

## Tamizaje de inmunodeficiencia combinada grave y su oportunidad para implementarse en México

Santiago Rodríguez Castro,\* Sara Elva Espinosa Padilla\*\*

### RESUMEN

La inmunodeficiencia combinada grave comprende una variedad de defectos génicos que, con distintos patrones de deficiencia inmunitaria celular, pueden ser letales durante los primeros años de vida. Sin embargo, existen distintos métodos para detectarla y tratarla. Si esto ocurre durante los primeros meses de vida, el pronóstico es excelente. Los avances en la tecnología y la viabilidad de los círculos de excisión de células T (TRECs) y su implementación a gran escala, principalmente en Estados Unidos, han demostrado que el tamizaje es eficaz y costo-efectivo. En México, el diagnóstico y tratamiento de estos defectos son ya una realidad, por lo que incluirlos en el tamiz neonatal es una oportunidad para prevenir a gran escala las complicaciones y costos derivados de no diagnosticar y tratar estos padecimientos a tiempo.

**Palabras clave:** Inmunodeficiencia, inmunodeficiencia combinada grave, tamizaje, terapia génica, trasplante de precursores hematopoyéticos, círculos de excisión de células T.

### ABSTRACT

*Severe combined immunodeficiency comprises a variety of genetic defects that, with different patterns of cellular deficiency, are frequently lethal during the first years of life. However, it is now; throughout different techniques, a very treatable disease with excellent prognosis if recognized during the first three months of life. Advances in technology, the discovery and reliability of T-cell excision circles (TREC's), and big-scale implementation have rendered screening affordable mainly in the United States. In Mexico, diagnosis and treatment are also a reality; therefore aiming to screen for this disorders is an important step to prevent big-scale complications and derived costs.*

**Key words:** Immunodeficiency, severe combined immunodeficiency, screening, gene therapy, hepatopoietic precursor transplantation, T-cell excision circles.

www.medicgraphic.org.mx

### Abreviaturas:

IL = Interleucina.

TREC = Círculos de excisión del receptor de células T.

IDCG = Inmunodeficiencia combinada grave.

ADA = Adenosín desaminasa.

\* Alumno del Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM), Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

\*\* Jefa de la Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias, Instituto Nacional de Pediatría.

Sede: Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias, Instituto Nacional de Pediatría.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medicgraphic.com/alergia/>

## INTRODUCCIÓN

La inmunodeficiencia combinada grave (IDCG) es un síndrome que puede ocurrir como consecuencia de mutaciones en genes cuyos transcriptos desempeñan una función esencial para el desarrollo y la función linfocitaria; comprometiendo al sistema inmune tanto a nivel humorar como celular. La denominación grave proviene de su alta mortalidad por infecciones desenfrenadas los primeros años de vida.

La afección puede comprometer, según la función que desempeñe el transcripto del gen, la función de los linfocitos B, los linfocitos T, los linfocitos NK, o ser mixta y afectar dos o más de estas poblaciones celulares. El fenotipo funcional de los linfocitos, según la mutación determinante, será el que dicte la fisiopatología, el estado inmunológico, y la susceptibilidad a determinados tipos de infecciones en el paciente con IDCG. Las distintas formas de clasificar al IDCG se han derivado de este mismo precepto. La subclasiificación tradicional de IDCG como T-B+NK+, T-B+NK-, T-B-, NK+, o T-B-NK- se forma tras la determinación de los linajes linfocitarios afectados. La IDCG también puede subclasiificarse por los mecanismos celulares del linfocito afectados en cinco categorías: señalización de citocinas, recombinación V(D)J del receptor de células T (TCR) y de los genes de inmunoglobulina, presentación de antígeno, señalización del TCR, y funciones celulares básicas.<sup>1</sup> Su mecanismo de herencia es otra manera de clasificarlos; éstos pueden ser ligados a X, autosómicos recesivos o desconocidos.

## FISIOPATOLOGÍA Y ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

### T-B+NK-

Su aparición está condicionada por defectos moleculares que afecten tanto el desarrollo de los linfocitos T como los NK. El gen afectado con mayor frecuencia es IL2RG en el cromosoma Xq13, que codifica para la cadena gamma común de los receptores de IL2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, e IL-21.<sup>2,3</sup> La activación de la vía del receptor de IL-7 es crucial para el desarrollo de los linfocitos T en el timo y para su supervivencia en la periferia. La activación de la vía del receptor de IL15 es un estímulo del que dependen los linfocitos NK para sobrevivir. El compromiso de la vía de la IL4 impide a los linfocitos B producir anticuerpos de forma eficiente; si bien con este defecto no se compromete su número, su función si lo está. JAK3 (cinasa Janus 3) es una cinasa intracelular importante para activación de mecanismos de supervivencia de linfocitos T y NK.<sup>4</sup>

### T-B-NK+

La recombinación de receptores es un proceso por el que los linfocitos B y T deben de pasar durante su de-

sarrollo. Cuando este proceso falla, el resultado es la apoptosis.<sup>5</sup> Las proteínas RAG1 y 2 escinden puntos del DNA que permiten la recombinación. Tras la escisión, se forman unas asas de DNA entre cadenas que son blanco de ARTEMIS para que los segmentos de DNA vuelvan a unirse.<sup>5</sup> La disfunción de alguno de estos mecanismos es responsable de este fenotipo.

