

Papel da Variação Imunogenética Humana na Determinação da Suscetibilidade e do Desfecho de Doenças Infecciosas

Malak Kotb

Cabe a mim a responsabilidade de lhes trazer uma visão geral da importância das variações genéticas na determinação da suscetibilidade do hospedeiro e dos desfechos das doenças infecciosas. Como a maioria de vocês bem sabe, os patógenos podem subitamente emergir ou reemergir, ganhando nova virulência, ou podem sofrer mutações que os tornam mais eficazes no processo de infecção, inibir ou exacerbar o nosso sistema imune e causar doença. Enquanto isso, o hospedeiro está constantemente tentando adaptar-se a estes patógenos em mutações, mas os microorganismos são muito melhores do que nós em termos de capacidade de mutação, adaptação e virulência. Assim, há uma interação dinâmica e constante entre o hospedeiro e o patógeno, e esta interação determina o desfecho da infecção. Manter um equilíbrio é saudável mas, algumas vezes, ocorre um desequilíbrio, permitindo que a doença se instale.

Então, o que determina o desfecho da infecção com relação à suscetibilidade do hospedeiro? Há fatores inespecíficos, como idade, sexo, saúde geral, condições pré-existentes do hospedeiro, ou sobreposição de uma infecção. Há também os fatores inerentes ao hospedeiro, dos quais os mais importantes são os fatores genéticos, particularmente aqueles que regulam a nossa resposta imune aos patógenos. As variações em certos fatores podem determinar se vamos montar uma resposta imune protetora, uma resposta ineficiente ou uma resposta imune aberrante que acaba por provocar uma patologia (como a auto-imunidade crônica ou uma patogenia aguda grave mediada pelo hospedeiro e doença sistêmica grave, por exemplo).

Quando falamos sobre genética, precisamos ter em mente que virtualmente todas as doenças humanas têm um componente genético. Algumas vezes este componente é determinante, como na fibrose cística, algumas vezes a doença é afetada por uma combinação de fatores ambientais e genéticos. Mas mesmo em doenças onde os fatores ambientais desempenham um importante papel, como na AIDS, verificamos que os fatores genéticos ainda contribuem de forma importante para a progressão da doença, resposta à terapia e desfecho geral.

Assim, com base nas nossas experiências clínicas, sabemos que em certas infecções encontramos certos indivíduos que são altamente predispostos e suscetíveis, outros que são totalmente resistentes e protegidos e, é claro, há aqueles que estão entre estes dois opostos. Acreditamos que seja importante estudar as diferenças na resposta imune de indivíduos suscetíveis e resistentes a

um patógeno específico, bem como determinar as diferenças genéticas que podem contribuir para desfechos da infecção acentuadamente diferentes. Esta informação nos dá algumas indicações sobre o mecanismo da doença e pode revelar a rede de vias interativas que modulam o desfecho da infecção. É importante ter a possibilidade de identificar aqueles que têm um alto risco de infecção e os que têm um baixo risco, especialmente quando estamos frente a patógenos emergentes e a possibilidade de bioterrorismo. Podemos desenvolver meios de alocar de forma mais eficiente os recursos limitados de que dispomos para os que mais precisam. Além disso, a informação sobre o mecanismo da doença permite determinar os alvos potenciais para um diagnóstico mais preciso e um tratamento melhor.

Quando falamos de fatores genéticos que afetam o desfecho de uma doença infecciosa, precisamos ter em mente que todas as doenças infecciosas têm um importante componente imunológico. Assim, ainda que muitos genes diferentes possam interagir para influenciar o desfecho, a variabilidade genética entre os indivíduos desempenha um papel muito importante nas doenças infecciosas.

