

Avances recientes en la etiología molecular y tratamiento de la inmunodeficiencia severa combinada (SCID)

Esteban Arrieta-Bolaños

Centro de Investigaciones en Hematología y Trastornos Afines, Universidad de Costa Rica

RESUMEN

Las inmunodeficiencias severas combinadas son un grupo de trastornos inmunológicos caracterizados por una ausencia de células T funcionales, desembocando en fallo de la inmunidad adaptativa, tanto celular como humoral. Estas condiciones son identificadas tempranamente y son incompatibles con la vida, de no darse una intervención médica oportuna. Desde su reconocimiento clínico hace 50 años, el conocimiento sobre la patogénesis y las bases moleculares de los trastornos observados ha avanzado vertiginosamente, al punto que hoy día se reconocen, al menos, 13 alteraciones genéticas capaces de causar este tipo de inmunodeficiencia. Incluso, el conocimiento derivado del estudio de pacientes con inmunodeficiencia severa combinada ha permitido avanzar en la comprensión de los intrincados mecanismos del Sistema Inmune. Además, las terapias como el trasplante de células madre hematopoyéticas o la más reciente terapia génica han tenido sus primeros éxitos en pacientes con inmunodeficiencia severa combinada, lo cual resalta la relevancia de esta enfermedad en el avance de las terapias médicas de vanguardia. Asimismo, dadas su relevancia y severidad, actualmente en varios lugares del mundo se propone la inclusión de la inmunodeficiencia severa combinada en los esquemas de tamizaje neonatal. El presente trabajo tiene por objetivo mostrar el avance de los conocimientos sobre la etiología molecular de la inmunodeficiencia

severa combinada y sobre el tratamiento de ésta y las perspectivas acerca del éxito futuro de nuevas terapias para estos pacientes.

Palabras clave: inmunodeficiencia severa combinada, etiología, trasplante de células madre hematopoyéticas, terapia génica, autoinmunidad

ABSTRACT

Recent advances in the molecular etiology and treatment of Severe Combined Immunodeficiency (SCID)

Severe Combined Immunodeficiency (SCID) is a group of immunological conditions that share an absence of T cell normal function, which causes impairment of cellular and humoral adaptive immunity. If these conditions go undetected and without medical intervention early in infancy they can lead to death. From its early clinical description some 50 years ago, knowledge of the pathogenesis and the molecular bases of the clinical presentations observed in these patients has greatly advanced to the point of currently recognizing 13 genes capable of causing SCID. Moreover, knowledge derived from the study of SCID patients has extended our understanding of the Immune System's function at a molecular level. Treatments like hematopoietic stem cell transplantation and gene therapy were developed and successfully used for the first time in SCID patients, underscoring the importance of

Solicitud de sobretiros: Esteban Arrieta Bolaños. Apartado Postal 2718-1000, San José, Costa Rica. E-mail: esteban.arrietabolanos@ucr.ac.cr

Recibido: el 7 de julio de 2009. **Aceptado para publicación:** el 23 de febrero de 2010

Este artículo está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb102117.pdf>

Arrieta-Bolaños

advancing these therapies. In addition, newborn screening programs for SCID have been launched in recent years in some areas of the world. The aim of this work is to summarize the advances in the knowledge of SCID's molecular (etiology, its treatment, and future prospects of success in novel therapies for these patients.

Keywords: severe combined immunodeficiency, aetiology, haematopoietic stem cell transplantation, gene therapy, autoimmunity

INTRODUCCIÓN

La Inmunodeficiencia Severa Combinada (SCID, por sus siglas en inglés) es un grupo de trastornos genéticos que desembocan en una inmunodeficiencia por muy baja cantidad o ausencia de células T funcionales, en muchos casos combinada con una deficiencia cuantitativa de células B y/o NK, lo cual conlleva una ausencia de respuesta adaptativa (1). Se conoce esta condición desde hace 50 años y se estima una frecuencia de 1 en 75000-100000 nacimientos (2). Los pacientes afectados por SCID presentan infecciones oportunistas que resultan en infección severa recurrente a nivel pulmonar (sobre todo por *Pneumocystis jiroveci*), candidiasis oral, infecciones atípicas en piel, diarreas crónicas y un fallo en el crecimiento desde los primeros meses de vida. Infecciones virales por Varicela, Adenovirus, Citomegalovirus, virus Epstein-Barr, virus Respiratorio Sincicial o Parainfluenza son severas y potencialmente mortales (3,4). Asimismo, el tratamiento con vacunas vivas atenuadas está contraindicado en los pacientes con SCID, ya que se ha descrito, por ejemplo, infección generalizada por Bacilo de Calmette-Guerin en niños vacunados (5).

La mortalidad es del 100% durante los primeros 2 años de vida de no intervenir el paciente mediante un trasplante, considerándose esta condición una emergencia pediátrica. Se ha caracterizado la causa genética de la mayoría de los casos de SCID y se conocen a la fecha

13 genes que, al mutar, pueden causar esta condición (**Cuadro I**) (6). El patrón de herencia de este trastorno puede ser ligado al cromosoma X o autosómico recesivo, dependiendo del gen involucrado. De acuerdo con la influencia que tenga el gen mutado sobre las células B y/o NK, es posible obtener 4 perfiles fenotípicos para los linfocitos. Así, aun cuando es posible encontrar células B circulantes en ciertos fenotipos de SCID, la producción de anticuerpos está invariablemente alterada en todos los fenotipos.

El diagnóstico del SCID es posible al momento del nacimiento, ya que los individuos afectados manifiestan una linfopenia (menos de 2000 linfocitos/ μ L) y una proliferación postestímulo mitogénico *in vitro* disminuida (1). Además, en algunos casos se dispone de historias familiares que permiten inferir el patrón hereditario presente y la consecuente alteración genética posible. Los defectos genéticos específicos pueden ser identificados por medio de secuenciación de los genes involucrados. El conocimiento del trastorno genético específico es de interés para generar un consejo genético y un diagnóstico temprano o prenatal en parientes del paciente, así como para proponer estrategias de tratamiento específico por medio de transferencia genética (3).

