

Mecanismos imunopatológicos das reações de hipersensibilidade a fármacos

Immunopathological mechanisms of drug hypersensitivity reactions

Rev Port Imunoalergologia 2016; 24 (2): 63-78

Frederico Regateiro^{1,2}, Emília Faria¹

¹ Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, Portugal

² Instituto de Imunologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

RESUMO

As reações de hipersensibilidade (HS) imunológica a fármacos são mediadas pelos linfócitos do sistema imunitário adaptativo, apresentando especificidade e memória imunológica. A ativação de linfócitos requer reconhecimento específico do antigénio pelos recetores de linfócitos (sinal 1) e expressão de moléculas de coestimulação (sinal 2) pela célula apresentadora de antigénio (APC). O tipo de resposta inflamatória é determinado pelas citocinas existentes no microambiente da ativação (sinal 3). A origem destes três sinais nas HS a fármacos apresenta algumas particularidades. O reconhecimento de pequenos fármacos depende de mecanismos de haptenação, pró-haptenação ou *p-i concept*. Os sinais de coestimulação podem ser iniciados pela ação direta do fármaco na APC ou ter origem no microambiente. As citocinas polarizam a resposta efetora dos linfócitos, dando origem a tipos de HS com manifestações clínicas diversas. O reconhecimento dos mecanismos imunopatológicos envolvidos é essencial para o diagnóstico, tratamento e orientação dos doentes com HS a fármacos.

Palavras-chave: Alergia a fármacos, haptenos, hipersensibilidade a fármacos, *p-i concept*, pró-haptenos, reações adversas a fármacos.

ABSTRACT

Immune-mediated drug hypersensitivity (HS) reactions involve lymphocyte activation and present the hallmark characteristics of adaptive responses: specificity and immunological memory. Lymphocyte activation requires specific recognition of the drug by lymphocyte receptors (signal 1) and co-stimulation (signal 2) by the antigen presenting cell (APC). The type of inflammatory reaction is determined by the cytokine microenvironment during activation (signal 3). The origin of these stimulatory signals in drug HS is controversial. Small drug recognition by lymphocytes occurs by haptenization, pro-haptenization and “p-i concept” mechanisms. Co-stimulatory signals might be induced on the APC by the drug itself or originate from the microenvironment surrounding the APC. Cytokines polarize the effector response of lymphocytes and give rise to different types of HS with distinct clinical manifestations. The recognition of the immunopathological mechanisms involved in the HS reactions is crucial for the diagnostics, treatment and management of patients with drug HS.

Key-words: Adverse drug reaction, drug allergy, drug hypersensitivity, haptens, p-i concept, prohaptens.

INTRODUÇÃO

Em 1972, a Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu reação adversa a medicamento como uma “resposta nociva e indesejada a um fármaco que ocorre com doses normalmente utilizadas para profilaxia, diagnóstico ou terapêutica de doenças, ou para alteração de uma função fisiológica”¹. As reações adversas a medicamentos (RAM) ocorrem em cerca de 10 % dos doentes hospitalizados e em 7 % dos tratamentos ambulatoriais², causam morbidade e mortalidade significativas e têm um impacto importante na prática clínica e na saúde pública.

As RAM dividem-se, segundo a classificação proposta por Rawlins e Thompson³, em reações do tipo A e do tipo B. As RAMs do tipo A são reações previsíveis pelas propriedades farmacológicas ou toxicológicas do medicamento, dependentes da dose e que podem ocorrer em qualquer indivíduo quando exposto a uma dose suficiente do fármaco (embora a predisposição genética do indivíduo possa contribuir para a intensidade ou tipo da reação). Constituem cerca de 85 a 90 % de todas as RAMs e podem subdividir-se em efeitos secundários, *overdose* e interações medicamentosas. As RAMs do tipo B, que constituem 10-15 % das reações adversas a fármacos, são

reações que não dependem do efeito farmacológico do medicamento e que surgem apenas em indivíduos suscetíveis. Podem dividir-se em intolerâncias, idiosincrasias, reações não imunológicas e reações imunológicas.

Neste artigo, debruçamo-nos sobre os mecanismos imunopatológicos envolvidos neste último tipo de reações do tipo B: as reações de hipersensibilidade imunológica a fármacos. Classicamente estas reações foram descritas como reações imprevisíveis e independentes da dose, tendo sido por isso consideradas “Bizarrras” (para colmatar falhas da dicotomia A/B, uma classificação mais recente das reações adversas divide as RAMs em tipos⁴: A – **A**umentadas, B – **B**izarrras, C – **C**rónicas ou **C**umulativas, D – do inglês “**D**elayed”, ou seja, efeitos a longo prazo, E – **E**ventos na suspensão do fármaco, e F – **F**alha terapêutica; para os dois primeiros tipos, A e B, a caracterização fisiopatológica é sobreponível aos tipos A e B classicamente descritos). As últimas décadas trouxeram avanços significativos na compreensão dos mecanismos imunopatológicos implicados e alguma da sua imprevisibilidade e independência da dose foi desmistificada. Como será descrito nesta revisão, é atualmente possível identificar, através de genotipagem, alguns dos doentes com risco aumentado de reação de hipersensibilidade (HS) a

determinados fármacos. Por outro lado, a dose de fármaco administrada é claramente importante em praticamente todos os tipos de HS e, mesmo em reações de HS imediata dependentes de IgE, a dose tem um papel determinante, como fica demonstrado pelos protocolos de dessensibilização a fármacos em que doses pequenas são toleradas por indivíduos confirmadamente alérgicos.

