000001111222222333344444444444
39.00	6 .	555555555666666777788888889999999
28.00	7 .	00000001122222233333444444
40.00	7 .	555666666677777788888889999999999
5.00	8 .	00000

Largura do ramo: 10.00  
Cada folha: 1 caso(s)

Figura B3: Distribuição dos níveis séricos de AAT em gráficos de ramos e folhas por idade (n=384)

### Anexo B: Idade (categorizada em grupos etários)

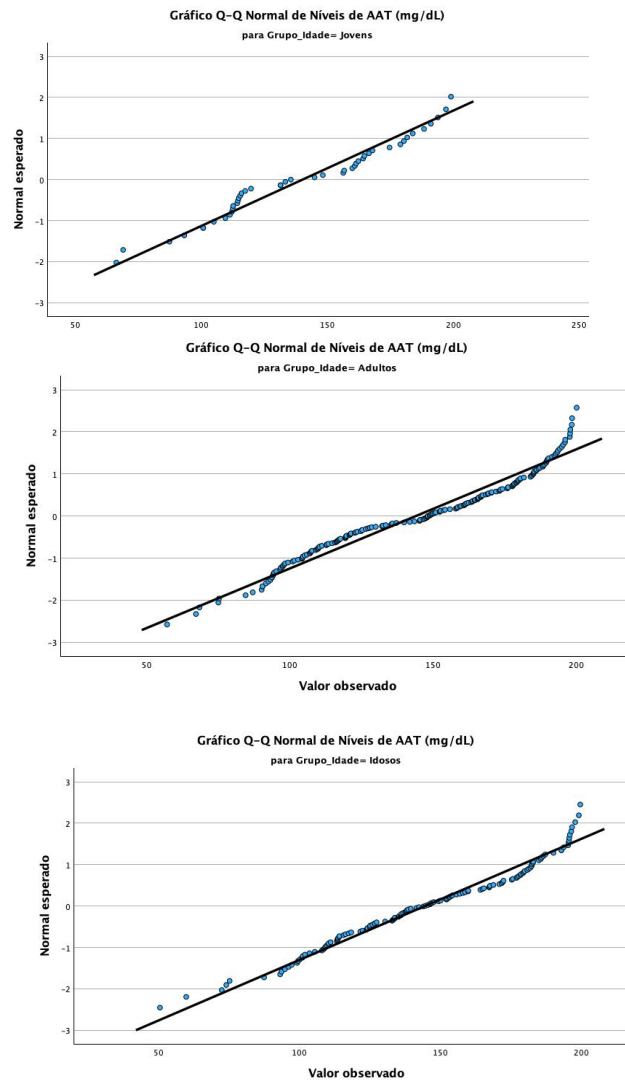
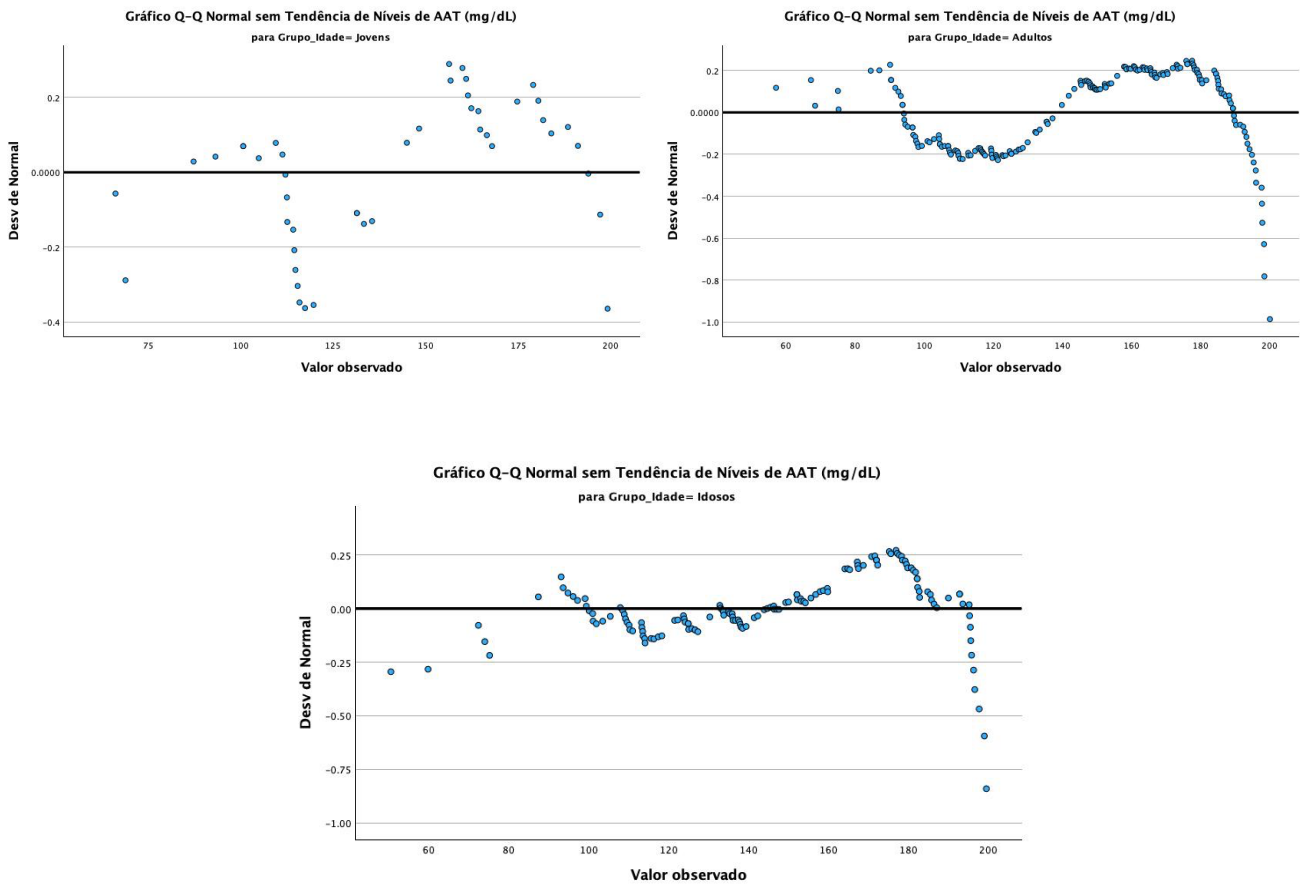


