

VIII Reunión del Grupo Español de Inmunodeficiencias Primarias

VIII MEETING OF THE SPANISH GROUP FOR PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES

Recibido: 16 Noviembre 2007

Aceptado: 15 Diciembre 2007

RESUMEN

Se repasan algunas de las aportaciones más sobresalientes en la VIII edición de las reuniones que lleva a cabo el Grupo Español para las Inmunodeficiencias Primarias (IDP), celebradas en Octubre de 2007. Estas jornadas están dirigidas a actualizar los conocimientos sobre nuevos métodos en el diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades y en los que se presentan los trabajos realizados por distintos grupos españoles interesados en este tipo de enfermedades.

PALABRAS CLAVE: Inmunodeficiencia Primaria.

ABSTRACT

An overview of relevant contributions to the VIII edition of the Meeting of the Spanish Group for Primary Immunodeficiencies (PI) is presented. The meeting was held in October 2007, and its aims were to review new diagnostic methods and treatment strategies, as well as present the work done by different Spanish groups involved in the study of immunodeficiency.

KEY WORDS: Primary Immunodeficiency.

INTRODUCCIÓN. MÁS DE 30 AÑOS EN LA HISTORIA DE LAS INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Teresa Español

Unidad de Inmunología, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona

El estudio y diagnóstico de las Inmunodeficiencias primarias (IDP) es relativamente reciente. En 1953 se describe la causa de las infecciones de repetición que presentaba un niño, y su mejoría con el tratamiento con plasma. Actualmente, todas las formas de agammaglobulinemia e hipogammaglobulinemias y los defectos combinados, se tratan con gammaglobulinas de administración endovenosa o subcutánea, obtenidas por fraccionamiento de grandes lotes de plasma de donantes sanos⁽¹⁾, con muy buenos resultados.

Las primeras clasificaciones de la O.M.S. definían unas pocas enfermedades (Fig. 1). En la última clasificación se definen 144 IDP⁽²⁾, y en la mayoría de ellas se ha descrito ya el defecto genético responsable.

En nuestro país se realizó un primer Simposium específico en Hondarribia en 1988 y, desde 1993, se celebra cada 2 años, alternativos con la reunión de la Sociedad Europea para las IDP (ESID), la reunión del Grupo español de IDP, a partir del inicio del Registro nacional de estas enfermedades (REDIP)⁽³⁾. En estas reuniones se divulgan los avances en el diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades y se presentan los trabajos realizados por los distintos grupos españoles involucrados en estos temas.

En 1988, A.D.B. Webster publica un primer libro sobre IDP "Immunodeficiency and disease" (Fig. 2), y se describe la localización en el cromosoma X de las principales IDP con este tipo de herencia. En 2007, la 2ª edición del libro "Primary

TABLE 23.4 Specific immunodeficiency diseases listed by the W.H.O. Study Group (Fudenberg *et al* 1971), with modifications, classified according to antibody and cell mediated defect.

Type	Deficiencies	
	Antibody	Cell-mediated
Infantile X-linked agammaglobulinaemia	+	
Selective immunoglobulin deficiency (IgA)	+	
Transient hypogammaglobulinaemia of infancy	+	
Thymic hypoplasia (pharyngeal pouch syndrome, Di George's syndrome)	(+)	+
Episodic lymphopaenia with lymphocytotoxin	(+)	+
Antibody deficiency syndrome with normal or raised immunoglobulin concentration	+	+
Immunodeficiency with ataxia telangiectasia	+	+
Immunodeficiency with thrombocytopaenia and eczema (Wiskott-Aldrich syndrome)	+	+
Immunodeficiency with thymoma	+	+
Immunodeficiency with short-limbed dwarfism	+	+
Immunodeficiency with generalized haematopoietic hypoplasia	+	+
Severe combined immunodeficiency (autosomal or X-linked)	+	+
Variable immunodeficiency (common, largely unclassified)	+	+

(+) = antibody deficiency not demonstrated, but theoretically probable.

Figura 1. Según "Clinical Aspects of Immunology", Third edition. PGH Gell, RRA Coombs, PJ Lachmann (Eds). 1975. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 1975.

