

## Importancia del diagnóstico genético en las inmunodeficiencias combinadas graves

### The importance of genetic diagnosis in severe combined immunodeficiencies

Alma Geovanna Saucedo-Aparicio,<sup>1</sup> Sara Elva Espinosa-Padilla,<sup>2</sup> Federico López-Jasso,<sup>3</sup> Dra. Rocío Meza Velázquez,<sup>4</sup> Diana Alejandra Rivera-Lizárraga,<sup>5</sup> Juan Carlos Bustamante-Ogando<sup>6</sup>

#### Resumen

Existen más de 300 inmunodeficiencias primarias causadas por defectos en el sistema inmunitario; entre estas existe un grupo que incluye anomalías en la inmunidad adaptativa celular y humoral, conocidas como inmunodeficiencias combinadas graves. Su diagnóstico es urgente debido a la alta mortalidad sin tratamiento. Las mutaciones en distintos genes pueden causar inmunodeficiencias combinadas graves, con manifestaciones clínicas similares, pero diferente reacción a los tratamientos, por lo que es importante conocer el diagnóstico genético certero. Aproximadamente 70% de los pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves de Latinoamérica no cuenta con un diagnóstico genético; por tanto, la atención ofrecida a estos pacientes y su familia puede ser subóptima.

El propósito de este artículo es exponer las opciones actuales para el diagnóstico genético de las inmunodeficiencias combinadas graves, discutir sus ventajas y limitaciones, así como los principales retos en nuestro medio. Si bien ha habido avances importantes en los últimos años, es necesario hacer aún más accesibles las herramientas necesarias para el diagnóstico genético de las inmunodeficiencias combinadas graves y otras enfermedades genéticas en nuestro medio, además de incrementar el conocimiento en dichas herramientas entre los médicos de primer contacto, principalmente los pediatras. El diagnóstico genético no debe considerarse un lujo o una herramienta meramente de investigación, sino una opción clínica que permitirá mejorar la atención de los pacientes y sus familias a futuro.

El diagnóstico genético representa una herramienta efectiva para mejorar la atención de los pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves.

**PALABRAS CLAVE:** Inmunodeficiencias primarias; inmunodeficiencias combinadas graves; diagnóstico genético; asesoramiento genético.

#### Abstract

There are more than 300 primary immunodeficiencies caused by genetic defects in the immune system. Among them, there is a group known as severe combined immunodeficiency, causing abnormalities in both cellular and humoral adaptive immunity. Severe combined immunodeficiency is a medical emergency due to the high mortality without treatment. Mutations in different genes can cause severe combined immunodeficiency, with similar clinical features. Obtaining a specific genetic diagnosis offers advantages for clinical care and research. Approximately 70% of patients with severe combined immunodeficiency in Latin America do not have a confirmed genetic diagnosis; therefore, the clinical care for these patients may be suboptimal. The purpose of this paper is to review and present current options for the genetic diagnosis of severe combined immunodeficiency and to discuss advantages, limitations, and challenges

<sup>1</sup> Pasante de Servicio Social, Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias, Instituto Nacional de Pediatría.

<sup>2</sup> Jefa de la Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias Primarias, Instituto Nacional de Pediatría.

<sup>3</sup> Jefe de Laboratorio, Hospital Sanatorio Español, Torreón, Coahuila.

<sup>4</sup> Departamento de Investigación de Facultad de Medicina de Gómez Palacio, Durango.

<sup>5</sup> Médico residente de pediatría, Instituto Nacional de Pediatría.

<sup>6</sup> Adscrito a la Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias Primarias, Instituto Nacional de Pediatría.

**Recibido:** 8 de agosto 2017

**Aceptado:** 11 de junio 2019

#### Correspondencia

Dr. Juan Carlos Bustamante Ogando  
drbustamante\_inp@hotmail.com

#### Este artículo debe citarse como

Saucedo-Aparicio AG, Espinosa-Padilla SE, Bustamante-Ogando JC, López-Jasso F, Rivera-Lizárraga DA. Importancia del diagnóstico genético en las inmunodeficiencias combinadas graves. Acta Pediatr Mex. 2109;40(4):234-251.



of improving genetic diagnosis. Although there have been significant improvements in recent years, it is necessary to make more accessible the sequencing tools for genetic diagnosis of severe combined immunodeficiency in Mexico and Latin America, in addition to increase knowledge about these tools among primary care physicians, mainly pediatricians. Genetic diagnosis should not be considered a luxury or merely useful for research, but as a clinical tool that may improve the care of patients with severe combined immunodeficiencies and their families.

## ANTECEDENTES

Existen más de 300 tipos de inmunodeficiencias primarias causadas por defectos genéticos que afectan diferentes componentes del sistema inmunitario.<sup>1</sup> Entre estas alteraciones se encuentran las “inmunodeficiencias combinadas graves”, que incluyen defectos genéticos causantes de anomalías en el número y función de los linfocitos T, incluso afectan diferentes fases de su maduración y activación, con o sin deficiencia de los linfocitos B y, en ocasiones, disminución o ausencia de células asesinas naturales. Las inmunodeficiencias combinadas graves afectan gravemente la respuesta inmunitaria adaptativa celular y humoral, y representan el tipo más grave de inmunodeficiencias primarias, con una mortalidad cercana a 100% durante el primer año de vida sin tratamiento.<sup>2-6</sup> En la última clasificación de las inmunodeficiencias primarias, publicada en 2017, se reconocen 19 genes causantes de inmunodeficiencias combinadas graves.<sup>3</sup> **Cuadro 1**

Desde el punto de vista fisiopatológico, las inmunodeficiencias combinadas graves pueden dividirse, funcionalmente, en 11 grupos de acuerdo con el defecto molecular y su repercusión en los linfocitos T.<sup>4-6</sup> **Figura 1**

El incremento del conocimiento de estas enfermedades y de la sospecha diagnóstica de las inmunodeficiencias combinadas graves es decisivo para mejorar el pronóstico y supervivencia

de los pacientes, pues sin tratamiento adecuado y oportuno más de 90% puede fallecer antes de cumplir el primer año de vida.<sup>6,7</sup>

## Detección de inmunodeficiencias combinadas graves

Para considerar la posibilidad diagnóstica de las inmunodeficiencias combinadas graves se requiere reunir una serie de características, que se buscan de manera intencionada en la anamnesis y en estudios de laboratorio y gabinete.

El cuadro clínico de inmunodeficiencia combinada grave se inicia durante los primeros meses de vida y se caracteriza por infecciones graves de repetición, causadas por gérmenes oportunistas, diarrea crónica y falla de medro.<sup>2,6,8-10</sup> Respecto de la historia clínica del paciente, es importante la búsqueda de antecedentes heredofamiliares, enfocados en el interrogatorio de muertes en menores de un año de vida, sobre todo si se relacionan con algún proceso infeccioso; otro dato importante es conocer si es que hubo complicaciones con vacunas de virus o bacterias atenuadas, en especial BCG (BCGitis o BCGosis)<sup>8,9</sup> y antecedente de infecciones recurrentes por gérmenes oportunistas. En la mayoría de los casos el examen físico revela la ausencia de tejido linfoide (amígdalas, ganglios linfáticos) y las radiografías de tórax no muestran sombra tímica, aunque es importante recalcar que la coexistencia de timo no descarta el diagnóstico de la enfermedad.<sup>6,10</sup>

**Cuadro 1.** Defectos genéticos causantes de inmunodeficiencias combinadas graves (Clasificación IUIS, 2017).<sup>3</sup> (Continúa en la siguiente página)