Figura B4: Gráficos QQ dos níveis séricos de AAT por grupo etário (n=384)



**Figura B5:** Distribuição dos níveis séricos de AAT em gráficos QQ sem tendência por grupo etário (n=384)

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para Grupo_Idade= Idosos			Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para Grupo_Idade= Adultos		
Frequência	Raiz &	Folha	Frequência	Raiz &	Folha
2.00	5 .	09	1.00	5 .	7
.00	6 .		2.00	6 .	78
3.00	7 .	245	2.00	7 .	55
1.00	8 .	7	2.00	8 .	47
7.00	9 .	3346799	20.00	9 .	00012333444566677889
11.00	10 .	01113578899	18.00	10 .	012444455667779999
13.00	11 .	0013333445678	19.00	11 .	0012234566677799999
12.00	12 .	1233444556667	16.00	12 .	00112234555667789
18.00	13 .	023333555666777889	8.00	13 .	2235579
10.00	14 .	1234566779	17.00	14 .	13555677778888999
14.00	15 .	022233344567899	14.00	15 .	002223457888999
7.00	16 .	4457778	16 .	001112333445556667899	
15.00	17 .	012225567788999	20.00	17 .	001333456667788899999
13.00	18 .	0112222245567	21.00	18 .	0013444555566788899999
14.00	19 .	0223555566799	16.00	19 .	01223344556677788
			1.00	20 .	0
Largura do ramo:	10.00		Largura do ramo:	10.00	
Cada folha:	1 caso(s)		Cada folha:	1 caso(s)	

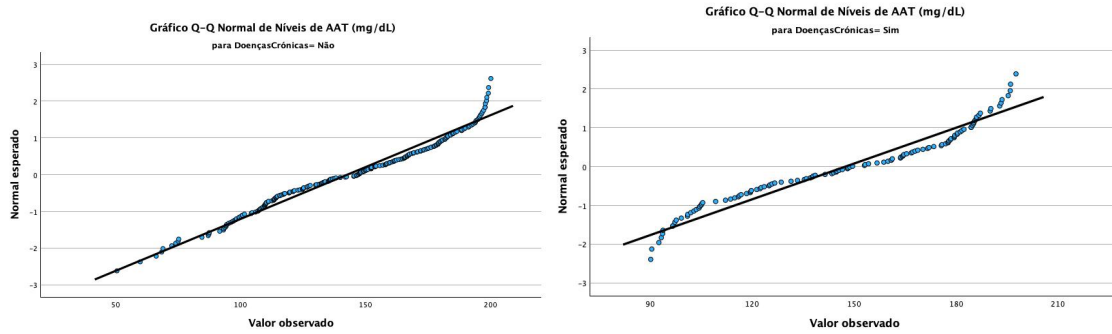
  

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para Grupo_Idade= Jovens		
Frequência	Raiz &	Folha
2.00	0 .	66
2.00	0 .	89
15.00	1 .	00001111111111111111
4.00	1 .	3333
5.00	1 .	44555
9.00	1 .	666666677
8.00	1 .	88889999
Largura do ramo:	100.00	
Cada folha:	1 caso(s)	

