

Inmunología

Básica, Clínica y Molecular.

*Curso Bienal Superior de Post Grado de Médico
Especialista en Medicina Interna (SMIBA)
Año 2012.*

29- 06-10

Dra. Ana María Di Lonardo

INMUNOLOGÍA MOLECULAR Y MEDICINA CLINICA

Las Ciencias Médicas están viviendo una revolución intelectual de la cual no puede haber retroceso.

La revolución no es solamente conceptual.
Los **procesos fisiológicos** y todas las **enfermedades** humanas, **congénitas** o **adquiridas**, se han hecho **susceptibles de ser analizadas y seguramente tratadas en términos moleculares.**

La Inmunología es una de las áreas de la Medicina que más está avanzando en estos últimos años, entre otras razones por los *puntos en común que tiene con las bases moleculares que están revolucionando el estudio de las enfermedades.*

En las últimas tres décadas, la investigación básica en inmunología molecular, regulación génica y transducción de señales *se han focalizado en sistemas humanos, de otros mamíferos o de roedores*, a causa de la facilidad en la obtención de recursos, reactivos y ensayos clínicos.

Los descubrimientos fundamentales de la Inmunología han influido de manera profunda en esta evolución, en todas y cada una de las ramas clínicas y quirúrgicas del ejercicio médico.

El número de pacientes en los que se reconocen *deficiencias inmunológicas* o *respuestas inmunes anormales* como base única de su enfermedad es cada vez mayor.

Actualmente su vertiginoso desarrollo está íntimamente ligado al progreso de los campos más relacionados con ella como el de la **Biología Molecular**.

Entre los grandes progresos recientes se pueden señalar, por ejemplo, el reconocimiento del papel de la tolerancia inmunológica, un reto para poder controlar la inmunorregulación.

Fracaso del Sistema Inmunitario

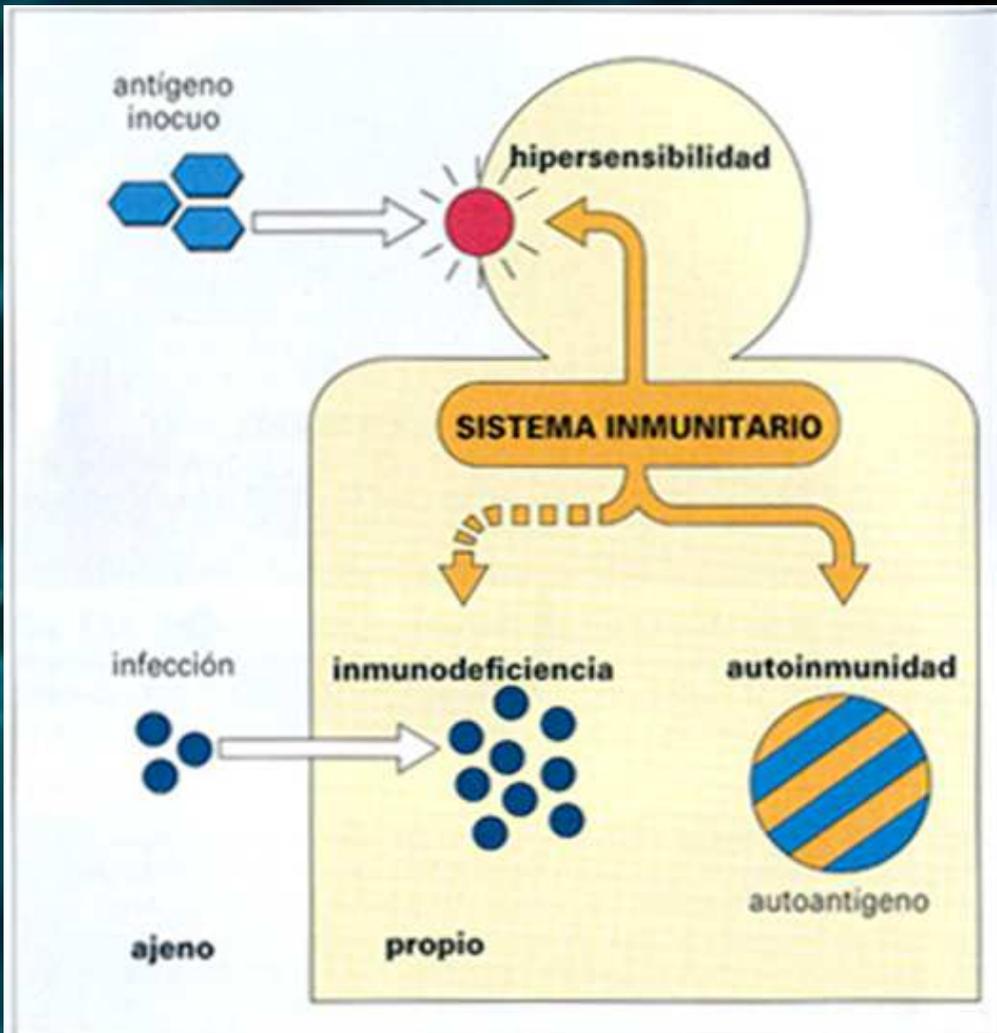


Fig. 1.20. Los defectos del sistema inmunitario pueden ser de tres tipos: hipersensibilidad, inmunodeficiencia y autoinmunidad. Los dos primeros son debidos a respuestas exageradas o insuficientes, respectivamente. La autoinmunidad es debida a un defecto en la discriminación entre lo propio y lo ajeno en el proceso de reconocimiento inmunitario.

Las fallas del Sistema pueden ser de tres tipos:

- 1) **Reacciones inadecuadas frente a autoantígenos: Autoinmunidad, no reconocimiento de lo propio.**
- 2) **Respuesta inmunitaria ineficaz: Inmunodeficiencias. Defecto de cualquiera de los elementos del Sistema Inmune congénito o adquirido.**
- 3) **Respuesta inmunitaria exagerada: Hipersensibilidad. Reacciones desproporcionadas en relación al daño que puede provocar el agente patógeno en la mayoría de los individuos de la población general.**

Fracaso del Sistema Inmunitario

El sistema inmune provee, regula, y activa, mecanismos moleculares, y celulares de defensa orgánica.

Cuando y porqué fracasa el Sistema Inmune para mantener la homeostasis del organismo?

1.- Fracaso de la tolerancia inmunológica.

Desemboca en respuestas adquiridas con resultado de lesión **celular**, **tisular** u **orgánica**, produciéndose los denominados cuadros *auto-inmunitarios*.

Diversos factores: **genéticos**, **ambientales**, **hormonales**, **raciales**, etc. suponen una predisposición a sufrir trastornos auto-inmunitarios.

Además, existen factores desencadenantes a una respuesta exagerada del sistema adquirido contra el organismo, tales como el **mimetismo molecular**, el fracaso de la apoptosis linfocítica, **la respuesta frente a auto-antígenos ocultos**, el fracaso de la anergia de los linfocitos T, **o la pérdida de anergia de las poblaciones B.**

Alteraciones Inmunológicas

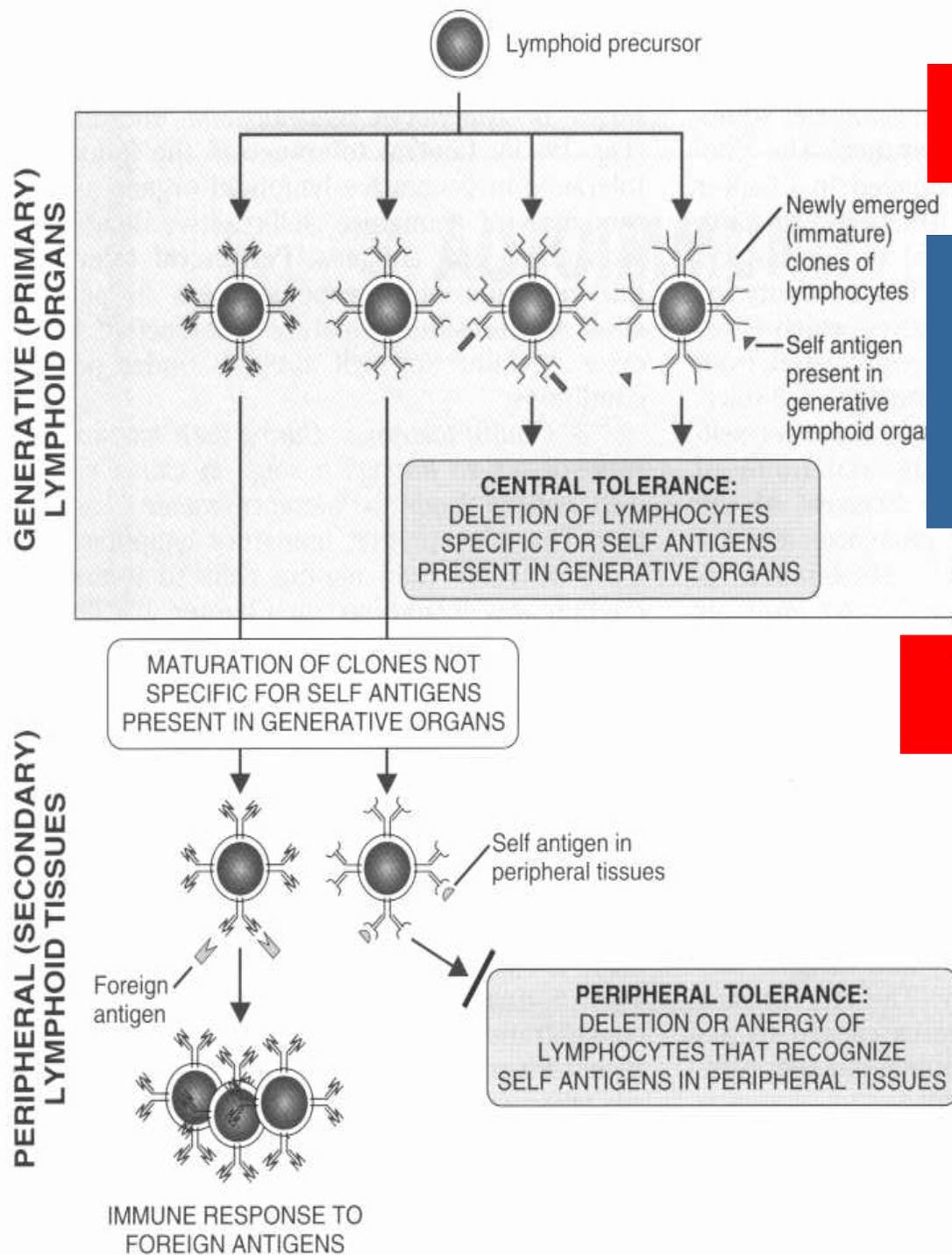
La autoinmunidad se debe al fracaso o a la ruptura de los mecanismos normalmente responsables de la AUTOTOLERANCIA.

- **FRACASO DE LA TOLERANCIA CENTRAL**
- **FRACASO DE LA TOLERANCIA PERIFÉRICA**
- **FRACASO EN LA SELECCIÓN CLONAL**
- **FRACASO O PÉRDIDA DE LA ANERGIA CLONAL**
- **FRACASO O PERDIDA DE LA IGNORANCIA CLONAL**
- **FRACASO O PERDIDA DE LA SUPRESIÓN DE CLONES AUTORREACTIVOS**

La autotolerancia se adquiere activamente en cada nuevo individuo por **delección**, **inactivación**, **ignorancia** o **supresión** de sus linfocitos T y B.

La tolerancia a lo propio es un proceso adquirido por LT y LB en los órganos linfoides primarios (tolerancia central) y en la periferia (tolerancia periférica) por eliminación o inactivación de los clones potencialmente autoreactivos.

Los LB inmaduros que durante su capacitación en médula ósea expresan receptores específicos para componentes propios son eliminados (selección negativa) o inactivados.



TOLERANCIA CENTRAL

LINFOCITOS T

TIMO

Estadío CD4⁺CD8⁺ (doble positiva) timocito

Estimulo Alta-afinidad reconocimiento de Ag en el timo

Mecanismo deleción clonal (apoptosis)

TOLERANCIA PERIFERICA

PERIFERIA

Estadío linfocito T maduro

Estímulo Presentación de Ag por APCs
Pérdida de coestimuladores;
Estimulación repetida por Ags

Mecanismos Anergia

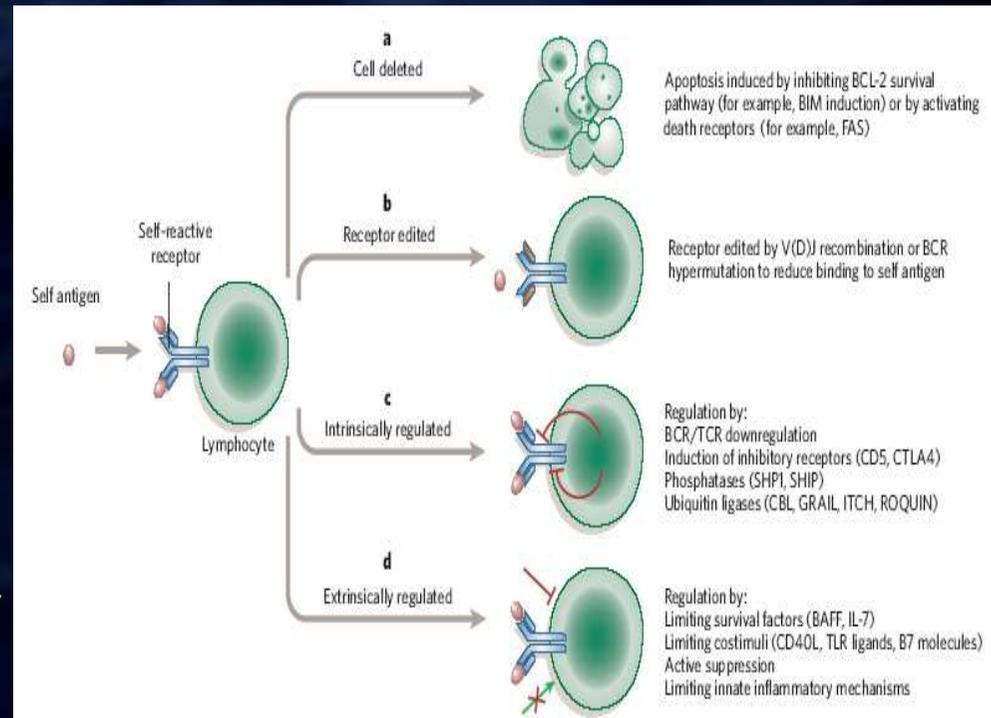
Activación-inducide muerte celular
Supresión de cels T

TOLERANCIA CENTRAL DE LB

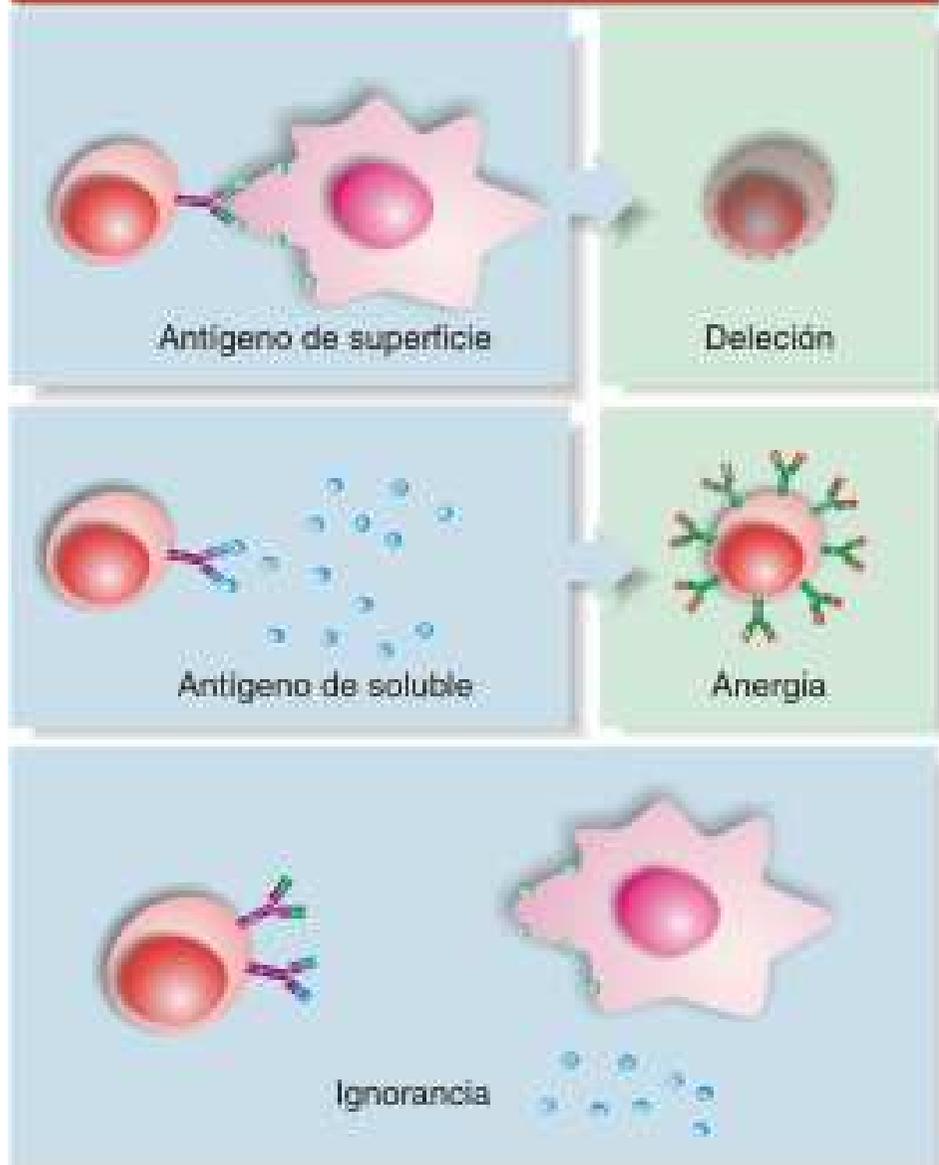
MECANISMO MAS IMPORTANTE PARA ASEGURAR LA AUTOTOLERANCIA

Durante su maduración en la médula ósea los LB inmaduros que reconozcan autoantígenos con gran afinidad **son eliminadas** o **cambian de especificidad**

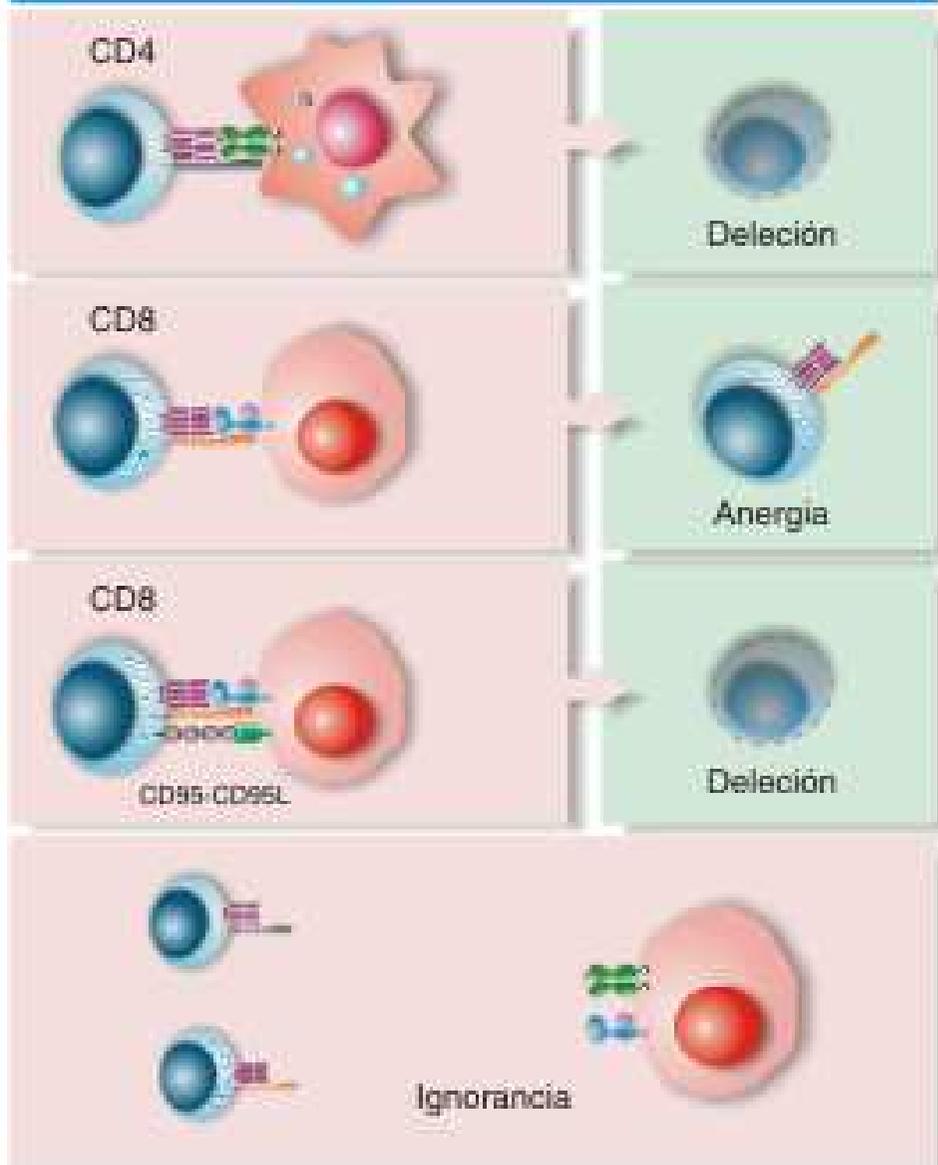
- Los LB pueden reactivar sus genes RAG1 y RAG2 , reordenar una nueva cadena liviana y cambiar la especificidad del BCR: **EDICION DEL RECEPTOR**
- Los LB pueden ser eliminados por apoptosis: **DELECIÓN**
- Los LB que reconocen autoantígenos con menor valencia pueden sobrevivir pero se vuelven **incapaces de responder al antígeno: ANERGIA**
- Los LB pueden **regular en menos la expresión del BCR**



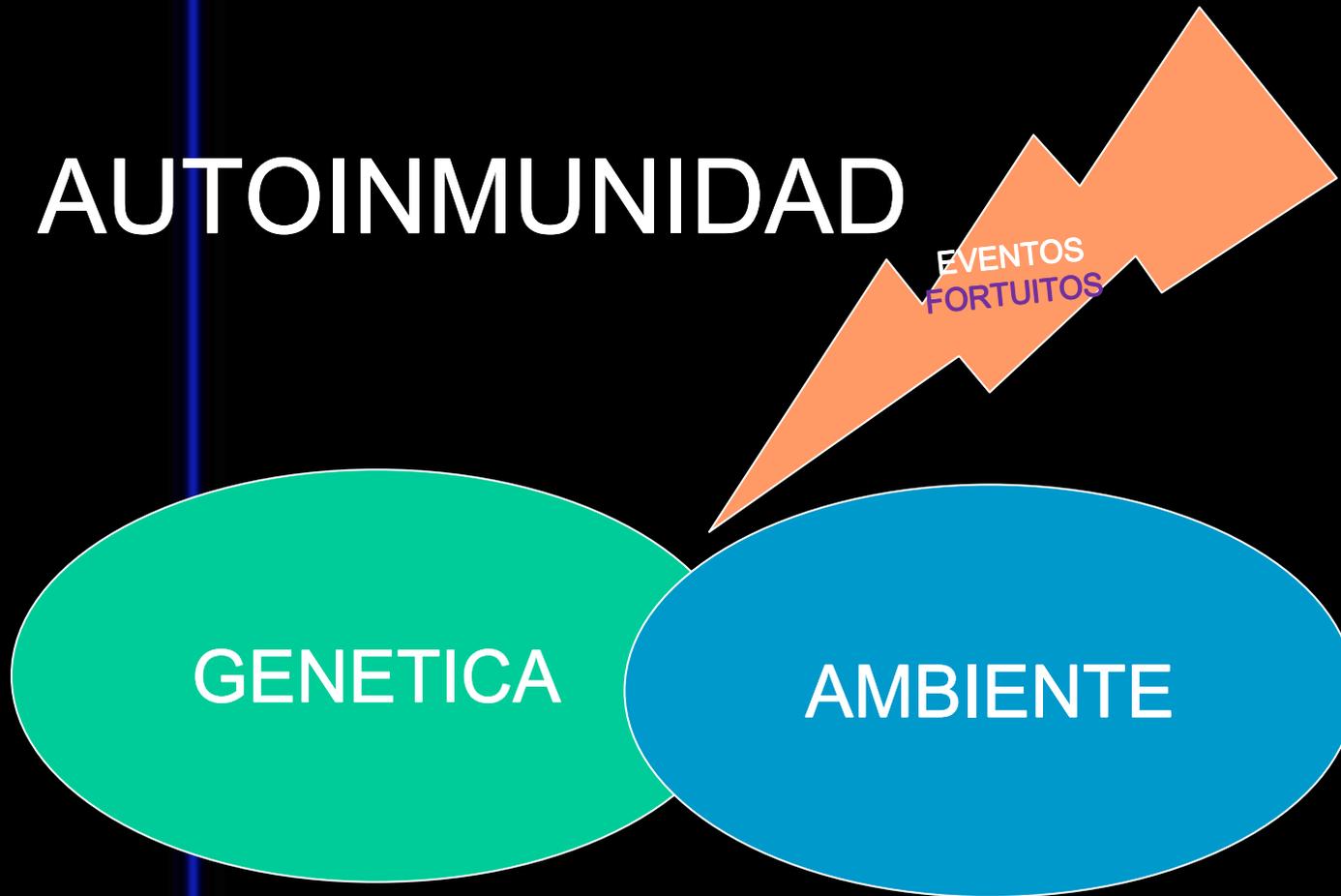
Autotolerancia en linfocitos B



Autotolerancia en linfocitos T



AUTOINMUNIDAD



GENETICA

AMBIENTE

EVENTOS
FORTUITOS

ENFERMEDADES AUTOINMUNES MONOGENICAS

LA RELACION ENTRE LA VARIANTE
GENETICA CAUSAL Y LA PRESENCIA
DE LA ENFERMEDAD ES
DETERMINANTE

Gen alterado



Patología

Utilidad del aislamiento de los genes responsables de las enfermedades hereditarias

- Facilita la **detección de mutaciones responsables de enfermedad**, contribuye al diagnóstico y a la identificación de portadores de la enfermedad.
- La **índole del producto génico** puede conducir a un mejor conocimiento de la lesión histopatológica o bioquímica y la identificación de nuevos productos terapéuticos.
- La **caracterización de los efectos de las mutaciones** pueden permitir un análisis más refinado de la función molecular del producto génico
- La **identificación del locus de la enfermedad** es esencial para el desarrollo de terapias génicas y/o la producción de proteínas recombinantes de uso terapéutico

ENFERMEDADES AUTOINMUNES MONOGÉNICAS

- Las mutaciones encontradas pueden sugerir cuales vías biológicas podrían estar implicadas en las enfermedades autoinmunes

Table 1 | Simple genetic traits associated with autoimmunity

Gene	Human disease	Mouse mutant or knockout	Mechanism of autoimmunity	References
<i>AIRE</i>	APS-1	Knockout	Decreased expression of self antigens in the thymus, resulting in defective negative selection of self-reactive T cells	2, 3
<i>CTLA4</i>	Association with Graves' disease, type 1 diabetes and others	Knockout	Failure of T cell anergy and reduced activation threshold of self-reactive T cells	9, 65, 66
<i>FOXP3</i>	IPEX (scurfy)	Knockout and mutation	Decreased generation of CD4 ⁺ CD25 ⁺ regulatory T cells	11-13, 67
<i>FAS, FASL</i>	ALPS	<i>lpr/lpr; gld/gld</i> mutants	Failure of apoptotic death of self-reactive B and T cells	16, 68
C4 complement protein	Associated with SLE	Knockout	Defective clearance of immune complexes and possible failure of B cell tolerance	Reviewed in ref. 69

¹Inflammatory Disease Research, The Broad Institute of MIT and Harvard, Harvard Medical School, Brigham and Women's Hospital, 1 Kendall Square, Building 300, Cambridge, Massachusetts 02139-1561, USA (e-mail: rioux@broad.mit.edu). ²Université de Montréal, Montreal Heart Institute, Montreal, Quebec H3C3J7, Canada. ³Department of Pathology, University of California San Francisco, Room M-500, 512 Parnassus Avenue, San Francisco, California 94143, USA

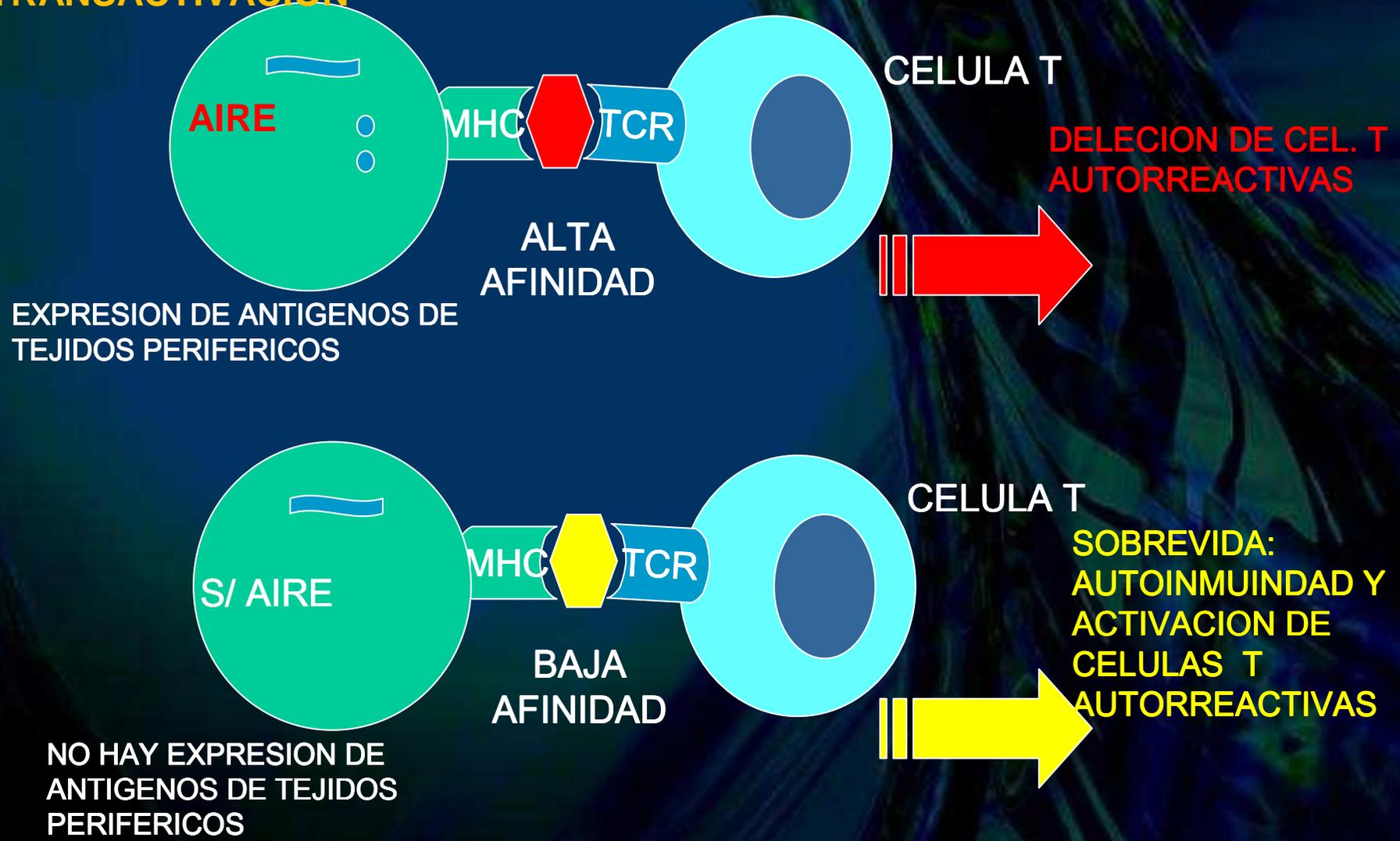
AIRE y tolerancia central

- **AIRE** : regulador autoinmune, fue identificado como el gen mutado en el **Síndrome de Poliendocrinopatía Autoinmune (APS-1)** que involucra autoinmunidad en múltiples órganos endócrinos, piel y otros tejidos.

