

Mutación de novo en el gen BTK en agammaglobulinemia ligada a X. Reporte de un caso del estado Mérida, Venezuela

(De novo mutation in BTK gene in X-linked agammaglobulinaemia. A case report in Mérida, Venezuela)

Liliana Aboultaif Aboultaif¹, Lubna Nasr El Nimer¹, Maritza Navas², Lerida Borges², José Angel Cova², Silvia Danelian³, Morella Bouchard² ✉

¹ Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. ² Instituto de Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. ³ Servicio de Inmunología, Hospital de Pediatría Dr. "Juan P. Garrahan", Buenos Aires, Argentina

[CASO CLÍNICO]

Recibido: 11 de Abril de 2013. Aceptado: 1 de Agosto de 2013.

Resumen

Las inmunodeficiencias primarias (IDPs) son un conjunto de enfermedades caracterizadas por defectos en el desarrollo y/o función del sistema inmune debido a anomalías genéticas en cualquiera de sus componentes. Las deficiencias de anticuerpos son las IDPs más comunes y dentro de estas la agammaglobulinemia congénita representa el 10%, siendo un 85% ligada al cromosoma X, existiendo también formas autosómicas recesivas. La agammaglobulinemia ligada a X (ALX) consiste en la ausencia casi absoluta de linfocitos B, ocasionando incapacidad de sintetizar anticuerpos y una alta susceptibilidad a la adquisición de infecciones, con respuesta a vacunas disminuida o ausente. Se presenta el caso de un escolar masculino de 8 años de edad quien desde los 5 meses presentó infecciones a repetición principalmente por bacterias extracelulares encapsuladas. Estudios paraclínicos revelaron hipogammaglobulinemia persistente con subpoblación de linfocitos B muy disminuida y conservación de linfocitos T en sangre periférica. El estudio molecular reportó la mutación R525X en el exón 16 del gen TirosinKinasa de Bruton (BTK) en el paciente y su madre, más no en la abuela, lo que confirmó el diagnóstico de ALX y permitió concluir que se trataba de una mutación de novo en la madre. Actualmente recibe tratamiento con Inmunoglobulina por vía endovenosa, disminuyendo la frecuencia y severidad de episodios infecciosos. El diagnóstico precoz a través del reconocimiento de las señales de alarma de las IDPs, junto al tratamiento adecuado y vigilancia constante constituyen la mejor herramienta para el adecuado manejo de los pacientes con IDPs, logrando una disminución de los procesos infecciosos e inflamatorios y sus secuelas, así como también mejorar la calidad de vida y supervivencia.

Palabras clave

Inmunodeficiencia humoral, ALX, Tirosin-Kinasa de Bruton, Inmunoglobulinas.

Abstract

The Primary Immunodeficiencies (PIDs) are a group of diseases characterized by defects in the development or function of the immune system due to genetic abnormalities in any of its components. Humoral immunodeficiencies are the most common PIDs and the congenital agammaglobulinemia represents 10%, and 85% linked to the X chromosome. Also there exist autosomal recessive forms. X-Linked agammaglobulinemia (XLA) is characterized by almost a total absence of B-lymphocytes, causing inability to produce antibodies and a high susceptibility to infection and diminished or absent response to vaccine. We reported an 8 year-old male child who presented repeatedly infection by extracellular encapsulated bacteria since 5 months of life. The laboratory studies revealed persistent hipogammaglobulinemia with diminished B-lymphocytes subpopulation and normal T-lymphocytes cell in peripheral blood. The molecular study showed a mutation R525X in the 16-exon of Bruton's tyrosine kinase (BTK) gene in both child and mother, but not in grandmother, thus confirming the XLA diagnostic and allowing to conclude that a de novo mutation had occurred in mother. Actually, the patient receives intravenous immunoglobulin treatment and the infections have diminished in both frequency and severity. Early diagnostic through recognition of the warning signs of PIDs next to the appropriate treatment and monitoring is the best tool for the proper management of patients with PIDs, achieving a reduction of that inflammatory process, infections and damage as well as a better quality of life and survival.

Keywords

Humoral Immunodeficiency, XLA, Bruton's Tyrosin-Kinase, Immunoglobulins.

