



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
Εργαστήριο Μοριακής Μικροβιολογίας, Ανοσολογίας -
Ε.Μ.Μ.Α.



ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Ανίχνευση της μετάλλαξης πολυμορφισμού HLA-
B*5701 που ευθύνεται για την εκδήλωση υπερευαισθη-
σίας στην αβακαβίρη σε άτομα με τον ιό HIV.**

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/ NAME OF STUDENT

Παναγιώτα Αρετή Γιγουρτσή / Panagiota Areti Gigourtsi

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ

Απόστολος Μπελούκας / Apostolos Beloukas

ΑΘΗΝΑ 2024



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Lab of Molecular Microbiology and Immunology



GRADUATE THESIS

Detection of the polymorphism HLA-B*5701 mutation which is responsible for hypersensitivity to abacavir in people living with HIV (PLWH)

NAME OF STUDENT

PANAGIOTA ARETI GIGOURTSI

NAME OF SUPERVISOR

APOSTOLOS BELOUKAS

ATHENS 2024

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: Πέμπτη 18 Ιουλίου 2024

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Μπελούκας Απόστολος	
2 ^{ος} Εξεταστής	Βογιατζάκη Χρυσάνθη	
3 ^{ος} Εξεταστής	Μπρατάκου Σπυριδούλα	

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΑΡΕΤΗ ΓΙΓΟΥΡΤΣΗ του ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ, με αριθμό μητρώου 678/20678045 φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Όνομα φοιτητή

Παναγιώτα Αρετή Γιγουρτσή

Υπογραφή φοιτητή

Ψηφιακή Βεβαίωση Εγγράφου

Μπορείτε να ελέγξετε την ισχύ του εγγράφου σκανάροντας το QR code ή εισάγοντας τον κωδικό στο docs.gov.gr/validate



Επιβεβαιώνεται το γνήσιο. Υπουργείο
Ψηφιακής Διακυβέρνησης / Verified by the Ministry
of Digital Governance, Hellenic Republic
20240701135500+03'00'

Υπογραφή:
ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΑΡΕΤΗ ΓΙΓΟΥΡΤΣΗ
Πατρώνυμο: ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ
ΑΦΜ: 177023307
Ημ. Υπογραφής: 01/07/2024 13:54:57

Κωδικός εγγράφου: okBNch0Q0gBshW_Z8FMCbg

Σελίδα: 1/1

Ευχαριστίες

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Μοριακής Μικροβιολογίας και Ανοσολογίας – Ε.Μ.Μ.Α., του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών του Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Επιβλέποντα Καθηγητή μου, Απόστολο Μπελούκα, και την Υποψήφια Διδάκτωρ, Κασσάνδρα Πρόκτερ, για την πολύτιμη καθοδήγησή τους, την εμπιστοσύνη και την εκτίμηση που μου έδειξαν ώστε να εκπονήσω τα πειράματα της εργασίας μου. Επιπλέον ένα μεγάλο ευχαριστώ στην Παναγιώτα Ρέστα (Μοριακή Βιολόγο Γενετίστρια και Μεταπτυχιακή φοιτήτρια του ΕΚΑΑΝΕ) για την άψογη συνεργασία που υπήρχε καθ' όλη τη διάρκεια, αλλά κυρίως τις Δευτέρες!

Να ευχαριστήσω και την οικογένειά μου που με υπομονή και κουράγιο προσέφεραν την απαραίτητη ηθική συμπαράσταση ώστε να ολοκληρωθεί η συγκεκριμένη εργασία.

Αφιερώσεις

Στους γονείς μου και στον αδερφό μου, που νοητά δεν έλειψαν δευτερόλεπτο από την ακαδημαϊκή μου πορεία και είχαν να μου προσφέρουν αμέτρητη αγάπη και στήριξη.

Περίληψη

Εισαγωγή: Η παρούσα εργαστηριακή εργασία εξετάζει ένα κρίσιμο σημείο πριν την έναρξη της φαρμακευτικής αγωγής των ατόμων που ζουν με τον ιό HIV (PLWH), που αφορά την αντίδραση υπερευαισθησίας στην αβακαβίρη. Η συγκεκριμένη προπτυχιακή έρευνα εστιάζει στην ανίχνευση του γονιδίου HLA-B57 και του πολυμορφισμού HLA-B*5701, ο οποίος αποτελεί τον κύριο δείκτη προδιάθεσης για την συγκεκριμένη ευαισθησία. Η αβακαβίρη είναι ένας νουκλεοσιδικός αναστολέας της ιικής αντίστροφης μεταγραφάσης (NRTI) του ιού που συσχετίζεται σημαντικά με αντιδράσεις υπερευαισθησίας, με αποτέλεσμα να καθίσταται αναγκαίος ο προληπτικός έλεγχος ύπαρξης του αλληλομόρφου, για την ασφάλεια των ασθενών και την αποτελεσματικότητα της θεραπείας.

Σκοπός: Ο κύριος στόχος αυτής της μελέτης είναι η καθιέρωση μιας λειτουργικής και αξιόπιστης μεθόδου για την ανίχνευση του πολυμορφισμού HLA-B*5701, ώστε να γίνεται εντοπισμός των ατόμων που εμφανίζουν ευαισθησία στον συγκεκριμένο αναστολέα του ιού του HIV. Η συγκεκριμένη εργαστηριακή έρευνα σκοπεύει στο να προσφέρει πολύτιμες γνώσεις για μια εξατομικευμένη αναγνώριση μοριακού υπόβαθρου ώστε να βελτιστοποιούνται τα θεραπευτικά αποτελέσματα και να μειώνονται οι δυσμενείς αντιδράσεις.

Μέθοδος: Η μεθοδολογία της μελέτης συνδυάζει μοριακές τεχνικές, όπως η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), πρωτόκολλα απομόνωσης γενετικού υλικού και ηλεκτροφορήσεις. Στην έρευνα χρησιμοποιήθηκαν δείγματα ατόμων που έχουν μολυνθεί με τον ιό HIV ώστε να εκτιμηθεί το ποσοστό εμφάνισης του συγκεκριμένου πολυμορφισμού και για να καταγραφούν δεδομένα που αφορούν την γεωγραφική προέλευση, το ιικό φορτίο, την κατανομή του πολυμορφισμού, ακόμα και το φύλο των ατόμων.

Αποτελέσματα: Στην ενότητα αυτή καταγράφονται τα αποτελέσματα του πρωτοκόλλου που ακολουθήθηκε για τα δείγματα που εξετάστηκαν και διάφορα στατιστικά στοιχεία που πιθανόν να αφορούν το συγκεκριμένο γονίδιο και το αλληλόμορφο που ευθύνεται για την αντίδραση υπερευαισθησίας. Επιπλέον, αναλύεται η αποτελεσματικότητα της πειραματικής μεθόδου.

Συζήτηση: Σε αυτό το σημείο αξιολογούνται οι επιπτώσεις των αποτελεσμάτων, εξετάζοντας την κλινική σημασία του ελέγχου HLA-B*5701 στον περιορισμό της υπεραισθησίας. Παράλληλα αναφέρονται προβληματισμοί και δυσκολίες που προέκυψαν κατά τη διενέργεια του πρωτοκόλλου ώστε στο τέλος να επισημανθούν οι προκλήσεις, οι ηθικές διαστάσεις και ο ευρύτερος αντίκτυπος στην εξατομικευμένη ιατρική για τη θεραπεία του HIV.

Λέξεις Κλειδιά: HIV, AIDS, HLA*B57:01, αβακαβίρη, υπεραισθησία.

Abstract

Introduction: This research thesis examines the crucial area of hypersensitivity to Abacavir in people living with HIV (PLWH), focusing on identifying the HLA-B*5701 polymorphism as a predisposing genetic marker. Abacavir is an antiretroviral drug that acts against the Reverse Transcriptase of HIV and belongs to the NRTIs drug category. It has shown a significant association with hypersensitivity reactions, underscoring the necessity of preemptive screening for patient safety and treatment efficacy.

Purpose: The primary goal of this study is to develop a reliable method for detecting the HLA-B*5701 polymorphism, facilitating the identification of individuals susceptible to Abacavir hypersensitivity. This research aims to provide valuable insights for a molecular basis of personalized detection, optimizing therapeutic outcomes and minimizing adverse reactions.

Method: The study's methodology combines molecular techniques such as Polymerase Chain Reaction (PCR), DNA extraction, and electrophoresis to detect the HLA-B*5701 polymorphism. The research involves a cohort of samples from people living with HIV (PLWH), assessing the frequency of this genetic polymorphism, recording ethnic and sex variations.

Results: The results section records the prevalence rates of the HLA-B*5701 polymorphism within the selected group of PLWH. It analyses the effectiveness of the screening method and provides data for understanding the genetic landscape associated with hypersensitivity to Abacavir.

Discussion: The discussion evaluates the implications of the findings, examining the clinical significance of the HLA-B*5701 screening in limiting hypersensitivity. Challenges, ethical considerations, and the broader impact on personalized medicine for HIV treatment are highlighted. This thesis endeavours to contribute not only to the scientific understanding of genetic markers related to drug hypersensitivity but also to the practical implementation of personalized medicine in the context of HIV treatment.

Key words: HIV, AIDS, HLA*B57:01, abacavir, hypersensitivity.

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας	4
Ευχαριστίες.....	5
Αφιερώσεις	6
Περίληψη	7
Abstract.....	9
Συνομογραφίες.....	12
Πρόλογος.....	13
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή	15
1.1. Ο ιός HIV και η ασθένεια του AIDS.	15
1.2. Μετάδοση και Παθογένεση του ιού HIV.	19
1.3. Αντιρετροϊκά φάρμακα	23
1.4. Τα Ανθρώπινα Λευκοκυτταρικά Αντιγόνα (HLA)	27
1.5. Αντιδράσεις Υπερευαισθησίας λόγω των HLA γονιδίων.....	32
1.6. HLA*B57:01 και η αντίδραση υπερευαισθησίας στην αβακαβίρη.....	36
Κεφάλαιο 2: Πειραματική Διαδικασία	40
2.1 Εξοπλισμός-Αναλώσιμα.....	40
2.2 Πειραματικές διαδικασίες.....	41
2.2.1 Απομόνωση γενετικού υλικού – Extraction Protocol	41
2.2.2 Καθαρισμός προϊόντος – Purification Protocol.....	41
2.2.3 Εκτίμηση ποιότητας και ποσότητας του προϊόντος.....	42
2.2.4 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης – PCR.....	42
2.2.5 Ηλεκτροφόρηση	44
2.3 Εκτίμηση αποτελέσματος.....	45
Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα	46
Κεφάλαιο 4: Συζήτηση	54
4.1. Σχολιασμός αποτελεσμάτων.....	54
4.2. Μελλοντικές προσεγγίσεις.....	57
Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	58
Πηγές Εικόνων	67

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome	Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας (ΣΕΕΑ)
HIV	Human Immunodeficiency Virus	Ιός Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας
WHO	World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
PLWH	People Living with HIV	Άτομα που ζουν με τον ιό HIV
TCR	T cell receptor	Υποδοχέας T λεμφοκυττάρων
CRF	Circulating Recombinant Form	Πολυμορφισμός
LTR	Long Terminal Repeat	Μακριές Ακραίες Επαναλήψεις
NRTI	Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor	Νουκλεοσιδικοί Αναστολείς Αντίστροφης Μεταγραφάσης
RT	Reverse Transcriptase	Αντίστροφη Μεταγραφάση
PR	Protease	Πρωτεάση
ART	Antiretroviral Therapy	Αντιρετροϊκή θεραπεία
PBS	Phosphate-buffered saline	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ιόντων
rt	Room Temperature	Θερμοκρασία δωματίου
TBE	Tris-Borate EDTA	
dH2O	Distilled water	Απεσταγμένο Νερό
UV	Ultraviolet	Υπεριώδες
bp	Base pairs	Ζεύγη Βάσεων
HAART	Highly Active Antiretroviral Therapy	Θεραπεία αντιρετροϊκών φαρμάκων υψηλής δραστηριότητας
AHS	Abacavir Hypersensitivity	Αντίδραση υπερευαισθησίας στην αβ-καβίρη
MHC	Major Histocompatibility Complex	Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας
NGS	Next Generation Sequencing	Αλληλούχηση Επόμενης Γενιάς
CDC	Centers for Disease Control and Prevention	Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νόσων
STIs	Sexual Transmitted Infections	Σεξουαλικός Μεταδιδόμενα Νοσήματα
PrEP	Pre-Exposure Prophylaxis	Προφύλαξη πριν την έκθεση
TasP	Treatment as Prevention	Θεραπεία ως πρόληψη
NNRTIs	Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors	Μη Νουκλεοσιδικοί Αναστολείς Αντίστροφης Μεταγραφάσης
PIs	Protease Inhibitors	Αναστολείς πρωτεάσης
INSTIs	Integrase Strand Transfer Inhibitors	Αναστολείς μεταφοράς κλώνου ιντεγκράσης
INIs	Integrase Inhibitors	Αναστολείς Ιντεγκράσης
APCs	Antigen Presenting Cells	Αντιγονοπαρουσιαστικά Κύτταρα
NK	Natural Killer cells	Κύτταρα φυσικοί φονείς
SLE	Systemic Lupus Erythematosus	Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος
SCAR	Severe Cutaneous Adverse Reactions	Σοβαρές Ανεπιθύμητες Δερματικές Αντιδράσεις

Πρόλογος

Με βάση τα πιο πρόσφατα δεδομένα από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), υπολογίζεται πως 39 εκατομμύρια άτομα παγκοσμίως ζουν με τον ιό HIV (PLWH - <https://www.who.int/teams/global-hiv-hepatitis-and-stis-programmes/hiv/strategic-information/hiv-data-and-statistics>). Το Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας, ΣΕΕΑ, (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*, AIDS) πρωτοεμφανίστηκε το 1981 και η ανακάλυψη του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (*Human Immunodeficiency Virus*, HIV) έγινε το 1983, οδηγώντας σε περισσότερους από 25 εκατομμύρια θανάτους παγκοσμίως. Ο ιός HIV παραμένει ένα φλέγον ζήτημα για την παγκόσμια υγεία, με τις τελευταίες δεκαετίες να υπάρχει ραγδαία εξέλιξη στις μεθόδους που έχουν αναπτυχθεί για τον περιορισμό του. Ειδικότερα, η εμφάνιση της αντιρετροϊκής θεραπείας υψηλής δραστηριότητας (HAART) έχει συμβάλει στον περιορισμό του HIV, μετατρέποντας την ασθένεια του AIDS από μια θανατηφόρα νόσο σε μια διαχειρίσιμη χρόνια πάθηση. (Reid and Novak 2011)

Ο ιός HIV πρόκειται για ένα ρετροϊό του γένους *Lentivirus* ο οποίος χωρίζεται σε δύο μεγάλες ομάδες HIV-1 και HIV-2, με τις γλυκοπρωτεΐνες του φακέλου του να διαδραματίζουν τον πιο βασικό ρόλο για την επιτυχή μετάδοσή του στον οργανισμό ξενιστή (Silvestri & Cartwright, 2016) Τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν τα άτομα που έχουν μολυνθεί με τον ιό δεν ακολουθούν κάποιο πρότυπο, υποδηλώνοντας ότι η μόλυνση προέρχεται από μια σύνθετη αλληλεπίδραση των χαρακτηριστικών του ιού και του ίδιου του ξενιστή. (Oberle et al., 2016)

Το πρώτο φάρμακο κατά του ιού HIV που ανακαλύφθηκε είναι η αζιδοθυμιδίνη (AZT), η οποία χρησιμοποιούταν ως μονοθεραπεία μέχρι και το 1990. Στα μέσα αυτής της χρονιάς η λογική του συνδυασμού των αντιρετροϊκών φαρμάκων έδωσε τη δυνατότητα αντιμετώπισης της ασθένειας του AIDS με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και υψηλότερη δραστηριότητα. (Menéndez-Arias and Delgado 2022) Ανάμεσα στις θεραπευτικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στην θεραπεία αντιρετροϊκών φαρμάκων υψηλής δραστηριότητας (*Highly Active Antiretroviral Therapy*, HAART), η αβακαβίρη, ένας νουκλεοσιδικός αναστολέας της αντίστροφης μεταγραφάσης (*Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor*, NRTI), αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο για την αναστολή της αναπαραγωγής και ανάπτυξης του ιού. Ωστόσο, η χρήση της έχει συσχετιστεί με αντιδράσεις υπερευαισθησίας (*Abacavir Hypersensitivity*, AHS), μια δυνητικά θανατηφόρα κατάσταση που επηρεάζει περίπου το 5% των ατόμων που ζουν με τον ιό παγκοσμίως. Αυτή η αντίδραση χαρακτηρίζεται από πυρετό, εξάνθημα, γαστρεντερικά και αναπνευστικά συμπτώματα, οδηγώντας συχνά στη διακοπή και αντικατάστασή του φαρμάκου με άλλο, ίδιου τύπου NRTI. (Stainsby et al., 2019) (Hewitt, n.d.)

Οι μελέτες τονίζουν τις μετατροπές που συμβαίνουν στους μηχανισμούς δράσης του ανοσοποιητικού συστήματος εξαιτίας της υπερευαισθησίας, οι οποίες περιλαμβάνουν αλλαγές στην παραγωγή κυτοκινών, στην ενεργοποίηση των T-κυττάρων καθώς και στην παραγωγή ιντερλευκινών από τα CD4+ και CD8+ κύτταρα. (King et al. 2005)

Επιπλέον, η παρουσία του αλληλομόρφου HLA-B*5701 μαζί με τα HLA-DR7 και HLA-DQ3 έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης υπερευαισθησίας, ο οποίος μπορεί να μειωθεί εξαιρώντας τους ασθενείς με αυτά τα αλληλόμορφα από τη θεραπεία με αβακαβίρη. (mallal2002 n.d.)

Έτσι λοιπόν, ενώ η αβακαβίρη αποτελεί ένα πολύτιμο αντιρετροϊκό φάρμακο επιλογής, είναι σημαντικό να προηγείται έλεγχος για την αποφυγή πιθανών αντιδράσεων υπερευαισθησίας ώστε να επιτυγχάνεται η ασφαλή και αποτελεσματική χρήση της. Η μοριακή ανίχνευση του πολυμορφισμού HLA-B*5701 αποτελεί μια κεντρική ιδέα στην κλινική πράξη, βοηθώντας στην πρόληψη σοβαρών ανεπιθύμητων αντιδράσεων και εξασφαλίζοντας καλύτερα αποτελέσματα για τα άτομα που θεραπεύονται με αυτό το φάρμακο είτε με συνδυασμό φαρμάκων.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1. Ο ιός HIV και η ασθένεια του AIDS.

Το Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας (AIDS) εμφανίζει ραγδαία εξέλιξη από την ημέρα της αναγνώρισής του ως πανδημία, με τα πρώτα περιστατικά να εντοπίζονται στις αρχές τις δεκαετίας του 1980 μεταξύ ομοφυλόφιλων ανδρών στις Η.Π.Α., αλλά πλέον επηρεάζει όλο τον παγκόσμιο πληθυσμό. Πριν αναγνωριστεί ο ιός HIV ως ο αιτιολογικός παράγοντας τους συνδρόμου AIDS, η ξαφνική εμφάνιση περιστατικών εκείνη την εποχή είχε προκαλέσει σύγχυση στην ιατρική κοινότητα. Το Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νόσων (*Center of disease, CDC*) ήταν αυτό που είχε αναφέρει τα πρώτα περιστατικά το 1981, με τις πρώτες περιγραφές να αφορούν μια σπάνια μορφή πνευμονίας και σαρκώματος *Karosi*¹ σε νεαρούς ομοφυλόφιλους άνδρες. Αυτά ήταν τα αρχικά σημάδια μιας επιδημίας που θα επηρέαζε εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως. Η εξάπλωσή της είχε σοβαρές επιπτώσεις στην Υποσαχάρια Αφρική και τη Νοτιοανατολική Ασία λόγω των διαφορετικών κοινωνικοπολιτικών και οικονομικών συνθηκών που κυριαρχούν εκεί. Παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί στην αντιρετροϊκή θεραπεία, δεν παύουν να καταγράφονται νέες λοιμώξεις παγκοσμίως, συμπεριλαμβανομένων της Ανατολικής Ευρώπης και της Λατινικής Αμερικής. (Taylor 2014)(von Overbeck and Zinkernagel 2006) Η ιστορική πορεία του ιού HIV και οι σύγχρονες εκδηλώσεις του, τονίζουν τη διάσταση που έχει λάβει αυτό το παγκόσμιο υγειονομικό ζήτημα καθώς τόσο οι βιολογικοί όσο και οι κοινωνικοί παράγοντες διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην εξάπλωση και τη διαχείρισή του. (O'Hara 2022)

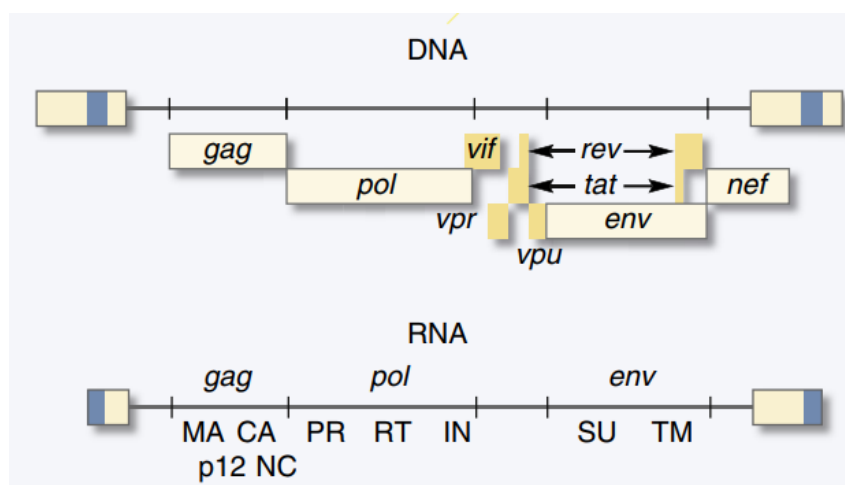
Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) ανακαλύφθηκε από τους Dr. Luc Montagnier και τους συνεργάτες του στο Ινστιτούτο Παστέρ της Γαλλίας, καθώς και από τον Dr. Robert Gallo και την ομάδα του στις Η.Π.Α το 1983. Αυτή η ανακάλυψη θα μπορούσε να θεωρηθεί το «σημείο μηδέν» για την αρχή ανάπτυξης διαγνωστικών διαδικασιών και κατ' επέκταση την αρχή κατανόησης της ασθένειας.(Shampo and Kyle 2002) Ο ιός HIV θεωρείται πως διέσχισε το ανθρώπινο είδος στην Κεντρική Αφρική από τους χιμπατζήδες στις αρχές του 20^{ου} αιώνα. Η πιο ευρέως αποδεκτή υπόθεση αφορά την μετάδοση μέσω του κυνηγιού και της κατανάλωσης κρέατος ζώων, με την πρώτη μόλυνση να συμβαίνει την δεκαετία του 1920 στην περιοχή της Κινσάσα, στη σημερινή Λαϊκή Δημοκρατία του Κονγκό. Έτσι, με φυλογενετικές αναλύσεις των γονιδιωματικών αλληλουχιών του ιού ανακαλύφθηκε πως εξαπλώθηκε από την Αφρική στον υπόλοιπο κόσμο.(Vahlne 2009)