• *La proteína AIRE sería la responsable de la expresión tímica de algunos antígenos que son expresados a altos niveles en los tejidos periféricos.*

• *La ausencia de AIRE en timo genera que las células T específicas para ese antígeno escapen a la selección negativa (tolerancia central), entren en la periferia y ataquen tejidos blanco.*

AIRE: PROTEINA CON ACTIVIDAD DE UNION AL ADN Y CAPACIDAD DE TRANSACTIVACION



DEFICIENCIA DE AIRE: APS-1 ó APECED

- POLIENDOCRINOPATIA (paratiroides, tiroides, suprarrenales, gónadas, páncreas, hígado), DISPLASIA ECTODERMICA Y CANDIDIASIS
- HERENCIA MENDELIANA AUTOSOMICA RECESIVA
- CAUSA: MUTACION CON PERDIDA DE FUNCION DEL GEN AIRE

AIRE y tolerancia central

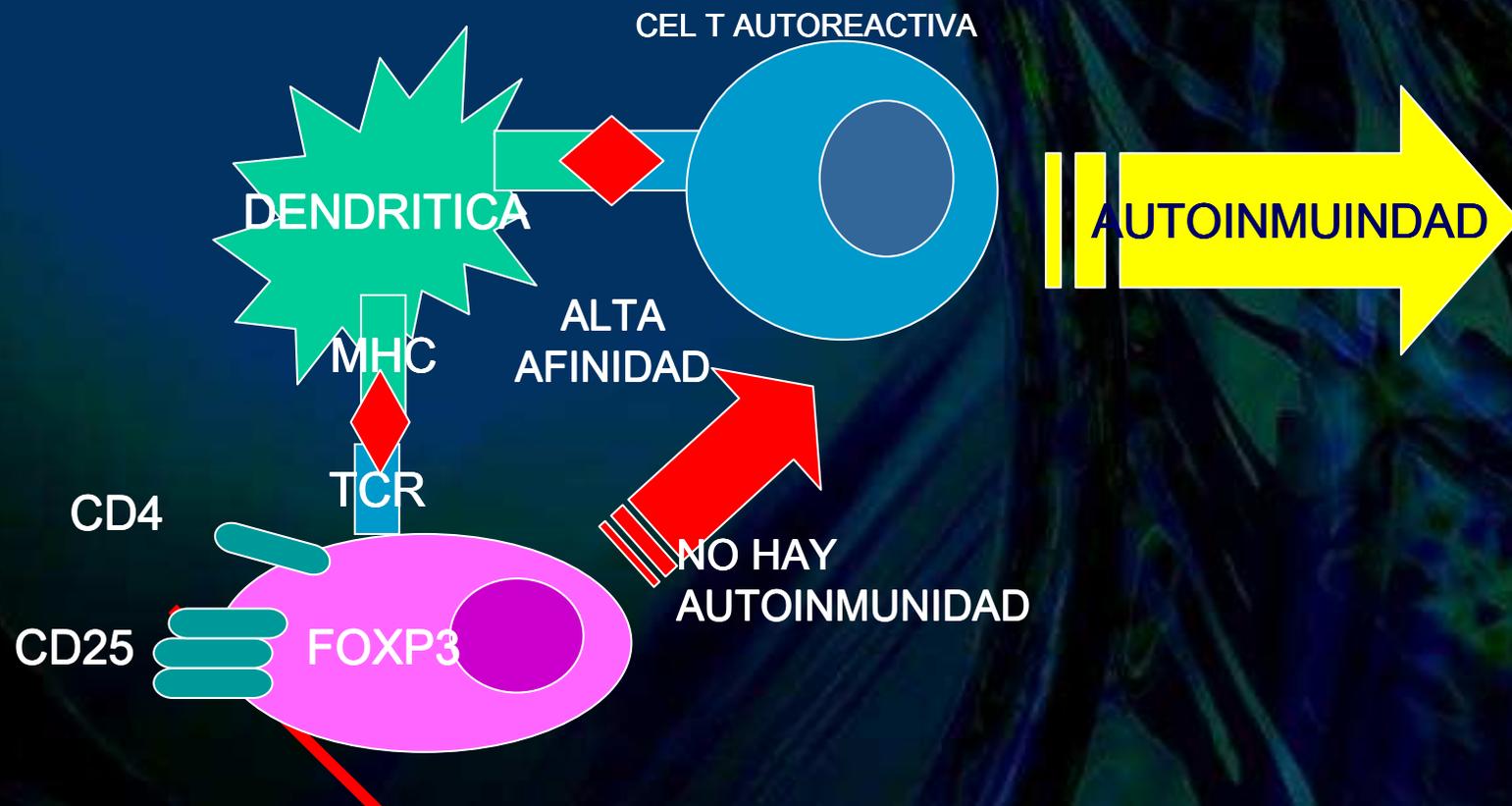
- La posibilidad de que un defecto tímico subyazca a la autoinmunidad queda demostrado ante la importancia de AIRE en la selección tímica – tolerancia central
 - Uno de los genes susceptibles en diabetes tipo 1 es el de la insulina: se ha sugerido que un polimorfismo asociado a la enfermedad del gen de la insulina reduce su expresión en el timo, permitiendo que las células T reactivas a insulina escapen a la delección clonal.

FOXP3 Y CELULAS T REGULATORIAS

- **FOXP3** (FACTOR DE TRANSCRIPCION DE LA FAMILIA FORKHEAD) es un ejemplo claro de un gen, cuyo rol en la autoinmunidad ha sido revelado por la confluencia de estudios animales y estudios en humanos con patología desconocida
 - la mutación en el gen foxp3 de ratón genera enfermedad autoinmune sistémica
 - la enfermedad humana IPEX (desregulación inmune, poliendocrinopatía, enteropatía, ligada a X) se asocia a mutaciones en FOXP3

FOXP3:

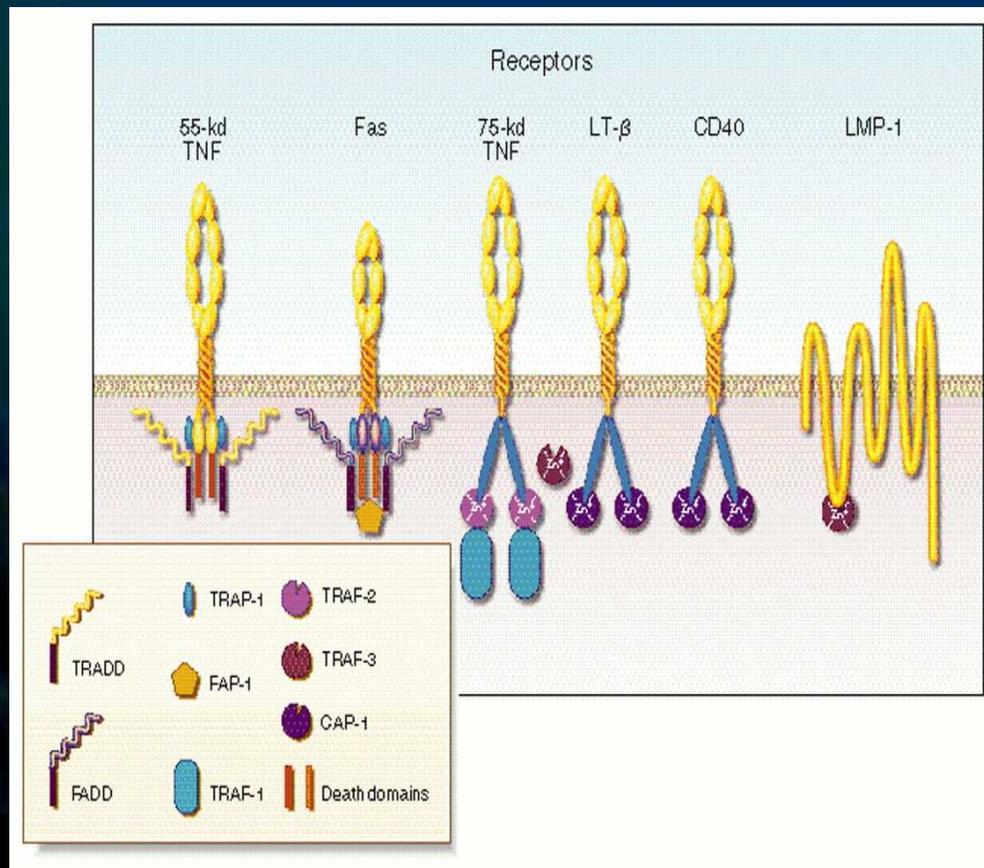
- EL DESARROLLO Y LA FUNCION DE LAS CELULAS T REGULATORIAS CD4+ CD25+ DEPENDE DE LA CORRECTA EXPRESION DE FOXP3



SINDROME IPEX

- Enfermedad multisistémica de comienzo temprano y evolución fatal
- Enteropatía severa con infiltración T masiva y difusa y destrucción variable de la mucosa, asociada a diabetes, eczema y autoinmunidad de células sanguíneas
- Causa: **mutación con pérdida de función del gen FOXP3**
- **Herencia mendeliana recesiva ligada al X**

FAS Y APOPTOSIS

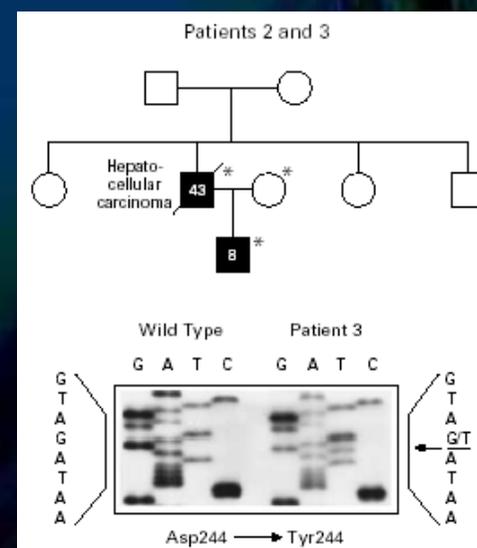
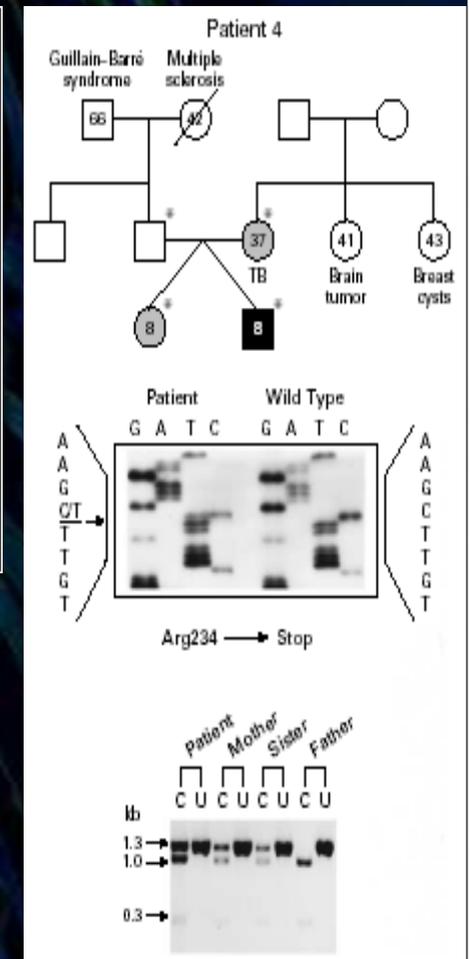
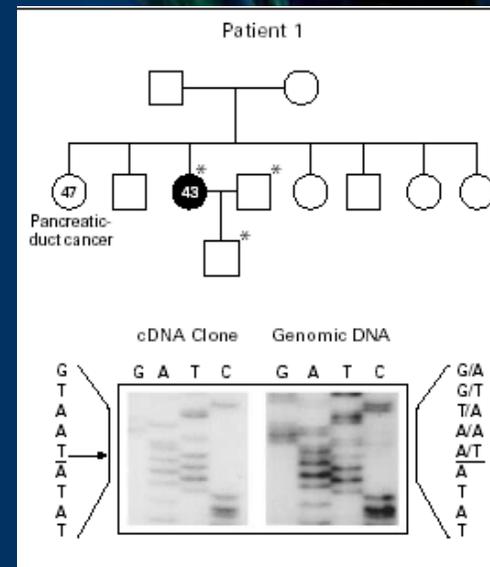


FAS (CD95) ES EL
PROTOTIPO DE RECEPTOR
DE MUERTE DE LA FAMILIA
DE RECEPTORES DE TNF

FAS CONTRIBUYE A LA
DELECIÓN DE LINFOCITOS
T Y B MADUROS QUE
RECONOCEN
AUTOANTIGENOS

FAS

- ALPS: SINDROME LINFOPROLIFERATIVO AUTOINMUNE causado por mutaciones en el gen FAS



AUTOIMMUNE LYMPHOPROLIFERATIVE SYNDROME TIPO I
AUTOSOMICO DOMINANTE

TIPO IA ALPS1A

TIPO I B ALPS1B

AUTOIMMUNE LYMPHOPROLIFERATIVE SYNDROME TIPO I
AUTOSOMICO RECESIVO

El Síndrome Linfoproliferativo Autoinmune (ALPS) Tipo IA está causado por una mutación heterocigota en el gen del Fas (TNFRSF6) o CD95.

ALPS Tipo IB está causado por una mutación heterocigota en el gen del Fas L (TNFSF6) o CD95 L. Defecto parcial en la Apoptosis mediada por Fas y su Ligando.

ALPS Tipo II Resistencia a la Apoptosis mediada por Fas a pesar de la existencia de Fas y Fas L.

IIA (ALPS2A) está causado por una mutación en el gen de la Caspasa 10 (CASP10).

IIB (ALPS2B) está causado por una mutación en el gen de la Caspasa 8 (CASP8).

ALPS Tipo III comprende casos en los cuales no se ha identificado una mutación.

MUTACIONES EN FAS

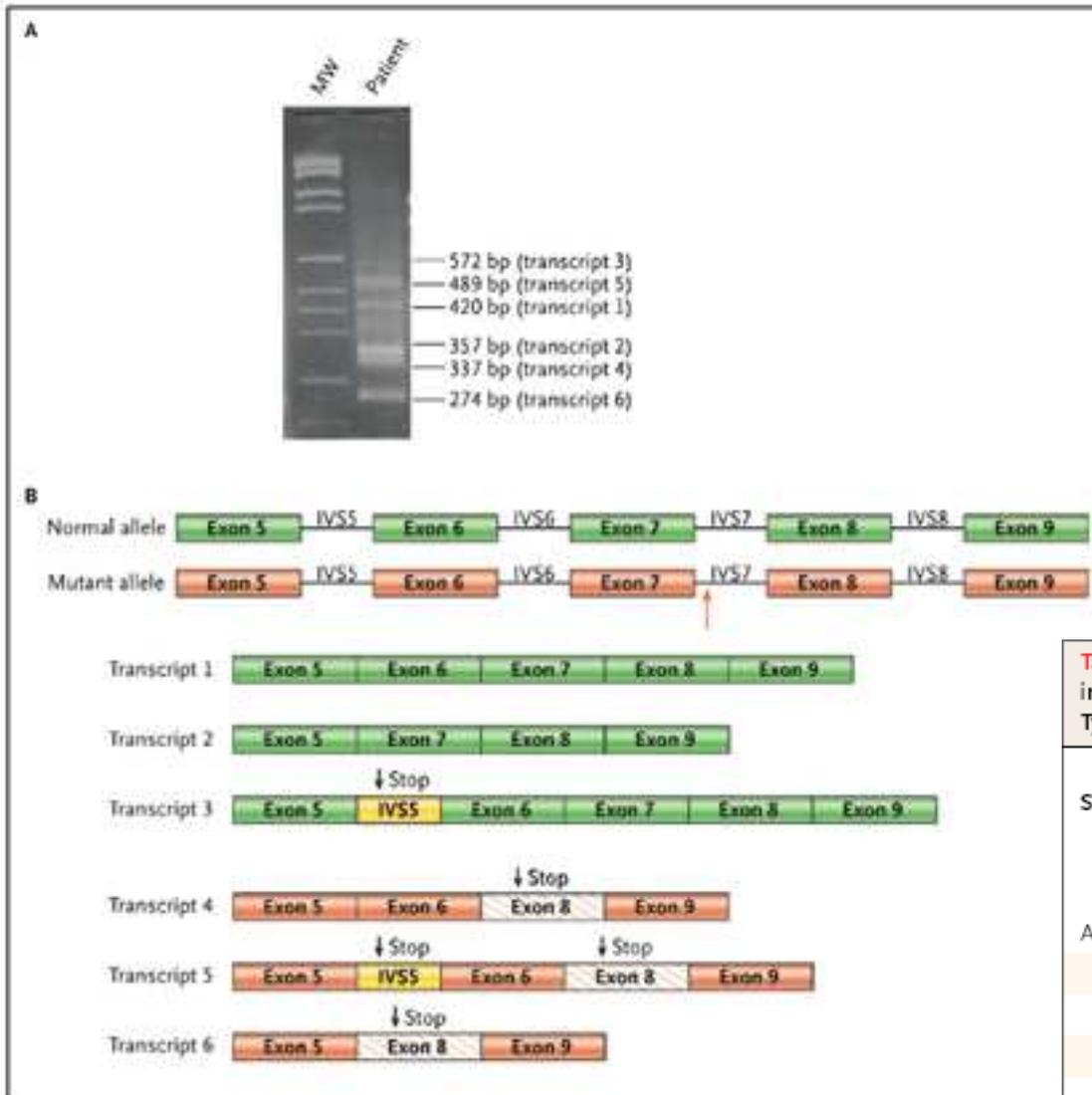
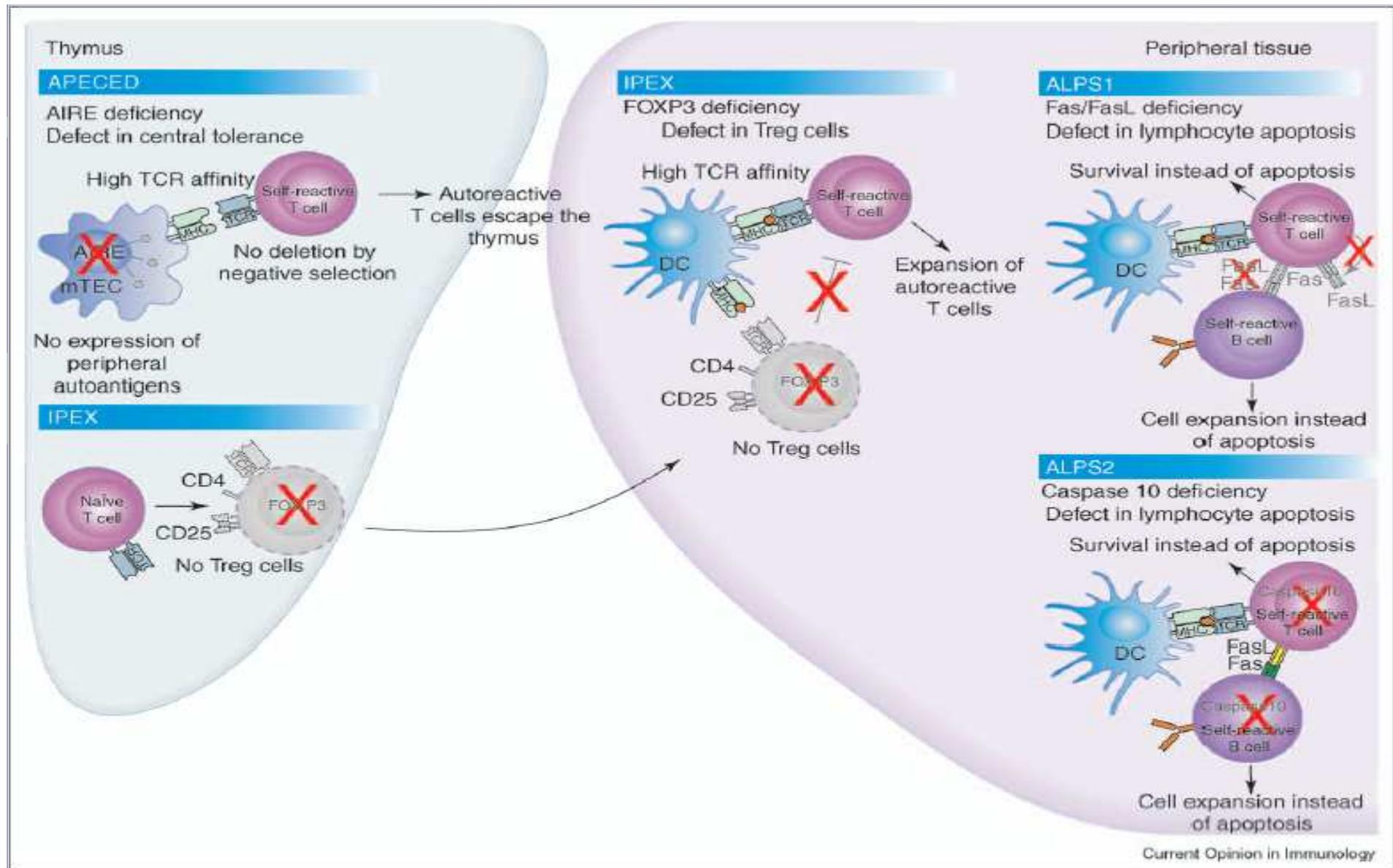


Table 2. Levels of Fas-Mediated Apoptosis and Heterozygous *Fas* Mutations in Six Patients with Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS) Type III and Three Patients with ALPS Type Ia.

Subgroup	Fas-Mediated Apoptosis*	Fas Mutation		
		Type	Location	Predicted Protein
	%			
ALPS type III				
Patient 1	70	Somatic	Exon 8	P201fs(stop 204)
Patient 2	85	Somatic	Exon 8	P201fs(stop 204)
Patient 3	93	Somatic	Exon 9	D244V
Patient 4	73	Somatic	Exon 9	S214fs(stop 227)
Patient 5	86	Somatic	Exon 7	W173fs(stop 209)
Patient 6	83	Somatic	Exon 8	P201fs(stop 204)
ALPS type Ia†				
Patient 1	8	Germ line	Exon 8	P201fs(stop 204)
Patient 2	4	Germ line	Exon 9	S214fs(stop 224)
Patient 3	10	Germ line	Exon 7	K181fs(stop 199)



A schematic model of the pathways targeted by the monogenic AIDs APS1, ALPS and IPEX in the central (thymus) and peripheral immunological organs. The red crosses pinpoint the molecules or functions hit by the disease mutations. In APECED, defects in AIRE lead to impaired expression of ectopic antigens in mTECs, causing inefficient negative selection of T cells. In IPEX, the mutations in *Foxp3* prevent the normal development of regulatory T cells (Treg), and in ALPS 1 and 2 Fas/Fas ligand mutations result in the defective apoptotic elimination of autoreactive T cells. Abbreviations: DC, dendritic cell; mTEC, medullary thymic epithelial cell; TCR, T-cell receptor; Treg cell, regulatory T cell.

DESORDENES MULTIFACTORIALES

Son aquellos causados tanto por factores genéticos como ambientales



AUTOINMUNIDAD = POLIGENIA ???

- En contraste con las enfermedades monogénicas, las enfermedades poligénicas se consideran resultado de la combinación de alelos de susceptibilidad en múltiples loci, factores ambientales y eventos desencadenantes

ALELOS COMUNES CON BAJA PENETRANCIA

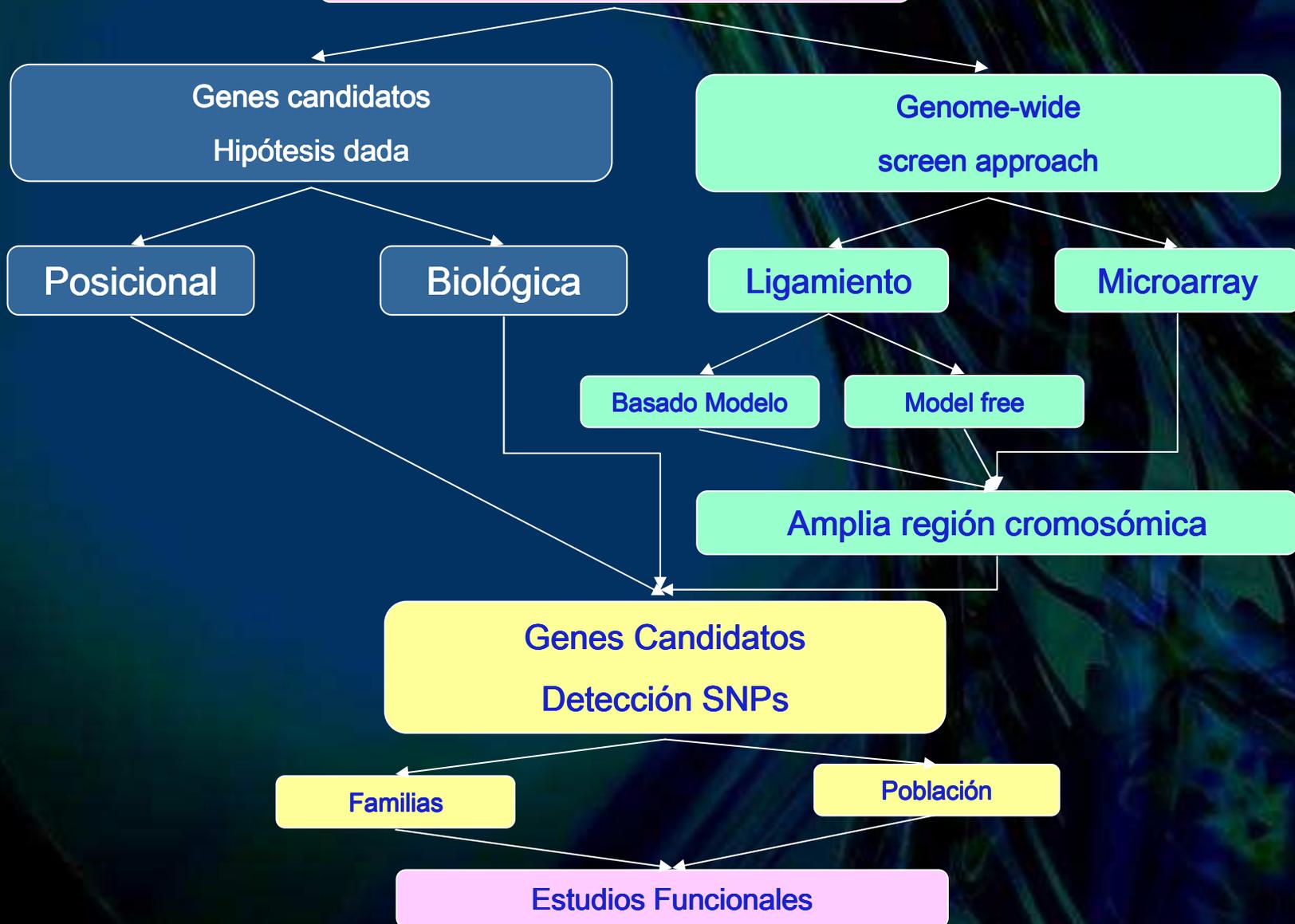
(ALELOS QUE CONFIEREN UN RIESGO MODESTAMENTE
AUMENTADO DE ENFERMEDAD)

VS

MÚLTIPLES ALELOS RAROS DE ALTA PENETRANCIA

LA PREGUNTA DEL MILLON !!!!!

Modelo de herencia compleja



ESTUDIOS DE LIGAMIENTO

(se excluye a los genes del MHC)

- 19q13.2-q13.4 Autoimmune disease cluster
- 19q13 Asthma/atopia
- 5p14-p12 Susceptibility to MS
- 1p21-p22 Autoimmune disease cluster
- 2p11-p13 Psoriasis, MS
- 3q21 RA, IDDM9
- 12q13 Autoimmune disease cluster
- 22q13.1 MS
- 8q23.1-q23.2 RA, IDDM
- 8q24 Psoriasis
- 17q25 Autoimmune disease cluster
- 17q23-24 Psoriasis, MS, IDDM

MAPEO DE GENES DE
AUTOINMUNIDAD

ESTUDIOS DE LIGAMIENTO

(se excluye a los genes del MHC)

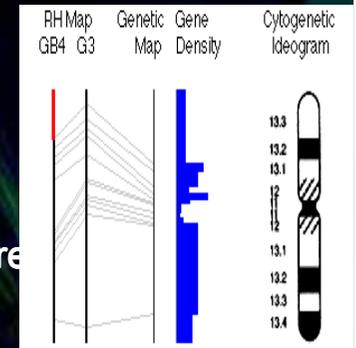
- 19q13.2-q13.4 Autoimmune disease cluster
- 19q13 Astha/atopia
- 5p14-p12 Susceptibility to MS
- 1p21-p22 Autoimmu
- 2p11-p13 Psc
- 3q21
- 12q13
- 22q13.1
- 8q23.1-q23.2
- 8q24
- 17q25
- 17q23-24 Ps

LAS REGIONES
IDENTIFICADAS PUEDEN
TENER ENTRE 20 Y 30
MILLONES DE PB Y
CONTENER CIENTOS DE
GENES

REGIONES LIGADAS A LA ENFERMEDAD

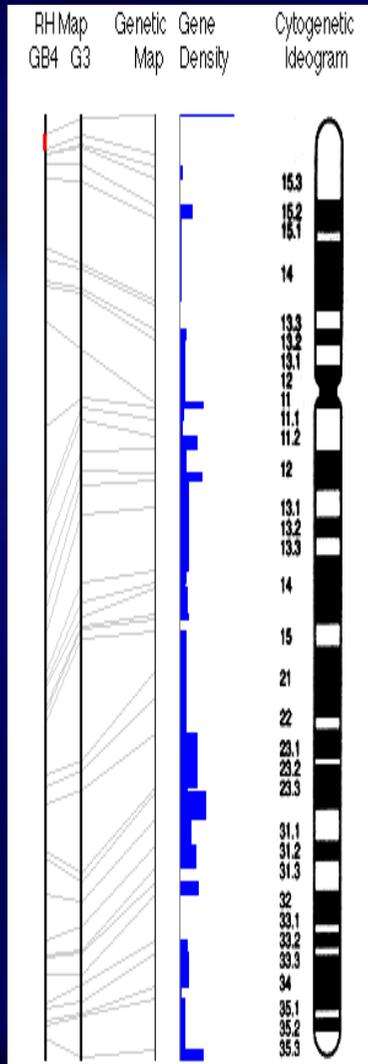
ESTA ESTRATEGIA PROMETE LA IDENTIFICACION DE NUEVOS GENES Y
PATHWAYS Y NO REQUIERE HIPOTESIS A PRIORI

Cromosoma 19



- 19q13.2-q13.4 ZNF42, MZF1 P Zinc finger protein-42 (myeloid-specific retinoic acid re
- 19q13.2-qter ZNF13, KOX5 P Zinc finger protein-13 (KOX 5)
- 19q13.2-qter ZNF27, KOX22 P Zinc finger protein-27 (KOX 22)
- 19q13.3 AP2A1, CLAPA1, ADTAA P Adaptor-related protein complex 2, alpha 1 subunit
- 19q13.3 CRX, CORD2, CRD C Cone-rod homeo box-containing gene. Cone-rod retinal dystrophy-2,
- 19q13.3 DBP C D site of albumin promoter binding protein
- 19q13.3 EMP3 P Epithelial membrane protein 3
- 19q13.3 ETFB C Electron transfer flavoprotein, beta polypeptide. Glutaricaciduria, type IIB (3)
- 19q13.3 FCGRT P Fc fragment of IgG, receptor, transporter, alpha
- 19q13.3 FOSB P Oncogene FOS-B
- 19q13.3 FUT1, H, HH C Fucosyltransferase-1 (Bombay phenotype)
- 19q13.3 FUT2, SE C Fucosyltransferase-2 (secretor)
- 19q13.3 GIPR C Gastric inhibitory polypeptide receptor
- 19q13.3 GPR32 P G protein-coupled receptor-32
- 19q13.3 GYS1, GYS C Glycogen synthase .Diabetes mellitus, noninsulin-dependent
- 19q13.3 HRC P Histidine-rich calcium-binding protein
- 19q13.3 KLK9, PRSS9, ZYME C Kallikrein 6 (serine protease 9; neurosin; protease M)
- 19q13.3 NGFG P Nerve growth factor, gamma subunit
- 19q13.3 NOVA3, ANOVA P Neurooncological ventral antigen 3
- 19q13.3 NR1H2, UNR P Nuclear receptor subfamily 1, group H, member 2
- 19q13.3 NTF5 , NTF4, NT5, NT4 C Neurotrophin-5 (neurotrophin-4/5)

Cromosoma 5



- 5p14-p12 NPR3, ANPRC P Natriuretic peptide receptor C Hypertension
- 5p13.3-p13.2 RAD1 P RAD1, S. pombe, homolog of
- 5p13.2-q11.1 AMACR P Alpha-methylacyl-CoA racemase
- 5p13.1 PTGER4 P Prostaglandin E receptor 4, EP4 subtype
- 5p13.1-p12 GDNF C Glial cell line derived neurotrophic factor. Hirschsprung disease
- 5p13 C6 C Complement component-6. C6 deficiency (1); Combined C6/C7 deficiency (1)
- 5p13 C7 C Complement component-7. C7 deficiency (1)
- 5p13 C9 C Complement component-9. C9 deficiency (3)
- 5p13 DAB2, DOC2 P Disabled, drosophila, homolog of, 2 (in ovarian cancer-2)
- 5p13 IL7R P Interleukin-7 receptor
- 5p13 SCOT, OXCT P Succinyl CoA:3-oxoacid CoA transferase.
- 5p13 SKP2 P S-phase kinase-associated protein 2 (p45)
- 5p13 SLC1A3, EAAT1 C Solute carrier family 1 (glial high affinity glutamate transporter)
- 5p13-p12 FGF10 P Fibroblast growth factor-10
- 5p13-p12 GHR C Growth hormone receptor. Laron dwarfism; Short stature, idiopathic
- 5p13-p12 PRLR P Prolactin receptor
- 5p13-cen TARS P Threonyl-tRNA synthetase
- 5p12 PRKAA1 P Protein kinase, AMP-activated, catalytic, alpha-1
- 5p12-p11 ZNF131 P Zinc finger protein -31
- 5p MANK, ANK P Ank, mouse, homolog of

ASOCIACION HLA Y ENFERMEDAD

Algunos alelos de HLA se observan con frecuencia mucho mayor en quienes padecen ciertas enfermedades, que en la población general

ASOCIACION HLA Y ENFERMEDAD

Espondilitis Anquilosante	B27
Enfermedad de Reiter	B27
Uveítis Aguda	B27
Fiebre de Ambrosía	B7
Psoriasis Vulgar	B13, B17, B37, Cw*0602
Hiperplasia Adrenal Congénita	B5
Hepatitis Autoinmune crónica	B8, DR3
Miastenia <i>Gravis</i>	B12, DR3
Diabetes tipo 1	DR3 , DR4
<i>Pemphigus Vulgaris</i>	DR4
Narcolepsia	DR2
Enfermedad Celíaca	DR3, DR7, DQ2
Arteritis de Takayaso	DR2 , DR3
Lupus eritematoso Sistémico	DR3, DR2
Tiroiditis de Hashimoto	DR5
Esclerosis Múltiple	DR2
Artritis Reumatoide	DR4 -DRB1*0401, 0404, 0405

Conceptos Generales

La fuerza de asociación de una enfermedad con un determinado antígeno o alelo HLA es cuantificado por el riesgo relativo (RR).