Introducción

Las inmunodeficiencias primarias (IDPs) son un conjunto de enfermedades caracterizadas por defectos en el desarrollo y/o función del sistema inmune debido a una o varias anomalías genéticas en cualquiera de sus componentes como células fagocíticas, células T, células B, y proteínas del complemento.

Estos trastornos son principalmente hereditarios pero pueden surgir como mutaciones de novo que luego se heredan. En su mayoría se detectan en edades pediátricas y su prevalencia varía de acuerdo a la IDP que se considere, siendo de 1:500 para el déficit de IgA, la más común aunque generalmente asintomática, o de 1:100.000 para la inmunodeficiencia combinada severa, síndromes de disregulación inmune y déficits de complemento, menos frecuentes pero de mayor severidad (1, 2).

Las deficiencias de anticuerpos son las IDPs más comunes. Existen varios tipos de enfermedades de severidad variable, siendo las infecciones recurrentes la manifestación clínica principal. En este grupo se describen el déficit selectivo de IgA, la hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia, la agammaglobulinemia congénita, los defectos en la recombinación de cambio de clase (síndromes de hiper-IgM), la inmunodeficiencia variable común, el déficit de subclases de IgG y el déficit de anticuerpos específicos (3).

La agammaglobulinemia congénita se caracteriza por la ausencia casi absoluta de linfocitos B, lo que determina la incapacidad de sintetizar anticuerpos, generando una susceptibilidad aumentada a la adquisición de infecciones bacterianas y virales, con respuesta a vacunas disminuida o ausente.

Es transmitida por un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X, por lo que los varones son los afectados y las madres son las portadoras. Sin embargo, sólo el 50% de los pacientes con cuadro clínico tienen antecedentes familiares del fenotipo clínico, ya que el trastorno genético se mantiene en la población por nuevas mutaciones (de novo) en el gen BTK (4).

Se presenta el caso de un niño diagnosticado a los 7 meses con agammaglobulinemia donde el estudio genético familiar demostró la presencia de una mutación de novo.

Caso clínico

Escolar masculino de 8 años, quien a los 5 meses de edad presentó otitis media y episodios de diarreas acompañadas de fiebre. A los 6 meses fue hospitalizado durante 9 días, por una infección del sistema nervioso central (meningitis) y bronconeumonía, que mejoraron hasta su resolución con antibioticoterapia. A los 7 meses de edad el paciente fue evaluado en nuestra institución encontrándose: linfocitosis en la cuenta y fórmula diferencial blanca (64,5%), anemia leve y una hipogammaglobulinemia persistente, por lo que se establece el diagnóstico de Inmunodeficiencia Primaria de tipo Humoral (tabla 1). Así mismo se realizó subpoblación linfocitaria evidenciándose en el paciente una marcada disminución de linfocitos B CD19+ (8,24% versus 0,58%) cuando se comparó con un sujeto sano de la misma edad. La subpoblación de células TCD3+ mostró valores normales en número pero con una inversión de la relación CD4/CD8 de 0,71.

A los 8 meses, posterior a traumatismo craneal, presenta hematoma subgaleal en región temporo-parietal izquierda que luego de varios días se infecta y amerita nueva hospitalización para recibir antibióticos y drenaje del hematoma. El paciente permanece asintomático y no vuelve al control hasta los 14 meses de edad cuando presenta nuevamente una infección respiratoria baja, requiriendo otra hospitalización y el uso de antibióticos. Desde esta última hospitalización el paciente presenta amigdalitis frecuentes y síndromes gripales sin complicaciones. Reingresa a la consulta y se inicia tratamiento con Inmunoglobulinas (Igs) por vía endovenosa (vev). Se le ha realizado seguimiento por 7 años y actualmente recibe cada 21 días Igs vev a dosis de 400 mg/Kg y antibioticoterapia profiláctica, disminuyendo la frecuencia y severidad de sus episodios infecciosos, caracterizados principalmente por bronquitis, en número de 3 por año y diarrea causada por *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*.