Ο ιός HIV αποτελεί ένα από τα πιο ποικιλόμορφα παθογόνα που προσβάλλουν το ανθρώπινο είδος, εξαιτίας του υψηλού ρυθμού μεταλλαξογένεσης και των διαφορετικών υποτύπων που εντοπίζονται ανά τον κόσμο. (Bbosa et al., 2019) Αν και υπάρχουν δύο

¹ Σύνδρομο *Karosi*: Πρόκειται για καρκίνωμα του συνδετικού ιστού από τον ιό KSHV/HHV8, με την πρώτη εμφάνιση να γίνεται στα οζίδια του δέρματος ή/και στους βλεννογόνους. Εμφανίζεται ως μικρές κόκκινες έως μαύρες κηλίδες στο δέρμα και διακρίνεται σε επιθετική και μη επιθετική μορφή.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23368874/>

μεγάλες κατηγορίες του HIV, HIV-1 και HIV-2, οι περισσότερες μολύνσεις προκύπτουν από την ομάδα του HIV-1 στην οποία εμπεριέχονται 3 βασικές υποομάδες, αυτές των M(Major), N(Non-M, Non-O) και O(Outlier) .(Silvestri and Cartwright 2016) Πιο συγκεκριμένα, υπολογίζεται πως το 90% των μολύνσεων με τον ιό HIV προκύπτουν από την υποομάδα M του HIV-1 και των 9 υποτύπων της. (Li et al. 2015a) Ο πιο συχνά εντοπιζόμενος υπότυπος στην Ευρώπη είναι ο B της υποομάδας M του HIV-1, ενώ οι περισσότερες κυκλοφορούσες ανασυνδυασμένες μορφές (*circulated recombinant forms*, CRFs) εντοπίζονται στη Δυτική και Κεντρική Αφρική. (Bbosa, Kaleebu, and Ssemwanga 2019) Ο κύριος στόχος του συγκεκριμένου ρετροϊού είναι να εξασθενήσει το ανοσοποιητικό σύστημα, επηρεάζοντας κυρίως τα CD4+ T λεμφοκύτταρα, τα οποία είναι κρίσιμα για την απόκριση του ανοσοποιητικού. (Klimas, Koneru, and Fletcher 2008) Η εξάντληση αυτών των κυττάρων από τον ιό οδηγεί σε προοδευτική ανοσοανεπάρκεια που χαρακτηρίζει το σύνδρομο του AIDS, μια κατάσταση όπου το σώμα τίθεται σε ανοσοκαταστολή και γίνεται όλο και πιο ανίκανο να αντιμετωπίσει τις ευκαιριακές λοιμώξεις και ασθένειες. (Campbell and Hope 2015)

Το γονιδίωμα του ιού κωδικοποιεί πολλές σημαντικές πρωτεΐνες από τα γονίδια που εδράζονται στις γονιδιακές περιοχές *gag*, *pol* και *env* (Εικόνα 1). Η γονιδιακή περιοχή *gag* είναι υπεύθυνη για τις μητρικές-βασικές πρωτεΐνες του ιού, η γονιδιακή περιοχή *pol* κωδικοποιεί ένζυμα απαραίτητα για τη λειτουργία του ιού όπως η αντίστροφη μεταγραφάση, πρωτεάση και ιντεγκράση, ενώ από τη γονιδιακή περιοχή *env* παράγονται οι πρωτεΐνες του φακέλου *gp120-gp41*, από τις πιο σημαντικές πρωτεΐνες για την είσοδο του ιού στον ξενιστή. (Watts et al. 2009) Πέρα από αυτές τις δομικές πρωτεΐνες, η πολυπλοκότητα του ιού HIV οφείλεται επίσης στα ρυθμιστικά γονίδια *tat* και *rev*, τα οποία διαδραματίζουν ρυθμιστικό ρόλο την μεταγραφή του ιού και στη μετάδοση του ιικού RNA, με το να εκμεταλλεύονται τους κυτταρικούς μηχανισμούς του ξενιστή. (Bartha et al. 2013)



Εικόνα 1.1: Η οργάνωση του γονιδιώματος του ιού HIV-1. [HIV and AIDS: Science Wrestles with 10,000 Nucleotides—Points but No Pin - ScienceDirect](#)

Ο συνεχής πολλαπλασιασμός του ιού οδηγεί στην χρόνια ασθένεια του AIDS, η οποία χαρακτηρίζεται από σοβαρή ανοσοανεπάρκεια, οδηγώντας σε υψηλή ευαισθησία σε μια ευρεία γκάμα λοιμώξεων και καρκίνων, που άτομα με ακέραιο και πλήρως λειτουργικό ανοσοποιητικό σύστημα δεν επηρεάζονται. Οι ασθενείς υποφέρουν συνήθως από καταστάσεις όπως πνευμονία από την *Pneumocystis carinii*, το σάρκωμα *Kaposi* και μεταξύ άλλων από τραχηλικό καρκίνο. Αυτές οι καταστάσεις είναι συνήθως επιθετικές και θανατηφόρες σε άτομα με την ασθένεια του AIDS λόγω της αδυναμίας και υπολειτουργικότητας του ανοσοποιητικού συστήματος. (M. Seligmann et al 1985) Στην κλινική πράξη, το AIDS χαρακτηρίζεται από σημαντική μείωση των CD4+ T λεμφοκυττάρων, συνήθως πέφτοντας κάτω από 200 κύτταρα ανά κυβικό χιλιοστόλιτρο αίματος, μαζί με την παρουσία μίας ή περισσότερων ευκαιριακών λοιμώξεων. Η αρχική μόλυνση με τον HIV μπορεί να προκαλέσει συμπτώματα όπως πυρετό, διογκωμένους λεμφαδένες και γριπώδη ασθένεια. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, αποδυναμώνει σοβαρά το ανοσοποιητικό σύστημα, οδηγώντας σε ασθένειες σχετιζόμενες με AIDS, οι οποίες είναι συνήθως σοβαρές και συχνά θανατηφόρες εάν δεν αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά. (M. Seligmann et al 1985)

Η επιδημιολογία του ιού HIV και της ασθένειας του AIDS αποκαλύπτει ένα πολύπλοκο και εξελισσόμενο τοπίο. Μέχρι το 2021, περίπου 38 εκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως ζούσαν με τον ιό HIV. Η Υποσαχάρια Αφρική παραμένει η πιο πληγείσα περιοχή, αντιπροσωπεύοντας σχεδόν τα 2/3 του παγκόσμιου φορτίου του ιού. Η επιδημία σε αυτήν την περιοχή βρίσκεται έδαφος εξαιτίας μιας σειράς παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των υψηλών ποσοστών ετεροσεξουαλικής μετάδοσης, ανισότητας των φύλων, στίγματος και της περιορισμένης πρόσβασης στην υγειονομική περίθαλψη. Αντίθετα, η επιδημία σε άλλες περιοχές του κόσμου όπως η Κεντρική Ασία και η Ανατολική Ευρώπη τροφοδοτείται από τη χρήση ενδοφλέβιων ναρκωτικών. (Moyo et al. 2023) Παρά τις προόδους στην θεραπεία και την πρόληψη, ο ιός HIV και το σύνδρομο AIDS συνεχίζουν να θέτουν σημαντικές προκλήσεις, με τη μεγαλύτερη να παραμένει η αντιμετώπιση του στίγματος και των διακρίσεων, κάτι το οποίο εμποδίζει τα άτομα να οδηγηθούν στη διάγνωση και έπειτα στη θεραπεία. Επιπλέον, ενώ η αντιρετροϊκή θεραπεία (ART) μπορεί να καταστείλει αποτελεσματικά την αναπαραγωγή του ιού και να αποτρέψει την πρόοδο της νόσου, απαιτεί συμμόρφωση και επιμέλεια ως προς τη χρήση της, μιας και οι άσκοπες διακοπές μπορούν να οδηγήσουν σε εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών στα φάρμακα με άμεσο αποτέλεσμα την επιδείνωση της νόσου. (Tran et al. 2019) Μια άλλη επίκαιρη πρόκληση αφορά την ανάπτυξη ενός ασφαλούς και αποτελεσματικού εμβολίου κατά του HIV. Παρά τις έρευνες δεκαετίας, το εμβόλιο κατά του ιού παραμένει απρόσιτο λόγω του υψηλού ρυθμού μεταλλάξεων και της άριστης ικανότητάς του να διαφεύγει το ανοσοποιητικό σύστημα. Ωστόσο, οι πρόσφατες εξελίξεις που έχουν συμβάλει στην κατανόηση της ανοσολογικής αντίδρασης κατά του ιού έχουν προσφέρει ελπίδες για μελλοντικές ανακαλύψεις. (Barouch 2008)

Συνεπώς, η ανακάλυψη του ιού που ονομάζεται HIV πίσω από την ασθένεια του AIDS και η ανάπτυξη της ART έχουν αναδιαμορφώσει ζωές εκατομμυρίων ανθρώπων. Το U=U (Undetectable = Untransmittable, Μη ανιχνεύσιμος = Μη μεταδοτικός), είναι μια επαναστατική έννοια στη θεραπεία του HIV, η οποία δηλώνει ότι τα άτομα με μη

ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο, λόγω αποτελεσματικής αντιρετροϊκής θεραπείας, δεν μπορούν να μεταδώσουν τον ιό σε άλλους. Με αυτό τον τρόπο δεν αναδεικνύεται μόνο η αποτελεσματικότητα των σύγχρονων θεραπειών HIV, αλλά μειώνεται επίσης σημαντικά το στίγμα και προάγει τη δημόσια υγεία ενθαρρύνοντας την έγκαιρη και συνεπή τήρηση της θεραπείας. (Rodger, 2019)

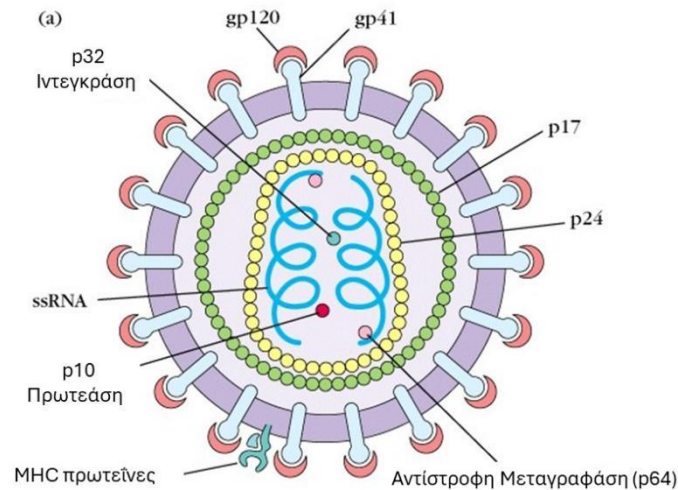
1.2. Μετάδοση και Παθογένεση του ιού HIV.

Η κατανόηση της μετάδοσης και παθογένεσης του ιού HIV είναι ένα σημαντικό ζήτημα το οποίο προσφέρει γνώσεις για την ασθένεια που προκαλεί και είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών πρόληψης και θεραπείας. Η κύρια μετάδοση του ιού είναι μέσω σωματικών υγρών, όπως αίμα, σπέρμα, κολπικά υγρά, και μητρικό γάλα. Οι πιο συνηθισμένοι τρόποι μετάδοσης είναι η μη προστατευμένη σεξουαλική επαφή, η κοινή χρήση βελονών μεταξύ των χρηστών ενδοφλέβιων ναρκωτικών ουσιών (XEN), οι μεταγγίσεις μολυσμένου αίματος καθώς και η μετάδοση από μητέρα σε παιδί κατά την εγκυμοσύνη, τον τοκετό ή τον θηλασμό. (Dou et al. 2019a)

Η σεξουαλική επαφή παραμένει ο πιο συχνός τρόπος μετάδοσης του ιού HIV παγκοσμίως. Ο κίνδυνος μετάδοσης ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο της σεξουαλικής δραστηριότητας και την παρουσία άλλων σεξουαλικών μεταδιδόμενων νοσημάτων (*sexual transmitted infections*, STIs). Για παράδειγμα, η παρουσία των STIs μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο μετάδοσης του ιού HIV προκαλώντας έλκη ή φλεγμονές που δρουν ως σημείο εισόδου του ιού. Έρευνες που φτάνουν τον αριθμό των 132 σε 35 χώρες παγκοσμίως απέδειξαν πώς από τον Ιανουάριο του 1990 έως και τον Ιανουάριο το 2022 το 30,23% των ατόμων που ζουν με τον ιό HIV κλονίζονται από ΣΜΝ, με τη μεγαλύτερη επικράτηση να παρατηρείται στην Ασία και την μικρότερη στην Αφρική. (Beloukas et al. 2023) Οι στρατηγικές για τη μείωση της σεξουαλικής μετάδοσης του HIV περιλαμβάνουν τη χρήση προφυλακτικών, την προληπτική προφυλακτική θεραπεία (*Pre Exposure Prophylaxis* -PrEP) και την θεραπεία ως πρόληψη (*Treatment as Prevention* -TasP). Στην PrEP περιλαμβάνεται η λήψη αντιρετροικών φαρμάκων από άτομα τα οποία δεν έχουν μολυνθεί από τον ιό HIV όμως διατρέχουν υψηλό κίνδυνο μόλυνσης, με σκοπό να μειώσουν τις πιθανότητες. Η TasP αναφέρεται στην ιδέα ότι η αποτελεσματική ART στα άτομα που έχουν μολυνθεί από τον ιό HIV μπορεί να μειώσει το ιικό φορτίο σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα, μειώνοντας σημαντικά τον κίνδυνο μετάδοσης. (Patel et al. 2014) Κατά την σεξουαλική μετάδοση η πρώτη επαφή του ιού HIV γίνεται με τα δενδριτικά κύτταρα (π.χ. Langerhans²) ή τα μακροφάγα/μονοκύτταρα λόγω του υποδοχέα χημειοκίνης CCR5, που του επιτρέπει να προσκολληθεί και να εισέλθει εντός του κυττάρου για την έναρξη αντιγραφής του ιικού γονιδιώματος. (Seitz 2016a). Όσον αφορά τη μετάδοση από μητέρα σε παιδί (*mother to child transmission* - MTCT), ο κίνδυνος κυμαίνεται από 15% έως 45%, ο οποίος μπορεί να μειωθεί σε λιγότερο από 5% αν γίνεται χρήση αντιρετροικών φαρμάκων, αποφυγή θηλασμού και ασφαλής τοκετός. (Dou et al. 2019b)

Όσον αφορά την παθογένεση του HIV υπάρχει μια σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ του ιού και του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή. Με την είσοδο στο σώμα, ο HIV

² Langerhans κύτταρα: Είναι κύτταρα της επιδερμίδας τα οποία παράγονται από τον μυελό των οστών και προστατεύουν τον οργανισμό από την εισβολή αντιγόνων, έχοντας δράση αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3424941/>



Εικόνα 1.2: Η δομή του ιού HIV.

<https://biosci.mcdb.ucsb.edu/immunology/Immunodeficiencies/HIV-structure.htm>

στοχεύει κυρίως τα CD4+ T κύτταρα, τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα. Μόλις εισέλθει στο κύτταρο, ο HIV μεταγράφει αντίστροφα το RNA του σε DNA χρησιμοποιώντας το ένζυμό του της αντίστροφης μεταγραφάσης. Αυτό το νεοσυντιθέμενο ιικό DNA ενσωματώνεται στη συνέχεια στο γονιδίωμα του ξενιστή από ένα άλλο ιικό ένζυμο, την ιντεγκράση. Αυτή η ενσωμάτωση επιτρέπει στον ιό να παραμείνει σε λανθάνουσα φάση στο κύτταρο του ξενιστή, διαφεύγοντας από την ανοσολογική απόκριση και την ART. Ο πολλαπλασιασμός του HIV είναι μια συνεχής διαδικασία που περιλαμβάνει την παραγωγή νέων ιοσωμάτων, τα οποία προκύπτουν από τα κύτταρα ξενιστές και μολύνουν νέα κύτταρα στόχους. Η χρόνια λοίμωξη και ο συνεχής πολλαπλασιασμός του HIV οδηγεί σε προοδευτική εξάντληση των CD4+ T κυττάρων, τα οποία είναι απαραίτητα για την αποτελεσματική απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος στις λοιμώξεις. Η απώλειά τους οδηγεί σε ανοσοανεπάρκεια, καθιστώντας τα άτομα με τον ιό ευάλωτα σε ευκαιριακές λοιμώξεις και καρκίνους που χαρακτηρίζουν το AIDS. (Dou et al. 2019c)

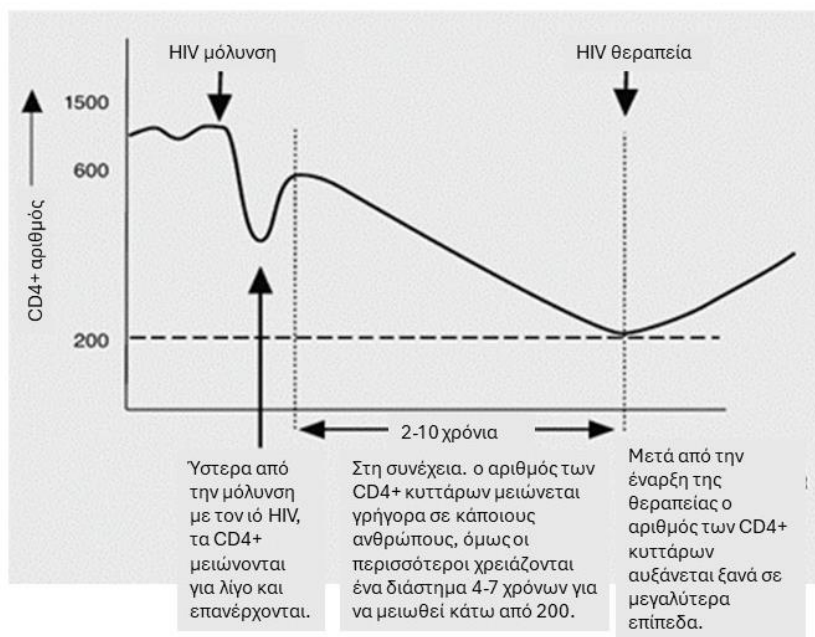
Ο HIV αποτελείται από δομικές πρωτεΐνες οι οποίες κωδικοποιούνται από το γονιδιακή περιοχή *gag*. Το σύμπλεγμα της *gag* πολύπρωτεΐνης δημιουργεί μία ανώριμη μορφή του ιού στην πλασματική μεμβράνη του κυττάρου ώστε να δημιουργηθεί ένα εξαμερές πλέγμα της *gag* για να παραχθεί το ιικό καψίδιο. Η ανώριμη μορφή του ιού υπόκειται σε διαδικασία ωρίμανσης κατά την οποία οι *gag* πολύπρωτεΐνες διαχωρίζονται σε μεμβρανικές, καψιδιακές και νουκλεοκαψιδιακές για να σχηματιστεί η ώριμη και παθογόνος μορφή του ιού. Οι συγκεκριμένες μεταπτώσεις θεωρούνται σημαντικές καθώς συμβάλουν στη δημιουργία του κωνικού σχήματος του καψιδίου που φέρει το ιικό γονιδίωμα. (Briggs et al. 2009)

Όσον αφορά το ιικό γονιδίωμα, το μονόκλωνο RNA του ιού είναι διεξοδικά δομημένο ώστε να εκφράζονται απαραίτητες πρωτεΐνες που αφορούν τις διαδικασίες του ιικού κύκλου ζωής, όπως η αντιγραφή, η μετάφραση και το πακετάρισμα των πρωτεϊνών.

Για παράδειγμα, τα *RRE* και *TAR* πρωτεϊνικά στοιχεία του ιού διαδραματίζουν ρυθμιστικό ρόλο για την σύνθεση των πρωτεϊνών και της διαδικασίας της μεταγραφής ώστε να επιτυγχάνεται η σταθερότητα και μετάδοση του ιικού RNA. (Watts et al. 2009). Από τις πιο σημαντικές πρωτεΐνες του ιού είναι η p24, η οποία συμβάλει στη δημιουργία του εσωτερικού καψιδίου του ιού. (Εικόνα 2). Κάθε ισωμάτιο φέρει περίπου 2.000 μόρια της πρωτεΐνης p24, η οποία μπορεί εύκολα να εντοπιστεί χρησιμοποιώντας πολυκλωνικά ή και μονοκλωνικά αντισώματα μέσω της τεχνικής sandwich ELISA. (Seitz 2016b). Όσον αφορά τη γονιδιακή πολυπλοκότητα που εντοπίζεται στον HIV, τα ηνία αποδίδονται στον ταχύ ρυθμό αντιγραφής, αναδιάταξης και μεταλλάξεων που προκύπτουν σε συντηρημένες περιοχές όπως της πρωτεάσης, αντίστροφης μεταγραφάσης, ιντεγκράσης καθώς και του καψιδίου. Για της συγκεκριμένες περιοχές έχουν σχεδιαστεί αναστολείς για τον περιορισμό του ιικού πολλαπλασιασμού και παράλληλα για να ελέγχεται το φορτίο (Li et al. 2015b). Ο υψηλός ρυθμός μεταλλάξεων σε συνδυασμό με την ικανότητα του ιού να συνδυάζει διαφορετικά ικά γονιδιώματα, συντελούν στην γενετική ποικιλομορφία του ιού. Η συγκεκριμένη ιδιότητα του ιού συμβάλει στην ανάπτυξη ανοχής σε αντιρετροϊκά φάρμακα, προκαλώντας σοβαρές δοκιμασίες στη διαχείριση και θεραπεία του AIDS. (Bartha et al. 2013)

Ο ιικός φάκελος του HIV αποτελείται από μια διπλοστιβάδα λιπιδίων που την έχει αποκτήσει από το κύτταρο ξενιστή κατά την έξοδό του και είναι εμπλουτισμένη με πρωτεΐνες που επιτρέπουν στον ιό να μολύνει τα κύτταρα. Η πρωτεΐνη gp120 συνδέεται με τους CD4+ υποδοχείς της επιφάνειας των κυττάρων, γεγονός που πυροδοτεί τις απαραίτητες αλλαγές για τη σύντηξη των ιικών και κυτταρικών μεμβρανών. (Watts et al. 2009)

Η λοίμωξη από τον ιό HIV χωρίζεται σε 3 διακριτές φάσεις, αυτές της οξείας, της χρόνιας και της ασθένειας του AIDS. (Εικόνα 3). Κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης εντοπίζεται ένας ισχυρός ιικός πολλαπλασιασμός με την ικανότητα να μεταδίδεται



Εικόνα 1.3: Οι φάσεις μόλυνσης από τον ιό HIV. <https://i-base.info/tfta/section-1/7-cd4-count-as-a-surrogate-marker/>

στον λεμφοειδή ιστό, οδηγώντας σε μια έντονη αύξηση των CD4+ κυττάρων.(Picker 2006) Συνήθως συμβαίνει μέσα σε 2-4 εβδομάδες από την έκθεση στον ιό με τα συμπτώματα να είναι μη ειδικά και παρόμοια με αυτά της γρίπης. Στη χρόνια φάση η αντιγραφή και ο πολλαπλασιασμός του ιού καθίστανται ελεγχόμενα με τον αριθμό των CD4+ κυττάρων να μειώνεται και το ανοσοποιητικό σύστημα να βρίσκεται σε μια μόνιμη ενεργοποίηση, αποτρέποντας την εμφάνιση συμπτωμάτων.(Derdeyn and Silvestri 2005) Το τελευταίο στάδιο της HIV λοίμωξης περιλαμβάνει την ασθένεια του AIDS όπου τα CD4+ κύτταρα μειώνονται σε βαθμό κάτω του φυσιολογικού και επιτρεπτού ορίου (λιγότερα από 200 κύτταρα ανά κυβικό χιλιοστό αίματος) , προκαλώντας ανοσοανεπάρκεια και αυξάνοντας τις πιθανότητες για ευκαιριακές λοιμώξεις. (Pattman et al. 2010) Χωρίς θεραπεία , η πρόοδος προς την ασθένεια του AIDS συνήθως συμβαίνει μέσα σε 10 χρόνια από την αρχική λοίμωξη.