Genes y proteínas implicadas según la manifestación de la enfermedad con OMIM	Efectos patológicos y manifestación de la enfermedad	Información adicional del gen implicado
S. Gen: <i>IL2RG</i> Sinónimo: <i>CD132</i> Pi: Subunidad común gamma del receptor de interleucinas. ( $\gamma c$ ) H: <i>LX (IDCG-X)</i> Fenotipo OMIM: # 300400	Defecto en la cadena común gamma del receptor de citosinas interfiere en la señalización de IL (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 y IL-21). Causa defecto en la proliferación y desarrollo de células T y NK, con subsecuente apoptosis. <b>Características de los linfocitos:</b> T- B+ NK-	Locus: Xq13.1 Tamaño: 4705 Pb Aa: 369 Da: 42287 Núm. Exones: 8
S. Gen: <i>JAK3</i> Sinónimo: <i>LJAK</i> Pi: Proteína quinasa Janus 3 H: AR Fenotipo OMIM: # 600802	Defecto en el gen que codifica la proteína JAK3, (asociada con la $\gamma c$ del receptor de citosinas) esto interfiere en la señalización de IL. Cursa muy parecido a la deficiencia de $\gamma c$ . <b>Características de los linfocitos:</b> T- B+ NK-	Locus: 19p13.11 Tamaño: 23,292 Pb Aa: 1124 Da: 125099 Núm. Exones: 23
S. Gen: <i>IL7R</i> Sinónimo: <i>CD127</i> Pi: Subunidad alfa del receptor de interleucina-7 H: AR Fenotipo OMIM: # 608971	Defecto en la cadena y del receptor de IL-7, afecta el desarrollo y la proliferación de linfocitos T, B y NK, y se asocia con receptores del estroma linfopoyético tímico. <b>Características de los linfocitos:</b> T- B+, puede o no presentar células NK (casi siempre se las encuentra)	Locus: 5p13.2 Tamaño: 29,909 Pb Aa: 459 Da: 51581 Núm. Exones: 8
S. Gen: <i>PTPRC</i> Sinónimo: <i>LCA</i> Pi: Proteína Tirosina fosfatasa C tipo receptor. H: AR Fenotipo OMIM: # 608971	Esta mutación causa un defecto en CD45, requerido para la coactivación de las células T mediante los receptores de antígenos, actúan como regulador positivo. <b>Características de los linfocitos:</b> Linfó: T- B+ NK+	Locus: 1q31.3 Tamaño: 118,806 Pb Aa: 1304 Da: 147254 Núm. Exones: 34
S. Gen: <i>CD3D</i> Sinónimos: <i>CD3<math>\gamma</math></i> Pi: Cadena Delta de las Glicoproteína de superficie del complejo CD3 de células T. H: AR Fenotipo OMIM: # 615617	La mutación en este gen produce defecto o ausencia de CD3 $\gamma$ , interfiriendo en la transducción de señales del complejo CD3. <b>Características de los linfocitos:</b> T- B+ NK+	Locus: 11q23.3 Tamaño: 3,791 Pb Aa: 171 Da: 18930 Núm. Exones: 6
S. Gen: <i>CD3E</i> Sinónimos: <i>CD3<math>\gamma</math></i> Pi: Cadena Épsilon de las Glicoproteína de superficie del complejo CD3 de células T. H: AR Fenotipo OMIM: # 615615	La mutación en este gen produce defecto o ausencia de CD3 $\gamma$ , los defectos bloquean por completo el desarrollo de las células T, porque esta cadena juega un rol crítico en su desarrollo. <b>Características de Linfocitos:</b> T- B+ NK+	Locus: 11q23.3 Tamaño: 11,631 Pb Aa: 207 Da: 23147 Núm. Exones: 9

**Cuadro 1.** Defectos genéticos causantes de inmunodeficiencias combinadas graves (Clasificación IUIS, 2017).<sup>3</sup> (Continúa en la siguiente página)

Genes y proteínas implicadas según la manifestación de la enfermedad con OMIM	Efectos patológicos y manifestación de la enfermedad	Información adicional del gen implicado
<p>S. Gen: <i>ZAP70</i>                      Sinónimos: <i>STD</i>                      Pi: proteína tirosina cinasa ZAP-70                      H: AR                      Fenotipo OMIM: # 269840</p>	<p>La mutación en este gen produce defecto o ausencia de CD3 <math>\gamma</math>, crítico para la regulación de la motilidad, adhesión y expresión de citosinas de células T maduras. Además contribuye al desarrollo y activación de linfocitos B primarios.  <b>Características de los linfocitos:</b> T- B+ NK+</p>	<p>Locus: 2q11.2                      Tamaño: 30, 768 Pb                      Aa: 619                      Da: 69872                      Núm. Exones: 19</p>
<p>S. Gen: <i>CORO1A</i>                      Sinónimos: <i>Clapp TACO</i>                      Pi: Proteína Coronin- 1A                      H: AR                      Fenotipo OMIM: # 615401</p>	<p>La proteína Coronin-1 A es decisiva para mantener la homeostasis celular y para la señalización celular. Su mutación causa principalmente inestabilidad del citoesqueleto.  <b>Características de los linfocitos:</b> T- B+ NK+</p>	<p>Locus: 16p11.2                      Tamaño: 6,250 Pb                      Aa:461                      Da:51026                      Núm. Exones: 12</p>
<p>S. Gen: <i>RAG1</i>                      Sinónimos: <i>RNF74</i>                      Pi: Proteína 1 activadora de recombinación V (D) J                      H: AR                      Fenotipo OMIM: # 233650</p>	<p>Se relaciona con la activación de la recombinación V-D-J de Ig para llevar a cabo el reconocimiento de antígenos. Su defecto causa problemas inmunológicos celulares-humorales graves y se asocia con granulomas.  <b>Características de los linfocitos:</b> T- B- NK+</p>	<p>Locus: 11p13                      Tamaño: 82,757 Pb                      Aa: 1043                      Da: 119097                      Núm. Exones: 4</p>
<p>S. Gen: <i>RAG2</i>                      Sinónimos: -                      Pi: Proteína 2 activadora de recombinación V(D)J                      H: AR                      Fenotipo OMIM: # 233650</p>	<p>Esta proteína está relacionada con la activación de la recombinación V-D-J al igual que RAG-1, pues son un complejo proteico asociado con granulomas.  <b>Características de los linfocitos:</b> T- B- NK+</p>	<p>Locus: 11p13                      Tamaño: 22,706 Pb                      Aa: 527                      Da: 59241                      Núm. Exones: 3</p>
<p>S. Gen: <i>DCIURE1C</i>                      Sinónimos: <i>Artemis</i>                      Pi: Proteína Artemisa                      H: AR                      Fenotipo OMIM: # 602450</p>	<p>Participa en la regulación del ciclo celular en respuesta al daño del ADN. Esta deficiencia incrementa la radiosensibilidad de células T y B volviéndolas inestables.  <b>Características de los linfocitos:</b> T- B- NK+, RS-IDCC</p>	<p>Locus: 10p13                      Tamaño: 57,074 Pb                      Aa: 692                      Da: 78436                      Núm. Exones: 20</p>
<p>S. Gen: <i>PRKDC</i>                      Sinónimos: <i>DNAPK</i>                      Pi: Subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de DNA.                      H: AR                      Fenotipo OMIM: # 615966</p>	<p>Promueve la transformación de las estructuras de ADN en horquilla en V (D) J por activación de endonucleasas de Artemisa, necesaria para proteger y alinear extremos rotos de ADN. Su ausencia total es causante de dismorfias, microcefalia y atrofia cerebral.  <b>Características de los linfocitos:</b> T- B- NK+ , RS-IDCC</p>	<p>Locus:8q11.21                      Tamaño: 187,076 Pb                      Aa:4128                      Da: 469089                      Núm. Exones: 86</p>

Cuadro 1. Defectos genéticos causantes de inmunodeficiencias combinadas graves (Clasificación IUIS, 2017).<sup>3</sup> (Continuación)