Para confirmar el diagnóstico de Agammaglobulinemia ligada a X se realizó el estudio molecular para la búsqueda de mutaciones en el niño, la madre y la abuela. El análisis de las mutaciones en el gen BTK fue realizado en el ADN genómico identificando los patrones de migración anormal de los productos amplificados por PCR-SSCP (Polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism), utilizando oligonucleótidos que

flanquean cada uno de los 19 exones, incluyendo los sitios de empalme.

que se trataba de una mutación de novo en la madre (Figura 1).

Tabla 1. Resultados de exámenes de laboratorio al momento del diagnóstico.

Exámenes	Resultados	Valores normales
Laboratorio general	Al 10/05/2005	
Glóbulos blancos	10.200 células/ μ L	5.000-10.000 células/ μ L
Segmentados	29,8%	
Linfocitos	64,5%	
Monocitos	5,7%	
Hemoglobina	10.5 g/dL	12 – 16 g/dL
Plaquetas	292.000 células/ μ L	150.000-450.000 células/ μ L
Inmunoglobulinas (mg/dL)	PRE tto lgs vev (10/05/2005)	VR según edad
IgG	< 230	220-900
IgA	0	4-90
IgM	<23	32-125
Inmunoglobulinas (mg/dL)	POST tto lgs vev (15/05/2005)	VR según edad
IgG	864	650-1600
IgA	49,4	35-200
IgM	21,5	45-200
Subpoblación linfocitaria	Células/mL (%)	Células/mL (%)
CD3+	3415 (93)	1700-3600 (58-67)
CD4+	1359 (37)	1700-2800 (38-50)
CD8+	1909 (52)	800-1200 (18-25)
CD19+	37 (1)	500-1500 (19-31)
Diagnóstico molecular		
Mutación en gen BTK	R525x	

Tto lgs vev: tratamiento de Inmunoglobulinas via endovenosa, VR: valores de referencia.

Se identificó un amplicon migrando diferente de los amplicones BTK “normales” el cual fue sometido a secuenciación utilizando terminadores de cadena estándar con el ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing system en el Secuenciador automático ABI 310, PE Applied Biosystems (5). Se identificó la mutación R525X en el exón 16 en el paciente y su madre, más no en la abuela, por lo cual se concluyó

Discusión

Las agammaglobulinemias constituyen el 10% de las IDPs, estando representada un 85 % por la agammaglobulinemia ligada a X (ALX) (6). Ésta consiste en un defecto localizado en el brazo largo del

cromosoma X, producto de una mutación de la Tirosina Kinasa de Bruton (BTK).

de los valores protectores, como en el caso descrito en este artículo. Entre las infecciones más frecuentes se

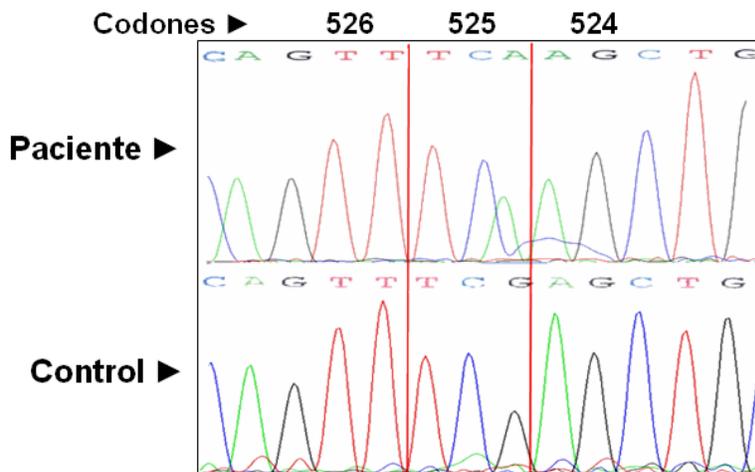


Figura 1. Electroferograma parcial correspondiente a la secuenciación reversa del exón 16 de BTK. En la parte superior se observa la imagen del paciente y en la parte inferior la de un control. Las líneas rojas verticales delimitan el codón 525 en el cual se encuentra la sustitución puntual 1573C>T, que se traduce como CGA(R)525TGA(X).