Η παθογένεια του HIV εξαρτάται από την αλληλεπίδραση του υποτύπου του ιού και τους γενετικούς παράγοντες του οργανισμού που προσβάλλει. Για παράδειγμα ο ιός μπορεί να χρησιμοποιήσει διαφορετικούς υποδοχείς για να εισέλθει στα κύτταρα , το οποίο επηρεάζει άμεσα την πορεία που θα λάβει η ασθένεια στον κάθε οργανισμό. Επιπλέον, διάφοροι παράγοντες των κυττάρων στόχων, όπως η διαφοροποίηση που εντοπίζεται στους CCR5 υποδοχείς συντελεί στην μετάδοση και εξέλιξη της ασθένειας με τρόπο διαφορετικό και χαρακτηριστικό για κάθε οργανισμό. (Naif 2013)

Ο HIV χρησιμοποιεί πολλές στρατηγικές για να ξεφύγει από το ανοσοποιητικό σύστημα. Ο υψηλός ρυθμός μεταλλάξεων δημιουργεί διαφορετικούς ιικούς πληθυσμούς με αποτέλεσμα το ανοσοποιητικό να μην τον αναγνωρίζει και να του διαφεύγει. Η ιική πρωτεΐνη ονόματι *Nef* αποτρέπει την επικοινωνία μεταξύ των ανοσοκυττάρων και των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων. Επιπροσθέτως, ο HIV καταφέρνει να προκαλεί λανθάνουσες λοιμώξεις στα ανενεργά CD4+ κύτταρα ώστε να προκαλεί δυσκολίες στο ανοσοποιητικό να στοχεύει ενάντια τους.(Fackler, Alcover, and Schwartz 2007)

Συνοψίζοντας, η μετάδοση και η παθογένεση του HIV περιλαμβάνουν σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του ιού και του ξενιστή. Παρά τις σημαντικές προόδους στον αγώνα κατά του HIV, οι προκλήσεις παραμένουν, συμπεριλαμβανομένης της αντιμετώπισης των κοινωνικών παραγόντων της υγείας, της μείωσης του στίγματος και της εξασφάλισης δίκαιης πρόσβασης στις υπηρεσίες πρόληψης και θεραπείας.

1.3. Αντιρετροϊκά φάρμακα

Η αντιρετροϊκή θεραπεία (ART) έχει φέρει επανάσταση στη διαχείριση της λοίμωξης με τον ιό HIV, μετατρέποντάς την από μια θανατηφόρα ασθένεια σε μια διαχειρίσιμη χρόνια κατάσταση. Η ART περιλαμβάνει τη χρήση ενός συνδυασμού από αντιρετροϊκά φάρμακα για την καταστολή της αναπαραγωγής του ιού, της μείωση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας που σχετίζεται με τον HIV καθώς και την πρόληψη μετάδοσής του. Η ανάπτυξη και ευρεία διαθεσιμότητα της ART έχουν βελτιώσει σημαντικά την ποιότητα ζωής των ανθρώπων που ζουν με τον ιό HIV (*people living with HIV*, PLWH) και έχουν συμβάλει ουσιαστικά στην παγκόσμια προσπάθεια για τον έλεγχο της επιδημίας. Ο κύριος στόχος της ART είναι η επίτευξη και η διατήρηση της ιικής καταστολής, η οποία ορίζεται ως η μείωση του ιικού φορτίου σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα. Αυτό όχι μόνο εμποδίζει την πρόοδο της νόσου και την ανάπτυξη του AIDS, αλλά παράλληλα μειώνει τον κίνδυνο μετάδοσης του HIV σε άλλα άτομα. Η επίτευξη της ιικής καταστολής απαιτεί δια βίου συμμόρφωση με την ART, καθώς οι διακοπές και παύσεις στη θεραπεία μπορούν να οδηγήσουν σε επανεμφάνιση του ιού, επιδείνωση του ανοσοποιητικού συστήματος και ανάπτυξης αντοχής σε φάρμακα. Μέχρι το 2030, ο CDC έχει θέσει έναν στόχο προς επίτευξη που αφορά το πλάνο 95-95-95, δηλαδή 95% επιτυχία στη διάγνωση της λοίμωξης με τον ιό HIV, 95% να βρίσκονται σε αντιρετροϊκή θεραπεία και 95% να βρίσκονται σε καταστολή, δηλαδή με μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο. (Kemnic TR 2024) (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS 2015).

Η αποτελεσματικότητα της ART εξαρτάται από τη χρήση ενός συνδυασμού αντιρετροϊκών φαρμάκων, καθένα από τα οποία στοχεύει σε διαφορετικά στάδια του κύκλου ζωής του HIV. (Πίνακας 1.3.1.). Οι κύριες κατηγορίες των αντιρετροϊκών φαρμάκων περιλαμβάνουν τους νουκλεοσιδικούς αναστολείς αντίστροφης μεταγραφάσης (*Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors*, NRTIs), τους μη νουκλεοσιδικούς αναστολείς αντίστροφης μεταγραφάσης (*Non Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors*, NNRTIs), τους αναστολείς πρωτεάσης (*Protease Inhibitors*, PIs), τους αναστολείς μεταφοράς κλώνου ιντεγκράσης (*Integrase Strand Transfer Inhibitor*, INSTIs) και αναστολείς εισόδου. (Aquaro et al. 2020) Οι νουκλεοσιδικοί αναστολείς αντίστροφης μεταγραφάσης ήταν η πρώτη κατηγορία αντιρετροϊκών φαρμάκων που αναπτύχθηκαν. Οι NRTIs λειτουργούν μιμούμενοι τα φυσικά νουκλεοσίδια που χρησιμοποιεί ο HIV για την κατασκευή του DNA κατά την αντίστροφη μεταγραφή. Όταν οι NRTIs ενσωματώνονται στην αναπτυσσόμενη αλυσίδα του ιικού DNA, προκαλούν πρόωρο τερματισμό της αλυσίδας του DNA, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται ο πολλαπλασιασμός του ιού. Τα πιο κοινά φάρμακα NRTIs αποτελούν η αζινοθυμιδίνη (AZT), η λαμβουδίνη (3TC) καθώς και η τενοφοβίρη (TDF). (Patel PH 2024)

Οι μη νουκλεοσιδικοί αναστολείς της αντίστροφης μεταγραφάσης στοχεύουν και αυτοί στη διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής με τη διαφορά ότι λειτουργούν με άμεση σύνδεση με το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση, προκαλώντας μια διαμορφωτική αλλαγή που εμποδίζει τη δραστηριότητά του. Τα φάρμακα NNRTIs είναι εξαιρετικά εκλεκτικά για τον HIV-1 και δεν απαιτούν φωσφορυλίωση για να είναι ενεργά. Μερικά

NNRTIs είναι η εφραβιρένζη (EFV), νεβιραπίνη (NVP) και η ριλπιβιρίνη (RPV).(Sluis-Cremer and Tachedjian 2008)

Οι αναστολείς πρωτεάσης (PIs) στοχεύουν στο ένζυμο πρωτεάση του ιού HIV, το οποίο είναι απαραίτητο για την ωρίμανση των ισοσωμάτων. Εμποδίζοντας το ένζυμο πρωτεάση, οι PIs αποτρέπουν τη πρωτεόλυση των ικών πρωτεϊνών για να αποκτήσουν τη λειτουργική τους μορφή, με αποτέλεσμα την παραγωγή ανώριμων, μη μολυσματικών ισοσωμάτων. Παραδείγματα PIs αποτελούν η ριτοναβίρη (RTV), λοπιναβίρη (LPV) καθώς και η δαρουναβίρη (DRV).(Adamson 2012)

Οι αναστολείς εισόδου στοχεύουν στα αρχικά στάδια του κύκλου ζωής του HIV, εμποδίζοντας τον ιό να εισέλθει στα κύτταρα-στόχους. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει τους αναστολείς σύντηξης, όπως η T-20 που εμποδίζει τη σύντηξη του ικού περιβλήματος με την κυτταρική μεμβράνη του ξενιστή και τους ανταγωνιστές του υποδοχέα CCR5 όπως η μαραβιρόκη (MVC), που εμποδίζει τον χρήση του συγκεκριμένου υποδοχέα από τα στελέχη του ιού για την εισαγωγή του στα κύτταρα. (Lobritz, Ratcliff, and Arts 2010)

Οι αναστολείς μεταφοράς κλώνου της ιντεγκράσης είναι μια νεότερη κατηγορία αντιρετροϊκών φαρμάκων που εμποδίζουν τη δράση του ενζύμου της ιντεγκράσης, η οποία είναι υπεύθυνη για την ενσωμάτωση του ικού DNA στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή. Έτσι, οι INSTIs αποτρέπουν την εγκαθίδρυση μιας μόνιμης ικής δεξαμενής στον ξενιστή με παραδείγματα αυτών να αποτελούν οι ραλτεγκραβίρη (RAL), την ελβιτεγκραβίρη (EVG) και την δολουτεγκραβίρη (DTG).(Smith et al. 2021)

Έτσι, για την επίτευξη και διατήρηση της ικής καταστολής είναι απαραίτητος ο συνδυασμός αυτών των φαρμάκων με την ονομασία HAART ή ART. Τα σχήματα ART συνήθως περιλαμβάνουν δύο NRTIs ως βάση, συνδυαζόμενα με ένα NNRTI, PI ή INSTI. Η επιλογή του σχήματος εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του ικού φορτίου του ατόμου, του αριθμού CD4+ T λεμφοκυττάρων, των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των φαρμάκων, το προφίλ παρενεργειών και της παρουσίας συνλοίμωξης. (Eggleton JS 2024)

Τα οφέλη της ART εκτείνονται πέρα από τα ατομικού επιπέδου αποτελέσματα υγείας. Η ART έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τη μετάδοση του HIV σε επίπεδο πληθυσμού, ενισχύοντας την TasP θεραπεία. Όταν τα άτομα επιτυγχάνουν και διατηρούν την ική καταστολή, ο κίνδυνος μετάδοσης του HIV σε συντρόφους είναι πρακτικά μηδενικός. Έρευνες ανδρών που έχουν σεξουαλικές επαφές με άνδρες από το έτος 2010 έως και το έτος 2017 απέδειξαν πως η μείωση του ικού φορτίου κάτω από 200 copies/ml λόγω της χρήσης της ART, είχε ως αποτέλεσμα να υπάρχει μηδενική πιθανότητα μετάδοσης του ιού κατά την απροφύλακτη πρωκτική σεξουαλική επαφή (0/76.000 περιπτώσεις), ενώ υποστηρίζεται πως θα υπήρχαν τουλάχιστον 472 περιπτώσεις μετάδοσης εν απουσία της θεραπείας. (Rodger et al. 2019) Η συγκεκριμένη έρευνα ενισχύει τον αντίκτυπο της ART στη δημόσια υγεία, καθώς υποστηρίζει τη στρατηγική ευρείας κλίμακας ελέγχου και θεραπείας για τη μείωση του συνολικού φορτίου του HIV στις κοινότητες. (Holmes CB 2017)

Επιπλέον, η παγκόσμια έκταση που έχει λάβει η χρήση της ART αποτελεί το σημαντικότερο εργαλείο στον αγώνα κατά του ιού HIV. Διεθνείς πρωτοβουλίες, όπως το κοινό πρόγραμμα των Ηνωμένων Εθνών για το HIV/AIDS (UNAIDS) και το παγκόσμιο ταμείο για την καταπολέμηση του AIDS, της Φυματίωσης και της Ελονοσίας ύψους 715 εκατομμυρίων, διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο για την επέκταση της πρόσβασης της ART σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος. Αυτό ωστόσο δεν αναιρεί τα προβλήματα που εξακολουθούν να υπάρχουν για την πρόσβαση στη θεραπεία από περιθωριοποιημένους πληθυσμούς, όπως οι XEN, οι άνδρες που κάνουν σεξ με άνδρες (ΑΣΑ) και οι εργαζόμενοι στη βιομηχανία του σεξ. Η αντιμετώπιση των συγκεκριμένων προβλημάτων θα αποτελέσει λόγω επίτευξης του παγκόσμιου στόχου κατά του ιού HIV. (Hanefeld 2014)

Συμπεραίνοντας, η αντιρετροϊκή θεραπεία έχει προσφέρει σημαντικά οφέλη στη διαχείριση του ιού HIV και κατ' επέκταση για την ατομική και τη δημόσια υγεία. Η ανάπτυξη συνδυασμένων αντιρετροϊκών σχημάτων έχει καταστήσει δυνατή την επίτευξη και τη διατήρηση της ιικής καταστολής, τη βελτίωση της ποιότητας ζωής των PLWH και τη μείωση της μετάδοσής του. Παρά τις εξελίξεις, παραμένουν προκλήσεις που αφορούν τη συμμόρφωση στη θεραπεία, την ανθεκτικότητα που μπορεί να εμφανιστεί στα φάρμακα και τις μακροπρόθεσμες αρνητικές ενέργειες. Οι συνεχείς προσπάθειες για τη βελτίωση της ART, την επέκταση της πρόσβασής της και την αντιμετώπιση κοινωνικών παραγόντων της υγείας είναι απαραίτητες για τον συνεχιζόμενο αγώνα κατά του HIV.

Πίνακας 1.1 Κατάταξη των φαρμάκων της αντιρετροϊκής θεραπείας (Zhao et al. 2022)

NRTIs	Όνομασία
ABC	Αβακαβίρη
3TC	Λαμβουδίνη
FTC	Εμτρισιταβίνη
TDF	Τενοφοβίρη Δισοπροξίλη
TAF	Τενοφοβίρη Αλαφεναμίδη
AZT (ZDV)	Ζιδοβουδίνη
d4T	Σταβουδίνη
ddI	Διδανοσίνη
ddC	Ζαλσιταβίνη
NNRTIs	Όνομασία
EFV	Εφαβιρένζη
NVP	Νεβιραπίνη

ETR	Ετραβιρίνη
RPV	Ριλπιβιρίνη
DOR	Ντοραβίνη
PIs	Όνομασία
ATV	Αταζαναβίρη
DRV	Δαρουναβίρη
LPV/r	Λοπιναβίρη
RTV	Ριτοναβίρη
SQV	Σακουιναβίρη
IDV	Ινδιναβίρη
NFV	Νελφιναβίρη
TPV	Τιπραναβίρη
FPV	Φοσαμπρεναβίρη
INSTIs	Όνομασία
RAL	Ραλτεγκραβίρη
EVG	Ελβιτεγκραβίρη
DTG	Ντολουτεγκραβίρη
BIC	Βικτεγκραβίρη

1.4. Τα Ανθρώπινα Λευκοκυτταρικά Αντιγόνα (HLA)

Ο πληθυσμός γονιδίων που συμμετέχει στην απόρριψη των μεταμοσχεύσεων και είναι γνωστό ως Μείζων Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας (*major histocompatibility complex*, MHC), αποτελείται από έναν μεγάλο αριθμό πολυμορφικών μορίων της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων. Το ανθρώπινο MHC ονομάζεται και Σύστημα Ανθρώπινων Λευκοκυτταρικών Αντιγόνων (*human leukocyte antigen*, HLA) μιας και είχε πρώτο αναγνωριστεί χρησιμοποιώντας αλλοαντισώματα ενάντια στα λευκοκύτταρα. Πέρα από τη χρήση των HLA γονιδίων για την επίτευξη επιτυχημένων μεταμοσχεύσεων, ο βιολογικός ρόλος τους αφορά την ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα γονίδια του ανθρώπινου λευκοκυτταρικού αντιγόνου βρίσκονται στην περιοχή 6p21.3 του 6^{ου} χρωμοσώματος και έχει ως ρόλο να κωδικοποιεί πρωτεΐνες που παρουσιάζουν πεπτιδικά θραύσματα στα T λεμφοκύτταρα. Υπολογίζεται πως αποτελείται από τουλάχιστον 3.600 κιλοβάσεις DNA και 220 γονίδια, αντανακλώντας την αναγκαιότητα του πολυμορφικού χαρακτήρα για την εύρυθμη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. (Dausset and Cohen 1984)

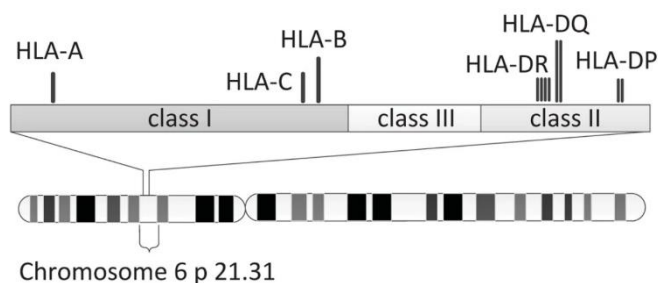
Τα γονίδια HLA χωρίζονται σε 3 κύριες τάξεις (Εικόνα 4). Η τάξη I περιλαμβάνει τα HLA-A, HLA-B και HLA-C, η τάξη II περιλαμβάνει τα HLA-DR, HLA-DQ και HLA-DP, ενώ η τάξη III περιλαμβάνει γονίδια τα οποία σχετίζονται με τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να αναγνωρίζει μια μεγάλη ποικιλία από παθογόνους μικροοργανισμούς οφείλεται στις εκφράσεις των αλληλομόρφων που εντοπίζονται στο συγκεκριμένο γονίδιο. (Chimini et al. 1988)

Τα μόρια της τάξης I εκφράζονται σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα παρουσιάζοντας ενδογενή πεπτιδικά των ικών πρωτεϊνών στα CD8⁺ T λεμφοκύτταρα και παράλληλα κωδικοποιούν την βαριά αλυσίδα των μορίων της τάξης I. Αυτή η διαδικασία είναι κρίσιμη για την ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να ανιχνεύει και να καταστρέφει κακοήθη κύτταρα. Όταν για παράδειγμα ένα κύτταρο μολυνθεί από έναν ιό, οι ικές πρωτεΐνες διασπώνται σε πεπτιδικά από τα πρωτεασώματα του κυττάρου. Στη συνέχεια αυτά τα πεπτιδικά μεταφέρονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου συνδέονται με τα HLA τάξης I. Το σύμπλοκο HLA-πεπτιδίου μεταφέρεται στην επιφάνεια του κυττάρου, όπου αναγνωρίζονται από τον υποδοχέα TCR των CD8⁺ T λεμφοκυττάρων έτσι ώστε αν αναγνωρίσει το πεπτιδίο ως ξένο, να το καταστρέψει. (Dou et al. 2019d). Εξίσου σημαντικά μόρια αποτελούν τα HLA-E, -F, και -G της πρώτης τάξης μιας και τα HLA-G συμβάλουν στην αντοχή και άμυνα του οργανισμού κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. (Koller et al. 1988).