### T-B+NK+

Los mecanismos que previenen la apoptosis en las células T son la activación del TCR y la vía del receptor de IL-7. El receptor de IL-7 se compone de varias cadenas; entre ellas la ya mencionada gamma y también la cadena alfa. Cuando la cadena alfa se ve afectada de manera selectiva, son los linfocitos T cuya supervivencia está comprometida. Por otra parte, el CD3 es una molécula complementaria a la señalización del TCR, por lo que cuando alguna de las cadenas que lo conforman se encuentra mutada, son incapaces de sobrevivir. CD45 es una tirosina fosfatasa que permite activar a otras cinasas indispensables en la activación del linfocito T.<sup>6</sup> La coronina-1A es una molécula que interviene en la polimerización de actina y que, al parecer, requieren los linfocitos T para poder salir del timo hacia la periferia.<sup>7</sup> Estas moléculas no desempeñan una función que comprometa la supervivencia o función de los linfocitos B o NK.

### T-B-NK-

Es el fenotipo más grave. La función linfocitaria está comprometida en todos sus linajes. Los linfocitos son células con altas tasas de metabolismo y proliferación, por lo que cuando la función de ADA (adenosín desaminasa) que es esencial para la vía de rescate de las purinas está comprometida, la acumulación de metabolitos tóxicos es inminente y como consecuencia hay toxicidad y muerte celular.<sup>8</sup>

## EPIDEMIOLOGÍA

Existen pocos datos sobre la prevalencia de la IDCG a nivel global. Estudios en Estados Unidos estiman que una de cada 1,200 personas en este país padecen una inmunodeficiencia primaria. Se especula que 9% de las personas con una inmunodeficiencia primaria en Estados Unidos padecen IDCG.<sup>9</sup> Por otra parte, en Australia y Nueva Zelanda se reporta una prevalencia de inmunodeficiencias primarias de 12.4 por 100,000 habitantes. La IDCG ocupa tan sólo 3.4% de todas éstas. En México no se cuenta con datos epidemiológicos globales. México contribuyó en 1998 y el 2007 a la base de datos del LAGID (Grupo Latinoamericano de Inmunodeficiencias Primarias) con 60 pacientes diagnosticados con IDCG, siendo la tercera inmunodeficiencia primaria más diagnosticada para este fin.<sup>10</sup>

## CUADRO CLÍNICO

La presentación clínica de la IDCG es variable. Las presentaciones tardías pueden consistir en candidiasis oral resistente a nistatina, la diarrea persistente y la neumonitis intersticial son los patrones de infección característicos en el primer año de vida. Es importante tomar en cuenta los antecedentes familiares durante la valoración clínica.<sup>11</sup> La malnutrición y el fallo de medro por un estado catabólico debido a las infecciones recurrentes son frecuentes. Debe sospecharse de presentarse BCGitis y BCGosis, que hasta la mitad de pacientes con IDCG presentan tras su aplicación.<sup>11</sup> Deben interrogarse intencionadamente antecedentes de inmunodeficiencias primarias y de muertes tempranas; sobre todo de tíos maternos para la afección de ILR2G. Es poco frecuente, pero se han descrito casos de enfermedad de injerto contra huésped por la incapacidad del paciente para rechazar la transfusión de linfocitos maternos; suele ser un cuadro grave y resistente a inmunosupresores.<sup>11</sup> A la exploración física, los pacientes con IDCG suelen tener muy poco tejido linfoide en el anillo de Waldeyer y no suelen encontrarse adenopatías.<sup>3</sup>

## DIAGNÓSTICO

### CUENTA LINFOCITARIA ABSOLUTA Y SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

En la biometría hemática, la gran mayoría de los pacientes tienen una cuenta linfoцитaria menor a 2,000 células/mm<sup>3</sup>.<sup>12</sup> La cuantificación de los niveles séricos de inmunoglobulina arroja con frecuencia cuentas bajas, sobre todo en los casos B-. Por citometría de flujo se deben identificar las subpoblaciones linfoцитarias afectadas. Es importante realizar pruebas con mitógenos (fitohemaglutinina o concanavalina A), que de resultar negativa orienta de manera importante a esta patología. Durante la infancia, pueden aparecer falsos negativos como consecuencia de la transferencia pasiva de IgG materna. Es crucial realizar pruebas cuantitativas de las subpoblaciones de linfocitos; con el fin de poder clasificar en un fenotipo particular y *a posteriori* buscar defectos génicos específicos. En los estudios de imagen es frecuente encontrar ausencia o hipoplasia del timo; siendo la excepción la deficiencia de coroina-1A; donde los linfocitos quedan atrapados en el timo y por ende su tamaño se ve incrementado.<sup>7</sup>

