

Incidência aumentada de haplótipo de HLA de classe II na anafilaxia grave secundária à carboplatina

Increased incidence of a class II HLA haplotype in severe anaphylaxis secondary to carboplatin

Violeta Régnier Galvão¹, Elizabeth Phillips^{2,3}, Mariana Castells⁴, Pedro Giavina-Bianchi¹

RESUMO

Objetivo: O papel de biomarcadores nas reações de hipersensibilidade a platinas tem sido estudado, e é conhecido que a presença da mutação do gene BRCA1/2 é fator de risco para reações de hipersensibilidade à carboplatina. A genotipagem de HLA de classes I e II auxilia na identificação de pacientes de risco para reações IgE-mediadas e mediadas por linfócitos T associadas a beta-lactâmicos e abacavir, respectivamente. Não são conhecidos alelos ou haplótipos de HLA mais prevalentes em pacientes alérgicos à carboplatina. O objetivo principal do estudo foi avaliar se alelos específicos de HLA de classe II são mais prevalentes em pacientes alérgicos à carboplatina submetidos à dessensibilização (DS). **Método:** Genotipagem de HLA de classe II realizada em 11 pacientes portadoras de neoplasias malignas tubo-ovarianas, alérgicas à carboplatina, e submetidas à DS, e em 12 pacientes tolerantes à carboplatina, por no mínimo oito ciclos. Analisou-se também a prevalência da mutação BRCA1/2 nos dois grupos estudados. **Resultados:** O alelo HLA-DRB1*15:01 foi mais prevalente entre as pacientes alérgicas (5/11; 45%) do que nos controles (1/12; 8,3%) ($p = 0,06$). O haplótipo de classe II DQA1*01:02-DQB1*06:02-DRB1*15:01 foi mais expresso no grupo de pacientes alérgicas. A mutação do BRCA1/2 mostrou-se mais prevalente no grupo alérgico. **Conclusões:** A identificação de pacientes de risco para reações alérgicas à carboplatina é de extrema importância com o uso crescente da medicação. A genotipagem de HLA e a pesquisa da mutação BRCA1/2 mostram-se ferramentas promissoras que podem aumentar a segurança durante infusão regular de carboplatina e DS.

Descritores: Antígenos HLA, anafilaxia, neoplasias ovarianas, carboplatina, dessensibilização imunológica.

ABSTRACT

Objective: The role of biomarkers in hypersensitivity reactions (HSR) to platinum compounds has been studied, and the presence of BRCA1/2 gene mutation is known to be a risk factor for carboplatin HSR. Class I and II HLA genotyping helps identify patients at risk for IgE-mediated and T lymphocyte-mediated reactions associated with beta-lactams and abacavir, respectively. Associations between HLA alleles or haplotypes and carboplatin HSR are not known. The main objective of the present study was to evaluate whether specific class II HLA alleles are more prevalent in patients allergic to carboplatin who underwent rapid drug desensitization (RDD). **Methods:** Class II HLA genotyping was performed in 11 carboplatin-allergic patients with tubo-ovarian malignancies who were submitted to RDD, and in 12 patients who tolerated carboplatin, for at least eight cycles. The prevalence of the BRCA1/2 mutation was also analyzed in both groups. **Results:** The HLA-DRB1*15:01 allele was more prevalent among allergic patients (5/11; 45%) than in controls (1/12; 8.3%) ($p = 0.06$). Class II haplotype DQA1*01:02-DQB1*06:02-DRB1*15:01 and the BRCA1/2 mutation were also more prevalent in the allergic group. **Conclusions:** The identification of patients at risk for carboplatin HSR is of utmost importance, as the use of this medication is increasing. HLA genotyping and screening for the BRCA1/2 mutation are promising tools that may increase safety during regular carboplatin infusion and RDD.

Keywords: HLA antigens, anaphylaxis, ovarian neoplasms, carboplatin, immunologic desensitization.

1. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Imunologia Clínica e Alergia - São Paulo, SP, Brasil.
2. Vanderbilt University, Division of Infectious Diseases - Nashville - Tennessee, Estados Unidos.
3. Murdoch University, Institute for Immunology and Infectious Diseases - Perth, WA, Austrália.
4. Brigham and Women's Hospital, Rheumatology, Immunology and Allergy - Boston, MA, Estados Unidos.

Trabalho contemplado com o "Prêmio Oswaldo Seabra" durante o XLIV Congresso de Alergia e Imunologia da ASBAI.

Submetido em: 03/11/2017, aceito em: 20/11/2017.

Arq Asma Alerg Imunol. 2017;1(4):373-8.

Introdução

A genotipagem de HLA de classes I e II tem identificado pacientes de risco para reações medicamentosas graves IgE/mastócito-mediadas e mediadas por células¹⁻⁴.

O abacavir e a carbamazepina induzem reações mediadas por linfócitos T na presença de alelos específicos do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). A ocorrência do alelo de MHC classe I HLA-B*57:01, presente em aproximadamente 6% da população, foi correlacionada a aumento de risco para reações de hipersensibilidade (RH) tardias ao abacavir. Este achado motivou o uso do rastreamento para o HLA-B*5701 em candidatos ao uso de abacavir¹, reduzindo drasticamente a incidência de RH a este medicamento. O alelo de classe I HLA-B*15:02 foi associado à síndrome de Stevens Johnson (SSJ) e a necrólise epidérmica tóxica (NET) induzidas por carbamazepina em populações de etnia chinesa Han, tai e malaia². Adicionalmente, o alelo HLA-A*31:01 foi relacionado à síndrome de hipersensibilidade ligada à carbamazepina e a exantema maculopapular em populações caucasianas, japonesas, coreanas e chinesas⁵. Variantes de HLA-DRA classe II são associadas a reações de hipersensibilidade imediata a beta-lactâmicos³, e o alelo HLA-DRB1*07:01 relaciona-se a reações IgE-mediadas à asparaginase⁴.

É conhecido que pacientes expostos a seis ou mais ciclos de carboplatina apresentam risco de desenvolver RH imediata à droga, com incidência estimada em 6 a 27%⁶⁻⁸. A geração de IgE sérica para a carboplatina é proposta como mecanismo causal principal, o que é demonstrado pelos testes de IgE sérica específica⁹ e cutâneos de leitura imediata¹⁰ na avaliação de pacientes alérgicos a este medicamento. Os resultados do teste de ativação de basófilos (BAT)¹¹⁻¹³ e o aumento nos níveis de triptase sérica indicam que há envolvimento de basófilos e mastócitos, respectivamente, nas reações anafiláticas à carboplatina.

Fatores de risco para reações alérgicas à carboplatina têm sido foco de pesquisas recentes. Nosso grupo demonstrou que a expressão dos marcadores de ativação basofílica CD63 e CD203c encontra-se aumentada após estimulação com carboplatina e oxaliplatina em pacientes alérgicos a estes medicamentos, e que o BAT pode identificar pacientes de risco para reações durante a dessensibilização

a estes quimioterápicos¹². Em estudo prospectivo, Iwamoto et al. demonstraram que pacientes que se tornaram alérgicos à carboplatina durante o estudo apresentavam expressão aumentada de CD203c no dia anterior ao da reação¹¹.

Estudo de 2013 evidenciou que a mutação dos genes BRCA 1 e 2 tem prevalência aumentada nos pacientes que desenvolvem reações imediatas à carboplatina¹⁴. Moon et al. observaram em estudo retrospectivo que a maioria dos pacientes que apresentaram RH à carboplatina possuíam mutações deletérias para os genes BRCA 1 e 2 (93%, 27/29), em comparação a 50% (29/58) em pacientes tolerantes à droga ($p < 0,0001$)¹⁴.