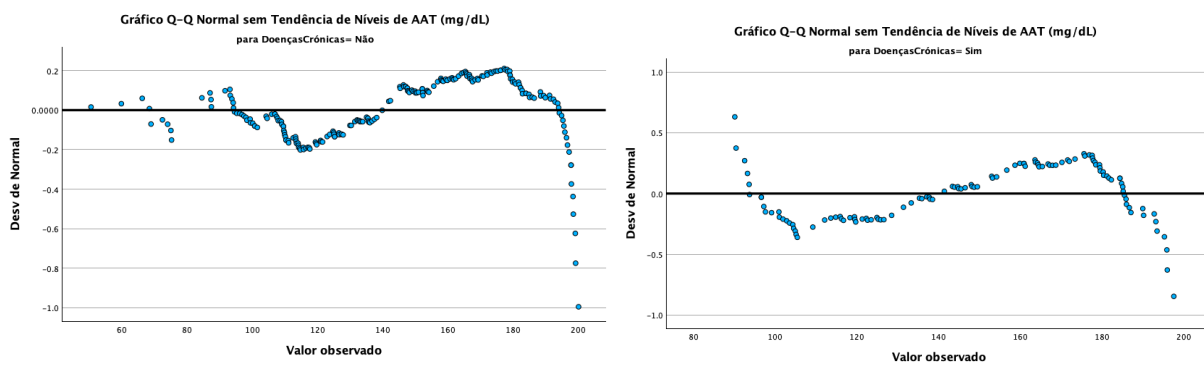
**Figura B6:** Distribuição dos níveis séricos de AAT em gráficos de ramos e folhas por grupo etário (n=384)



## Anexo C: Doenças Crónicas



**Figura C1:** Gráfico Q-Q dos níveis séricos de AAT em relação à presença de doenças crónicas (n=384)



**Figura C2:** Distribuição dos Níveis Séricos de AAT em gráficos Q-Q sem tendência em relação à presença de doenças crónicas (n=384)

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para DoençasCrónicas= Não

Frequência	Raiz & Folha
2.00	5 . 09
3.00	6 . 688
4.00	7 . 2455
4.00	8 . 4777
15.00	9 . 133344456678899
20.00	10 . 00014456677788999999
24.00	11 . 000112333344444556777999
16.00	12 . 0112344555667779
18.00	13 . 01222333555566789
17.00	14 . 1255667777788999
20.00	15 . 0002222334567788999
21.00	16 . 011123445555666777899
21.00	17 . 001233445667788899999
18.00	18 . 001122223345568899
21.00	19 . 11223344555667778899
1.00	20 . 0

Largura do ramo: 10.00  
Cada folha: 1 caso(s)

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para DoençasCrónicas= Sim

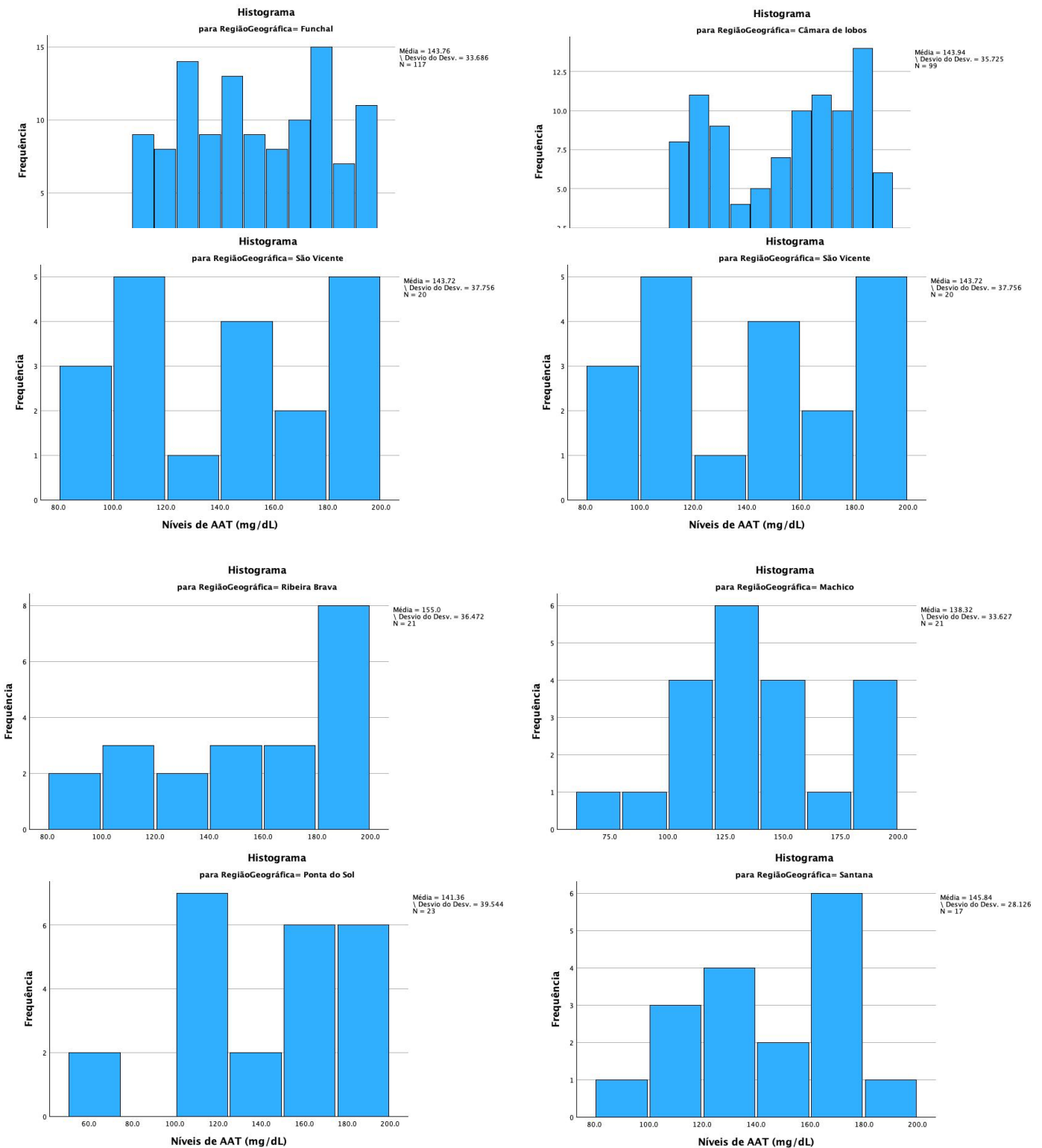
Frequência	Raiz & Folha
11.00	9 . 00233366779
11.00	10 . 01123444559
10.00	11 . 2345668999
9.00	12 . 122345568
8.00	13 . 1355778
11.00	14 . 13344568889
6.00	15 . 334689
13.00	16 . 0013344456778
15.00	17 . 012355677788999
15.00	18 . 00112444555667
9.00	19 . 002335567