As reações de hipersensibilidade imunológica a medicamentos apresentam características das respostas imunes adaptativas: especificidade e memória imunológica. No entanto, os mecanismos imunopatológicos das reações de hipersensibilidade a fármacos desafiam frequentemente o paradigma atual da iniciação de respostas adaptativas (sinais 1, 2 e 3 de ativação). Neste artigo analisamos as particularidades das reações de hipersensibilidade imunológica a fármacos, nomeadamente o reconhecimento específico dos fármacos pelos recetores dos linfócitos T, a coestimulação de linfócitos específicos de fármaco e os tipos de reações de hipersensibilidade a fármacos de acordo com a classificação mecanística de Gell e Coombs modificada.

A ATIVAÇÃO DO SISTEMA ADAPTATIVO NAS REAÇÕES A FÁRMACOS

O sistema imunitário adaptativo é constituído pelos linfócitos T e B (os linfócitos NK não possuem recetores específicos nem memória imunológica e são, regra geral, considerados parte da imunidade inata). Não é claro qual o papel, a existir, dos linfócitos B1 e dos linfócitos T $\gamma\delta$ (apenas um clone específico de fármaco identificado⁵) nas reações de HS a fármacos, pelo que nos referiremos apenas aos linfócitos B2 e aos linfócitos T $\alpha\beta$ e suas funções nas respostas específicas a fármacos.

As respostas adaptativas a fármacos incluem uma resposta primária (ou fase de sensibilização) e uma resposta secundária (ou fase de exposição/provocação). Durante a sensibilização ocorre uma ativação e proliferação clonal de linfócitos T específicos para o fármaco

que podem diferenciar-se em células efectoras de HS ou estimular a resposta de linfócitos B e anticorpos. Na fase de exposição, mecanismos efetores dos diversos tipos de HS entram em ação causando doença imediata ou tardia. Os tipos de respostas efectoras serão descritos abaixo. Regra geral, a fase de sensibilização é assintomática e apenas na reexposição, ou na exposição prolongada, surgem os sinais e sintomas de HS. Como veremos adiante, nas reações a fármacos nem sempre este dogma da resposta adaptativa se verifica e, em alguns casos, os sintomas surgem numa primeira exposição ao fármaco.

A importância fisiopatológica da interação célula apresentadora de antígeno (APC) – antígeno (Ag) – recetor de linfócitos T (TCR) é ilustrada pelo número de Prémios Nobel da Fisiologia e Medicina (quatro) atribuídos a contribuições para a sua compreensão: 1980 – Baruj Benacerraf e Jean Dausset, descoberta do complexo *major* de histocompatibilidade (MHC); 1984 – Niels Jerne, teoria da seleção clonal, iniciada por MacFarlane Burnet (também ele Prémio Nobel em 1960); 1996 – Peter Doherty e Rolf Zinkernagel, interação MHC-linfócitos T citotóxicos na resposta a vírus; 2011 – Ralph M. Steinman, células dendríticas, Bruce A. Beutler e Jules A. Hoffmann, “*toll-like receptors*” (TLRs) e maturação de células dendríticas (DCs).

A resposta de linfócitos T é estimulada quando APCs, e em particular DCs, apresentam na sua superfície moléculas de MHC carregadas com peptídeos para os quais os linfócitos possuem TCRs específicos (sinal 1 de ativação, determina a especificidade da resposta) na presença de moléculas de co-estimulação (e.g., CD80/86) que induzem a proliferação clonal dos linfócitos T (sinal 2). As moléculas de MHC da classe I apresentam peptídeos de origem intracelular com 8-10 aminoácidos a linfócitos T CD8⁺ e as moléculas de MHC da classe II apresentam peptídeos de origem extracelular com 12-16 aminoácidos a linfócitos T CD4⁺ (excetua-se a *cross-presentation* de antígenos, um tema irrelevante para o entendimento deste artigo).

As citocinas produzidas pelas APCs e outras citocinas existentes no microambiente em que se dá a interação APC-linfócito T (sinal 3) determinam a polarização dos linfócitos (Th1, Th2, Th17, Tr1, etc.) e a sua função de modo a responderem adequadamente aos diferentes desafios patogénicos (e.g., linfócitos T CD4⁺ Th1, linfócitos T reguladores, etc.).

A interação entre linfócitos T CD4⁺ ativados e linfócitos B que apresentam o seu antígeno específico induz a proliferação clonal de linfócitos B e produção de anticorpos secundários específicos, obedecendo a sinais análogos de especificidade, coestimulação e diversificação funcional (e.g., mudança de classe de imunoglobulinas).

A forma como os fármacos desencadeiam esta sequência de ativação da resposta adaptativa, sinal 1, 2 e 3, é uma das mais importantes e enigmáticas questões na compreensão das reações de HS a fármacos. Como é que pequenos fármacos são reconhecidos pelos recetores de linfócitos? Quais são os sinais de perigo associados? Quais os mediadores do sinal 3 na resposta a fármacos que determinam o tipo de HS e patologia?

SINAL 1 – RECONHECIMENTO ESPECÍFICO DE FÁRMACOS PELOS LINFÓCITOS T

Os fármacos são moléculas quimicamente muito diversas, incluindo grandes proteínas multiméricas ou pequenas moléculas com apenas alguns iões (Quadro 1). Esta diversidade tem implicações no reconhecimento de cada tipo de fármaco pelas células do sistema imunitário.