Nosso grupo observou prevalência de 34% da mutação BRCA 1/2 em pacientes portadoras de neoplasias tubo-ovarianas alérgicas à carboplatina, tratadas no hospital *Dana Farber Cancer Institute* (DFCI) e submetidas à dessensibilização no hospital *Brigham and Women's Hospital* (BWH), em Boston, EUA¹⁵. É conhecido que a prevalência desta mutação em pacientes portadoras de neoplasias tubo-ovarianas varia de 13 a 17%¹⁶ e, especificamente em pacientes portadoras de câncer de mama tratadas no DFCI, é 6,1%¹⁷. Também relatamos que pacientes com a mutação apresentavam risco maior de RH durante a dessensibilização à carboplatina ($p < 0,01$).

Embora a mutação do BRCA 1/2 e o BAT sejam métodos promissores para a identificação de pacientes de risco, eles apresentam baixa sensibilidade para identificar número maior de pacientes potencialmente alérgicos. O objetivo principal do nosso estudo foi avaliar se alelos específicos de classe II do HLA são mais prevalentes em pacientes que apresentam reações de hipersensibilidade imediatas à carboplatina. Como objetivo secundário, buscamos caracterizar a prevalência da mutação do gene BRCA 1/2 na população estudada.

Métodos

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa *Partners Institutional Review Board* (protocolo 13-288), dos hospitais BWH e DFCI, afiliados à *Harvard Medical School*, em Boston, Massachusetts, Estados Unidos da América. As pacientes alérgicas e controles foram selecionadas no período de outubro de 2014 a novembro de 2015, de acordo com os critérios descritos a seguir.

Seleção das pacientes alérgicas

Pacientes caucasianas portadoras de neoplasias malignas tubo-ovarianas, maiores de 18 anos e referenciadas ao *Drug Hypersensitivity and Desensitization Center* do BWH para realização de dessensibilização à medicação foram selecionadas. Essas pacientes apresentaram originalmente reações de hipersensibilidade imediata à carboplatina graus 2 ou 3, de acordo com a classificação de Brown¹⁸.

Seleção das pacientes do grupo controle

Foram selecionadas 12 pacientes caucasianas, com idade superior a 18 anos, portadoras de neoplasias malignas tubo-ovarianas. As pacientes foram tolerantes a oito ou mais ciclos de carboplatina e submetidas à infusão da medicação no DFCI.

Extração de DNA

O DNA foi extraído de amostra de sangue coletada durante a visita das pacientes alérgicas para dessensibilização ou durante infusão regular das pacientes do grupo controle. O *kit QiAmp DNA Mini Kit* (Qiagen, Hilden, Alemanha) foi utilizado para extrair DNA de amostras de sangue de 200 µl. Todas as amostras de DNA foram armazenadas a -20° C até que a genotipagem de HLA fosse realizada.

Genotipagem de HLA

A genotipagem HLA A, B, C, DR, DQ e DP foi realizada utilizando-se sequenciamento de segunda geração em plataforma MiSeq (Illumina®).

Análise da mutação BRCA 1/2

A avaliação da presença de mutação nos genes BRCA 1 e 2 foi realizada utilizando-se painel OvaNext (AmbryGenetics®), por sequenciamento de nova geração ou pelo teste BRACAnalysis® (Myriad®).

Análise estatística

A frequência dos alelos de HLA entre pacientes alérgicas e controles foi comparada utilizando-se teste exato de Fisher. O programa Cobygram foi utilizado para a visualização dos blocos de haplótipos.

Resultados

As características gerais das pacientes alérgicas e do grupo controle podem ser observadas na Tabela 1. As pacientes apresentaram média de idade semelhante: 56±13 anos no grupo alérgico e 59±13 anos no grupo controle. As pacientes alérgicas apresentaram número menor de exposições prévias à carboplatina (9±3) do que o grupo controle (13±5,5).