ALTERACIONES MOLECULARES EN SCID

Las alteraciones moleculares que desencadenan el SCID involucran varios procesos relacionados con la biología celular de los linfocitos. Los procesos afectados incluyen alteraciones en la señalización de los receptores de citocinas o moléculas adaptadoras y de señalización intracelular, la señalización por el receptor de células T, la recombinación de genes del receptor de células T y las inmunoglobulinas, las vías de metabolismo de los nucleótidos, la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y II, aunados a otros defectos menores. Así, cuatro mecanismos generales explican la aparición de SCID en 96% de los casos (**Cuadro I**) (2).

Cuadro I
Fenotipos linfocitarios posibles en SCID, defectos moleculares característicos, mecanismos de inmunodeficiencia, localización cromosómica y frecuencia relativa

Fenotipo	Defectos asociados	Mecanismo de SCID	Localización cromosómica	Porcentaje de casos de SCID
T-B+NK+	Deficiencia de IL-7R α	-Señalización defectuosa por receptores de citoquinas	5p13	~10%
	Deficiencia de CD3 δ Deficiencia de CD3 α	-Señalización defectuosa por receptor de células T	11q23 11q23	< 2% < 2%
T-B+NK-	Deficiencia de γ_c	-Señalización defectuosa por receptores de citoquinas	Xq13.1	~50%
	Deficiencia de JAK3 Deficiencia de CD45	-Señalización defectuosa por receptor de células T	1q31-1q32 19p13.1	~7-14% < 2%
T-B-NK+	Deficiencia de Artemis, Cernunnos, ADN ligasa IV Deficiencia de RAG-1 y 2	-Defectos en la recombinación V(D)J	10p13, 2q35, 13q33 11p13	~30% (en conjunto)
T-B-NK-	Deficiencia de ADA	-Muerte prematura de precursores linfoides por defecto en el metabolismo de purinas	20q13.11	~10%
T+B+NK+	Deficiencias de ZAP70, Lck, CD8 α , MHC I y II	-Depleción de subtipos de linfocitos T por señalización intracelular defectuosa	2q12, 1p34, 2p1, 6p21	< 1%

*IL-7R α , cadena alfa del receptor para interleucina 7; γ_c , cadena gama común de receptores para citoquinas; JAK3, cinasa *Janus* 3; RAG, gen de activación de la recombinación; ADA, adenosina deaminasa; ZAP70, cadena ζ asociada a la cinasa de 70kDa; Lck, cinasa específica de linfocitos; MHC, complejo mayor de histocompatibilidad

El SCID ligado al cromosoma X es causada por la mutación en la cadena γ común (γ_c) de los receptores de las interleucinas (IL) 2, 4, 7, 9, 15 y 21 (7). Dicho defecto genético fue descrito inicialmente en 1993 como la cadena γ del receptor de IL-2, pero luego se vio que dicha cadena es compartida por los otros receptores mencionados. Sin embargo, desde antes de caracterizar genéticamente esta enfermedad, se reconocía la mayor incidencia de SCID en varones, y se sabe que alrededor de 50% de los casos de

SCID son debidos a mutaciones en este gen (8). La consecuencia de estas mutaciones es una alteración en la señalización de las interleucinas. El efecto principal parece estar mediado por la ausencia de estímulo por IL-7 en el desarrollo tímico de los precursores de células T (7). Similarmente, la señalización defectuosa por los otros receptores contribuirá al fenotipo observado en estos pacientes, dándose, por ejemplo, una falta de desarrollo de células NK en ausencia de señalización por IL-15.

Arrieta-Bolaños

Las mutaciones asociadas con SCID ligada al X causan una falta de expresión de la γ_c , una falta de unión de la citocina a esta cadena o una alteración de la interacción intracelular con la cinasa *Janus* 3 (JAK3), las cuales provocan el fenotipo típico de estos pacientes: T-B+NK-. Sin embargo, algunas mutaciones sin sentido o de modificación de sitios de empalme del ARN pueden generar un fenotipo distinto al permitir una producción residual de linfocitos T y células NK (7). Por otro lado, a pesar de ser un trastorno ligado al cromosoma X, el cual se esperaría tuviera una expresión aleatoria en las mujeres portadoras, en éstas la inactivación del cromosoma no se da al azar, posiblemente por una ventaja selectiva de las células que utilizan el cromosoma no mutado frente a las otras (7).

Aunados a los defectos en el desarrollo de los linfocitos, los pacientes con SCID ligada al X parecen también poseer trastornos en el desarrollo de sus células dendríticas tímicas y células epiteliales del timo, lo cual podría contribuir a la fisiopatología de la inmunodeficiencia (7).

Un fenotipo idéntico al de SCID ligada al X pero de patrón autosómico recesivo ha sido asociado con mutaciones en el gen de la cinasa *Janus* tipo 3 o JAK3. Desde los años 90, se describió la activación de esa cinasa por IL-2 e IL-4; más tarde, se identificó que la misma cinasa se une intracelularmente a γ_c para lograr, por medio de transfosforilación, la transducción de la señal de las interleucinas hacia las moléculas STAT y de ahí al núcleo, donde se regula la transcripción de varios genes. JAK3 es expresada en linfocitos, células mieloides y algunos otros tipos celulares (aunque su función en éstas no es clara y parece no indispensable); su papel en señalización ha sido asociado con receptores para interleucinas, CD40, receptor de células T, receptor Fc y el receptor para trombina (3).

Se estima que de 7 a 14% de los casos de SCID se debe a mutaciones en JAK3, siendo la mayoría de los pacientes heterocigotos compuestos (8). Ocasionalmente, se encuentran pacientes

con presencia residual de linfocitos T, la cual es explicada como un implante transplacentario de células T maternas o consecuencia de actividad residual de JAK3. Sin embargo, estos linfocitos T no tienen un repertorio normal de especificidades en su receptor y no reaccionan bien ante estímulos mitogénicos. Las mutaciones de JAK3 no sólo resultan en una expresión defectuosa de la proteína o una falta de actividad cinasa, sino también en una mala asociación con los receptores o una localización anormal en la célula (3).