La asociación enfermedad - HLA no es absoluta. Individuos con el antígeno HLA asociado pueden no desarrollar enfermedad y desarrollarla aquellos que no portan ese antígeno.

RIESGO RELATIVO

Parámetro para calcular el riesgo de portar un determinado antígeno HLA en una población de individuos enfermos comparada con individuos sanos

RIESGO RELATIVO (R R)

Asociación y/o ligamiento de genes MHC y enfermedad

(*HLA y Enfermedad*)

$$R R = \frac{a \times d}{c \times b} \Rightarrow > 1 \text{ ó } < 1$$

a : N° de individuos enfermos que poseen el alelo

d : N° de controles sanos que no poseen el alelo

c : N° de controles sanos que poseen el alelo

b : N° de individuos enfermos que no poseen el alelo

Resultado > 1 : Asociación

Resultado < 1 : Protección

Enfermedad

Alelo HLA

Espondilitis anquilosante

HLA-B27

Uveítis anterior aguda

HLA-B27

Esclerosis múltiple

HLA-DR15

Enfermedad de Graves

HLA-DR3

Miastenia gravis

HLA-DR3

Lupus eritematoso sistémico

HLA-DR3

Diabetes mellitus

insulinodependiente

HLA-DR3 y DR4

Artritis reumatoide

HLA-DR1 y DR4

Pénfigo vulgar

HLA-DR4

TEORIAS QUE EXPLICAN LA ASOCIACION HLA-ENFERMEDAD

- **TEORIAS QUE IMPLICAN FUNCION INMUNE**
 - **MIMETISMO MOLECULAR**
 - reactividad cruzada entre anticuerpos dirigidos a proteínas bacterianas y HLA-B27
 - péptidos derivados de B27 son presentados por HLA CLASE II a las células T
 - **SELECCIÓN TIMICA DEL REPERTORIO T**
 - podría involucrar cambios en el sitio de binding
 - **AFECTACION DEL ENSAMBLAJE DEL HLA**
 - Cys67 podría generar homodímeros
 - **MODIFICACIONES QUIMICAS QUE RESULTAN EN ESTIMULACION**

MIMETISMO MOLECULAR

AUTOINMUNE	AUTOANTIGENO	PATOGENO	CROSS REACTIVITY
DIABETES TIPO 1	GAD65	COSAKIE	CEL T
AR	HLA-DRB1	40KD HEAT-SHOCK PROTEIN	CEL T Y B
AR	HEAT-SHOCK PROTEIN 60	HEAT-SHOCK PROTEIN 65 MICOBACTEIRUM TBC	CEL T Y B
SM	PROTEINA BASICA DE LA MIELINA	MULTIPLES VIRUS	CEL T
ESPONDILO ARTROPATIAS	HLA-B27	PROTEINAS DE GRAM NEG	CEL B
ENF. GRAVES	RECEPTOR TIROTROFINA	YERSINIA	CEL B

Table 1 | Disease-associated MHC class II molecules

MHC class II molecules grouped by disease association	MHC class II alleles	Disease association *
<i>Narcolepsy</i>		
HLA-DQ6.1	<i>HLA-DQA1*0102/DQB1*06011</i>	Negative
HLA-DQ6.2	<i>HLA-DQA1*0102/DQB1*0602</i>	Positive
<i>Cardiac disease</i>		
HLA-DQ2	<i>HLA-DQA1*0501/DQB1*0201</i>	Positive
HLA-DQ8	<i>HLA-DQA1*0301/DQB1*0302</i>	Positive
<i>Type 1 diabetes</i>		
HLA-DQ2	<i>HLA-DQA1*0501/DQB1*0201</i>	Positive
HLA-DR4.1	<i>HLA-DRA1*0101/DRB1*0401</i>	Positive
HLA-DR4.3	<i>HLA-DRA1*0101/DRB1*0403</i>	Negative
HLA-DR4.5	<i>HLA-DRA1*0101/DRB1*0405</i>	Positive
HLA-DQ6	<i>HLA-DQA1*0102/DQB1*0602</i>	Negative
HLA-DQ8	<i>HLA-DQA1*0301/DQB1*0302</i>	Positive
<i>Rheumatoid arthritis</i>		
HLA-DR1	<i>HLA-DRA1*0101/DRB1*0101</i>	Positive
HLA-DR4.1	<i>HLA-DRA1*0101/DRB1*0401</i>	Positive
HLA-DR4.2	<i>HLA-DRA1*0101/DRB1*0402</i>	Neutral or negative
<i>Multiple sclerosis</i>		
HLA-DR2a	<i>HLA-DRA5*0101/DRB5*0101</i>	Positive
HLA-DR2b	<i>HLA-DRA1*0101/DRB1*1501</i>	Positive
HLA-DQ6.2	<i>HLA-DQA1*0102/DQB1*0602</i>	Positive

*Positive association means that the associated MHC class II molecule increases susceptibility to the disease; negative association means that the associated MHC class II molecule protects against the disease; neutral association means that the associated MHC class II molecule has no effect on susceptibility to the disease.

TABLE 84.2 RA HLA-DRB1 "shared epitope" alleles

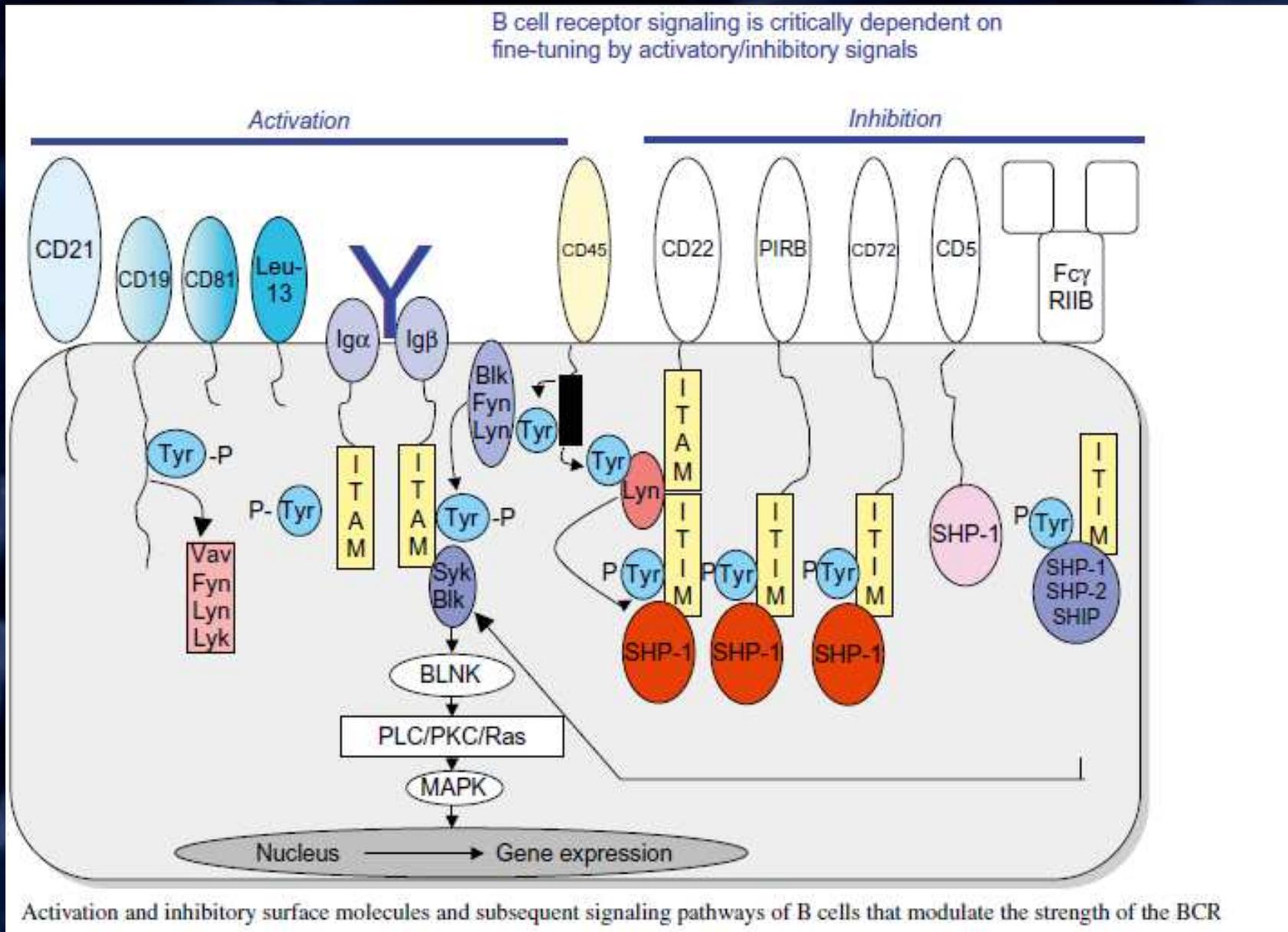
DRB1 alleles	Low-resolution	a.a (location)				
		70	71	72	73	74
		Q	R	R	A	A
DRB1*0101	DR1	Q	R	R	A	A
DRB1*0102	DR1	-	-	-	-	-
DRB1*0103	DR1	D	E	-	-	-
DRB1*03	DR3	-	K	-	G	R
DRB1*0401	DR4	-	K	-	-	-
DRB1*0402	DR4	D	E	-	-	-
DRB1*0403	DR4	-	-	-	-	E
DRB1*0404	DR4	-	-	-	-	-
DRB1*0405	DR4	-	-	-	-	-
DRB1*0407	DR4	-	-	-	-	E
DRB1*0408	DR4	-	-	-	-	-
DRB1*0411	DR4	-	-	-	-	E
DRB1*07	DR7	D	-	-	G	Q
DRB1*08	DR8	D	-	-	-	L
DRB1*0901	DR9	R	-	-	-	E
DRB1*1001	DR10	R	-	-	-	-
DRB1*1101	DR11	D	-	-	-	-
DRB1*1102	DR11	D	E	-	-	-
DRB1*1103	DR11	D	E	-	-	-
DRB1*1104	DR11	D	-	-	-	-
DRB1*12	DR12	D	-	-	-	-
DRB1*1301	DR13	D	E	-	-	-
DRB1*1302	DR13	D	E	-	-	-
DRB1*1303	DR13	D	K	-	-	-
DRB1*1323	DR13	D	E	-	-	-
DRB1*1401	DR14	R	-	-	-	-
DRB1*1402	DR14	-	-	-	-	-
DRB1*1404	DR14	R	-	-	-	E
DRB1*15	DR2	-	A	-	-	-
DRB1*16	DR16	D	-	-	-	-

Genes associated with RA HLA-DRB1 "shared epitope" alleles are classified by amino acid (a.a.) sequence at positions 70-74. The consensus a.a. sequence (QRRAA) is shown at the top; the identical a.a. is indicated by a dash (-) and variable a.a. indicated by appropriate nomenclature. Alleles in bold are associated with RA susceptibility.

TABLE 84.3 Non-MHC associations in RA

Gene	OR	Comments
<i>PTPN22</i>	1.75	Clear association with missense SNP (rs2476601) and CCP+ RA
<i>CTLA4</i>	1.20	Possible association with CT60 SNP (rs3087243) and RA
<i>PADI4</i>	1.20	Possible association with haplotype tagged by SNP (rs2240340) and RA
<i>SLC22A4</i>	1.25	Possible association with SNP (rs2073838) and RA

Señalización del BCR: «sintonía fina» para sus señales activadoras/inhedoras.



DESAFIOS EN EL MAPEO DE GENES DE SUSCEPTIBILIDAD

- LOS ESTUDIOS DE ASOCIACION DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES, ASÍ COMO EN TODAS LAS ENFERMEDADES COMPLEJAS, GENERAN DOS DESAFÍOS:
 - distinguir entre asociaciones verdaderas y falsas
 - demostrar causalidad

GENETICA DE LA AUTOINMUNIDAD

■ MAPEO DE LOCI DE SUSCEPTIBILIDAD

- NOD2: asociado a enfermedad de Crohn
- ADAM33: susceptibilidad al asma
- CTLA 4/IDDM12: enfermedad de Graves y Diabetes tipo I
- PTPN22: Diabetes tipo I, AR y LES

■ *La observación que un gen se asocia a más de una patología es consistente con la hipótesis de la existencia de un pathway inmunológico común a las enfermedades autoinmunes*

- *Posibilidad de análisis de los mecanismos comunes que llevan al aumento de la susceptibilidad*

2.- Fracaso por Inmunodeficiencia.

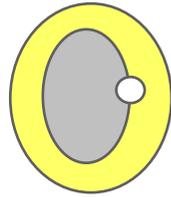
Por disminución de la respuesta del sistema inmunitario en sus formas primarias o congénitas y secundarias o adquiridas.

Debido al menoscabo en las funciones de defensa, las inmunodeficiencias determinan generalmente un incremento en la susceptibilidad a infecciones hasta niveles muchas veces incompatibles con la vida.

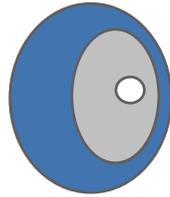
COMPONENTES del SISTEMA INMUNE

INMUNIDAD INNATA

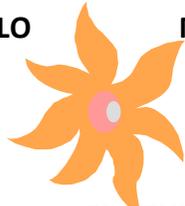
SISTEMA FAGOCÍTICO



NEUTRÓFILO

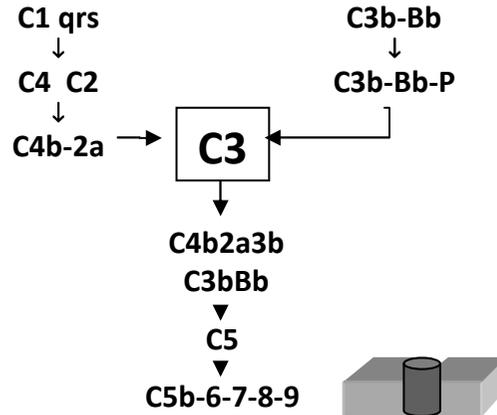


MONOCITO

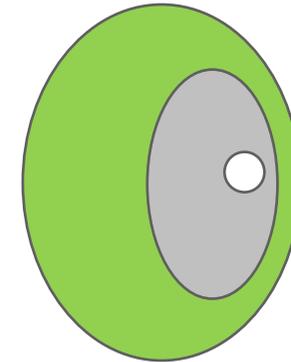


MACRÓFAGO – CEL DENDRITICA

SISTEMA COMPLEMENTO

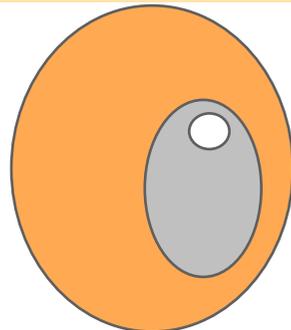


LINFOCITO NK

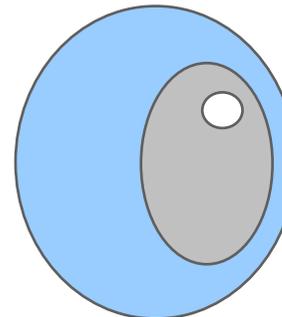


INMUNIDAD ESPECIFICA

LINFOCITO B



LINFOCITO T



SISTEMA INMUNE

Componentes y funciones

- **Sistema Fagocítico**

Bacterias intracelulares

Hongos

Micobacterias

- **Linfocito NK**

Células infectadas por virus

Células malignas

- **Sist. Complemento Bacterias extracelulares**

SISTEMA INMUNE

Componentes y funciones

- **Linfocito B**

Bacterias extracelulares

(piógenas encapsuladas)

Virus (Enterovirus)

- **Linfocito T**

Virus

Hongos

Bacterias intracelulares

(Gram negativas)

Micobacterias

Protozoos

INMUNODEFICIENCIAS

Características generales

Susceptibilidad aumentada a padecer infecciones.

El tipo o la gravedad de las infecciones delata a la célula o molécula afectada.

Los defectos de los fagocitos se asocian a infecciones por bacterias y hongos.

Los defectos del complemento impiden además la eliminación de los inmunocomplejos.

Los defectos de LB se asocian a infecciones por patógenos extracelulares.

INMUNODEFICIENCIAS

Características generales

Los defectos de las moléculas MHC afectan el desarrollo de los LT.

Los defectos de los LT afectan a los LB o a los macrófagos pero no a la inversa.

Susceptibilidad aumentada a padecer ciertas neoplasias.

Mayor incidencia de fenómenos autoinmunes

INMUNODEFICIENCIAS

Características generales

Los defectos de las moléculas MHC afectan el desarrollo de los LT.

Los defectos de los LT afectan a los LB o a los macrófagos pero no a la inversa.

Susceptibilidad aumentada a padecer ciertas neoplasias.

Mayor incidencia de fenómenos autoinmunes

INMUNODEFICIENCIAS

Características Generales

Las inmunodeficiencias pueden **afectar a un componente único** del sistema inmune alterándose una función determinada (eliminación de inmunocomplejos, síntesis de IgA..) o bien **producir un deterioro global de la respuesta inmune** como en el SIDA.

El estudio de estas enfermedades ha sido de gran ayuda para conocer mejor al propio sistema inmune permitiendo incluso abordar aspectos desconocidos del mismo (**los linfocitos $T\gamma\delta$ se aislaron por primera vez en una inmunodeficiencia**).

INMUNODEFICIENCIAS.

Características Generales

Algunos de los tratamientos más revolucionarios de la historia se ensayaron por primera vez en inmunodeficiencias , como el trasplante de médula ósea y la **terapia génica.**

Recientemente se ha extendido el diseño por ingeniería genética para producir ratones inmunodeficientes (K.O. “*knock out*” *hétero u homocigotas*) que en muchos casos sirven de modelo para sus homólogos humanos **ej.: *scid mouse.***

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Características Generales

INFECCIONES

Frecuencia (recurrencia, cronicidad)

Severidad

Duración

Respuesta a tratamientos

Complicaciones / secuelas

Microorganismo

- A una amplia variedad de gérmenes
- Restringido a un sólo tipo de germen

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Características Generales

AUTOINMUNIDAD / INFLAMACIÓN

Aftas / úlceras

Artritis / ARJ / LES

Vasculitis

Enfermedad Inflamatoria Intestinal

Celiaquía

Citopenias hemáticas (AHAI, PTI, NAI)

Hepatitis

Sarcoidosis like

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Características Generales

ASOCIACIONES NO INMUNOLOGICAS

Ataxia

Telangiectasias

Dismorfias

Trastornos pigmentación cutánea

Alteraciones dentarias

Cardiopatías

Endocrinopatías

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Clasificación (IUIS 2009)

	%
• Deficiencias Combinadas (linfocito T y B)-----	15
• Deficiencias Predominantes de Anticuerpos (linfocito B)-	60
• Defectos Congénitos del Fagocito (número y/o función)--	10
• Deficiencias del Sistema Complemento-----	2
• Otros Síndromes Bien Definidos de IDP-----	10
• Enfermedades por Desregulación Inmune	
• Defectos de la Inmunidad Innata	
• Desórdenes Autoinflamatorios	

INMUNODEFICIENCIAS

Las respuestas defectuosas de anticuerpo tienen como consecuencia una mayor susceptibilidad frente a las infecciones piógenas y se deben a anomalías en el funcionamiento de las células B: (Agamaglobulinemia Ligada al X),

ó

En la incapacidad de las células T para transmitir señales adecuadas a las células B: (Hiperinmunoglobulinemia Clase IgM, Inmunodeficiencia Común Variable e Hipogamaglobulinemia transitoria de la infancia).

INMUNODEFICIENCIAS.

Los defectos en la inmunidad mediada por células dan como resultado mayor susceptibilidad a las **infecciones virales**, por gérmenes de desarrollo facultativo intracelular e **infecciones oportunistas** debido a **anomalías** en el funcionamiento **de las células T**

INMUNODEFICIENCIAS

Los déficits hereditarios de componentes del complemento son característicos de una serie de síndromes clínicos, el más frecuente es el déficit de inhibidor de C1 dando como consecuencia Angioedema Hereditario.

Los deficit hereditarios del complemento que afectan a los últimos componentes de la cascada (C5, C6, C7 y C8) o bien a las proteínas de la vía alternativa (factor H, factor I y properdina) provocan una extraordinaria susceptibilidad frente a las especies bacterianas *N. Gonorrhoeae* y *N. Meningitidis*.

INMUNODEFICIENCIAS.

Los fagocitos con defectos en la vía de reducción del oxígeno debidos a su incapacidad para ensamblar la NADPH oxidasa y producir peroxido de hidrógeno y radicales de oxígeno antibacterianos, son la causa de la Enfermedad Granulomatosa Crónica.

La persistencia de productos bacterianos en los fagocitos conduce a la formación de abscesos o granulomas.

Los defectos de la adherencia leucocitaria llevan a leucocitosis persistente, ya que las integrinas defectuosas de los fagocitos impiden que puedan migrar desde el torrente sanguíneo hasta los tejidos a través del endotelio vascular.

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS DE CELULAS B.

**AGAMAGLOBULINEMIA LIGADA AL
CROMOSOMA X.**

DEFICIT DE Ig A.

DEFICIT DE SUBCLASES DE Ig G.

DEFICIENCIA SELECTIVA DE IgM.

INMUNODEFICIENCIA HIPER Ig M.

INMUNODEFICIENCIA COMUN VARIABLE (CVID).

**HIPOGAMAGLOBULINEMIA TRANSITORIA DE LA
INFANCIA.**

**INMUNODEFICIENCIAS
PRIMARIAS DE CELULAS T.**

SINDROME DE DI GEORGE

**DEFICIT DE PURIN NUCLEOTIDO
FOSFORILASA (PNP)**

y

ADENOSINADEAMINASA (ADA)

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS DEFICIT COMBINADOS.

INMUNODEFICIENCIA COMBINADA SEVERA (SCID)

DEFICIENCIA DE ADENOSIN DEAMINASA (ADA)

DEFICIENCIA DE HLA CLASE II

DISGENESIA RETICULAR

DEFICIENCIA DE CELULAS CD3 γ o CD3 ϵ

DEFICIENCIA DE LINFOCITOS CD8

SINDROME DE WISKOTT ALDRICH

ATAXIA TELANGIECTASIA

INMUNODEFICIENCIA CON TIMOMA

**INMUNODEFICIENCIA CON ENANISMO POR
EXTREMIDADES CORTAS**

OTRAS INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS.

DEFICIENCIAS PRIMARIAS DE CELULAS CD4+.

DEFICIENCIA PRIMARIA DE CELULAS CD7+.

DEFICIENCIA DE IL2.

DEFECTO MULTIPLE EN CITOQUINAS.

DEFECTO DE LA SEÑAL DE TRANSDUCCION.

DEFECTO DE LA SEÑAL DE TRANSCRIPCION.

DEFECTOS DE LAS CÉLULAS FAGOCÍTICAS.

Enfermedad Granulomatosa Crónica Ligada al X.

Enfermedad Granulomatosa Crónica Autosómica Recesiva.

Deficiencia de Adhesión Leucocitaria.

Deficiencia de Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa en Neutrófilos.

Deficiencia de Mieloperoxidasa.

Deficiencia de Gránulos Secundarios.

DEFICIENCIAS DEL SISTEMA COMPLEMENTO.

Deficiencias de los componentes de la vía clásica

C1q: Manifestaciones Autoinmunes

C1r: Manifestaciones Autoinmunes

C1s: Manifestaciones Autoinmunes

C4: Manifestaciones Autoinmunes

C2: Manifestaciones Autoinmunes, LES, Vasculitis, Polimiositis.

Deficiencia del C3 y componentes de la vía alterna.

C3: Infecciones por Neisseria sp, glomerulonefritis, vasculitis, síndrome urémico hemolítico asociado a déficit de Factor II

Properdina: Sepsis o meningitis por Neisseria sp

Factor D: Infecciones por Neisseria sp

Factor B: Infecciones por Neisseria sp

Deficiencia de los componentes terminales

C5-C9: Infecciones a repetición por Neisseria (Meningitis o Sepsis), Manifestaciones autoinmunes

Deficiencia de C1 inhibidor

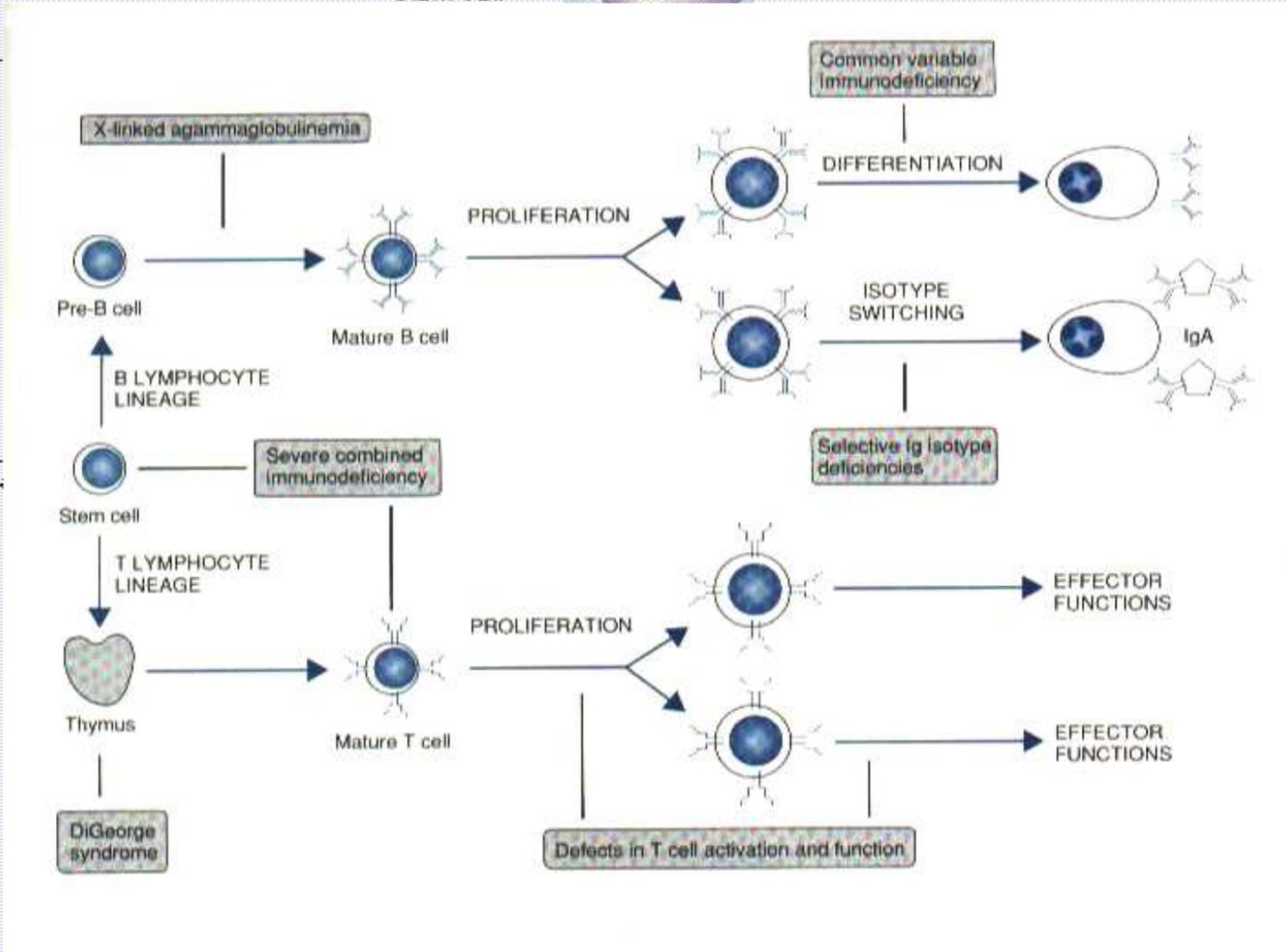
Angioedema

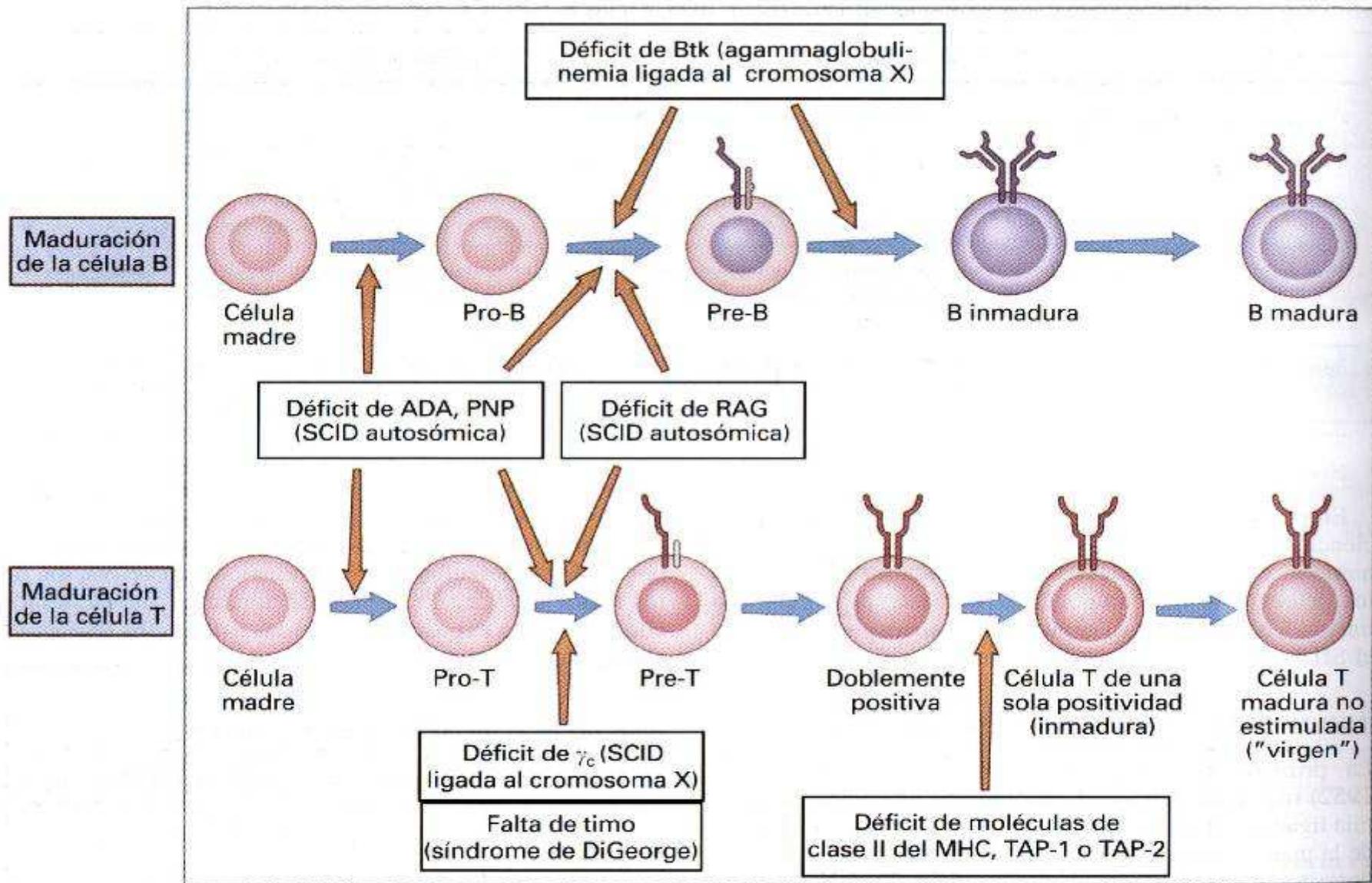
B-Lymphocyte Maturation | T-Lymphocyte Maturation

Hematopoietic stem cell

Bone marrow

Thymus



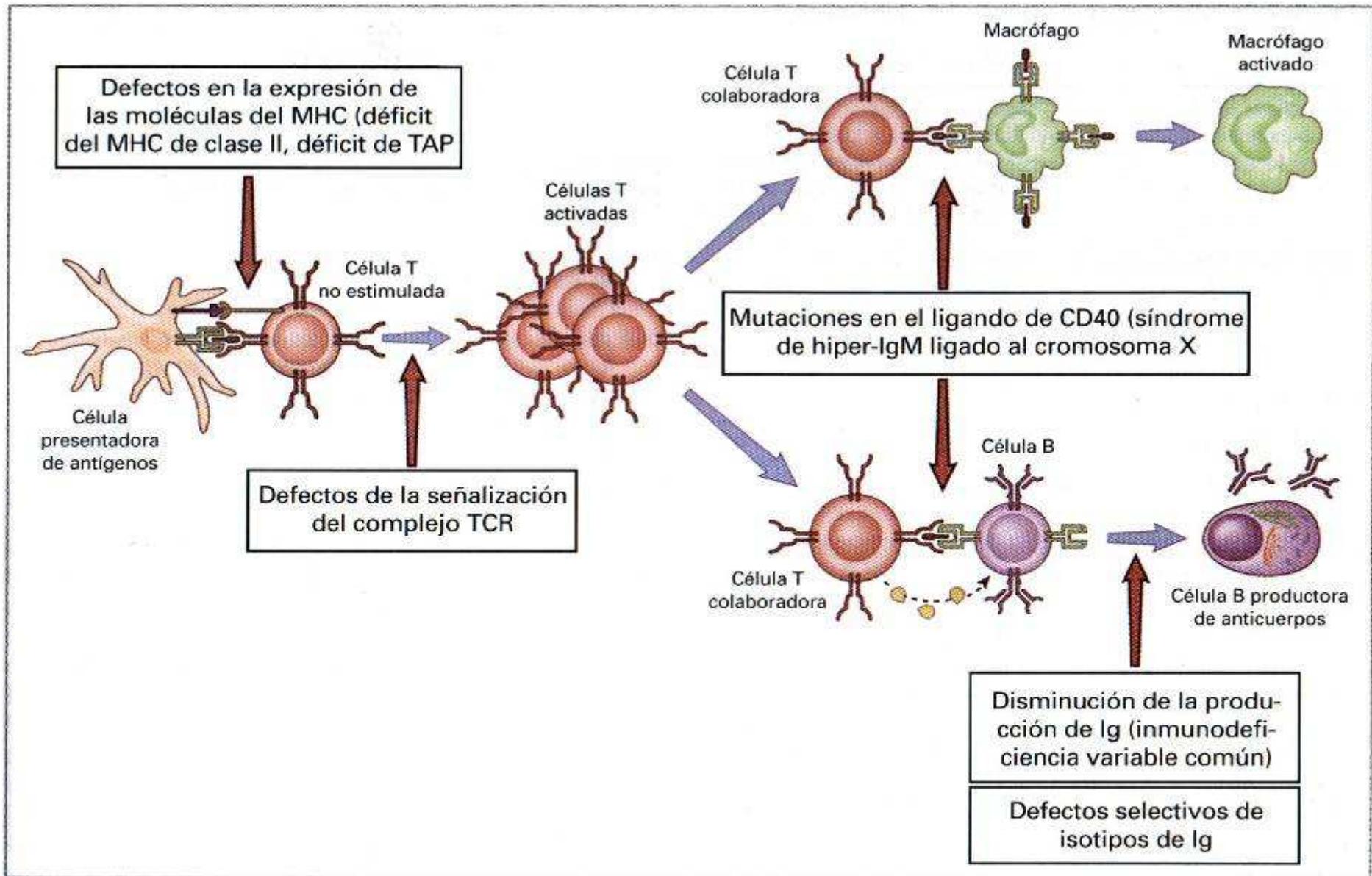


Inmunodeficiencia causada por defectos de la maduración de las células B y T.