Genes y proteínas implicadas según la manifestación de la enfermedad con OMIM	Efectos patológicos y manifestación de la enfermedad	Información adicional del gen implicado
S. Gen: <i>NHE1</i> Sinónimos: <i>Cernunnos</i> Pi: Proteína 1 factor de unión final no homólogo. Hi: AR Fenotipo OMIM: # 611291	Funciona también como un factor reparador de ADN y es decisivo para la vía no homóloga de unión final, que preferentemente interviene en la reparación de roturas de doble hebra. Se asocia con microcefalia. <b>Características de los linfocitos:</b> T- B- NK+, RS- IDCC	Locus: 2q35 Tamaño: 85,549 Pb Aa: 299 Da: 33337 Núm. Exones: 8
S. Gen: <i>LIG4</i> Sinónimos: <i>Enzima reparadora de ADN</i> Pi: Ligasa IV del ADN Hi: AR Fenotipo OMIM: # 602450	Es una proteína esencial para la recombinación de V (D) J, dependiente de ATP. Los pacientes muestran inusuales rasgos faciales y pancitopenias. Se relaciona también con microcefalia y defectos en el desarrollo. <b>Características de los linfocitos:</b> T- B- NK+, RS- IDCC	Locus: 13q33.3 Tamaño: 10,930 Pb Aa: 911 Da: 103971 Núm. Exones: 5
S. Gen: <i>AK2</i> Sinónimos: - Pi: Adenilato cinasa 2 mitocondrial. Hi: AR Fenotipo OMIM: # 267500	Participa en la regulación y síntesis de adenina. Es una forma de inmunodeficiencia combinada grave. Caracterizada por la ausencia de granulocitos, y ausencia casi total de linfocitos en sangre periférica, la enfermedad causada por esta mutación es también conocida como disgenesia reticular, (RDYS, por sus siglas en inglés) la forma más grave de IDCC. <b>Características de los linfocitos:</b> T- B- NK-, neutropenias graves.	Locus: 1p35.1 Tamaño: 73057 Pb Aa: 239 Da: 26478 Núm. Exones: 9
S. Gen: <i>ADA</i> Sinónimos: - Pi: Adenosin desaminasa Hi: AR/ mosaicismo somático. Fenotipo OMIM: # 102700	Esta enzima cataliza la hidrólisis de adenosina y desoxiadenosina-2 a inosina, importante en el metabolismo de purinas, su interacción con DPP4 regula la adhesión celular de linfocitos epiteliales. Su deficiencia causa apoptosis celular y falla en la diferenciación de linfocitos al acumular metabolitos y derivados linfotóxicos. <b>Características de los linfocitos:</b> T-, B-, NK- (NK con tendencia a decremento progresivo).	Locus: 20q13.12 Tamaño: 32712 Pb Aa: 363 Da: 40764 Núm. Exones: 12

\***OMIM:** Código asignado a la enfermedad, según las reglas básicas de la Online Mendelian Inheritance in Man; \***Símbolo #:** Describe los fenotipos que normalmente están representados por más de un locus; \***S. Gen:** Símbolo de gen involucrado para la mutación; \***Pi:** Proteína involucrada \***H:** Tipo de herencia. Locus: Posición del gen en un cromosoma; \***Pb:** Pares de bases, \***Aa:** Aminoácidos; \***Da:** Daltons; \***RS-IDCC:** Inmunodeficiencia con radiosensibilidad.



**Figura 1.** Mecanismos celulares implicados en las inmunodeficiencias combinadas graves (IDCG).

En cuanto a los estudios de gabinete y laboratorio es útil la cuantificación de círculos de escisión de receptores de linfocitos T (TRECs), que están bajos o ausentes,<sup>11,12</sup> además de análisis inmunológicos: determinación de las concentraciones séricas de inmunoglobulinas (IgA, IgM, IgG, IgE), y conteo de linfocitos: LT CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, LB CD19+ y células NK CD16+/56+ (se adjuntan valores de referencia y se recomienda descargar la app gratuita **“PID classification”**, disponible para sistemas Android y Apple, donde se pueden visualizar rápidamente). **Cuadro 2 (2.1 y 2.2)**<sup>6,10</sup>

Con base en las poblaciones de linfocitos T, B y células NK en sangre periférica determinadas por citometría de flujo, puede clasificarse a los pacientes para establecer las anomalías genéticas más probables. A esto se le llama inmunofenotipo; por ejemplo, los pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves, con ausencia de linfocitos T, B y células NK se consideran con inmunofenotipo: T- B- NK-, y orienta principalmente a la posibilidad de deficiencia de

**Cuadro 2.** Valores de referencia para inmunoglobulinas y subpoblaciones de linfocitos por edad.

**2.1 Concentraciones normales de inmunoglobulinas (g/L)**

Edad	IgG	IgM	IgA
1-7 días	6.5-12.1	0.13-0.37	0.07-0.22
7-15 días	6.2-11.4	0.23-0.65	0.07-0.22
15-30 días	4.6-8.6	0.25-0.71	0.1-0.3
1-3 meses	2.9-5.5	0.3-0.85	0.2-0.62
3-6 meses	2.4-4.4	0.34-1.14	0.27-0.86
6-12 meses	2.4-4.4	0.34-1.14	0.27-0.86
1-3 años	3.4-6.2	0.48-1.43	0.33-1.22
3-5 años	4.8-9.0	0.54-1.53	0.41-1.41
5-7 años	5.5-10.2	0.54-1.53	0.46-1.5
7-9 años	5.8-10.8	0.54-1.53	0.49-1.57
9-12 años	6.2-11.5	0.55-1.55	0.5-1.7
12-15 años	6.6-12.2	0.57-1.62	0.56-2.03

\*\*\* Fuente: International Union of Immunological Societies (disponible en PID classification app).

Muchos laboratorios en México reportan las concentraciones de inmunoglobulinas séricas en mg/dL por lo que debe hacerse la conversión adecuada (ej. 5.5 g/L = 550 mg/dL, 0.34 g/L = 34 mg/dL).

adenosín-deaminasa (ADA). El **Cuadro 1** muestra el inmunofenotipo característico de cada tipo de inmunodeficiencia combinada grave.<sup>3,6</sup>

En pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves es común que la concentración de linfocitos totales esté por debajo de los valores normales, desde límites indetectables hasta 0.005 x 10<sup>6</sup> células/mm<sup>3</sup>; sin embargo, el hecho de no encontrar estos valores tan bajos no excluye el diagnóstico, pues algunos defectos genéticos pueden afectar la función de los linfocitos, sin afectar su cantidad.<sup>10,11</sup>

Es importante aumentar el conocimiento de este tipo de enfermedades, además de la sospecha diagnóstica de inmunodeficiencias combinadas graves entre los médicos de primer contacto, con la intención de establecer el diagnóstico

**Cuadro 2.2** Conteo normal de linfocitos por edad (cél/mm<sup>3</sup>)

Edad	Linfocitos Totales	LT CD3+	LT CD3+CD4+	LT CD3+CD8+	LB CD19+	NK CD16+/56+
0-3 meses	3400-7600	2500-5500	1600-4000	560-1700	300-2000	170-1100
3-6 meses	3900-9000	2500-5600	1800-4000	590-1600	430-3000	170-830
6-12 meses	3400-9000	1900-5900	1400-4300	500-1700	610-2600	160-950
1-2 años	3600-8900	2100-6200	1300-3400	620-2000	720-2600	180-920
2-6 años	2300-5400	1400-3700	700-2200	490-1300	390-1400	130-720
6-12 años	1900-3700	1200-2600	650-1500	370-1100	270-860	100-480
12-18 años	1400-3300	1000-2200	530-1300	330-920	110-570	70-480
Adultos	1400-3500	970-1730	500-950	400-820	50-240	90-350

Todo paciente menor de 2 años con menos de 3,000 linfocitos totales en la biometría hemática debe considerarse linfopénico y determinar las posibles causas.

oportuno y de esta forma mejorar el pronóstico y la supervivencia de los pacientes, pues se estima que más de 90% de quienes no reciben el tratamiento adecuado fallece en el primer año de vida.<sup>2,6</sup> Puesto que el diagnóstico clínico se establece tardíamente, incluso cuando aparecen infecciones y complicaciones asociadas, en los últimos años se ha desarrollado una prueba de tamizaje neonatal (medición de TRECs en sangre de talón) que permite identificar a los pacientes antes de iniciar con los síntomas y así mejorar el pronóstico.<sup>11,12</sup> Sin embargo, el tamizaje universal está limitado por diversas circunstancias.

Si bien el diagnóstico y tratamiento de las inmunodeficiencias combinadas graves en México y Latinoamérica se basa en el reconocimiento de las manifestaciones clínicas y realización de estudios inmunológicos, en los últimos años existe evidencia que respalda que el diagnóstico genético específico ofrece ventajas en el ámbito clínico, de investigación e inmunología básica.