### CUENTA LINFOCITARIA ABSOLUTA

Buckley y Puck propusieron este método diagnóstico en 1997 bajo la lógica de que si la proliferación de algunas líneas de linfocitos se encuentra afectada, el número total también debería de estarlo.<sup>13</sup> Sin embargo, esta prueba tiene una alta tasa de falsos negativos. Ello ocurre porque los pacientes que tienen B+ y NK+ tienen mayor proliferación de estas células cubriendo el *pool* celular,

además de tener persistencia de la población de linfocitos maternos circulantes.<sup>14</sup>

### SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

#### TRECs

La amplificación de círculos de escisión del receptor de células T (TRECs) a través de RQ-PCR (reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real) es uno de los métodos para diagnosticar IDCG. Los TRECs son fragmentos circulares de DNA que se escinden entre segmentos V(D)J cuando ocurre la recombinación del TCR en los linfocitos T a su paso por el timo. Estos fragmentos no formarán parte del TCR. Al final de la recombinación, a cada TCR resultante le corresponderá un TREC. Los TREC son estables y no se duplican, por lo que se mantienen en número a pesar de la división celular. Por lo tanto, entre más proliferen los linfocitos T, estos fragmentos se ven más diluidos, pero su número absoluto sigue siendo indicativo de la cantidad de linfocitos T que egresaron del timo con un TCR recombinado, independientemente de la proliferación periférica (*Figura 1*).<sup>14-16</sup>

La activación y recombinación efectiva son esenciales para que un linfocito T pueda salir del timo. Si por alguna razón esto no ocurre, en mayor medida en la IDCG, habrá menos células que hayan recombinado de manera efectiva y presenten un TREC que lo demuestre en sangre periférica. Bajo este supuesto es que se ha demostrado que los TREC son un excelente biomarcador de recombinación efectiva en el timo.<sup>17</sup> Los pacientes con IDCG tienen menor cantidad de TRECs que sujetos normales pareados.<sup>15</sup>

Durante la prueba, se usa la amplificación de un gen de expresión constitutiva (habitualmente beta-actina o RNasaP) que está presente de manera homogénea en las células. Este control se utiliza para distinguir muestras con bajos TREC por falta de células T de muestras en las que pudiera haber degradación del DNA. La muestra se obtiene tomando una gota de sangre de al menos 50  $\mu$ L, en papel Guthrie, se deja a secar, y se puede mantener por más de 20 años a -20 °C.

El número de copias de TREC se calcula realizando una curva de calibración en la que se introducen diluciones de plásmidos o líneas celulares con una cantidad previamente conocida de copias de TREC.<sup>18</sup>

Cq es el número de ciclos de amplificación en el PCR en el que la señal fluorescente alcanza el umbral de detección. Cuando el número de TRECs es cero, no hay Cq reportable. Para validar el resultado de la prueba de TRECs se utilizan dos referencias: un blanco (que de detectarse sería error tipo 1) y una muestra con un número determinado de TREC (la falla para detectarlos sería error tipo 2).<sup>19</sup>

La cantidad de TREC varía con la edad, siendo hasta 100 veces menor en el adulto que en el neonato.<sup>15</sup>

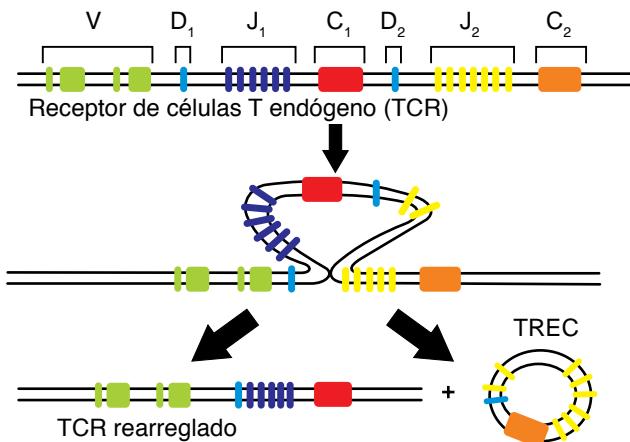


Figura 1. Generación de TREC.<sup>20</sup>

Ello refleja la predominancia de la proliferación celular en etapas tardías versus la generación de nuevos linfocitos perinatales manteniendo el pool linfocitario. La disminución en el número de TREC se ha probado menor incluso en presencia de transferencia materna de linfocitos. La disminución cuantitativa de TREC es independiente de la mutación causante de la IDCG.<sup>15</sup>

El último paso en la valoración son las pruebas genéticas, que permitan identificar el gen afectado.