Inmunodeficiencias primarias causadas por defectos genéticos de la maduración de los linfocitos. Estos defectos pueden afectar exclusivamente a la maduración de las células B, sólo a la maduración de las células T, o a ambas. Las vías de maduración de los linfocitos se describen con detalle en el Capítulo 7. ADA, adenosina desaminasa; Btk, tirosina quinasa de las células B; MHC, complejo principal de histocompatibilidad; PNP, purina nucleósido fosforilasa; RAG, gen activador de la recombinasa; SCID, inmunodeficiencia combinada grave; TAP, transportador asociado al procesamiento antigénico.

Defectos de la maduración de los linfocitos

Enfermedad	Déficit funcionales	Mecanismo supuesto del defecto
Inmunodeficiencia combinada grave		
Ligada al cromosoma X	Reducción notable de las células T, cifra de células B normal o aumentada, reducción de Ig en suero	Mutaciones en el gen de la cadena γ común del receptor de citoquinas, maduración defectuosa de las células T por falta de señales de la IL-7
Déficit de ADA, PNP	Reducción progresiva de las células B y T (principalmente T); reducción de Ig en suero en el déficit de ADA, cifra normal de células B y de Ig en suero en el déficit de PNP	El déficit de ADA o de PNP provoca la acumulación de metabolitos tóxicos en los linfocitos
Autosómica recesiva	Reducción de la cifra de células T y B, disminución de Ig en suero	Maduración defectuosa de las células T y B; base genética desconocida en la mayoría de los casos, posibles mutaciones en los genes RAG
Inmunodeficiencias de células B		
Agammaglobulinemia ligada al cromosoma X	Reducción de todos los isotipos de Ig en suero, reducción de la cifra de células B	Bloqueo de la maduración más allá del estadio de célula pre-B debido a una mutación en la tirosina quinasa de células B
Deleciones de genes de las cadenas pesadas de las Ig	Ausencia de IgG1, IgG2 o IgG4; en ocasiones, asociación con ausencia de IgA o IgE	Deleción cromosómica en 14q32 (locus de la cadena pesada de la Ig)
Inmunodeficiencias de células T		
Síndrome de DiGeorge	Reducción de las células T, cifra normal de células B, Ig en suero normales o reducidas	Desarrollo anómalo de la tercera y cuarta bolsas branquiales que provoca hipoplasia del timo
<i>Abreviaturas: ADA, adenosina desaminasa; Ig, inmunoglobulina; IL-7, interleuquina 7; PNP, purina nucleósido fosforilasa; RAG, gen activador de la recombinasa.</i>		



Immunodeficiencia causada por defectos en la activación de las células B y T.

Las inmunodeficiencias primarias pueden deberse a defectos genéticos de la expresión de las moléculas necesarias para la presentación del antígeno a las células T, la señalización del receptor para el antígeno de los linfocitos T o B, la activación por las células T colaboradoras de las células B o los macrófagos o la diferenciación de las células B productoras de anticuerpos. Ig, inmunoglobulina; MHC, complejo principal de histocompatibilidad; TAP, transportador asociado al procesamiento antigénico; TCR, receptor de la célula T.

Defectos de la activación de los linfocitos

Enfermedad	Déficit funcionales	Mecanismos del defecto
Deficiencias selectivas de isotipos de Ig	Producción reducida o nula de isotipos o subtipos determinados de Ig (el déficit de IgA es la deficiencia de isotipo más frecuente; el déficit de IgG3 es la deficiencia de subtipo más frecuente); predisposición a las infecciones bacterianas o ausencia de problemas clínicos	Defecto en la diferenciación de las células B o la colaboración de las células T; casos raros de deleciones/mutaciones homocigóticas de los genes de las regiones constantes de las Ig
Síndrome de hiper-IgM ligado al cromosoma X	Defectos en la activación de macrófagos y de células B dependiente de las células T	Mutación en el ligando de CD40
Inmunodeficiencia variable común	Reducciones variables de múltiples isotipos de Ig; células B normales o disminuidas	Defecto de activación de las células B, habitualmente causado por una anomalía intrínseca de las células B (de naturaleza desconocida)
Defectos de la expresión o señalización del complejo TCR	Reducción de células T o proporciones anormales de las subpoblaciones CD4 ⁺ y CD8 ⁺ ; reducción de la inmunidad celular	Casos raros causados por mutaciones o deleciones de los genes que codifican las proteínas CD3, ZAP-70
Síndrome linfoproliferativo ligado al cromosoma X	Proliferación descontrolada de células B en el contexto de una infección por el virus de Epstein-Barr que ocasiona linfomas de células B e hipogammaglobulinemia	Mutación del gen que codifica la proteína adaptadora SAP, que es necesaria en condiciones normales para inhibir la señalización por la molécula SLAM
Expresión defectuosa del MHC de clase II: síndrome del linfocito desnudo	Falta de expresión de moléculas de clase II del MHC y desarrollo y activación defectuosos de las células T CD4 ⁺ ; inmunidad celular y humoral defectuosa dependiente de las células T	Mutación en los genes que codifican los factores de transcripción necesarios para la expresión de los genes del MHC de clase II
Déficit de TAP	Falta de expresión de moléculas de clase I del MHC, reducción de la cifra de linfocitos T CD8 ⁺ ; predisposición a las infecciones bacterianas	Mutaciones en los genes <i>TAP</i> que impiden la carga de péptidos en las moléculas de clase I del MHC

Abreviaturas: Ig, inmunoglobulinas; MHC, complejo principal de histocompatibilidad; SAP, proteína asociada a SLAM; SLAM, molécula de señalización de activación del linfocito; TAP, transportador asociado al procesamiento antigénico; ZAP-70, proteína asociada a zeta de 70 kD; TCR, receptor de la célula T.

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Defectos moleculares

GENES QUE CODIFICAN PROTEÍNAS QUE FUNCIONAN COMO:

- Componentes estructurales de la célula
- Receptores / ligandos celulares
- Enzimas
- Componentes de la señalización intracelular
- Citoquinas / Quimiocinas
- Factores quimioattractantes
- Moléculas de adhesión

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

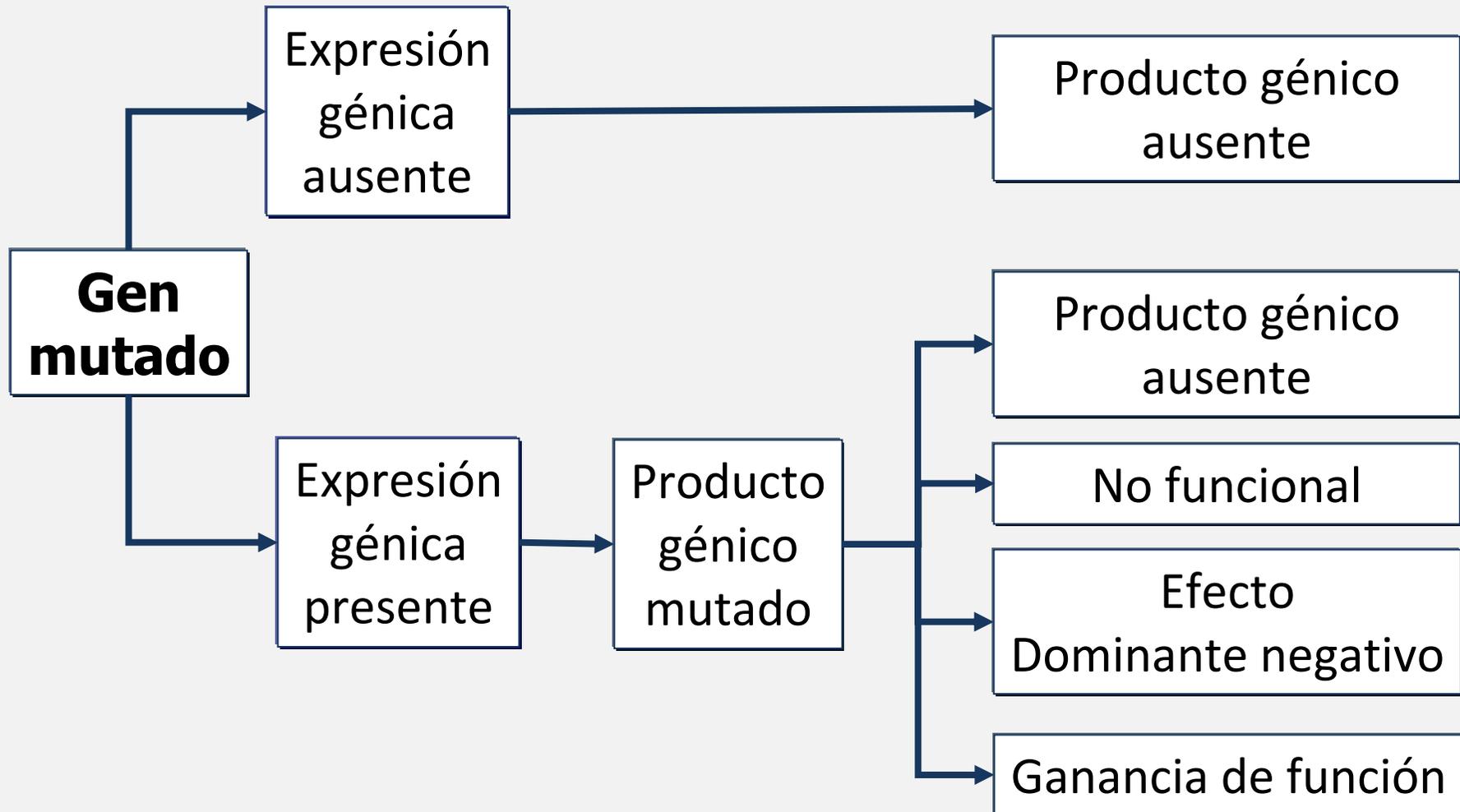
Defectos moleculares

PROTEÍNAS QUE INTERVIENEN EN PROCESOS DE:

- Maduración y diferenciación celular
 - **Activación celular**
 - Proliferación celular
 - **Función y supervivencia**
 - **Apoptosis**

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Defectos moleculares



INMUNODEFICIENCIAS HEREDITARIAS

INMUNODEFICIENCIA	LOCALIZACION DEL GEN
<i>Deficiencia de ADA</i>	20q13.14
<i>Deficiencia de PNP</i>	14q13.1
<i>Ataxia telangiectasia</i>	11q22-23
<i>SCID Ligada a X</i>	Xq1.3
<i>Wiscot Aldrich</i>	Xp11-11.3
<i>Agamaglobulinemia Lig X</i>	Xp21.33-22
<i>Sin. Linfoprolifertivo Lig X</i>	Xq26-27
<i>Inmunodeficiencia con HiperIgM Lig X</i>	Xq 26-27
<i>Defecto en la adhesion leucitaria (def CD18)</i>	21q 22.3
<i>Enfermedad Granulomatosa Crónica</i>	
- <i>gp91-phox</i>	Xp21.1
- <i>p27-phox</i>	16q24
- <i>p47-phox</i>	7q11.23
- <i>p67-phox</i>	1q25

INMUNODEFICIENCIAS HEREDITARIAS

ALAIN
FISHER.
Nature
Immunology
2004, vol5,
Nº1 ; 23-30

DISEASE	GENE
INNATE IMMUNITY	
Severe congenital neutropenia (subset)	GFI1
Schwachmann syndrome	SBDS
Susceptibility to Streptococcus pneumoniae (subset)	MASP2
Susceptibility to pyogenic bacterial infections (subset)	IRAK4
Susceptibility to mycobacterial and viral infections	STAT1
ADAPTIVE IMMUNITY	
Common variable immunodeficiency	ICOS
HIGM syndrome	UNG
SCID (subset)	CD3D
T cell deficiency with IFN- γ -unresponsiveness	STAT5B
T cell deficiency with anhidrotic ectodermal dysplasia	NFKBIA
Familial hemophagocitic lymphohistiocytosis (subset)	UNC13D
UNDETERMINED	
Epidermodysplasia verruciformis	EVER1 – EVER2
WHIM syndrome	CXCR4

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Generalidades

ANTECEDENTES HEREDO - FAMILIARES

25 % de los pacientes presentan un familiar con diagnóstico o cuadro compatible con IDP

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Interrogatorio de los antecedentes Familiares

PATRÓN AUTOSÓMICO RECESIVO

IDCS

Rag 1-2, Artemis, Jak3, ADA

Agamaglobulinemia

Cadena μ , λ 5, Ig α , Ig β

Hiper-IgM

AID, CD40, UNG

EGC

p47, p67, p22

AT

LAD

Chediak Higashi

Griscelli

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Interrogatorio de los antecedentes Familiares

PATRÓN AUTOSÓMICO DOMINANTE

Di George

ALPS

Hiper-IgE

Deficiencia MML

Edema ANH

IDCV

WHIM

INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Interrogatorio de los antecedentes Familiares

PATRÓN LIGADO AL CROMOSOMA X

Agamaglobulinemia Btk

Hiper-IgM CD40L

EGC gp91

WAS

XLP

Deficiencia de Properdina

IPEX

Table 2 | Defects that involve T cells

Name	Clinical phenotype	Chromosomal location	Genetic defect	Refs
Development				
DiGeorge syndrome	Thymic, cardiac and parathyroid defects, and decreased numbers or absence of CD3 ⁺ cells	22q11.2	Possibly <i>TBX1</i>	16,17
WHN defect	Congenital alopecia, and nail dystrophy	17q11–17q12	<i>WHN</i>	113
Activation				
CD3 deficiency	Autoimmune haemolytic anaemia and severe infections Recurrent <i>Haemophilus influenzae</i> pneumonia and otitis media	11q23	<i>CD3G</i>	18
		11q23	<i>CD3E</i>	19
MHC class I deficiency	Decreased numbers of CD8 ⁺ T cells	6p21.3	<i>TAP1</i> <i>TAP2</i>	20 21
MHC class II deficiency	Persistent diarrhoea, bacterial pneumonia, <i>Pneumocystis carinii</i> pneumonia, viral and candidal infections, and low numbers of CD4 ⁺ T cells	1q21.1–1q21.3	<i>RFX5</i>	22
		13q14	<i>RFXAP</i>	22
		19p12	<i>RFXANK</i>	22
		16p13	<i>CIITA</i>	22
LCK deficiency	Bacterial, viral and fungal infections, lymphopaenia and hypogammaglobulinaemia	1p34.3–1p35	<i>LCK</i>	23
ZAP70 deficiency	Decreased numbers of CD8 ⁺ T cells, normal or decreased numbers of CD4 ⁺ T cells, and severe recurrent infections	2q12	<i>ZAP70</i>	24
CD8 deficiency	Absence of CD8 ⁺ T cells, and recurrent respiratory infections	2p12	<i>CD8A</i>	25
HIGM1	<i>Pneumocystis carinii</i> pneumonia, pyogenic infections, normal or increased level of IgM, and low level or absence of serum IgG, IgA and IgE	Xq26–Xq27	<i>CD40L</i>	50
HIGM3	<i>Pneumocystis carinii</i> pneumonia and <i>Cryptosporidium parvum</i> infections	20q12–20q13.2	<i>CD40</i>	53,54
AD-EDA-ID	Lymphocytosis, absence of memory T cells and unresponsive naive T cells	14q13	<i>NFKB1A</i>	59
Function				
XLP	Uncontrolled T-cell proliferation in EBV infection, fatal infectious mononucleosis in a high proportion of patients, ineffective viral elimination, lymphoma and hypogammaglobulinaemia	Xq25	<i>SH2D1A</i>	26,87
Regulation				
IPEX	Triad of endocrinopathy, enteropathy and dermatitis, and <i>Enterococcus</i> and <i>Staphylococcus</i> species infections	Xp11.23	<i>FOXP3</i>	27,29
APECED	Chronic mucocutaneous candidiasis, and parathyroid and adrenal autoimmunity	21q22.3	<i>AIRE</i>	34
ALPS0	Autoimmunity, hypergammaglobulinaemia, lymphoproliferation, and excessive numbers of CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ αβ ⁺ TCR ⁺ T cells	10q24.1	<i>CD95</i> (homozygous)	41
ALPS1a	Autoimmunity, hypergammaglobulinaemia, lymphoproliferation, and excessive numbers of CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ αβ ⁺ TCR ⁺ T cells	10q24.1	<i>CD95</i> (heterozygous, germ line)	42
			<i>CD95</i> (heterozygous, somatic)	47
ALPS1b	Autoimmunity, hypergammaglobulinaemia, lymphoproliferation, and excessive numbers of CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ αβ ⁺ TCR ⁺ T cells	1q23	<i>CD95L</i>	45
ALPS2	Autoimmunity, hypergammaglobulinaemia, lymphoproliferation, and excessive numbers of CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ αβ ⁺ TCR ⁺ T cells	2q33–2q34	<i>CASP8</i>	43
			<i>CASP10</i>	44
ALPS3	Autoimmunity, hypergammaglobulinaemia, lymphoproliferation, and excessive numbers of CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ αβ ⁺ TCR ⁺ T cells	ND	ND	46

AD-EDA-ID, autosomal dominant ectodermal dysplasia with immunodeficiency; *AIRE*, autoimmune regulator; ALPS, autoimmune lymphoproliferative syndrome; APECED, autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal-dystrophy syndrome; *CIITA*, MHC class II transactivator; *CASP*, caspase; *CD40L*, CD40 ligand; *CD95L*, CD95 ligand; EBV, Epstein-Barr virus; *FOXP3*, forkhead box P3; HIGM, hyper-IgM syndrome; IPEX, immunodysregulation, polyendocrinopathy and enteropathy, X-linked syndrome; ND, not determined; *NFKB1A*, gene encoding IκBα (inhibitor-of-nuclear-factor-κB α); *RFX5*, regulatory factor X, 5; *RFXANK*, RFX-associated ankyrin-containing protein; *RFXAP*, RFX-associated protein; *SH2D1A*, gene encoding SAP (signalling lymphocytic activation molecule (SLAM)-associated protein); *TAP*, transporter associated with antigen processing; *TBX1*, T-box 1; TCR, T-cell receptor; WHN, winged-helix/nude (also known as FOXP1); XLP, X-linked lymphoproliferative syndrome; ZAP70, ζ chain-associated protein kinase of 70 kDa.

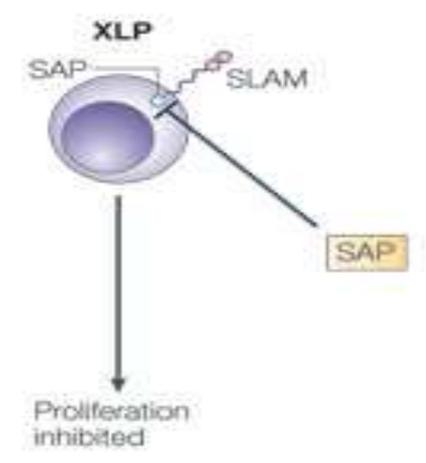
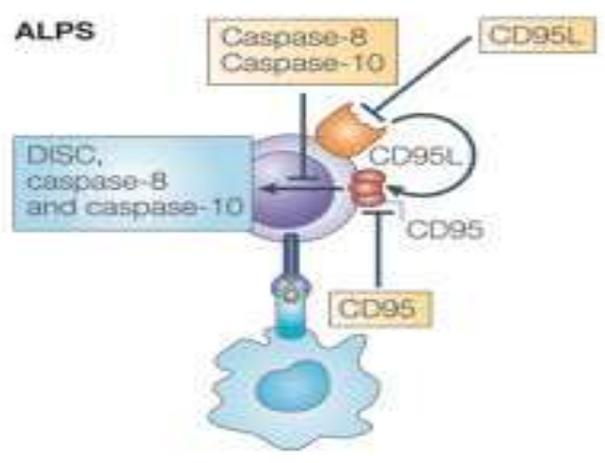
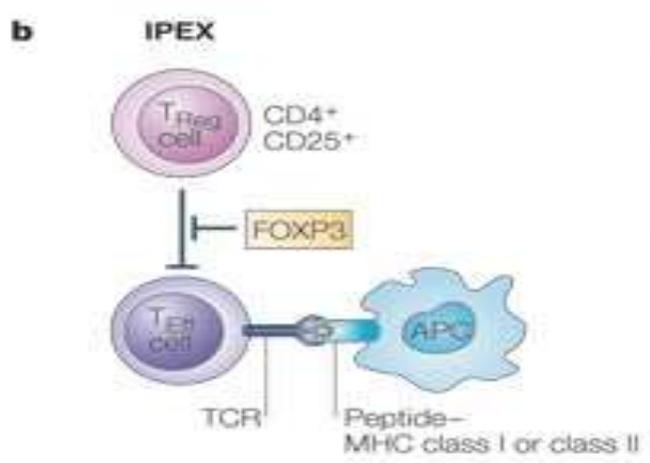
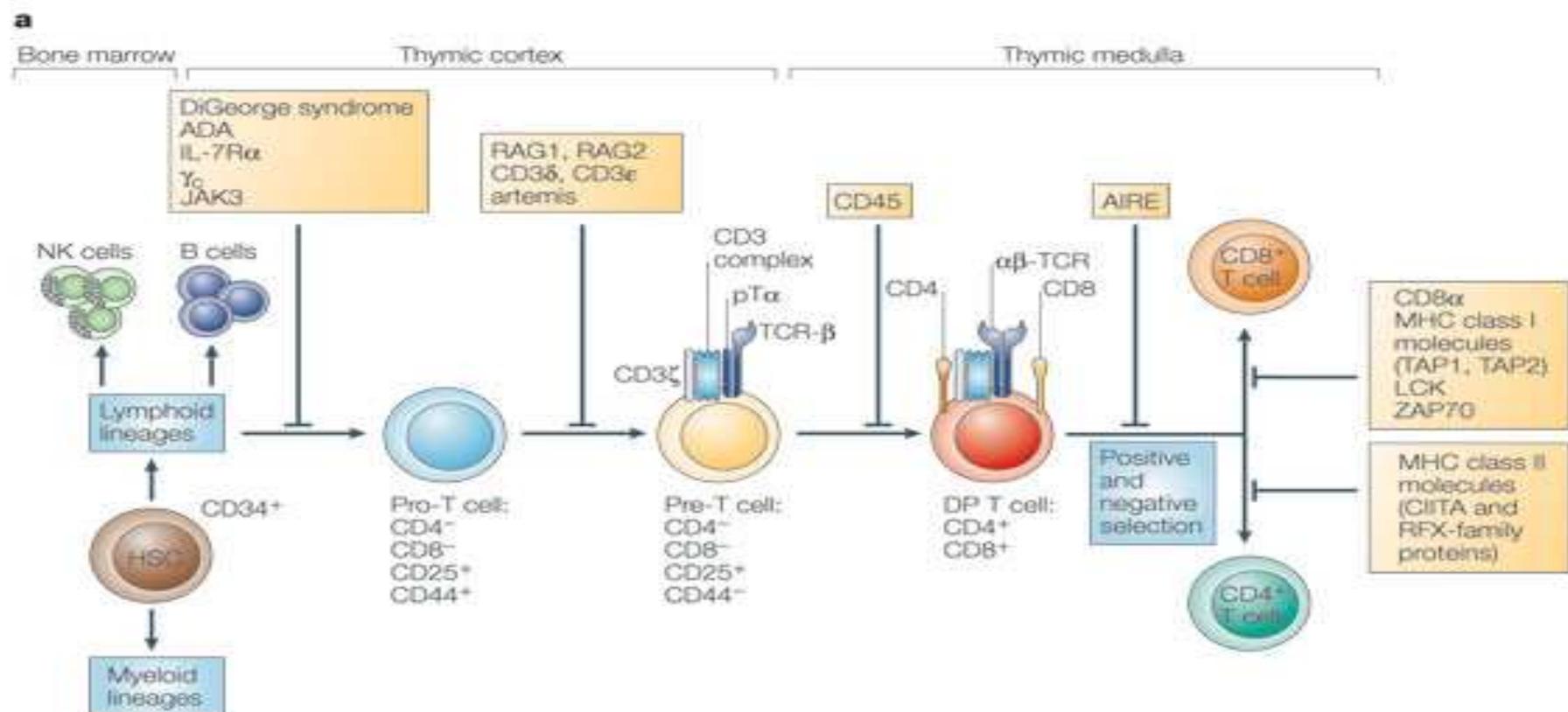
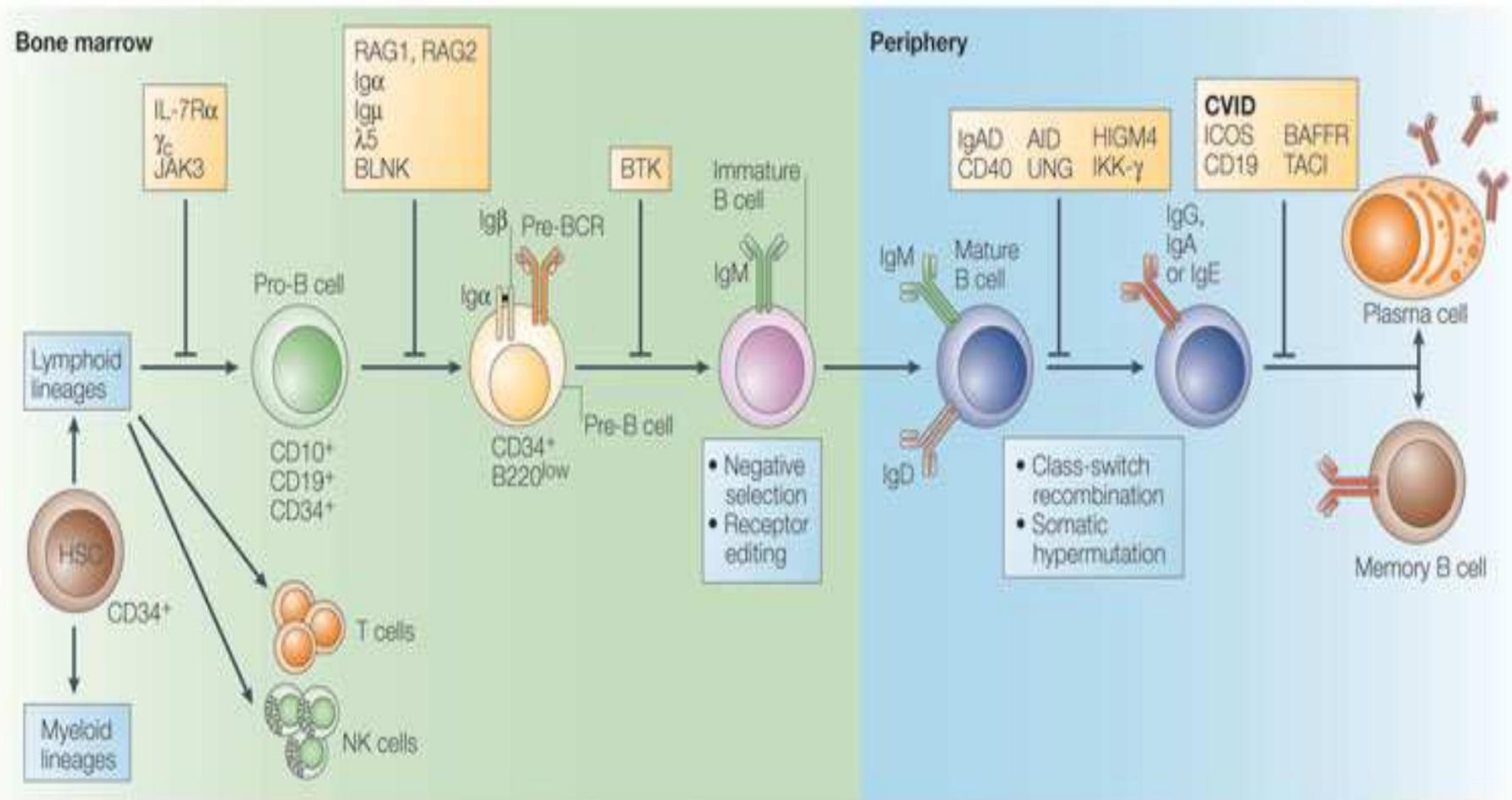
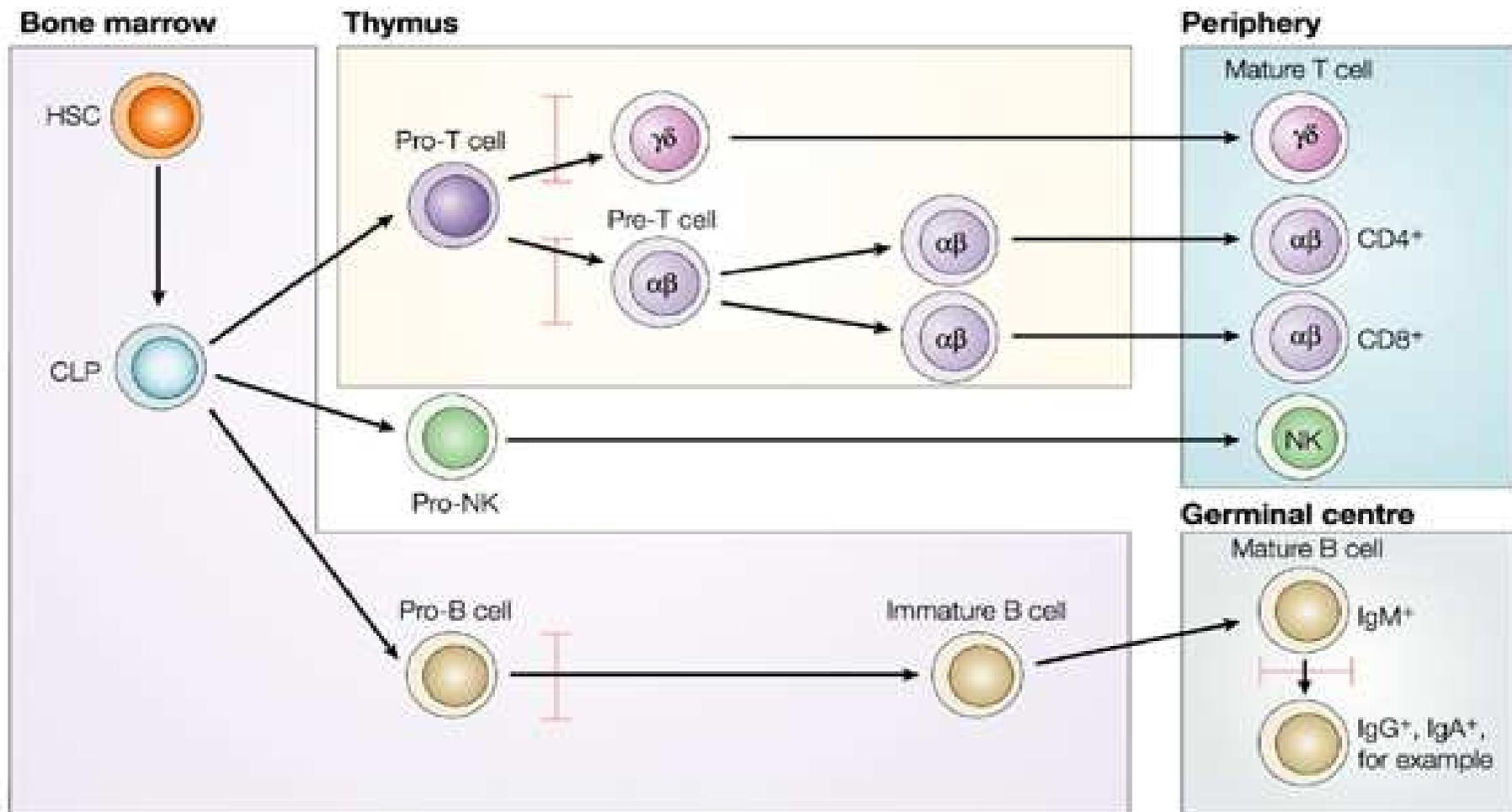


Table 3 | Defects that involve B cells

Name	Clinical phenotype	Chromosomal location	Genetic defect	References
HIGM2	Pyogenic infections, lymphoid hyperplasia, decreased CD27 ⁺ B-cell numbers, normal or increased serum IgM level, and low level or no serum IgG, IgA and IgE	12p13 12q23–12q24.1	<i>AID</i> <i>UNG</i>	51 52
HIGM4	Pyogenic infections, lymphoid hyperplasia, decreased CD27 ⁺ B-cell numbers, normal or increased serum IgM level, and low level or no serum IgG, IgA and IgE	ND	ND	55
XL-EDA-ID	Bacterial and mycobacterial infections, and low levels or no antibody specific for carbohydrates	Xq28	<i>IKKG</i>	56–58
Agamma-globulinaemia	Low or no levels pre-B-cell and mature B-cell numbers, low serum immunoglobulin levels, and pyogenic infections	Xq21.3–Xq22	<i>BTK</i>	72
	Normal pro-B-cell numbers, low pre-B-cell and mature B-cell numbers, low serum immunoglobulin levels, and pyogenic infections	10q23.2	<i>BLNK</i>	114,115
	Low serum immunoglobulin levels, and pyogenic infections	t(9; 20) (q33.2; q12)	<i>LRRCS</i>	83
	Developmental arrest at the pro-B-cell stage, low serum immunoglobulin levels, and pyogenic infections	22q11.22	<i>IGLL1</i>	76
		19q13.2 14q32.2	<i>Iga</i> <i>IGHM</i>	77 78,79
CVID	Sinopulmonary infections, low IgG and IgA levels, and normal B-cell numbers	16p11.2	<i>CD19</i>	Unpublished*
		22q13.1–22q13.31	<i>BAFFR</i>	Unpublished†
		17p11.2	<i>TACI</i>	116,117
		2q33	<i>ICOS</i>	88,89
IgAD	Many patients are asymptomatic, although pyogenic infections are possible	17p11	<i>TACI</i>	116,117
		Possibly 6p21.3	<i>IGAD1</i> (HLA-DQ and HLA-DR)	99,100

*M. C. van Zelm, personal communication; J. L. Franco, personal communication. †V. Salzer, personal communication. *AID*, activation-induced cytidine deaminase; *BAFFR*, B-cell-activating-factor receptor; *BLNK*, B-cell linker; *BTK*, Bruton's tyrosine kinase; CVID, common variable immunodeficiency; HIGM, hyper-IgM syndrome; *ICOS*, inducible T-cell co-stimulator; *Iga*, gene encoding Igα; IgAD, selective IgA deficiency; *IGAD1*, IgA-deficiency susceptibility 1; *IGHM*, gene encoding μ immunoglobulin heavy chain; *IGLL1*, gene encoding λ5; *IKKG*, inhibitor-of-nuclear-factor-κB kinase-γ; *LRRCS*, leucine-rich-repeat-containing 8; ND, not determined; pre-B cell, precursor-B cell; pro-B cell, progenitor-B cell; *TACI*, transmembrane activator and calcium-modulating cyclophilin-ligand interactor; *UNG*, uracil-DNA glycosylase; XL-EDA-ID, X-linked ectodermal dysplasia with immunodeficiency.