Largura do ramo: 10.00  
Cada folha: 1 caso(s)

**Figura C3:** Distribuição dos níveis séricos de AAT em gráficos de ramos e folhas em relação à presença de doenças crónicas (n=384)



## Anexo D: Região Geográfica (distribuída pelos dez conselhos)



**Figura D1:** Histogramas da distribuição dos níveis séricos de AAT por região geográfica (n=384) (Funchal, Câmara de Lobos, São Vicente, Porto Moniz, Ribeira Brava, Machico, Ponta do Sol, Santana)



Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= Funchal

Frequência	Raiz & Folha
1.00	6 . 8
2.00	7 . 25
1.00	8 . 4
9.00	9 . 044667789
8.00	10 . 15777999
14.00	11 . 00111234556667
9.00	12 . 234445679
13.00	13 . 1223356677789
9.00	14 . 113778899
8.00	15 . 23334779
10.00	16 . 014555667
15.00	17 . 012445688889999
7.00	18 . 0455689
11.00	19 . 03556677799

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= Câmara de lobos

Frequência	Raiz & Folha
1.00	0 . 5
3.00	0 . 677
8.00	0 . 99999999
20.00	1 . 00000000000111111111
9.00	1 . 222233333
17.00	1 . 4444444555555555
21.00	1 . 666666666677777777
20.00	1 . 888888888888899999
Largura do ramo: 100.0	
Cada folha: 1 caso(s)	

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= São Vicente

Frequência	Raiz & Folha
3.00	0 . 999
9.00	1 . 001112444
8.00	1 . 57788999
Largura do ramo: 100.0	
Cada folha: 1 caso(s)	

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= Porto Moniz

Frequência	Raiz & Folha
2.00	0 . 89
6.00	1 . 011124
10.00	1 . 566788899
Largura do ramo: 100.0	
Cada folha: 1 caso(s)	

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= Calheta

Frequência	Raiz & Folha
2.00	0 . 67
5.00	0 . 88999
4.00	1 . 1111
5.00	1 . 22223
3.00	1 . 455
3.00	1 . 667
5.00	1 . 88899
Largura do ramo: 100.0	
Cada folha: 1 caso(s)	

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= Ribeira Brava

Frequência	Raiz & Folha
2.00	0 . 99
7.00	1 . 0002344
12.00	1 . 56788899999
Largura do ramo: 100.0	
Cada folha: 1 caso(s)	

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= Machico

Frequência	Raiz & Folha
2.00	0 . 69
12.00	1 . 001122233344
7.00	1 . 5568899
Largura do ramo: 100.0	
Cada folha: 1 caso(s)	

Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= Ponta do Sol

Frequência	Raiz & Folha
2.00	0 . 55
9.00	1 . 00111222
12.00	1 . 566666778899
Largura do ramo: 100.0	
Cada folha: 1 caso(s)	

