ÁREA DE SUBMISSÃO: BIOLOGIA MOLECULAR – BM10

PROSPECÇÃO DO ALELO HLA-B57*01 EM POPULAÇÃO DE PACIENTES HIV-POSITIVOS E O MANEJO DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

E. A. SILVA¹, R. CELERINO² e L. BRANDÃO³

¹ Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Acadêmico de Medicina

² Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Genética

³ Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Patologia

E-mail para contato: eden_artur30@hotmail.com

RESUMO – *A O sucesso da terapia antirretroviral está atrelada a fatores que vão desde variantes farmacológicas como sociais e psicológicas. Uma terapia antirretroviral eficiente conta não só como exames com carga viral indetectável mas com bem estar do paciente, mínimos efeitos colaterais e adesão completa. Uma das medicações utilizadas no TARV é o Abacavir (ABC) que conta com potente ação antirretroviral e efeitos colaterais mínimos, no entanto, pode desencadear uma temível reação de hipersensibilidade que limita seu uso. Tal reação está diretamente ligada a um polimorfismo no complexo gênico do HLA: HLA-B57*01. Através de PCR convencional primer específico é possível determinar a presença deste gene em uma população de pacientes HIV-positivos e estimar a frequência do mesmo podendo-se ter uma ideia do quão significativa a reação de hipersensibilidade é. Em nossa amostra apenas 1% mostrou-se positiva para o gene HLA-B57*01 mostrando uma baixíssima frequência e, possivelmente, uma baixa frequência de reação de hipersensibilidade possibilitando um melhor manejo no uso da droga no esquema antirretroviral e obtenção de melhores resultados tanto no bem estar do paciente como na efetividade contra o HIV.*

Palavras chave: HIV. HLA. Farmacogenética. Polimorfismo.

ABSTRACT – *The success of antirretroviral therapy (TARV) is linked to pharmacology, social and psychological aspects. An efficient TARV brings not only undetectable viral loads as also well-being, low side effects and complete adherence. One of the medications used in the TARV is Abacavir (ABC) which counts with powerful antirretroviral action and low side effects but it can trigger a hypersensitivity reaction that limits its use. This reaction is directly linked with a polymorphism of HLA complex, the HLA-B57*01. Using PCR allele specific method to determinate the frequency of this polymorphism in a population of HIV-positive patients, we can estimate how important the hypersensitivity is in this population. We found out that this allele has a very low frequency in these patients*

and consequently, a very low frequency of hypersensitivity reaction. This information makes a reflection about the possible safe use of ABC in the early treatment of HIV patients.

Keywords: HIV. HLA. Pharmacogenetics. Polymorphism.

1. INTRODUÇÃO

Desde a descoberta de genes relacionados a histocompatibilidade e mecanismos de resposta imunológica em ratos por volta dos anos quarenta que se tem questionado sobre o papel da interação de fatores genéticos na gênese de processos imunomediados tais como doenças autoimunes, reações alérgicas e transplantes de tecidos e órgãos. Devido ao complexo gênico do sistema de histocompatibilidade humano (MHC – em humanos conhecido como HLA) ser o locus gênico de maior polimorfismo do genoma foi possível entender a gênese de diversos processos patológicos através da presença seja de alelos específicos como também de haplótipos de risco em tal locus. (ABBAS, 2008)

O entendimento e prospecção destes alelos em pacientes portadores de doenças autoimunes ou demais reações de cunho imunológico, em geral, pode dar informações preciosas sobre a etiologia, prognóstico e tratamento oferecendo melhor controle e eficiência no manejo de diversas patologias associadas a polimorfismos genéticos específicos no sistema HLA. Tais estudos vêm sendo aplicados em diversas entidades nosológicas desde o diabetes mellitus, doença de Graves, síndrome poliglandular autoimune e insuficiência ovariana aguda até reações imunológicas ao uso de diversos tipos de medicamentos como Fludoxacilina, carbamazepina, aspirina e medicações utilizadas na terapia antirretroviral. (FERNANDES, 2003)