V(D)J recombination deficiency

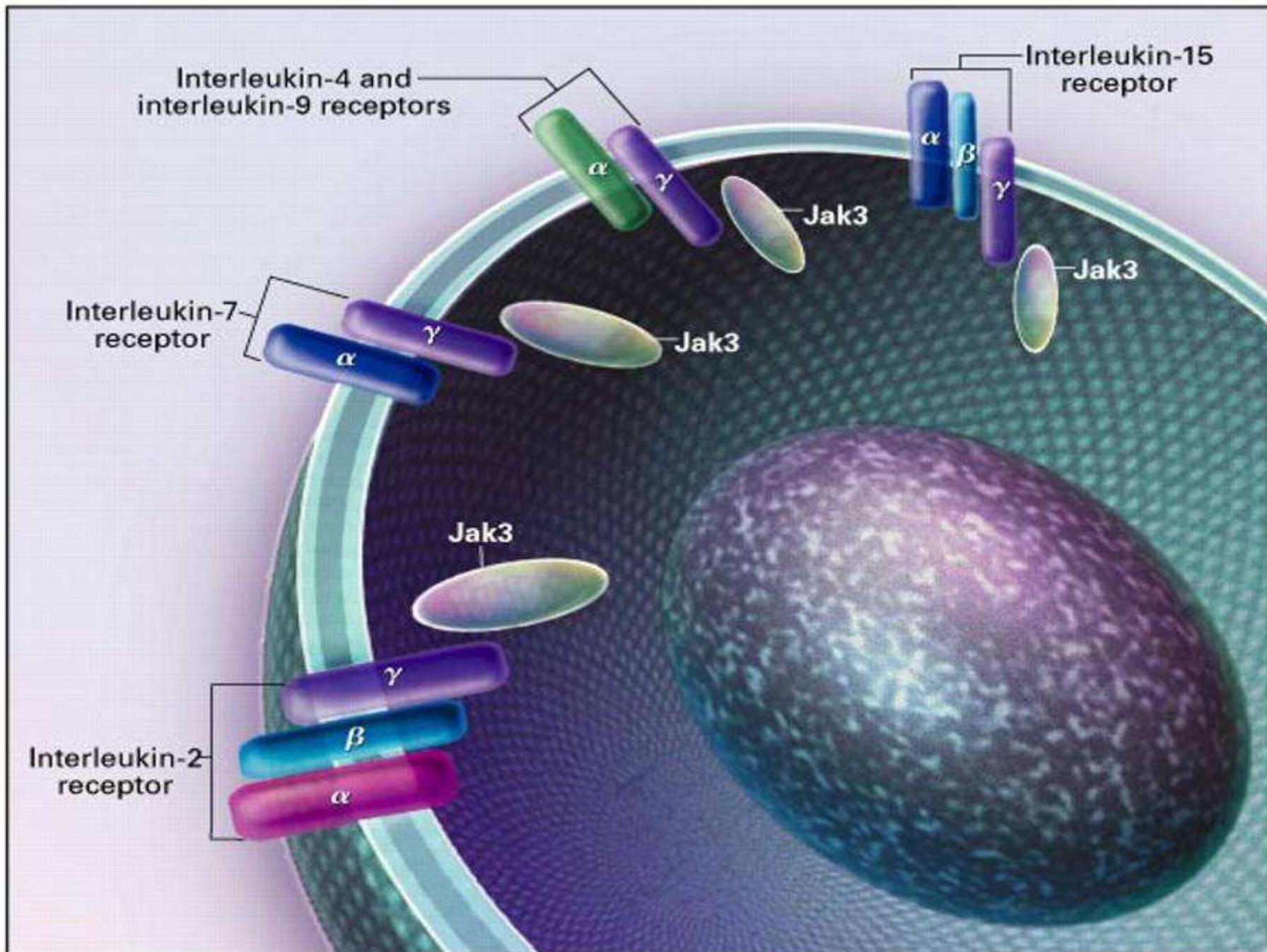
- Mutations in:
- *Rag1*
 - *Rag2*
 - *Artemis* (RS-SCID)
 - Other genes

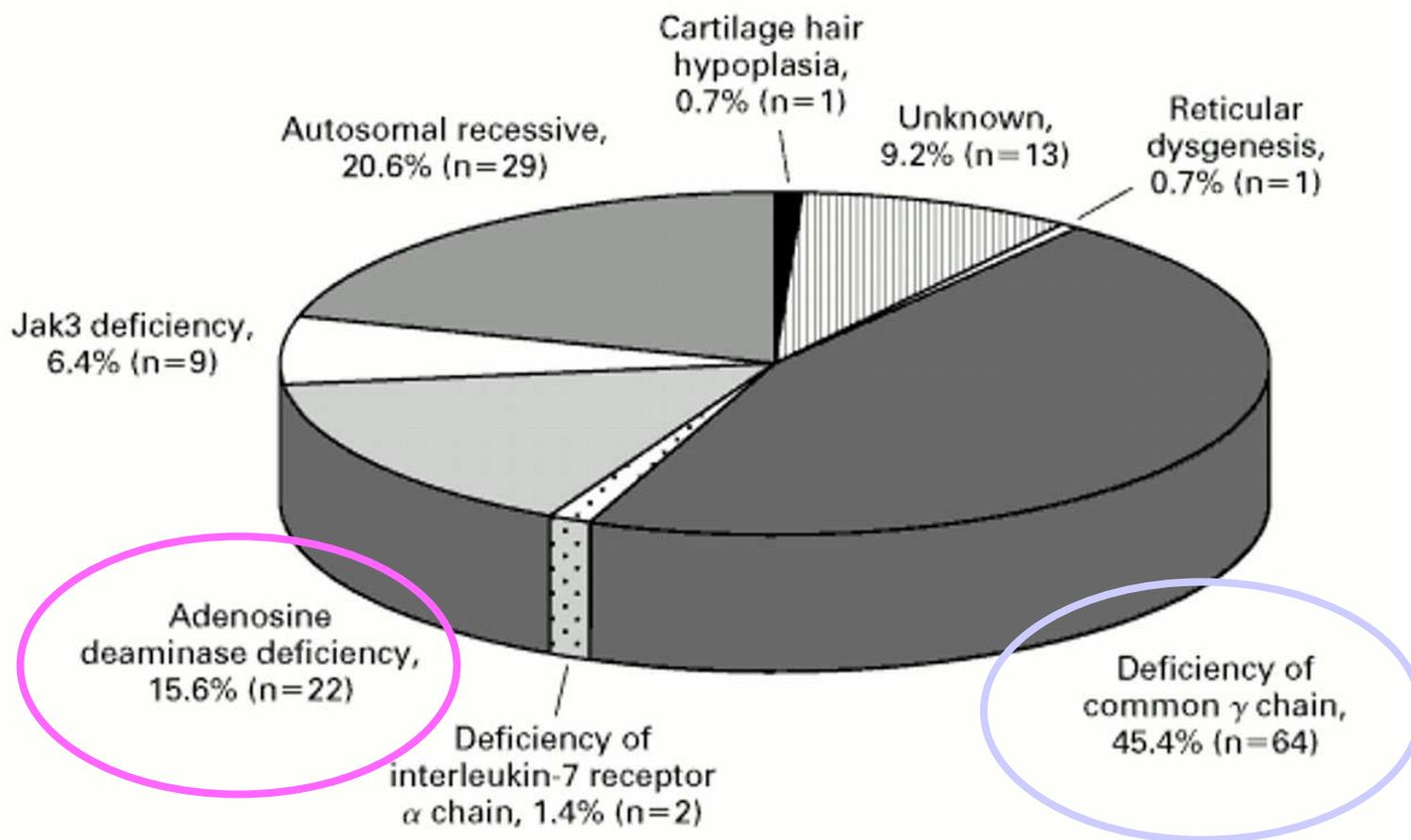


CSR/SHM deficiency

- Mutations in:
- *CD40/CD40L*
 - *AID*
 - *UNG*
 - Other genes





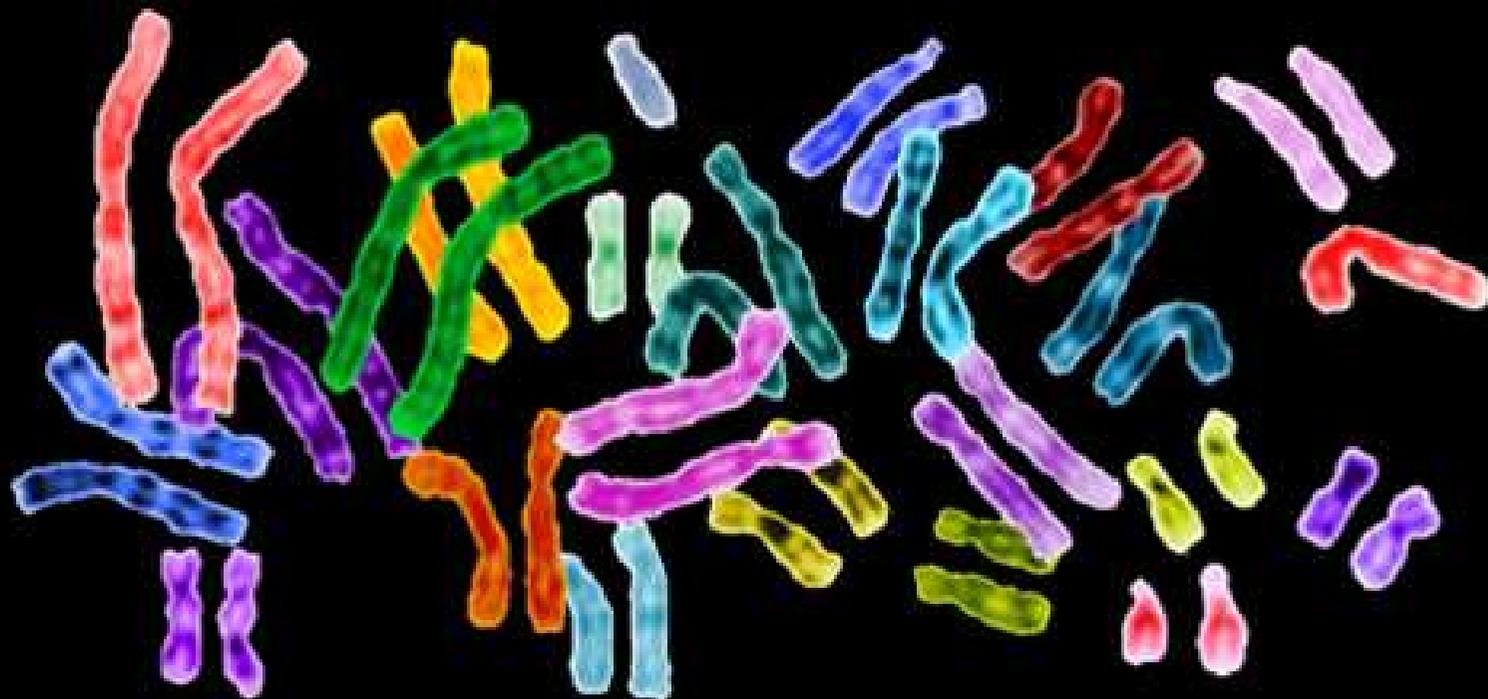


- Relative Frequencies of the Various Types of Severe Combined Immunodeficiency among 141 Consecutive Patients.
- **Buckley. NEJM:343 (18): 1313, November 2, 2000**

MVC

The image features a black background with a green crosshair. The crosshair consists of a vertical line and a horizontal line intersecting at the top-left corner. Additionally, there are two horizontal lines and one vertical line in the bottom-right quadrant, forming a partial frame. The text 'ANALISIS DE POLIMORFISMOS' is centered in the middle of the image in a bright green, bold, sans-serif font.

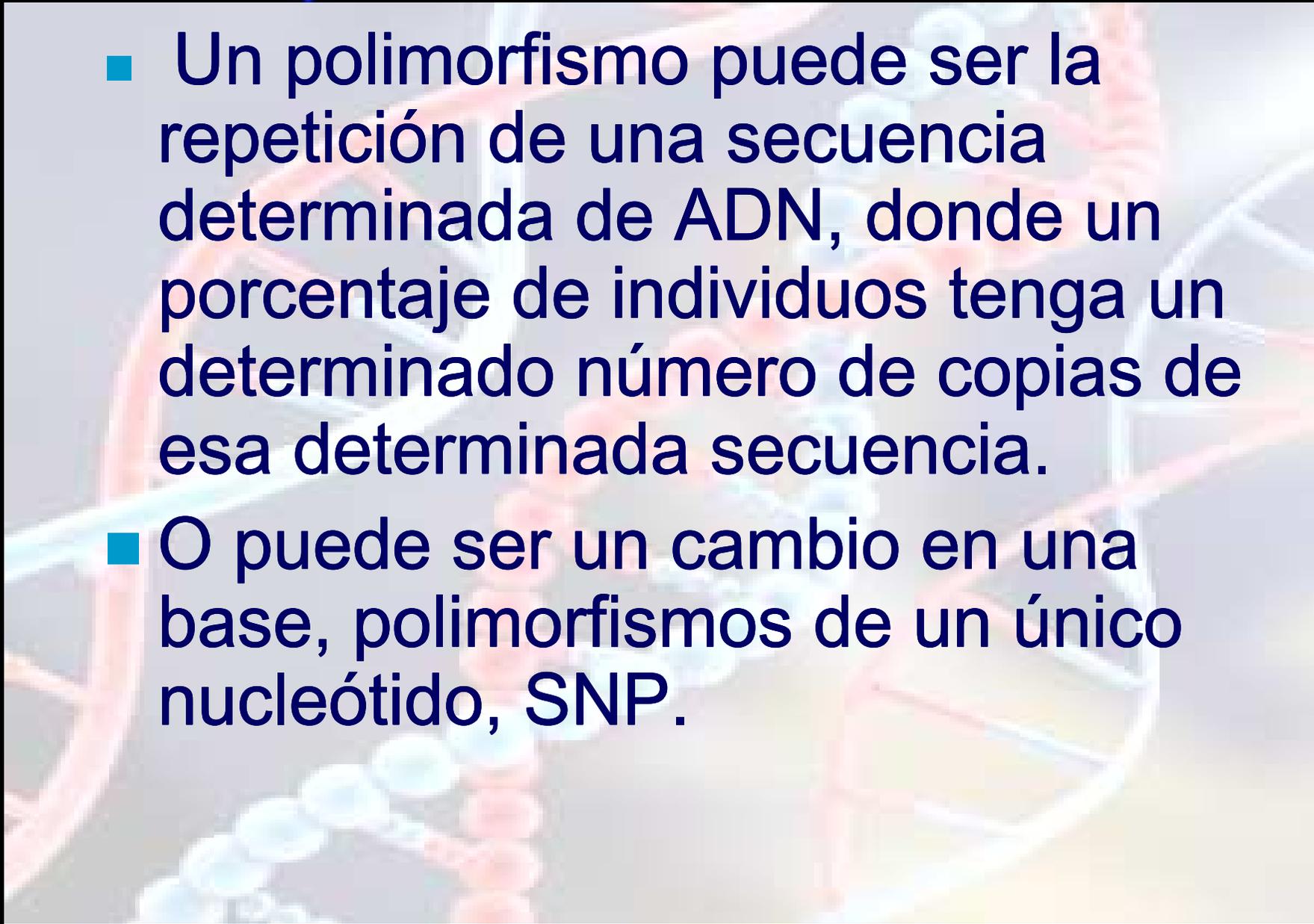
ANALISIS DE POLIMORFISMOS



El genoma humano posee variaciones o polimorfismos



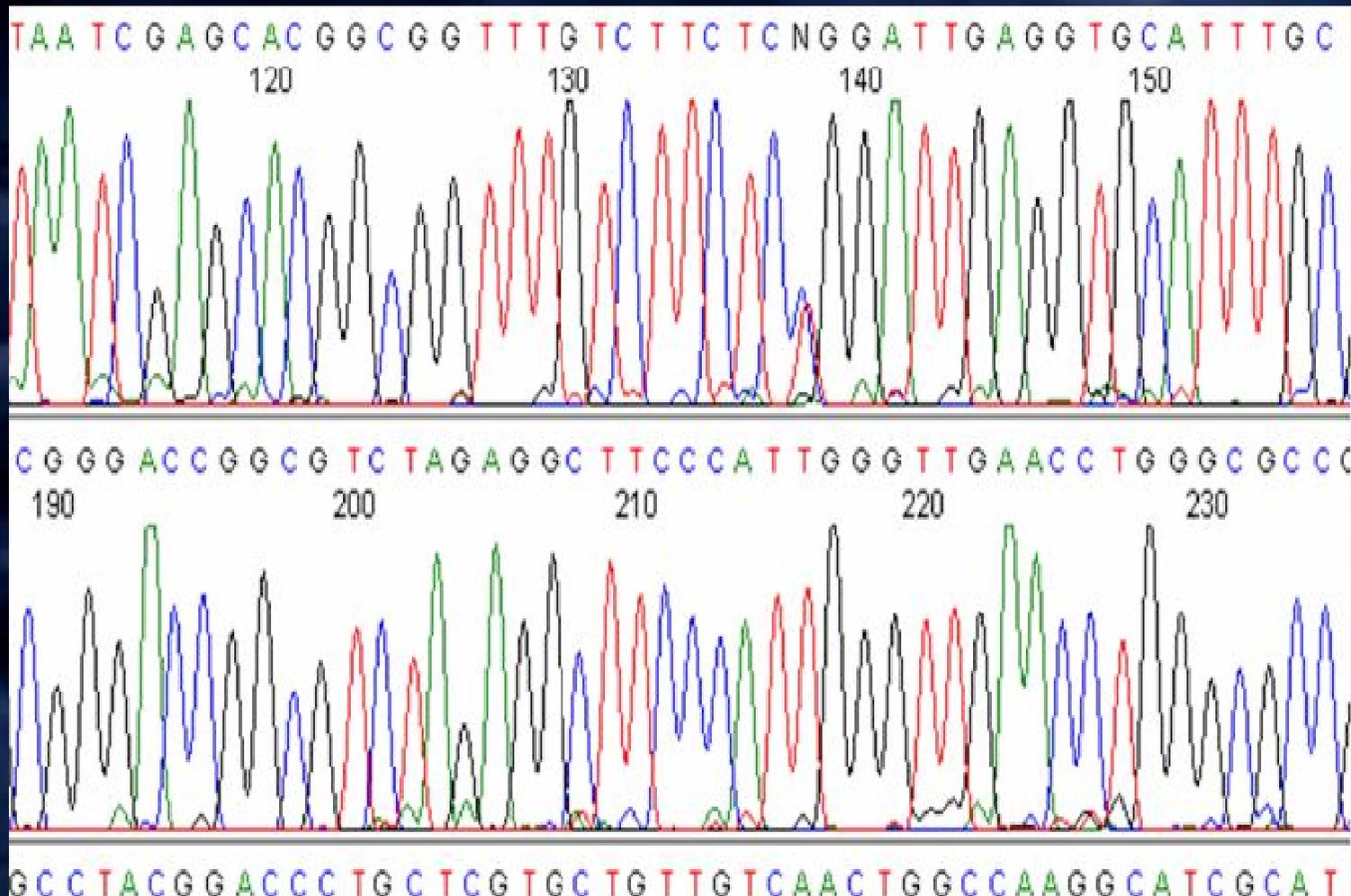
No hay dos genomas idénticos

- 
- Un polimorfismo puede ser la repetición de una secuencia determinada de ADN, donde un porcentaje de individuos tenga un determinado número de copias de esa determinada secuencia.
 - O puede ser un cambio en una base, polimorfismos de un único nucleótido, SNP.

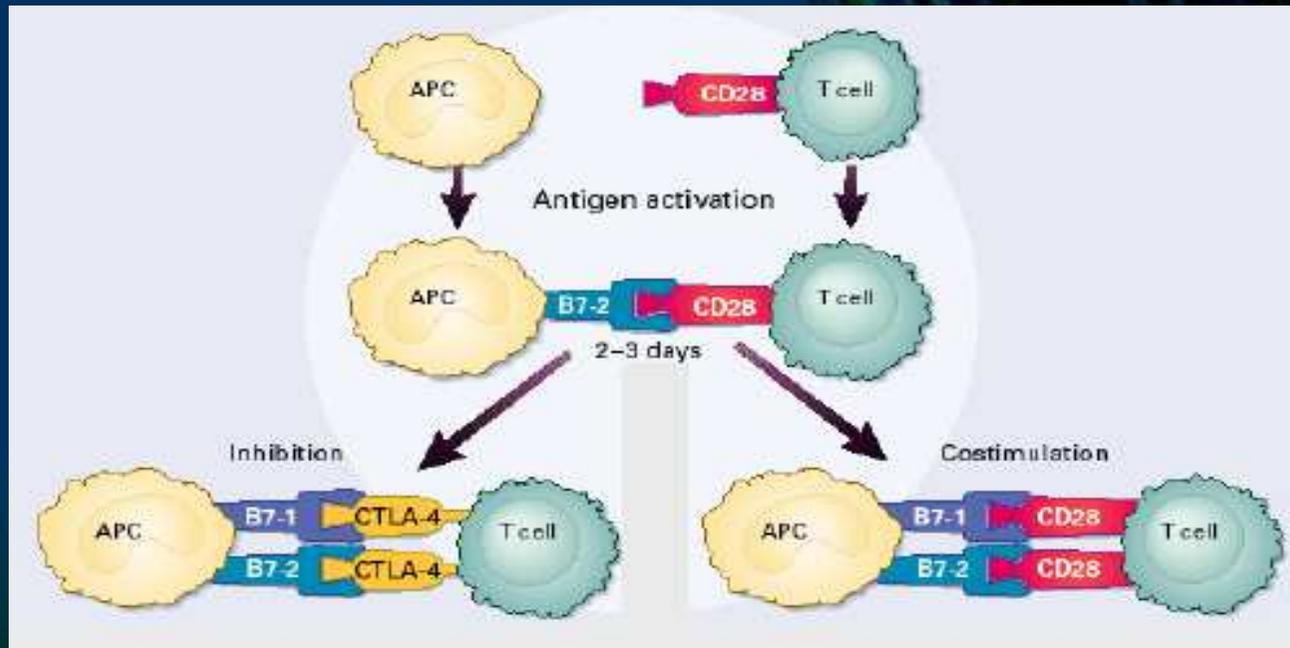
POLIMORFISMOS Y FENOTIPOS

- Un polimorfismo genético es la existencia de múltiples **alelos** de un **gen** presentes en una población, normalmente expresados como diferentes **fenotipos**, que aparecen con una frecuencia significativa de al menos 1 por ciento de la población.
- Es decir, *un polimorfismo es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población.*

Sitios polimórficos revelados por secuenciación automática



CTLA-4 y ANERGIA DE CELULAS T



CTLA-4 es un receptor inhibitorio expresado por las células T que reconoce a las moléculas co estimatorias B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86), generando la anergia de las células T

CTLA 4

- POLIMORFISMOS FENOTIPICOS DE CTLA 4 ESTAN ASOCIADOS CON AUTOINMUNIDAD
- polimorfismos que resultan en la producción de variantes truncadas por splicing alternativo estarían implicadas en:
 - ENFERMEDAD DE GRAVES
 - DIABETES TIPO I
 - OTRAS ENDOCRINOPATIAS



VARIACIONES EN EL GENOMA

LA GRAN MAYORIA DE LAS VARIACIONES EN EL GENOMA HUMANO CONSISTEN EN VARIACIONES DE UN SOLO NUCLEOTIDO EN UN DETERMINADO LOCI

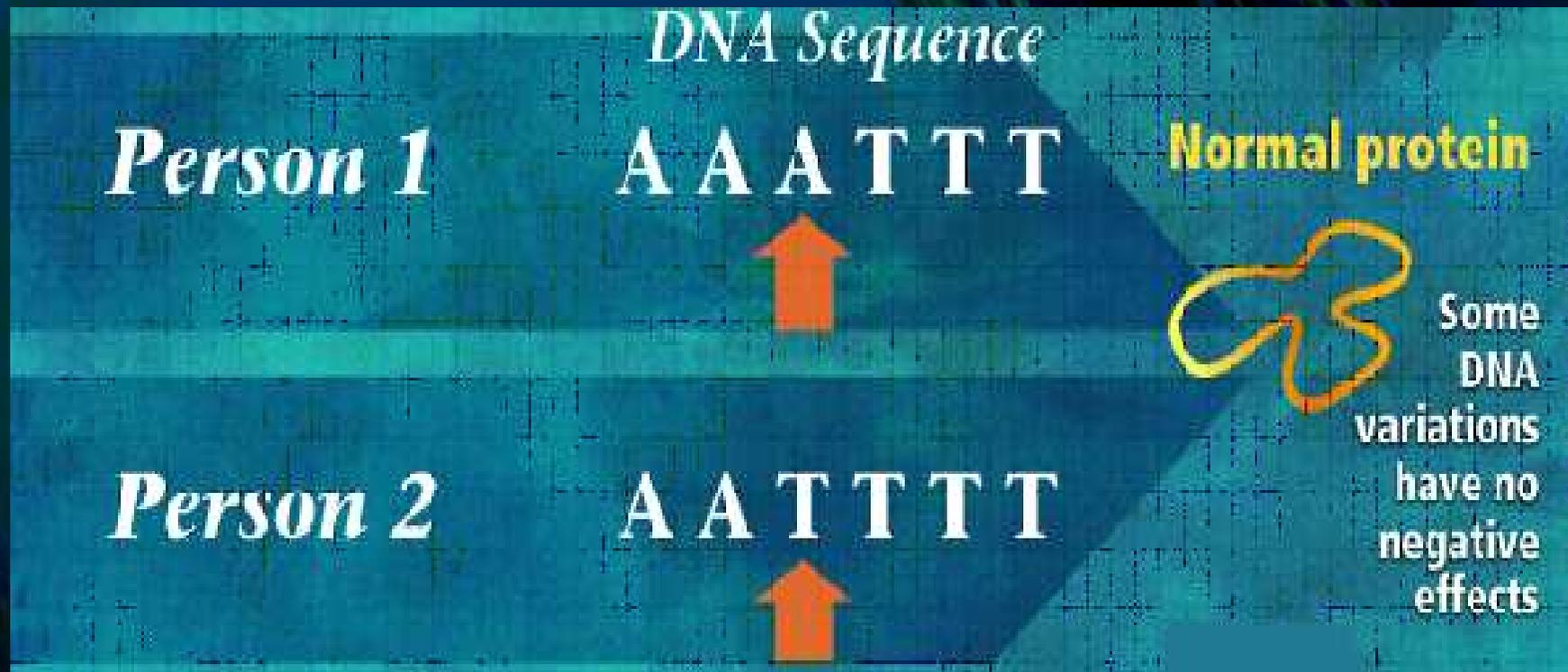
Un polimorfismo puede tratarse de la sustitución de una simple base nitrogenada, por ejemplo, sustituir una **A** (adenina), por una **C** (citosina).

POLIMORFISMO DE UN SOLO NUCLEOTIDO (SNP)

Variaciones en la secuencia de ADN

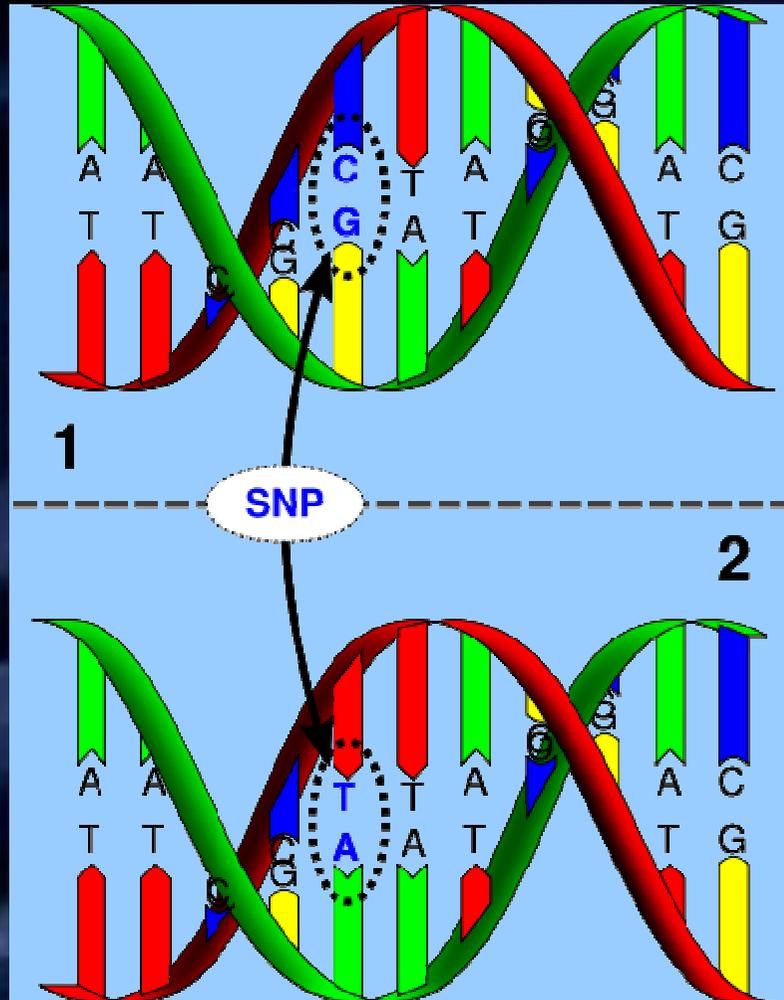
- Mutaciones ocurren en < del 1 % de la población
 - Polimorfismos ocurren en > del 1 % de la población
-
- **Alelos** distintas formas de un mismo gen
 - **Haplotipos:** fragmentos o grupos de genes que se transmiten juntos de generación en generación

POLIMORFISMO



Un polimorfismo es una variación en la secuencia de ADN de un locus entre los individuos de una población.