O reconhecimento de grandes moléculas obedece aos princípios habituais de antigenicidade: são antígenos completos apresentando múltiplos epitópos diferentes ou epitópos repetitivos e iniciam respostas específicas de forma clássica ou através do *crosslinking* de recetores. Tal está demonstrado em medicamentos como os anticorpos monoclonais terapêuticos^{6,7} ou os relaxantes neuromusculares (RMN), em que a presença de epitópos de amónio

Quadro 1. Pesos moleculares de vários fármacos comuns.

Grandes moléculas (PM > 5 KDa)	Pequenas moléculas (PM < 0,9 KDa)
Digestão gastrointestinal: sim Vias de administração: IV, IM, SC	Digestão gastrointestinal: não Vias de administração: PO, IV, IM, SC
Exemplos: IgG, 150 kDa Infliximab, 144 kDa Etanercept, 51 kDa Filgrastim, 18.8 kDa Interferão-α2a (Roferon-A), 40 kDa Insulinas, 5.8 – 6.0 kDa	Exemplos: Penicilina, 243.26 Da Amoxicilina, 365.4 Da Ciprofloxacina, 331.346 Da Rocuronio, 529.774 Da Cisplatina, 300.01 Da Alopurinol, 136.112 Da

PM – peso molecular; PO – *per os*, via oral; IV – endovenosa; IM – intramuscular; SC – subcutânea

quaternário torna a succinilcolina bivalente e outros RNM multivalentes⁸.

A maioria dos fármacos, no entanto, são pequenas moléculas, uma característica essencial para que, por exemplo, se difundam através das membranas celulares atingindo alvos intracelulares ou para absorção e biodisponibilidade quando administradas pela via oral. Alguns fármacos têm pesos moleculares inferiores ao de simples aminoácidos (os aminoácidos têm pesos moleculares entre os 75Da da Glicina e os 204Da do Triptofano). A título de exemplo, a penicilina é pouco maior do que o triptofano, enquanto o alopurinol é menor do que alguns aminoácidos (Quadro 1). Tendo em conta que as moléculas de MHC classe I apresentam peptídeos com 8 a 10 aminoácidos (~900-1100Da) ao TCR/CD8⁺ e que o MHC classe II apresenta peptídeos com 12 a 16 aminoácidos (~1300-1800Da) ao TCR/CD4⁺, a forma como estas pequenas moléculas são reconhecidas pelos recetores do sistema imunitário não é óbvia e tem sido alvo de curiosidade científica desde há décadas⁹. Vários modelos têm sido propostos para explicar o reconhecimento de pequenos fármacos pelos recetores específicos dos linfócitos, dos quais destacaremos, pelo nível de evidência, os modelos de haptização, pró-haptização e o *p-i concept*.

Haptenização

Neste modelo, a formação de complexos, através de ligações covalentes entre proteínas autólogas e uma molécula de baixo peso molecular isoladamente não imunogénica (como um pequeno fármaco), cria “neoantígenos” com epitopos que podem ser reconhecidos pelos receptores do sistema imunitário. A possibilidade de formar complexos de haptenização depende da “reatividade” do fármaco com as proteínas autólogas, um fenómeno que pode ser previsto e que tem importância no desenho de novos fármacos. O conceito de haptenização foi proposto há mais de oito décadas por Landsteiner e Jacobs em 1935⁹, ao identificarem a associação entre a reatividade com proteínas de um composto e o seu potencial imunogénico, citando trabalhos já anteriores de R.L. Mayer (1928) e L. Dienes (1933) sobre a reatividade da *p*-fenilenediamina com proteínas.

A haptenização foi demonstrada em vários fenómenos biológicos e em algumas patologias, como a dermatite de contacto alérgica ao níquel, e está também identificado em várias HS a fármacos que formam ligações covalentes com proteínas celulares ou do plasma (e.g., albumina, integritinas, enzimas, etc.). A importância da haptenização está bem estabelecida nas reações de hipersensibilidade a antibióticos β -lactâmicos^{10,11}, sendo inclusivamente conhecidos os exatos resíduos de lisina da albumina sérica em que ocorre a interação fármaco/proteína¹². A haptenização está também demonstrada para reações de HS a cefalosporinas, carbapenem, monobactam, penicilamina e hidralazina, entre outros.

Pró-haptenização

O conceito de pró-haptenização é semelhante ao de haptenização (ligação covalente a proteínas e formação de neoantígenos), mas é precedido da metabolização do fármaco. Muitos fármacos são quimicamente inertes na sua forma original e, na sua forma “nativa”, não têm capacidade de se ligar a proteínas. Para que se tornem quimicamente (proteína) reativos têm que ser “bioativados” pelos processos normais de metabolismo – regra geral

originando metabolitos eletrofílicos que se ligam a resíduos nucleofílicos nas proteínas.

Uma implicação que decorre da necessidade de “bioativação” é a de que a imunogenicidade e as manifestações clínicas podem restringir-se aos locais onde ocorre a metabolização do medicamento (e.g., hepatite ou nefrite), o que pode explicar sintomas específicos de órgão ou tecido que ocorrem em algumas HS a fármacos.