El propósito de este estudio es exponer las opciones actuales para el diagnóstico genético de las inmunodeficiencias combinadas graves, discutir sus ventajas y limitaciones, así como los principales retos en nuestro medio.

### Importancia del diagnóstico genético para el tratamiento de las inmunodeficiencias combinadas graves

#### Secuenciación genética: ayer y hoy

El diagnóstico genético consiste en la identificación del defecto puntual (variantes genéticas) de alguna enfermedad, mediante la secuenciación del ADN de cada paciente y para ello existen distintas técnicas. En 1968, la automatización del método de Sanger para la secuenciación del ADN revolucionó la biología moderna, y desde entonces ha sido el patrón de referencia para establecer el diagnóstico genético.<sup>13,14</sup>

Hasta el año 2010, el diagnóstico molecular de las inmunodeficiencias combinadas graves incluía la sospecha clínica, seguida de estudios inmunológicos cuantitativos y funcionales, y por último la secuenciación por Sanger de un gen candidato, a veces en complemento con otras técnicas (estudios de citogenética, mapeo [*genetic linkage analysis*], entre otros).<sup>15</sup>

A partir de 2010 las técnicas de secuenciación de nueva generación han permitido importantes avances en la identificación y caracterización de

los genes causantes de diversas enfermedades, incluidas las inmunodeficiencias combinadas graves. Este tipo de tecnología utiliza una secuenciación en paralelo de múltiples fragmentos pequeños de ADN para determinar su secuencia. En comparación con la técnica de Sanger, la secuenciación de nueva generación permite secuenciar mayores cantidades de ADN en menor tiempo y a un costo significativamente menor.<sup>13-15</sup>

En la actualidad existen tres estrategias principales de secuenciación de nueva generación:

1. Secuenciación de panel de genes: en la que se obtiene la secuencia de una lista específica de genes previamente seleccionados (por ejemplo, todos los genes conocidos causantes de inmunodeficiencias combinadas graves). Esta es una opción atractiva cuando el fenotipo clínico e inmunológico es claramente sugerente de la enfermedad.

En casos donde el fenotipo clínico es atípico puede realizarse:

2. Secuenciación del exoma completo, es decir, de todas las regiones de ADN que codifican para formar proteínas (exones), donde se encuentra aproximadamente 85% de las variantes genéticas causantes de alguna enfermedad conocida en la actualidad.
3. Secuenciación del genoma completo, que incluye el análisis de exones e intrones.

La secuenciación del exoma y del genoma permiten identificar nuevos defectos genéticos en pacientes con fenotipos atípicos o clásicos, en quienes no se han encontrado variantes patogénicas en los genes previamente conocidos.<sup>15</sup>

Respecto de los costos del diagnóstico genético, se ha reportado una notable disminución

en años recientes, pues el costo de secuenciar por primera vez el genoma completo de un ser humano (proyecto del genoma humano) fue de aproximadamente 100 millones de dólares y llevó cerca de diez años; para 2013, el costo permanecía por debajo de 6,000 y actualmente se estima en alrededor de 1,121 dólares (**Cuadro 3**), respectivamente, con lo que puede obtenerse la secuencia de genoma completo en un tiempo aproximado de 6 horas.<sup>16</sup>

**Cuadro 3.** Costo del estudio de secuenciación (dólares) a través de los años

Fecha	Costo por megabase (dólares)	Costo por genoma (dólares)
Sep-01	5,292.39	95,263,072
Sep-02	3,413.80	61,448,422
Oct-03	2,230.98	40,157,554
Oct-07	397.09	7,147,571
Oct-08	3.81	342,502
Oct-09	0.78	70,333
Oct-13	0.06	5,096
Oct-14	0.06	5,731
Oct-15	0.014	1,245
Oct-16	0.015	1,356
Jul-17	0.012	1,121

Fuente: [www.genome.gov/sequencingcostsdata](http://www.genome.gov/sequencingcostsdata)

### **Utilidad del diagnóstico genético en pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves**

Establecer el diagnóstico genético en pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves tiene importancia en la práctica clínica y en el campo de la investigación. En cuanto a esta última, establecer el diagnóstico preciso permite conocer la base genética de las enfermedades congénitas y las inmunodeficiencias combinadas graves, además de entender los mecanismos etiopatogénicos de la enfermedad, establecer relaciones entre fenotipo-genotipo y avanzar en

el conocimiento de las funciones biológicas normales de ciertos genes y moléculas para las que codifican. Por ejemplo, en 2016 se describieron mutaciones en la molécula LAT (Linker for activation of T-cells) como una nueva causa genética de inmunodeficiencia combinada grave. Dos grupos independientes de investigadores reportaron el defecto genético en LAT mediante distintas metodologías. Keller y su grupo reportaron tres hermanos de una familia árabe consanguínea con infecciones graves y autoinmunidad en el primer año de vida, en quienes identificaron el defecto genético mediante secuenciación del exoma completo.<sup>17</sup> Bacchelli y sus colaboradores describieron cinco pacientes con fenotipo de inmunodeficiencia combinada grave en una familia consanguínea de Pakistán, en quienes realizaron estudios genéticos mediante arreglos de SNP (*single nucleotide polymorphism*), con posterior análisis de haplotipo y mapeo para homocigocidad y localizaron la molécula LAT como potencial gen candidato; posteriormente comprobaron, mediante secuenciación por Sanger, la variante genética causal.<sup>18</sup> Ambos grupos realizaron estudios bioquímicos y funcionales, y demostraron el efecto deletéreo de las mutaciones identificadas en el funcionamiento de la proteína LAT. Desde el punto de vista clínico se evidencia la importancia de los estudios genéticos para establecer el diagnóstico preciso de pacientes con fenotipos complejos, y desde el punto de vista básico muestra la generación de nuevos conocimientos de las funciones no conocidas de la molécula LAT, ampliando el entendimiento de la señalización y desarrollo de linfocitos T en humanos y ratones.

Otra ventaja de conocer el diagnóstico genético en inmunodeficiencias combinadas graves consiste en establecer la relación fenotipo-genotipo, que puede ejemplificarse con las variantes patogénicas en los genes *RAG1/RAG2* (genes activadores de la recombinación) que codifican para proteínas iniciadoras del proceso de recombinación VDJ para generar diversos receptores en

linfocitos T y B. Se ha demostrado que distintas variantes genéticas patogénicas en los genes *RAG1/RAG2* resultan en diferentes fenotipos clínicos de inmunodeficiencias primarias, que varían desde inmunodeficiencias combinadas graves clásicas hasta defectos con manifestación clínica tardía, con formación de granulomas, autoinmunidad o ambos. Lee y su grupo de trabajo estudiaron la actividad de recombinasas para proteínas RAG con 79 variantes genéticas patogénicas diferentes y demostraron una correlación entre las variantes, el porcentaje de actividad proteica y la gravedad de las manifestaciones clínicas e inmunológicas, por lo que conocer el defecto genético puntual en pacientes con defectos de *RAG1/RAG2* permite predecir el comportamiento clínico, ofrecer un pronóstico más certero y jerarquizar las decisiones de tratamiento.<sup>19</sup>

Otra de las principales ventajas y funciones del diagnóstico genético es analizar el componente hereditario de la enfermedad y, por tanto, ofrecer un mejor asesoramiento genético a las familias de pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves; además: 1) predecir en algunos casos el comportamiento clínico esperado de la enfermedad, 2) predecir la potencial reacción al tratamiento y 3) ofrecer la posibilidad de diagnóstico prenatal, pre-implantacional o posnatal temprano a las familias con antecedentes de inmunodeficiencias combinadas graves.

Respecto del conocimiento del diagnóstico genético y fenotipo molecular, es importante recalcar que algunos de los pacientes con inmunodeficiencia combinada grave expresan manifestaciones no inmunológicas (retraso mental, alteraciones óseas, alto riesgo de cáncer) causadas por defectos en ciertos genes (*DCLRE1C*, *NHEJ1*, *LIG4*, *PRKDC*, *ADA*), que deben considerarse al indicar el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH), porque no corregirá las manifestaciones de la enferme-



dad y tiene implicaciones en las expectativas de pronóstico y calidad de vida de los pacientes con algún diagnóstico genético específico.<sup>2,6,20</sup>

Con el advenimiento del tamizaje neonatal para las inmunodeficiencias combinadas graves, establecer el diagnóstico de alguna enfermedad y proponer el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas a la familia de un recién nacido asintomático y que aparenta estar sano puede resultar muy complejo; por lo tanto, conocer el diagnóstico genético puntual es importante para el médico y la familia en la toma de decisiones terapéuticas correctas y con mayor tranquilidad; además, permite explicar las limitaciones del trasplante en ciertos defectos genéticos.