Στα γονίδια HLA της τάξης II συμπεριλαμβάνονται τα HLA-DR, HLA-DQ και HLA-DP με την οικογένεια των HLA-DR γονιδίων να περιέχει ένα γονίδιο HLA-DRA που κωδικοποιεί την α αλυσίδα των MHC και 9 γονίδια HLA-DRB (DRB1-DRB9) που κωδικοποιούν διάφορες β αλυσίδες. Όσον αφορά τις οικογένειες HLA-DP και HLA-DQ περιέχουν γονίδια για να εκφράζουν τις δικές τους α και β αλυσίδες, με τα HLA-

DQA1 και -DQB1 να συμβάλουν στη δημιουργία των -DQ μορίων και τα HLA-DPA1 και -DPB1 να συμβάλουν στη δημιουργία DP μορίων. (Hitman et al., 1987)

Ο βασικός ρόλος των HLA τάξης II είναι να παρουσιάζουν εξωγενή πεπτίδια των βακτηριακών πρωτεϊνών ή και παρασίτων στα CD4+ T λεμφοκύτταρα, τα οποία εκφράζονται κυρίως στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (*antigen presenting cells*, APCs) του ανθρώπινου οργανισμού όπως τα δενδριτικά, μακροφάγα και τα B λεμφοκύτταρα. Όταν ένα APC έχει προσλάβει ένα παθογόνο, το παθογόνο διασπάται σε πεπτίδια μέσα στα ενδοσώματα³ ώστε να συνδεθούν με τα μόρια HLA τάξης II και να μεταφερθούν στην επιφάνεια των κυττάρων για να αλληλοεπιδράσουν με τον υποδοχέα των CD4+ T λεμφοκυττάρων. Αυτά με τη σειρά τους βοηθούν στον συντονισμό την ανοσολογικής αντίδρασης και στην ενεργοποίηση άλλων ανοσοκυττάρων για την παραγωγή αντισωμάτων. (Ulvestad 1994)



Εικόνα 1.4 : Το HLA γονίδιο. <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-11-S11-S10/figures/1>

Η περιοχή του γονιδίου της τάξης III δεν κωδικοποιεί μόρια που παρουσιάζουν αντιγόνα, όμως περιλαμβάνουν άλλα γονίδια που εμπλέκονται στις ανοσολογικές αντιδράσεις όπως συστατικά του συμπληρωματικού συστήματος και κυτοκίνες. Το συμπληρωματικό σύστημα αποτελείται από μια σειρά πρωτεϊνών που ενισχύουν την ικανότητα των αντισωμάτων και των φαγοκυττάρων να προάγουν την φλεγμονή και να επιτίθενται στην κυτταρική μεμβράνη των παθογόνων. Οι κυτοκίνες είναι μόρια που διαμεσολαβούν στη ρύθμιση της ανοσίας, της φλεγμονής και της αιμοποίησης. (Janeway CA Jr 2001)

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, το σύμπλεγμα γονιδίων HLA είναι εξαιρετικά πολυμορφικό, που σημαίνει ότι υπάρχει μεγάλη ποικιλία στις γονιδιωματικές αλληλουχίες των HLA γονιδίων μεταξύ των ατόμων. Αυτή η γενετική ποικιλότητα είναι πλεονεκτική για τον πληθυσμό στο σύνολό του, καθώς αυξάνει την ικανότητα να ανταποκρίνεται σε ένα ευρύ φάσμα παθογόνων. Κάθε άτομο έχει ένα μοναδικό συνδυασμό

³ Τα ενδοσώματα είναι κυστίδια τα οποία δεσμεύονται στην κυτταρική μεμβράνη και περιλαμβάνει υλικά από τη διαδικασία της ενδοκυττάρωσης. Εμφανίζεται σε 3 μορφές ανάλογα με την φάση του κυττάρου. Υπάρχει το πρώιμο ενδόσωμα, το ανακυκλώσιμο ενδόσωμα και το όψιμο ενδόσωμα.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123849649000013>

μορίων HLA, που καθορίζει την ικανότητά τους να παρουσιάζουν διαφορετικά πεπτιδικά αντιγόνων και να επηρεάζει την ευαισθησία τους στις λοιμώξεις, τις αυτοάνοσες ασθένειες και στις μεταμοσχεύσεις.(Choo 2007b)

Η ταυτοποίηση των HLA, που περιλαμβάνει τον προσδιορισμό των αλληλομόρφων ενός ατόμου, είναι ένα σημαντικό εργαλείο σε διάφορους τομείς της ιατρικής. Στη μεταμόσχευση οργάνων, η ταύτιση HLA μεταξύ δότη και λήπτη είναι κρίσιμη για τη μείωση κινδύνου απόρριψης του μοσχεύματος. Το ανοσοποιητικό σύστημα ενδέχεται να αναγνωρίσει τα μόρια του δότη ως ξένα, οδηγώντας σε ανοσολογική αντίδραση κατά του μεταμοσχευμένου οργάνου. Με την στενή ταύτιση των αλληλομόρφων HLA, ο κίνδυνος απόρριψης μπορεί να μειωθεί. (Mahdi 2013)

Επίσης η ταυτοποίηση HLA χρησιμοποιείται στη διαχείριση και διάγνωση ορισμένων αυτοάνοσων ασθενειών. Έχει διαπιστωθεί πως πολλά αυτοάνοσα νοσήματα έχουν συσχετιστεί με συγκεκριμένα αλληλόμορφα των HLA γονιδίων, το οποίο αποδεικνύει τη συνδεδεμένη γενετική προδιάθεση με αυτά τα γονίδια. Πιο συγκεκριμένα, τα αλληλόμορφα HLA-DR και HLA-DQ είναι στενά συνδεδεμένα με την εμφάνιση διαβήτη τύπου I, ρευματοειδής αρθρίτιδας και κοιλιοκάκης. (Thomson & Cox, 1995) Επιπλέον, κάποια HLA αλληλόμορφα είναι συνδεδεμένα με την εμφάνιση ευαισθησίας ή ανοχής σε λοιμώδη νοσήματα, με την απάντηση του ανοσοποιητικού στα παθογόνα να εξαρτάται από τη γενετική τοποθέτηση των αλληλομόρφων. (Blackwell, Jamieson, and Burgner 2009)

Η γενετική διαφοροποίηση στα πρώτα στάδια εμβρυϊκής ζωής είναι ο λόγος ύπαρξης των πολυμορφισμών των HLA γονιδίων, το οποίο συνδέεται άμεσα με την ανάγκη αναγνώρισης πολλών παθογόνων. (Grimsley, Mather, and Ober 1998) Η πρόσφατη χρήση της μεθόδου Αλληλούχησης Επόμενης Γενιάς (*Next Generation Sequencing*, NGS) έχει προσφέρει νέα δεδομένα που αφορούν το συγκεκριμένο γονίδιο, τόσο σε γενετικό, όσο και σε ρυθμιστικό επίπεδο, κάνοντας πιο κατανοητό το ρόλο έκφρασης τους σε διαφορετικές καταστάσεις. (Meyer et al. 2018) Για παράδειγμα, μια αξιοαναφερόμενη ανακάλυψη αφορά την εντόπιση του αλληλομόρφου HLA-B*13:68 σε κινέζικο πληθυσμό, το οποίο φαίνεται να αλλάζει ένα νουκλεοτίδιο στη θέση 137 του εξωνίου 2 του χρωμοσώματος 6. Αυτό οδηγεί στη μετατροπή του αμινοξέος φαινυλαλανίνης σε σερίνη στο 22^ο κωδικόνιο. (B. Han et al. 2015) Σε μια άλλη έρευνα, εντοπίστηκαν νέα αλληλόμορφα HLA τάξης I, όπως τα A01:114, A02:397, A11:129, A32:46, B44:160, και C07:307. Τα συγκεκριμένα αλληλόμορφα φαίνεται να δημιουργούν αμινοξικές αναδιατάξεις οι οποίες μπορεί να επηρεάζουν τις πεπτιδικές συνδέσεις με τους TCRs, κάτι το οποίο επηρεάζει άμεσα την απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος στους παθογόνους μικροοργανισμούς, ακόμα και στις μεταμοσχεύσεις. (T. F. Tang et al. 2006)

Σε μια άλλη έρευνα στην Βραζιλία αναγνωρίστηκαν 4 νέα αλληλόμορφα της τάξης II, τα DRB104:11:03, DRB110:05, DRB115:94, και DRB116:22. Τα συγκεκριμένα αλληλόμορφα εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στις μεταλλάξεις ενός νουκλεοτιδίου που προκαλούν. Τέτοιες ανακαλύψεις συντελούν στην κατανόηση και επισήμανση της ποικιλότητας που εμφανίζεται στον συγκεκριμένο γενετικό τόπο σε σχέση με τα υπό-

λοιπα γονίδια του ανθρώπινου οργανισμού. (Fabreti-Oliveira et al. 2014). Οι συγκεκριμένες γνώσεις αποτελούν ένα σημαντικό όπλο ενάντια σε αναδυόμενες ασθένειες μιας και έχουν προσφέρει στην ενίσχυση των θεραπειών και στην ακριβέστερη αντιμετώπισή τους. (Suzuki et al. 2018)

Όσον αφορά την κληρονομή των συγκεκριμένων γονιδίων ακολουθείται η Μενδελική κληρονομικότητα με δύο αδέρφια να έχουν 25% πιθανότητα να κληρονομήσουν τα ίδια HLA γονίδια, 50% πιθανότητα να φέρουν έναν ίδιο απλότυπο και 25% πιθανότητα να διαφέρουν εντελώς. Αν και οι συνδυασμοί των HLA γονιδίων που εντοπίζονται φαίνεται να είναι αμέτρητοι, υπάρχουν συγκεκριμένοι απλότυποι που εντοπίζονται πιο συχνά στους Καυκάσιους πληθυσμούς. Σε ποσοστό συχνότητας 5%, τα HLA-A1, B8 και DR17 είναι επικρατέστερα. (Roitberg-Tambur et al. 1994)

Όλα αυτά τα έτη έχει αποδειχτεί πως διάφορες ασθένειες, κυρίως αυτοάνοσες, συσχετίζονται με το σύστημα των HLA γονιδίων. Δεν έχει κατανοηθεί πλήρως ο μηχανισμός με τον οποίο εμφανίζονται, ωστόσο πέρα από το γενετικό υπόβαθρο υπάρχουν και περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν στην εμφάνισή τους. Μερικές ασθένειες (Πίνακας 1.4.1.) που η εμφάνισή τους σχετίζεται με το είδος των HLA γονιδίων είναι η ναρκοληψία με τα HLA-DQB1*0602 και HLA-DRB1*1501 να διαδραματίζουν προδιαθετικό ρόλο στην εμφάνισή της, η αγκυλοποιητική σπονδυλαρθρίτιδα με το HLA-B27 αλληλόμορφο, η κοιλιοκάκη με το HLA-DQB1*02, η ρευματοειδής αρθρίτιδα με μια συγκεκριμένη αμινοξική αλληλουχία στα HLA-DR4, -DR1, η διαβήτης τύπου Ι με την απουσία της ασπαραγίνης στη θέση 57 της DQB1 αλυσίδας και με την ύπαρξη των HLA-DR3, -DR4. Επιπλέον η ασθένεια της αιμοχρωμάτωσης έχει συσχετιστεί με το HLA-H γονίδιο της τάξης Ι με την πιο συχνή μετάλλαξη να αφορά την αντικατάσταση ενός αμινοξέος στην α3 περιοχή της HF3 πρωτεΐνης που κωδικοποιείται από το συγκεκριμένο γονίδιο. (Choo 2007a)

Εν κατακλείδι, οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους τα αλληλόμορφα HLA συμβάλλουν στην προδιάθεση για αυτοάνοσες ασθένειες δεν είναι πλήρως κατανοητοί, αλλά θεωρούνται ότι περιλαμβάνουν την παρουσίαση αυτό-πεπτιδίων, τα οποία μιμούνται ξένα πεπτίδια παθογόνων μικροοργανισμών, οδηγώντας στην ενεργοποίηση αυτό-δραστικών Τ λεμφοκυττάρων. (Ooi et al. 2017) Τα γονίδια HLA αποτελούν ένα βασικό μέρος του ανοσοποιητικού συστήματος, είναι υπεύθυνα για την παρουσίαση πεπτιδικών αντιγόνων στα Τ λεμφοκύτταρα και αποτελούν ρυθμιστές των ανοσολογικών αντιδράσεων. Ο μεγάλος βαθμός πολυμορφισμού τους επιτρέπει να ανταποκρίνονται σε ένα ευρύ φάσμα παθογόνων και να χρησιμοποιούνται στη μεταμόσχευση οργάνων, στη διάγνωση αυτοάνοσων ασθενειών και σε άλλους τομείς της ιατρικής. Με τη συνεχή έρευνα αλληλομόρφων του συγκεκριμένου γενετικού πληθυσμού, εκτιμάται πως θα ανακαλύπτονται ολοένα και περισσότεροι πολυμορφισμοί.

Πίνακας 1.2. Αυτοάνοσα νοσήματα συσχετισμένα με τα HLA γονίδια

<u>Ασθένεια</u>	<u>HLA γονίδιο</u>
Ναρκοληψία	HLA-DQB1*0602, HLA-DRB1*1501
Αγκυλοποιητική Σπονδυλαρθρίτιδα	HLA-B27
Διαβήτης τύπου I	HLA-DR3, HLA-DR4
Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	HLA-DR4, HLA-DR1
Αιμοχρωμάτωση	HLA-H
Κοιλιοκάκη	HLA-DQB1*02

1.5. Αντιδράσεις Υπερευαισθησίας λόγω των HLA γονιδίων.

Οι αντιδράσεις υπερευαισθησίας είναι ανεπιθύμητες ανοσολογικές αντιδράσεις που συμβαίνουν όταν το ανοσοποιητικό σύστημα αντιδρά ακατάλληλα σε μια ξένη ουσία, οδηγώντας σε βλάβη των ιστών και σε νόσο. Ορισμένα αλληλόμορφα HLA έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο αντιδράσεων υπερευαισθησίας σε συγκεκριμένα φάρμακα. Αυτές οι συσχετίσεις υπογραμμίζουν τη σημασία της κατανόησης των γενετικών προδιαθέσεων για την εξασφάλιση ασφαλέστερων ιατρικών θεραπειών. Οι αντιδράσεις υπερευαισθησίας που συνδέονται με τα HLA είναι συνήθως μεσολαβούμενες από τα T λεμφοκύτταρα. Όταν ένα φάρμακο συνδέεται με ένα μόριο HLA, μπορεί να αλλάξει το συνδυασμό των πεπτιδίων που παρουσιάζονται στα T κύτταρα, οδηγώντας στην ενεργοποίησή τους και στην απελευθέρωση κυτοκινών. Αυτή η ανοσολογική αντίδραση είναι ικανή να προκαλέσει μια σειρά συμπτωμάτων που αφορούν ήπια δερματικά εξανθήματα έως και σοβαρές, απειλητικές για τη ζωή αντιδράσεις. (P. Thomson, Hammond, and Naisbitt 2022)

Οι αλλεργικές αντιδράσεις ή αλλιώς αντιδράσεις υπερευαισθησίας χωρίζονται σε 4 τύπους ανάλογα με τον μηχανισμό με τον οποίο προκαλούνται. (Πίνακας 1.5.1). Αρχικά υπάρχει ο τύπος υπερευαισθησίας I (άμεσος) που μεσολαβούν τα IgE αντισώματα και χωρίζεται σε δύο φάσεις. Στην φάση ευαισθητοποίησης το αλλεργιογόνο προκαλεί την παραγωγή των IgE αντισωμάτων από τα B λεμφοκύτταρα. Έπεται η φάση ενεργοποίησης όπου τα IgE συνδέονται με τα βασεόφιλα και τα μαστοκύτταρα ώστε να προκαλέσουν την αποκοκκίωσή τους και να απελευθερώσουν ισταμίνες, λευκοτρίνες και άλλες ουσίες της διαδικασίας της φλεγμονής. Οι πιο συχνές εκδηλώσεις της αφορούν την αλλεργική ρινίτιδα και το άσθμα ενώ υπάρχει και η περίπτωση εκδήλωσης αναφυλαξίας, η οποία απαιτεί άμεση θεραπεία με επινεφρίνη. (Uzzaman & Cho, 2012)

Ο τύπος υπερευαισθησίας II (κυτταροτοξικός) που περιλαμβάνει τα IgG και IgM αντισώματα προκαλεί κυτταρικές καταστροφές μιας και συνδέονται με τα αντιγόνα που βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων του ξενιστή. Αυτός ο μηχανισμός μπορεί να δράσει είτε με ενεργοποίηση του συμπληρώματος για την λύση των κυττάρων, είτε με την απελευθέρωση κυτταροτοξικών ουσιών από τα κύτταρα φυσικοί φονιάδες (NK), είτε μέσω της δράσης των φαγοκυττάρων. Τα πιο ηχηρά παραδείγματα τέτοιου τύπου αφορά την αιμολυτική αναιμία και το αυτοάνοσο σύνδρομο goodpasture⁴. (Dispenza 2019)

Ο τύπος υπερευαισθησίας III που προκαλείται από τα συμπλέγματα αντιγόνων-αντισωμάτων προκαλεί φλεγμονές και ενεργοποίηση του συμπληρώματος διότι δεν καταφέρνουν να φαγοκυτταρωθούν επαρκώς, οπότε συσσωρεύονται στους ιστούς με αποτέλεσμα να προσελκύουν ουδετερόφιλα και άλλα φλεγμονώδη κύτταρα τα οποία καταστρέφουν τον ιστό. Αυτός ο τύπος περιλαμβάνει ασθένειες όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και ο συστηματικός ερυθρηματώδης λύκος (SLE). (Pichler 2003)

⁴ Το σύνδρομο Goodpasture είναι μια σπάνια αυτοάνοση ασθένεια η οποία χαρακτηρίζεται από την παραγωγή αντισωμάτων ενάντια στη βασική μεμβράνη του νεφρικού σπειράματος και των κυψελιδικών βασικών μεμβρανών. Ως αποτέλεσμα, δημιουργούνται σοβαρές βλάβες στους ιστούς όπως σπειραματονεφρίτιδα και αιμορραγική πνευμονίτιδα αντίστοιχα.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459291/>

Ο τύπος υπερευαισθησίας IV (καθυστερημένος) ρυθμίζεται από T λεμφοκύτταρα και περιλαμβάνει δύο φάσεις. Στην φάση ευαισθητοποίησης τα T λεμφοκύτταρα στρέφονται προς ένα αντιγόνο κατά την πρώτη έκθεση και στη φάση ενεργοποίησης απελευθερώνουν κυτοκίνες ώστε να προσλάβουν και να ενεργοποιηθούν μακροφάγα για να προκληθεί η βλάβη στον ιστό. Υπάρχουν 4 υποτύποι τύπου IV υπερευαισθησίας (Πίνακα 1.5.2) με την πιο συχνή κλινική εκδήλωση να αφορά την απόρριψη μοσχευμάτων.(Uzzaman and Cho 2012)

Πίνακας 1.3. Αντιδράσεις υπερευαισθησίας

Τύπος Υπερευαισθησίας	Κύτταρα	Παραδείγματα
I: Άμεση	IgE	Άσθμα, Αναφυλαξία, Αλλεργική ρινίτιδα
II: Κυτταροτοξική	IgG/IgM	Αιμολυτική αναιμία, σύνδρομο goodpasture
III: Ανοσοσυμπλέγματα	Αντισώματα-Αντιγόνα	SLE, ρευματοειδής αρθρίτιδα
IV: Καθυστερημένη	T λεμφοκύτταρα	Απόρριψη μοσχευμάτων

Πίνακας 1.4: Υποτύποι υπερευαισθησίας τύπου IV

Υποτύποι IV υπερευαισθησίας	Κύτταρα	Παραδείγματα
IVa	CD4+ / Th1/ Μακροφάγα	Διαβήτης τύπου 1
IVb	CD4+ / Th2 / Ηωσινόφιλα	Άσθμα και χρόνια αλλεργική ρινίτιδα
IVc	CD8+ / T λεμφοκύτταρα	Σύνδρομο Stevens-Johnson και τοξική επιδερμική νεκρόλυση
IVd	T cells / Ουδετερόφιλα	Οξεία γενικευμένη εξανθηματική φλυκταίνωση

Ένα από τα πιο καλά μελετημένα παραδείγματα αντιδράσεων υπερευαισθησίας που συνδέονται με τα HLA γονίδια είναι η αντίδραση στο αντιρετροϊκό φάρμακο της αβacaβίρης, μια ουσία που χρησιμοποιείται στην θεραπεία μόλυνσης με τον HIV. Η αντίδραση συνήθως συμβαίνει μέσα στις πρώτες 6 εβδομάδες της θεραπείας και μπορεί να αποβεί θανατηφόρα σε περίπτωση που δε γίνει διακοπή. (Mallal et al. 2008a) Ο τρόπος

με τον οποίο προκαλείται η αντίδραση αφορά την άμεση σύνδεση της αβακαβίρης με τον υποδοχέα πεπτιδίων του HLA*B57:01 αλληλομόρφου. Η συγκεκριμένη σύνδεση αλλάζει τον μηχανισμό της αντιγονοπαρουσίασης των πεπτιδίων στα T λεμφοκύτταρα με τέτοιο τρόπο που οδηγεί σε παραγωγή CD8+ κυττάρων ειδικά για την αβακαβίρη. Έτσι, τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα απελευθερώνουν κυτοκίνες, οι οποίες αποτελούν την αιτία εμφάνισης των συμπτωμάτων της υπερευαισθησίας. Αυτό που έχει θεωρηθεί είναι πως η σύνδεση της αβακαβίρης με το αλληλόμορφο HLA*B57:01 τροποποιεί τα πεπτίδια με τέτοιο τρόπο ώστε να τα αναγνωρίζει το ανοσοποιητικό σύστημα ως ξένα. (Martin et al. 2004a)

Ένα άλλο παράδειγμα υπερευαισθησίας που σχετίζεται με τα HLA γονίδια είναι η αντίδραση στην καρβαμαζεπίνη. Η καρβαμαζεπίνη είναι ένα αντιεπιληπτικό φάρμακο που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της επιληψίας και του νευροπαθητικού πόνου. Αυτός ο τύπος υπερευαισθησίας συνδέεται στενά με το αλληλόμορφο HLA-B15:02, ιδιαίτερα σε άτομα ασιατικής καταγωγής. Η συγκεκριμένη αντίδραση είναι γνωστή ως Stevens-Johnson (SJS) και αποτελεί μια σοβαρά απειλητική για τη ζωή κατάσταση που χαρακτηρίζεται από φυσαλίδες, αποκόλληση δέρματος και βλεννογόνων. Ο μηχανισμός υπερευαισθησίας είναι σχεδόν ίδιος με αυτόν της αβακαβίρης, δηλαδή η καρβαμαζεπίνη συνδέεται με το μόριο HLA αλλάζοντας την παρουσίαση των πεπτιδίων και προκαλώντας παραγωγή ειδικών T λεμφοκυττάρων. (Martin et al. 2004b)

Ένα άλλο παράδειγμα αφορά το φάρμακο της αλλοπουρινόλης, το οποίο χρησιμοποιείται για την θεραπεία της ουρικής αρθρίτιδας. Η ύπαρξη του αλληλομόρφου HLA*B58:01 έχει συσχετιστεί με σοβαρές ανεπιθύμητες δερματικές αντιδράσεις (*Severe Cutaneous Adverse Reactions*, SCAR) σε άτομα τα οποία λαμβάνουν το συγκεκριμένο φάρμακο. Η εξέταση για την ύπαρξη του αλληλομόρφου συνίσταται πριν την έναρξη θεραπείας με αλλοπουρινόλη για την πρόληψη των SCAR. Τέτοιες αντιδράσεις υπερευαισθησίας προκαλούνται και από το αντιβιοτικό δαψόνη που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της λέπρας και της πνευμονοκύστης από το *Pneumocystis jirovecii*. Ο αιτιολογικός παράγοντας βρίσκεται στην ύπαρξη του αλληλομόρφου HLA*B13:01. (Kim et al. 2017)

Ο ρόλος των γονιδίων HLA στις αντιδράσεις υπερευαισθησίας εκτείνεται πέρα από τις αντιδράσεις σε φάρμακα. Ορισμένα αλληλόμορφα HLA συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο υπερευαισθησίας σε περιβαλλοντικά αλλεργιογόνα, όπως η γύρη, τρίχες ζώων και τρόφιμα. Για παράδειγμα, τα HLA-DQ2 και HLA-DQ8 συνδέονται με την κοιλιοκάκη, μια αυτοάνοση νόσος δυσανεξίας στη γλουτένη. Τα άτομα που φέρουν τα συγκεκριμένα αλληλόμορφα διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης κοιλιοκάκης, η οποία χαρακτηρίζεται από ανεπαρκή ανοσολογική αντίδραση στα πεπτίδια της γλουτένης που παρουσιάζονται με τα HLA-DQ γονίδια. Έτσι, αυτή η αντίδραση οδηγεί τόσο σε φλεγμονή όσο και σε βλάβη της εξωτερικής στιβάδας του λεπτού εντέρου, προκαλώντας συμπτώματα όπως διάρροια, κοιλιακός άλγος και δυσαπορρόφηση θρεπτικών συστατικών. (Alfirevic and Pirmohamed 2010)

Συνοψίζοντας, οι αντιδράσεις υπερευαισθησίας λόγω των γονιδίων HLA αποτελούν σημαντική πτυχή της φαρμακογενετικής και της εξατομικευμένης ιατρικής. Με την

ταυτοποίηση γενετικών παραγόντων που προδιαθέτουν τα άτομα σε ανεπιθύμητες αντιδράσεις στα φάρμακα, οι πάροχοι υγειονομικής περίθαλψης μπορούν να προσαρμόσουν τις θεραπείες για να ελαχιστοποιήσουν τους κινδύνους και να βελτιώσουν τα αποτελέσματα των ασθενών. Η χρήση της γενετικής εξέτασης για την καθοδήγηση της φαρμακευτικής θεραπείας αποτελεί παράδειγμα της ακριβούς ιατρικής, που στοχεύει στην παροχή της σωστής θεραπείας στον σωστό ασθενή την κατάλληλη στιγμή. Η συνεχής έρευνα σε αυτόν τον τομέα θα διευκρινίσει περαιτέρω τους μηχανισμούς που υποκρύπτουν αυτές τις αντιδράσεις και θα συμβάλει στην πρόοδο της ακριβούς ιατρικής.(Chonlaphat Sukasem, 2014)