O protótipo das HS por pró-haptenização é o sulfametoxazol, uma pequena molécula de 253 Da que não reage com proteínas na forma original mas que, ao ser metabolizada no fígado pelo citocromo P450 em sulfametoxazol hidroxilamina e oxidado em sulfametoxazol nitroso, ganha capacidade de se ligar a proteínas celulares e séricas, modificando grupos tiol e produzindo novos epitopos¹³. Cerca de 90 % dos linfócitos T envolvidos em reações de HS a sulfametoxazol são dependentes da sua metabolização prévia e são específicos para modificações de proteínas dependentes da produção de sulfametoxazol nitroso¹⁴. Outros exemplos de reconhecimento imune de fármacos por pró-haptenização incluem reações de HS a sulfonamidas, halotano, fenitoína, carbamazepina, lamotrigina, entre outros.

p-i concept

Os fenómenos de haptenização e pró-haptenização não foram demonstrados para a generalidade dos fármacos e não explicam a existência de reações a fármacos quimicamente não reativos ou não metabolizados. Em 2002, Werner J. Pichler propôs um novo modelo de reconhecimento específico a que chamou “*p-i* concept”¹⁵ (de *Pharmacologic interaction of drugs with Immune receptors*, expressão ainda sem equivalente estabelecida na língua portuguesa). Segundo o modelo de *p-i*, os fármacos não funcionam como antígenos, mas causam reações de HS ao ligarem-se diretamente ao TCR ou ao HLA, induzindo a ativação e a proliferação clonal de linfócitos T após contacto com a APC (o *p-i* concept não foi ainda demonstrado em reações por linfócitos B/anticorpos ou NK). Os receptores de linfócitos (no indivíduo), bem como as mo-

léculas de HLA (na população), são altamente variáveis na sua conformação e zonas de ligação ao antigénio (mais de 10^{11} TCRs diferentes podem ocorrer num indivíduo e mais de 9900 alelos de HLA classe I e mais de 3000 classe II estão descritos na população humana – <http://www.allelefrequencies.net/default.asp>), tornando provável que algumas destas moléculas tenham zonas de ligação semelhantes às dos alvos para os quais os fármacos foram desenhados. Pode, assim, formar-se uma ligação ao recetor imune semelhante à ligação do fármaco ao seu ligando terapêutico (não covalente, por forças de van der Waals, eletroestáticas ou pontes de hidrogénio)¹³. Segundo este modelo, a ativação dos linfócitos não decorre da estimulação imunológica por antigénios, mas por estimulação “farmacológica” de um recetor de linfócitos pelo fármaco. Linfócitos T de memória ou pré-ativados (e.g., por infeções) serão particularmente sensíveis a este tipo de estimulação por apresentarem um limiar de ativação mais baixo. A especificidade dos linfócitos T ativados por p-i é geralmente desconhecida e pode ter importantes implicações nas manifestações clínicas.

O *p-i concept* permite explicar algumas observações clínicas e laboratoriais que não são compatíveis com o modelo hapteno/pró-hapteno^{13,16}: 1. os fármacos nem sempre se ligam de forma covalente às proteínas, ligando-se, frequentemente, de forma lábil através de ligações não covalentes; 2. células dendríticas fixadas, ou seja, incapazes de processar antigénios ou de metabolizar pró-haptenos, podem ativar respostas T específicas quando incubadas com fármacos quimicamente inertes¹⁷; 3. a maioria das reações de HS a fármacos é mediada apenas por linfócitos T, não existindo uma resposta completa com linfócitos T, linfócitos B e anticorpos, como pode acontecer com antigénios completos, como os haptenizados; 4. ocorrem reações muito rápidas, praticamente imediatas, mediadas por linfócitos T, sem a presença de anticorpos; 5. é possível estimular diretamente clones de células T de forma reversível e dependente da dose; 6. reações de HS podem ocorrer sem contacto prévio, na primeira administração, sem fase de sensibilização; 7. al-

gumas reações de HS são previsíveis e fortemente associadas a alelos ou haplótipos HLA.

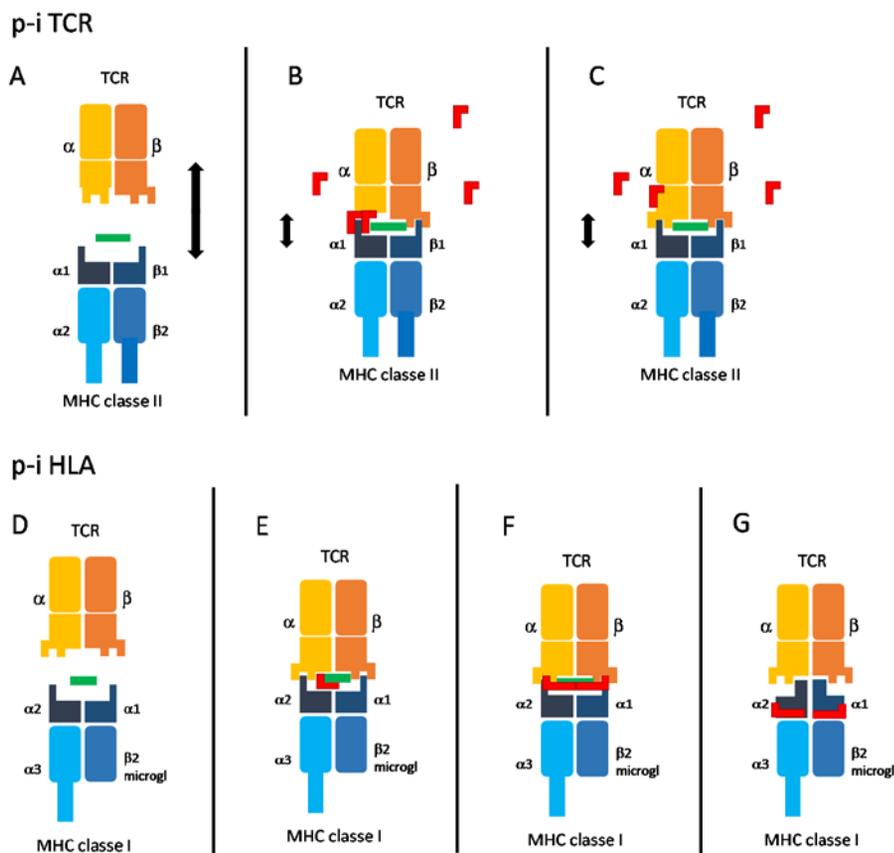
Segundo este modelo, a estimulação de clones de linfócitos T pode acontecer por ligação do fármaco diretamente ao TCR^{5,18} (p-i TCR) ou por ligação do fármaco ao HLA^{19,20} (p-i HLA)(Figura 1)²¹.