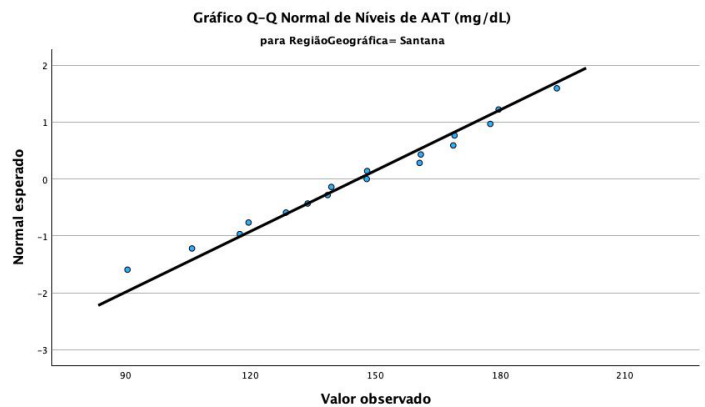
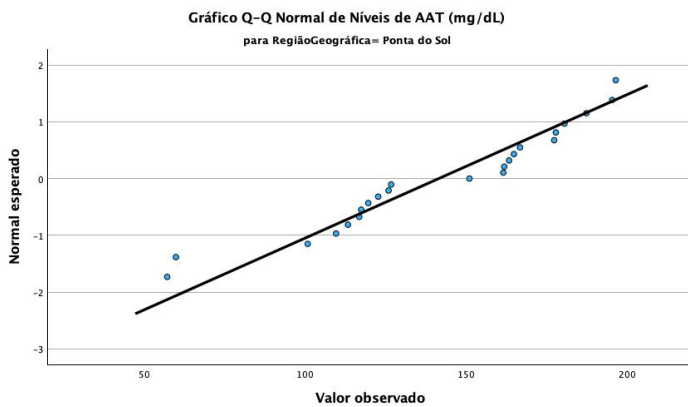
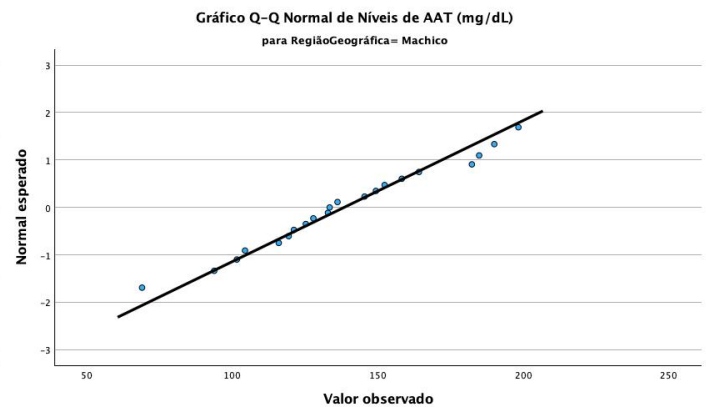
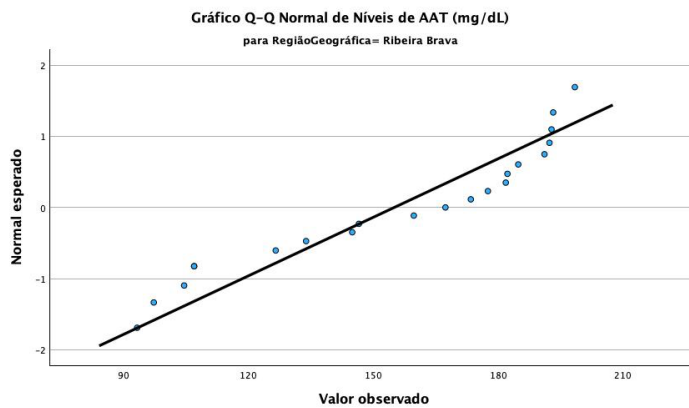
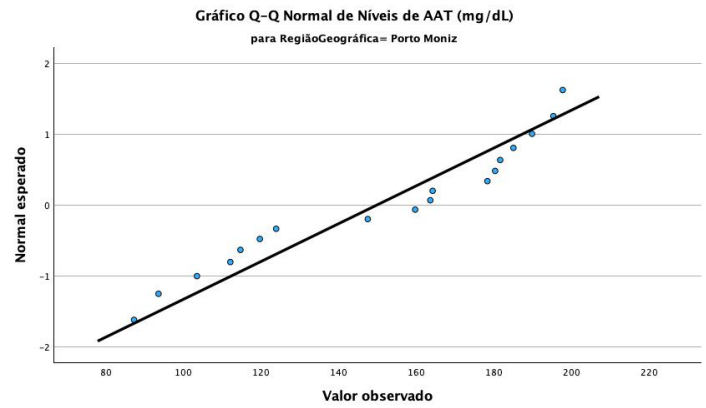
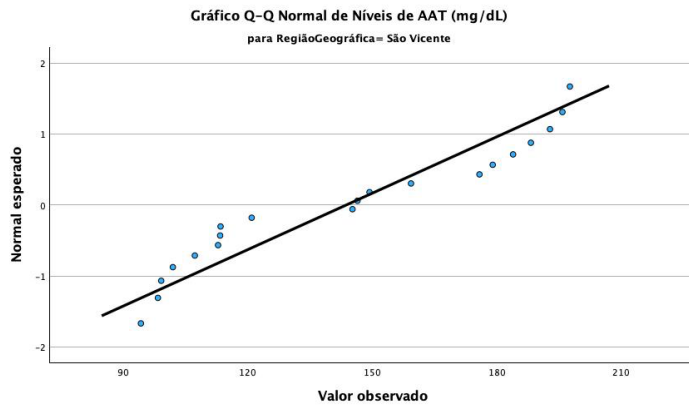
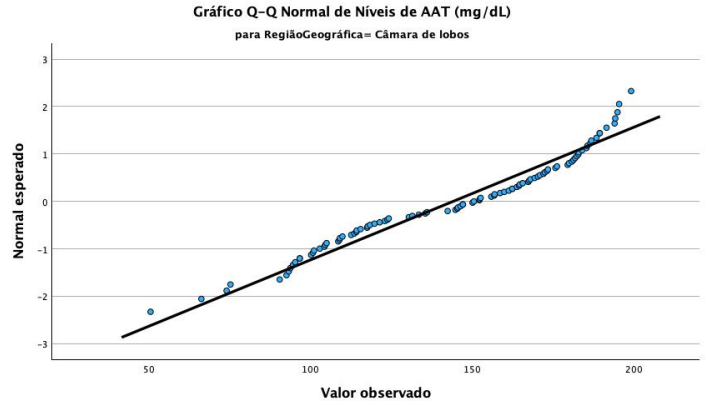
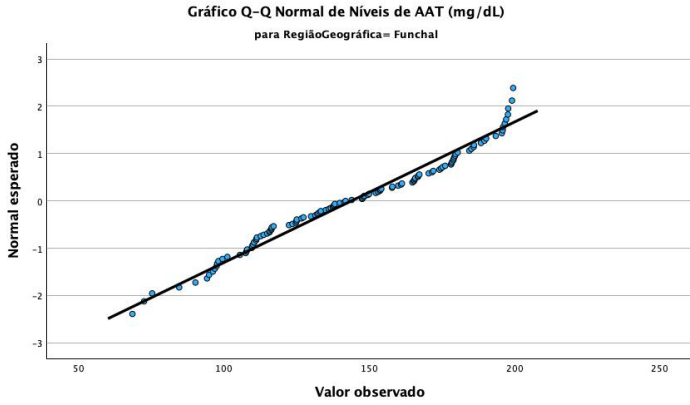
Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= Santana