1.6. HLA*B57:01 και η αντίδραση υπερευαισθησίας στην αβακαβίρη.

Η αβακαβίρη είναι ένας νουκλεοσιδικός αναστολέας της αντίστροφης μεταγραφάσης (NRTI) και αποτελεί ένα απαραίτητο φάρμακο της αντιρετροϊκής θεραπείας (ART) για την θεραπεία από την λοίμωξη με τον ιό HIV-1. Η αβακαβίρη αναστέλλει τη λειτουργικότητα της αντίστροφης μεταγραφάσης του ιού, αποτρέποντας τον πολλαπλασιασμό του. Ενδοκυτταρικά μεταβολίζεται σε τριφωσφορική καρβοβίρη (CBV-TP), η οποία αναστέλλει το ιικό ένζυμο που προκαλεί τον τερματισμό της αλυσίδας του DNA. Όταν συνδυάζεται με άλλα αντιρετροϊκά φάρμακα όπως για παράδειγμα η λαμβουδίνη και η ζιδοβουδίνη, μειώνει σημαντικά το ιικό φορτίο σε σημείο που μπορεί να πετύχει μη ανιχνεύσιμα επίπεδα σε ορισμένα άτομα. (Hervey and Perry 2000a)

Η ανταπόκριση στην αβακαβίρη προκαλείται εξαιτίας μεταλλάξεων που προκύπτουν στα κωδικόνια K65R, L74V, Y115F και M184V της αντίστροφης μεταγραφής του ιού HIV-1. Τέτοιες μεταλλάξεις είναι δυνατόν να προκύψουν ύστερα από μονοθεραπεία με αβακαβίρη και λιγότερο συχνά όταν η αβακαβίρη χρησιμοποιείται σε cART. (Harrigan et al. 2000). Ύστερα από την χορήγησή της από το στόμα, απορροφάται γρήγορα με τις μέγιστες συγκεντρώσεις της να εμφανίζονται στο πλάσμα μέσα σε 1 ώρα. Η βιοδιαθεσιμότητα, δηλαδή η ποσότητα που εισέρχεται στο αίμα, είναι στο 83% με το ήπαρ να αποτελεί μέρος εκτενούς μεταβολισμού της. Οι κύριες μεταβολικοί οδοί περιλαμβάνουν την διφωσφορική γλυκουρονοσυλοτρανσφεράση της ουριδίνης και την αφυδρογονάση της αλκόολης, παράγοντας ανενεργούς μεταβολίτες που απεκκρίνονται στα ούρα. (Yuen, Weller, and Pakes 2008a)

Από τις πιο συχνές ανεπιθύμητες αντιδράσεις της αβακαβίρης είναι η ναυτία, η διάρροια καθώς και η κεφαλαλγία. Περίπου το 5% των ασθενών παρουσιάζουν υπερευαισθησία, η οποία περιλαμβάνει συμπτώματα όπως πυρετό, εξανθήματα και γαστρεντερικά προβλήματα. Αυτή η αντίδραση υπερευαισθησίας συνδέεται άμεσα με το αλληλόμορφο HLA*B57:01 και συνίσταται γενετικός έλεγχος πριν την έναρξη της θεραπείας για την πρόληψη των ανεπιθύμητων αντιδράσεων. (Hervey, P., & Perry, C., 2000) Ωστόσο κλινικές μελέτες έχουν αποδείξει πως η αβακαβίρη ως μέρος συνδυαστικής θεραπείας μειώνει αποτελεσματικά τα επίπεδα RNA του ιού HIV-1 και αυξάνει τον αριθμό των κυττάρων CD4+. Τέτοιες επιδράσεις είναι ιδιαίτερα θετικές σε άτομα τα οποία λαμβάνουν για πρώτη φορά ART. (Hervey and Perry 2000b) Επιπλέον, φαρμακοκινητικές μελέτες απέδειξαν πως η αβακαβίρη διατηρεί σταθερές συγκεντρώσεις στο πλάσμα όταν χορηγείται δύο φορές την ημέρα, χωρίς να επηρεάζεται η αποτελεσματικότητά της από την πρόσληψη τροφής. (Yuen, Weller, and Pakes 2008b)

Γενικά, ο εντοπισμός του αλληλομόρφου HLA*B57:01 ποικίλει ανάλογα την εθνικότητα του πληθυσμού που μελετάται. Για παράδειγμα ο Καυκάσιος πληθυσμός εμφανίζει ένα ποσοστό 4-8% σε σχέση με τον Μεξικάνικο πληθυσμό (0,2-4%), ενώ παράλληλα έρευνες στην Λατινική Αμερική όπως στην Αργεντινή, Βραζιλία, Χιλή, έχουν υπολογίσει ένα ποσοστό εύρους 2-5,6%. (Martínez Buitrago et al. 2019a) Έρευνες στην Ευρώπη αποδεικνύουν την ύπαρξη του αλληλομόρφου σε ποσοστό που κυμαίνεται από

1,53% έως και 7,75%. (Orkin n.d.) Όσον αφορά τον παγκόσμιο εντοπισμό (Εικόνα 5) του πολυμορφισμού και τις έρευνες που έχουν γίνει ανά τον κόσμο, φαίνεται πως το ποσοστό αντίχνευσής του κυμαίνεται σε ένα συγκεκριμένο εύρος. Στον πίνακα 1.6. παρουσιάζονται οι χώρες και τα αποτελέσματα των ερευνών που αφορούν την αντίχνευση του αλληλομόρφου HLA*B57:01.

Πίνακας 1.5.: Αποτελέσματα ερευνών για τον πολυμορφισμό HLA*B57:01

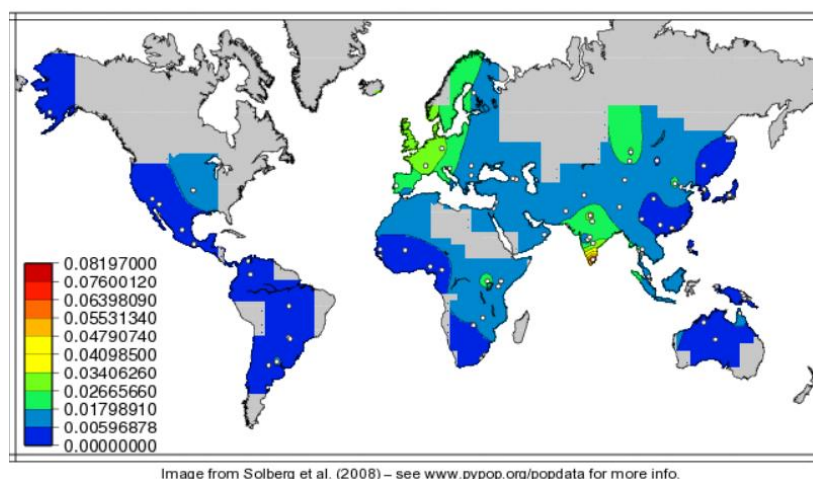
Χώρα	Σύνολο Δειγμάτων	Αποτελέσματα	Πηγές
Νότια Αμερική	385	13/385 3,37%	«HLA-B*57:01 allele prevalence in HIV-infected North American subjects and the impact of allele testing on the incidence of abacavir-associated hypersensitivity reaction in HLA-B*57:01-negative subjects. » (Small et al. 2017)
Τουρκία	25.318	827/25.318 3,3%	«The Prevalence of HLA-B*57 Serotype Associated with Hypersensitivity Reactions in the Treatment of HIV Infection in the Turkish Population. » (Kizmaz et al. 2023)
Τσεχία	315	16/315 5,08%	«Prevalence of human leukocyte antigen HLA-B*57:01 in HIV-infected subjects in the Czech Republic. » (Jilich et al. 2011)
Αργεντινή	1646	81/1646 4,9%	«Prevalence of HLA-B*57:01 allele in Argentinean HIV-1 infected patients. » (Moragas et al. 2015)
Κολομβία	902	24/902 2.7%	«HLA-B*57:01 allele prevalence in treatment-Naïve HIV-infected patients from Colombia. » (Martínez Buitrago et al. 2019b)
Νιγηρία	1504	0/1504 0%	«Absence of human leukocyte antigen B*57:01 amongst patients on antiretroviral therapy in Nigeria: Implications for use of abacavir. »(Agbaji et al. 2019)
Κεντρική και Δυτική Αφρική	4016	6/4016 0,1%	«Prevalence of human leukocyte antigen HLA-B*57:01 in individuals with HIV in West and Central Africa. » (Kolou et al. 2021)

Η γενετική εξέταση για το αλληλόμορφο HLA*B57:01 αποτελεί υπόθεση ρουτίνας πριν από την έναρξη ART με αβακαβίρη. Η εφαρμογή αυτής της εξέτασης έχει μειώσει σημαντικά την εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων που σχετίζονται με αυτή. Όσα άτομα βρίσκονται να φέρουν το συγκεκριμένο αλληλόμορφο λαμβάνουν εναλλακτική θεραπεία με αντιρετροϊκά φάρμακα, αποφεύγοντας τον κίνδυνο της υπερευαισθησίας.(Mallal et al. 2008b). Η γνώση της ύπαρξης του αλληλομόρφου HLA*B57:01 δίνει πληροφορίες και για την επιλογή φαρμάκων για τη διαχείριση παρενεργειών. Για παράδειγμα, όσα άτομα που ζουν με τον ιό HIV βρεθούν με τον πολυμορφισμό μπορούν να ξεκινήσουν θεραπεία με εναλλακτικά φάρμακα NRTIs , όπως η τενοφοβίρη ή η εμτρισιταβίνη. Αυτή η προληπτική προσέγγιση βελτιώνει τα επίπεδα ασφαλείας και τη συμμόρφωση με την ART, η οποία είναι κρίσιμη για την επίτευξη και τη διατήρηση της ιικής καταστολής.

Πέρα από τη σημασία της ανίχνευσης του πολυμορφισμού HLA*B57:01 στην πρόληψη των αντιδράσεων υπερευαισθησίας, η εξέταση έχει προσφέρει γνώσεις για τη γενετική βάση των αντιδράσεων στα φάρμακα. Η επιτυχία της εξέτασης για το αλληλόμορφο έχει ενισχύσει το ενδιαφέρον για ανίχνευση άλλων γενετικών δεικτών που μπορούν να προκαλέσουν ανεπιθύμητες αντιδράσεις σε φάρμακα. Αυτή η έρευνα αποτελεί μέρος του πεδίου της φαρμακογενετικής, που στοχεύει στην κατανόηση του τρόπου με τον οποίο οι γενετικές διαφοροποιήσεις επηρεάζουν την ανταπόκριση σε διάφορες φαρμακευτικές ουσίες. Επιπλέον, η ανίχνευση του πολυμορφισμού HLA*B57:01 ως παράγοντας κινδύνου για υπερευαισθησία στην αβακαβίρη έχει προσφέρει πληροφορίες για μηχανισμούς αντιδράσεων που προκαλούνται από φάρμακα. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, το σύνδρομο SJS και η τοξική επιδερμική νεκρόλυση λόγω της καρβαμαζεπίνης και του αλληλομόρφου HLA*B15:02 έχουν παρόμοιο μηχανισμό δράσης με αυτόν την αβακαβίρης, υπογραμμίζοντας τη σημασία της κατανόησης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φαρμάκων και ανοσοποιητικού συστήματος. (Ma, Lee, and Kuo 2010)

Βέβαια, οι προκλήσεις του γενετικού ελέγχου του πολυμορφισμού HLA*B57:01 δεν παύουν να είναι υπαρκτές και να χρήζουν αντιμετώπισής τους. Μια πρόκληση αφορά το κόστος και την πρόσβαση σε γενετικές δοκιμές. Αν και η εξέταση αυτή είναι οικονομικά αποδοτική στο πλαίσιο της πρόληψης σοβαρών αντιδράσεων υπερευαισθησίας, το κόστος της εξέτασης μπορεί να εξακολουθεί να αποτελεί εμπόδιο σε μέρη και χώρες με περιορισμένη πρόσβαση σε πόρους. (Schackman et al. 2008) Μια άλλη πρόκληση αφορά την ερμηνεία και επικοινωνία των αποτελεσμάτων των γενετικών δοκιμών. Οι πάροχοι υγειονομικής περίθαλψης πρέπει να είναι εφοδιασμένοι με γνώσεις και εργαλεία για την ορθή ερμηνεία των αποτελεσμάτων των γενετικών τεχνικών, ώστε να επικοινωνούν με σαφή τρόπο τις επιπτώσεις στους ασθενείς. Αυτό φυσικά περιλαμβάνει την κατανόηση των περιορισμών των γενετικών δοκιμών, όπως την πιθανότητα ψευδώς θετικών ή αρνητικών αποτελεσμάτων και την παροχή της κατάλληλης συμβουλευτικής στους ασθενείς για τα οφέλη και τους κινδύνους της γενετικής εξέτασης. (Donohue et al. 2021)

B*5701



Εικόνα 5: Παγκόσμιος εντοπισμός του πολυμορφισμού HLA*B57:01 <http://pyrop.org/popdata/2008/maps/B-5701.gif>

Συνοψίζοντας, η ανίχνευση της μετάλλαξης πολυμορφισμού HLA*B57:01 και η συσχέτισή της με την αβακαβίρη έχει αποτελέσει σημαντική πρόοδο στην φαρμακογενετική αλλά και στην βελτίωση των αποτελεσμάτων της ART. Με την εξέταση αυτή ως υπόθεση ρουτίνας ενισχύεται η ακριβής καθοδήγηση των ασθενών και βελτιστοποιούνται τα αποτελέσματα της θεραπείας, αποφεύγοντας τυχών ανεπιθύμητες αντιδράσεις που μπορεί να αποβούν μοιραίες χωρίς την κατάλληλη γνώση και καθοδήγηση.

Κεφάλαιο 2: Πειραματική Διαδικασία

2.1 Εξοπλισμός-Αναλώσιμα

Κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω εργαστηριακός εξοπλισμός και αναλώσιμα:

1,5mL αποστειρωμένα σωληνάρια φυγοκέντρησης

0,5mL αποστειρωμένα σωληνάρια PCR

Αυτόματες πιπέτες (P1000,P200,P20,P10)

Filter Tips

Διηθητικό χαρτί

Κωνικές φιάλες ζέσεως (250mL, 500mL)

Ογκομετρικός κύλινδρος των 100mL

Συσκευή Ανάδευσης

Καταψύκτης -20°C

Φυγόκεντρος 12 θέσεων Kisker Biotech combi spin FVL-2400N

Ψυχόμενη Φυγόκεντρος 24 θέσεων (Hettich Universal 32R)

Θάλαμος Βιοασφαλείας Microflow BSL-2

Φασματοφωτόμετρο (Quawell 9000)

Ξηρός θερμικός επωαστήρας (Kisker Biotech Dry Bath)

Σύστημα φωτογράφισης πηκτώματος (FastGene FAS-DIGI PRO)

Σύστημα ηλεκτροφόρησης Amessham Biosciences EPS 301 για Agarose Gel

Θερμοκυκλοποιητής (Applied Biosystems MiniAmp Thermal Cycler / Applied Biosystems SimpliAmp Thermal Cycler)

Ζυγός ακριβείας KERN PC13

Φούρνος Μικροκυμάτων

2.2 Πειραματικές διαδικασίες

2.2.1 Απομόνωση γενετικού υλικού – Extraction Protocol

Για την απομόνωση ανθρώπινου DNA από δείγματα ατόμων που ζουν με τον ιό HIV χρησιμοποιήθηκε το αντιδραστήριο PureLink™ Genomic DNA Mini Kit από την εταιρία Invitrogen (Catalog No. K1820-00).

Αρχικά, παρατηρούμε αν η ποσότητα από τα δείγματα buffy coat είναι επαρκής για τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας. Σε περίπτωση που η ποσότητα είναι μικρότερη από 200μL οι οδηγίες της εταιρίας αναγράφουν να γίνει προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος PBS. Ταυτόχρονα ρυθμίζουμε τον ξηρό θερμικό επωαστήρα στους 55°C.

Σε ένα 1,5mL αποστειρωμένο σωληνάριο φυγοκέντρησης προσθέτουμε 20μL από το διάλυμα της πρωτεϊνάσης K (proteinase K) και 200μL από το δείγμα αίματος με το PBS. Έπειτα προσθέτουμε 20 μL από το διάλυμα της RNase A και ανακατεύουμε το δείγμα χρησιμοποιώντας τη συσκευή ανάδευσης. Στη συνέχεια αφήνουμε να επωαστεί για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να προχωρήσουμε στο επόμενο βήμα, της προσθήκης 200μL PureLink™ Genomic Lysis/Binding Buffer. Αφότου χρησιμοποιηθεί η συσκευή ανάδευσης για καλό ανακάτεμα, επωάζουμε στους 55° C του ξηρού θερμικού επωαστήρα για 10 λεπτά ώστε να γίνει η πρωτεϊνική πέψη.

Το πρωτόκολλο απομόνωσης γενετικού υλικού ολοκληρώνεται με την προσθήκη 200μL 100% αιθανόλης στο διάλυμα και την ανάδευση του με τη συσκευή ανάδευσης.

2.2.2 Καθαρισμός προϊόντος – Purification Protocol

Για τον καθαρισμό του προϊόντος χρησιμοποιήθηκε το ίδιο αντιδραστήριο PureLink™ Genomic DNA Mini Kit από την εταιρία Invitrogen (Catalog No. K1820-00).

Αρχικά αφαιρούμε μία στήλη PureLink™ Spin Column από τη συσκευασία ώστε να μεταφέρουμε το διάλυμα των 640μL από το πρωτόκολλο απομόνωσης το οποίο περιέχει το δείγμα, το Genomic Lysis/Binding Buffer και την αιθανόλη.

Έπειτα φυγοκεντρούμε στα 10.000 x g για 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου και απορρίπτουμε το σωληνάριο συλλογής collection tube της στήλης ώστε να προσθέσουμε ένα καθαρό στη θέση του. Στη στήλη με το νέο collection tube προσθέτουμε 500μL από το διάλυμα πλύσης 1 (wash buffer 1) στο οποίο έχουμε προσθέσει την απαραίτητη ποσότητα αιθανόλης.

Μια δεύτερη φυγοκέντρηση στα 10.000 x g για 1 λεπτό σε rt σηματοδοτεί το πέρας της πρώτης πλύσης του purification protocol, ώστε να ακολουθήσει η δεύτερη πλύση με την προσθήκη 500μL από το διάλυμα πλύσης 2 (wash buffer 2) στη στήλη με νέο και καθαρό collection tube.

Η τρίτη φυγοκέντρωση παίρνει μέρος στα 19.000 x g για 3 λεπτά σε rt , όπου κατά τη διάρκεια αυτής σημειώνεται το 1,5mL αποστειρωμένο σωληνάριο φυγοκέντρωσης που θα φέρει το τελικό προϊόν, αφότου τοποθετηθεί η στήλη σε αυτό.

Έχοντας θέσει τον ξηρό θερμικό επωαστήρα στους 50°C τοποθετούμε τη στήλη με το 1,5mL αποστειρωμένο σωληνάριο φυγοκέντρωσης με ανοιχτό καπάκι για 10 λεπτά και έπειτα προσθέτουμε 50μL από PureLink™ Genomic Elution Buffer στο κέντρο της στήλης. Επωάζουμε για 10 λεπτά στους 50°C του ξηρού θερμικού επωαστήρα και ως τελευταίο βήμα είναι η φυγοκέντρωση στα 19.000 x g για 1 λεπτό.

Το καθαρό προϊόν μπορεί πλέον να αποθηκευτεί στους -20°C του καταψύκτη για μελλοντική χρήση.

2.2.3 Εκτίμηση ποιότητας και ποσότητας του προϊόντος

Ένα βήμα πριν την εκτέλεση της διαδικασίας της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης αφορά την εκτίμηση ποσότητας και ποιότητας του προϊόντος που πάρθηκε. Αυτό πραγματοποιείται με τη συσκευή Quawell 9000 Spectrophotometer. Για να είναι έμπιστα και ορθά τα αποτελέσματα της φωτομέτρησης χρειάζεται να γίνει καθαρισμός την υποδοχής του δείγματος με το ειδικό πανάκι και ο μηδενισμός της με το διάλυμα PureLink™ Genomic Elution Buffer. Επιλέγουμε το εικονίδιο που αναγράφει «nucleic acid» και ως επόμενη επιλογή το «dsDNA». Ο μηδενισμός πραγματοποιείται με τα κουμπιά «blank» και «measure». Τοποθετούμε με πιπέτα των P10 ποσότητα 1μL από το προς μετρούμενο δείγμα και πατάμε την επιλογή «measure». Καταγράφουμε την τιμή της καθαρότητας στα 260/280 και την συγκέντρωση σε ng/ul που αναγράφεται στο μηχάνημα.

2.2.4 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης – PCR

Για τη διαδικασία της PCR χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια της Dream Taq Polymerase από την εταιρία Thermo Scientific (#EP0702) και τα αντιδραστήρια της Fast-Gene Taq DNA Polymerase από την εταιρία Nippon Genetics Europe GmbH (LS21).

Από το διάστημα 7/12/2023 έως 14/03/2024 οι αντιδράσεις PCR έγιναν με την Dream Taq Polymerase με τις ακόλουθες ποσότητες:

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ/ΔΕΙΓΜΑ (ML)
DREAM TAQ BUFFER 10X	2,5
dNTP MIX (2 MM)	2,5
HL1F (10 MM)	1
HL2/3R / HL4R (10 MM)	1
DREAM TAQ	0,6
PCR-GRADE WATER	14,4
TOTAL	22
TEMPLATE DNA	3

Από το διάστημα 14/03/2024 έως 18/06/2024 οι αντιδράσεις PCR έγιναν με την Fast-Gene Taq DNA Polymerase με τις ακόλουθες ποσότητες:

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ/ΔΕΙΓΜΑ (ML)
10X BUFFER B	2,5
25 MM MGCL2	1
dNTP MIX (2 MM)	2,5
HL1F (10 MM)	1
HL2/3R / HL4R (10 MM)	1
FASTGENE TAQ	0,1
PCR-GRADE WATER	11,4
TOTAL	22
TEMPLATE DNA	3

Οι παραπάνω PCR στήθηκαν σε ειδικό χώρο προετοιμασίας ενζυμικών αντιδραστηρίων (clean room) και σε απόλυτα στείρες συνθήκες ειδικού θαλάμου βιοασφαλείας νουκλεϊκών οξέων. Οι θερμοκυκλοποιητές στήθηκαν ως:

Για την Dream Taq Polymerase:

STEP	TEMPERATURE	DURATION	CYCLES
INITIAL DENATURATION	94	2 mins	1
DENATURATION	94	30 secs	
ANNEALING	58	15 secs	40
EXTENSION	72	15 secs	
FINAL EXTENSION	72	1 min	1
HOLD	4	Hold (<24 h)	

Για την FastGene Taq Polymerase:

STEP	TEMPERATURE	DURATION	CYCLES
INITIAL DENATURATION	95	2 mins	1
DENATURATION	95	30 secs	
ANNEALING	59	15 secs	40
EXTENSION	72	15 secs	
FINAL EXTENSION	72	1 min	1
HOLD	4	Hold (<24 h)	

Τα αποτελέσματα θα αξιολογηθούν σε σύστημα ηλεκτροφόρησης πηκτώματος αγαρόζης.