p-i TCR

O p-i TCR parece ser mais frequente em respostas de linfócitos T CD4⁺ e está envolvido em exantemas maculopapulares e, raramente, em situações mais graves como o DRESS (*Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms*, também designado por DiHS, *Drug-induced Hypersensitivity Syndrome*). No p-i TCR, a ativação dos linfócitos T ocorre por ligação do fármaco ao TCR, sendo também necessária a interação do TCR com complexos HLA/peptídeo. Significativamente, não existe restrição HLA, podendo ocorrer com HLAs alogénicos²², ou mesmo removendo ou alterando o peptídeo da fenda do HLA²³. O fármaco pode ligar-se ao TCR na zona de interação/ligação ao HLA (Figura 1.B) ou a regiões do TCR fora da interação com o HLA, mas induzindo modificações alostéricas da molécula de TCR e alterando a sua afinidade para o HLA/peptídeo^{24,25} (Figura 1.C). Alguns clonotipos de TCR envolvidos no reconhecimento de fármacos foram recentemente identificados²⁶. No entanto, regra geral, não se conhecem as especificidades dos TCRs a que se ligam os fármacos causadores de HS. Os mesmos fármacos tendem a induzir fenótipos clínicos semelhantes em vários indivíduos, pelo que é possível que cada medicamento tenda a ativar especificidades semelhantes de TCR²⁷.

p-i HLA

O p-i HLA estimula respostas sobretudo de linfócitos T CD8⁺ e pode estar na origem de reações citotóxicas graves, como a Síndrome de Stevens-Johnson (SJS) ou a Necrólise Epidérmica Tóxica (TEN). Nestes casos, existe uma forte restrição HLA, uma vez que é necessário que exista ligação direta do fármaco às moléculas de HLA^{19,20}.



Fármaco representado a vermelho, peptídeo representado a verde. A-C, p-i TCR: em B, ocorre a ligação do fármaco à zona de interação entre TCR/HLA/peptídeo, permitindo a ativação específica do linfócito T CD4⁺; em C, o fármaco liga-se fora do paratopo e induz uma mudança alostérica de conformação do TCR que aumenta a afinidade pelo complexo HLA/peptídeo e leva à ativação o linfócito T CD4⁺. D-G, p-i HLA, vários modelos podem levar à ativação de linfócitos T CD8⁺ por moléculas de HLA classe I ligadas a fármacos; E – reconhecimento do fármaco na fenda HLA em conjunto com o peptídeo; F – *altered self-peptide repertoire* com alteração do repertório de peptídeos apresentados pelo HLA; G – *altered HLA/peptide complex* com formação de aloalelo na ausência de peptídeo

Figura 1. Modelos de reconhecimento de fármacos por ligações p-i.

Esta associação entre alelos/haplótipos HLA e reações de HS a alguns fármacos foi inicialmente descrita em 2002^{28,29} (associação entre alelos HLA e a suscetibilidade para reações de HS ao abacavir em indivíduos HIV⁺) e tem importantes implicações clínicas, uma vez que permite prever (e evitar) a ocorrência de reações adversas graves a alguns fármacos através da genotipagem prévia à administração do fármaco. Regra geral, as associações HLA/HS a fármaco são específicas de fármaco e apresentam elevados valores preditivos

negativos. No entanto, os valores preditivos positivos (VPP) são baixos (possivelmente limitados pela presença de clonotipos TCR para o fármaco). Uma exceção a esta regra é a associação entre HLA-B*57:01 e HS grave a abacavir, que apresenta um VPP de 47 % e um risco relativo de 1000^{28,29}, pelo que, atualmente, está generalizado o rastreio de HLA pré-tratamento com este fármaco³⁰.

Existem publicadas³¹ numerosas associações HLA/HS a fármacos específicos, algumas delas apenas em popula-

ções selecionadas. A associação entre HLA-B*58:01 e reações adversas cutâneas graves, descrita sobretudo em chineses da etnia Han, foi recentemente confirmada numa população portuguesa de doentes com SJS/TEN e DRESS³².

No p-i HLA, a ligação do fármaco ao HLA pode ocorrer por via “intracelular” (ligação ao HLA ainda “vazio” no retículo endoplasmático da APC – a que se segue a ligação do HLA aos seus peptídeos “habituais”, mas também a peptídeos para os quais, pela presença do fármaco, ganha uma nova afinidade, originando um *altered self-peptide repertoire*^{19,20}) ou por via “extracelular” (ligação do fármaco ao HLA já expresso na superfície da APC e carregado com peptídeo).