Con base en lo anterior y a manera de ejemplificar la problemática de no contar con el diagnóstico genético, se han descrito errores innatos del metabolismo que pueden aparecer clínicamente como inmunodeficiencias combinadas graves. Recientemente se reportó la deficiencia en la metilentetrahidrofolato deshidrogenasa 1 (*MTHFD1*) como causa de una enfermedad caracterizada por inmunodeficiencia combinada grave, anemia megaloblástica, y retraso mental en grado variable, con respuesta favorable al tratamiento a base de folatos. Ramakrishan y sus colaboradores describieron la deficiencia de *MTHFD1* en una familia con dos hijos afectados por un cuadro clínico clásico de inmunodeficiencia combinada grave y anemia megaloblástica, en quienes identificaron un defecto genético heterocigótico compuesto con un patrón de herencia autosómico recesivo, mediante la secuenciación del exoma completo. Ambos pacientes se encontraban en lista de espera para trasplante de células hematopoyéticas al momento del diagnóstico genético; sin embargo, al iniciar con la suplementación de ácido fólico lograron revertir por completo el fenotipo clínico e inmunológico.

Este reporte señala la importancia del diagnóstico genético en el contexto clínico, porque permitió evitar un trasplante innecesario y riesgoso; en cambio se ofreció el tratamiento dirigido al defecto molecular de los pacientes, con menor costo y riesgo de complicaciones.<sup>21</sup>

### **Importancia del diagnóstico genético en el tratamiento de las inmunodeficiencias combinadas graves**

La mayor parte de las inmunodeficiencias combinadas pueden curarse cuando se diagnostican a tiempo. El tratamiento incluye trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, terapia génica y, en algunos casos, reemplazo enzimático.<sup>6,20</sup>

En nuestro medio es común que el tratamiento inicial de pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves se establezca con base en el fenotípico, obtenido por la sospecha clínica y los reportes de laboratorio que evalúan el sistema inmunitario en forma cuantitativa y cualitativa, conducta que es correcta y necesaria si consideramos que estas enfermedades son urgencias pediátricas y que en México, Latinoamérica y gran parte del mundo existen aún limitaciones para establecer el diagnóstico genético rápido, situación que retrasaría el tratamiento y la toma de decisiones. Sin embargo, el diagnóstico basado solo en el fenotipo de la enfermedad implica desventajas, pues la heterogeneidad de las inmunodeficiencias primarias causa que los pacientes tengan respuestas variables a diversos tratamientos a pesar de ser fenotípicamente muy parecidas.<sup>20</sup>

### **Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas**

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es un tratamiento potencialmente curativo en pacientes con inmunodeficiencias

combinadas graves desde hace más de 50 años. El primer trasplante exitoso en un paciente con esta enfermedad se logró en 1968.<sup>22</sup> Actualmente es la opción definitiva para las inmunodeficiencias combinadas graves mayormente utilizado en nuestro medio, y ha demostrado resultados favorables a largo plazo.<sup>23-26</sup> El objetivo del trasplante es reemplazar las células disfuncionales del paciente (receptor) por células funcionales obtenidas de un donador sano, con compatibilidad en HLA.

El éxito del trasplante radica en múltiples factores, actualmente identificados, que mejoran el pronóstico de pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves como:<sup>27</sup>

- Diagnóstico temprano.
- Ausencia de infecciones activas al momento del procedimiento, lo que se ha identificado como el principal factor pronóstico del trasplante.
- Tratamiento de soporte adecuado antes, durante y después del trasplante.
- Mayor grado de histocompatibilidad entre donador y receptor.
- Disponibilidad de donadores de células progenitoras hematopoyéticas.
- Menor toxicidad de la quimioterapia para el acondicionamiento pretrasplante en el paciente.

Hasta hace algunos años, la mayor parte de los estudios que incluían el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en inmunodeficiencias combinadas graves analizaba a todos los pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves como un mismo grupo; sin embargo, los avances en el diagnóstico genético permitieron que en los países se establezca el diagnóstico genético adecuado, y hoy en día se proponen estrategias de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas que individualizan a cada paciente.<sup>20</sup>

En una serie europea se realizó el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas a 117 pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves de 2000 a 2013, de los que 83% contaban con diagnóstico genético al momento del trasplante.<sup>23</sup> Esto es contrastante con nuestra realidad porque en México menos de 20% de los pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves cuentan con el diagnóstico genético al momento del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (comunicación personal), que puede ser uno de los factores (no el único) que influyen en los resultados del procedimiento, considerados subóptimos en comparación con centros de Europa y Estados Unidos. Es importante recalcar que en los pacientes con diagnóstico clínico e inmunofenotípico de inmunodeficiencias combinadas graves en centros donde el diagnóstico genético no está disponible en forma rápida, si las condiciones clínicas lo permiten, no debe retrasarse el tratamiento de sostén inicial ni el definitivo con trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en espera del diagnóstico genético, pues podría influir negativamente en el pronóstico de los pacientes al exponerlos a complicaciones infecciosas y no infecciosas en ese lapso.

Otro aspecto importante es que el diagnóstico genético permite identificar a los pacientes con inmunodeficiencias combinadas graves, que por su fenotipo molecular tendrán manifestaciones no-inmunológicas (retraso mental, alteraciones óseas, riesgo elevado de cáncer) causadas por defectos en ciertos genes (*DCLRE1C*, *NHEJ1*, *LIG4*, *PRKDC*, *ADA*), que debe considerarse al ofrecer el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, porque no corregirá las manifestaciones no-inmunológicas de la enfermedad y tendrá implicaciones en el pronóstico y calidad de vida de los pacientes. Cuando se conoce el diagnóstico genético específico, deben explicarse con claridad las limitaciones del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en ciertos defectos genéticos a los familiares de los pacien-



tes, para que puedan tomar la mejor decisión respecto de la autorización del procedimiento.<sup>28</sup>

Algunos defectos genéticos particulares, causantes de inmunodeficiencias combinadas graves, se asocian con elevada susceptibilidad del ADN a radiación ionizante y a ciertos fármacos (genes radiosensibles), por lo que es importante conocer el diagnóstico genético, que también permite predecir esta radiosensibilidad y limitar la morbilidad, al evitar su exposición a radiación, y al modificar el esquema de acondicionamiento con quimioterapia previo al trasplante, para limitar la toxicidad ocasionada por los fármacos a los que son particularmente susceptibles.<sup>20</sup>

### Terapia génica

Consiste en la aplicación de ácidos nucleicos con fines terapéuticos. Para esta técnica existen múltiples estrategias en investigación y desarrollo clínico. En pacientes con enfermedades monogénicas, con pérdida de la función de alguna proteína particular, se propone la adición del gen disfuncional para corregir la enfermedad de base. En el caso de inmunodeficiencias primarias, la estrategia más estudiada hasta el momento es la modificación genética de células progenitoras hematopoyéticas, adicionando la secuencia correcta del gen defectuoso mediante un vector viral (lentivirus, gamma-retrovirus).<sup>29-31</sup>

Las inmunodeficiencias combinadas graves son una de las enfermedades con mayor éxito en el estudio de la terapia génica, particularmente para defectos en *IL2RG* y *ADA*, cuyo tratamiento ha demostrado eficacia clínica, y existe un producto disponible y aprobado comercialmente para defecto del gen *ADA* (*Strimvelis*, Orchard Therapeutics), aunque su costo elevado sigue siendo una limitante en todo el mundo. Existen estudios en fase preclínica de terapia génica en otros defectos genéticos causantes de inmunodeficiencia combinada grave (*RAG1*, *RAG2*,