2.2.5 Ηλεκτροφόρηση

Για την ορθή αξιολόγηση της πειραματικής διαδικασίας χρειάστηκε να παρασκευαστεί ένα πήκτωμα αγαρόζης 2%. Με τη χρήση ζυγού ακριβείας μετρήθηκαν 2gr αγαρόζης και με τον ογκομετρικό κύλινδρο μετρήθηκαν 100mL από διάλυμα 1X TBE. Έπειτα προστέθηκαν και οι δύο ουσίες σε μια κωνική φιάλη για θέρμανση στον φούρνο μικροκυμάτων. Κατά τη διάρκεια της θέρμανσης φροντίζαμε να γίνεται ανάδευση ανά τακτά χρονικά διαστήματα ώστε να καταφέρει η αγαρόζη να διαλυτοποιηθεί πλήρως. Στη συνέχεια, απομακρύνουμε την κωνική φιάλη από τα μικροκύματα και επιτρέπουμε να επανέλθει σε μια θερμοκρασία, ικανή ώστε να μην ξεκινήσει η διαδικασία της πήξης. Πριν την τοποθέτηση του μείγματος στο εκμαγείο είναι απαραίτητη η προσθήκη 1:10000 v/v χρωστική SYBR® Safe DNA Gel Stain της εταιρίας Invitrogen™ (catalogue No: S33102). Ύστερα από ήπια ανάδευση περιχύνουμε το διάλυμα στο εκμαγείο και αφότου πήξει το τοποθετούμε στη συσκευή ηλεκτροφόρησης η οποία είναι γεμισμένη με 0,5X TBE.

Στο πρώτο πηγαδάκι ηλεκτροφόρησης τοποθετείται ένα μίγμα από 2,5μL dH₂O, 2,5μL Takara 20bp DNA Ladder (code no. 3409A) και 1μL από το 6X buffer solution. Στα υπόλοιπα πηγαδάκια τοποθετούνται 5μL από τα δείγματα της PCR αντίδρασης αναμιγμένα με 1μL του Takara 6X Buffer Solution. Οι συνθήκες στις οποίες εφαρμόζεται η ηλεκτροφόρηση είναι 100V και 120A για 60 λεπτά.

2.3 Εκτίμηση αποτελέσματος

Τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης σχολιάζονται ποιοτικά ύστερα από τοποθέτηση του πηκτώματος σε φωτογραφικό σύστημα Fast Gene Blue/Green Led φως. Η ύπαρξη μπάντας επιδεικνύει θετικό αποτέλεσμα ενώ η απουσία της σε συνδυασμό με συσσώρευση αχνού προϊόντος στο τέλος του πηγαδιού, αναπαριστά ένα αρνητικό αποτέλεσμα. Οι εκκινητές που επιλέχθηκαν για τη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία αποσκοπούν στην απόκτηση μπάντας, λόγω ύπαρξης του αλληλομόρφου HLA-B57 και HLA-B57:01 στο χρωμόσωμα 6 του συγκεκριμένου γονιδιώματος. Πιο συγκεκριμένα, η εμφάνιση μπάντας στα 175bp αφορά την ύπαρξη του γονιδίου HLA-B57, ενώ αν στο ίδιο δείγμα βρεθεί και μπάντα στα 98bp τότε είναι παρόν ο πολυμορφισμός HLA-B57:01.

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα

Στον πίνακα 3.1. παρουσιάζονται τα 57 δείγματα που εκλέχθηκαν και τα αποτελέσματα που πάρθηκαν από την εκτίμηση του πηκτώματος αγαρόζης. (Gigourtsi Panagiota Areti et al. 2024)

Πίνακας 3.1. Δείγματα

ΔΕΙΓΜΑΤΑ	HLA-B57	HLA-B57:01
903	Αρνητικό	Αρνητικό
904	Αρνητικό	Αρνητικό
905	Αρνητικό	Αρνητικό
906	Αρνητικό	Αρνητικό
908	Αρνητικό	Θετικό
029	Αρνητικό	Αρνητικό
030	Θετικό	Αρνητικό
031	Αρνητικό	Αρνητικό
032	Αρνητικό	Αρνητικό
033	Αρνητικό	Αρνητικό
034	Αρνητικό	Θετικό
035	Θετικό	Αρνητικό
045	Αρνητικό	Θετικό
062	Αρνητικό	Αρνητικό
068	Αρνητικό	Αρνητικό
187	Θετικό	Αρνητικό
198	Αρνητικό	Αρνητικό
232	Αρνητικό	Αρνητικό
239	Θετικό	Αρνητικό
402	Αρνητικό	Αρνητικό
473	Αρνητικό	Αρνητικό
514	Αρνητικό	Αρνητικό
517	Αρνητικό	Αρνητικό
524	Αρνητικό	Αρνητικό
577	Αρνητικό	Αρνητικό
584	Αρνητικό	Αρνητικό
590	Αρνητικό	Αρνητικό
635	Αρνητικό	Θετικό
655	Αρνητικό	Θετικό
675	Αρνητικό	Αρνητικό
716	Αρνητικό	Αρνητικό
729	Αρνητικό	Αρνητικό
750	Θετικό	Αρνητικό
755	Θετικό	Αρνητικό
783	Αρνητικό	Αρνητικό
872	Αρνητικό	Αρνητικό

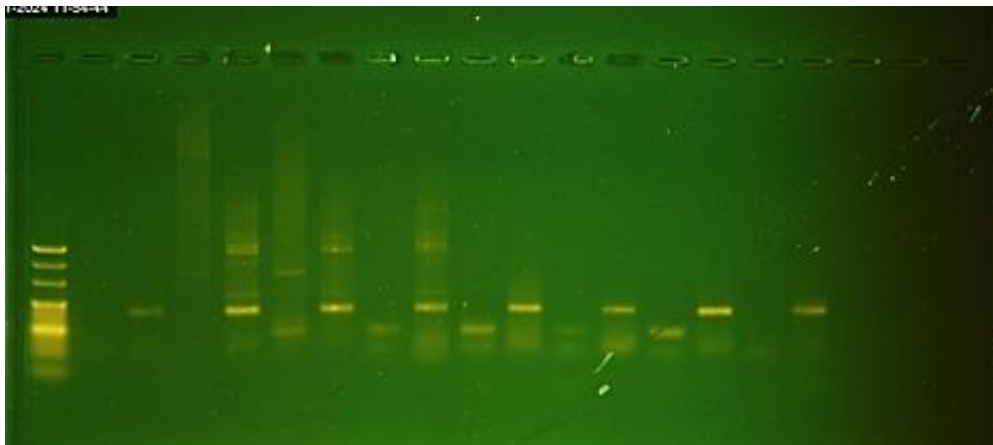
918	Αρνητικό	Αρνητικό
934	Αρνητικό	Αρνητικό
991	Αρνητικό	Αρνητικό
050	Αρνητικό	Αρνητικό
069	Αρνητικό	Αρνητικό
086	Αρνητικό	Αρνητικό
154	Αρνητικό	Αρνητικό
379	Αρνητικό	Αρνητικό
434	Αρνητικό	Αρνητικό
465	Θετικό	Θετικό
519	Αρνητικό	Αρνητικό
605	Αρνητικό	Αρνητικό
639	Αρνητικό	Αρνητικό
661	Αρνητικό	Αρνητικό
646	Αρνητικό	Αρνητικό
698	Αρνητικό	Αρνητικό
716	Αρνητικό	Αρνητικό
728	Αρνητικό	Αρνητικό
791	Αρνητικό	Αρνητικό
862	Αρνητικό	Αρνητικό
863	Αρνητικό	Αρνητικό

Στον πίνακα 3.2. παρουσιάζονται τα δείγματα ελέγχου τα οποία χρησιμοποιήθηκαν πριν την αρχή της μεθόδου ώστε να επιβεβαιώσουμε τη λειτουργικότητα των αντιδραστηρίων και για να οπτικοποιήσουμε τα βέλτιστα αποτελέσματα σε πήκτωμα αγαρόζης.

Πίνακας 2.2 Δείγματα ελέγχου

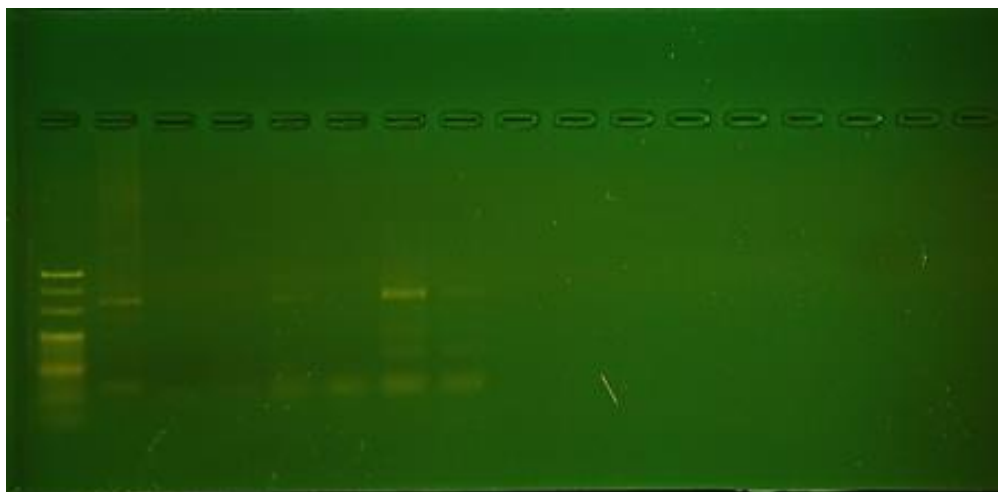
Δείγματα Ελέγχου	Quality (260/280)	Quantity (ng/ul)
001	1,505	16.1
1	1,811	57.15
2	1,701	92.5
3	1,709	105.1
804	1,589	22.8
812	1,436	61.45
898	1,720	44.9
899	1,890	46.3

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων ελέγχου φαίνονται στην Εικόνα 3.1 παρακάτω. Για κάθε δείγμα φορτώσαμε δύο φορές, όσες και οι PCR. Η πρώτη μπάντα κατά σειρά αφορά τον πολυμορφισμό HLA*B57:01 στα 98bp και η δεύτερη μπάντα αφορά το γονίδιο HLA*B57 στα 175bp.



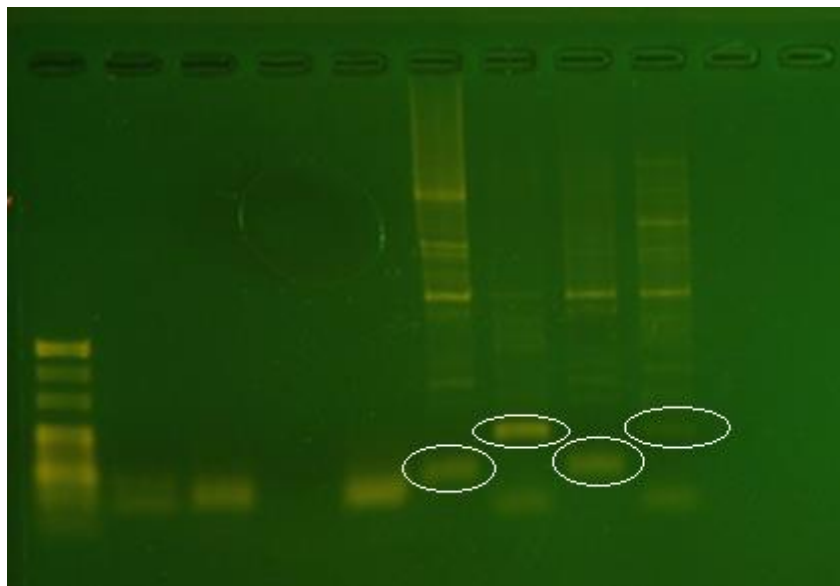
Εικόνα 3.1: Μπάντες σε πήκτωμα αгарόζης από τα δείγματα ελέγχου

Στην εικόνα 3.2. φαίνονται 4 δείγματα αρνητικά για το γονίδιο και τον πολυμορφισμό, ωστόσο είναι εμφανή η ύπαρξη μπάντας στα 350bp, ένα σημείο που είναι γνωστό ότι οι συγκεκριμένοι εκκινητές υβριδίζονται στο χρωμόσωμα 14.



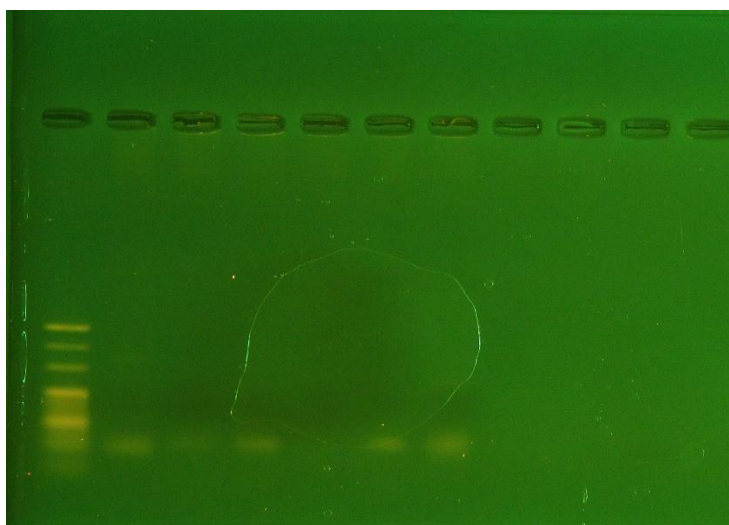
Εικόνα 3.2.: Μπάντες σε πήκτωμα αгарόζης από 21.05.2024

Στην εικόνα 3.3 φαίνονται 4 δείγματα εκ των οποίων χρησιμοποιήσαμε 2 διαφορετικά ένζυμα για τη διαδικασία της PCR. Στα πρώτα 2 δείγματα, τα οποία είναι και αρνητικά χρησιμοποιήσαμε το ένζυμο FastGene Taq Polymerase ενώ στα άλλα 2 δείγματα, τα οποία είναι θετικά, χρησιμοποιήσαμε το ένζυμο Kappa Hifi Taq Polymerase. Η πρώτη μπάντα κατά σειρά αφορά τον πολυμορφισμό HLA*B57:01 στα 98bp και η δεύτερη μπάντα αφορά το γονίδιο HLA*B57 στα 175bp.



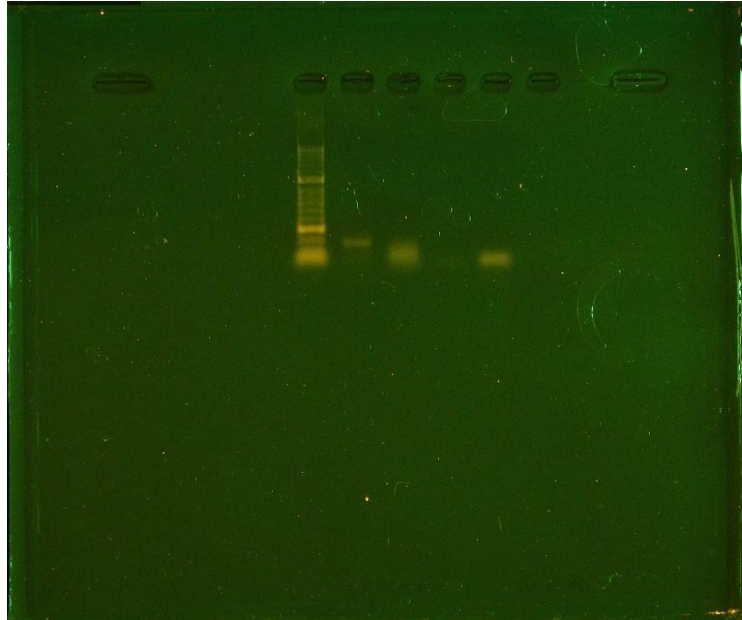
Εικόνα 3.3: Μπάντες σε πήκτωμα αγαρόζης από 24.05.2024

Στην εικόνα 3.4. παρατηρούμαι 3 δείγματα αρνητικού αποτελέσματος τόσο για το γονίδιο όσο και για τον πολυμορφισμό. Αυτή είναι μια ορθή εικόνα αρνητικών αποτελεσμάτων με τους primers να φαίνονται στο τέλος του πηκτώματος αγαρόζης.



Εικόνα 3.4.: Μπάντες σε πήκτωμα αγαρόζης από 08.02.2024

Στην εικόνα 3.5. παρατηρούμαι 2 δείγματα αρνητικά για το γονίδιο HLA*B57, ωστόσο το πρώτο δείγμα εμφανίζει μπάντα στα 98bp , οπότε φέρει το αλληλόμορφο HLA*B57:01



Εικόνα 3.5.: Μπάντες σε πήκτωμα αγαρόζης από 08.12.2023

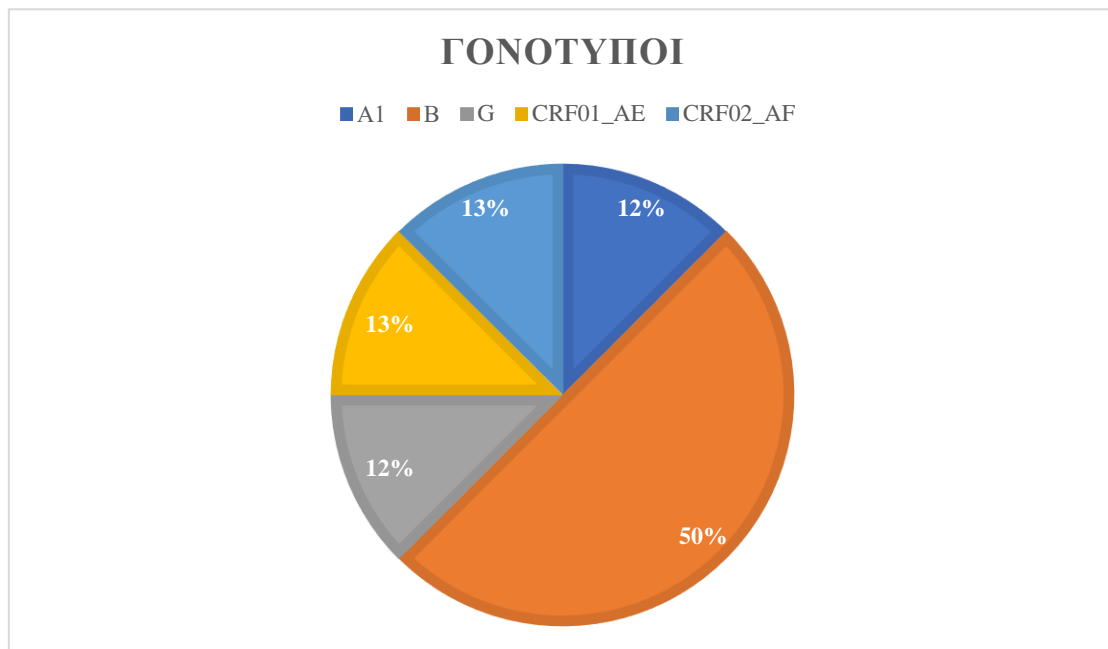
Στον πίνακα 3.3. παρουσιάζονται τα 12 δείγματα τα οποία βρέθηκαν με το γονίδιο ή/και τον πολυμορφισμό μαζί με τα αποτελέσματα ποιότητας και ποσότητας που λάβαμε από τη διαδικασία της απομόνωσης DNA και τα copies/ml του ιικού φορτίου του HIV.

Πίνακας 3.3 Δείγματα που εντοπίστηκε το γονίδιο HLA*B57 ή/και ο πολυμορφισμός HLA*B57:01.

Δείγματα	Viral Load (copies/ml)	Quality (260/280)	Quantity (ng/ul)	HLA*B57 (175bp)	HLA*B57:01 (98bp)
908	<40	1,763	140,85	<u>Not Detected</u>	Detected
030	819.000	1,569	43,45	Detected	<u>Not Detected</u>
034	<u>Not Detected</u>	1,604	58,45	<u>Not Detected</u>	Detected
035	<u>Not Detected</u>	1,714	146	Detected	<u>Not Detected</u>
045	<u>Not Detected</u>	1,550	53,4	<u>Not Detected</u>	Detected
187	22.200	1,352	134,5	Detected	<u>Not Detected</u>
239	44.000	1,661	70,1	Detected	<u>Not Detected</u>
635	51.800	1,698	224,6	<u>Not Detected</u>	Detected
655	71.700	1,674	222,3	<u>Not Detected</u>	Detected
750	257.642	1,751	378,45	Detected	<u>Not Detected</u>
755	1.497	1,627	315,1	Detected	<u>Not Detected</u>
465	1.450.000	1,910	102,4	Detected	Detected

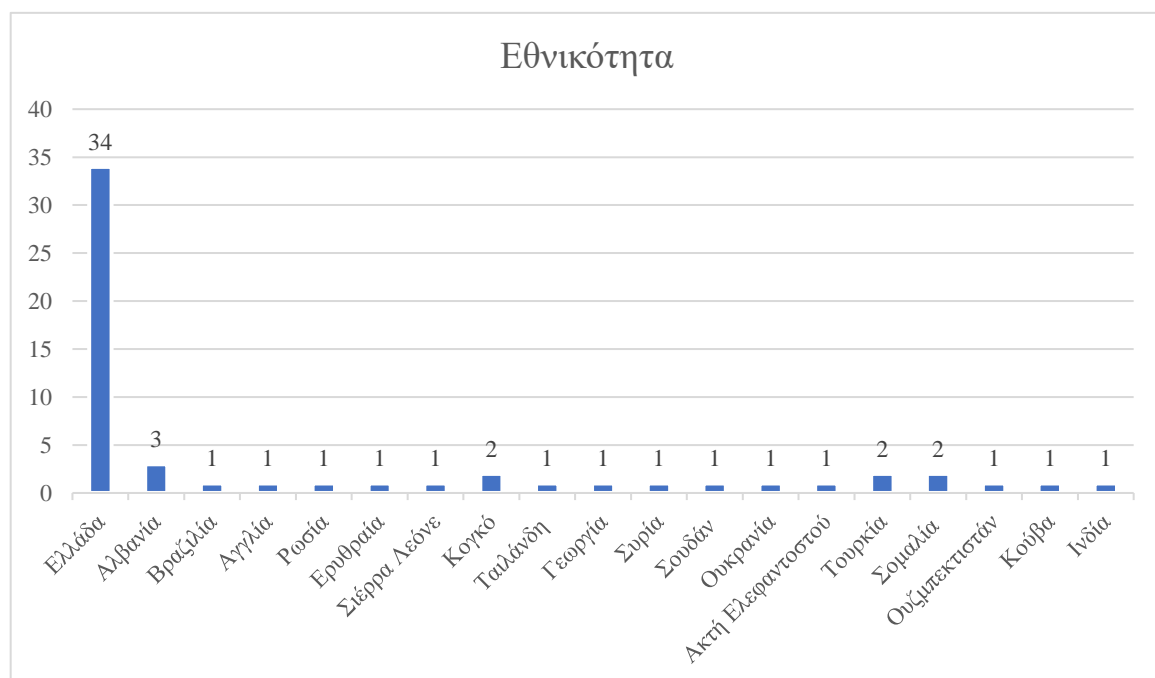
Τα δείγματα 908,034,035,045 αφορούσαν εργαστηριακή παρακολούθηση, ενώ τα υπόλοιπα ήταν δείγματα αρχικού εργαστηριακού ελέγχου. Αυτός είναι ο λόγος που παρατηρείται η μεγάλη διαφορά στο ιικό φορτίο του ιού HIV.