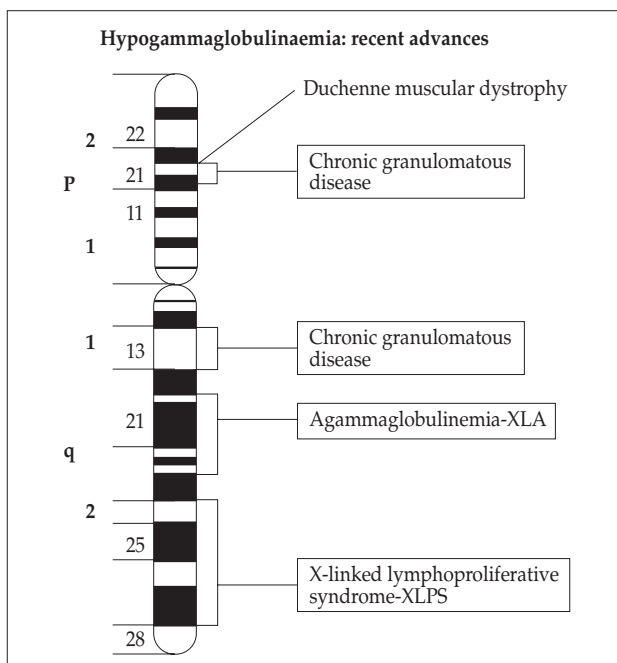


Figura 1. Localización en el cromosoma X de genes responsables de inmunodeficiencias. De: "Immunodeficiency and Disease" Immunology and Medicine Series, Vol. 8. ADB Webster (Ed.). Series editor: WG Reeves. Kluwer Academic Publishers, Londres, 1988.

Immunodeficiencies. A molecular and genetic approach"⁽⁴⁾, recoge la nueva clasificación de la I.U.I.S., se extiende a 726 páginas y se describen los defectos moleculares en 136 IDP.

Es impresionante el cambio que se ha producido en los últimos 15 años sobre la fisiología y etiopatogenia de muchas

de las IDP. Los conocimientos sobre los defectos moleculares identificados como causantes de las IDP bien definidas, nos permiten realizar diagnósticos muy precisos y un consejo genético realista, además de facilitar los conocimientos sobre los mecanismos inmunológicos afectados y su papel en la respuesta inmunológica normal. Pero posiblemente haya otras muchas formas sin diagnosticar⁽⁵⁾, lo que hace muy necesario continuar con las investigaciones clínicas y básicas en estas patologías.

Los avances en los tratamientos utilizados: el trasplante de progenitores hematopoyéticos⁽⁶⁾, las gammaglobulinas endovenosa y subcutánea, la modulación con citocinas, etc., favorecen una situación clínica de casi normalidad en muchos de ellos, por lo que es esencial un diagnóstico precoz⁽⁷⁾. Las perspectivas de la terapia génica, tal como se presentó en esta Jornada es, además, una nueva promesa terapéutica en un futuro cercano.

En esta VIII edición del Grupo español para las IDP han asistido más de 90 profesionales, que han participado activamente en las discusiones y seguro que va a repercutir en un mejor manejo de estos pacientes.

CORRESPONDENCIA:

Teresa Español Borén
Hospital Universitari Vall d'Hebron
Passeig Vall d'Hebron, 119-129
08035 Barcelona
Tel: +34-93 274 6832
tespanol@vhebron.net

BIBLIOGRAFÍA

1. Buckley RH, Schiff RI. The use of intravenous immunoglobulin in immunodeficiency diseases. *N Eng J Med* 1991; 325:110-117.
2. Notarangelo L, Casanova JL, Conley ME, Chapel H, Fischer A, Puck J, et al. Primary immunodeficiency diseases: An update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee Meeting in Budapest, 2005. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:883-896.
3. Matamoros N, Mila J, Espanol T et al. Primary Immunodeficiency Syndroms in Spain: First report of the National registry in children and adults. *J Clin Immunol* 1997; 17: 333-339.
4. Ochs HD, Smith ECI, and Puck JM. Primary Immunodeficiency diseases. A molecular and genetic approach. 2nd ed. New York. Oxford University Press. 2007.
5. Casanova JL, Abel L. Primary Immunodeficiencies. A field in its infancy. *Science* 2007; 317:617-619.
6. Haddad E, Landais P, Friedrich W, Gerritsen B, Cavazzana-Calvo M, Morgan G et al. Long-term immune reconstitution and outcome after HLA-non-identical T-cell-depleted bone marrow transplantation for severe combined immunodeficiency: A european retrospective study of 116 patients. *Blood* 1998; 91:3646-3653.
7. Wood P, Stanworth S, Burton J, Jones A, Peckham DG, Green T, Hyde C, Chapel H, on behalf of the UK Primary Immunodeficiency Network. Recognition, clinical diagnosis and management of patients with primary antibody deficiencies: A systematic review. *Clin Exp Immunol* 2007; 149:410-423.

SUCCESSFUL BONE MARROW GENE THERAPY FOR SEVERE COMBINED IMMUNODEFICIENCY

Bobby Gaspar and Adrian Thrasher

Centre for Immunodeficiency, Institute of Child Health and Great Ormond Street Hospital for Children NHS Trust, London.