Frequência	Raiz & Folha
1.00	0 . 9
9.00	1 . 011233344
7.00	1 . 6666779
Largura do ramo: 100.0	
Cada folha: 1 caso(s)	

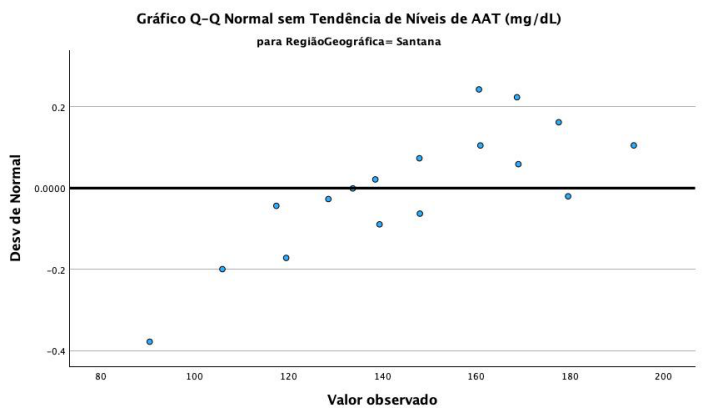
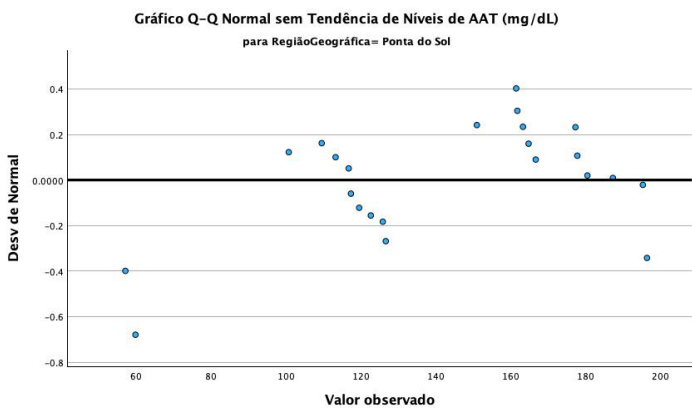
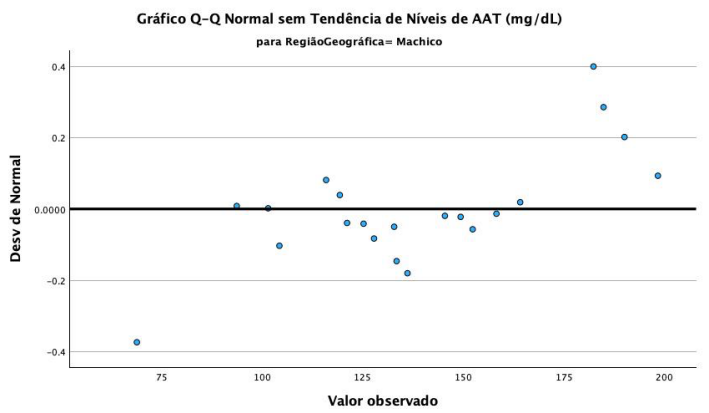
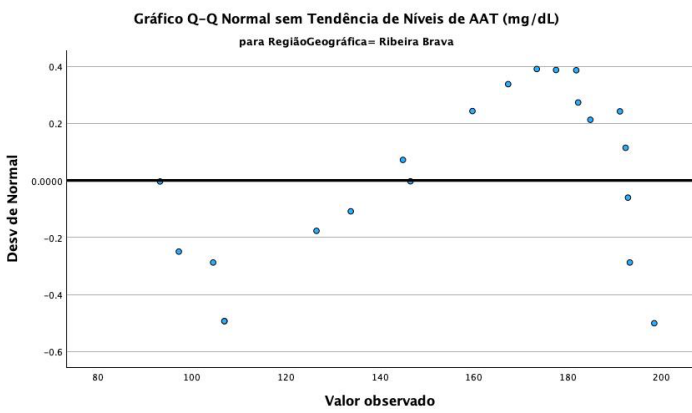