Στο σχήμα 3.1. απεικονίζονται οι γονότυποι των 8 δειγμάτων που βρέθηκαν με το γονίδιο ή/και τον πολυμορφισμό και ήταν για αρχικό εργαστηριακό έλεγχο.



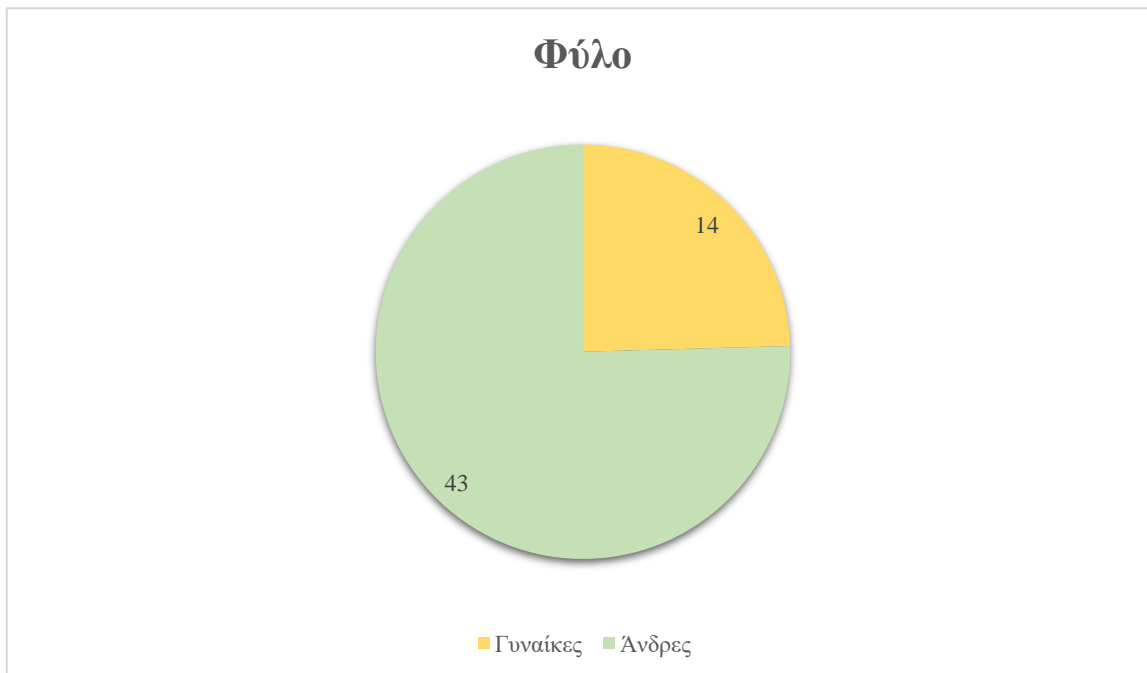
Σχήμα 3.1: Γραφική απεικόνιση των γονότυπων των δειγμάτων των αρχικών εργαστηριακών ελέγχων.

Στο σχήμα 3.2. εμφανίζεται η εθνικότητα και των 57 δειγμάτων που ελέγχθηκαν στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία.



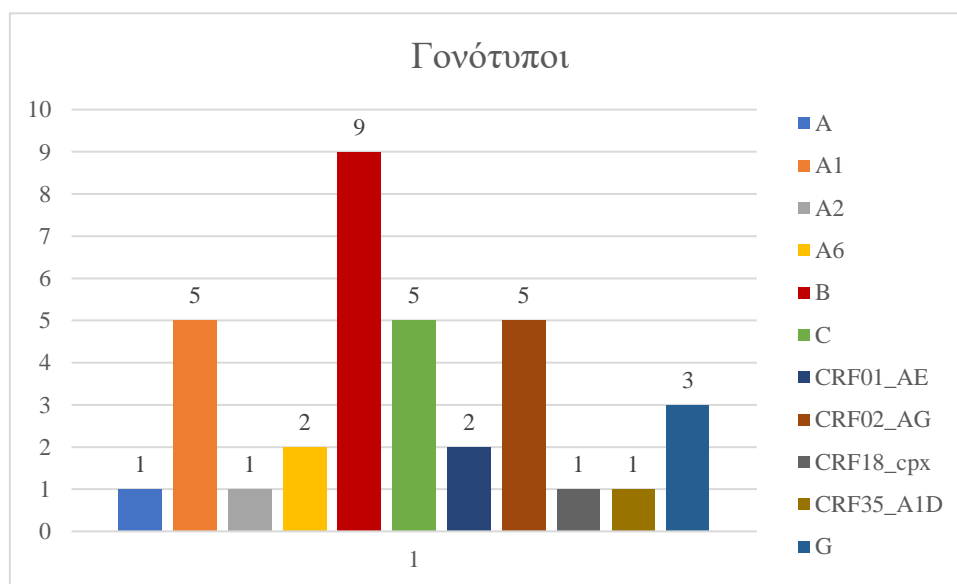
Σχήμα 3.2.: Γραφική απεικόνιση της εθνικότητας των 55 δειγμάτων.

Στο σχήμα 3.3. παρουσιάζεται το ποσοστό του αρσενικού και του γυναικείου φύλου των 57 δειγμάτων που ελέγχθηκαν στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία.



Σχήμα 3.3: Γραφική απεικόνιση του φύλου των 57 δειγμάτων.

Στο σχήμα 3.4. παρουσιάζεται το πλήθος των γονότυπων όσων δειγμάτων είχαμε αποτέλεσμα στην αλληλούχηση κατά sanger. Στο σύνολο των 57, μόνο στα 35 είχαμε αποτέλεσμα



Σχήμα 3.4.: Γονότυποι από τα 35 δείγματα από τα αποτελέσματα της αλληλούχησης κατά sanger.

Κεφάλαιο 4: Συζήτηση

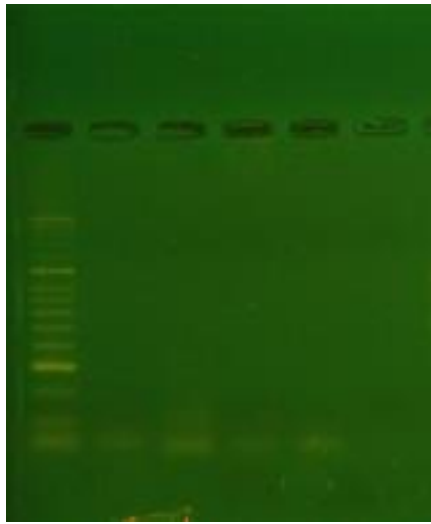
4.1. Σχολιασμός αποτελεσμάτων

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας ερευνητικής εργασίας, το πρωτόκολλο είναι ικανό να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση του γονιδίου HLA*B57 και του πολυμορφισμού HLA*B57:01 σε άτομα που ζουν με τον ιό HIV. Καταφέραμε να απομονώσουμε με επιτυχία το DNA από δείγματα που ανιχνεύεται ο ιός HIV, έχοντας επανειλημμένα καλές τιμές ποιότητας αλλά και ποσότητας. Όσα δείγματα απομονωμένου DNA έδιναν τιμή συγκέντρωσης μεγαλύτερη από 600ng/ul, υπόκειντο σε ανάλογη αρραίωση για την εξασφάλιση της επιτυχίας της διαδικασίας της PCR, ανάλογα με την ποσότητα DNA που απαιτούσε το πρωτόκολλο του κάθε κατασκευαστή.

Όσον αφορά τη διαδικασία της PCR, θέτοντας μικρό χρόνο επιμήκυνσης εξασφάλισαμε τον υβριδισμό των εκκινητών στο επιθυμητό σημείο. Ωστόσο, επειδή και ο 4R Reverse εκκινητής αλλά και ο 2/3R Reverse εκκινητής υβριδίζονται στο 14^ο χρωμόσωμα, πολλές φορές εντοπιζόταν μπάντα και στα 350bp. Αυτή η μπάντα λειτούργησε ως απόδειξη ελέγχου λειτουργικότητας της πειραματικής διαδικασίας.

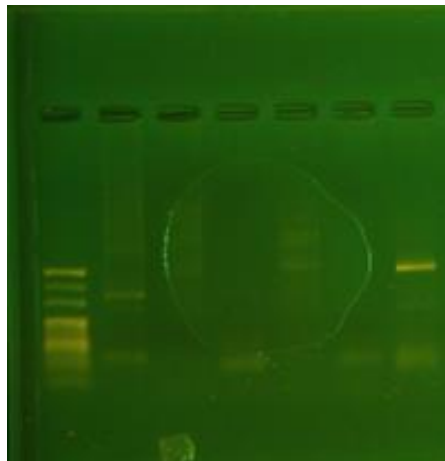
Σε 2 δείγματα από τα 6 που βρέθηκαν θετικά στον πολυμορφισμό HLA*B57:01 δεν καταφέραμε να αποκτήσουμε μπάντα για το γονίδιο HLA*B57. Για να λάβουμε καθαρές και διακριτές μπάντες χρειάζεται να έχει γίνει επιτυχημένα η ενίσχυση με τους εκκινητές και να έχει φορτωθεί σωστά το δείγμα στο πήκτωμα αγαρόζης. Συνεπώς, για να υπάρχει η μπάντα του πολυμορφισμού σημαίνει ότι ιδανικά θα πρέπει να έχουμε και μπάντα για το γονίδιο. Η απουσία μπάντας του γονιδίου σε αυτά τα 2 δείγματα μας έκανε να συμπεράνουμε ότι πρόκειται για αποτυχημένο υβριδισμό του 4R Reverse εκκινητή μιας και ο 1F Forward είναι κοινός. Μπορεί να υπάρχουν νουκλεοτιδικές μεταλλάξεις στο σημείο που υβριδίζεται, επομένως να μην μπορεί να προσδεθεί. Εξάλλου δεν υφίσταται η ύπαρξη του αλληλομόρφου HLA*B57:01 χωρίς το γονίδιο HLA*B57.

Ένας άλλος προβληματισμός που προέκυψε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης του πρωτοκόλλου είναι ποιες συστάσεις πήκτωματος αγαρόζης είναι ιδανικότερες ώστε να διακρίνουμε καλύτερα τις μικρές σε ζεύγη βάσεων μπάντες που αναζητούμε. Στην εικόνα 4.1. βλέπουμε ένα πήκτωμα αγαρόζης; 1% το οποίο ήταν σε συνθήκες 120V για 50 λεπτά. Σε αυτή την περίπτωση δεν είναι ασφαλές να συμπεράνουμε αν έχουμε την μπάντα που αναζητάμε ή αν φαίνονται οι εκκινητές λόγω των μη κατάλληλων συνθηκών.



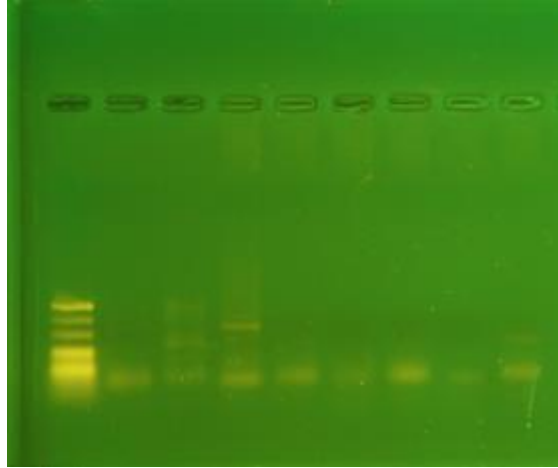
Εικόνα 4.1: Πήκτωμα αγαρόζης 1% σε συνθήκες 120V για 50'

Στην εικόνα 4.2. είναι ένα πήκτωμα αγαρόζης 2% το οποίο έτρεξε σε συνθήκες 120V για 40 λεπτά. Αν κρίνουμε από τις μπάντες του ladder, αυτές οι συνθήκες δεν είναι ικανές να χρησιμοποιηθούν για να διακρίνουμε με ακρίβεια σε πόσα bp βρίσκεται η μπάντα που λαμβάνουμε.



Εικόνα 4.2.: Πήκτωμα αγαρόζης 2% σε συνθήκες 120V για 40'

Στην εικόνα 4.3. έχουμε τρέξει τα δείγματα σε πήκτωμα αγαρόζης 1,5% στα 120V για 55 λεπτά. Κοιτώντας τον ladder συνειδητοποιούμε πως ο λόγος που έχει τρέξει τόσο πολύ είναι η υψηλή τάση ρεύματος και ο λόγος που δεν έχουν διαχωριστεί σωστά οι μπάντες είναι εξαιτίας της ποσότητας της αγαρόζης.



Εικόνα 4.3.: Πήκτωμα αγαρόζης 1,5% σε συνθήκες 120V για 55'

Επομένως, ύστερα από διάφορες δοκιμές στο πήκτωμα αγαρόζης για την καλύτερη οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων, καταλήγουμε στις συνθήκες του 1,7% πηκτώματος αγαρόζης, στα 100V και για 60 λεπτά. (Εικόνα 4.4.)



Εικόνα 4.4.: Πήκτωμα αγαρόζης 1,7% σε συνθήκες 100V για 60'

Συμπεραίνοντας, εξαιτίας του μικρού αριθμού δειγμάτων που ελέγχθηκαν για την ύπαρξη του γονιδίου και του πολυμορφισμού, δεν μπορεί να αχθεί κάποιο ασφαλές συμπέρασμα για τον εγχώριο επιπολασμό του πολυμορφισμού. Ωστόσο επισημαίνεται η σημαντικότητα του εντοπισμού του αλληλομόρφου πριν την έναρξη της ART στα άτομα που έχουν μολυνθεί με τον ιό HIV. Η έλλειψη δεδομένων, τόσο ελληνικών όσο και παγκόσμιων, διεγείρει την ανάγκη για διεξαγωγή πιο συχνών, λεπτομερών και πλήρων ερευνών. (Gigourtsi Panagiota Areti et al. 2024)

4.2. Μελλοντικές προσεγγίσεις

Η πρόοδος στις τεχνολογίες του γενετικού ελέγχου θα βελτιώσει τόσο την ανίχνευση του πολυμορφισμού HLA*B57:01 όσο και άλλων σχετικών γενετικών δεικτών. Μελλοντικές έρευνες χρειάζεται να επικεντρωθούν στην ανάπτυξη πιο οικονομικών, αποδοτικών και προσβάσιμων μεθόδων τυποποίησης HLA. Σε αυτό μπορεί να συμβάλει η τεχνική της NGS καθώς και η χρήση της real-time PCR για να υπάρχει δυνατότητα πιο γρήγορων και ακριβέστερων αποτελεσμάτων. Με αυτό τον τρόπο μπορεί να γίνει εντοπισμός και άλλων δεικτών που συνδέονται με ανεπιθύμητες αντιδράσεις φαρμάκων στη θεραπεία του HIV. Η αναγνώριση πολυμορφισμών που σχετίζονται με τον μεταβολισμό φαρμάκων μπορεί να εξατομικεύσει περαιτέρω τα σχήματα της ART ώστε να βελτιώνονται τα αποτελέσματα των ασθενών. (Udeze, Olaleye, and Odaibo 2020)

Για να αξιοποιηθούν πλήρως τα οφέλη της ανίχνευσης του HLA-B*57:01 και άλλων φαρμακογονιδιωματικών ευρημάτων, είναι κρίσιμο να ενσωματωθούν αυτές οι πρακτικές στη ρουτίνα της κλινικής φροντίδας. Αυτή η ενσωμάτωση περιλαμβάνει την εκπαίδευση των παρόχων υγειονομικής περίθαλψης στη φαρμακογονιδιωματική, την ανάπτυξη κατευθυντήριων γραμμών για τη χρήση γενετικών πληροφοριών στις θεραπευτικές αποφάσεις και τη δημιουργία υποδομής για τη διαχείριση γενετικών δεδομένων. Η ίδρυση δικτύων συνεργασίας μεταξύ ερευνητών και κλινικών ιατρών μπορεί να διευκολύνει την εφαρμογή της φαρμακογονιδιωματικής στην κλινική πράξη. Επιπλέον, τα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης θα πρέπει να εφαρμόσουν ολοκληρωμένα προγράμματα γενετικού ελέγχου για την αναγνώριση ατόμων που κινδυνεύουν από ανεπιθύμητες αντιδράσεις φαρμάκων και να προσαρμόσουν ανάλογα θεραπευτικά πλάνα. (Haas et al. 2011)

Η συνεχής υποστήριξη της έρευνας για την αντιμετώπιση της λοίμωξης με τον ιό HIV χρήζει αναγκαία. Προτείνεται η συνεργασία μεταξύ φορέων χρηματοδότησης, ερευνητικών ιδρυμάτων και φαρμακευτικών εταιρειών ώστε να προωθηθεί η ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών που στοχεύουν στην ίαση του HIV.

Εν κατακλείδι, η ανίχνευση της μετάλλαξης HLA-B*5701, που οφείλεται για την υπεραισθησία στην αβακαβίρη, αντιπροσωπεύει μια σημαντική πρόοδο στον τομέα της φαρμακογονιδιωματικής και της εξατομικευμένης ιατρικής. Τα μελλοντικά σχέδια θα πρέπει να επικεντρωθούν στην βελτίωση των τεχνολογιών γενετικού ελέγχου, στην επέκταση του εύρους των γενετικών δεικτών που εξετάζονται, στην ενσωμάτωση της φαρμακογονιδιωματικής στην κλινική πρακτική, στην προώθηση της παγκόσμιας πρόσβασης στο γενετικό έλεγχο και στην αντιμετώπιση των ηθικών, νομικών και κοινωνικών επιπτώσεων. Η εφαρμογή αυτών των συστάσεων θα βελτιώσει τη διαχείριση και τη θεραπεία του HIV, συμβάλλοντας τελικά στον στόχο της εξάλειψης της επιδημίας του HIV. Η συνεχής έρευνα και οι πρόοδοι στην εξατομικευμένη ιατρική υπόσχονται βελτιστοποίηση της θεραπείας, βελτίωση των αποτελεσμάτων των ατόμων που ελέγχονται και της επίτευξης μακροχρόνιας ύφεσης των ατόμων που ζουν με τον HIV.

Βιβλιογραφικές Αναφορές

- Adamson, Catherine S. 2012. “Protease-Mediated Maturation of HIV: Inhibitors of Protease and the Maturation Process.” *Molecular Biology International* 2012: 1–13. doi:10.1155/2012/604261.
- Agbaji, OcheO, MaxwellO Akanbi, Ihedinachi Otoh, PatriciaE Agaba, Rolake Akinsola, Victoria Okolie, PlacidO Ugoagwu, et al. 2019. “Absence of Human Leukocyte Antigen-B*57:01 amongst Patients on Antiretroviral Therapy in Nigeria: Implications for Use of Abacavir.” *Nigerian Postgraduate Medical Journal* 26(4): 195. doi:10.4103/npmj.npmj_75_19.
- Alfirevic, Ana, and Munir Pirmohamed. 2010. “Drug Induced Hypersensitivity and the HLA Complex.” *Pharmaceuticals* 4(1): 69–90. doi:10.3390/ph4010069.
- Aquaro, Stefano, Ana Borrajo, Michele Pellegrino, and Valentina Svicher. 2020. “Mechanisms Underlying of Antiretroviral Drugs in Different Cellular Reservoirs with a Focus on Macrophages.” *Virulence* 11(1): 400–413. doi:10.1080/21505594.2020.1760443.
- B. Han, L. Han, Zhihui Feng, X-Y Chi, and Shuxian Jiao. 2015. “Sequence Analysis of A Novel HLA-B*13:68 Allele.”
- Barouch, Dan H. 2008. “Challenges in the Development of an HIV-1 Vaccine.” *Nature* 455(7213): 613–19. doi:10.1038/nature07352.
- Bartha, István, Jonathan M Carlson, Chanson J Brumme, Paul J McLaren, Zabrina L Brumme, Mina John, David W Haas, et al. 2013. “A Genome-to-Genome Analysis of Associations between Human Genetic Variation, HIV-1 Sequence Diversity, and Viral Control.” *eLife* 2. doi:10.7554/eLife.01123.
- Bbosa, Nicholas, Pontiano Kaleebu, and Deogratius Ssemwanga. 2019. “HIV Subtype Diversity Worldwide.” *Current Opinion in HIV and AIDS* 14(3): 153–60. doi:10.1097/COH.0000000000000534.
- Blackwell, Jenefer M., Sarra E. Jamieson, and David Burgner. 2009. “HLA and Infectious Diseases.” *Clinical Microbiology Reviews* 22(2): 370–85. doi:10.1128/CMR.00048-08.
- Briggs, J. A. G., J. D. Riches, B. Glass, V. Bartonova, G. Zanetti, and H.-G. Kräusslich. 2009. “Structure and Assembly of Immature HIV.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(27): 11090–95. doi:10.1073/pnas.0903535106.
- Campbell, Edward M., and Thomas J. Hope. 2015. “HIV-1 Capsid: The Multifaceted Key Player in HIV-1 Infection.” *Nature Reviews Microbiology* 13(8): 471–83. doi:10.1038/nrmicro3503.

- Chimini, G., P. Pontarotti, C. Nguyen, A. Toubert, J. Boretto, and B. R. Jordan. 1988. "The Chromosome Region Containing the Highly Polymorphic HLA Class I Genes Displays Limited Large Scale Variability in the Human Population." *The EMBO Journal* 7(2): 395–400. doi:10.1002/j.1460-2075.1988.tb02826.x.
- Chonlaphat Sukasem 1, Apichaya Puangpetch, Sadeep Medhasi, Wichitra Tassaneeyakul. 2014. "Pharmacogenomics of Drug-Induced Hypersensitivity Reactions: Challenges, Opportunities and Clinical Implementation."
- Choo, Sung Yoon. 2007a. "Hla Overview." *Yonsei Medical Journal* 48(1): 11–23.
- Choo, Sung Yoon. 2007b. "The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications." *Yonsei Medical Journal* 48(1): 11. doi:10.3349/ymj.2007.48.1.11.
- Dausset, J., and D. Cohen. 1984. "HLA at the Gene Level." In *Histocompatibility Testing 1984*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 22–28. doi:10.1007/978-3-642-69770-8_4.
- Derdeyn, Cynthia A, and Guido Silvestri. 2005. "Viral and Host Factors in the Pathogenesis of HIV Infection." *Current Opinion in Immunology* 17(4): 366–73. doi:10.1016/j.coi.2005.06.001.
- Dispenza, Melanie C. 2019. "Classification of Hypersensitivity Reactions." *Allergy and Asthma Proceedings* 40(6): 470–73. doi:10.2500/aap.2019.40.4274.
- Donohue, Katherine E., Catherine Gooch, Alexander Katz, Jessica Wakelee, Anne Slavotinek, and Bruce R. Korf. 2021. "Pitfalls and Challenges in Genetic Test Interpretation: An Exploration of Genetic Professionals Experience with Interpretation of Results." *Clinical Genetics* 99(5): 638–49. doi:10.1111/cge.13917.
- Dou, Jian-Peng, Hang Li, Xiao-Ling Pang, Chao-Ni Zhang, Tian-Huai Yang, and Xian-Min Jin. 2019a. "Research Progress of Quantum Memory." *Acta Physica Sinica* 68(3): 030307. doi:10.7498/aps.68.20190039.
- Ebrahimi, Mina, Nayer Mehdizad, Fatemeh Yeganeh-Sefidan, Hanie Safarpour, Abdol S. Pagheh, Amir Pouremamali, Somayeh Shiralizadeh, et al. 2023. "Systematic Review and Meta-Analysis of the Global Prevalence of Sexually Transmitted Infections in People Living with HIV and Associated Risk Factors." *Aids Reviews* 25(3). doi:10.24875/AIDSRev.23000008.
- Eggleton JS, Nagalli S. 2024. "Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART)." *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- Fabreti-Oliveira, R. A., E. Nascimento, C. K. F. Oliveira, E. M. G. Vale, B. Vilela, and M. A. Santos. 2014. "Four Novel <sc>HLA</sc> Alleles, <sc>DRB</sc> 1*04:11:03, <sc>DRB</sc> 1*10:05, <sc>DRB</sc> 1*15:94 and <sc>DRB</sc> 1*16:22, Identified in <sc>B</sc> Razilian Individuals." *International Journal of Immunogenetics* 41(2): 151–53. doi:10.1111/iji.12091.