La proteína BTK forma parte de una familia de proteínas tirosina kinasa citoplasmáticas, que cumplen el rol de transductores de señalización intracelular permitiendo el adecuado funcionamiento del receptor de células B (BCR) (6). Al existir mutación en el gen que codifica para la proteína se produce un bloqueo temprano en el desarrollo de las células B en médula ósea, lo que determina su ausencia en sangre periférica y tejidos linfoides (7). Aproximadamente en un tercio de los pacientes estas mutaciones son de nueva aparición (de novo) (8). Han sido identificadas 450 mutaciones BTK diferentes y en el caso de la R525X, descrita en nuestro paciente, han sido reportados 6 casos (<http://bioinf.uta.fi/BTKbase/>), la misma corresponde a una mutación sin sentido en el exón 16 que conduce a un codón de finalización en el dominio TK (tirosinkinasa).

En esta enfermedad la subpoblación de células T y pro B están conservadas, con ausencia de células B maduras y de anticuerpos, lo que la cataloga como una inmunodeficiencia humoral, condicionando una alta susceptibilidad a la aparición de enfermedades producidas por patógenos extracelulares encapsulados y predisposición a enfermedades autoinmunes y linfomas (9).

Las manifestaciones clínicas aparecen por lo general después de los 6 meses de edad cuando el aporte de anticuerpos maternos adquiridos in útero y a través de la lactancia materna declinan por debajo

encuentran las que involucran vías respiratorias altas y bajas, que pueden conducir a bronquiectasias. Otras menos comunes son la conjuntivitis, gastroenteritis, artritis, meningitis, encefalitis, osteomielitis, septicemia, infecciones por hongos y tuberculosis (1, 7, 9, 10).

El diagnóstico se establece mediante las manifestaciones clínicas del paciente, el examen físico que evidencia disminución del tamaño de nódulos linfáticos cervicales, amígdalas palatinas, bazo y retardo en el crecimiento (7), estudios paraclínicos como la cuantificación de los isotipos de inmunoglobulinas, las cuales van a estar marcadamente disminuidas especialmente la IgG, con una respuesta notablemente deprimida de anticuerpos ante diferentes tipos de antígenos. Otra prueba que orienta hacia el diagnóstico es la existencia de una subpoblación de linfocitos B ausentes o muy disminuidos, con celularidad T conservada. El diagnóstico certero se realiza con el análisis genético en donde se determina una alteración en la Tirosina kinasa de Bruton (7, 9, 10). Todos estos criterios diagnósticos fueron completados en el caso descrito en este artículo.

Se debe realizar diagnóstico diferencial con patologías más frecuentes como la hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia que es una enfermedad común y benigna, que se presenta hacia el cuarto o quinto mes de vida debido a una disminución en la concentración de IgG sérica que

puede persistir hasta los 18 a 24 meses, por lo que es de carácter transitorio, en ella esta conservada la subpoblación de linfocitos B circulantes con adecuada respuesta de anticuerpos específicos ante antígenos proteicos. Otro diagnóstico diferencial es la inmunodeficiencia variable común donde hay hipogammaglobulinemia de 2 isotipos con celularidad T conservada. La inmunodeficiencia con hiper-IgM es otra inmunodeficiencia humoral que presenta la misma clínica con disminución de los niveles sérico de IgG, IgA e IgE con la diferencia de que la IgM se encontrará elevada y la celularidad B esta conservada. Existen otras enfermedades que es importante tenerlas presentes al momento de realizar el diagnóstico diferencial como el síndrome linfoproliferativo ligado al X, entre otras (2, 9, 11).

El tratamiento consiste en el remplazo de Igs que reduce la frecuencia de aparición de enfermedades infecciosas principalmente neumonías, teniendo siempre presente la importancia del uso de antibioticoterapia potente en el tratamiento de

infecciones bacterianas. Los avances en la biología molecular y la genética, aunado al descubrimiento de la alteración genética que causa la ALX colocan a la terapia génica como una alternativa de tratamiento a futuro (2, 7, 9, 10).