A estimulação do TCR pelo complexo fármaco/HLA/peptídeo pode ocorrer de, pelo menos, três formas diferentes (Figura 1): 1. Reconhecimento do fármaco apresentado na fenda do HLA em conjunto com o HLA/peptídeo (Figura 1.E) –, como parece ser o caso do reconhecimento da carbamazepina ligada ao HLA-B*15:02³³ – ou, eventualmente, mesmo sem peptídeo na fenda HLA²⁷; 2. *altered self peptide repertoire* (Figura 1.F), em que o fármaco ligado ao HLA altera o repertório de peptídeos endógenos que se podem ligar e ser apresentados pelo HLA, induzindo uma alteração do *self* imunológico e causando respostas “auto-ímmunes” policlonais – como parece ocorrer para a associação HLA-B*57:01 e abacavir^{19,20,34}; 3. *altered HLA/peptide complex* (Figura 1.G), em que a ligação do fármaco ao HLA altera a conformação da fenda e transforma o HLA num “aloalelo” contra o qual numerosos clones de linfócitos T *naïve* ou de memória reagem imediatamente (à semelhança da rejeição de transplantes alogénicos), mesmo na ausência de peptídeo na fenda HLA³⁵.

Outros modelos

Modelos menos consensuais incluem o *heterologous immune model*, que postula que a HS a fármacos é desencadeada por reatividade cruzada de linfócitos T de memória dirigidos a infeções virais frequentes, como os herpes vírus humanos (e.g., HHV-6)³⁶.

Finalmente, é de notar que os vários modelos não são mutuamente exclusivos e certos fármacos podem ser reconhecidos tanto por haptização como por mecanismos p-i (p-i TCR e/ou p-i HLA), com manifestações clínicas totalmente distintas. Tal foi observado, por exemplo, para a flucloxacilina, que tanto pode ser reconhecida por p-i e causar hepatite tóxica (*drug-induced liver injury*, DILI) em doentes com HLA-B*57:01³⁷, como por mecanismos dependentes de haptização em indivíduos sem este alelo³⁸.

SINAL 2 (DANGER SIGNAL) NA ACTIVAÇÃO DE LINFÓCITOS T ESPECÍFICOS

O sinal 2 de ativação dos linfócitos T é iniciado pelo reconhecimento de “sinais de perigo” (segundo o *danger model* proposto por Polly Matzinger³⁹) pelas células dendríticas. Os recetores PRR (*pattern recognition receptors*) existentes nas células do sistema inato e adaptativo reconhecem moléculas com padrões conservados filogeneticamente associados a patogénios (PAMPs, *pathogen associated molecular patterns*, por exemplo, ADN viral ou lipopolissacarídeo bacteriano), ou a perigo para o organismo (DAMPs, *danger associated molecular patterns*, por exemplo, sinais de necrose como o ATP extracelular, etc.). Quando ativados, os PRR levam à maturação da célula dendrítica, promovendo a sua migração para os gânglios linfáticos, a extensão de dendrites, e aumentando a expressão de HLA na superfície da membrana celular e de um conjunto de moléculas de adesão e de coestimulação que vão ativar os linfócitos específicos para o HLA/peptídeo e induzir a sua proliferação, polarização e produção de citocinas.

A forma como os fármacos induzem a maturação das células do sistema inato é controversa. A generalidade dos fármacos não se liga diretamente a PRR e é administrada de formas inócuas sem aparentes sinais de perigo associados, por exemplo através da via oral. Se, por um lado, o uso de medicação pressupõe uma doença subjacente e algumas patologias envolvem sinais de perigo

reconhecidos (e.g., antibióticos e anti-inflamatórios nas infeções, citostáticos no cancro, ou durante trauma cirúrgico), existem também múltiplas situações em que nem a doença nem a administração do fármaco implicam sinais de perigo evidentes, mas ocorrem reações de HS (e.g., anti-hipertensores, anestésicos, contrastes, etc). Para além disso, há situações com evidentes sinais de perigo que não originam reações de HS (e.g., paracetamol em doses elevadas causa necrose hepática não imune mediada, uma situação com abundantes sinais de perigo e com possibilidade de haptização demonstrada, mas que não inicia respostas imunes).

A maturação das DCs e coestimulação associados a HS a fármacos parece ocorrer por vários mecanismos com origem no próprio fármaco ou no ambiente que rodeia a DC:

- Ligação direta do fármaco a PRR, um mecanismo conhecido dos agonistas do TLR7/8 imiquimod e outras imidazoquinolinas⁴⁰;
- Ligação covalente de metabolitos reativos do fármaco a ADN ou a proteínas importantes para a sobrevivência ou ativação da DC, comprometendo funções celulares essenciais e causando *stress* na DC. Tal efeito foi demonstrado para a amoxicilina e o sulfametoxazol⁴¹. Rodriguez-Pena e colegas⁴² demonstraram que a amoxicilina induz a maturação das células dendríticas apenas de doentes alérgicos a este fármaco, mas não em células dendríticas de controlos não alérgicos. Os mecanismos envolvidos não foram ainda esclarecidos;
- Produção de intermediários reativos e tóxicos após metabolização do fármaco pela própria DC, por exemplo a metabolização celular do SMX em SMX-NO produz radicais livres de oxigénio, *stress* oxidativo e maturação da DC⁴³;
- Efeitos tóxicos do medicamento em células na vizinhança da DC com libertação de sinais de perigo que são reconhecidos pelos PRR da célula dendrítica;

- Outros sinais associados à doença e não ao fármaco, podendo ser internos à DC (*stress* químico, físico, infeccioso, inflamatório, oxidativo) ou externos à DC (infeccioso, trauma, etc.)⁴⁴.