No grupo alérgico, 36% (4/11) das pacientes apresentaram reações iniciais grau 2 e 64% (7/11) grau 3 (Figura 1a). Os testes cutâneos de leitura imediata foram positivos em 81% das pacientes alérgicas, a maioria na diluição de 1 mg/dL do teste intradérmico para carboplatina (67%) (Figura 1b). Todas as pacientes alérgicas toleraram a dessensibilização e conseguiram completar seus tratamentos.

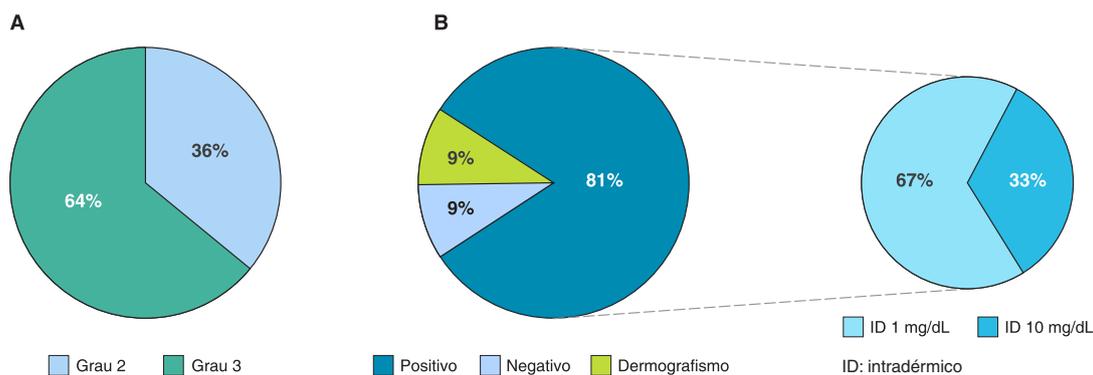
A mutação dos genes BRCA1/2 foi encontrada em 3/11 pacientes alérgicas *versus* 0/12 no grupo controle (Tabela 1). O alelo HLA-DRB1*15:01 foi mais preva-

Tabela 1

Características dos grupos alérgico e controle

	Grupo alérgico (n = 11)	Grupo controle (n = 12)	Valor p
Idade – média±DP	56±13	59±13	NS
Exposições à carboplatina – média±DP	9±3	13±5,5	0,04
Número de DS – média±DP	5±3	–	–
Prevalência da mutação BRCA 1/2 – n (%)	3 (27)	0 (0)	NS

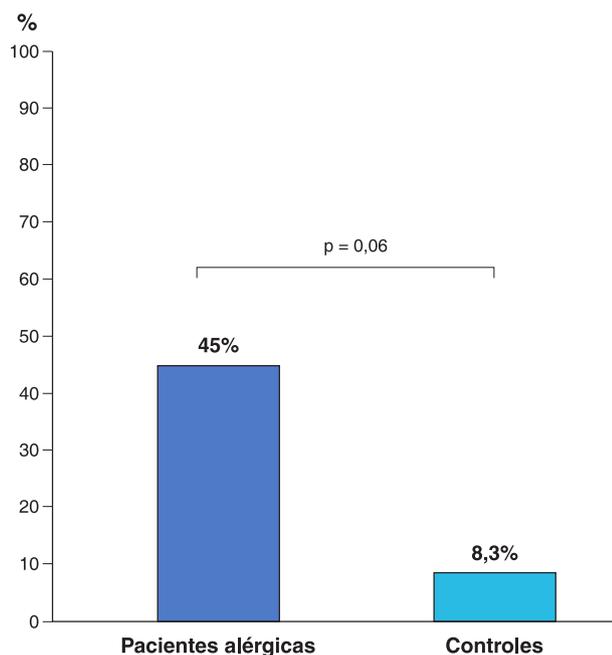
DP: desvio padrão, DS: dessensibilização, NS: não significativo.