Las mutaciones en el gen de la cadena α del receptor para IL-7 (IL-7R α) corresponden a cerca de 10% de los casos de SCID, manifestándose con un patrón autosómico recesivo (8). La IL-7 es fundamental en el desarrollo de los linfocitos T en el timo y en la homeostasis de los linfocitos T maduros en la periferia (8), por lo que los pacientes con estas mutaciones carecen de desarrollo de los precursores tímicos en un estadio temprano. Su fenotipo T-B+NK+ es atribuible a la especificidad de esta citocina y permite diferenciar estos casos de otros con las mutaciones anteriormente detalladas.

En conjunto, mutaciones en el eje IL-7R/ γ_c /JAK3 explican la mayoría (67-74%) de los casos de SCID. En estos pacientes, se detiene el desarrollo de los linfocitos T en el estadio doble negativo (CD4- CD8-) previo al rearrreglo del gen del receptor de células T (8). Más aún, a pesar de que la señalización por IL-7 es dispensable para el desarrollo y la función de los linfocitos B y que, por ende, en pacientes con mutaciones del IL-7R la función humoral es restituida tras un trasplante, los pacientes con SCID ligada al X y JAK3-SCID carecen de activación, maduración y cambio de isotipo normales en sus células B, tanto por una falta de coordinación por las células T como por falta de señalización por IL-4 e IL-21, y responden menos a las terapias de trasplante (3).

La deficiencia de adenosina deaminasa (ADA) es otra causa importante de SCID y se le atribuye el 10% de los casos de SCID (5). La ADA es una enzima ubicua, que interviene

en el metabolismo de los nucleótidos. Su deficiencia genera una acumulación de adenosina, deoxiadenosina y deoxiadenosina trifosfato, generando toxicidad en los linfocitos y su muerte por apoptosis (2).

Las mutaciones en las proteínas RAG 1 y 2 son otra causa molecular de SCID y fueron reconocidas desde 1996 por Schwarz *et al.*, en pacientes con clínica de SCID y fenotipo T-B-NK+. Estas proteínas intervienen en los procesos de recombinación genética de los segmentos de los genes del receptor de células T y de las inmunoglobulinas, promoviendo la escisión de segmentos de ADN al reconocer secuencias señal específicas en éstos, proceso necesario para la generación de diversidad en el repertorio de especificidades moleculares reconocidas por estos receptores de la inmunidad adaptativa. Mutaciones hipomórficas de estos genes generan un síndrome particular de inmunodeficiencia y autoinmunidad caracterizado como SCID “con fisuras”: el Síndrome de Omenn (OS) (9) (ver más adelante).

Otras enzimas o factores involucrados en el proceso de recombinación de segmentos en los genes de los receptores de células T y B, cuyas mutaciones generan SCID, son la ADN ligasa IV y los factores reparadores de ADN Artemis y Cernunnos. De igual manera, mutaciones parciales en estas proteínas generan cuadros de inmunodeficiencia en combinación con autoinmunidad (9).

Otro de los defectos genéticos en el SCID está relacionado con las vías de señalización intracelulares esenciales para la activación de las células T, incluyendo a aquellos que afectan a la cadena γ del CD3 (CD3 γ), CD3 ϵ , moléculas del MHC clase I o clase II, la cadena ζ asociada a la cinasa de 70kDa (ZAP70), la cinasa específica de linfocitos (Lck) y el CD8 α (1). Los defectos en las subunidades del complejo CD3, el cual interviene en la señalización por medio del receptor de células T, causan fallas en la selección tímica y activación de los precursores T. Por su parte, las alteraciones en ZAP70, Lck, el MHC o CD8 α causan deficiencias específicas de subtipos de lin-

focitos T. Los defectos en la expresión del MHC pueden corresponder a las moléculas específicas de estas proteínas o a aquellas que intervienen en su producción y expresión en la superficie celular, por ejemplo, TAP1/TAP2 o tapasina (10). Contrario a las anteriores, la deficiencia de ZAP70 se caracteriza por su variabilidad fenotípica, presentándose normalmente con linfocitosis, ausencia de CD8+ y predominio de CD4+ afuncionales (11). Por su parte, las deficiencias de CD8 α causan una evidente ausencia de linfocitos T CD8+, con un predominio de linfocitos CD4- y CD8- (dobles negativos) (12). Algunas de estas mutaciones no resultan en una ausencia total de diferenciación de células T, por lo que no son clasificadas como SCID (2).

COEXISTENCIA DE INMUNODEFICIENCIA Y AUTOINMUNIDAD EN SCID

La coexistencia de inmunodeficiencia y autoinmunidad parece ser paradójica, tomando en cuenta que estas manifestaciones se encuentran en extremos opuestos de la respuesta inmune, pero aquella ha sido confirmada en varias inmunopatologías, entre las cuales se encuentran varias formas de SCID. De hecho, se ha observado que la mitad de los pacientes que presentan una deficiencia parcial en sus células T experimentan manifestaciones de autoinmunidad (13).

En JAK3-SCID y SCID ligada al X, se han observado algunos pacientes con poblaciones residuales de linfocitos T y eventos de autoinmunidad. De hecho, se propone que la señalización defectuosa por IL-2, la cual es un importante factor de crecimiento para células T reguladoras, podría hacer susceptibles a los pacientes para desarrollar manifestaciones de autoinmunidad en conjunción con su inmunodeficiencia (14).

El Síndrome de Omenn (OS) ha sido caracterizado, desde 1965, como una forma de SCID con eritrodermia, alopecia, hepatoesplenomegalia y linfadenopatía con infiltración histiocítica de tejidos, diarrea severa, hipoproteinemia con edema, eosinofilia y producción de IgE con una

Arrieta-Bolaños

expansión oligoclonal de células T (9,10,15,16). Se le llama SCID “con fisuras” o SCID atípico, por considerarse que una cierta población oligoclonal de linfocitos “escapa” a la inmunodeficiencia gracias a una expresión residual de los genes involucrados; es esta población la responsable de las manifestaciones autoinmunes en el síndrome. Como se mencionó antes, en pacientes con este síndrome, se ha descrito la mutación en los genes RAG 1 y 2 en la mayoría de los casos, pero también se han descubierto alteraciones de los genes de IL-7R α , Artemis y otros involucrados en el proceso de recombinación de segmentos de los genes de los receptores de células T y B. Sin embargo, no todas las formas del OS son atribuibles a estos trastornos (17) y cerca de la mitad de los casos carece de mutaciones conocidas (16).