Estes sinais podem ocorrer isoladamente ou em combinação. Por exemplo, a exposição de APCs a sinais de perigo conhecidos (lipopolissacarídeo bacteriano, enterotoxina B estafilocócica, IL-6, IFN- γ , etc.) não só induz ativação como também aumenta a produção de aductos reativos do SMX tóxicos para a DC⁴⁴.

Algumas HS a fármacos são mais frequentes em determinadas doenças, por exemplo existe uma associação entre fibrose quística e HS a antibióticos⁴⁵ e um risco aumentado de HS a sulfametoxazol em doentes HIV/SIDA, em particular se existir replicação viral ativa^{46,47}. Quanto destas incidências é atribuível à maior utilização do fármaco nestas patologias e quanto será atribuível a mecanismos de coestimulação por interação infeção/fármaco/sistema imunitário não está completamente esclarecido. São também conhecidas as maiores incidências de *rash* medicamentoso associadas a infeções virais nas crianças e os fenómenos de reativação de infeções crónicas por herpes vírus (HHV 6, HHV 7, CMV e EBV) no DRESS/DiHS/síndrome de hipersensibilidade⁴⁸ com recrudescência dos sintomas de HS ao fármaco durante os períodos de reativação viral³⁶. Estas reações de HS podem ocorrer com vários fármacos e os mecanismos responsáveis por estas associações não são totalmente compreendidos⁴⁹. No entanto, para além da co-estimulação, a infeção ou outras patologias podem desencadear mecanismos imunológicos (como a pré-ativação de linfócitos ou a reatividade cruzada) ou não imunológicos (como alterações da farmacocinética e metabolização do fármaco, interações medicamentosas, etc.) que levem a suscetibilidade aumentada a HS a fármacos⁵⁰. A forma como uma determinada infeção em particular induz suscetibilidade a um fármaco específico permanece por esclarecer e, provavelmente, terá de ser estudada individualmente para cada combinação infeção/fármaco.

Finalmente, é possível, pelo menos no plano teórico, que algumas HS por p-i HLA possam dispensar coestimulação, atuando por reconhecimento de “alo-HLA” ou em situações que envolvam linfócitos T de memória ou linfócitos T “pré-ativados” por infeções ou episódios prévios de HS ao fármaco²¹.

MECANISMOS EFETORES – TIPOS DE HIPERSENSIBILIDADE A FÁRMACOS

Diversas formas de sistematização das reações de HS foram propostas por diversos autores, mas aquela que parece reunir maior consenso é a classificação de Gell e Coombs. Em 1963, os imunologistas Philip Gell e Robin Coombs propuseram uma classificação das reações de hipersensibilidade em quatro tipos, de acordo com os seus mecanismos imunopatológicos. Em 1968, os mesmos imunologistas aplicaram esta classificação para caracterizar as reações de hipersensibilidade a fármacos⁵¹. Apesar de sucessivamente modificada por vários autores, esta classificação mantém-se útil para a compreensão dos mediadores implicados nas reações de HS a fármacos, contribuindo para a decisão diagnóstica, terapêutica e de prognóstico destes doentes. A classificação de Gell e Coombs modificada inclui 4 tipos de hipersensibilidade (Quadro 2):

- Hipersensibilidade de tipo I, também designada “imediate” ou “alérgica”, ocorre após ligação do antigénio (geralmente solúvel, de grandes dimensões ou hapténizado) a anticorpos específicos da classe IgE localizados na superfície de mastócitos e basófilos induzindo a sua desgranulação e libertação de mediadores pré-formados, causadores dos sintomas imediatos (e.g., histamina, triptase, etc.), ou formados “de novo” (como leucotrienos, TNF- α , etc.), de que resultam os sintomas tardios. A consequência desta rápida libertação de mediadores vasoativos são as manifestações clínicas típicas da doença alé-

gica (congestão nasal e ocular, obstrução nasal, broncospasmo, urticária, angioedema, anafilaxia ou choque anafilático), mas também outros, como o aumento da produção de muco, aumento da peristalse, etc.

A produção de IgE específica para o fármaco ocorre após um contacto prévio com o fármaco geralmente hapténizado a proteínas e desenvolvimento de plasmócitos produtores de IgE específica que se liga a recetores Fc ϵ nos mastócitos/basófilos (fase de sensibilização). Após a fase de sensibilização e produção da resposta secundária IgE, o contacto subsequente com o antigénio desencadeia reações rápidas ou “imediatas”, uma vez que tanto os anticorpos específicos como os mediadores vasoativos dos grânulos dos mastócitos/basófilos estão pré-formados e disponíveis para iniciar a reação. Os sintomas clínicos, no entanto, podem demorar até mais de uma hora a surgir, em particular no caso de administração oral do fármaco, em que a absorção pode ser mais demorada e atrasada pela ingestão concomitante de alimentos.