**Figura 1**

A. Graus das reações de hipersensibilidade iniciais

B. Distribuição dos resultados dos testes cutâneos nas pacientes alérgicas

lente entre as pacientes alérgicas (5/11, 45%) do que entre pacientes do grupo controle (1/12, 8,3%) (Figura 2, $p = 0,06$). A análise Cobygram identificou que o haplótipo de classe II DQA1*01:02-DQB1*06:02-DRB1*15:01 apresentou aumento de representação nas pacientes alérgicas (Figura 3).

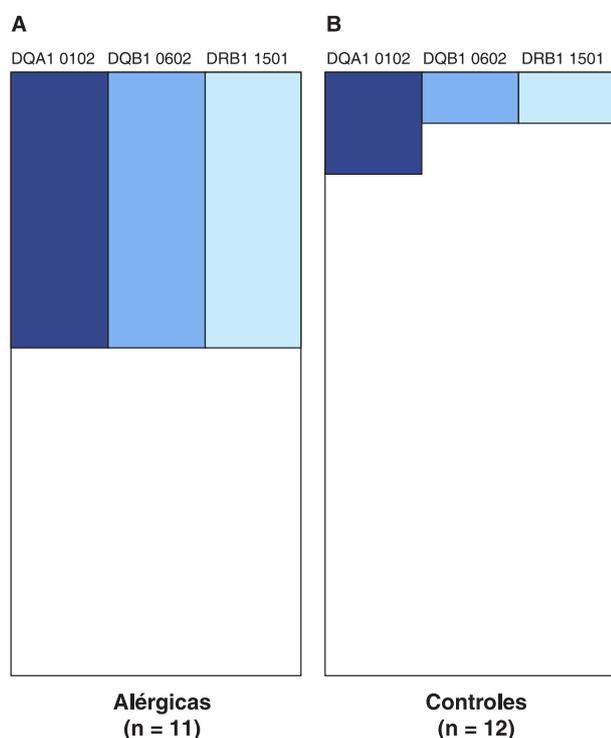
**Figura 2**

Prevalência do alelo HLA DRB1*15:01 nas pacientes alérgicas e controles

Discussão

Em nossa coorte de pacientes caucasianas portadoras de neoplasias malignas tubo-ovarianas, foi observado que o alelo de HLA classe II DRB1*15:01 e o haplótipo de classe II DQA1*01:02-DQB1*06:02-DRB1*15:01 apresentaram aumento de prevalência em relação ao grupo controle. O estudo fornece informações preliminares a respeito da farmacogenética aplicada a reações de hipersensibilidade IgE-mediadas à carboplatina.

O exemplo mais notório da influência do HLA na predisposição a reações medicamentosas é a relação entre HLA-B*5701 e RH tardias ao abacavir¹⁹. RH tardias potencialmente letais ao abacavir (SSJ, NET) podem ser observadas em 5 a 8% de pacientes soropositivos para o HIV tratados com terapia antirretroviral, e são geralmente observadas nas primeiras 6 semanas de tratamento. O rastreamento do HLA-B*5701 minimiza toxicidades potenciais por meio da identificação de pacientes de risco, apresenta sensibilidade de 94 a 100% em pacientes com reações imunológicas confirmadas ao abacavir (via teste de contato com a droga), e especificidade de 90 a 100%, independente do diagnóstico da reação basear-se na apresentação clínica ou em confirmação imunológica²⁰. Além de eficaz, o rastreamento também foi comprovado ser custo-efetivo²¹. O estudo PREDICT-1 contou com a participação de 1956 pacientes de 19 países e observou incidência de RH confirmada ao abacavir em 2,7% no grupo controle *versus* 0% no

**Figura 3**

Aumento de representação do haplótipo DQA1*01:02-DQB1*06:02-DRB1*15:01 no grupo alérgico

grupo rastreado ($p < 0,001$)¹. Em outro estudo prospectivo, com 137 pacientes soropositivos de origem étnica mista, foi evidenciado 0% de incidência de RH ao abacavir no grupo submetido a rastreamento.