#### TRATAMIENTO DE IDCG

##### TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS

El trasplante de precursores hematopoyéticos ha demostrado ser una excelente alternativa terapéutica para los pacientes con IDCG.<sup>3</sup> Dicha conclusión surge del análisis del estudio publicado en 2009 por el *Primary Immune Deficiency Treatment Consortium*. En dicho estudio, analizaron los desenlaces del alotrasplante de médula ósea en una cohorte multicéntrica de pacientes diagnosticados con IDCG del año 2000 al 2009. La supervivencia global fue del 74%. Algunos desenlaces estuvieron condicionados por el tipo de donador. La necesidad de terapia de sustitución con inmunoglobulina, la cuenta de células T CD3+ y la recuperación de cifras de IgA fueron mayores en el grupo que recibió el alotrasplante proveniente de donador relacionado. Los grupos que recibieron un trasplante de precursores provenientes de cordón umbilical o de médula ósea de donadores no relacionados tuvieron una mayor incidencia de un segundo trasplante comparados con los que lo recibieron de algún hermano. Los pacientes que requirieron un segundo trasplante tuvieron una menor supervivencia (54%). La supervivencia se incrementó significativamente hasta un 94% en quienes recibieron el trasplante antes de los 3.5 meses de edad. Para quienes lo recibieron después

la supervivencia fue un poco menor (90%). Sin embargo en los pacientes que tenían infección activa y más de 3.5 meses de edad la supervivencia fue tan sólo del 50%. La infección activa y durante el procedimiento y la necesidad de un segundo trasplante fueron las variables asociadas a un peor pronóstico. Más del 70% restauraron poblaciones de linfocitos T funcionales; las inmunodeficiencias B+ fueron las que mejor recuperaron estas poblaciones.<sup>21</sup>

Gracias a este estudio puede concluirse que el trasplante de precursores hematopoyéticos es una excelente alternativa terapéutica. Los mejores desenlaces ocurrirán cuando éste se realice de forma temprana y con pocas complicaciones derivadas de la enfermedad.

En términos de efectos en la función de B y K así como complicaciones tardías, el dar o no condicionamiento pre-transplante es el punto de debate. Si no se realiza, difícilmente el quimerismo B se alcanza (lo máximo reportado es 36% para el defecto en IL2RG y 33% para defecto en ADA). Aproximadamente la mitad de los pacientes requerirán sustitución con inmunoglobulina intravenosa (IgIV); 62% de estos tienen defecto en IL2RG, la mutación que con mayor dificultad reconstituye células B. Más del 80% de los pacientes con deficiencia de RAG1 y 2 requieren terapia sustitutiva. Estos datos sugieren que el condicionamiento no es necesario para pacientes que tengan mutaciones que no afecten a los linfocitos B, pero es útil para pacientes que tienen defectos en células B. Los pacientes con IDCG con un defecto que condiciona radiosensibilidad tienen mayor susceptibilidad a infecciones, cáncer, y otras complicaciones que los que no son condicionados. La decisión de usar o no condicionamiento depende también del tipo de donador; aquellos con un donador HLA-identico no lo requieren.<sup>22</sup> Los trasplantes de donador HLA no relacionado que no reciben acondicionamiento presentan mayor incidencia de enfermedad de injerto contra huesped (GVHD) y menor reconstitución de células B. Cohortes de seguimiento a pacientes postransplantados demuestran excelentes resultados. La mayoría de los pacientes alcanzan tamaño y talla normal. Menos del 20% presentan endocrinopatías. Menos del 15% presentan infecciones significativas en el primer año postrasplante. La mayoría recuperó número y función de células T y no requirieron mayor terapia.<sup>23</sup>

##### TERAPIA GÉNICA

Es una metodología terapéutica que tiene por objetivo introducir una copia funcional del gen defectivo del paciente a las células apropiadas; en el caso de la IDCG, a las células precursoras hematopoyéticas. Estas células son aisladas, estimuladas a proliferar con anticuerpos contra CD34, y posteriormente infectadas con un vector viral que contiene la copia del gen. Por ser un tipo de alotrasplante, es una excelente alternativa para quienes carecen de algún donador relacionado.