Además, en el Síndrome de DiGeorge se ha observado que, en algunos pacientes, se desarrollan poblaciones oligoclonales de células T que no funcionan normalmente. Estas células son capaces de generar manifestaciones autoinmunes muy similares al OS.

Finalmente, un evento particular en pacientes con SCID y relacionado con manifestaciones autoinmunes es causado por la implantación transplacentaria de linfocitos maternos en el paciente. En estos casos, los linfocitos maternos ocupan un espacio que los linfocitos del paciente no utilizan, dándose una especie de enfermedad injerto contra huésped sin trasplante. En la piel de estos pacientes es posible observar desde erupciones morbiliformes hasta eritrodermia con alopecia (4).

Actualmente, se sabe que el entrenamiento tímico de los linfocitos para evitar la autoinmunidad depende de la actividad de un gen llamado *AIRE* (elemento regulador autoinmune), cuya expresión en las células epiteliales tímicas se ve estricta y precisamente influenciada por el estado de desarrollo de los timocitos. Además, la tolerancia periférica puede verse afectada en pacientes con SCID por un estado inflamatorio persistente, por la disponibilidad de “espacio inmunológico” para

los linfocitos que logran salir a circulación, por el fallo en las poblaciones de linfocitos T reguladores y por una baja en la complejidad del repertorio del receptor de células T (15).

En resumen, el mecanismo que lleva a la convivencia de dos tipos extremos de inmunopatología en el mismo paciente con alguna forma de SCID involucra la presencia de mutaciones hipomórficas en genes clave del sistema inmune, lo cual genera una población oligoclonal de células T restringida. Este evento desencadena una falta de control de la tolerancia, tanto a nivel central como periférico, que aparenta ser dependiente del tamaño de la población de células T funcionales, y una consecuente expansión oligoclonal de células T autorreactivas, llevando a las manifestaciones clínicas descritas anteriormente (13,15).

TRATAMIENTO DEL SCID

El tratamiento de los trastornos caracterizados como SCID involucra la terapia de reemplazo de componentes del sistema inmune, el trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) y, más recientemente, la terapia génica. El desarrollo de terapias para SCID ha contribuido al avance de la inmunoterapia en general, ya que fue para esta condición que se logró realizar el primer TCMH y también los primeros ensayos de terapia génica exitosos (2). A continuación, se detallan los avances, ventajas y desventajas de cada una de estas terapias.

Terapias de reemplazo

- Avances y ventajas

Las terapias de reemplazo han sido desarrolladas más tempranamente para el tratamiento de estos pacientes. Éstas son fácilmente aplicables con disponibilidad para la mayoría de los pacientes.

Las inmunoglobulinas obtenidas por fraccionamiento alcohólico de “pooles” de sueros humanos y administradas por vía intravenosa o subcutánea, en una concentración de 400-600

mg/kg, son utilizadas con éxito como soporte y prevención de daño pulmonar en pacientes con SCID (18).

Para el SCID debida a la deficiencia de ADA, la terapia de reemplazo enzimático por medio del uso de ADA bovina modificada con polietilenglicol ha sido un tratamiento efectivo para pacientes que no son candidatos para un TCMH (1).

-Desventajas y limitaciones

La principal limitación de las terapias de reemplazo es que su aplicación debe ser constante y de por vida, a la vez que la administración de ADA resulta específica solamente para uno de estos trastornos. La terapia de reemplazo es utilizada en pacientes que no son candidatos para terapias definitivas como son el TCMH o la terapia génica.

Trasplante de células madre hematopoyéticas

-Avances y ventajas

El TCMH es el tratamiento más efectivo para lograr la curación del SCID. De hecho, fue para tratar un caso de SCID que se realizó el primer TCMH humano exitoso del mundo, en 1968, lográndose una funcionalidad perdurable de la inmunidad en este paciente (19). Para el tratamiento de las SCID, se realizan trasplantes con donadores relacionados HLA-idénticos, donadores no relacionados HLA-idénticos y, más recientemente, con donadores haploidénticos con depleción de células T. Para cualquier fuente, se recomienda la aplicación del trasplante antes de los primeros 6 meses de vida para asegurar su efectividad (20). Más aún, los trasplantes realizados antes del primer mes de edad están asociados con una reconstitución más rápida, gracias, posiblemente, a su mayor capacidad tímica. Actualmente, se logra más de 90% de supervivencia en pacientes trasplantados con un donador HLA-idéntico relacionado, alrededor de 80% con donador HLA-idéntico no relacionado y alrededor de 70% en trasplantes con un donador familiar haploidéntico (3,20). La supervivencia

total de los pacientes con SCID tratados con un TCMH es de 71% a partir del año 2000 (21).

Una particularidad del TCMH para SCID, con respecto a otras enfermedades, es que el uso de un tratamiento mieloablativo preparatorio no es estrictamente necesario, debiendo evaluarse su uso con respecto al tipo de inmunodeficiencia presente y la capacidad de rechazo del paciente; la enfermedad injerto contra huésped es muy infrecuente si se utiliza un donador HLA-idéntico relacionado (2,19).

En el caso de los TCMH con donante haploidéntico, que son realizados con la infusión de células CD34+ preseleccionadas mediante técnicas automatizadas con electroesferas (19), se ha tenido menor éxito, debido, probablemente, a una mayor incidencia de enfermedad injerto contra huésped y una mayor incidencia de rechazo del trasplante, sobre todo en pacientes con fenotipo NK+ (2). En pacientes donde ha habido una implantación de células T maternas, se prefiere el uso de la madre como donante haplodéntica si se carece de un donante relacionado HLA-idéntico (20).

Ambas modalidades de TCMH poseen patrones de reconstitución de células T distintos, ya que con el donador HLA-idéntico se tiene la presencia temprana (10-15 días) de células T maduras con un fenotipo de memoria, la cual es seguida por la aparición de células T vírgenes 3 a 4 meses después del trasplante, mientras que con el donador haploidéntico no se presentan células T maduras tempranamente (2). En general, el TCMH con donador relacionado HLA-idéntico logra reconstituir los números y la funcionalidad de las células T más temprano que cuando se utiliza otro tipo de donadores.