Somatic gene therapy (GT) has been proposed as an exciting new therapeutic strategy for treatment of human genetic disease. Four recent studies have demonstrated highly effective gene therapy for the X-linked form of severe combined immunodeficiency SCID (SCID-X1) and adenosine deaminase (ADA)-deficiency, using retroviruses to deliver the therapeutic genes into haematopoietic stem cells ex vivo.

X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID), caused by mutations in the common cytokine receptor gamma chain (γ_c), is invariably fatal in the absence of therapeutic bone marrow transplantation. In the presence of HLA-matched family donors, the majority of patients can expect to be cured. For other donor sources, particularly parental, success rates are reduced, and full restoration of immunity is often not achieved. We have treated ten children with molecularly defined X-SCID by gene transfer to bone marrow CD34⁺ cells using a gibbon ape leukaemia virus (GALV)-pseudotyped retroviral vector. Transduction efficiency measured by expression of γ_c was over 60%. No conditioning was used, and no serious adverse effects following infusion of genetically modified cells have been observed up to 6 years after treatment. In three patients a graft-versus-host-like rash developed coinciding with initial T cell recovery, possibly representing a temporary imbalance between production of effector and regulatory T cells. All patients have developed substantial immunity, with a normally complex T cell spectratype determined by CDR3 PCR, although in one patient recovery has been partial.

Clinical response has been excellent and all are leading normal lives at home. We have also treated one adult patient with failing immunity following allogeneic transplantation for classical SCID-X1 in infancy. Although gene transfer was successful, we have not observed any improvement in immunological parameters over a year after infusion of cells. This suggests that there are age-related restrictions to the efficacy of stem cell or gene therapy that may reflect inability to retrieve thymic function.

We also initiated a study of gene therapy for treatment of ADA-SCID patients in 2003 using a gammaretroviral vector encoding the human ADA cDNA. The protocol involved enrolment of patients who lacked a matched sibling donor and enzyme replacement therapy (ERT) was stopped prior to GT. Patients received one dose of Melfalan conditioning (140 mg/m²) prior to re-infusion of gene modified autologous CD34⁺ cells. To date the study has treated 4 patients (P1-P4) the last of which is less than 3 months post follow-up. The transduction efficiency ranged from 25%-50% and the total number of CD34⁺ cells infused was 1.3, 5.8 and 4.3 x 10⁶/kg for P1, P2 and P4 respectively. For reasons that are unclear, the CD34⁺ yield in P3 was less than <0.5 x 10⁶/kg, and resulted in little or no T cell reconstitution. All patients experienced Melfalan induced cytopenias and required red blood cell and platelet transfusions for 3 weeks or more following GT. In P1 and P2 we have seen impressive recovery of T cells to values that are well above those obtained on ERT. Detailed analysis

shows a diverse T cell pool with normal TCR V β usage and CDR3 spectratype profiles and T cells show normal PHA activation. Importantly, both patients have shown increased numbers of naïve T cells following GT and have increased TREC values suggesting initiation of thymic activity following GT. Humoral reconstitution is normal in P2 who has now stopped immunoglobulin replacement. Metabolic correction has been sustained following GT with reduction in deoxyATP levels. Moreover, there is increased RBC activity, which in P2 is at normal levels, suggesting transduction of early erythroid progenitors. Transgene copy number assessed by quantitative PCR is 0.5 - 1 in T and NK cells, but in both patients significant marking is seen in both B and myeloid lineages. Lineage specific integration site analysis is ongoing. P3 received very low numbers of transduced CD34⁺ as a result of poor CD34⁺ harvest, and no T cell recovery was observed. As per the protocol, P3 re-started PEG-ADA at 6 months post GT. All three patients are clinically very well and free of infection and at home with no restriction on socialisation.

In summary, this protocol has been well tolerated. Two patients show good sustained immune and metabolic correction with significant levels of gene marking in all lineages. This protocol is offered prior to a MUD HSCT as these data, together with results from other ADA GT trials, suggest that GT is a safer but equally effective treatment option.

REFERENCES

1. Qasim W, Gaspar HB, Thrasher AJ. Update on clinical gene therapy. Arch Dis Child 2007; 92:1028-1031.
2. Schwarzwaelder K, Howe SJ, Schmidt M, Brugman MH, Deichmann A, Glimm H et al. Gammaretrovirus-mediated correction of SCID-X1 is associated with skewed vector integration site distribution in vivo. J Clin Invest 2007; 117: 2241-2249.
3. Booth C, Hersfield M, Notarangelo L, Buckley R, Hoening M, Mahlaoui N, et al. Management options for adenosin deaminase deficiency: Proceedings of the EBMT satellite workshop (Hamburg, March 2006). Clin Immunol. 2007; 123:139-147.