En la década de 1990 se iniciaron ensayos clínicos para conocer la eficacia de la terapia génica como alternativa terapéutica para IDCG. Se ha evaluado la terapia para la deficiencia de ADA y de IL2RG. Desde el 2000 se han tratado 40 pacientes con terapia génica y deficiencia de ADA, 70% han tenido resultados favorables: reconstitución inmune, restauración de la actividad del timo, desintoxicación sistémica, y permanencia del injerto a largo plazo.<sup>24</sup> Por otra parte, en la deficiencia de IL2RG, en los años 90 se trasplantaron a 20 pacientes de los cuales cinco desarrollaron leucemia de células T por la inserción del vector viral dentro del oncogén LMO2; hecho que obligó a detener los ensayos.<sup>25,26</sup> En el 2010, se repitieron los ensayos con un vector viral distinto, a la fecha no hay mutagénesis reportada y una supervivencia del 90%.<sup>27</sup>

#### LIMITACIONES DE LA TERAPIA GÉNICA

La inserción oncogénica. Para prevenirla se han inactivado repeticiones terminales gamma retrovirales que tienen actividad como *enhancers*. También se han probado distintos vectores como *foamy viruses* que presentan una menor tendencia de integrarse cerca de elementos reguladores de genes. Además, el aislamiento de las células adecuadas y el mantenimiento de las células receptoras a largo plazo son otras limitaciones importantes. Es frecuente que menos del 0.1% de los leucocitos circulantes presenten marcadores de integración viral.<sup>28</sup>

#### INFUSIONES DE POLIETILENGLICOL ADENOSÍN DEAMINASA (PEG-ADA)

La conjugación de la enzima a polietilenglicol bloquea sitios de acceso a otras proteasas para impedir su degradación o el acceso de anticuerpos. El tratamiento con PEG-ADA presenta menor mortalidad que el trasplante de precursores hematopoyéticos. Se aplica dos veces por semana (por tener una vida media de tres días) a una dosis de 60 unidades/kilogramo de peso. En un estudio retrospectivo se valoró la eficacia de este tratamiento a largo plazo. Si bien la mayoría de los pacientes no presentó infecciones, las poblaciones celulares de linfocitos T, NK, y B se encontraron por debajo de valores normales, pero con respuesta mitogénica conservada *in vitro*.<sup>29</sup> Por otro lado, la terapia sustitutiva puede prevenir la enfermedad intersticial pulmonar pero no la proteinosis alveolar; el daño hepático tampoco se ve corregido por el tratamiento. No hay datos sobre PEG-ADA para prevenir el deterioro neurológico.<sup>30,31</sup> El precio anual del tratamiento se estima en 300,000 dólares. El trasplante es la opción terapéutica definitiva. De ser posible, debe realizarse antes de la primera infusión de PEG-ADA, pues se ha relacionado su infusión con el rechazo al trasplante. Si ya se inició la terapia, la quimioablación será necesaria antes del trasplante; y ella implica mayor toxicidad para los pacientes con deficiencia de ADA.<sup>32</sup> De manera tradicional se

ha pensado que el agregar PEG-ADA antes del trasplante desfavorece la selección de las células injertadas; sin embargo, un modelo murino sugiere que el agregar PEG-ADA tiempo posterior a la terapia génica favorece el injerto.<sup>33</sup>

#### TAMIZAJE DE IDCG

El objetivo del tamizaje perinatal es identificar recién nacidos sintomáticos con enfermedades potencialmente fatales que pueden ser tratadas; reduciendo la mortalidad y morbilidad por esas enfermedades.<sup>34,35</sup> La prueba de tamizaje representa una única oportunidad en el tiempo para encontrar alguna condición patológica; por lo tanto una prueba a la talla del tamizaje es aquella que casi no arroja falsos negativos.<sup>14</sup> La IDCG cumple con las recomendaciones de la *Secretary Advisory's Committee on Heritable Disorders in Newborns and Children* (SACHDNC) para ser una enfermedad incluida dentro de las pruebas de tamizaje. Estos criterios son:

1. La enfermedad tiene que ser médicaamente grave.
2. Debe haber datos piloto prospectivos derivados de un modelo poblacional de tamizaje.
3. La enfermedad debe estar bien descrita en la literatura médica.
4. Las características de la prueba de tamizaje deben ser razonables, incluyendo tener una baja tasa de falsos negativos.
5. Aquellos potencialmente identificables deben poderse beneficiar de algún tratamiento.
6. El tratamiento debe ser efectivo.<sup>12</sup>

La IDCG es una entidad clínicamente indistinguible al nacimiento, tomando en cuenta la posibilidad de terapia oportuna y el beneficio terapéutico a largo plazo que puede obtener quien la padece es que ha sido reconocida durante años como una enfermedad a considerar para tamizaje.<sup>36,37</sup>

Diversos mecanismos de tamizaje se han sugerido para IDCG; entre ellos el inmunoensayo de IL-7, *luminex multiplex assay of T cell antigenic markers*, y los TRECs. En un estudio realizado en 5,766 muestras de sangre seca, se encontró que la detección de TREC por RQ-PCR es muy sensible y específica para detectar niveles bajos de TREC. Es menos específico que sensible debido a los defectos génicos que condicionan un *leaky-SCID*, donde ciertas poblaciones linfocitarias pueden egresar del timo y amplificar estos fragmentos; tal es el caso del síndrome de Omenn (mutaciones hipomorfas en RAG, que permiten cierta actividad recombinatoria) y el síndrome de DiGeorge (deleción 22q11).<sup>38</sup> Otras mutaciones clasificadas dentro de las causas IDCG son las que condicionan la función del linfocito T; como la deficiencia de ZAP-70 y del complejo mayor de histocompatibilidad clase 2 (MHC II). Estas entidades cursan con poblaciones de linfocitos que realizaron la recombinación y presentan copias de TREC normales, pero condicionan IDCG por su defecto funcional.<sup>12,39</sup>