*DCLRE1C*, *JAK3*, entre otros), y seguramente cada vez más defectos genéticos serán susceptibles de recibir este tipo de tratamiento en los años próximos.<sup>32</sup>

La terapia génica *ex-vivo* consiste en la cosecha de células progenitoras hematopoyéticas del propio paciente, su modificación *in vitro* adicionando una copia correcta del gen disfuncional mediante un vector viral (gamma-retrovirus o lentivirus), y su posterior infusión de vuelta al paciente. El diagnóstico genético certero es indispensable para definir si un paciente con inmunodeficiencia combinada grave es ideal o no para recibir terapia génica, porque la variante patogénica debe encontrarse en un gen cuya terapia haya sido desarrollada para recibir este procedimiento.<sup>29,32</sup>

La terapia génica ofrece potenciales ventajas sobre el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas: *a)* utiliza las células progenitoras del mismo paciente, no se requiere un donador HLA compatible, *b)* teóricamente no existe riesgo de enfermedad injerto contra hospedero, lo que a su vez, dependiendo del caso, podría disminuir la necesidad de inmunosupresores antes, durante y después del procedimiento para prevenir y controlar esta complicación.<sup>32</sup> Recientemente, al comparar los resultados clínicos de terapia génica y trasplante de células progenitoras hematopoyéticas para el tratamiento de pacientes con inmunodeficiencia combinada grave ligada al cromosoma X se evidenció una reconstitución inmunológica más rápida con la terapia génica.<sup>33</sup>

Si bien la terapia génica está disponible para algunos diagnósticos genéticos, solo se realiza en pocos centros especializados, con costos muy elevados, por lo que se requieren más ensayos clínicos para garantizar la seguridad a largo plazo. Es probable que en el futuro se convierta en el tratamiento de elección para diversos defectos genéticos que causan inmunodeficiencias combinadas graves. Tomando en cuenta que

son enfermedades raras, conocer el diagnóstico genético de pacientes con inmunodeficiencia combinada grave en diferentes partes del mundo permitiría reclutar los casos para ensayos clínicos multicéntricos, incrementando el número de pacientes que reciben terapia génica y facilitando la transferencia desde la investigación básica a la aplicación clínica de estos nuevos tratamientos. Del mismo modo, se espera que la difusión de la terapia génica en mayor número de pacientes y con los avances en tecnología y capacidad de manufactura permitan disminuir los costos asociados a estos procedimientos.

#### **Inmunodeficiencia combinada grave por deficiencia de adenosina-desaminasa (ADA)**

La inmunodeficiencia combinada grave por deficiencia de ADA fue la primera alteración de carácter hereditario con etiología molecular conocida. La ADA es una enzima decisiva en el reciclaje y catabolismo de purinas en todas las células, con funciones especialmente importantes en el tejido linfóide.<sup>6</sup>

El gen *ADA* se localiza en el cromosoma 20q12-q13.1 (OMIM #102700); las mutaciones del gen provocan ausencia, deficiencia y disfunción de la enzima, con subsecuente incremento de la apoptosis y falla en la diferenciación de linfocitos por la acumulación de metabolitos tóxicos.<sup>34</sup>

La inmunodeficiencia combinada grave por deficiencia de ADA (OMIM #102700) puede manifestarse, clínicamente, de manera temprana o tardía. Los pacientes con deficiencia de ADA suelen tener un cuadro de inmunodeficiencia combinada grave y fenotipo inmunológico con ausencia de linfocitos T, B y células NK. Para confirmar el diagnóstico pueden determinarse las concentraciones de desoxi-adenosina (dADO), desoxi-adenosina-trifosfato (dATP) y nucleótidos de dADO (dAXP) en sangre u orina, además de la actividad enzimática de los eritrocitos. Por últi-

mo, el diagnóstico certero se establece mediante secuenciación del gen *ADA* e identificación de la variante genética y patogénica específica.<sup>2,6,35</sup>

El tratamiento de primera línea consiste en reemplazo enzimático con ADA pegilada ([pegADA] no disponible en México), previo al tratamiento definitivo con trasplante de células progenitoras hematopoyéticas o terapia génica.<sup>20,35</sup>

La inmunodeficiencia combinada grave por deficiencia de adenosina-desaminasa fue la primera inmunodeficiencia primaria tratada con éxito mediante terapia génica. Los primeros ensayos clínicos se realizaron al principio del decenio de 1990, utilizando un vector gamma-retroviral, con éxito de 100% de supervivencia.<sup>36,37</sup> Hasta ahora se han tratado más de 100 pacientes con terapia génica, y recientemente se utilizan vectores lentivirales con buena eficacia y seguridad.<sup>32,38</sup> Lo anterior ha permitido que a partir de 2016 exista un producto comercialmente disponible, aprobado por la Agencia Europea de Medicamentos para terapia génica en pacientes con deficiencia de ADA (Strimvelis, Orchard Therapeutics).<sup>39</sup> En las guías más recientes para el tratamiento de esta enfermedad se coloca por primera vez a la terapia génica como tratamiento de elección a la par del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.<sup>35</sup>

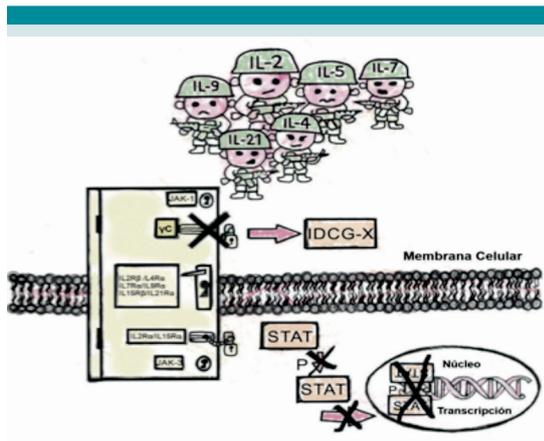
#### **Inmunodeficiencia combinada grave ligada al cromosoma X (IDCG-X)**

La inmunodeficiencia combinada grave ligada al cromosoma X (OMIM # 300400) es una alteración causada por variantes genéticas patogénicas en el gen *IL2RG* que codifica para la cadena gamma común del receptor de las interleucinas 2, 4, 7, 9, 15, y 21; representa la anomalía genética más frecuente de inmunodeficiencia combinada grave ligada al cromosoma X a nivel mundial.<sup>2,5,6</sup> Estos pacientes suelen manifestar el cuadro clásico de varones, con fenotipo inmu-

nológico con ausencia de linfocitos T y células NK, y coexistencia de linfocitos B (T-, B+, NK-). **(Figura 2)** Para orientar el diagnóstico molecular puede demostrarse la ausencia de expresión de proteína IL2RG por citometría de flujo, y el diagnóstico genético certero se confirma con la secuenciación del gen *IL2RG*.<sup>6</sup>

En nuestro medio el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es el tratamiento de elección definitivo de inmunodeficiencia combinada grave ligada al cromosoma X.<sup>40</sup> Sin embargo, la terapia génica con vectores lentivirales ha demostrado, recientemente, resultados favorables en cuanto a eficacia y seguridad.<sup>29,32,38,41</sup>

El primer ensayo clínico de terapia génica en pacientes con inmunodeficiencia combinada grave ligada al cromosoma X se realizó en 1995, en 20 pacientes, utilizando un vector gamma-retroviral que logró adecuada reconstitución inmunológica. Cinco de los 20 pacientes tratados entre 1999 y 2006 tuvieron leucemia linfoblástica secundaria a la activación de proto-oncogenes condicionada por el promotor del vector viral (mutagénesis insercional).<sup>42,43</sup> Pese a esto se demostró mayor y más rápida reconstitución inmunológica en los pacientes tratados con el vector que en quienes recibieron trasplante de células progenitoras hematopoyéticas durante el mismo periodo.<sup>33</sup> Posteriormente se realizaron cambios sustanciales en el diseño de nuevos vectores lentivirales auto-inactivados (SIN-LV), con la finalidad de limitar la capacidad de activar proto-oncogenes. Se están probando en ensayos clínicos, con efectividad terapéutica y sin evidencia de genotoxicidad ni leucemogénesis hasta el momento.<sup>31,32,41</sup> Seguramente en poco tiempo la terapia será al igual que en deficiencia de adenosina-deaminasa, el tratamiento de elección en los sitios donde esté disponible.