CHRONIC GRANULOMATOUS DISEASE: UPDATE IN DIAGNOSIS AND THERAPY

Dirk Roos

Sanquin Research Institute and Academic Medical Centre, Amsterdam, The Netherlands.

Chronic Granulomatous Disease (CGD) is an immunodeficiency caused by mutations in genes that encode subunits of the NADPH oxidase complex. Normally, assembly of the NADPH oxidase complex in phagosomes of phagocytic cells leads to the generation of reactive oxygen species, essential for the clearance of phagocytosed micro-organisms. CGD patients lack this mechanism, which leads to life-threatening infections and granuloma formation. However, a clear picture of the clinical course of CGD is hampered by its low prevalence (~1:250,000). Therefore, extensive clinical data from 429 European patients have been collected and analyzed.

Of these patients, 351 were males and 78 were females. X-linked (XL) CGD (gp91^{phox} deficiency) accounted for 68% of the cases, and autosomal recessive (AR) inheritance for 32 %. AR-CGD was diagnosed later in life, and survival was significantly better in AR patients than in XL CGD, suggesting a milder disease course in AR patients.

The disease manifested itself most frequently in the lungs (66% of patients), skin (53%), lymph nodes (50%),

gastrointestinal tract (48%) and liver (32%). The most frequently cultured microorganisms per episode were *Staphylococcus aureus* (30%), *Aspergillus spp.* (26%), and *Salmonella spp.* (16%). Surprisingly, *Pseudomonas* (2%) and *Burkholderia* (<1%) spp. were found only sporadically. Unexpectedly, lesions induced by inoculation with BCG occurred in 8% of the patients. Only 71% of the patients received antibiotic maintenance therapy, 53% antifungal prophylaxis. 33% were treated with γ -interferon. The most prominent reason of death was pneumonia and pulmonary abscess (18/89 cases), septicemia (16/89) and brain abscess (4/89). Twenty-four patients (6%) had received a stem cell transplantation therapy. These data provide further insight in the clinical course of CGD in Europe and can help to optimize the treatment of these patients.

In about 1000 CGD patients the mutations in the genes that encode the NADPH oxidase components have been identified. This information has been used to gain insight in the correlation between mutations and severity of the disease, for insight in structure-function relation of oxidase

components and in the mutational process. This information has also been used for prenatal diagnosis of children at risk for becoming CGD patients, and for decisions about gene therapy.

Treatment of CGD patients starts with aggressive diagnostics and strong anti-bacterial and anti-fungal therapy. If needed, surgical drainage should be applied. Granulocyte transfusions can be given as an ultimate measure. Prevention of infections should be reached with strong oral and anal hygiene, and with intracellularly active antibiotics and anti-fungal agents. Gamma-interferon is also used as maintenance therapy. Permanent cure can only be reached with hematopoietic stem cell transfusion. Gene therapy attempts have been largely unsuccessful so far, but some confidence may be derived from the latest results.

REFERENCES

1. Köker MY, Sanal O, de Boer M, Tezcan I, Metin A, Ersoy F et al. Mutations of Chronic granulomatous disease in Turkish families. *Eur J Clin Invest*. 2007; 37: 589-595.
2. Roos D, de Boer M, Köker MY, Dekker J, Sing-Gupta V, Ahlin A et al. Chronic granulomatous disease caused by mutations other than the common GT deletion in NCF1, the gene encoding the p47phox component of the phagocyte NADPH oxidase. *Hum Mutat* 2006; 27:1218-1229.
3. Reunaux D, Hordijk PL, Duthilleul P, Roos D. Priming by tumor necrosis factor-alpha of human neutrophil NADPH- oxidase activity induced by anti-proteinase-3 or anti-myeloperoxidase antibodies. *J Leukoc Biol* 2006; 80: 1424-1433.
4. Wolach B, Scharf Y, Gavrieli R, de Boer M, Roos D. Unusual late presentations of X-linked chronic granulomatous disease in an adult female with a somatic mosaic for a novel mutation in CYBB. *Blood* 2005; 105: 61-66.

NUESTRA EXPERIENCIA EN EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA

Antonio Ferreira

Unidad de Inmunología, Hospital Universitario La Paz, Madrid

La enfermedad granulomatosa crónica (EGC) es una inmunodeficiencia primaria producida por un defecto congénito de la función fagocítica que se caracteriza por la incapacidad de neutrófilos y monocitos de matar organismos intracelularmente.