Dados sobre a relação entre HLA e a ocorrência de reações IgE-mediadas são escassos^{22,23}. Um estudo chinês propôs associação de alelos na região HLA-DRB a RH imediatas à penicilina por meio da modulação da síntese de IgE séricas específicas para a penicilina²³.

Embora o número de pacientes avaliadas tenha sido pequeno, houve tendência de expressão maior da mutação dos genes BRCA 1/2 no grupo alérgico. Este resultado é esperado, tendo em vista que a mutação é fator de risco para RH imediatas à carboplatina. Ainda não é conhecido o mecanismo fisiopatológico que vincule a mutação à reação alérgica, porém especula-se que as mutações do BRCA 1/2 influenciem a expressão de genes Th2 e aumentem níveis de IgE sérica à carboplatina e/ou aumentem transduções de sinal durante ativação mastocitária em resposta à carboplatina²⁴.

A importância de se pesquisar a mutação do BRCA 1/2 em pacientes que se submetem à dessensibilização à carboplatina foi evidenciada recentemente pelo nosso grupo¹⁵. Em casuística composta por 138 pacientes portadoras de neoplasias malignas tubo-ovarianas, foi observado que RH durante DS ocorreram em 51% dos portadores da mutação BRCA 1/2 comparado a 27% nos pacientes sem a mutação ($p < 0,01$). Embora a gravidade das reações tenha sido semelhante entre os grupos, os achados reforçam o papel da pesquisa da mutação como rastreamento pré-infusão.

Nosso estudo tem como limitação o tamanho da amostra estudada, o que impossibilita conclusões definitivas acerca do tema. Caso os achados sejam confirmados em populações maiores, é possível estabelecer os papéis do alelo HLA-DRB1*15:01 e haplótipo DQA1*01:02-DQB1*06:02-DRB1*15:01 como potenciais fatores de risco para reações imediatas à carboplatina. Desta forma, de maneira semelhante ao rastreamento populacional para o alelo B*57:01 em candidatos ao abacavir, poderia ser proposta genotipagem de HLA em candidatos à infusão regular e à dessensibilização à carboplatina para a identificação de pacientes de alto risco.

Agradecimentos

Agradecemos a Alicia Beeghly-Fadiel, pela análise estatística; e a Rebecca Pavlos, Elizabeth Mckinnon, Kristina Williams e Alec Redwood, pelo auxílio na genotipagem de HLA das amostras.

Referências

- Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina J-M, Workman C, Tomazic J, et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med*. 2008;358(6):568-79.
- Chen P, Lin J-J, Lu C-S, Ong C-T, Hsieh PF, Yang C-C, et al. Carbamazepine-induced toxic effects and HLA-B*1502 screening in Taiwan. *N Engl J Med*. 2011;364(12):1126-33.
- Guéant J-L, Romano A, Cornejo-García J-A, Oussalah A, Chery C, Blanca-López N, et al. HLA-DRA variants predict penicillin allergy in genome-wide fine-mapping genotyping. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(1):253-9.
- Fernandez CA, Smith C, Yang W, Daté M, Bashford D, Larsen E, et al. HLA-DRB1*07:01 is associated with a higher risk of asparaginase allergies. *Blood*. 2014;124(8):1266-76.
- McCormack M, Alfirevic A, Bourgeois S, Farrell JJ, Kasperavičiūtė D, Carrington M, et al. HLA-A*3101 and Carbamazepine-Induced Hypersensitivity Reactions in Europeans. *N Engl J Med*. 2011;364(12):1134-43.