Un área en desarrollo en cuanto a los TCMH para el tratamiento de SCID es la realización de trasplantes *in utero*, los cuales han sido realizados gracias a un diagnóstico prenatal. El primer caso fue reportado por Touraine *et al.* y correspondió a una niña con SCID autosómica recesiva, quien recibió un trasplante de timo e hígado fetal a las 7.5 semanas de gestación (19). Otros pacientes

Arrieta-Bolaños

tratados posteriormente con éxito, mediante esta modalidad de trasplante, demuestran la validez de esta opción de tratamiento temprano.

-Desventajas y limitaciones

A pesar de que, en los TCMH efectuados sin tratamiento mieloablativo, se ha visto una mayor supervivencia, en estudios a largo plazo se ha visto un declive acelerado en los indicadores de actividad tímica y en la generación de poblaciones oligoclonales de células T (1). De hecho, muchos pacientes demuestran una falta de reconstitución de la inmunidad humoral (incapacidad de realizar un cambio de isotipo), por lo cual deben continuar recibiendo inmunoglobulina intravenosa. Esto se debe a la presencia de un quimerismo parcial (>80%), en que los linfocitos T y NK son de origen del implante, mientras que las demás líneas hematopoyéticas siguen siendo del paciente (2). Lo anterior parece ser una consecuencia de la ausencia de implantación de las células madre en la médula ósea, restringiéndose ésta al timo. Además, la reconstitución de las células NK parece ser menos eficiente, posiblemente debido a una menor capacidad de expansión de sus precursores. De este modo, se propone que en los pacientes trasplantados sin tratamiento mieloablativo habrá un decaimiento progresivo de la producción de células T y NK post-injerto, dada la reducción crónica de la actividad del timo y un número finito de precursores en ausencia de mayor intervención inmunológica (2). De hecho, 10 a 15 años después del TCMH no mieloablativo, es imposible detectar células T vírgenes en estos pacientes; el estado del tejido tímico al momento del trasplante parece ser otro factor determinante en este proceso. Para evitar estas complicaciones a largo plazo, se propone la administración de trasplantes suplementarios con mieloablación o el uso de terapia génica complementaria.

Terapia génica

-Avances y ventajas

En la mayoría de los fenotipos de SCID, una mutación espontánea reversora del defecto

genético (es decir, una mutación que convierte el gen mutado a su estado normal) confiere una ventaja adaptativa para esa célula y sus clones, lo cual, en los raros casos en que esto se da, desemboca en una expansión del clon revertido (que perdió la mutación) y una recuperación clínica del paciente. Este hecho sugirió desde hace mucho la susceptibilidad de estos trastornos ante la terapia génica (22).

La terapia génica ha sido probada en estudios *in vitro* para SCID ligada al X, deficiencia de JAK3 y deficiencia de RAG-2 (2); ha sido aplicada con éxito en pacientes con SCID debida a dos formas de SCID: deficiencia de γ_c y de ADA. Solamente un paciente ha sido tratado por mutación en JAK3, pero sin éxito. Desde 1999 hasta 2002, aproximadamente 20 pacientes en ensayos clínicos, en Francia, Reino Unido y Estados Unidos, fueron sometidos a este tipo de terapias, lográndose un tratamiento exitoso en 17 de ellos (23). El estudio francés, liderado por Alain Fischer, trató 11 pacientes entre 2000 y 2002, obteniendo reconstitución estable de la inmunidad en 9 pacientes y detectando células T y NK 30-40 días después del tratamiento (3). Sin embargo, 4 de los niños tratados tempranamente (1 y 3 meses de edad) desarrollaron una expansión clonal de células T (ver más adelante). Actualmente, luego de haber sido suspendido mientras se aclaraban estos efectos adversos, el programa francés ha sido reabierto con restricciones, como la exclusión de niños menores de 6 meses (7), tomando en cuenta que las características hematopoyéticas de los pacientes en edad muy temprana podrían haber contribuido al desarrollo de estos trastornos (2). Hasta finales de 2007, había 8 ensayos clínicos en marcha para terapia génica contra SCID, sumando un total de 53 pacientes tratados en observación (22).

Los vectores utilizados hasta el momento para estas terapias incluyen virus ARN (retrovirus, lentivirus y espumavirus), adenovirus y herpesvirus; se ha experimentado también con medios físicos (microinyección directa, electroporación) o químicos (virus artificiales, liposomas, polímeros) para lograr la transfección del gen de interés (18).

Etiología molecular y tratamiento en SCID

Los vectores virales, específicamente los de ARN, son los más utilizados para la terapia génica. Los γ -retrovirus, como el virus de la leucemia murino, son utilizados como base para la generación de una forma con incapacidad de replicación, sustituyendo las regiones codificadoras por proteínas virales con el gen de interés en el genoma del vector, pero manteniendo aquellas necesarias para la transcripción e integración (23). El empacamiento del provirus con el gen de interés se realiza en *trans*, es decir, en otras células empacadoras que expresen genes *gag*, *pol* y *env* de otro virus.

En cuanto a los lentivirus utilizados, éstos son derivados del HIV-1 al cual se eliminan ciertas proteínas superficiales y se le agregan glicoproteínas de otros virus, como el de la estomatitis vesicular, para aumentar su ámbito de receptores en células hospederas y su tropismo celular (23). Los lentivirus y espumavirus están siendo investigados como substitutos de los γ -retrovirus, ya que, a diferencia de éstos, son menos dependientes de la división celular pues son capaces de atravesar la membrana nuclear y tienen una menor tendencia a integrarse en zonas de inicio de la transcripción (22,24). Estas propiedades hacen que no requieran de cultivos en estado de mitosis activa para integrarse, reduciendo el riesgo de maduración y mutación en las células por transfundir (25). Además, los espumavirus son candidatos atractivos pues no son patógenos humanos (24).