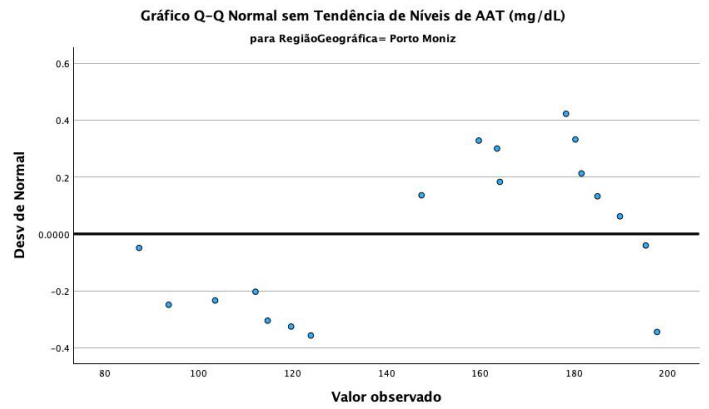
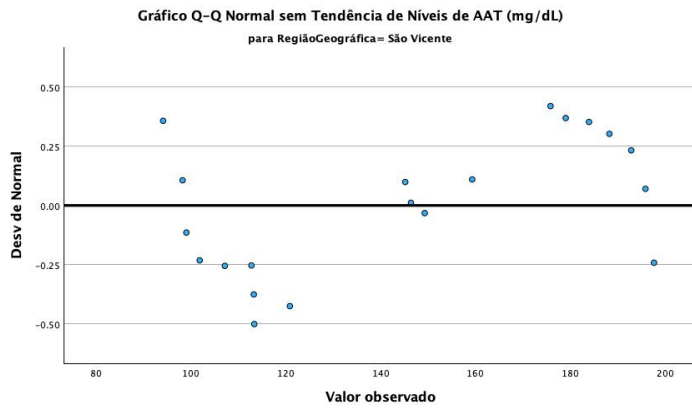
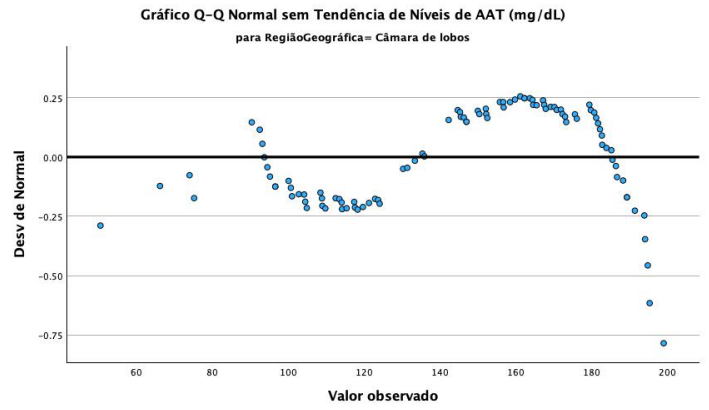
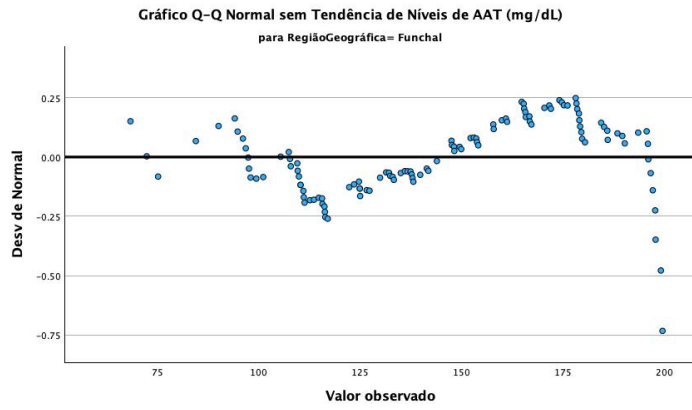
Níveis de AAT (mg/dL) Gráfico de ramos e folhas para RegiãoGeográfica= Santa Cruz