Los polimorfismos de un nucleótido SNP son la fuente de variación más común

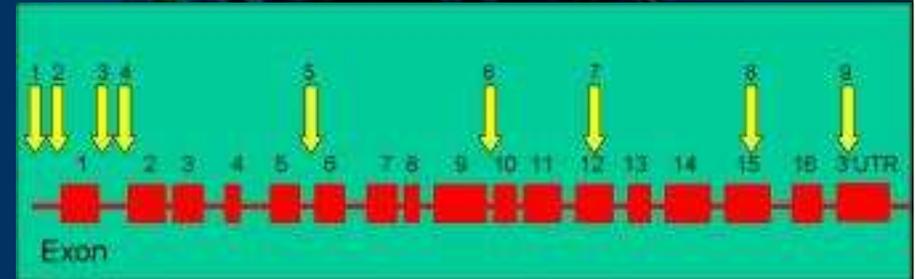


- Variación en un nucleótido en la secuencia ADN
- SNP \neq mutación, definido por la frecuencia en la población ($> 1\%$)
- Se estima que hay un SNP por cada 1,000 bases ($\sim 10,000,000$) en el genoma humano
- Suelen transmitirse y mantenerse de generación en generación
- Dos tercios son: citosina \rightarrow timina

SNPs

AAGGCTAA a ATGGCTAA

Combinación de alelos de susceptibilidad en múltiples loci: **HAPLOTIPOS** de SNPs



```
..A..C..A..T..G..T..  
..A..C..C..G..C..T..  
..G..T..C..G..G..A..
```



Identificación de más de 25 genes que predisponen a autoinmunidad cuando están sobreexpresados o delecionados o presentan determinados polimorfismos

- Citoquinas y receptores
- Co-receptores
- Moléculas coestimuladoras
- Cascadas de señalización
- Moléculas apoptóticas
- Moléculas que clarifican a los inmunocomplejos

Cytokine or Protein	Defect	Result
 Tumor necrosis factor α	Overexpression	Inflammatory bowel disease, arthritis, vasculitis
 Tumor necrosis factor α	Underexpression	Systemic lupus erythematosus
 Interleukin-1 – receptor antagonist	Underexpression	Arthritis
 Interleukin-2	Overexpression	Inflammatory bowel disease
 Interleukin-7	Overexpression	Inflammatory bowel disease
 Interleukin-10	Overexpression	Inflammatory bowel disease
 Interleukin-2 receptor	Overexpression	Inflammatory bowel disease
 Interleukin-10 receptor	Overexpression	Inflammatory bowel disease
 Interleukin-3	Overexpression	Demyelinating syndrome
 Interferon- γ	Overexpression in skin	Systemic lupus erythematosus
 STAT-3	Underexpression	Inflammatory bowel disease
 STAT-4	Overexpression	Inflammatory bowel disease
 Transforming growth factor β	Underexpression	Systemic wasting syndrome and inflammatory bowel disease
 Transforming growth factor β receptor in T cells	Underexpression	Systemic lupus erythematosus

Predisposición : susceptibilidad

- **Susceptibilidad genética:** componente genético complejo sumado e integrado a la exposición ambiental que puede desencadenar, agravar o aliviar la enfermedad.
- **Componente genético:** integrado por polimorfismos de varios genes que pueden imprimir efectos mayores al fenotipo.

Patologías como diabetes, artritis, dislipemias, hipertensión, osteoporosis etc., incrementan su prevalencia.

**Los tratamientos actuales
de los defectos congénitos
pretenden suplir
la célula, la molécula o el
gen afectado.**



Gene Therapy

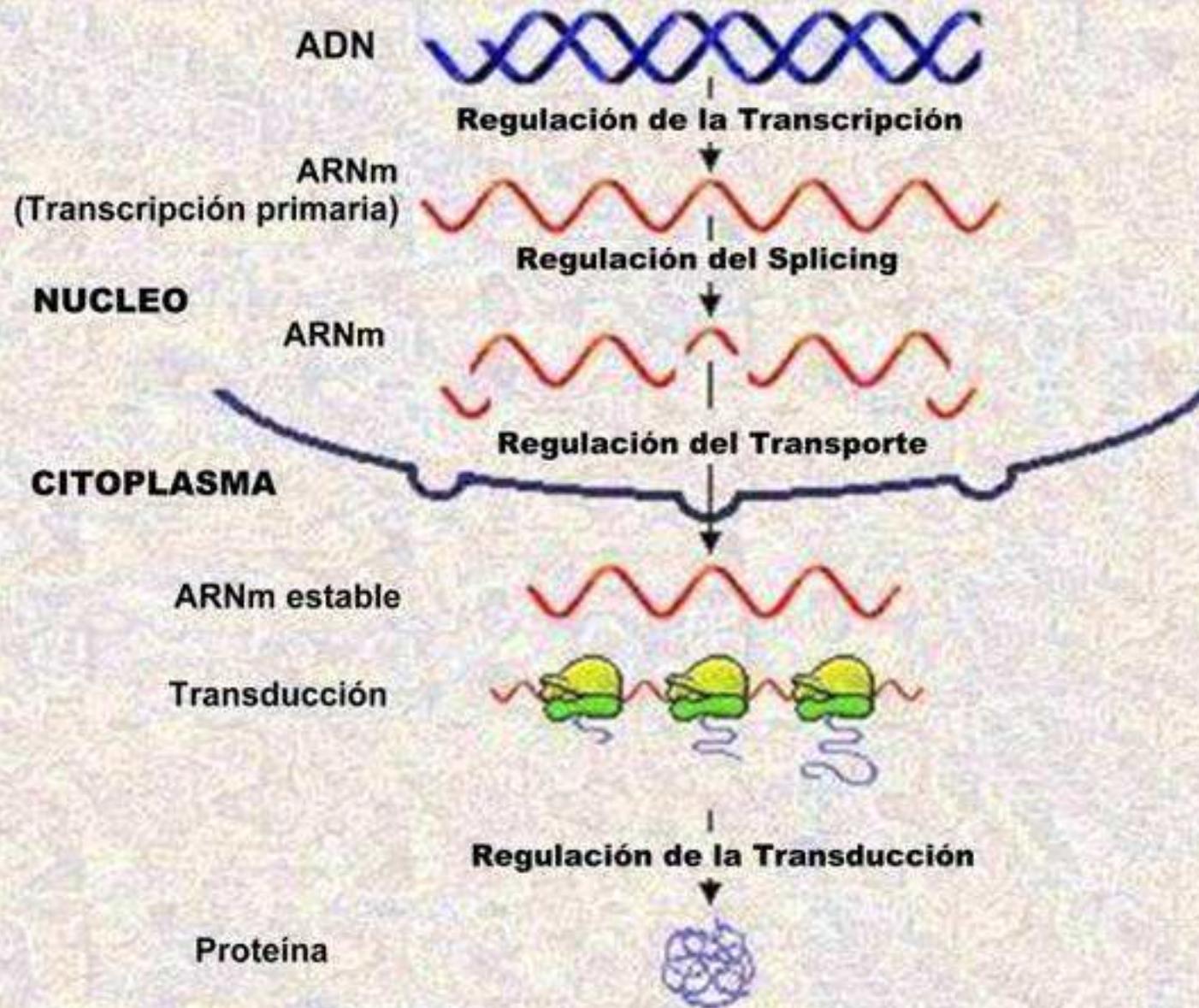
Los organismos multicelulares complejos están compuestos de diferentes tejidos cuyas características individuales dependen de las proteínas específicas expresadas por sus tipos celulares.

La diferenciación, el desarrollo y la funcionalidad de los tejidos específicos dependen del conjunto de proteínas selectivamente expresadas por cada célula.

La **expresión incorrecta** de tales proteínas, su expresión en **lugares equivocados**, **a destiempo**, o la **producción en cantidades anormales de proteínas específicas o de proteínas de función anómala** subyace a toda patología celular de base genética.

El conocimiento de los mecanismos de regulación de la expresión proteica en eucariontes contribuirá a la comprensión de las bases moleculares de diversas patologías y su posible corrección.

Niveles de Regulación de la Expresión Genética en Eucariotes



REQUERIMIENTOS MINIMOS

- No existencia de efectos no deseados.
- Producción sostenida del producto del gen terapéutico.

REQUISITOS PREVIOS

- Comprender el defecto.
- Identificar el gen blanco.
- Poseer un gen normal funcional.
- Disponer de un sistema adecuado de provisión del gen.

ESTRATEGIA TERAPEUTICA PARA

- Desórdenes genéticos.
- Reemplazar, alterar o aumentar la función génica.
- Neutralizar o erradicar enfermedades adquiridas.

INTRODUCCIÓN DEL GEN

ADN desnudo



microinyección
bombardeo de alta energía
mediante células de la piel

VIRUS



Retrovirus – Adenovirus - Virus asociados
Adenovirus - Sendai – Herpes- Lentivirus

Partículas o complejos



ADN + Moléculas policatiónicas
ADN + Lípidos: Liposoma

Células

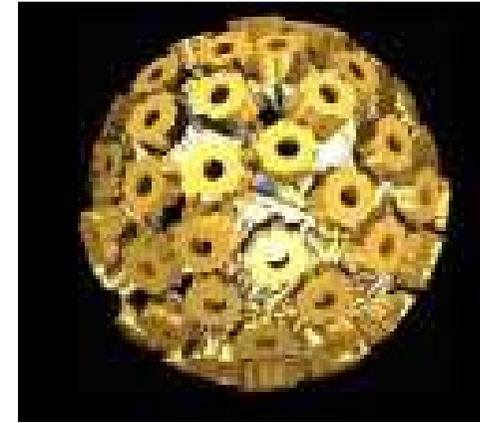
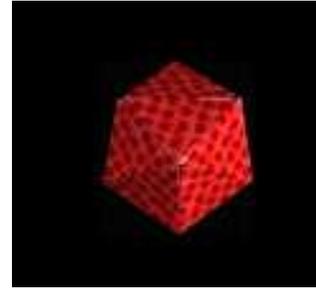
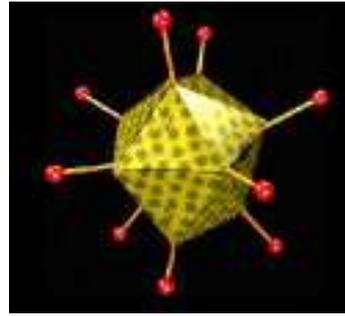
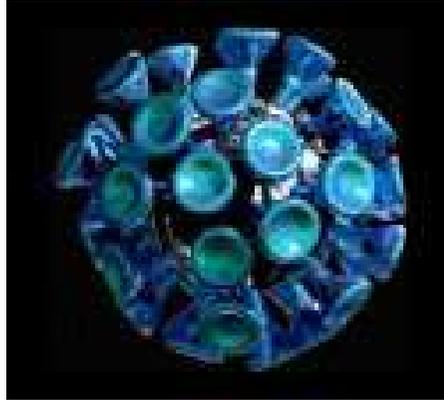


implante de células hematopoyéticas (“Stem”) transducidas
linfocitos
mioblastos – fibroblastos

**PROCESOS DE TRANSFERENCIA DE
UN GEN EXÓGENO A LA CÉLULA,
FACILITANDO LA ENTRADA Y
BIODISPONIBILIDAD
INTRACELULAR DEL MISMO**

VECTORES

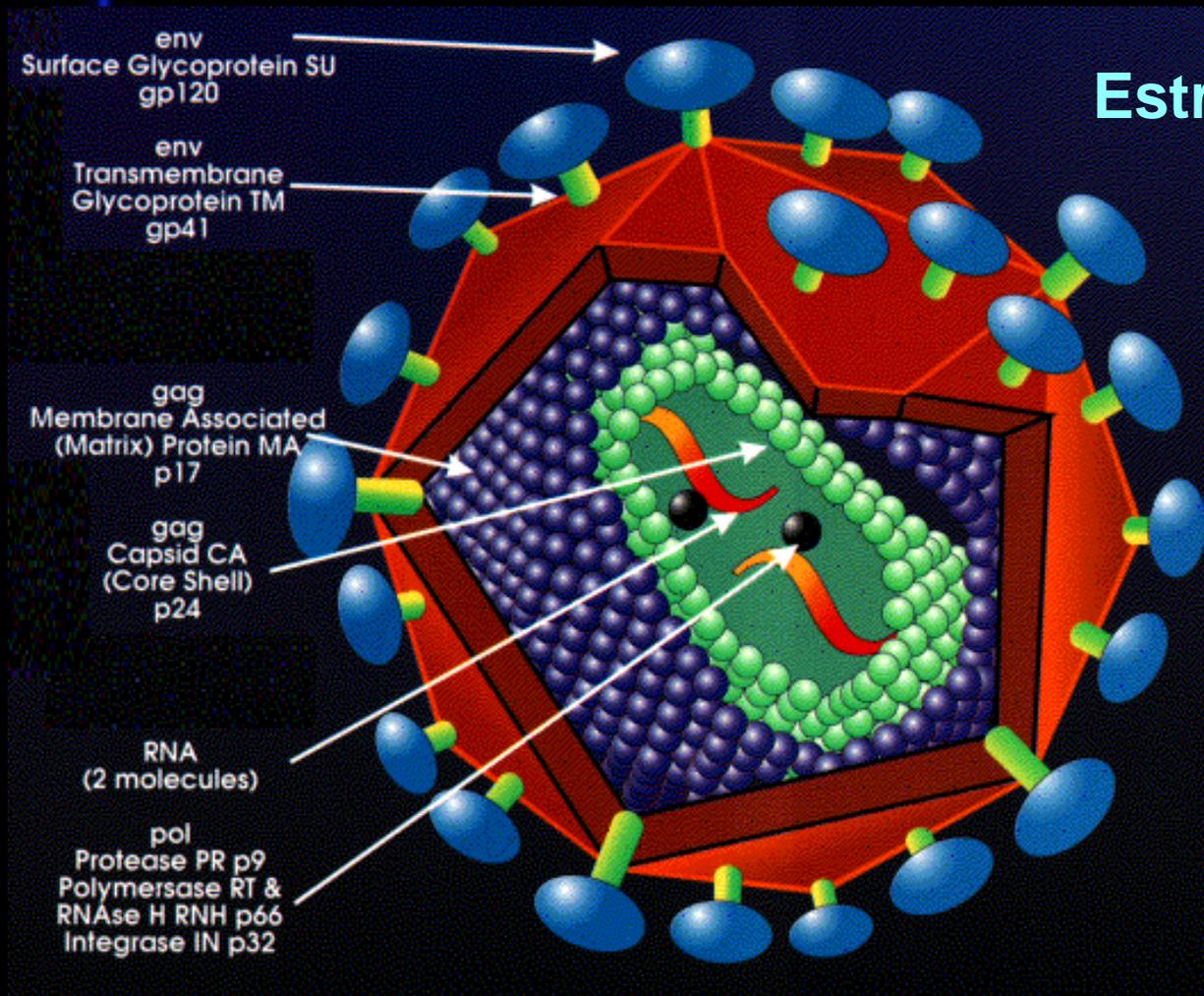
Son sistemas que ayudan en el proceso de transferencia de un gen exógeno a la célula.



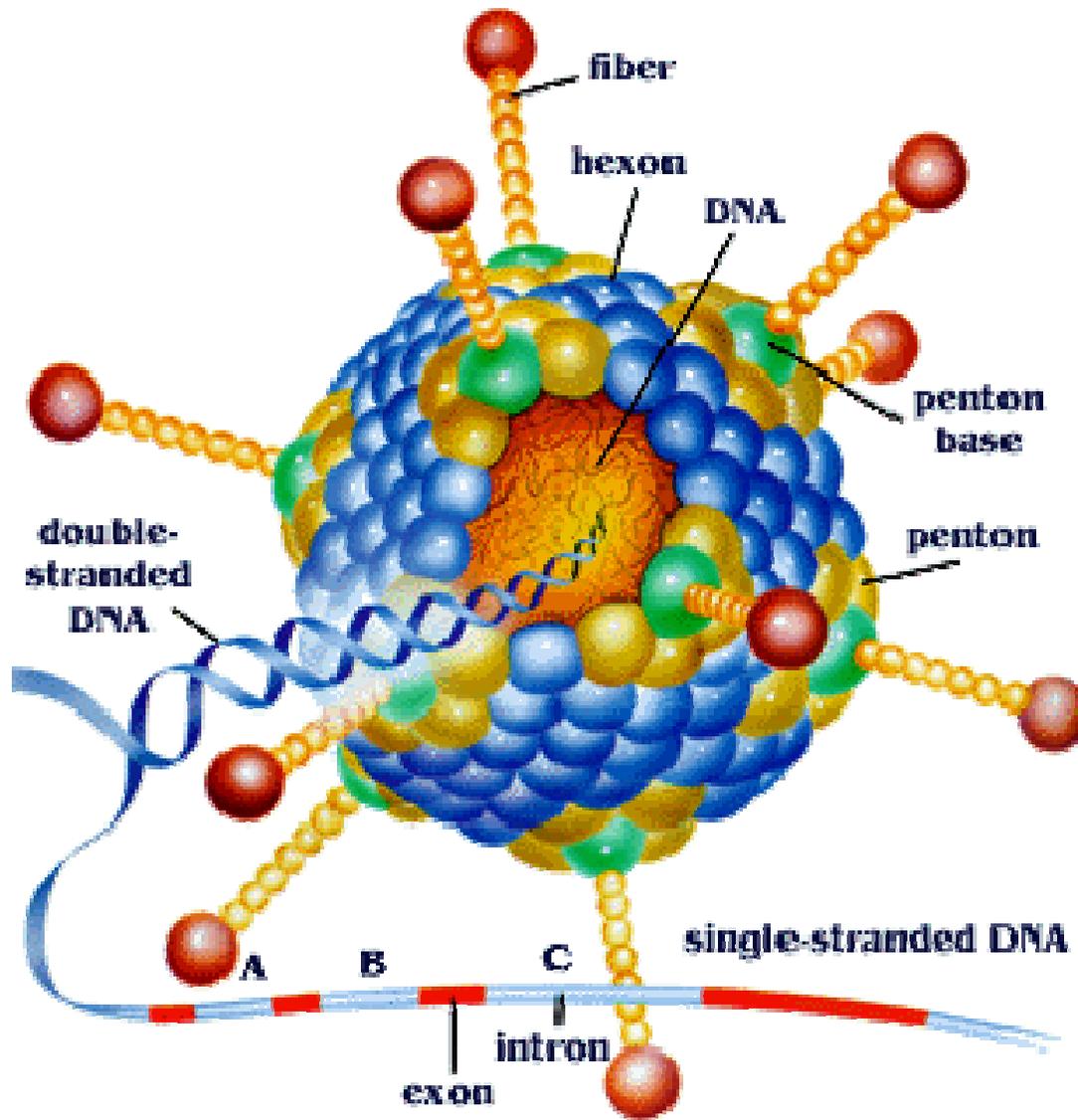
*Principales tipos de virus que se emplean en terapia génica. De izquierda a derecha :
Retrovirus, Adenovirus, Virus Adeno-Asociados y Virus del Herpes Simple.
(Fuente: Universidad de Utah)*

RETROVIRUS

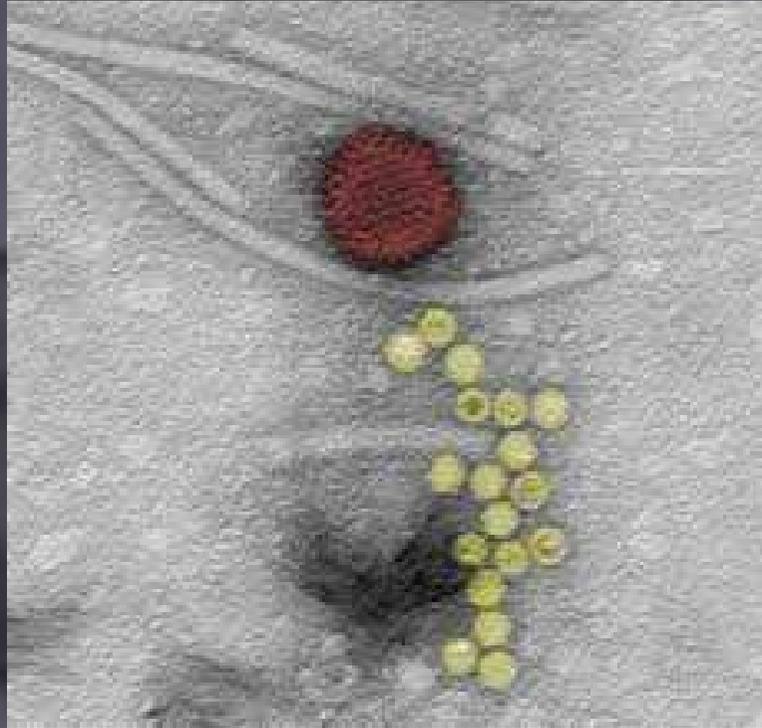
Estructura



ADENOVIRUS Estructura



VIRUS ADENOASOCIADOS



HERPESVIRUS

Estructura

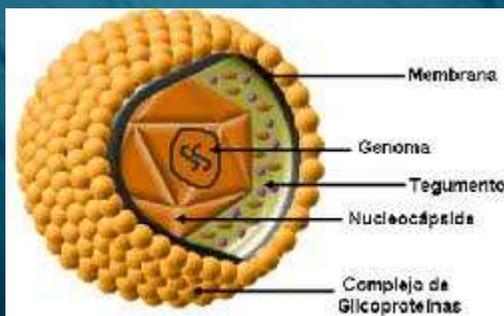
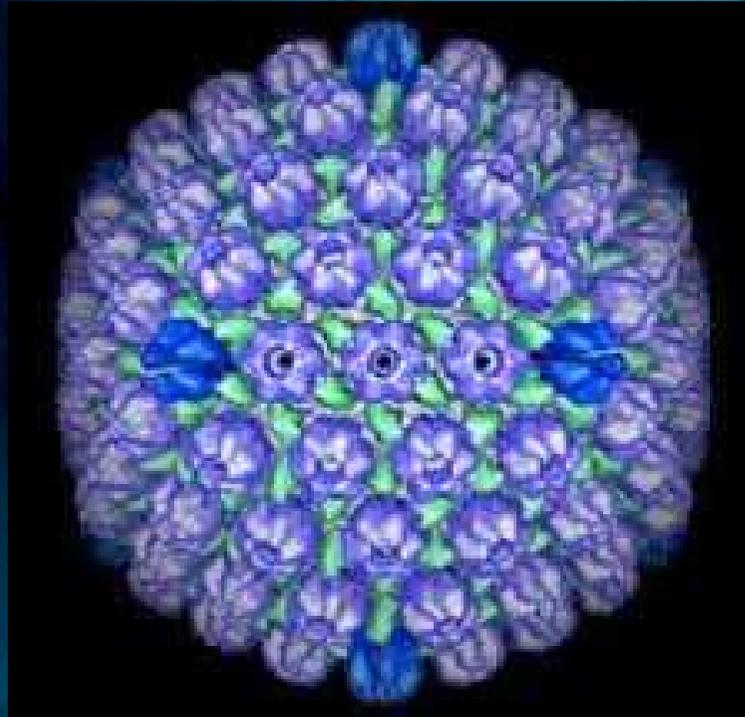


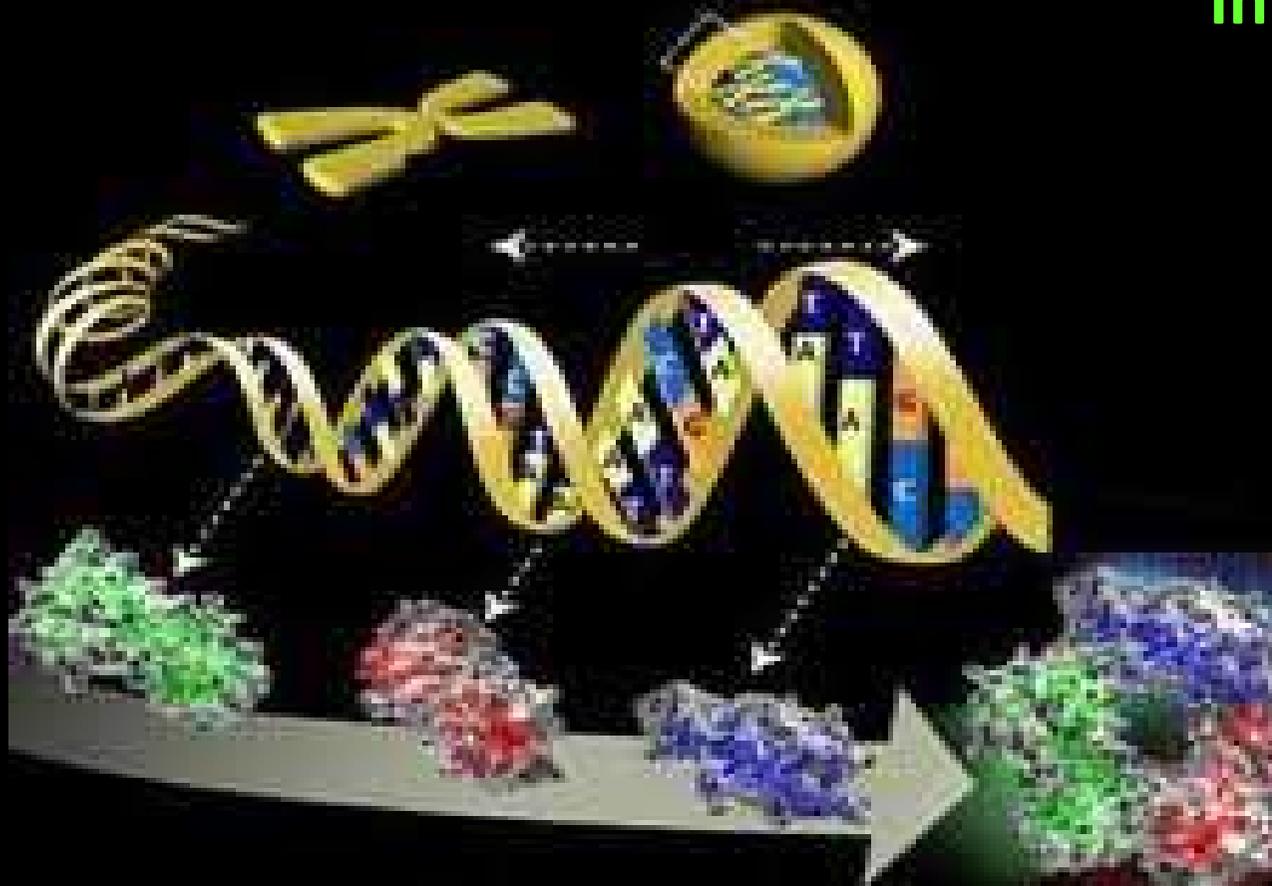
Figura 1. Representación esquemática de los herpesvirus.

VECTORES NO VIRALES

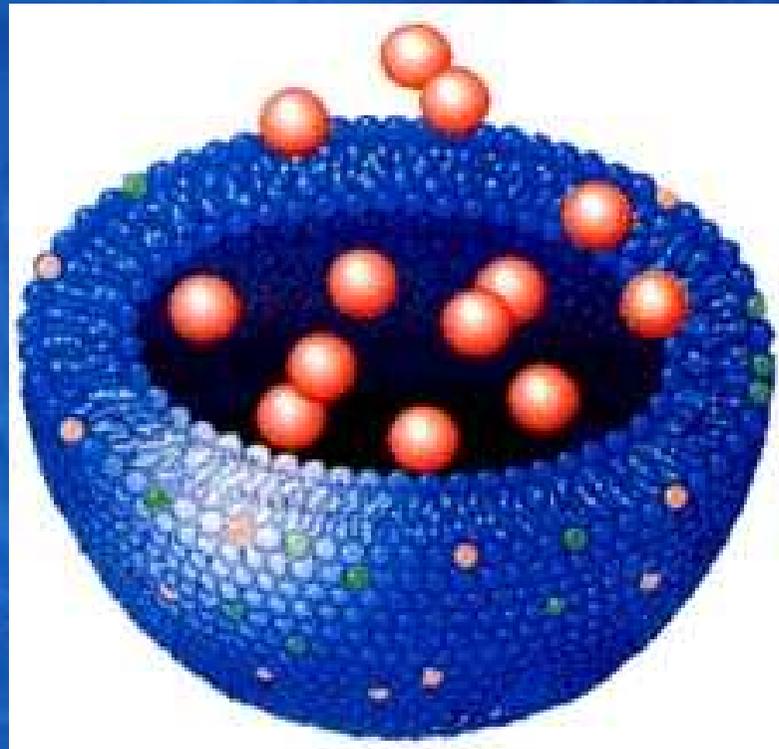
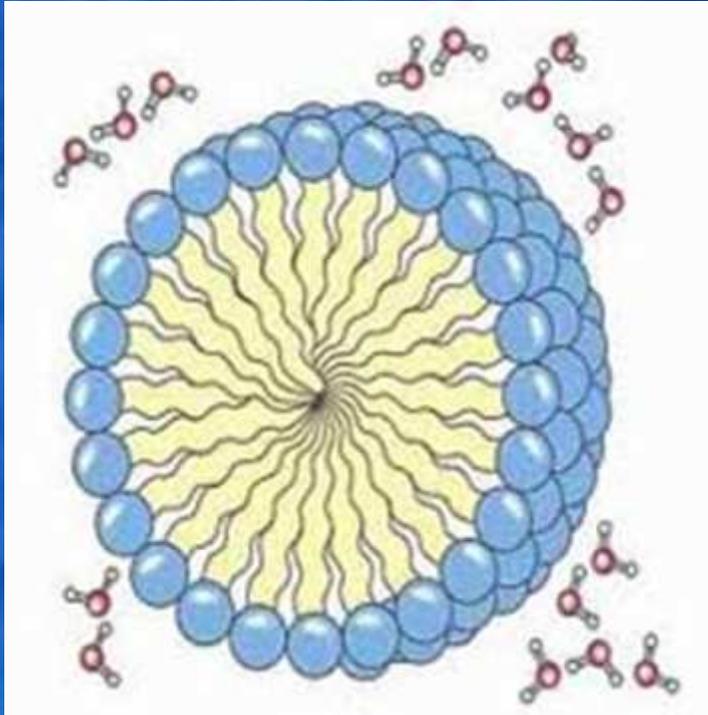
- 1.- INYECCIÓN DIRECTA DE ADN.
- 2.- BOMBARDEO DE PARTÍCULAS.
- 3.- LIPOSOMAS CATIONICOS
- 4.- TRANSFERENCIA DE GENES MEDIANTE RECEPTORES.
- 5.- USO DE ÁCIDOS NUCLEICOS:
OLIGONUCLEOTIDOS ANTISENTIDO

VECTORES NO VIRALES

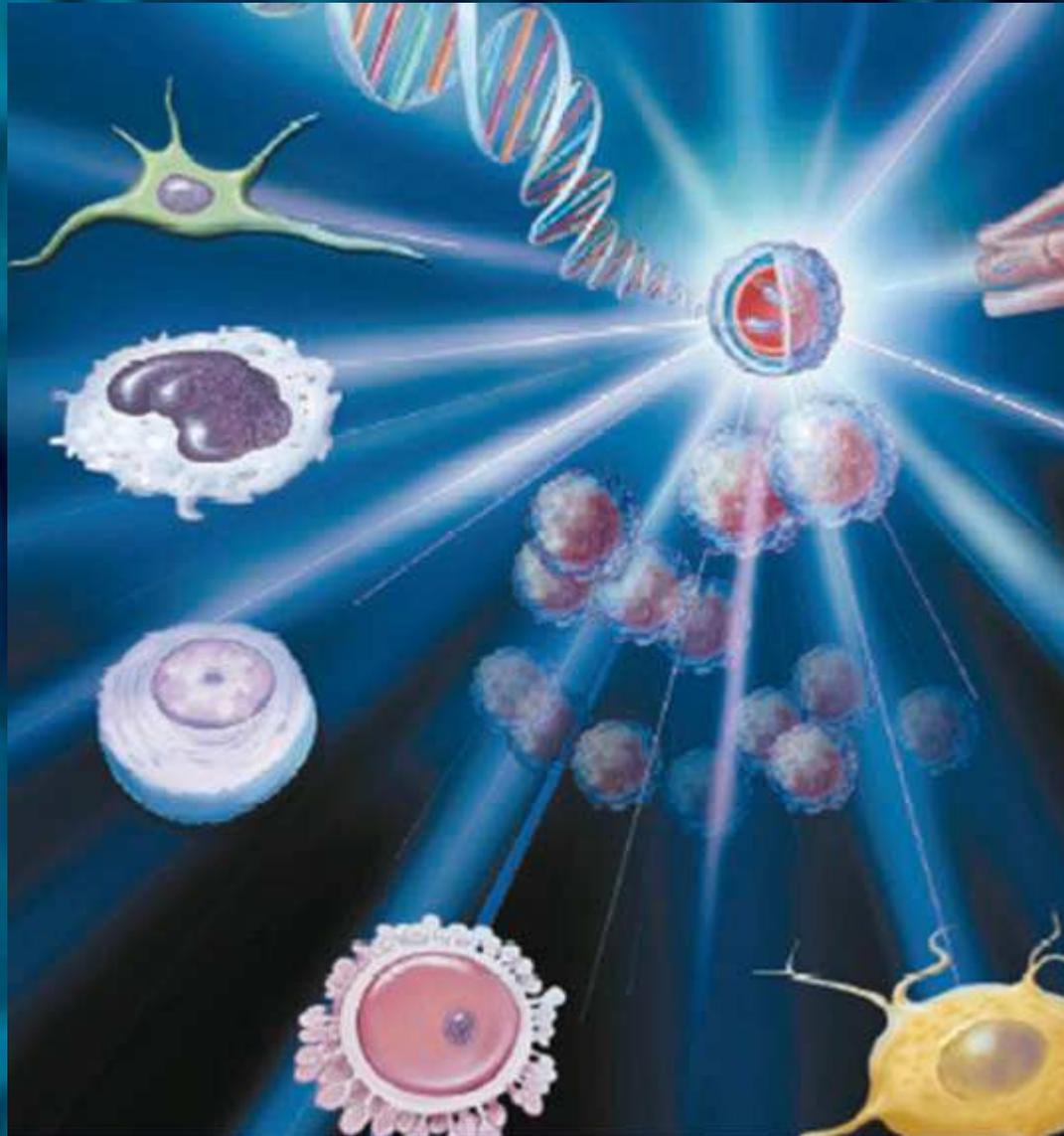
Inyección directa de
ADN Desnudo

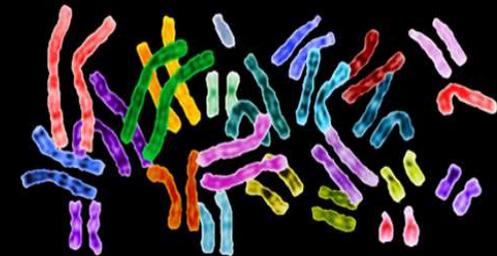
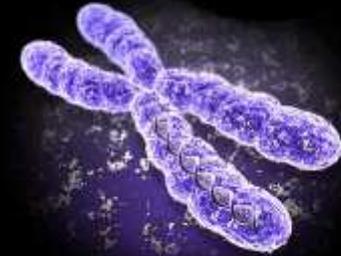
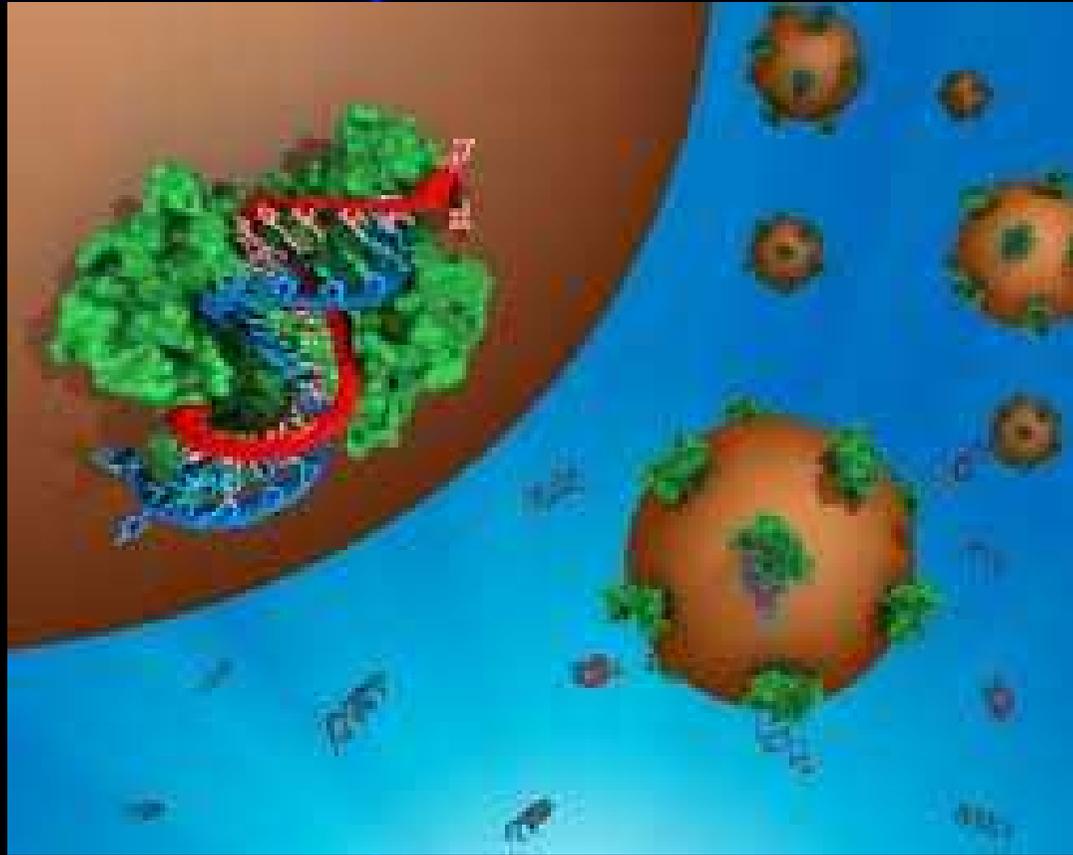