El cuadro clínico se caracteriza por infecciones recurrentes en diferentes localizaciones producidas preferentemente por gérmenes catalasa positivos como son *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus*, *Nocardia* y *Serratia*, entre otros.

El defecto causante de la enfermedad reside en el complejo NADPH oxidasa, encargado del transporte de electrones hasta el oxígeno molecular, con la consiguiente formación de anión superóxido y posterior generación de radicales oxidantes microbicidas.

El enzima NADPH oxidasa es un complejo de diversas proteínas de membrana y citosólicas, cuatro de las cuales son las responsables de la EGC, de la cual existen dos formas:

- ligada al cromosoma X por defecto del gen CYBB que codifica para la proteína gp91phox.
- Una forma autosómica recesiva que puede ser debida a defectos en 3 genes:
 - Defecto del gen CYBA que codifica la proteína p22 phox.
 - Defecto del gen NCF1 que codifica para la proteína p47 phox.
 - Defecto del gen NCF2 que codifica la proteína p67 phox.

– Defecto del gen NCF2 que codifica la proteína p67 phox.

Resumiremos nuestra experiencia en el diagnóstico molecular de esta enfermedad. Básicamente, nuestra experiencia reside principalmente en el gen CYBB causante de la forma ligada al cromosoma X y que es la más frecuente, con un 70% de todos los pacientes. La metodología empleada consiste de forma genérica tanto en la utilización de la PCR y secuenciación directa de los fragmentos amplificados como la utilización de RT PCR y secuenciación directa de los amplicones.

El estudio del gen CYBB se realiza sobre 24 pacientes diagnosticados de X-EGC y sus familiares, correspondientes a 18 familias. Cuatro familias presentan 2 miembros afectados y una familia tres. El número y tipo de mutaciones encontradas es el siguiente: 5 deleciones; 5 mutaciones "nonsense"; 2 mutaciones "missense"; 3 mutaciones intrónicas; 1 deleción-inserción; 1 inserción; 1 mutación que afecta al "splicing".

El número de mutaciones representa un 4% de los casos registrados en la base CYBB del ESID. Las mutaciones "de novo" representan en nuestra serie un 16,66%, porcentaje inferior a la constatada en la base. Siete de las mutaciones encontradas no han sido descritas hasta el momento actual. El fenotipo casi exclusivo encontrado es el X91°, no habiendo por tanto una relación genotipo-fenotipo debido a la

heterogeneidad de las mutaciones, que se extienden a lo largo de todos los exones. Este estudio mutacional ha permitido el diagnóstico prenatal en dos ocasiones.

Asimismo se ha realizado el estudio del gen NCF1 en 6 pacientes diagnosticados de EGC autosómica recesiva por defecto de p47 phox. Sólo dos pacientes han sido diagnosticados con exactitud por presentar en homocigosis en el exon 2 la delección c.87_88 del GT (p.Val25fsX51). El resto de estos pacientes está bajo estudio.

AGRADECIMIENTOS

A las doctoras T. Español, N. Matamoros, L. Tricas, C. Casas y B. Sánchez por el envío de muestras o pacientes para realizar el estudio. A M.C. Pascual Campo (T.E.L.) que ha realizado la parte técnica del estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perez de Diego R, Bravo J, Allende LM, Lopez-Granados E, Rivera J, Ferreira A, et al. Identification of novel non-pathogenic mutation in SH3 domain of Btk in an XLA patient. *Mol Immunol* 2008; 45:301-303.
2. Ortiz J, Fernández-Arquero M, Urcelay E, López-Mejías R, Ferreira A, Fontán G, et al. Interleukin-10 polymorphisms in Spanish IgA deficiency patients: A case-control and family study. *BMC Med Genet*.2006; 27:7
3. Pérez de Diego R, López-Granados E, Pozo M, Rodríguez C, Sabina P, Ferreira A, et al. Bruton's tyrosine kinase is not essential for LPS-induced activation of human monocytes. *J Allergy Clin Immunol*. 2006; 117:1462-1469.

PROBLEMAS CLÍNICOS RECURRENTES EN GASTROENTEROLOGÍA

Luisa Guarnier

Servicio de Gastroenterología. Hospital Vall d'Hebron, Barcelona.

Las manifestaciones clínicas de la inmunodeficiencia común variable son muy extensas, pero los síntomas debidos a la falta de anticuerpos pueden no ser obvios hasta llegar a la adolescencia o incluso a la edad adulta. Las manifestaciones más importantes son las neumológicas, pero ya en segundo lugar se encuentran las gastroenterológicas. Es también conocido que en un 3% de los pacientes se pueden encontrar exclusivamente manifestaciones gastroenterológicas en el momento del diagnóstico.