Frequência	Raiz & Folha
12.00	1 . 000112333344
8.00	1 . 5555778
1.00	2 . 0
Largura do ramo: 100.0	

**Figura D2:** Distribuição dos níveis séricos de AAT em gráficos de ramos e folhas em relação à região geográfica (n=384) (Funchal, Câmara de Lobos, São Vicente, Porto Moniz, Calheta, Ribeira Brava, Machico, Ponta do Sol, Santa Cruz, Santana)

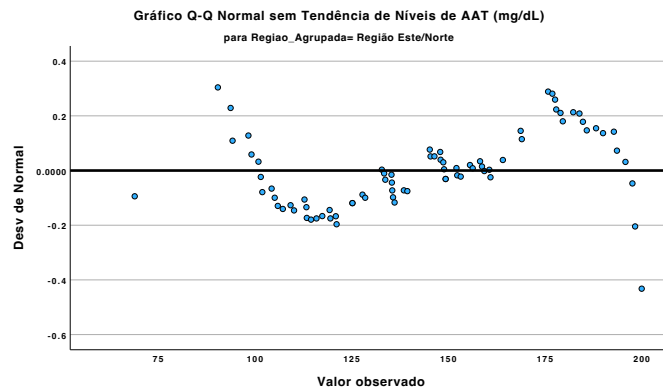
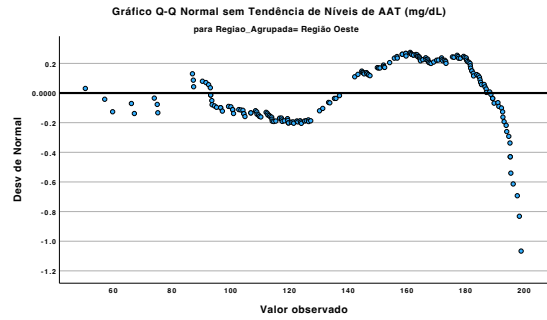
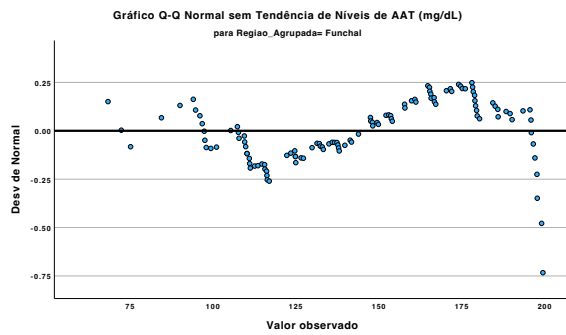


**Figura D3:** Gráficos Q-Q da distribuição dos níveis séricos de AAT por região geográfica (n=384)  
(Funchal, Câmara de Lobos, São Vicente, Porto Moniz, Ribeira Brava, Machico, Ponta do Sol, Santana)



**Figura D4:** Gráficos Q-Q sem tendência da distribuição dos níveis séricos de AAT por região geográfica (n=384) (Funchal, Câmara de Lobos, São Vicente, Porto Moniz, Ribeira Brava, Machico, Ponta do Sol, Santana)





**Figura D7:** Gráficos Q-Q sem tendência da distribuição dos níveis séricos de AAT por região geográfica recodificada (n=384)

**Anexo E:** Cálculo da prevalência de indivíduos com níveis de AAT abaixo de 90 mg/dL e Intervalo de Confiança a 95%

<p>A prevalência foi calculada com base na seguinte fórmula:</p>	$\hat{p} = \frac{x}{n}$ $\hat{p} = \frac{16}{384} = 0,0417 \quad (\text{ou } 4,2\%)$	<p>x=16 (número de indivíduos com AAT &lt; 90 mg/dL)</p> <p>n=384 (número total da amostra)</p>
<p>O intervalo de confiança a 95% para a proporção foi calculado com a seguinte fórmula:</p>	$IC = \hat{p} \pm Z \times \sqrt{\frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{n}}$ $EP = \sqrt{\frac{0,0417 \times (1 - 0,0417)}{384}} = \sqrt{\frac{0,03992}{384}} = \sqrt{0,000104} \approx 0,0102$ $IC = 0,0417 \pm 1,96 \times 0,0102 = 0,0417 \pm 0,02$	<p>p̂=0,0417</p> <p>Z=1,96Z (nível de confiança de 95%)</p> <p>n=384</p> <p>Limite inferior: 4,2%-2,0%=2,2% 4,2%-2,0%=2,2%</p> <p>Limite superior: 4,2%+2,0%=6,2% 4,2%+2,0%=6,2%</p>

**P.PORTO**

ESCOLA  
SUPERIOR  
DE SAÚDE



**M**

**MESTRADO**  
DESIGNAÇÃO DO MESTRADO