Los vectores retrovirales se integran de manera estable en el ADN celular, pero el sitio específico de esta inserción no puede ser predicho (1). En el ensayo francés, se utilizó un vector retroviral con duplicación defectuosa para transfectar células CD34+ autólogas con el gen γ_c , las cuales fueron luego infundidas sin tratamiento mieloablativo (23). Células que expresan el transgén pudieron ser identificadas a los 3 meses post-tratamiento, lográndose niveles normales de células T $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$. Asimismo, se logró un cambio de isotipo funcional y las células NK también fueron reconstituidas.

La transfección de las células madre provenientes de médula ósea, sangre periférica o de cordón umbilical es llevada a cabo *ex vivo*, para luego ser reintroducidas por medio de una transfusión en un número de 300 millones (18). Un aspecto importante para el éxito de la terapia génica es el número de células progenitoras corregidas que es infundido al paciente (23). Desafortunadamente, hasta el momento, un método de rutina para la amplificación segura *ex vivo* de células madre hematopoyéticas humanas no está disponible (25).

-Desventajas y limitaciones

Se ha visto el desarrollo de desórdenes linfoproliferativos en niños tratados con transducción del gen para la cadena común γ de los receptores de citocinas (γ_c), pero no para la terapia génica para la deficiencia de ADA (17). De hecho, de los 20 pacientes tratados hasta 2002, 4 desarrollaron leucemia linfoblástica aguda entre 2 y 6 años luego de la terapia. En los primeros 2 pacientes se identificó la inserción del vector cerca del promotor del gen *LMO2* (*LIM domain only 2* (*rhombotin-like 1*)) (causando su sobreexpresión), el cual es un factor de transcripción importante en la hemopoiesis funcionando como puente entre complejos multiproteicos que intervienen en el control de la división celular y es expresado tempranamente durante el desarrollo de los precursores tímicos (7,8,10,26).

En total, hasta 2007, se contabilizaban 5 pacientes sometidos a terapia génica para tratar su SCID que desarrollaron desórdenes linfoproliferativos (22). En 4 de estos pacientes fue posible identificar una alta expresión de *LMO2*. Recientemente, se ha encontrado que en el 3^{er} y 4^{to} paciente la inserción no se situó cerca de *LMO2*, sino cerca de los oncogenes *LYL1*, *c-Jun* y *Bmi1* en el tercero, y cerca de *CCND2* (ciclina D2) en el cuarto (22, 26). Más aún, se ha propuesto que la expresión de γ_c (una señal de proliferación) por las células transfectadas habría dado un segundo impulso al proceso neoplásico, pero los resultados

Arrieta-Bolaños

sobre esto han sido contradictorios (3, 26). Sin embargo, de estos 5 pacientes solamente 1 ha muerto, y 4 se encuentran en remisión luego de tratamiento quimioterapéutico.

Como respuesta a los problemas anteriores, se trabaja en el desarrollo de varias estrategias para prevenir la oncogenicidad de los vectores utilizados en la terapia génica. Varios vectores autoinactivadores (carentes de las secuencias *enhancer* del retrovirus, LTR) han sido generados para aumentar la seguridad del proceso de transfección, pero requieren de la adición de un promotor interno (24). Además, se estudia la adición de material genético aislador que limite los efectos de la secuencia integrada sobre genes de la célula receptora. Finalmente, se trabaja en la inserción de un gen suicida, como una timidina cinasa, en la construcción del vector, para utilizarlo en caso de detectar proliferación maligna en las células transfectadas, y en la adición de genes supresores de tumores que respondan ante transformaciones malignas de estas células (23, 27). Otros tipos de vectores para los cuales sí es posible dirigir o predecir el sitio de integración también son evaluados como alternativas, y se trabaja también en mecanismos enzimáticos de reparación de genes y recombinación homóloga, los cuales harían innecesaria la transfección *ex vivo* (27).

La terapia génica manifiesta una aparente ventaja sobre el TCMH en cuanto a la duración de la reconstitución inmunológica, sin embargo, existen limitaciones para esta terapia. Así, se ha visto el fallo de esta terapia en pacientes con esplenomegalia por infecciones diseminadas y en pacientes de mayor edad posiblemente por reducción de la función tímica, haciendo factible la existencia de una ventana estrecha de aplicabilidad de estas terapias (2). Además, se ha observado que, de igual manera que en el caso del TCMH, el éxito de la terapia génica para el SCID por deficiencia de ADA depende en gran medida de la suspensión de la terapia de reemplazo enzimática (22).

Actualmente, los ensayos clínicos para el tratamiento del SCID y otras inmunodeficiencias

primarias (IDP) continúan en Europa, mientras que la terapia génica en Estados Unidos se restringe en estos momentos a pacientes que sufren de SCID ligada al X y que tienen pocas probabilidades de sobrevivir a un TCMH alogénico, o a aquellos que ya han sido tratados con trasplante pero éste ha fallado (17). Asimismo, ensayos clínicos con terapia génica para otras formas de SCID como las causadas por mutaciones en proteínas como Artemis o ZAP-70 podrían comenzar en el futuro cercano.

TAMIZAJE NEONATAL PARA SCID

Un aspecto fundamental para lograr la efectividad de los tratamientos disponibles y la supervivencia de los individuos que sufren de SCID es su diagnóstico temprano. El SCID no tratada es incompatible con la vida y un atraso en el diagnóstico es causa de muerte o de fracaso terapéutico, sobre todo por daño orgánico (en especial, al pulmón) por infecciones recurrentes. De hecho, se considera el SCID como una emergencia pediátrica y, a pesar de esto, la mayor parte de los infantes con SCID no son diagnosticados a tiempo (en el período preinfectioso) (28); esto hace indispensable una correcta caracterización clínica y molecular del trastorno presente para lograr una rápida y exitosa intervención. Dados que el diagnóstico de SCID debe hacerse lo más temprano posible y que la mayoría de los casos no posee una historia familiar presuntiva (28), se ha propuesto, desde hace algún tiempo, el diseño de programas de tamizaje neonatal para esta entidad. De igual manera, en familias con al menos un individuo afectado, se han utilizado pruebas moleculares para hacer un diagnóstico prenatal en el individuo, mediante biopsia de las vellosidades coriónicas entre la 8a. y la 10a. semana de gestación (19), lo que permitió la aplicación de TCMH inclusive antes de los 3.5 meses de edad (28). Esta práctica ha demostrado una clara ventaja en la supervivencia y un menor costo del tratamiento del paciente.