La manifestación más frecuente es la diarrea que, según diversos autores, es desarrollada por entre el 20 y el 60% de los pacientes, acompañada o no de malabsorción y pérdida de peso. Hasta un 30% de los pacientes la presentan de forma crónica. Como veremos, la causa de la diarrea puede ser muy variada, empezando por la infecciosa, sobre todo producida por parásitos y, de ellos el más frecuente es la *Giardia lamblia* (muchas veces refractaria al tratamiento con metronidazol). En segundo lugar de frecuencia encontramos la atrofia de vellosidades en el intestino delgado sin hiperplasia de criptas que conocemos como "enfermedad celíaca-like", y que se distingue de la verdadera enfermedad celíaca por la falta de células plasmáticas y la escasa respuesta a la dieta sin gluten. Otra causa frecuente también es el sobrecrecimiento bacteriano, que podremos poner de

manifiesto mediante un test del aliento de glucosa, y que responde habitualmente al tratamiento antibiótico.

En ocasiones (para algunos autores hasta en el 50% de los pacientes) se puede encontrar en la biopsia de intestino delgado -tanto en íleon terminal como en yeyuno- una hiperplasia nodular linfóide. No se conoce la causa de esta hiperplasia, que incluso puede aparecer en duodeno, y su relación con el linfoma intestinal es ambigua. Otra causa de diarrea que se acompaña de sangre y mucosidad es la que conocemos como "Enfermedad inflamatoria-like" (Colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn) debido a que las imágenes endoscópicas y radiológicas son compatibles, pero en la biopsia existe un descenso o falta total de células plasmáticas y no se observan abscesos ni destrucción de las criptas; habitualmente la respuesta a los corticoides no es tan buena como en las personas inmunocompetentes. La colitis linfocítica es muy similar a la del paciente inmunocompetente y responde al tratamiento con budesonida. No podemos olvidar el papel del citomegalovirus sobre una enfermedad inflamatoria ya existente o sobre tejido sano (en estos pacientes) produciendo ulceraciones y estenosis a nivel de todo el tracto gastrointestinal manifestándose como hemorragia masiva o con crisis suboclusivas que además del tratamiento con ganciclovir pueden precisar cirugía.

Hoy en día se están empezando a describir alteraciones de la motilidad gastrointestinal también en pacientes con inmunodeficiencia común variable, al igual que se ha observado en pacientes con enfermedad celíaca, y generalmente la alteración es de tipo neuropático.

El riesgo de cáncer gástrico es aproximadamente 50 veces más frecuente que en la población normal cuando coexisten gastritis atrófica con aclorhidria y anemia perniciosa, metaplasia intestinal y presencia de *Helicobacter pylori*. En estos casos es fundamental el tratamiento erradicador del *Helicobacter* y su posterior comprobación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Washington K, Stenzel TT, Buckley RH, Gottfried M. Gastrointestinal pathology in patients with common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinemia. *Am Surg Pathol* 1996; 20:1240-1252.
2. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: Clinical and immunological features of 248 patients. *Clin Immunol* 1999; 92:34-48.
3. Tahan V, Dobrucali A, Canbakan B, Hamzaoglu I, Ozaras R, Biyikli M, Dogusoy G, Mert A, Furth E. Cytomegalovirus infection of gastrointestinal tract with multiple ulcers and strictures, causing obstruction in a patient with common variable immunodeficiency syndrome. *Dig Dis Sci* 2000; 45:1781-1785.
4. Luzi G, Zullo A, Iebba F, Rinaldi V, Sanchez L, Muscaritoli M, Aiuti F. Duodenal pathology and clinical-immunological implications in common variable immunodeficiency patients. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:118-121.
5. Kalha I, Sellin J. Common variable immunodeficiency and the gastrointestinal tract. *Current Gastroenterol Rep* 2004; 6:377-383.
6. Das K, Sachdeva S, Misra A, Ghoshal UC. Malabsorption syndrome due to various causes is associated with antroduodenal hypomotility. *Indian J Gastroenterol* 2006; 25:58-61.
7. Khodadad A, Aghamohammadi A, Parvaneh N, Rezaei N, Mahjoob F et al. Gastrointestinal manifestations in patients with common variable immunodeficiency. *Dig Dis Sci* 2007; 11:2977-2983.
8. Elnachef N, McMorris M, Chey WD. Successful treatment of common variable immunodeficiency disorder-associated diarrhea with budesonide: A case report. *Am J Gastroenterol* 2007; 102:1322-1325.

NUESTRA EXPERIENCIA EN EL TRATAMIENTO CON GG SUBCUTÁNEA EN PEDIATRÍA

Pere Soler

Unidad de Inmunodeficiencias, Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron. Barcelona.