Além disso, a presença de determinados alelos pode relacionar-se a maior ou menor predisposição a diversas doenças, não apenas de cunho autoimune, como resistência e susceptibilidade a infecções e progressão destas. Particularmente, este estudo torna-se mais interessante com a descoberta de mecanismos de maior resistência a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou menor progressão para a AIDS em HIV-positivos por melhor controle de carga viral e contagem de linfócitos T CD4+. Um dos genes eleitos e que tem apresentado ricos resultados na literatura é o polimorfismo do locus B do sistema HLA: HLA-B57*01. Este codifica uma molécula de histocompatibilidade de classe I responsável pela interação com linfócitos TCD8+ importantes na resposta contra vírus. Tal alelo parece estar associado a não supressão deste tipo celular pelo sistema T regulador (Treg), aumento da contagem das células de manutenção do sistema imunológico e maior sobrevivência dos pacientes infectados com o HIV sob terapia antirretroviral (TARV). (PIRMOHAMED, 2004)

Além destes efeitos sobre a dinâmica da infecção pelo HIV, a presença do alelo HLA-B57*01 é diretamente relacionado a reação de hipersensibilidade a um dos medicamentos utilizados no manejo destes pacientes, o Abacavir (ABC). Entretanto, o ABC raramente leva a tal reação de hipersensibilidade caracterizada por febre, rash cutâneo, sintomas gastrointestinais e respiratórios depois de 7-8 dias do uso do medicamento. Tal reação, histologicamente, é caracterizada por infiltração de linfócitos TCD8+ no interstício levando a lesão tecidual de caráter progressivo que se não diagnosticado pode levar ao óbito. Este padrão de resposta tem sido associado a presença deste alelo, visto que 80-90% dos pacientes afetados apresentam o alelo HLA-B57*01.

O estudo da frequência populacional deste polimorfismo traz importantes dados sobre o possível manejo da terapia antirretroviral em população de HIV-positivos além de ser um método de escolha na testagem de pacientes trazendo resultados rápidos e confiáveis quanto ao genótipo do paciente levando a maior segurança no tratamento destes pacientes. O tratamento de pacientes infectados pelo HIV de forma individualizada oferece melhores resultados tanto de adesão quanto de bem-estar, devendo oferecer o mínimo de efeitos colaterais possíveis, segurança e combate ao vírus de forma eficiente e duradoura que, somada a disciplina do paciente, resulta em cargas virais indetectáveis e menor emergência de resistência viral.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A genotipagem do HLA-B57*01 foi feita através de duas reações acopladas de PCR alelo específicas (SSP-PCR/ nested PCR). Primeiramente, fez-se a genotipagem para o alelo HLA-B57 através de uma reação de PCR alelo específica. Aqueles que amplificavam o gene passaram por uma nova reação de PCR para discriminação do alelo HLA-B57*01. (Cascella, 2014)

Os produtos de PCR foram discriminados através de eletroforese em gel de agarose 2,5% constando dos fragmentos de 262 pares de base para o HLA-B57 e de 98 pares de base para o HLAB-57*01. Utilizou-se a voltagem de 120V durante 40 minutos e ladder de 100pb. A reação foi calculada para volume final de 25microlitros e utilizou-se como controle de positividade da reação os primers para amplificação do HLA-G.