La deficiencia en el diagnóstico clínico también es un factor más a favor del tamizaje neonatal para SCID. Se argumenta que, al menos,

la misma cifra de casos diagnosticados se deja de diagnosticar por muerte de los pacientes antes del diagnóstico (28), lo cual significaría al menos 100 casos nuevos por año en los EE.UU.

Recientemente, los Centros para el Control de Enfermedades (CDC) estadounidenses han identificado al SCID como candidata para el desarrollo de un programa de tamizaje neonatal para su diagnóstico (1). Muchas modalidades de exámenes han sido estudiadas; sin embargo, la más promisoría es la cuantificación genética de los círculos de escisión del receptor de células T, o TRECs, mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa, la cual puede ser realizada en muestras de sangre secas, recogidas en tarjetas de Guthrie, con bajo costo y buen desempeño (29). Otras pruebas propuestas y en estudio son la cuantificación de IL-7 o de proteínas específicas de las células T, como CD3 o CD45 (28). Sin embargo, la validación completa de una técnica diagnóstica para SCID adaptable a los sistemas de tamizaje todavía está en proceso; principalmente por el requerimiento de un muy alto valor predictivo positivo, a fin de reducir los falsos positivos o resultados indeterminados que se presentan por la rareza del SCID. De hecho, sólo algunos estados de los EE.UU. han adoptado estas pruebas como rutina (2).

TERAPIA INMUNOSUPRESORA ASOCIADA A JAK3-SCID

El amplio conocimiento molecular que se posee sobre las etiologías del SCID ha traído beneficios en el campo de la terapéutica inmunológica. La identificación de las mutaciones en JAK3, como causa de SCID, y del papel restringido de estas cinasas en la señalización intracelular del sistema inmune han volcado la atención de la industria farmacéutica productora de drogas inmunosupresoras hacia el desarrollo de nuevas terapias basadas en la inhibición de JAK3 (12). De este modo, se busca el desarrollo de una nueva clase de inmunosupresores que mejoren la efectividad que poseen las drogas actuales, las cuales, al

ser en su mayoría inhibitorias de las calcineurina (como la ciclosporina A o el tacrolimus), poseen un ámbito de acción celular amplio, con una serie de riesgos y desventajas asociados. Así, la ventaja de inhibidores de la JAK3 sería la especificidad y los límites de sus efectos.

Varios estudios han reportado el desarrollo de inhibidores de JAK3; de hecho, algunos ya han salido al mercado, pero con efectividades variables (8). Uno de los productos más prometedores es un inhibidor de JAK3 oral: el CP-690,550. Este compuesto tiene potencia nanomolar contra la cinasa, a la vez que mantiene una buena especificidad con respecto a otras JAK. Se ha reportado un posible efecto sinérgico entre este compuesto y un inhibidor de la calcineurina, sin causar granulocitopenia ni trombocitopenia (8). La utilidad del CP-690,550 ha sido confirmada en estudios *in vitro*, en modelos de trasplante murinos y en primates no humanos; además, en estudios clínicos para artritis reumática, psoriasis y trasplante renal (12). Otro inhibidor de JAK3, el R348 de Rigel Pharmaceuticals, se encuentra en estudio de fase 1 para artritis reumática. Las casas Wyeth/Pharmacopeia y Cytobia/Novartis poseen también estudios preclínicos en la materia. Actualmente, se propone la utilidad de estos inhibidores en el tratamiento de malignidades hematológicas, rechazo a trasplantes o enfermedades autoinmunes; también para enfermedades mediadas por linfocitos B.

CONCLUSIONES

Las IDP, en específico los cuadros de SCID, son enfermedades graves, invariablemente mortales sin intervención médica oportuna. Actualmente, el conocimiento sobre las bases moleculares de este grupo heterogéneo de trastornos ha avanzado significativamente, permitiendo comprender más a fondo tanto el mecanismo fisiopatológico que genera las manifestaciones clínicas en los pacientes como el funcionamiento molecular del sistema inmune, al estudiar los efectos de dichas mutaciones. Al presente, se conocen al menos 13

Arrieta-Bolaños

alteraciones genéticas que causan SCID; pero este número es susceptible de aumentar en un futuro cercano, conforme se avance en el conocimiento de los genes del sistema inmunológico. Todo este conocimiento ha llevado, incluso, a la generación de prometedoras terapias inmunosupresoras, las cuales ya ingresan en el arsenal inmunofarmacológico. El reconocimiento de que versiones aparentemente opuestas de la inmunopatología pueden convivir en el mismo paciente ha cambiado la visión del espectro de la patología inmune; ha generado conocimiento sobre la fina interrelación entre la inmunodeficiencia parcial y la desregulación autoinmune. Mediante este razonamiento, es posible interpretar correctamente las observaciones clínicas realizadas, desde décadas atrás, en cuadros otrora incomprensibles, como el Síndrome de Omenn. Además, este concepto abre una serie de interrogantes sobre si ambos procesos –la inmunodeficiencia parcial y la autoinmunidad– están involucrados en patologías que, hasta el momento, son conocidas solamente como autoinmunes, como la artritis reumática o el lupus eritematoso; lo cual puede tener implicaciones en el manejo que se lleva a cabo en estos pacientes. Por otra parte, un aspecto muy positivo que deja el SCID a la Medicina es el impulso que se ha dado al desarrollo de terapias para curar esta enfermedad, que ahora trascienden el ámbito de la inmunodeficiencia y son aplicadas para el tratamiento de otras patologías, como malignidades o deficiencias enzimáticas congénitas. Así, el primer trasplante de células madre exitoso y el primer ensayo exitoso con terapia génica han sido realizados en pacientes con SCID. La investigación en estas terapias continúa su mejoramiento; se espera lograr mejores tasas de supervivencia para todos los grupos de pacientes, en un futuro cercano, garantizando la seguridad de estas terapias. Por último, la importancia de un diagnóstico temprano para garantizar el éxito de las terapias curativas y salvar la vida del paciente con SCID ha llevado a la formulación de programas de tamizaje neonatal o, inclusive, diagnóstico prenatal

en algunos lugares del mundo. En consecuencia, nuestros países deberían evaluar su aplicabilidad y su pertinencia, con el propósito de introducir en sus paneles de tamizaje alguna prueba para la detección de SCID. Probablemente, en poco tiempo sean incluidos análisis estandarizados para lograr este objetivo.