Foi demonstrado que os fatores genéticos são variáveis e que podem influenciar as doenças infecciosas, incluindo a codificação do HLA (Antígeno Leucocitário Humano), citocinas, quimocinas, moléculas de aderência, receptores inatos de resposta imune, etc. As variações nos receptores *toll-like*, por exemplo, podem alterar a amplitude da sinalização para a célula e, portanto, a suscetibilidade à infecção. Algumas vezes, não é a variação nos receptores, mas nas moléculas adaptadoras que fazem a mediação de seus sinais ou que permitem que interajam com outras moléculas. Da mesma forma, o polimorfismo em membros das vias de sinalização podem ter um importante efeito sobre a qualidade da resposta imune aos patógenos. Em alguns casos, o mesmo polimorfismo que nos protege contra o patógeno A pode nos predispor ao patógeno B e vice-versa, etc.

Como as variações nos genes HLA desempenham um papel muito importante na regulação da resposta imune, vou usar algum tempo para discuti-los. Os principais genes HLA são os de classes I, II e III. As moléculas HLA de classe I fazem principalmente a apresentação de antígenos às células T CD8, as de classe II apresentam antígenos peptídicos processados às células T CD4. Ambos são importantes na seleção e configuração do repertório das células T, e assim desempenham um papel chave na regulação e desenvolvimento de nosso sistema imune e como respondemos aos patógenos. Os antígenos HLA de classe I são apresentados como A, B e C; e os da classe II como DP, DQ e DR. Cada molécula é um heterodímero de uma cadeia alfa e uma beta. Com exceção de DR alfa, todas as cadeias alfa da classe I e classe II são altamente polimórficas. Ainda que a subunidade beta-2-microglobulina da molécula HLA de classe I seja monomórfica, todas as cadeias betas do HLA de classe II são altamente polimórficas. Na verdade, os genes HLA apresentam o polimorfismo mais elevado no homem, tendo sido identificados até agora mais de 1.400 alelos diferentes de classe I e cerca de 800 alelos diferentes de classe II. O polimorfismo não está em toda a molécula, sendo que a maior parte fica na fenda de ligação ao antígeno.

Quando a estrutura da fenda de ligação ao antígeno é mudada devido ao polimorfismo genético que resulta em diferentes aminoácidos, há ligação de

diferentes peptídeos. Assim, a nossa molécula MHC pode apresentar certos peptídeos para as células T, mas não outros. Os indivíduos que tenham moléculas alélicas HLA diferentes podem apresentar um conjunto diverso de peptídeos, mas não outros, e assim por diante. Se tivéssemos apenas uma variedade de moléculas HLA (X), e estivéssemos infectados por um patógeno cujo antígeno protetor não pode se ligar à nossa fenda de ligação MHC, não poderíamos montar uma resposta imune protetora contra este patógeno, poderíamos todos morrer e a população humana seria extinta. Agora, se tivermos duas variedades de HLA, uma variedade X e uma Y, por exemplo, e o mesmo patógeno continua não podendo ser apresentado pelo HLA tipo X, mas pode ser apresentado de forma eficiente pelo HLA tipo Y, o que vai acontecer é que todos os homocigotos X irão morrer, todos os homocigotos Y irão sobreviver e estar bem protegidos, e os heterocigotos estarão em uma posição intermediária. O problema é que este patógeno tem uma alta probabilidade de sofrer uma mutação sob a pressão da resposta imune contra ele. A mutação pode levar a uma situação em que não pode ser apresentado por X nem por Y, e todos morrem novamente!

Assim, como podem ver, a idéia é que quanto maior a variabilidade de alelos HLA, maior a probabilidade de que a espécie seja preservada. Há muita pressão positiva sobre este loco em particular, para que haja a mutação dos genes. É por isso que temos mais de 1.400 alelos diferentes de classe I, e 800 de classe II, e depois temos é claro, muitas combinações que variam nos indivíduos. E a idéia é que quanto mais tivermos, maiores serão as chances de que pelo menos alguns de nós sobrevivamos a uma grande pandemia e que haja preservação da população humana.