TERAPIA CON LIPOSOMAS



TERAPIA GENICA MEDIANTE RECEPTORES





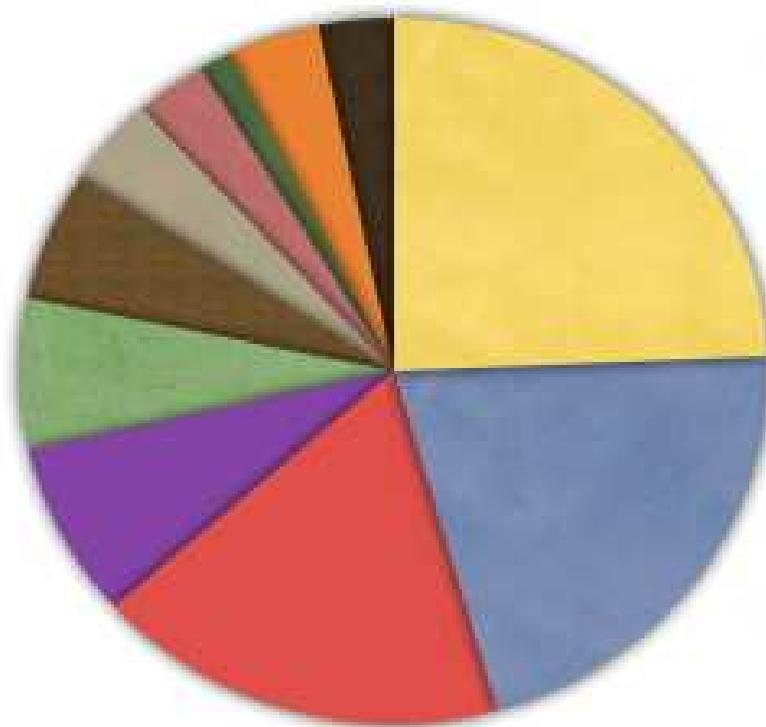
TERAPIA CON MICROCROMOSOMAS ARTIFICIALES

ELECCIÓN DEL VECTOR

- **Eficacia de la transferencia del gen.**
- **Duración de la expresión del gen.**
- **Capacidad para repartir la dosificación.**
- **Capacidad para dirigirse a las células apropiadas y evitar las inapropiadas.**

Vectores

Vectores Used in Gene Therapy Clinical Trials



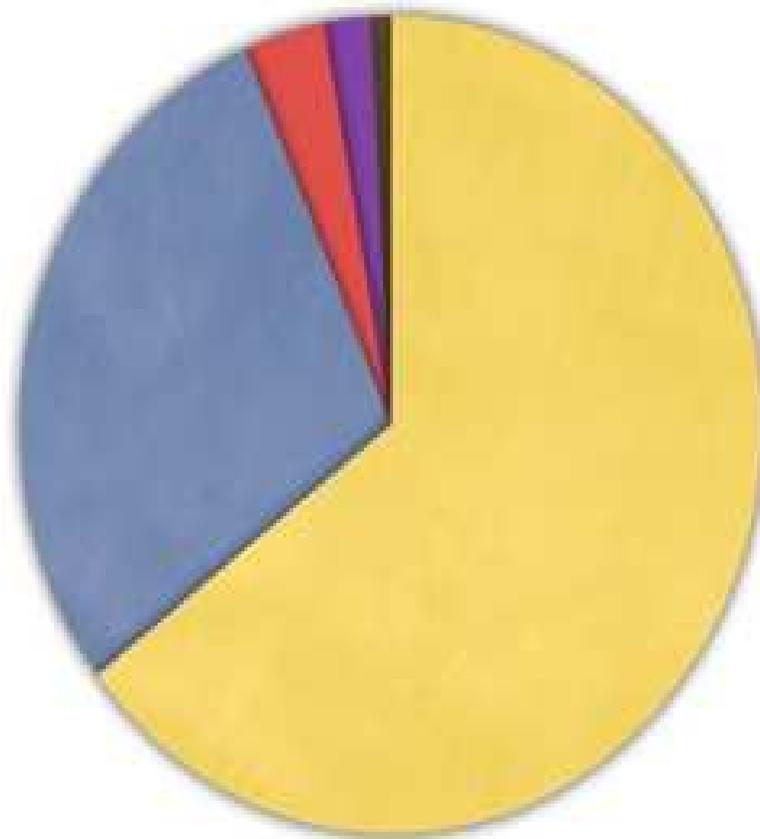
- Adenovirus 24.9% (n=367)
- Retrovirus 21.7% (n=320)
- Naked/Plasmid DNA 18.3% (n=270)
- Vaccinia virus 8.2% (n=120)
- Lipofection 7.1% (n=105)
- Poxvirus 6.1% (n=90)
- Adeno-associated virus 4.1% (n=60)
- Herpes simplex virus 3.2% (n=47)
- RNA transfer 1.4% (n=21)
- Other categories 4.1% (n=60)
- Unknown 3.3% (n=41)

Gene Types Transferred in Gene Therapy Clinical Trials



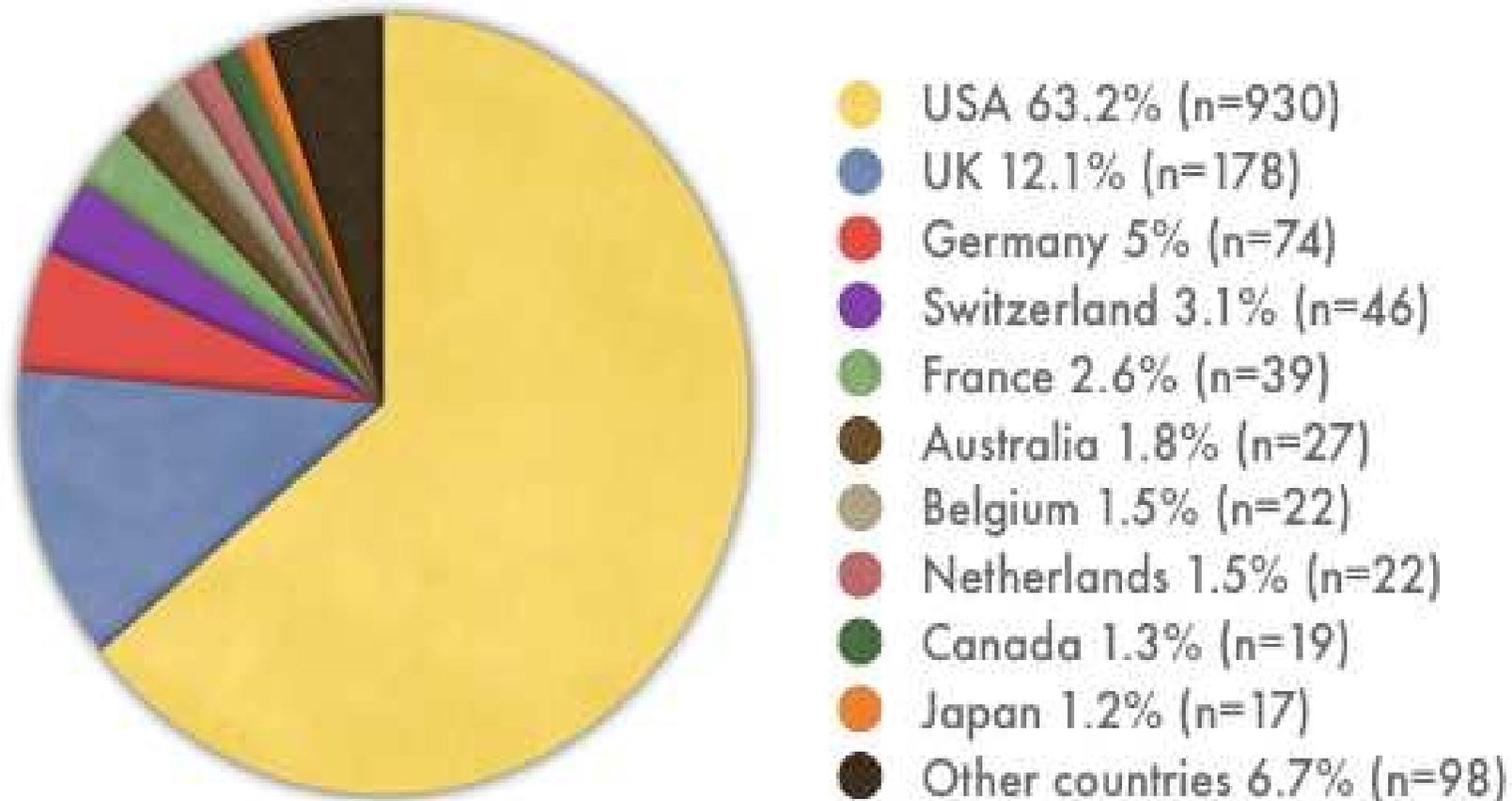
- Antigen 21.1% (n=311)
- Cytokine 18.7% (n=275)
- Tumor suppressor 11.4% (n=168)
- Growth factor 7.9% (n=116)
- Suicide 7.4% (n=109)
- Deficiency 7.5% (n=110)
- Receptor 5.2% (n=77)
- Marker 3.7% (n=54)
- Replication inhibitor 4.4% (n=65)
- Other categories 9.2% (n=136)
- Unknown 3.5% (n=51)

Geographical Distribution of Gene Therapy Clinical Trials (by Continent)

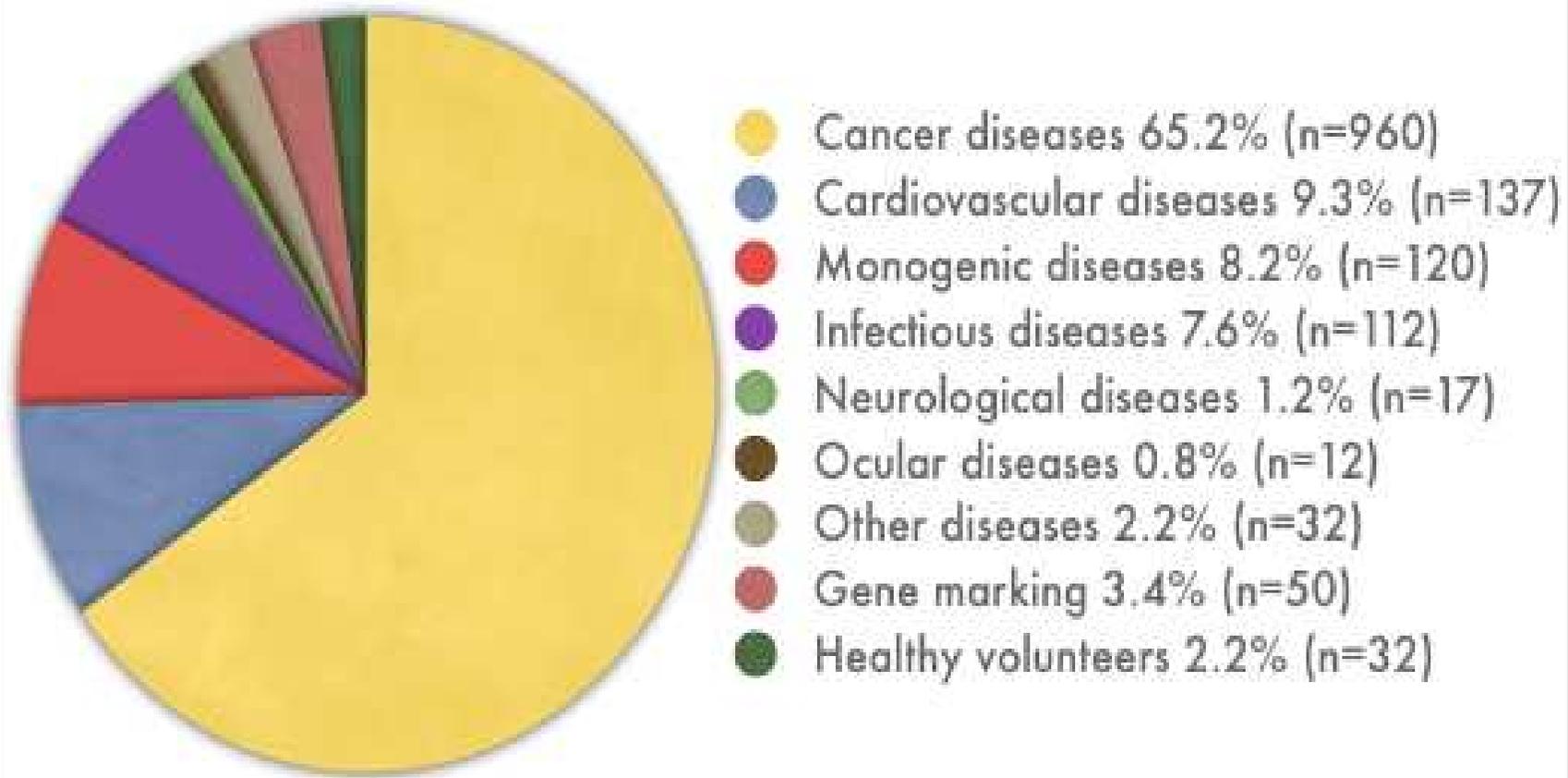


- America 64.5% (n=950)
- Europe 29% (n=427)
- Asia 3.5% (n=52)
- Australasia 2% (n=29)
- Africa 0.1% (n=1)
- Multi-country 0.9% (n=13)

Geographical Distribution of Gene Therapy Clinical Trials (by Country)



Indications Addressed by Gene Therapy Clinical Trials



The background is a vibrant green with a large, dark, textured sphere on the right side. Light rays emanate from the bottom of the sphere, creating a sense of depth and movement. The overall aesthetic is futuristic and scientific.

**CONDICIONES DE
APLICABILIDAD DE LA
TERAPIA GÉNICA
SOMÁTICA**

1.- PATRON DE HERENCIA

Las enfermedades recesivas son mejores candidatas a ser tratadas.

2.- NATURALEZA DE LA MUTACION.

No producción de proteína o de proteína no funcional con patrón de herencia recesivo.

3.- CONTROL DE LA EXPRESION GENICA

4.- TAMAÑO DEL ADN CODIFICANTE DEL GEN A INSERTAR

5.- TIPO DE TEJIDO A CORREGIR

PROCEDIMIENTO STANDARD MAS UTILIZADO EN TERAPIA GENICA.

- 1) Identificación, aislamiento y amplificación del gen que va a ser utilizado para el tratamiento;
- 2) Extracción y cultivo *in vitro* de las células del tejido del paciente a tratar;
- 3) Transferencia del gen terapéutico al interior de las células mediante un vector.

El mejor tejido a tratar aquel cuyas células puedan ser extraídas, cultivadas con facilidad *in vitro*, resistentes a la manipulación, que fuesen células de larga vida, reintroducidas sin dificultad en el organismo y que permaneciesen durante toda la vida del paciente.

Las células mejores candidatas son las de la médula ósea, la piel y el hígado.

El paso crucial que ha planteado los mayores problemas ha sido la selección del vector adecuado para la transferencia génica.

EFICACIA DEL VECTOR

ESTUDIOS *IN VITRO* .

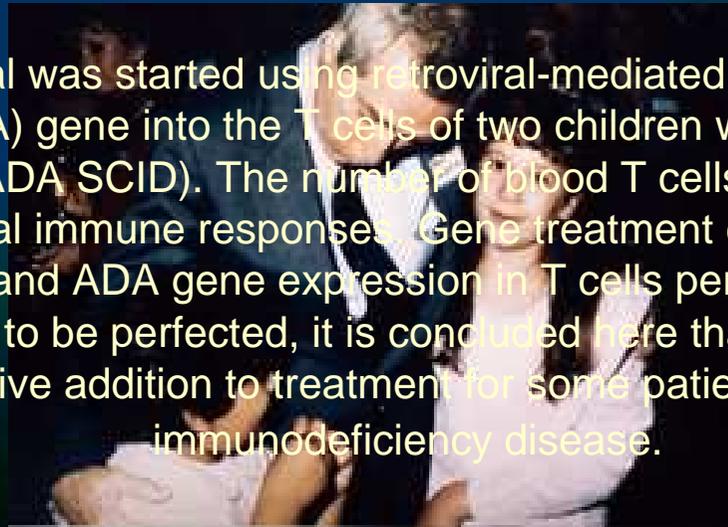
Para detectar la transferencia del gen, el ácido nucleico puede ser examinado por métodos basados en Southern, Northern y PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

T Lymphocyte-Directed Gene Therapy for ADA SCID: Initial Trial Results After 4 Years

R. Michael Blaese , Kenneth W. Culver, A. Dusty Miller, Charles S. Carter, Thomas Fleisher, Mario Clerici , Gene Shearer, Lauren Chang, Yawen Chiang, Paul Tolstoshev, Jay J. Greenblatt, Steven A. Rosenberg, Harvey Klein, Melvin Berger, Craig A. Mullen, W. Jay Ramsey, Linda Muul, Richard A. Morgan, W. French Anderson

Science 270,475-480 (1995)

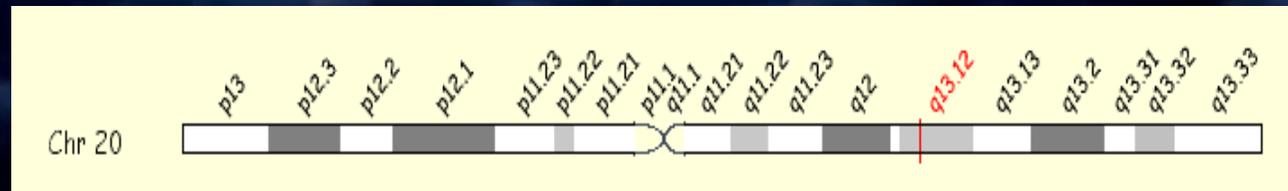
In 1990, a clinical trial was started using retroviral-mediated transfer of the adenosine deaminase (ADA) gene into the T cells of two children with severe combined immunodeficiency (ADA SCID). The number of blood T cells normalized as did many cellular and humoral immune responses. Gene treatment ended after 2 years, but integrated vector and ADA gene expression in T cells persisted. Although many components remain to be perfected, it is concluded here that gene therapy can be a safe and effective addition to treatment for some patients with this severe immunodeficiency disease.



Science

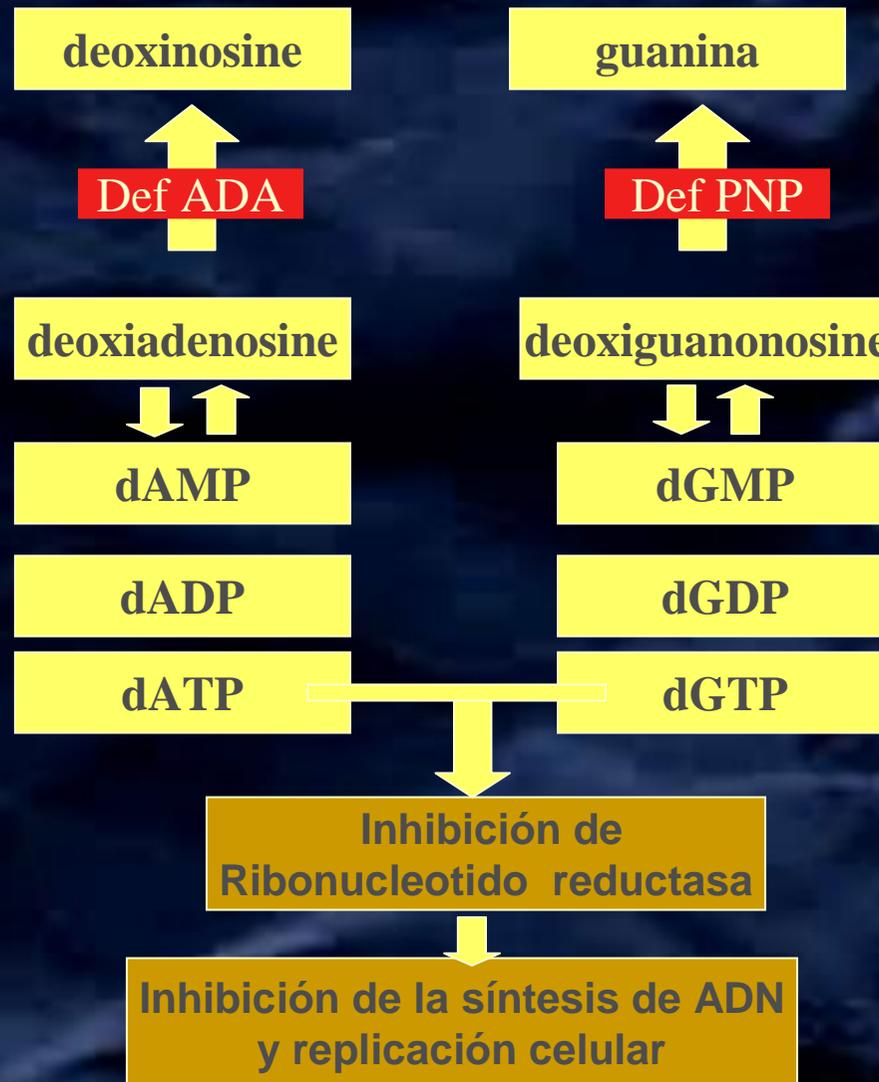
Primer protocolo clínico de terapia génica

ADA



- GEN DE 32 kb
- Brazo largo del Cromosoma 20
- 12 Exones y 11 Intrones

El defecto genético que resulta en la pérdida o compromiso severo de la actividad enzimática de ADA lleva a la reducción extrema del nº de linfocitos



ASHANTI DA SILVA recibió 11 infusiones desde septiembre de 1990 a agosto de 1992 y ha mantenido un nivel circulante de 20-25% de células corregidas y lleva una vida normal



ADA

Mutation type	Total number of mutations	
■ <u>Nucleotide substitutions (missense / nonsense)</u>	43	
■ <u>Nucleotide substitutions (splicing)</u>		7
■ Nucleotide substitutions (regulatory)	0	
■ <u>Small deletions</u>	5	
■ Small insertions	0	
■ Small indels	0	
■ <u>Gross deletions</u>	2	
■ Gross insertions & duplications	0	
■ Complex rearrangements (including inversions)	0	
	TOTAL	57

Gene Therapy in Peripheral Blood Lymphocytes and Bone Marrow for ADA Immunodeficient Patients

Science. Volume 270, Number 5235, Issue of 20 Oct 1995, pp. 470-475.

Claudio Bordignon , Luigi D. Notarangelo, Nadia Nobili, Giuliana Ferrari, Giulia Casorati, Paola Panina, Evelina Mazzolari, Daniela Maggioni, Claudia Rossi, Paolo Servida, Alberto G. Ugazio, Fulvio Mavilio

Adenosine deaminase (ADA) deficiency results in severe combined immunodeficiency, the first genetic disorder treated by gene therapy. Two different retroviral vectors were used to transfer ex vivo the human ADA minigene into bone marrow cells and peripheral blood lymphocytes from two patients undergoing exogenous enzyme replacement therapy. After 2 years of treatment, long-term survival of T and B lymphocytes, marrow cells, and granulocytes expressing the transferred ADA gene was demonstrated and resulted in normalization of the immune repertoire and restoration of cellular and humoral immunity. After discontinuation of treatment, T lymphocytes, derived from transduced peripheral blood lymphocytes, were progressively replaced by marrow-derived T cells in both patients. These results indicate successful gene transfer into long-lasting progenitor cells, producing a functional multilineage progeny.

Utilizan dos formas diferenciables del mismo vector retroviral para transducir separadamente linfocitos y células stem de medula ósea

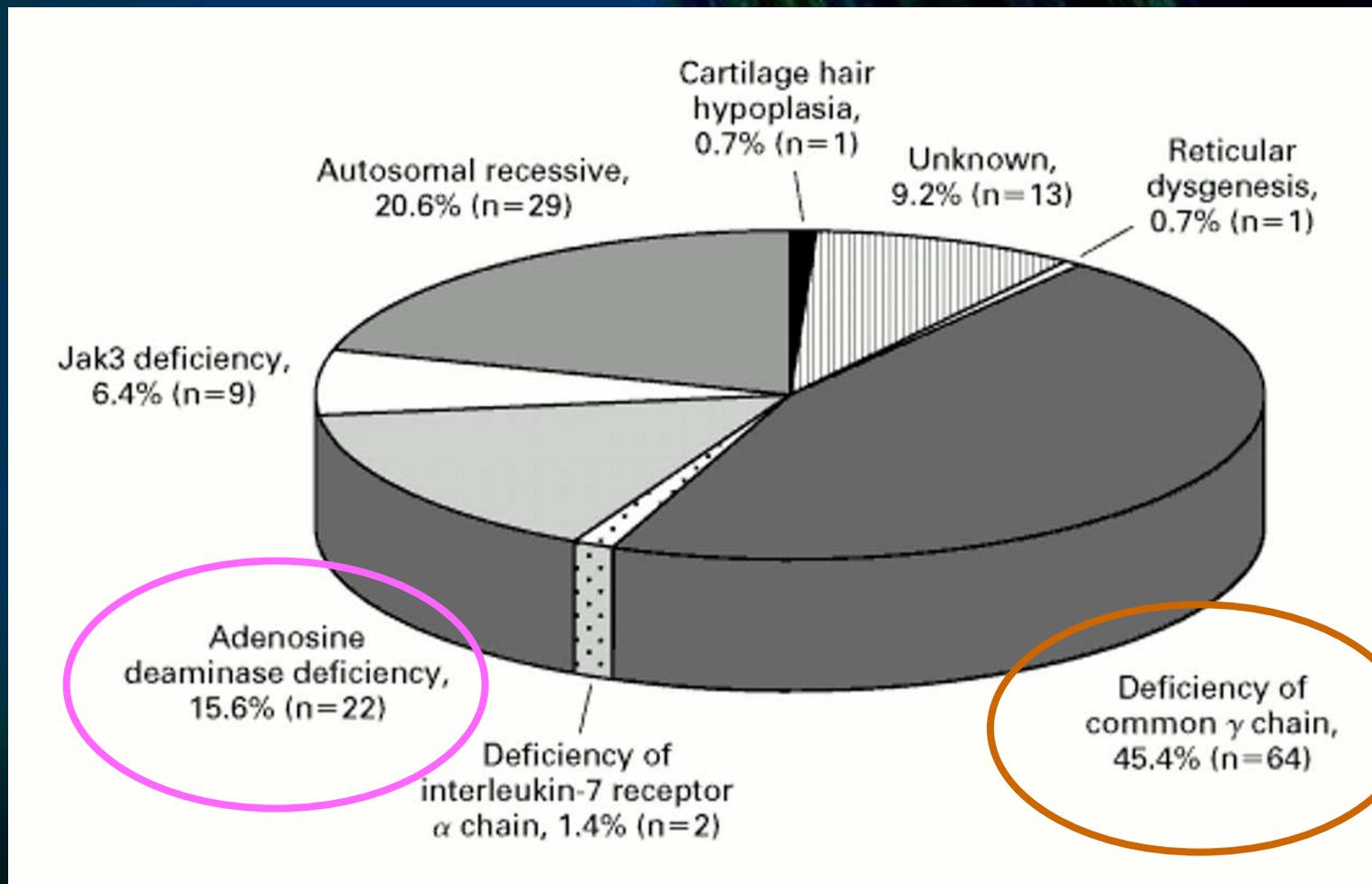
2 PACIENTES TRATADOS CON INFUSIONES IV DE CELULAS AUTOLOGAS TRANSDUCIDAS POR 9 A 24 MESES

Science

RESULTADOS

- **NORMALIZACION DEL RECUENTO LINFOCITARIO**
- **PRODUCCION DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS**

LA ACTIVIDAD DEL TRANSGEN FUE DETECTADA EN CELULAS DE MEDULA OSEA, LINFOCITOS PERIFERICOS, GRANULOCITOS MADUROS Y PRECURSORES ERITROIDES, INDICANDO QUE LA CORRECCION EN LOS PROGENITORES HABIA SIDO TRANFERIDA EN FORMA ESTABLE A LA PROGENIE

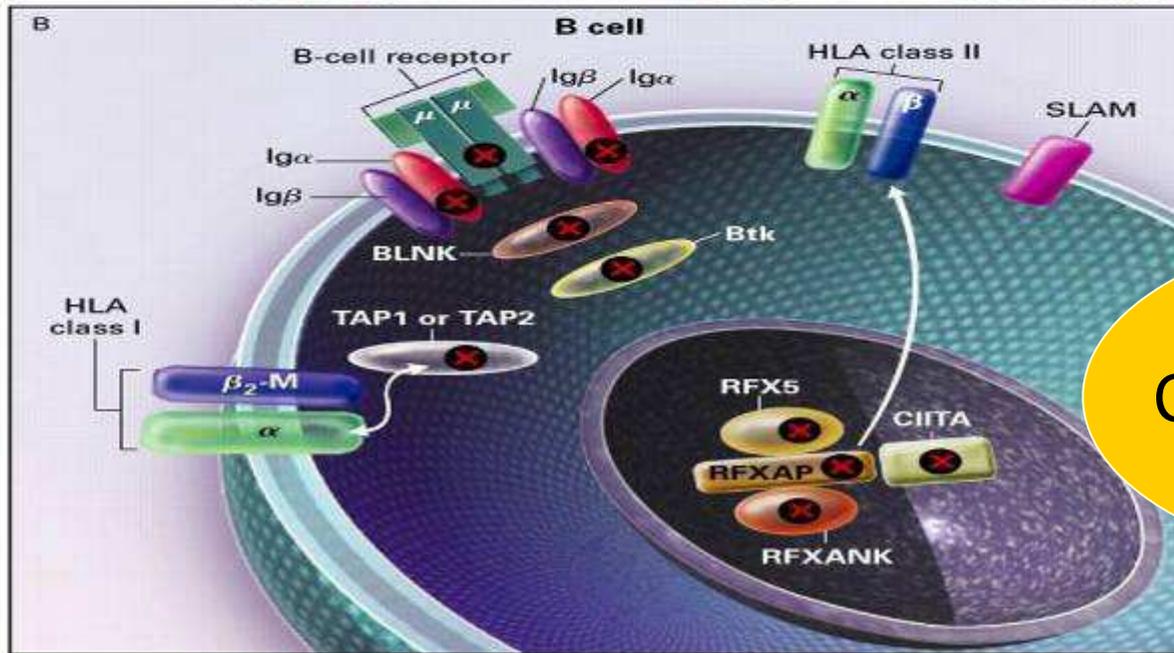
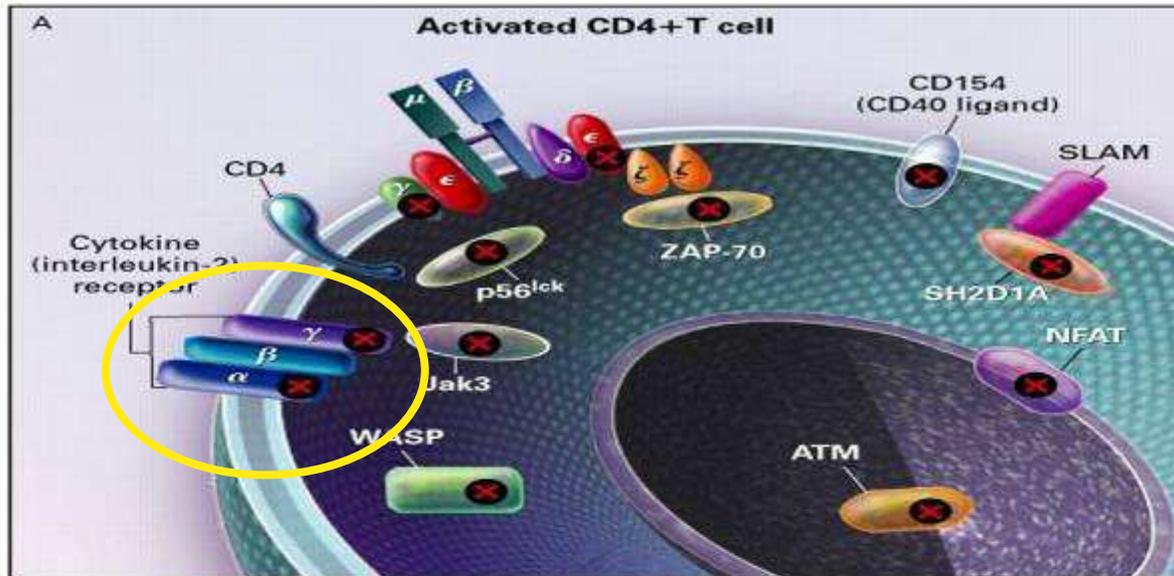