Analizou-se um total de 316 pacientes HIV-positivos acompanhados pelo hospital IMIP- Pernambuco e um total de 133 controles (não infectados pelo vírus).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise dos genótipos dos pacientes HIV positivos foi-se observando a presença de apenas 3 pacientes HLA-B57*01 positivos (3 pacientes B57 e estes três também eram HLA-B57*01 positivos) revelando uma frequência inferior a 1% do total de pacientes mostrando-se bastante reduzida. Tal informação nos leva a questionar se o tratamento inicial com o ABC não favoreceria uma melhor adesão ao tratamento devido a menores efeitos colaterais e da alta eficiência antirretroviral promovida pelo mesmo que ainda conta com ação contra o HIV no sistema nervoso central (podendo ser local de reserva do vírus além dos mecanismos citopáticos promovidos pelo mesmo nas células aí localizadas). Como a reação de hipersensibilidade está diretamente relacionado a presença deste alelo é de se esperar que, com base na população estudada, o tratamento com abacavir oferecia pouco risco de hipersensibilidade promovendo o controle de carga viral esperado para a classe de medicamento a qual pertence. O screening gênico para o alelo em questão torna-se ideal para o correto enquadramento de pacientes em classe de risco pois, mesmo que muito baixa, a frequência ainda existe. Tais pacientes apresentavam, através de consulta aos prontuários, uma ótima evolução do tratamento, não sendo observado reações adversas significativas, controle de carga viral adequada e nenhum sinal do desenvolvimento da AIDS.

Dos pacientes controles, também 4 mostraram-se positivos para o alelo HLA-B57*01 mostrando uma frequência praticamente duplicada em relação a população anterior (em torno de 2,25%) questionando se o alelo teria alguma influência na resistência a infecção pelo HIV devido a sua maior quantidade em pacientes saudáveis.

As figuras poderão ser coloridas e deverão ser inseridas no corpo do trabalho, tão próximas.

4. CONCLUSÃO

Observando-se os valores das frequências gênicas do alelo B57*01 em pacientes HIV-positivos é notável que torna-se questionável se o possível uso do abacavir como, no mínimo, segunda opção de esquema não poderia ser utilizada. A efetividade e segurança do Abacavir falam a favor de uma possível favorável opção terapêutica que, se aliada a um acompanhamento clínico efetivo e cuidadoso pode afastar possíveis reações indesejadas medicamentosas. Além disso, a maior frequência em pacientes controle sugere uma possível correlação com resistência a infecção sugerida pela literatura fortalecida pelo bom curso clínico dos pacientes positivos para o polimorfismo encontrados no estudo.

É necessário um estudo com maior número tanto de pacientes HIV-positivos quanto pacientes saudáveis para um total entendimento da frequência gênica do alelo em questão além de uma amostra menos homogênea da utilizada para os experimentos.

5. REFERÊNCIAS

- 1- E. Hammond, C. Mamote, D. Nolan and S. Mallal. **HLA-B*5701 typing:evaluation of na allele-specific polymerase melting assay**. School of biomedical sciences, Australia. Tissue antigens, 2007.
- 2- M. Moragas, W.H. Belloso, M.S. Baquedano, M.I. Gutierrez and E.Bissio. **Prevalence of HLA-B*57:01 allele in Argentinean HIV-1 infected patients**. Tissue antigens, 2014
- 3- Laura Stocchi, Raffaella Cascella, Stefania Zampatti, Antonella Prazzoli, Giuseppe Novelli and Emiliano Giardina. **The Pharmacogenomic HLA Biomarker Associated to adverse Abacavir Reactions: Comparative Analysis of Different Genotyping Methods**. Current Genomics, 2012.
- 4- MunirPirmohamed, David A. Ostrov and B. Kevin Park. **New genetic findings lead the way to a better understanding of fundamental mechanisms of drug hypersensitivity**. Liverpool, United Kingdom. Elsevier, 2015.
- 5- Ana Paula M. Fernandes, Léa Maria Z. Maciel, Milton Cêsar Foss, Eduardo Antônio Donaldi. **Como entender a associação entre o sistema HLA e as doenças auto-imunes endócrinas**. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, departamento de clínica médica, USP. 2003.
- 6- Maria Salgado,a,b Michael D. Swanson,c Christopher W. Pohlmeier,a Robert W. Buckheit III,a Jin Wu,d Nancie M. Archin **HLA-B_57 Elite Suppressor and Chronic Progressor HIV-1 Isolates Replicate Vigorously and Cause CD4_ T Cell Depletion in Humanized BLT Mice**. Journal of virology. 2014.

5. AGRADECIMENTOS

Agradecimento a CNPq pela fomentação da bolsa, ao laboratório de Imunopatologia Keizo Azami.