Otro de los beneficios que ha aportado el tamizaje es el conocimiento de la prevalencia e incidencia de esta inmunodeficiencia en estados que han implementado su tamizaje. La experiencia de Nueva York (NY) y Wisconsin, quienes llevan más de tres años con un protocolo estatal de tamizaje, han encontrado una nueva prevalencia 1/48,500 nacidos vivos en NY y de 1/41,530 en Wisconsin, la cual contrasta con la mencionada en la literatura internacional de 1/100,000 nacidos vivos.<sup>40,41</sup>

Calculando con un umbral de 100,000 dólares por año ajustado a calidad de vida, McGhee et al., encontraron un 86% de probabilidad de costo/efectividad con la implementación del tamizaje para IDCG.<sup>42,43</sup> El costo de añadir la prueba al tamiz neonatal es de entre 4 y 6 dólares,<sup>21</sup> lo cual sugiere potenciales ahorros de hasta 50,000 dólares, tomando en cuenta el precio de la atención de complicaciones tanto tempranas como tardías. La cantidad total destinada a inversión por parte de los estados que lo han implementado ha sido de menos de un millón de dólares por lo que Donald Y et al., sugieren que el costo no representa una barrera.

### ¿QUÉ BARRERAS TIENE SU IMPLEMENTACIÓN?

Utilizar gotas de sangre secas tiene muchas ventajas; la muestra puede almacenarse y ser útil a -20 °C durante muchos años, puede enviarse por correo, y puede monitorearse a través del uso de códigos de barras. El hecho de que la prueba de TRECs pueda realizarse en esta muestra facilita la realización del tamiz, al evitarse tener que tomar nuevas muestras.

En México, la Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias Primarias del Instituto Nacional de Pediatría ha estandarizado la técnica para medir los TREC a través de PCR en tiempo real. Ello supone un centro de referencia geográficamente privilegiado y con la capacidad para hacer los diagnósticos. Se cuenta con un estudio que permite conocer las cifras normales de TREC en la población pediátrica mexicana. Estamos en este punto, pero aún faltan más esfuerzos para hacer un estudio piloto de tamizaje en nuestra población.