El tratamiento sustitutivo con Gammaglobulina Intravenosa (GGIV) ha sido hasta ahora, y es en muchos centros, el método utilizado en las Inmunodeficiencias Primarias (IDP) con déficit de producción de anticuerpos⁽¹⁾. La Gammaglobulina Subcutánea (GGSC)^(2,3) ofrece la posibilidad de autoadministración del tratamiento en el domicilio del paciente con eficacia similar, menos efectos secundarios y mayor calidad de vida⁽⁴⁾. Ofrece además unos niveles valle de IgG "más fisiológicos", ya que la administración semanal de dosis menores, evita las "puntas" de niveles altos y la caída por catabolismo rápido de las dosis administradas (Fig. 1).

INDICACIONES DEL TRATAMIENTO CON GGSC

Inmunodeficiencias primarias:

- ALX.
- IDCV.
- SCID (post-TPHP).

- Otras IDP combinadas (W. Aldrich, XLP, etc.).

No estará indicada cuando se necesita infundir grandes cantidades de GG en un periodo corto de tiempo:

- Enfermedades autoinmunes.
- Enfermedad de Kawasaki, etc.
- IDCG recién diagnosticadas.
- ALX, o IDCV al diagnóstico, con IgG muy bajas, etc.

Selección de pacientes:

- Buen nivel sociocultural para entender los procedimientos y el manejo adecuado en caso que aparezcan efectos adversos.
- Buen apoyo familiar.
- Niveles adecuados y estables de IgG.

Efectos adversos locales de la GGSC

Prurito, enrojecimiento, edema, etc., en el lugar de la administración. Las reacciones sistémicas son raras pero posibles en pacientes con GGSC.

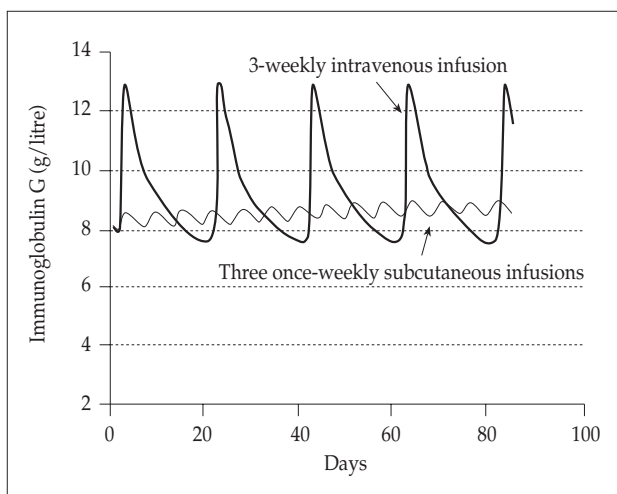


Figura 1. Diferencias en las cifras obtenidas con la administración endovenosa o subcutánea (reproducido de: Helbert M, Farragher A⁽⁵⁾).

Período de entrenamiento

- Primera semana: La enfermera explica el procedimiento y realiza la infusión.
- Segunda y tercera semanas: El paciente/familiar realiza el procedimiento bajo la supervisión de enfermería.
- Cuarta y quinta semanas: El paciente/familiar realiza el procedimiento por sí mismo en el Hospital de Día. La primera infusión en domicilio se realiza bajo supervisión de la enfermera responsable, para comprobar que las condiciones de la administración son las idóneas.

RESULTADOS

- Once pacientes (7 niños y 4 niñas) diagnosticados de IDCV (criterios de la ESID) reciben actualmente GGSC

(Vivaglobin®, CSL Behring, 16%). La edad media es de 13,4 años (mediana 14,5; rango 6 a 19 años). El peso varía de 21 a 62 kg; la media es 47,6 kg y la mediana 55,5.

- Las dosis de IgG están entre 100 y 200 mg/kg semanales.
- La dosis máxima infundida por punto de punción es de 20 ml, y no se utilizan más de 2 puntos por sesión.
- La GGSC se administra mediante una bomba de infusión portátil en un tiempo de 45-90 minutos.
- Los niveles valle mantenidos son 600-800 mg/dl utilizando dosis iguales o inferiores (90-150 mg/kg/semana) a las utilizadas en el período de administración endovenosa⁽⁵⁾.

Complicaciones infecciosas durante este periodo. Los efectos secundarios locales han sido frecuentes pero leves y autolimitados. No hay reacciones adversas sistémicas. La valoración por parte de los pacientes de esta nueva modalidad terapéutica ha sido muy favorable.