Assim, estamos protegidos pela variação na molécula MHC de duas formas diferentes. Primeiro, a poligenia, onde temos diferentes alelos HLA: classe I, A, B, C e classe II, DP, DQ, DR. Segundo, cada um dos genes HLA polimórficos tem um grande número de variantes alélicas. Esta variação permite que as fendas de ligação ao antígeno apresentem diferentes peptídeos e, por isso, alguns indivíduos estarão protegidos contra certas infecções e outros não e que poderiam, por sua vez, estar mais bem protegidos contra um outro patógeno diferente. Como estes patógenos sofrem mutações, outros indivíduos ainda estarão protegidos já que estamos constantemente procurando lidar com estes patógenos em evolução.

Vou falar de alguns conceitos e variações importantes sobre esta questão da associação genética. Em alguns casos, as mesmas variantes alélicas que nos protegem contra um patógeno em particular nos predispõem a um outro. Isto é muito importante, porque podemos estar protegidos contra o patógeno A, mas os mesmos genes podem nos predispor ao patógeno B, e nós temos visto isto em muitas doenças infecciosas. Muitas vezes, verificamos que em certas partes do mundo, onde certas doenças infecciosas parecem ser pandêmicas, ou prevalentes, a maioria dos sobreviventes desenvolveu genes resistentes (foram selecionados). Um bom exemplo disto é a malária em algumas áreas da África. Em outros casos, vamos verificar que as variantes alélicas HLA para um patógeno em particular não nos protegem contra uma variante mutante do mesmo patógeno, de forma que pessoas que estavam protegidas já não estão mais. Um exemplo disto surgiu em um

estudo realizado pelo Centers for Disease Control (CDC) sobre a suscetibilidade à AIDS e o efeito da mutação genética no receptor de quimiocina, CCR5. Há uma mutação em que ocorre uma deleção no CCR5, um receptor para uma forma do HIV não indutora de sincício. A deleção impede que CCR5 se ligue ao vírus e, assim, as pessoas que são homocigotas a esta mutação estão protegidas, enquanto que os heterocigotos são suscetíveis à infecção por esta forma do vírus. Infelizmente, entretanto, o vírus pode sofrer uma mutação no mesmo indivíduo, passando da forma não indutora de sincício para a forma que induz sincício, e utilizando um receptor totalmente diferente, CXCR4, para penetrar na célula e tem como alvo uma população celular totalmente diferente. A resposta imune à primeira forma do vírus exerce uma pressão para que o vírus sofra mutação. Vemos isto com frequência em HCV e em outras infecções virais, em que o vírus continua sofrendo mutações à medida que montamos a resposta imune, gerando uma quasi-espécie. Este, é um ponto importante, ao qual devemos dar atenção quando tentamos desenvolver uma terapêutica para estes indivíduos.

Em alguns casos, você tem uma variante alélica de risco para um determinado patógeno que se converte em um fenótipo protetor contra o mesmo patógeno, quando presente junto com uma outra variante do gene. Em outras palavras, você pode ter duas variantes genéticas diferentes, onde cada uma separadamente teria um efeito muito diferente sobre o desfecho da infecção por este patógeno A, do que quando você coloca as duas variantes juntas. É a chamada interação epistática. Um bom exemplo está nos receptores KIR, que são receptores muito importantes das células NK e também em algumas células T. Estes receptores KIR ligam-se a moléculas HLA classe I e podem provocar a ativação das células NK, que combatem então a infecção, ou podem inibir a ativação das células NK e, neste caso, não podem combater a infecção.

Mary Carrington e seus colegas de Fredericks, Estados Unidos, realizaram um estudo muito interessante, no qual verificaram que, uma certa variante do receptor KIR, quando presente com uma determinada variante da molécula HLA classe I B4, protege e retarda a progressão da AIDS em indivíduos infectados pelo HIV. Entretanto, quando estudaram o efeito de B4 por si só, não houve associação com o desfecho da doença. E quando esta variante KIR foi analisada sozinha ela estava associada com uma progressão mais rápida da doença. Mostrou-se assim que quando as duas variantes são colocadas juntas há um forte efeito protetor. Formularam então a hipótese de que quando esta variante HLA de classe I está ligada a peptídeo(s) do HIV, ela permite a interação com esta variante KIR de forma a ativar as células NK para combater a infecção. Estes são modelos dinâmicos muito interessantes.