6. Markman M, Kennedy A, Webster K, Elson P, Peterson G, Kulp B, et al. Clinical features of hypersensitivity reactions to carboplatin. *J Clin Oncol*. 1999;17(4):1141.
7. Makrilia N, Syrigou E, Kaklamanos I, Manolopoulos L, Saif MW. Hypersensitivity reactions associated with platinum antineoplastic agents: a systematic review. *Met-Based Drugs*. 2010;2010:1-11.
8. Gadducci A, Tana R, Teti G, Zanca G, Fanucchi A, Genazzani AR. Analysis of the pattern of hypersensitivity reactions in patients receiving carboplatin retreatment for recurrent ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc*. 2008;18(4):615-20.
9. Caiado J, Venemalm L, Pereira-Santos MC, Costa L, Barbosa MP, Castells M. Carboplatin-, Oxaliplatin-, and Cisplatin-specific IgE: Cross-reactivity and Value in the Diagnosis of Carboplatin and Oxaliplatin Allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2013;1(5):494-500.
10. Castells MC, Tennant NM, Sloane DE, Hsu FI, Barrett NA, Hong DI, et al. Hypersensitivity reactions to chemotherapy: outcomes and safety of rapid desensitization in 413 cases. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(3):574-80.
11. Iwamoto T, Yuta A, Tabata T, Sugimoto H, Gabazza EC, Hirai H, et al. Evaluation of basophil CD203c as a predictor of carboplatin-related hypersensitivity reaction in patients with gynecologic cancer. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(9):1487-95.
12. Iwamoto T, Hirai H, Yamaguchi N, Kobayashi N, Sugimoto H, Tabata T, et al. Carboplatin-induced severe hypersensitivity reaction: role of IgE-dependent basophil activation and Fc RI. *Cancer Sci*. 2014;105(11):1472-9.
13. Giavina-Bianchi P, Galvão VR, Picard M, Caiado J, Castells MC. Basophil activation test is a relevant biomarker of the outcome of rapid desensitization in platinum compounds-allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5(3):728-36.
14. Moon DH, Lee J-M, Noonan AM, Annunziata CM, Minasian L, Houston N, et al. Deleterious BRCA1/2 mutation is an independent risk factor for carboplatin hypersensitivity reactions. *Br J Cancer*. 2013;109(4):1072-8.
15. Galvão VR, Phillips E, Giavina-Bianchi P, Castells MC. Carboplatin-allergic patients undergoing desensitization: prevalence and impact of the BRCA 1/2 mutation. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5(3):816-8.
16. Pal T, Permeth-Wey J, Betts JA, Krischer JP, Fiorica J, Arango H, et al. BRCA1 and BRCA2 mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases. *Cancer*. 2005;104(12):2807-16.
17. Tung N, Lin NU, Kidd J, Allen BA, Singh N, Wenstrup RJ, et al. Frequency of germline mutations in 25 cancer susceptibility genes in a sequential series of patients with breast cancer. *J Clin Oncol*. 2016;34(13):1460-8.
18. Brown SG. Clinical features and severity grading of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(2):371-6.
19. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, et al. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet Lond Engl*. 2002;359(9308):727-32.
20. Ma JD, Lee KC, Kuo GM. HLA-B*5701 testing to predict abacavir hypersensitivity. *PLoS Curr [Internet]*. 2010 Dec 7 [cited 2016 Jul 1];2. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3000684/>
21. Schackman BR, Scott CA, Walensky RP, Losina E, Freedberg KA, Sax PE. The cost-effectiveness of HLA-B*5701 genetic screening to guide initial antiretroviral therapy for HIV. *AIDS Lond Engl*. 2008;22(15):2025-33.
22. Stone SF, Phillips EJ, Wiese MD, Hedde RJ, Brown SGA. Immediate-type hypersensitivity drug reactions. *Br J Clin Pharmacol*. 2014 Jul;78(1):1-13.
23. Yang J, Qiao H, Zhang Y, Jia L, Tian X, Gao N. HLA-DRB genotype and specific IgE responses in patients with allergies to penicillins. *Chin Med J (Engl)*. 2006;119(6):458-66.
24. Jiang Q, Greenberg RA. Deciphering the BRCA1 Tumor Suppressor Network. *J Biol Chem*. 2015 Jul 17;290(29):17724-32.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Correspondência:
Violeta Régner Galvão
violeta_galvao@yahoo.com.br