- Relative Frequencies of the Various Types of Severe Combined Immunodeficiency among 141 Consecutive Patients.
- **Buckley. NEJM :343 (18): 1313, November 2, 2000**

Table 1
SCID classification

Mechanisms	Mutated genes	Inheritance	Affected cells
Premature cell death	<i>ADA</i>	AR	T, B, NK
Defective cytokine-dependent survival signaling	<i>γC</i>	X-L	T, NK
	<i>JAK3</i>	AR	T, NK
	<i>IL7RA</i>	AR	T
	<i>RAG1</i> or <i>RAG2</i>	AR	T, B
Defective V(D)J rearrangement	<i>Artemis</i>	AR	T, B
	<i>CD3 δ, ζ, ε</i>	AR	T
Defective pre-TCR and TCR signaling	<i>CD45</i>	AR	T

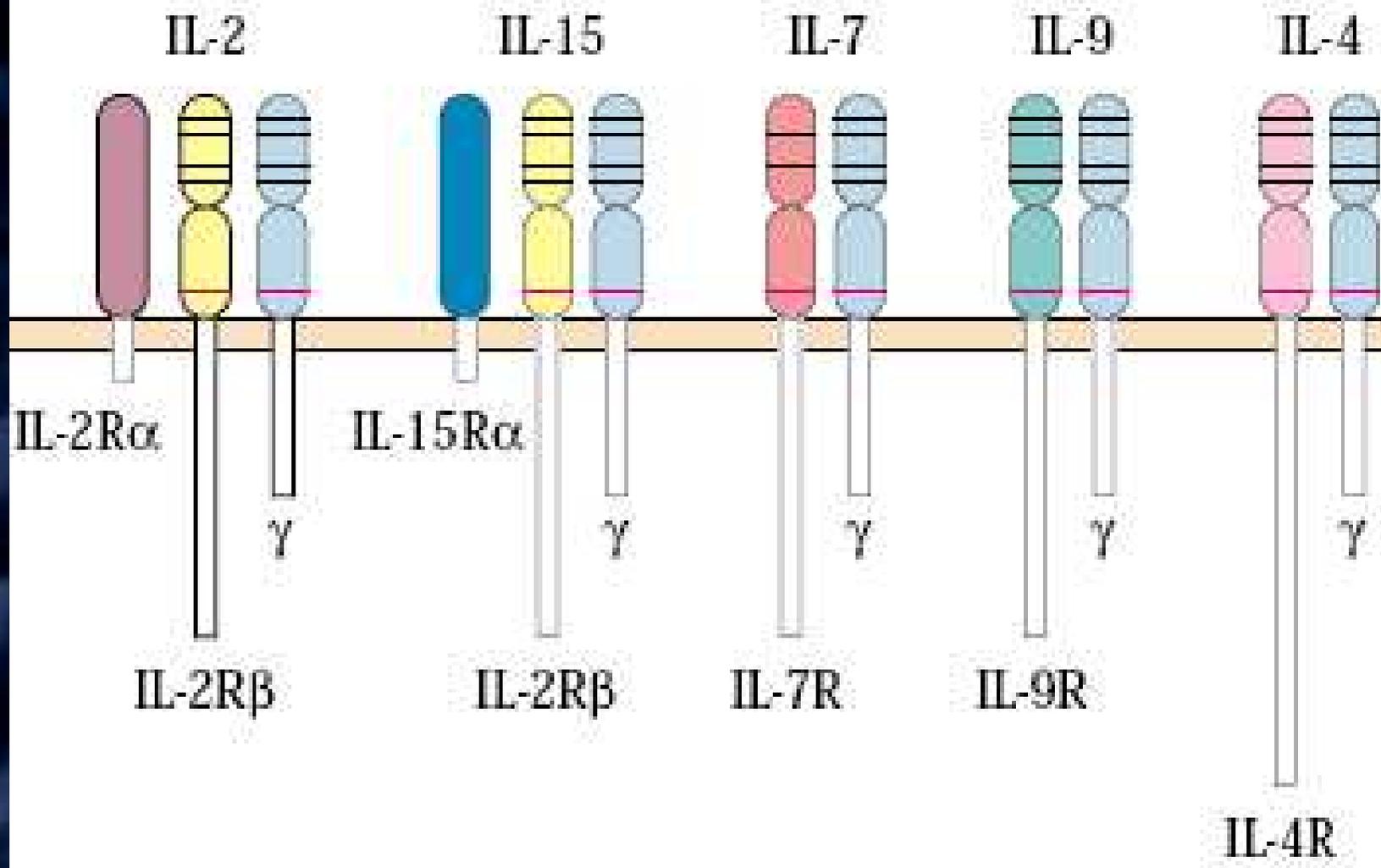
AR, autosomal recessive; X-L, X-linked.



Subunidad γ
de los
receptores de
IL 2, 4, 7, 9 y 15

CANDIDATA A TG

(c) IL-2 receptor subfamily (common γ subunit)



En 1992, los ensayos aprobados incluían, además del gen ADA a linfocitos, las transferencias para seis genes distintos más, algunos relacionados con tumores. En los últimos años se han realizado ensayos para trastornos hereditarios como la fibrosis quística, hipercolesterolemia familiar, enfermedad de Gaucher y la distrofia muscular de Duchenne.

Hasta agosto de 2000, había registrados en NIH (USA) 431 ensayos de terapia génica, de los cuales 393 (91 %) correspondían a los Estados Unidos y 38 (9 %) al resto del mundo.

De todos ellos, 271 (64 %) estaban dedicados al cáncer, 33 (9 %) al Sida, 28 (7 %) a enfermedades cardiovasculares, 25 (6 %) a fibrosis quística y los 52 restantes a otras enfermedades

Gene Therapy of Human Severe Combined Immunodeficiency (SCID)-X1 Disease

Science. Volume 288, Number 5466, Issue of 28 Apr 2000

*Marina Cavazzana-Calvo,^{*123} Salima Hacein-Bey,^{*123} Geneviève de Saint Basile,¹ Fabian Gross,² Eric Yvon,³ Patrick Nusbaum,² Françoise Selz,¹ Christophe Hue,¹² Stéphanie Certain,¹ Jean-Laurent Casanova,¹⁴ Philippe Bousso,⁵ Françoise Le Deist,¹ Alain Fischer¹²⁴*

Severe combined immunodeficiency-X1 (SCID-X1) is an X-linked inherited disorder characterized by an early block in T and natural killer (NK) lymphocyte differentiation. This block is caused by mutations of the gene encoding the γ c cytokine receptor subunit of interleukin-2, -4, -7, -9, and -15 receptors, which participates in the delivery of growth, survival, and differentiation signals to early lymphoid progenitors. After preclinical studies, a gene therapy trial for SCID-X1 was initiated, based on the use of complementary DNA containing a defective γ c Moloney retrovirus-derived vector and ex vivo infection of CD34⁺ cells. After a 10-month follow-up period, c transgene-expressing T and NK cells were detected in two patients. T, B, and NK cell counts and function, including antigen-specific responses, were comparable to those of age-matched controls. Thus, gene therapy was able to provide full correction of disease phenotype and, hence, clinical benefit

Gene Therapy of Human Severe Combined Immunodeficiency (SCID)-X1 Disease

Science. Volume 288, Number 5466, Issue of 28 Apr 2000

- **Enrola a dos pacientes (11 y 8 meses) con criterios de elegibilidad para TG**
- **Diagnostico molecular indica que las mutaciones en γc resultan en un receptor incapaz de anclarse a membrana o en una proteína truncada sin el dominio trnasmembrana**
- **Infieren que la transferencia de γc podría conferir una ventaja selectiva a las células progenitoras linfoides, ya que a través de la IL7 e IL15, la subunidad γc de los receptores envían señales de sobrevida y proliferación a los progenitores de linfocitos T y NK**



Sustained Correction of X-Linked Severe Combined Immunodeficiency by ex Vivo Gene Therapy

Salima Hacein-Bey-Abina, Ph.D., Françoise Le Deist, M.D., Ph.D., Frédérique Carlier, B.S., Cécile Bouneaud, Ph.D., Christophe Hue, B.S., Jean-Pierre De Villartay, Ph.D., Adrian J. Thrasher, M.D., Ph.D., Nicolas Wulffraat, M.D., Ricardo Sorensen, M.D., Sophie Dupuis-Girod, M.D., Alain Fischer, M.D., Ph.D., E. Graham Davies, M.D., Wietse Kuis, M.D., Ph.D., Lilly Leiva, Ph.D., and Marina Cavazzana-Calvo, M.D., Ph.D.

ABSTRACT

Background X-linked severe combined immunodeficiency due to a mutation in the gene encoding the common (γ c) chain is a lethal condition that can be cured by allogeneic stem-cell transplantation. We investigated whether infusion of autologous hematopoietic stem cells that had been transduced in vitro with the *c* gene can restore the immune system in patients with severe combined immunodeficiency.

Methods CD34+ bone marrow cells from five boys with X-linked severe combined immunodeficiency were transduced ex vivo with the use of a defective retroviral vector. Integration and expression of the *c* transgene and development of lymphocyte subgroups and their functions were sequentially analyzed over a period of up to 2.5 years after gene transfer.

Results No adverse effects resulted from the procedure. Transduced T cells and natural killer cells appeared in the blood of four of the five patients within four months. The numbers and phenotypes of T cells, the repertoire of T-cell receptors, and the in vitro proliferative responses of T cells to several antigens after immunization were nearly normal up to two years after treatment. Thymopoiesis was documented by the presence of naive T cells and T-cell antigen-receptor episomes and the development of a normal-sized thymus gland. The frequency of transduced B cells was low, but serum immunoglobulin levels and antibody production after immunization were sufficient to avoid the need for intravenous immunoglobulin. Correction of the immunodeficiency eradicated established infections and allowed patients to have a normal life.

Conclusions Ex vivo gene therapy with γ c can safely correct the immune deficiency of patients with X-linked severe combined immunodeficiency.

Thursday, 27 April, 2000, 18:14 GMT 19:14 UK
Gene therapy frees 'bubble babies'

The controversial medical field of gene therapy has received a boost with the successful treatment of a gene disorder. Two infants, aged 8 and 11 months, received new genetic material to combat a life-threatening disease called Severe Combined Immunodeficiency (Scid).

Usually, patients with Scid are forced to live in tightly-controlled, sterile "bubbles" to avoid threats to their non-existent immune systems.

A bone marrow transplant is the conventional treatment for such patients. But the two treated children have shown "striking" improvements and now live normally after their novel therapy.



Alain Fischer: The children will be monitored for the rest of their lives

CORRESPONDENCE



A Serious Adverse Event after Successful Gene Therapy for X-Linked Severe Combined Immunodeficiency

TO THE EDITOR: We recently reported (April 18 issue)¹ the sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency disease by *ex vivo*, retrovirally mediated transfer of the γ c gene into CD34+ cells in four of five patients with the disease. These results have since been confirmed in four additional patients with typical X-linked severe combined immunodeficiency. Of the first four successfully treated patients, three continue to do well up to 3.6 years after gene therapy, whereas a serious adverse event occurred in the fourth patient. At a routine checkup 30 months after gene therapy, lymphocytosis consisting of a monoclonal population of V γ 9/V δ 1, γ / δ T cells of mature phenotype was detected. One proviral integration site was found, located on the short arm of chromosome 11 within the LMO-2 locus, as determined with the use of linear-amplification mediated polymerase-chain-reaction analysis.² This proviral integration within the LMO-2 locus was associated with aberrant expression of the LMO-2 transcript in the monoclonal T-cell population. Aberrant expression of LMO-2 has been reported in acute lymphoblastic leukemia arising from T cells with α / β receptors, usually with the chromosomal translocation t(11;14).³ Tests for replication-competent retrovirus were repeatedly negative in our patient's lymphocytes.

Between 30 and 34 months after gene therapy, the patient's lymphocyte count rose to 300,000 per cubic millimeter, and hepatosplenomegaly developed. Further investigations showed the presence of a t(6;13) translocation, which had not been detected 30 months after the therapy. Treatment with a chemotherapy regimen based on a high-risk protocol for acute lymphocytic leukemia (a protocol of the Dutch Childhood Leukemia Study Group) was initiated and has resulted, to date, in a dramatic reduction in the abnormal cells.

We interpret these findings as the consequence of the insertional mutagenesis event, a risk that is potentially associated with retrovirally mediated gene transfer and that has previously been considered to be very low in humans.⁴ For this reason, a thorough reassessment of the potential risk of retrovirally mediated gene therapy is warranted. It is likely that additional factors may have contributed to the adverse event in our patient, including a varicella-zoster virus infection five months before clinically detectable lymphoproliferation, which may have stimulated immune reactivity of the γ / δ T-cell clone, or a selective growth advantage conferred by γ c expression in the transduced cells. Genetic predisposing factors for childhood cancer are also possible, since medulloblastomas have developed in the proband's sister and a first-degree relative.

We have proposed to the French regulatory authorities a halt to our trial until further evaluation of the causes of this adverse event and a careful reassessment of the risks and benefits of continuing our study of gene therapy in patients with X-linked severe combined immunodeficiency can be completed. The latter will include a comparison with the outcome of the only available alternative therapy, haploidentical stem-cell transplantation.⁵

Salima Hacein-Bey-Abina, Pharm.D., Ph.D.

Necker University Hospital
75015 Paris, France

Christof von Kalle, M.D., Ph.D.

Children's Hospital Research Foundation
Cincinnati, OH 45229

Manfred Schmidt, Ph.D.

Freiburg University Medical School
79106 Freiburg, Germany

Françoise Le Deist, M.D., Ph.D.

Necker University Hospital
75015 Paris, France



Thérapie génique : un résultat mitigé

Le 22 juillet 2010 ont été publiés les résultats des thérapies géniques réalisées entre 1999 et 2002 par les Professeurs Alain Fischer et Marina Cavazzana-Calvo sur 9 jeunes patients atteints d'un déficit immunitaire sévère lié à l'X (SCID-X1) et âgés de 1 à 11 mois. Après presque 10 ans, on constate que sur les 8 enfants ayant survécu, 7 ont désormais une vie sensiblement normale, leur immunodéficience ayant été corrigée. Alain Fischer et Marina Cavazzana-Calvo avait tenté ce traitement pour la première fois en France à l'hôpital Necker-Enfants malades "en l'absence de traitement par transplantation de cellules souches hématopoïétiques HLA compatibles".

Stem-Cell Gene Therapy for the Wiskott–Aldrich Syndrome

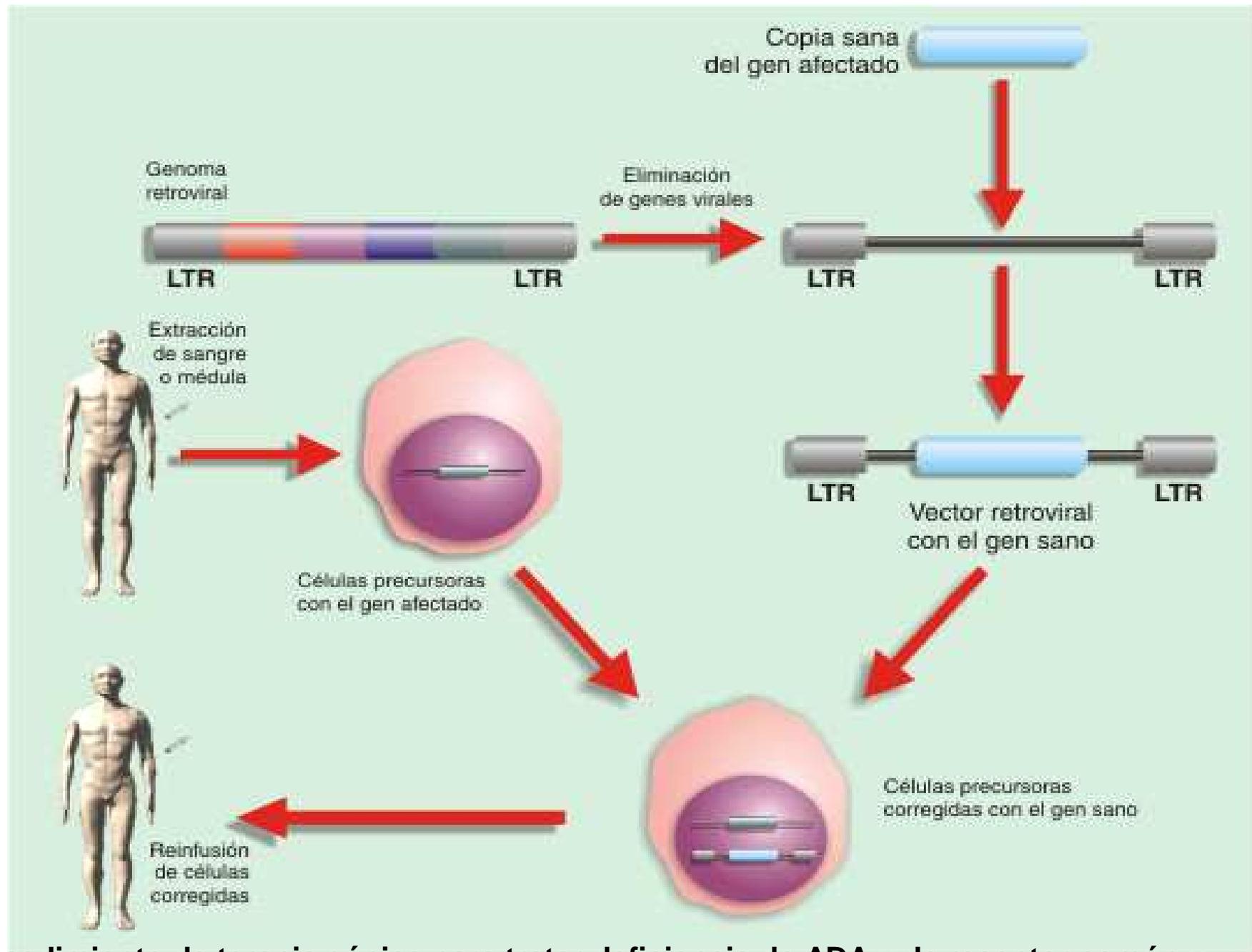
Christoph Klein, M.D., Ph.D et al..

From the Department of Pediatric Hematology–Oncology and the Institute for Transfusion Medicine (R.B.), Hannover Medical School, Hannover; the National Center for Tumor Diseases and German Cancer Research Center, Heidelberg-Germany; N Engl J Med 2010;363:1918-27. Copyright © 2010 Massachusetts Medical Society.

Summary

The Wiskott–Aldrich syndrome (WAS) is an X-linked recessive primary immunodeficiency disorder associated with thrombocytopenia, eczema, and autoimmunity.

We treated two patients who had this disorder with a transfusion of autologous, genetically modified hematopoietic stem cells (HSC). We found sustained expression of WAS protein expression in HSC, lymphoid and myeloid cells, and platelets after gene therapy. T and B cells, natural killer (NK) cells, and monocytes were functionally corrected. After treatment, the patients' clinical condition markedly improved, with resolution of hemorrhagic diathesis, eczema, autoimmunity, and predisposition to severe infection. Comprehensive insertion-site analysis showed vector integration that targeted multiple genes controlling growth and immunologic responses in a persistently polyclonal hematopoiesis.

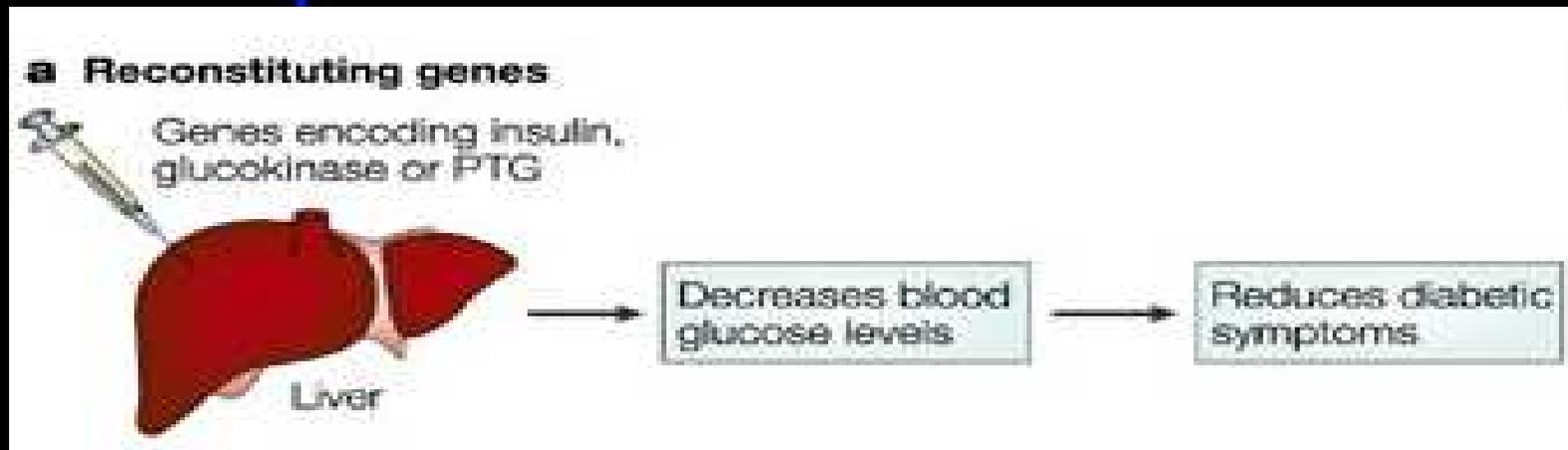


Procedimiento de terapia génica para tratar deficiencia de ADA y de receptor común γ .
 LTR: long terminal repeat: ,secuencia que permite la inserción del retrovirus en el genoma del huésped y su transcripción.

HIV GENE THERAPY TRIALS

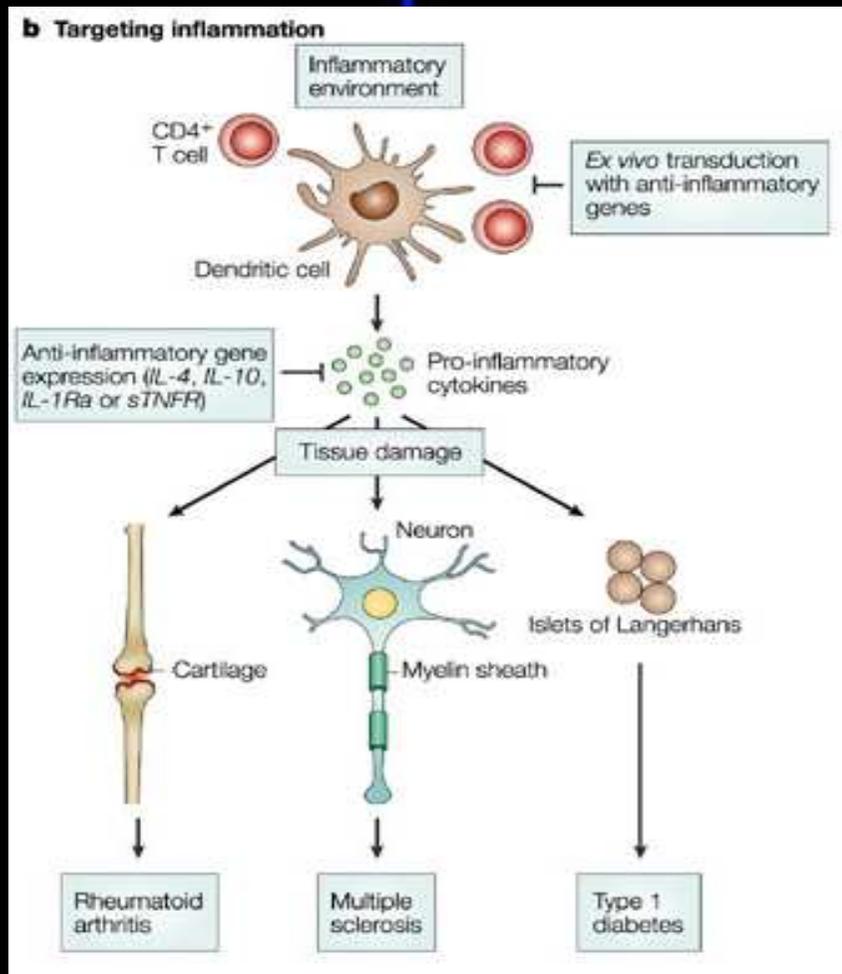
Investigators	Sponsors	Vector	Transduced Genes Encode	Protocol	Development Stage
Jerome Zack and Ronald Mitsuyasu, UCLA	Johnson & Johnson Research, Sydney, Australia, NIH	Moloney murine leukemia virus	Ribozyme that targets HIV <i>tat</i>	CD34 ⁺ cells, no conditioning	74 patients in randomized, controlled phase II trial. Results expected early 2008
Carl June, University of Pennsylvania	VIRxSYS, Gaithersburg, Maryland, NIH	Modified HIV	Antisense that targets HIV <i>env</i>	CD4 ⁺ cells, no conditioning	Two studies with 65 patients. First results expected in fall
Carl June	Sangamo BioSciences, Richmond, California, NIH	Adenovirus	Zinc finger nucleases that target CCR5	CD4 ⁺ cells, no conditioning	12 patients, expected to start later this year
Donald Kohn, Children's Hospital Los Angeles	NIH	Modified HIV	RevM10 that overrides HIV <i>rev</i>	CD34 ⁺ cells, partial ablation with busulfan	12 patients failing therapy expected to start in early 2008
John Rossi and John Zaia, City of Hope, Duarte, California	NIH	Modified HIV	Short RNA against HIV <i>rev</i> and <i>tat</i> , ribozyme against CCR5, and TAR decoy against HIV <i>tat</i>	CD34 ⁺ cells, myeloablation	5 patients with AIDS lymphoma, enrolling
Dorothee von Laer, Georg-Speyer-Haus, Frankfurt, Germany	Fresenius Biotech, Vision7 GmbH, EU	Moloney murine leukemia virus	Peptide that disrupts HIV's gp41	CD34 ⁺ cells, partial ablation with chemotherapy	5 patients with AIDS lymphoma, start later this year
David Baltimore and Pamela Björkman, Caltech, Pasadena	Bill and Melinda Gates Foundation	Modified HIV	Lab-designed anti-HIV antibody	CD34 ⁺ cells	Mouse studies
Irvin Chen, UCLA	NIH	Modified HIV	Short interfering RNA that targets CCR5	CD34 ⁺ cells	Monkey studies

Molecular targets in autoimmune diseases.



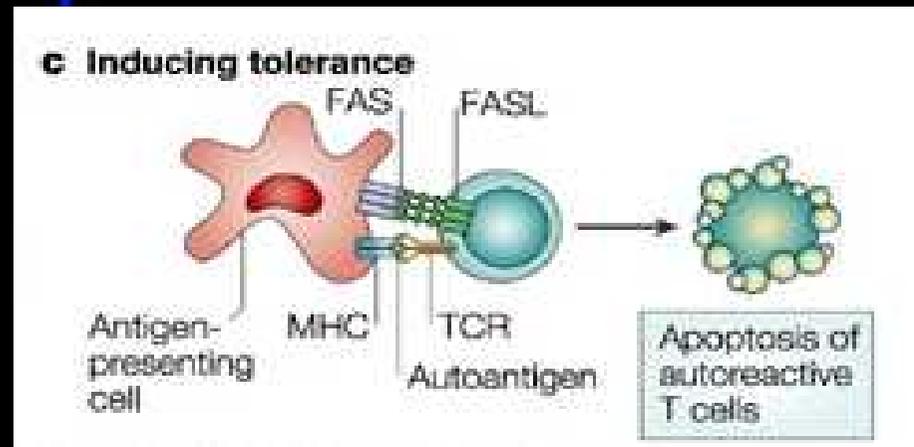
- **a | Reconstituting genes.** This approach is characteristic for type 1 diabetes and is based on the direct injection of insulin or the engineering of insulin expression by the liver, which is aided by providing glucose-regulating genes. PTG, protein targeting to glycogen.

Molecular targets in autoimmune diseases.



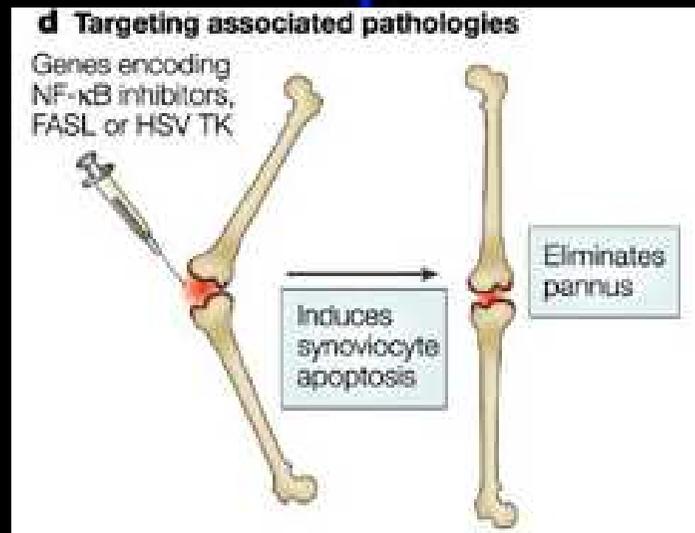
b | Targeting inflammation. Most autoimmune diseases are characterized by a T helper 1 (TH1)-cell-type autoreactive inflammatory response. This can be counteracted by the expression of genes that provide an anti-inflammatory milieu, such as interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist (IL-1Ra), IL-4, IL-10, soluble tumour-necrosis-factor receptor (sTNFR) and others that can induce a TH2-type regulatory immune response. The therapeutic genes can be delivered in vivo or ex vivo through antigen-specific T cells or dendritic cells (DCs).

Molecular targets in autoimmune diseases.



- **c | Inducing tolerance.** The elimination of autoreactive T cells can be achieved by expressing autoantigenic peptides that associate with MHC molecules of DCs in a TH2-type environment, by vaccination against genes that encode the chains of the specific T-cell receptor (TCR) or by inhibition of the interaction between antigen-presenting cells and T cells. The example shown involves the expression of FAS ligand (FASL; also known as CD95L) or TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) by DCs, which induces the apoptosis of autoreactive T cells.

Molecular targets in autoimmune diseases.



d | Targeting associated pathologies. The reduction of pannus growth in arthritis, mediated by apoptosis of synoviocytes, can be induced by direct injection into the joint of genes encoding nuclear factor-B (NF-B) inhibitors, FASL or suicide proteins such as herpes simplex virus (HSV) thymidine kinase (TK).

La rápida aparición de las herramientas de la genómica ya han comenzado a cambiar la práctica de la medicina.

La era genómica puede decirse que tiene una fecha exacta de nacimiento, fue el 14 de abril de 2003.

Fue entonces cuando el esfuerzo internacional conocido como el Proyecto Genoma Humano pone un cierre a la era pre-genómica con su anuncio que se había alcanzado el último de los objetivos originales del proyecto, la secuenciación completa del genoma humano.

Muchos de estos avances ya han ocurrido. Ejemplos de ello son: el uso de la genómica para **la rápida identificación de patógenos recientemente descubiertos**, **el uso del perfil de expresión génica para evaluar el pronóstico y guiar la terapéutica.**

El uso del genotipado para estratificar a los pacientes de acuerdo al **riesgo de la enfermedad** o a la **respuesta a ciertas drogas**, el uso de enfoques genómicos en el **diseño e implementación de nuevas estrategias terapéuticas** así como mejorar nuestra **comprensión del rol de genes específicos en el origen de enfermedades comunes.**

Una importante cuestión social es el desafío de aprovechar esta oportunidad sin precedentes para que la medicina genómica beneficie a todos.

Reconociendo estos retos, esperamos con curiosidad y esperanza real a los avances de los próximos 50 años, *los primeros 50 años de la era genómica.*

Como lo demuestra la medicina genómica hoy, médicos e investigadores ya han comenzado a utilizar el poder de la genómica para mejorar la salud, y anticipamos que este es sólo una sugerencia de los avances que vienen.

Welcome to the Genomic Era

Alan E. Guttmacher, M.D., and Francis S. Collins, M.D., Ph.D.

The New England Journal of Medicine- Volume 349:996-998 September 4, 2003 Number 10.

A quien dedica su vida a la ciencia nada puede dar más felicidad que aumentar el número de descubrimientos, pero su alegría es completa cuando los resultados de sus estudios inmediatamente encuentran aplicaciones prácticas.

Louis Pasteur.