Los costos representan el obtáculo más importante. A la fecha, no se ha igualado en México el costo de 4.25 USD\$ por muestra agregado al tamiz neonatal que reporta la literatura.<sup>44</sup> Suponer hacer la prueba a gran escala podría disminuir los costos por prueba.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Liston A, Enders A, Siggs OM. Unravelling the association of partial T-cell immunodeficiency and immune dysregulation. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8 (7): 545-558.
2. Kohn LA, Seet CS, Scholes J, Codrea F, Chan R, Zaidi-Merchant S et al. Human lymphoid development in the absence of common  $\gamma$ -chain receptor signaling. *J Immunol*. 2014; 192 (11): 5050-5058.
3. Chinn IK, Shearer WT. Severe combined immunodeficiency disorders. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015; 35 (4): 671-694.
4. Cacalano NA, Migone TS, Bazan F, Hanson EP, Chen M, Candotti F et al. Autosomal SCID caused by a point mutation in the N-terminus of Jak3: mapping of the Jak3-receptor interaction domain. *EMBO J*. 1999; 18 (6): 1549-1558.
5. Li L, Moshous D, Zhou Y, Wang J, Xie G, Salido E et al. A founder mutation in Artemis, an SNM1-like protein, causes SCID in Athabascan-speaking Native Americans. *J Immunol*. 2002; 168 (12): 6323-6329.
6. Tchilian EZ, Wallace DL, Wells RS, Flower DR, Morgan G, Beverley PC. A deletion in the gene encoding the CD45 antigen in a patient with SCID. *J Immunol*. 2001; 166 (2): 1308-1313.
7. Shioi LR, Roadcap DW, Paris K, Watson SR, Grigorova IL, Lebet T et al. The actin regulator coronin 1A is mutant in a thymic egress-deficient mouse strain and in a patient with severe combined immunodeficiency. *Nat Immunol*. 2008; 9 (11): 1307-1315.
8. Nakazawa Y, Kawai T, Uchiyama T, Goto F, Watanabe N, Maekawa T et al. Effects of enzyme replacement therapy on immune function in ADA deficiency patient. *Clin Immunol*. 2015; 161 (2): 391-393.
9. Boyle JM, Buckley RH. Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. *J Clin Immunol*. 2007; 27 (5): 497-502.
10. Coria-Ramírez E, Espinosa-Padilla SE, Espinosa-Rosales FJ, Vargas-Camaño ME, Blancas-Galicia L. Panorama epidemiológico de las inmunodeficiencias primarias en México. *Rev Alerg Mex*. 2010; 57 (5): 159-163.
11. Fischer A. Severe combined immunodeficiencies (SCID) [Internet]. Vol. 122, Clinical and Experimental Immunology. Wiley-Blackwell; 2000 [cited 2018 Jun 8]. p. 143-9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11091267>
12. Buckley RRRH, Noguchi M, Yi H, Rosenblatt HM, Filipovich AH, Adelstein S, et al. The long quest for neonatal screening for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Mar [cited 2016 Aug 29]; 129 (3):597-604. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2011.12.964>
13. Buckley RH, Schiff RI, Schiff SE, Markert ML, Williams LW, Harville TO, et al. Human severe combined immunodeficiency: genetic, phenotypic, and functional diversity in one hundred eight infants. *J Pediatr* [Internet]. 1997 Mar [cited 2016 Sep 11]; 130 (3): 378-87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9063412>
14. Puck JM. Laboratory technology for population-based screening for severe combined immunodeficiency in neonates: The winner is T-cell receptor excision circles. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012; 129 (3): 607-16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.01.032>
15. Morinishi Y, Imai K, Nakagawa N, Sato H, Horiuchi K, Ohtsuka Y, et al. Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards. *J Pediatr* [Internet]. 2009; 155 (6):829-33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.05.026>
16. Puck JM. Neonatal screening for severe combined immune deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2007; 7 (6): 522-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17989529>
17. Hazenberg MD, Verschuren MC, Hamann D, Miedema F, van Dongen JJ. T cell receptor excision circles as markers for recent thymic emigrants: basic aspects, technical approach, and guidelines for interpretation. *J Mol Med (Berl)* [Internet]. 2001 Nov [cited 2016 Sep 12]; 79 (11): 631-40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11715066>
18. Chase NM, Verbsky JW, Routes JM. Newborn screening for T-cell deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010; 10 (6): 521-5. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00130832-201012000-00003>
19. Kobrynski L. Newborn screening for severe combined immune deficiency (technical and political aspects). *Curr Opin Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2010; 10 (6): 521-5. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00130832-201012000-00003>