Por último se debe destacar la importancia del diagnóstico precoz de las IDPs ya que el diagnóstico y tratamiento correctos conducen a una disminución de las infecciones y secuelas, un control de las manifestaciones inflamatorias y una mejor calidad de vida. El primer paso para el diagnóstico es la sospecha clínica y en este orden de ideas se han identificado diversas señales llamadas de alarma que alertan al médico de la existencia de esta patología como lo son: 4 o más infecciones de oído por año, 2 o más neumonías en un año, infecciones recurrentes en piel, abscesos profundos, aftas persistentes en boca, infecciones profundas a repetición, talla y peso bajos, necesidad de antibioticoterapia profiláctica y antecedentes familiares de inmunodeficiencias primarias (3, 12, 13).

Referencias

1. Pessach IM, Notarangelo LD. Gene therapy for primary immunodeficiencies: looking ahead, toward gene correction. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127: 1344-50. [PubMed] [Google Scholar]
2. de Vries E, Driessen G. Educational paper: Primary immunodeficiencies in children: a diagnostic challenge. *Eur J Pediatr.* 2011; 170: 169-77. [PubMed] [Google Scholar]
3. Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chapel H, Conley ME, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Fischer A, Franco JL, Geha RS, Hammarström L, Nonoyama S, Notarangelo LD, Ochs HD, Puck JM, Roifman CM, Seger R, Tang ML. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency. *Front Immunol.* 2011; 2: 54. [PubMed] [Google Scholar]
4. Conley ME, Dobbs AK, Farmer DM, Kilic S, Paris K, Grigoriadou S, Coustan-Smith E, Howard V, Campana D. Primary B cell immunodeficiencies: comparisons and contrasts. *Annu Rev Immunol.* 2009; 27: 199-227. [PubMed] [Google Scholar]
5. Danielian S, El-Hakeh J, Basílico G, Oleastro M, Rosenzweig S, Feldman G, Berozdnic L, Galicchio M, Gallardo A, Giraudi V, Liberatore D, Rivas EM, Zelazko M. Bruton tyrosine kinase gene mutations in Argentina. *Hum Mutat.* 2003; 21:451. [PubMed] [Google Scholar]
6. Arnaldez F, Danelian S, Bezrodnic L.. Diagnóstico y portación de agammaglobulinemia ligada al cromosoma X en una familia. *Arch Argent Pediatr.* 2006; 104: 39-43. [Google Scholar]
7. Moise A, Nedelcu FD, Toader MA, Sora SM, Tica A, Ferastraoaru DE, Constantinescu I. Primary immunodeficiencies of the B lymphocyte. *J Med Life.* 2010; 3: 60-3. [PubMed] [Google Scholar]
8. Havlicekova Z, Jesenak M, Freiburger T, Banovcin P. X-linked agammaglobulinemia caused by new mutation in BTK gene: A case report. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2013; doi: 10.5507/bp.2013.011. [PubMed] [Google Scholar]
9. Fernandez D, Juri MC, Paolini MV, Malbran A. Inmunodeficiencias humorales un estudio en tres centros de inmunología clínica de adultos en la ciudad de buenos aires. *Medicina.* 2011; 71: 350-56 [Google Scholar]
10. Ballou M. Primary immunodeficiency disorders: antibody deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 109: 581-91. [PubMed] [Google Scholar]
11. Driessen G, van der Burg M. Educational paper: primary antibody deficiencies. *Eur J Pediatr.* 2011; 170: 693-702. [PubMed] [Google Scholar]
12. Román MG, Yamazaki MA, Blancas L. Evolución satisfactoria de un paciente diagnosticado en la infancia con enfermedad de Bruton. *Rev Alergia Méx.* 2010; 57: 164-70 [Google Scholar]
13. Arkwright PD, Gennery AR. Ten warning signs of primary immunodeficiency: a new paradigm is needed for the 21st century. *Ann N Y Acad Sci.* 2011; 1238: 7-14. [PubMed] [Google Scholar]

Como citar este artículo: Aboultaif Aboultaif L, Nasr El Nimer L, Navas M, Borges L, Cova JA, Danelian S, Bouchard M. Mutación de novo en el gen BTK en agammaglobulinemia ligada a X. Reporte de un caso del estado Mérida, Venezuela. *Avan Biomed.* 2013; 2: 162-6