REFERENCIAS

1. **Cunningham-Rundles C, Ponda PP.** Molecular defects in T- and B-cell primary immunodeficiency diseases. *Nat Rev Immunol* 2005; 5:880-92.
2. **Fischer A, Le Deist F, Hacein-Bey-Abina S, André-Schmutz I, Basile Gde S, de Villartay JP, et al.** Severe combined immunodeficiency. A model disease for molecular immunology and therapy. *Immunol Rev* 2005; 203:98-109.
3. **Pesu M, Candotti F, Husa M, Hofmann SR, Notarangelo LD, O'Shea JJ.** Jak3, severe combined immunodeficiency, and a new class of immunosuppressive drugs. *Immunol Rev* 2005; 203:127-42.
4. **Sillevis-Smitt JH, Wulfraat NM, Kuijpers TW.** The skin in primary immunodeficiency disorders. *Eur J Dermatol* 2005; 15:425-32.
5. **Anónimo.** Severe combined immunodeficiency: A tale of two brothers. *Paediatr Child Health* 2008; 13:386.
6. **Pike-Overzet K, van der Burg M, Wagemaker G, van Dongen JJ, Staal FJ.** New insights and unresolved issues regarding insertional mutagenesis in X-linked SCID gene therapy. *Mol Ther* 2007; 15:1910-6.
7. **Ochs HD, Notarangelo LD.** X-linked immunodeficiencies. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004; 4:339-48.
8. **O'Shea JJ, Husa M, Li D, Hofmann SR, Watford W, Roberts JL, Buckley RH, et al.** Jak3 and the pathogenesis of severe combined immunodeficiency. *Mol Immunol* 2004; 41:727-37.
9. **Sobacchi C, Marrella V, Rucci F, Vezzoni P, Villa A.** RAG-dependent primary immunodeficiencies. *Hum Mutat* 2006; 27:1174-84.
10. **Bonilla FA, Geha RS.** Update on primary immunodeficiency diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:S435-41.
11. **Turul T, Tezcan I, Artac H, de Bruin-Versteeg S, Barendregt BH, Reisli I, et al.** Clinical heterogeneity can hamper the diagnosis of patients with ZAP70 deficiency. *Eur J Pediatr* 2009; 168:87-93.
12. **de la Calle-Martin O, Hernandez M, Ordi J, Casamitjana N, Arostegui JI, Caragol I, et al.** Familial CD8 deficiency due to a mutation in the CD8 alpha gene. *J Clin Invest* 2001; 108:117-23.
13. **Liston A, Enders A, Siggs OM.** Unravelling the asso-

Etiología molecular y tratamiento en SCID

- ciation of partial T-cell immunodeficiency and immune dysregulation. *Nat Rev Immunol* 2008; 8:545-58.
14. **Pesu M, Laurence A, Kishore N, Zwillich SH, Chan G, O'Shea JJ.** Therapeutic targeting of Janus kinases. *Immunol Rev* 2008; 223:132-42.
 15. **Milner JD, Fasth A, Etzioni A.** Autoimmunity in severe combined immunodeficiency (SCID): lessons from patients and experimental models. *J Clin Immunol* 2008; 28(Suppl 1):S29-33.
 16. **Villa A, Notarangelo LD, Roifman CM.** Omenn syndrome: inflammation in leaky severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122:1082-6.
 17. **Shearer WT, Fischer A.** The last 80 years in primary immunodeficiency: how far have we come, how far need we go?. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:748-52.
 18. **García JM, Español T, Gurbindo MD, Casas CC.** Update on the treatment of primary immunodeficiencies. *Allergol Immunopathol* 2007; 35:184-92.
 19. **Olaya-Vargas A, Coronel-Moran R, Rivera-Luna R, Bravo-Lindoro A, Bejar-Ramírez Y, Lormendez-Jacome D.** Hematopoietic stem cell transplant in combined immunodeficiency syndromes of childhood: an optimal treatment for primary immunodeficiency. *Rev Invest Clin* 2005; 57:324-32.
 20. **Dvorak CC, Cowan MJ.** Hematopoietic stem cell transplantation for primary immunodeficiency disease. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41:119-26.
 21. **Gennery AR, Cant AJ.** Advances in hematopoietic stem cell transplantation for primary immunodeficiency. *Immunol Allergy Clin North Am* 2008; 28:439-56.
 22. **Thrasher AJ.** Gene therapy for primary immunodeficiencies. *Immunol Allergy Clin North Am* 2008; 28:457-71.
 23. **Cavazzana-Calvo M, Fischer A.** Gene therapy for severe combined immunodeficiency: are we there yet? *J Clin Invest* 2007; 117:1456-65.
 24. **Sokolic R, Kesserwan C, Candotti F.** Recent advances in gene therapy for severe congenital immunodeficiency diseases. *Curr Opin Hematol* 2008; 15:375-80.
 25. **Zubler RH.** Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells and gene therapy development. *Swiss Med Wkly* 2006; 136:795-9.
 26. **Pike-Overzet K, van der Burg M, Wagemaker G, van Dongen JJ, Staal FJ.** New insights and unresolved issues regarding insertional mutagenesis in X-linked SCID gene therapy. *Mol Ther* 2007; 15:1910-6.
 27. **Strauss BE, Costanzi-Strauss E.** Combating oncogene activation associated with retrovirus-mediated gene therapy of X-linked severe combined immunodeficiency. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40:601-13.
 28. **Puck JM.** Neonatal screening for severe combined immune deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007; 7:522-7.
 29. **Lorenzi AR, Patterson AM, Pratt A, Jefferson M, Chapman CE, Ponchel F, et al.** Determination of thymic function directly from peripheral blood: a validated modification to an established method. *J Immunol Methods* 2008; 339:185-94.