- Immunol* [Internet]. 2015; 15 (6): 539-46. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00130832-201512000-00006>
20. Randolph DA, Routes JM, Verbsky JW. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency. *Neoreviews* [Internet]. 2013 Sep 2 [cited 2018 Jun 7]; 14 (9): e448-55. Available from: <http://neoreviews.aappublications.org/lookup/doi/10.1542/ne.14-9-e448>
21. Pai S-Y, Logan BR, Griffith LM, Buckley RH, Parrott RE, Dvorak CC, et al. Transplantation outcomes for severe combined immunodeficiency, 2000-2009. *N Engl J Med* [Internet]. 2014; 371 (5): 434-46. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84904876386&partnerID=tZotx3y1>
22. Veys P. Reduced Intensity Transplantation for Primary Immunodeficiency Disorders. *Immunol Allergy Clin North Am* [Internet]. 2010 Feb [cited 2016 Nov 13]; 30 (1): 103-24. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889856109000824>
23. Mazzolari E, Forino C, Guerci S, Imberti L, Lanfranchi A, Porta F, et al. Long-term immune reconstitution and clinical outcome after stem cell transplantation for severe T-cell immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2007 Oct [cited 2016 Nov 13]; 120 (4): 892-9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674907014649>
24. Gaspar HB, Aiuti A, Porta F, Candotti F, Hershfield MS, Notarangelo LD. How I treat ADA deficiency. *Blood* [Internet]. 2009 Oct 22 [cited 2016 Nov 13]; 114 (17): 3524-32. Available from: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2009-06-189209>
25. Hacein-Bey-Abina S. LMO2-Associated Clonal T Cell Proliferation in Two Patients after Gene Therapy for SCID-X1. *Science* (80-) [Internet]. 2003 Oct 17 [cited 2016 Nov 13]; 302 (5644): 415-9. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1088547>
26. Hacein-Bey-Abina S, von Kalle C, Schmidt M, Le Deist F, Wulffraat N, McIntyre E, et al. A Serious Adverse Event after Successful Gene Therapy for X-Linked Severe Combined Immunodeficiency. *N Engl J Med* [Internet]. 2003 Jan 16 [cited 2016 Nov 13]; 348 (3): 255-6. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM200301163480314>
27. Sokolic R, Kessarwan C, Candotti F. Recent advances in gene therapy for severe congenital immunodeficiency diseases. *Curr Opin Hematol* [Internet]. 2008 Jul [cited 2016 Nov 13]; 15 (4): 375-80. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00062752-200807000-00016>
28. Vassilopoulos G, Trobridge G, Josephson NC, Russell DW. Gene transfer into murine hematopoietic stem cells with helper-free foamy virus vectors. *Blood* [Internet]. 2001 Aug 1 [cited 2016 Nov 13]; 98 (3): 604-9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11468157>
29. Levy Y, Hershfield MS, Fernandez-Mejia C, Polmar SH, Scuderi D, Berger M, et al. Adenosine deaminase deficiency with late onset of recurrent infections: response to treatment with polyethylene glycol-modified adenosine deaminase. *J Pediatr* [Internet]. 1988 Aug [cited 2016 Nov 13]; 113 (2): 312-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3260944>
30. Grunbaum E, Cutz E, Roifman CM. Pulmonary alveolar proteinosis in patients with adenosine deaminase deficiency. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2012 Jun [cited 2016 Nov 13]; 129 (6): 1588-93. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674912002643>
31. Bobby Gaspar H. Bone Marrow Transplantation and Alternatives for Adenosine Deaminase Deficiency. *Immunol Allergy Clin North Am* [Internet]. 2010 May [cited 2016 Nov 13]; 30 (2): 221-36. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889856110000172>
32. Chan B, Wara D, Bastian J, Hershfield MS, Bohnsack J, Azen CG, et al. Long-term efficacy of enzyme replacement therapy for Adenosine deaminase (ADA)-deficient Severe Combined Immunodeficiency (SCID). *Clin Immunol* [Internet]. 2005 Nov [cited 2016 Nov 13]; 117 (2): 133-43. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521661605002524>
33. Aiuti A, Vai S, Mortellaro A, Casorati G, Ficara F, Andolfi G, et al. Immune reconstitution in ADA-SCID after PBL gene therapy and discontinuation of enzyme replacement. *Nat Med* [Internet]. 2002 May [cited 2016 Nov 13]; 8 (5): 423-5. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nm0502-423>
34. McCabe LL, McCabe ERB. Expanded Newborn Screening: Implications for Genomic Medicine. *Annu Rev Med* [Internet]. 2008 Feb [cited 2016 Nov 13]; 59 (1): 163-75. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.med.59.110106.132016>
35. Wilcken B, Wiley V. Newborn screening. *Pathology* [Internet]. 2008 Feb [cited 2016 Nov 13]; 40 (2): 104-15. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031302516324096>
36. McGhee SA, Stiehm ER, McCabe ERB. Potential Costs and Benefits of Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency. *J Pediatr* [Internet]. 2005 Nov [cited 2016 Nov 13]; 147 (5): 603-8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347605004920>
37. Kelly BT, Tam JS, Verbsky JW, Routes JM. Screening for severe combined immunodeficiency in neonates. *Clin Epidemiol* [Internet]. 2013 [cited 2016 Nov 13]; 5:363-9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24068875>
38. Baker MW, Grossman WJ, Laessig RH, Hoffman GL, Brokopp CD, Kurtycz DF, et al. Development of a routine newborn screening protocol for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009; 124 (3): 522-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2009.04.007>
39. Kuo CY, Chase J, Garcia Lloret M, Stiehm ER, Moore T, Aguilera MJM, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency does not identify bare lymphocyte syndrome. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2013 Jun [cited 2016 Nov 13]; 131 (6): 1693-5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674913001589>
40. Vogel BH, Bonagura V, Weinberg GA, Ballow M, Isabelle J, Diantonio L, et al. Newborn screening for SCID in New York State: Experience from the first two years. *J Clin Immunol*. 2014; 34 (3): 289-303.
41. Kwan A, Church JA, Cowan MJ, Agarwal R, Kapoor N, Kohn DB, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia in California: Results of the first 2 years. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2013; 132 (1): 140-150.e7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2013.04.024>
42. McGhee SA, Stiehm ER, Cowan M, Krogstad P, McCabe ERB. Two-tiered universal newborn screening strategy for severe combined immunodeficiency. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2005 Dec [cited 2016 Sep 12]; 86 (4): 427-30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16260163>
43. Lipstein EA, Vorono S, Browning MF, Green NS, Kemper AR, Knapp AA, et al. Systematic Evidence Review of Newborn Screening and Treatment of Severe Combined Immunodeficiency. *Pediatrics*. 2010; 125 (5).
44. van der Spek J, Groenwold RHH, van der Burg M, van Montfrans JM. TREC Based Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency Disease: A Systematic Review. *J Clin Immunol* [Internet]. 2015 May [cited 2018 Jun 7]; 35 (4): 416-30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25893636>

Dirección para correspondencia:  
Santiago Rodríguez Castro  
Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias.  
Insurgentes Sur Núm. 3700, Letra C,  
Col. Insurgentes Cuiculco, 04530,  
Del. Coyoacán, Ciudad de México.  
Teléfono: 044 55 1939 4814  
E-mail: saraelvaespino@gmail.com