**Figura 2.** Defecto de la cadena  $\gamma$ -común del receptor de interleucina 2.

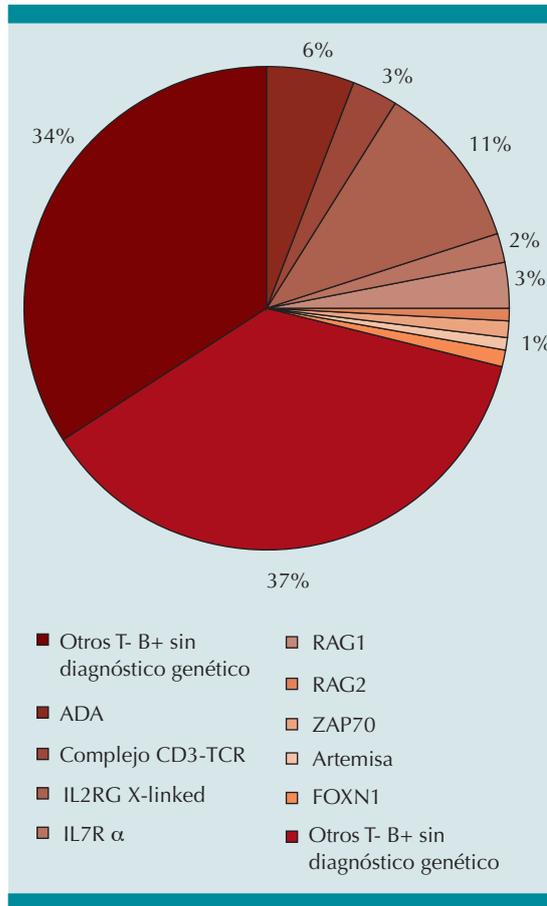
Representación del defecto de la cadena gamma común ( $\gamma c$ ) del receptor de citosinas (puerta). Esta cadena es parte de un conjunto de receptores que permiten la interacción celular con interleucinas (IL). El defecto en  $\gamma c$  provoca interrupción en la señalización mediada por IL, evitando la fosforilación (P) de los transductores y activadores de las señales de transcripción de genes (STAT) para generar linfocitos maduros capaces de reconocer antígenos.<sup>3,5</sup>

*Dibujo elaborado con la colaboración del niño Oliver A. J. de 5 años de edad, actualmente en seguimiento, posterior a TCPH exitoso por deficiencia de ADA.*

#### Accesibilidad y limitantes para el diagnóstico genético de inmunodeficiencia combinada grave en México y Latinoamérica

Si bien el diagnóstico genético mediante la secuenciación de nueva generación (NGS) es prometedor, en nuestro medio sigue siendo subóptimo y las nuevas herramientas para ello son poco utilizadas, lo que se hace evidente en el registro de la Sociedad Latinoamericana de Inmunodeficiencias (LASID), donde hasta diciembre de 2018 había registrados 237 casos de inmunodeficiencia combinada grave, de los que menos de una tercera parte (29%) cuentan con diagnóstico genético definitivo.<sup>44</sup> **Cuadro 4 y Figura 3**

Existen varias limitaciones que pueden identificarse y en las que debe trabajarse durante los próximos años para mejorar el diagnóstico genético.<sup>45</sup>



**Figura 3.** Inmunodeficiencias combinadas graves: pacientes con diagnóstico genético versus sin diagnóstico genético.

a. *Accesibilidad.* El acceso al equipo y las tecnologías para secuenciación de ADN y diagnóstico genético es aún limitado en ciertos países y centros especializados, y se encuentra poco disponible para el uso clínico en muchos países de Latinoamérica.

**Cuadro 4.** Cantidad de casos de inmunodeficiencias combinadas graves (IDCG) con y sin diagnóstico genético de los últimos registros de LASID

Mutación IDCG	n
ADA	15
Complejo CD3-TCR	7
IL2RG X-linked	26
IL7R $\alpha$	4
RAG1	8
RAG2	1
ZAP70	3
Artemisa	3
FOXN1	2
Otros T- B- sin diagnóstico genético	88
Otros T- B+ sin diagnóstico genético.	80
<b>Total:</b>	<b>237</b>

Casos con diagnóstico genético: 69 (29%).

Casos sin diagnóstico genético: 168 (71%).

b. *Costo y tiempo.* El costo del diagnóstico genético suele ser elevado en muchos centros y pocos laboratorios especializados ofrecen este servicio público en general. Sin embargo, en este punto es importante hacer dos acotaciones: 1) el costo de la secuenciación de ADN ha disminuido considerablemente en los últimos años y a medida que avance la tecnología y se haga más accesible en la práctica clínica diaria el costo seguirá disminuyendo, y 2) hoy en día existen varios laboratorios (Invitae, Fulgent, Genera) que ofrecen el diagnóstico genético para inmunodeficiencias combinadas graves, entre otras enfermedades, mediante paneles específicos, por precios que pueden ser cada vez accesibles para pacientes, médicos e instituciones. En los próximos años, las instituciones de salud pública de México deberán buscar introducir el servicio de diagnóstico genético entre sus servicios de laboratorio clínico.



- c. *Almacenamiento e interpretación de la información genética.* Las nuevas tecnologías permiten secuenciar grandes cantidades de ADN a menor costo y en poco tiempo; sin embargo, se genera una gran cantidad de información que requiere infraestructura especial para almacenarse, equipo de cómputo poderoso para procesar la información y recursos humanos altamente capacitados para interpretar adecuadamente los resultados.
- d. *Resistencia al cambio y conocimiento limitado.* A menudo los médicos consideran al diagnóstico genético un lujo o algo innecesario para la práctica clínica, y más bien se le da valor como una herramienta para fines de investigación. Sin embargo, cada vez aparecen más ejemplos en la medicina moderna de la utilidad del diagnóstico genético para personalizar tratamientos basados en las características de determinadas poblaciones o individuos. Es frecuente que los médicos dedicados a la atención clínica primaria tengan pocos conocimientos de genética y bases y utilidad de las tecnologías para el diagnóstico genético, lo que dificulta la interpretación de resultados y su aplicación clínica. En enfermedades como las inmunodeficiencia combinada grave, nuestra opinión particular es que el diagnóstico debe considerarse cada vez más como una necesidad y no como un lujo, por lo que tanto investigadores como clínicos deben fomentar el diagnóstico genético en enfermedades complejas y formar equipos de trabajo eficientes conformados por médicos y científicos especializados en el diagnóstico genético para maximizar el potencial a favor de los pacientes, incluyendo un médico genetista en el equipo multidisciplinario. Es indispensable incluir mayor y mejor formación en genética en los programas

de estudio para médicos durante etapas de pre y posgrado.

## CONCLUSIÓN

La importancia de identificar los defectos genéticos en pacientes con inmunodeficiencias primarias es incuestionable, pues permite establecer el diagnóstico diferencial de casos con manifestaciones clínicas complejas, además de tener implicaciones terapéuticas para la toma de decisiones y, de esta forma, mejorar la información que se ofrece a las familias de los pacientes, para avanzar en el entendimiento de estas enfermedades, incluso para generar nuevo conocimiento en la función del sistema inmunológico sano. Si bien ha habido avances importantes en los últimos años, es necesario hacer aún más accesibles las herramientas indispensables para el diagnóstico genético de las inmunodeficiencias combinadas graves y otras enfermedades genéticas en nuestro medio, además de incrementar el conocimiento de esas herramientas entre los médicos de primer contacto, principalmente los pediatras. El diagnóstico genético no debe considerarse un lujo o una herramienta meramente de investigación, sino una opción clínica que permitirá mejorar a futuro la atención de sus pacientes y su familiar.

## REFERENCIAS

- Picard C, et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J Clin Immunol* 2015;35(8):696-726. <http://doi.org/10.1007/s10875-015-0201-1>
- Stiehm RE, et al. *Stiehm's Immune Deficiencies*. 1<sup>st</sup> Philadelphia: Elsevier, 2014;144-66.
- Bousfiha A, et al. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2018;38(1):129-43. <http://doi.org/10.1007/s10875-017-0465-8>
- Buckley RH, et al. Human severe combined immunodeficiency: genetic, phenotypic, and functional diversity in one hundred eight infants. *J Pediatr* 1997;130(3):378-87.