BIBLIOGRAFÍA

1. Buckley RH, Schiff RI. The use of intravenous immunoglobulin in immunodeficiency diseases. *N Eng J Med* 1991; 325:110-117.
2. Gardulf A, Hammarström L. Subcutaneous administration of immunoglobulins. What are the advantages? *Clin Immunother* 1996; 6:108-116.
3. Gardulf A, Nicolay U, Asensio O, Bernatowska E, Böck A, Costa-Carvalho BT, et al. Children and adults with primary antibody deficiencies gain quality of life by subcutaneous IgG self-infusions at home. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:936-942.
4. Nicolay U, Kiessling P, Berger M, Gupta S, Yel L, Roifman CM, Gardulf A, et al. Health-related quality of life and treatment satisfaction in North American patients with primary immunodeficiency diseases receiving subcutaneous IgG self-infusions at home. *J Clin Immunol* 2006; 26:65-72.
5. Helbert M, Farragher A. Subcutaneous immunoglobulin for patients with antibody deficiency. *British J Hosp Med* 2007 68; 206-210.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA INMUNODEFICIENCIA COMBINADA GRAVE

M.C. García Rodríguez

Unidad de Inmunología. Hospital Universitario La Paz, Madrid.

El diagnóstico temprano de la Inmunodeficiencia Combinada Grave (IDCG) debe considerarse una urgencia en pediatría, ya que el pronóstico depende en gran medida de la precocidad con se instaure el tratamiento adecuado. Una vez que se sospecha el diagnóstico con base en los datos clínicos y analíticos, y teniendo muy en cuenta la posible

existencia de antecedentes de inmunodeficiencia en la familia, se llevará a cabo el estudio molecular del gen responsable del defecto. Como metodología, partiendo de ADN genómico, hacemos amplificación de cada exón y de la zona intrónica adyacente. Cuando la secuencia alterada esté situada en la zona del *splicing*, para ver la consecuencia

que dicha mutación pueda tener sobre el procesamiento del ARN, hacemos una retro-transcripción para ver ADNc. La repercusión que la mutación responsable de la enfermedad tiene sobre el producto génico, debe ser estudiada mediante citometría de flujo en unos casos o mediante inmuno-blot en otros.

Una vez conocido el defecto molecular responsable de la IDCG, debe hacerse el estudio de posibles portadores en la familia. Para el diagnóstico prenatal de posibles afectados, utilizamos ADN obtenido mediante biopsia de corion realizada en la novena semana de gestación. Cuando existan antecedentes familiares de la enfermedad y no se conozca el defecto responsable, el diagnóstico prenatal se basará en la presencia o no de un fenotipo anormal de linfocitos T, B y células NK en sangre fetal extraída en la 19 semana de la gestación.

En los últimos seis años hemos podido diagnosticar treinta y dos IDCG: 3 deficiencias de Adenosin-desaminasa, 3 de RAG1, 3 de RAG2, Artemis: 3, cad α R-IL7: 4, cadena γ C IL2: 6, y diez pacientes en los que hasta ahora no hemos identificado el defecto y que seguimos estudiando. Es importante sobre todo tener en cuenta que defectos moleculares diferentes pueden dar lugar a un mismo fenotipo clínico y que, a su vez, un mismo defecto molecular puede ser responsable de fenotipos clínicos diferentes. Así, una vez

conocida la mutación responsable de una determinada IDCG, el fenotipo clínico va a depender no sólo del tipo y localización de la mutación, sino probablemente también de otros factores genéticos o ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perez de Diego R, Lopez-Granados E, Pozo M, Rodriguez C, Sabina P, Ferreira A, et al. Identification of novel non-pathogenic mutation in SH3 domain of Btk in an XLA patient. *Mol Immunol* 2008; 45:301-303.
2. Nunez C, Lopez-Mejias R, Martinez A, Garcia-Rodriguez MC, Fernandez-Arquero M, de la Concha EG, Urcelay E. A functional PTPN22 polymorphism associated with several autoimmune diseases is not associated with IgA deficiency in the Spanish population. *BMC Med Genet* 2006; 15:7-25.
3. Lopez-Granados E, Perez de Diego R, Ferreira Cerdan A, Fontan Casariego G, Garcia Rodriguez MC. A genotype-phenotype correlation study in a group of 54 patients with X-linked agammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116:690-697.
4. Perez de Diego R, Lopez Granados E, Ferreira Cerdan A, Fontan Casariego G, Garcia Rodriguez MC. Kinase activity and XLA phenotypic variability. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:205-206.
5. Lopez-Granados E, Cambroner R, Ferreira A, Fontan G, Garcia-Rodriguez MC. Three novel mutations reflect the variety of defects causing phenotypically diverse X-linked hyper-IgM syndrome. *Clin Exp Immunol* 2003; 133:123-131.