Fackler, Oliver T., Andres Alcover, and Olivier Schwartz. 2007. "Modulation of the Immunological Synapse: A Key to HIV-1 Pathogenesis?" *Nature Reviews Immunology* 7(4): 310–17. doi:10.1038/nri2041.

Gigourtsi Panagiota Areti, Prokter Kassandra, Resta Panagiota, and Beloukas Apostolos. 2024. "Detection of the Polymorphism HLA-B*5701 Mutation Which Is Responsible for Hypersensitivity to Abacavir in People Living with HIV (PLWH)." https://www.researchgate.net/publication/381806585_Detection_of_the_polymorphism_HLA-B5701_mutation_which_is_re-sponsible_for_hypersensitivity_to_abacavir_in_people_living_with_HIV_PLWH_-_ANICHNEUSE_TES_METALLAXES_POLYMORPHISMOU_HLAB5701_SE_ATOMA_POU_?channel=doi&linkId=667ffa6b2aa57f3b825e464c&showFulltext=true (June 29, 2024).

Grimsley, C., K. A. Mather, and C. Ober. 1998. "HLA-H: A Pseudogene with Increased Variation Due to Balancing Selection at Neighboring Loci." *Molecular Biology and Evolution* 15(12): 1581–88. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a025886.

Haas, David W., Daniel R. Kuritzkes, Marylyn D. Ritchie, Shashi Amur, Brian F. Gage, Gary Maartens, Dan Masys, et al. 2011. "Pharmacogenomics of HIV Therapy: Summary of a Workshop Sponsored by the National Institute of Allergy and Infectious Diseases." *HIV Clinical Trials* 12(5): 277–85. doi:10.1310/hct1205-277.

Hanefeld, Johanna. 2014. "The Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis and Malaria: 10 Years On." *Clinical Medicine* 14(1): 54–57. doi:10.7861/clinmedicine.14-1-54.

Harrigan, P. Richard, Chris Stone, Phillip Griffin, Isabel Nájera, Stuart Bloor, Sharon Kemp, Margaret Tisdale, and Brendan Larder. 2000. "Resistance Profile of the Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase Inhibitor Abacavir (1592U89) after Monotherapy and Combination Therapy." *The Journal of Infectious Diseases* 181(3): 912–20. doi:10.1086/315317.

"Hervey, P., & Perry, C. (2000). Abacavir. *Drugs*, 60, 447-479. <https://doi.org/10.2165/00003495-200060020-00015>."

Hervey, Pauline S., and Caroline M. Perry. 2000a. "Abacavir." *Drugs* 60(2): 447–79. doi:10.2165/00003495-200060020-00015.

Hitman, G A, M J Niven, H Festenstein, P G Cassell, J Awad, J Walker-Smith, J N Leonard, et al. 1987. "HLA Class II Alpha Chain Gene Polymorphisms in Patients with Insulin-Dependent Diabetes Mellitus, Dermatitis Herpetiformis, and Celiac Disease." *Journal of Clinical Investigation* 79(2): 609–15. doi:10.1172/JCI112854.

Holmes CB, Hallett TB, Walensky RP, et al. 2017. "Effectiveness and Cost-Effectiveness of Treatment as Prevention for HIV." *Major Infectious Diseases. 3rd edition. Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank* 5.

Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, et al. 2001. "The Immune System in Health and Disease. 5th Edition." *New York: Garland Science;The complement system and innate immunity.*

Jilich, David, Milena Vraná, Svatava Snopková, Dalibor Sedláček, Jaroslav Kapla, Hanuš Rozsypal, Jitka Kolčáková, et al. 2011. "Prevalence of Human Leukocyte Antigen (HLA)-B*5701 in HIV-Infected Subjects in Czech Republic." *Central European Journal of Public Health* 19(3): 128–30. doi:10.21101/cejph.a3653.

Kemnic TR, Gulick PG. 2024. "HIV Antiretroviral Therapy." *Treasure Island (FL): StatPearls* .

Kim, Eun-Young, Jung Eun Seol, Jae-Hyeog Choi, Na-Yul Kim, and Jae-Gook Shin. 2017. "Allopurinol-Induced Severe Cutaneous Adverse Reactions: A Report of Three Cases with the *HLA-B* * 58:01 Allele Who Underwent Lymphocyte Activation Test." *Translational and Clinical Pharmacology* 25(2): 63. doi:10.12793/tcp.2017.25.2.63.

King, Deborah, Sarah Tomkins, Anele Waters, Philippa J. Easterbrook, Linda M. Thurmond, Daren E. Thorborn, Francois Raffi, D. Mike Kemeny, and Annapurna Vyakaranam. 2005. "Intracellular Cytokines May Model Immunoregulation of Abacavir Hypersensitivity in HIV-Infected Subjects." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 115(5): 1081–87. doi:10.1016/j.jaci.2004.12.1140.

Kizmaz, Muhammed Ali, Abdurrahman Simsek, Figen Aymak, Emin Halis Akalin, Haluk Barbaros Oral, and Ferah Budak. 2023. "The Prevalence of HLA-B*57 Serotype Associated with Hypersensitivity Reactions in the Treatment of HIV Infection in the Turkish Population." *Current HIV Research* 21(4): 254–58. doi:10.2174/1570162X21666230731145350.

Klimas, Nancy, Anne O'Brien Koneru, and Mary Ann Fletcher. 2008. "Overview of HIV." *Psychosomatic Medicine* 70(5). https://journals.lww.com/psychosomaticmedicine/fulltext/2008/06000/overview_of_hiv.2.aspx.

Koller, B H, D E Geraghty, Y Shimizu, R DeMars, and H T Orr. 1988. "HLA-E. A Novel HLA Class I Gene Expressed in Resting T Lymphocytes." *The Journal of Immunology* 141(3): 897–904. doi:10.4049/jimmunol.141.3.897.

Kolou, Malewe, Armel Poda, Zelica Diallo, Esther Konou, Tatiana Dokpomiwa, Jacques Zoungrana, Mounerou Salou, et al. 2021. "Prevalence of Human Leukocyte Antigen HLA-B*57:01 in Individuals with HIV in West and Central Africa." *BMC Immunology* 22(1): 48. doi:10.1186/s12865-021-00427-7.

Li, Guangdi, Supinya Piampongsant, Rodrigues N. Faria, Arnout Voet, Andrea Clemencia Pineda-Peña, Ricardo Khouri, Philippe Lemey, Anne Mieke Vandamme, and Kristof Theys. 2015a. "An Integrated Map of HIV Genome-Wide Variation from a Population Perspective." *Retrovirology* 12(1). doi:10.1186/s12977-015-0148-6.

- Li, Guangdi, Supinya Piampongsant, Rodrigues N. Faria, Arnout Voet, Andrea Clemencia Pineda-Peña, Ricardo Khouri, Philippe Lemey, Anne Mieke Vandamme, and Kristof Theys. 2015b. “An Integrated Map of HIV Genome-Wide Variation from a Population Perspective.” *Retrovirology* 12(1). doi:10.1186/s12977-015-0148-6.
- Lobritz, Michael A., Annette N. Ratcliff, and Eric J. Arts. 2010. “HIV-1 Entry, Inhibitors, and Resistance.” *Viruses* 2(5): 1069–1105. doi:10.3390/v2051069.
- Ma, Joseph D., Kelly C. Lee, and Grace M. Kuo. 2010. “HLA-B*5701 Testing to Predict Abacavir Hypersensitivity.” *PLoS Currents* 2: RRN1203. doi:10.1371/currents.RRN1203.
- Mahdi, Batool Mutar. 2013. “A Glow of HLA Typing in Organ Transplantation.” *Clinical and Translational Medicine* 2(1). doi:10.1186/2001-1326-2-6.
- Mallal, Simon, Elizabeth Phillips, Giampiero Carosi, Jean-Michel Molina, Cassy Workman, Janez Tomažič, Eva Jägel-Guedes, et al. 2008a. “HLA-B*5701 Screening for Hypersensitivity to Abacavir.” *New England Journal of Medicine* 358(6): 568–79. doi:10.1056/NEJMoa0706135.
- Martin, Annalise M., David Nolan, Silvana Gaudieri, Coral Ann Almeida, Richard Nolan, Ian James, Filipa Carvalho, et al. 2004a. “Predisposition to Abacavir Hypersensitivity Conferred by *HLA-B * 5701* and a Haplotypic *Hsp70-Hom* Variant.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(12): 4180–85. doi:10.1073/pnas.0307067101.
- Martin, Annalise M., David Nolan, Silvana Gaudieri, Coral Ann Almeida, Richard Nolan, Ian James, Filipa Carvalho, et al. 2004b. “Predisposition to Abacavir Hypersensitivity Conferred by *HLA-B * 5701* and a Haplotypic *Hsp70-Hom* Variant.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(12): 4180–85. doi:10.1073/pnas.0307067101.
- Martínez Buitrago, Ernesto, José Millán Oñate, José Fernando García-Goez, Jorge Álvarez, William Lenis, Luz Marina Sañudo, and Luisa Consuelo Rubiano. 2019a. “HLA-B*57:01 Allele Prevalence in Treatment-Naïve HIV-Infected Patients from Colombia.” *BMC Infectious Diseases* 19(1): 793. doi:10.1186/s12879-019-4415-3.
- Martínez Buitrago, Ernesto, José Millán Oñate, José Fernando García-Goez, Jorge Álvarez, William Lenis, Luz Marina Sañudo, and Luisa Consuelo Rubiano. 2019b. “HLA-B*57:01 Allele Prevalence in Treatment-Naïve HIV-Infected Patients from Colombia.” *BMC Infectious Diseases* 19(1): 793. doi:10.1186/s12879-019-4415-3.
- Menéndez-Arias, Luis, and Rafael Delgado. 2022. “Update and Latest Advances in Antiretroviral Therapy.” *Trends in Pharmacological Sciences* 43(1): 16–29. doi:10.1016/j.tips.2021.10.004.
- Meyer, Diogo, Vitor R. C. Aguiar, Bárbara D. Bitarello, Débora Y. C. Brandt, and Kelly Nunes. 2018. “A Genomic Perspective on HLA Evolution.” *Immunogenetics* 70(1): 5–27. doi:10.1007/s00251-017-1017-3.
- Moragas, M., W. H. Belloso, M. S. Baquedano, M. I. Gutierrez, E. Bissio, J. M. Larriba, F. Fay, et al. 2015. “Prevalence of *HLA-B*57:01* Allele in Argentinean

<scp>HIV</Scp> -1 Infected Patients.” *Tissue Antigens* 86(1): 28–31. doi:10.1111/tan.12575.

Moyo, Enos, Perseverance Moyo, Grant Murewanhema, Malizgani Mhango, Itai Chitungo, and Tafadzwa Dzinamarira. 2023. “Key Populations and Sub-Saharan Africa’s HIV Response.” *Frontiers in Public Health* 11. doi:10.3389/fpubh.2023.1079990.

Naif, Hassan M. 2013. “Pathogenesis of HIV Infection.” *Infectious Disease Reports* 5(11): e6. doi:10.4081/idr.2013.s1.e6.

O’Hara, Phillip Anthony. 2022. “HIV and AIDS.” In , 329–50. doi:10.1007/978-981-19-4158-0_11.

Ooi, Joshua D., Jan Petersen, Yu H. Tan, Megan Huynh, Zoe J. Willett, Sri H. Ramaratnam, Peter J. Eggenhuizen, et al. 2017. “Dominant Protection from HLA-Linked Autoimmunity by Antigen-Specific Regulatory T Cells.” *Nature* 545(7653): 243–47. doi:10.1038/nature22329.

Orkin, Chloea; Wang, Jianminb; Bergin, Colmc; Molina, Jean-Micheld; Lazzarin, Adriano; Cavassini, Matthiasf; Esser, Stefang; Gómez Sirvent, Juan-Luish; Pearce, Heleni. “An Epidemiologic Study to Determine the Prevalence of the HLA-B*5701 Allele among HIV-Positive Patients in Europe.”

Overbeck, Jan, and Annelies S. Zinkernagel. 2006. “HIV and AIDS.” In *Brackenridge’s Medical Selection of Life Risks*, London: Palgrave Macmillan UK, 969–90. doi:10.1007/978-1-349-72324-9_35.

Patel PH, Zulfiqar H. 2024. “Reverse Transcriptase Inhibitors.” *Treasure Island (FL)*.

Patel, Pragna, Craig B. Borkowf, John T. Brooks, Arielle Lasry, Amy Lansky, and Jonathan Mermin. 2014. “Estimating Per-Act HIV Transmission Risk.” *AIDS* 28(10): 1509–19. doi:10.1097/QAD.0000000000000298.

Pattman, Richard, Nathan Sankar, Babiker Elawad, Pauline Handy, and David Ashley Price, eds. 2010. “Pathogenesis of HIV Infection.” In *Oxford Handbook of Genitourinary Medicine, HIV, and Sexual Health*, Oxford University Press, 423–28. doi:10.1093/med/9780199571666.003.36.

Pichler, Werner J. 2003. “Delayed Drug Hypersensitivity Reactions.” *Annals of Internal Medicine* 139(8): 683. doi:10.7326/0003-4819-139-8-200310210-00012.

Picker, Louis J. 2006. “Immunopathogenesis of Acute AIDS Virus Infection.” *Current Opinion in Immunology* 18(4): 399–405. doi:10.1016/j.coi.2006.05.001.

Reid, Gail, and Richard M Novak. 2011. “HIV-1 Treatment-Experienced Patients: Treatment Options and Management.” In *Recent Translational Research in HIV/AIDS*, ed. Yi-Wei Tang. Rijeka: IntechOpen, Ch. 17. doi:10.5772/23738.

Rodger, Alison J, Valentina Cambiano, Tina Bruun, Pietro Vernazza, Simon Collins, Olaf Degen, Giulio Maria Corbelli, et al. 2019. “Risk of HIV Transmission through Condomless Sex in Serodifferent Gay Couples with the HIV-Positive Partner Taking

Suppressive Antiretroviral Therapy (PARTNER): Final Results of a Multicentre, Prospective, Observational Study.” *The Lancet* 393(10189): 2428–38. doi:https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30418-0.

Roitberg-Tambur, Anat, Adam Friedmann, Campbell S. Witt, Shlomit Eisenberg, W. Aubrey Soskolne, Lior Shapira, Michael N. Sela, et al. 1994. “HLA Polymorphism in Moroccan Jewry.” *Human Immunology* 40(1): 61–67. doi:10.1016/0198-8859(94)90022-1.

Schackman, Bruce R, Callie A Scott, Rochelle P Walensky, Elena Losina, Kenneth A Freedberg, and Paul E Sax. 2008. “The Cost-Effectiveness of HLA-B*5701 Genetic Screening to Guide Initial Antiretroviral Therapy for HIV.” *AIDS* 22(15): 2025–33. doi:10.1097/QAD.0b013e3283103ce6.

Seitz, Rainer. 2016a. “Human Immunodeficiency Virus (HIV).” *Transfusion Medicine and Hemotherapy* 43(3): 203–22. doi:10.1159/000445852.

Shampo, Marc A, and Robert A Kyle. 2002. “Luc Montagnier—Discoverer of the AIDS Virus.” *Mayo Clinic Proceedings* 77(6): 506. doi:https://doi.org/10.4065/77.6.506.

Silvestri, Guido, and Emily K. Cartwright. 2016. “HIV and AIDS.” In *Viral Pathogenesis*, Elsevier, 107–23. doi:10.1016/B978-0-12-800964-2.00009-4.

Sluis-Cremer, Nicolas, and Gilda Tachedjian. 2008. “Mechanisms of Inhibition of HIV Replication by Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors.” *Virus Research* 134(1–2): 147–56. doi:10.1016/j.virusres.2008.01.002.

Small, Catherine Butkus, David A. Margolis, Mark S. Shaefer, and Lisa L. Ross. 2017. “HLA-B*57:01 Allele Prevalence in HIV-Infected North American Subjects and the Impact of Allele Testing on the Incidence of Abacavir-Associated Hypersensitivity Reaction in HLA-B*57:01-Negative Subjects.” *BMC Infectious Diseases* 17(1): 256. doi:10.1186/s12879-017-2331-y.

Smith, Steven J., Xue Zhi Zhao, Dario Oliveira Passos, Dmitry Lyumkis, Terrence R. Burke, and Stephen H. Hughes. 2021. “Integrase Strand Transfer Inhibitors Are Effective Anti-HIV Drugs.” *Viruses* 13(2): 205. doi:10.3390/v13020205.

Stainsby, Chris M., Teodora M. Perger, Vani Vannappagari, Karam C. Mounzer, Ricky K. Hsu, Cassidy E. Henegar, James Oyee, et al. 2019. “Abacavir Hypersensitivity Reaction Reporting Rates During a Decade of HLA-B*5701 Screening as a Risk-Mitigation Measure.” *Pharmacotherapy* 39(1): 40–54. doi:10.1002/phar.2196.

Suzuki, Shingo, Swati Ranade, Ken Osaki, Sayaka Ito, Atsuko Shigenari, Yuko Ohnuki, Akira Oka, et al. 2018. “Reference Grade Characterization of Polymorphisms in Full-Length HLA Class I and II Genes With Short-Read Sequencing on the ION PGM System and Long-Reads Generated by Single Molecule, Real-Time Sequencing on the PacBio Platform.” *Frontiers in Immunology* 9. doi:10.3389/fimmu.2018.02294.

Tang, T. F., L. Hou, B. Tu, W. Y. K. Hwang, A. E. J. Yeoh, J. Ng, and C. K. Hurley. 2006. “Identification of Nine New HLA Class I Alleles in Volunteers from the Singapore

- Stem Cell Donor Registries.” *Tissue Antigens* 68(6): 518–20. doi:10.1111/j.1399-0039.2006.00707.x.
- Taylor, Milton W. 2014. “HIV and AIDS.” In *Viruses and Man: A History of Interactions*, Cham: Springer International Publishing, 267–307. doi:10.1007/978-3-319-07758-1_15.
- Thomson, Glenys, and N. J. Cox. 1995. “HLA Disease Associations: Models for the Study of Complex Human Genetic Disorders.” *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 32(2): 183–219. doi:10.3109/10408369509084684.
- Thomson, Paul, Sean Hammond, and Dean J Naisbitt. 2022. “Pathology of Drug Hypersensitivity Reactions and Mechanisms of Immune Tolerance.” *Clinical & Experimental Allergy* 52(12): 1379–90. doi:https://doi.org/10.1111/cea.14235.
- Tran, Bach Xuan, Hai Thanh Phan, Carl A. Latkin, Huong Lan Thi Nguyen, Chi Linh Hoang, Cyrus S.H. Ho, and Roger C.M. Ho. 2019. “Understanding Global HIV Stigma and Discrimination: Are Contextual Factors Sufficiently Studied? (GAPRESEARCH).” *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(11): 1899. doi:10.3390/ijerph16111899.
- Udeze, Augustine O., David O. Olaleye, and Georgina N. Odaibo. 2020. “Polymorphisms and Drug Resistance Analysis of HIV-1 Isolates from Patients on First Line Antiretroviral Therapy (ART) in South-Eastern Nigeria.” *PLOS ONE* 15(4): e0231031. doi:10.1371/journal.pone.0231031.
- Ulvestad, E., Williams, K., Bø, L., Trapp, B., Antel, J., & Mørk, S. 1994. “HLA Class II Molecules (HLA-DR, -DP, -DQ) on Cells in the Human CNS Studied in Situ and in Vitro. Immunology.” *Immunology* 82(4): 535–41.
- Uzzaman, Ashraf, and Seong H. Cho. 2012. “Chapter 28: Classification of Hypersensitivity Reactions.” *Allergy and Asthma Proceedings* 33(3): 96–99. doi:10.2500/aap.2012.33.3561.
- Vahlne, Anders. 2009. “A Historical Reflection on the Discovery of Human Retroviruses.” *Retrovirology* 6(1): 40. doi:10.1186/1742-4690-6-40.
- Watts, Joseph M., Kristen K. Dang, Robert J. Gorelick, Christopher W. Leonard, Julian W. Bess Jr, Ronald Swanstrom, Christina L. Burch, and Kevin M. Weeks. 2009. “Architecture and Secondary Structure of an Entire HIV-1 RNA Genome.” *Nature* 460(7256): 711–16. doi:10.1038/nature08237.
- Yuen, Geoffrey J, Steve Weller, and Gary E Pakes. 2008a. “A Review of the Pharmacokinetics of Abacavir.” *Clinical Pharmacokinetics* 47(6): 351–71. doi:10.2165/00003088-200847060-00001.
- Yuen, Geoffrey J, Steve Weller, and Gary E Pakes. 2008b. “A Review of the Pharmacokinetics of Abacavir.” *Clinical Pharmacokinetics* 47(6): 351–71. doi:10.2165/00003088-200847060-00001.

M. Seligmann et al. 1985. "AIDS—AN IMMUNOLOGIC REEVALUATION." *The Pediatric Infectious Disease Journal* 4(3): 307. doi:10.1097/00006454-198505000-00038.

Rodger, A. J. (2019). Risk of HIV transmission through condomless sex in serodifferent gay couples with the HIV-positive partner taking suppressive antiretroviral therapy (PARTNER): final results of a multicentre, prospective, observational study. *The Lancet*, Volume 393, Issue 10189, 2428 - 2438.

Πηγές Εικόνων

Εικόνα 1.1.: [HIV and AIDS: Science Wrestles with 10,000 Nucleotides—Points but No Pin - ScienceDirect](#)

Εικόνα 1.2.: <https://biosci.mcdb.ucsb.edu/immunology/Immunodeficiencies/HIV-structure.htm>

Εικόνα 1.3.: <https://i-base.info/ttfa/section-1/7-cd4-count-as-a-surrogate-marker/>

Εικόνα 1.4.: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-11-S11-S10/figures/1>

Εικόνα 1.5.: <http://pypop.org/popdata/2008/maps/B-5701.gif>