9. Cossu F. Genetics of SCID. *Ital J Pediatr* 2010;15;36:76. <http://doi.org/10.1186/1824-7288-36-76>
10. Fischer A, et al. Severe combined immunodeficiencies and related disorders. *Nat Rev Dis Primers* 2015;1:15061. <http://doi.org/10.1038/nrdp.2015.61>
11. Coria-Ramírez E, et al. Panorama epidemiológico de las inmunodeficiencias primarias en México. *Rev Alerg Mex* 2010;57(5):159-63.
12. Hernández-Nieto L. Estudio descriptivo de la evolución de las complicaciones por vacunación e BCG en pacientes con inmunodeficiencia combinada severa en el Instituto Nacional de Pediatría en los últimos 39 años. Tesis de posgrado. Instituto Nacional de Pediatría. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2010. [http://189.203.43.34:8180/bitstream/20.500.12103/755/1/Tesis2010\\_30.pdf](http://189.203.43.34:8180/bitstream/20.500.12103/755/1/Tesis2010_30.pdf).
13. Marciano BE, et al. BCG vaccination in patients with severe combined immunodeficiency: complications, risks, and vaccination policies. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(4):1134-41. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.02.028>
14. Gennery AR, et al. Diagnosis of severe combined immunodeficiency. *J Clin Pathol* 2001;54:191-195. <http://doi.org/10.1136/jcp.54.3.191>
15. Kwan A, et al. History and current status of newborn screening for severe combined immunodeficiency. *Semin Perinatol* 2015;39(3):194-205 <http://doi.org/10.1053/j.semper.2015.03.004>
16. Contreras-Verduzco A, et al. Diagnóstico oportuno de la inmunodeficiencia combinada grave (SCID) a través del tamiz neonatal. *Rev Alerg A Ped* 2014;3(2):48-56.
17. Conley ME, et al. Discovery of single-gene inborn errors of immunity by next generation sequencing. *Curr Opin Immunol* 2014;30:17-23 <http://doi.org/10.1016/j.coi.2014.05.004>
18. Shendure J, et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature* 2017;19;550(7676):345-353 <http://doi.org/10.1038/nature24286>
19. Nijman IJ, et al. Targeted next-generation sequencing: a novel diagnostic tool for primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(2):529-534. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.08.032>
20. Wetterstrand KA. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP). Dirección URL: <[www.genome.gov/sequencingcostsdata](http://www.genome.gov/sequencingcostsdata)>.
21. Keller B, et al. Early onset combined immunodeficiency and autoimmunity in patients with loss-of-function mutation in LAT. *J Exp Med* 2016;213(7):1185-99. <http://doi.org/10.1084/jem.20151110>
22. Bacchelli C, et al. Mutations in linker for activation of T cells (LAT) lead to a novel form of severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139(2):634-642. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.05.036>
23. Lee YN, et al. A systematic analysis of recombination activity and genotype-phenotype correlation in human recombination-activating gene 1 deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;133(4):1099-1108. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.10.007>
24. Gaspar HB, et al. How I treat severe combined immunodeficiency. *Blood* 2013;122(23):3749-3758. <http://doi.org/10.1182/blood-2013-02-380105>
25. Ramakrishnan KA, et al. Precision Molecular Diagnosis Defines Specific Therapy in Combined Immunodeficiency with Megaloblastic Anemia Secondary to MTHFD1 Deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2016;4(6):1160-1166. <http://doi.org/10.1016/j.jaip.2016.07.014>
26. Gatti RA, et al. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* 1968;2(7583):1366-9. [http://doi.org/10.1016/s0140-6736\(68\)92673-1](http://doi.org/10.1016/s0140-6736(68)92673-1)
27. Cavazzana M, Touzot F, Moshous D, Neven B, Blanche S, Fischer A, "Stem cell transplantation for primary immunodeficiencies: the European experience." *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2014 Dec;14(6):516-20 <http://doi.org/>
28. Gennery AR, et al. Transplantation of hematopoietic stem cells and long-term survival for primary immunodeficiencies in Europe: Entering a new century, do we do better? *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(3):602-10. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.06.015>
29. Wahlstrom JT, et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Severe Combined Immunodeficiency. *Curr Pediatr Rep* 2015;3(1):1-10. <http://doi.org/10.1007/s40124-014-0071-7>
30. Olaya-Vargas A, et al. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en pediatría: Una alternativa de tratamiento en inmunodeficiencias primarias. *Rev Invest Clin* 2005;57(2):324-332. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=50034-83762005000200028](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=50034-83762005000200028)
31. Pai SY, et al. Transplantation outcomes for severe combined immunodeficiency. *New Eng J Med* 2014;371(5):434-46. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1401177>
32. Titman P, et al. Cognitive and behavioral abnormalities in children after hematopoietic stem cell transplantation for severe congenital immunodeficiencies. *Blood* 2008;112(9):3907-3913. <http://doi.org/10.1182/blood-2008-04-151332>
33. Booth C, et al. Treating Immunodeficiency through HSC Gene Therapy. *Trends Mol Med* 2016;22(4):317-327. <http://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.02.002>
34. Chinen J, et al. Successes and risks of gene therapy in primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113(4):595-603. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.01.765>
35. Fischer A, et al. Gene therapy for primary immunodeficiencies. *Clin Genet* 2015;88(6):507-15. <http://doi.org/10.1111/cge.12576>
36. ThrasherAJ, et al. Evolving gene therapy in primary immunodeficiency. *Mol Ther* 2017;25(5):1132-1141. <http://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.03.018>



37. Touzot F, et al. Faster T-cell development following gene therapy compared with haploidentical HSCT in the treatment of SCID-X1. *Blood* 2015;125(23):3563-3569. <http://doi.org/10.1182/blood-2014-12-616003>
38. Human Gene Database. [Consulta: diciembre 2108]. Dirección URL: <<http://www.genecards.org>>.
39. Kohn D, et al. How we manage adenosin deaminase-deficient severe combined immunodeficiency (ADA SCID). *J Clin Immunol* 2017;37(4):351-356. <http://doi.org/10.1007/s10875-017-0373-y>.
40. Aiuti A, et al. Gene Therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *N Engl J Med* 2009;360(5):447-458. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa0805817>
41. Cicalese MP, et al. Update on the safety and efficacy of retroviral gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *Blood* 2016;128(1):45-54. <http://doi.org/10.1182/blood-2016-01-688226>
42. Sauera AV, et al. Progress in gene therapy for primary immunodeficiencies using lentiviral vectors. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2014;14(6):527-534. <http://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000114>
43. Ferrua F, et al. Twenty-five years of gene therapy for ADA-SCID: from “bubble boy” to an approved drug. *Human Gene Therapy* 2017;28(11):972-981. <http://doi.org/10.1089/hum.2017.175>
44. Gennery, Andrew. “Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Primary Immunodeficiency.” Kathleen E. Sullivan, E. Richard Stiehm. *Stiehm's Immune Deficiencies Academic Press*. Elsevier, 2014. 1028-1045. <http://doi.org/>
45. Mamcarz E, et al. Lentiviral gene therapy combined with low-dose busulfan in infants with SCID-X1. *New Eng J Med* 2019;380(16):1525-34. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1815408>
46. Hacein-Bey-Abina S, et al. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. *New Eng J Med* 2002;346(16):1185-93. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa012616>
47. McCormick MP, et al. Activation of the T-cell oncogene LMO2 after gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *New Eng J Med* 2004;350(9):913-22. <http://doi.org/10.1056/NEJMra032207>
48. Sociedad Latinoamericana de Inmunodeficiencias. Dirección URL: <[https://registrolasid.org/docs/Estatisticas\\_LASID-2018\\_Dezembro.pdf](https://registrolasid.org/docs/Estatisticas_LASID-2018_Dezembro.pdf)>.
49. Notarangelo LD, et al. Is it necessary to identify molecular defects in primary immunodeficiency disease? *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(6):1069-1073. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.08.038>