Um outro conceito é que algumas vezes esta associação com HLA não é direta, mas resulta de outros genes estarem em desequilíbrio de ligação com determinados alelos HLA, em particular. O loco MHC é tão rico em genes polimórficos importantes, incluindo os que estão no loco TNF, que é preciso determinar se a associação com a doença é direta ou indireta.

Tem havido diversas associações diretas entre alelos HLA específicos e diversas doenças infecciosas. Conseguimos definir associações de HLA de classe II com

diferentes desfechos de infecções pelo *Streptococcus pyogenes* do Grupo A (GAS). Este, pode provocar dor de garganta, doenças auto-imunes ou infecções invasivas (como bacteremia, por exemplo), que se manifestam como choque tóxico grave e fasciíte necrosante – *flesh eating disease* – ou, também, com uma celulite branda, não grave. Os nossos estudos mostraram que os indivíduos com certos alelos HLA classe II parecem montar uma resposta muito mais baixa a certas toxinas, denominadas superantígenos, produzidas pela bactéria. E os indivíduos que têm esta variante particular estão fortemente protegidos contra o choque tóxico. Outras variantes, entretanto, fazem com que o indivíduo seja um respondedor forte, produzindo níveis muito elevados de citocinas inflamatórias, tornando a pessoa altamente suscetível à forma grave da fasciíte necrosante. Os GAS são bactérias fascinantes pelo grande número de doenças que podem causar, incluindo doenças decorrentes exatamente pela mesma cepa. Conseguimos mapear diferentes suscetibilidades genéticas no choque tóxico, na fasciíte necrosante e na cardite reumática, que leva à doença cardíaca reumática, mostrando diferentes associações HLA com cada um. Isto é importante pois mostra que há diferentes mecanismos para esta doença.

Este é o meu último comentário, apenas para resumir que a interação hospedeiro-patógeno é muito importante na determinação do desfecho. Estamos constantemente procurando conseguir um equilíbrio, mas é necessário muito pouco para causar doença. O componente genético desempenha um papel muito importante na determinação da suscetibilidade e do desfecho de uma doença. Mas por que isto é importante? Já passamos há muito da fase de apenas observar e dizer OK, este gene é interessante, há uma associação. Não é isto que estamos procurando. Precisamos usar esta informação para entender o mecanismo da doença e assim acelerar o processo de descoberta e avançar no desenvolvimento de melhores diagnósticos e terapêuticas. Este é o nosso gargalo, e é isto o que a identificação da genética da suscetibilidade às doenças infecciosas pode fazer – ajudar a determinar a rede de vias interativas que modulam o desfecho da infecção, ajudando-nos a mapear a doença para que possamos preveni-la ou curá-la.

Leituras recomendadas

1. Kotb M, et al. An immunogenetic and molecular basis for differences in outcomes of invasive group A streptococcal infections. *Nat. Med.* 2002;8:1398-404.
2. Kotb, M., 2004. Genetics of susceptibility to infectious Diseases: How microbes select us. *ASM News.* 2004;70(10):457-463
3. Dean M, Carrington M, O'Brien SJ. 2002 Balanced polymorphism selected by genetic versus infectious human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2002;3:263-92. Epub Apr 15. Review.
4. Frodsham AJ, Hill AV. 2004 Genetics of infectious diseases. *Hum Mol Genet.* Oct 1;13 Spec No 2:R187-94. Review.
5. Blackwell JM. 2001. Genetics and genomics in infectious disease susceptibility. *Trends Mol Med;* 7:521-526.