Recentemente, foi notado que, numa grande proporção de doentes com reações imediatas a fármacos, não havia história de um contacto prévio com o fármaco que pudesse ter induzido a sensibilização – alguns autores estimam que em cerca de 50 % das HS imediatas não é possível identificar um contacto prévio com o fármaco⁵², o que sobe para 80 % nas anafilaxias fatais⁵³. Excluindo a possibilidade de ter havido uma toma desconhecida ou entretanto esquecida pelo doente ou família, uma possível explicação é de que tenha ocorrido sensibilização silenciosa a uma molécula para a qual exista reatividade cruzada com o fármaco. Um exemplo recentemente identificado é o da anafilaxia após a primeira administração de cetuximab, um anticorpo monoclonal terapêutico contra o *epidermal growth factor receptor* (EGFR) usado no tratamento do cancro colorrectal⁷. Estes doentes apresentam IgE anti-

Quadro 2. Tipos de hipersensibilidade segundo a classificação de Gell e Coombs adaptada e suas características principais

Tipo de HS	I	II	III	IVa	IVb	IVc	IVd
Designação	Imediata ou alérgica	Citotóxica	Por imunocomplexos	Tardia ou retardada / celular			
Tempo de reação	Imediata, 15min-1h	Tardia	Tardia	Tardia (embora possa ocorrer em horas se mecanismos p-i)			
Reconhecimento imune	Anticorpos			TCR			
	IgE	IgG (e IgM)	IgG e IgM				
Antígeno	Solúvel Haptenização	Superfície celular/ matriz extracelular Haptenização	Solúvel Haptenização	Superfície celular/ matriz extracelular Haptenização p-i	Superfície celular/ matriz extracelular Haptenização p-i	Superfície celular/ matriz extracelular Haptenização p-i	Solúvel Haptenização p-i
Mecanismo efetor	Desgranulação de mastócitos e basófilos	Citotoxicidade através de FcR: ADCC, NK, complemento, neutrófilos, macrófagos	Deposição de imunocomplexos com ativação de fagócitos, neutrófilos e mastócitos	Th1 Ativação de monócitos e macrófagos	Th2 Inflamação eosinofílica	Citólise de queratinócitos, hepatócitos, etc, por linfócitos T CD4 ⁺ e CD8 ⁺ citotóxicos	Ativação e recrutamento de neutrófilos
Mediadores	Histamina, triptase, leucotrienos, prostaglandinas, TNF α	Complemento, perforina, granzimas, Fas-FasL, fagocitose	Complemento, coagulação (microtrombose), desgranulação de mastócitos	IFN γ TNF α IL18	IL5 IL4 IL13	Perforina, granzimas, FasL, granulínsina	CXCL8, GMCSF, IL17
Clínica	Rinite, broncospasma, urticária, anafilaxia, choque anafilático	Anemia hemolítica, trombocitopenia, nefrite intersticial	Vasculite, glomerulonefrite, artrite, "rash" cutâneo, doença do soro	Dermatite de contacto (com IVc)	Exantema maculopapular eosinofílico, DRESS/DiHS	Exantema maculopapular, Dermatite de contacto, SJS, NET, DILI, nefrite intersticial ou pneumonite por fármacos	Pustulose exantemática generalizada aguda
Fármacos mais frequentes	Penicilinas e outros antibióticos, AINEs, anticorpos monoclonais quiméricos, IVIG	Cefalosporinas, penicilinas, levodopa, metildopa, quinidina, AINEs	Anticorpos monoclonais, cefaclor, cefalexina, amoxicilina cotrimoxazol, AINEs e diuréticos	Vários	EMP: penicilinas, cefalosporinas, alopurinol DRESS: alopurinol, carbamazepina, fenitoína, sulfonamidas, abacavir	Cotrimoxazole, alopurinol, abacavir, beta-lactâmicos, paracetamol, nevirapina, anti-convulsivantes	Amoxicilina, bloqueadores canais Ca ²⁺ , antimaláricos

AINEs – anti-inflamatórios não esteroides; IVIG – imunoglobulina humana endovenosa; ADCC – citotoxicidade celular dependente de anticorpos; EMP – exantema maculopapular; SJS – síndrome de Stevens-Johnson; NET – necrólise epidérmica tóxica; DILI – *drug induced liver injury*

-cetuximab, em particular anti-galactose- α -1,3-galactose, antes de iniciar tratamento⁷, tendo sido sensibilizados para o epitopo através de picada de

carraça⁵⁴ (um exemplo de reatividade cruzada que pode originar também episódios de anafilaxia retardada após ingestão de carnes vermelhas).

- Hipersensibilidade de tipo II, também designada “citotóxica”, é mediada por anticorpos das classes IgG ou IgM dirigidos a moléculas localizadas na superfície de células que, desta forma, se tornam “alvos” para células com capacidade citotóxica (como os linfócitos NK), células fagocíticas (em particular do sistema fagocítico mononuclear) ou para a lise celular por fixação de complemento e formação do complexo de ataque à membrana. Alguns fármacos ligam-se a moléculas na superfície de células, como os eritrócitos ou plaquetas, e tornam-se alvos para anticorpos IgG antifármaco que vão levar à destruição da célula, causando anemia hemolítica ou trombocitopenia, entre outros.
 - Hipersensibilidade de tipo III, também designada “hipersensibilidade por imunocomplexos”, ocorre pela ligação de anticorpos da classe IgG (e raramente IgM) a antígenos solúveis formando “imunocomplexos” circulantes que, se em grande quantidade, se podem depositar no endotélio vascular de alguns tecidos, membranas sinoviais ou membrana basal glomerular. Os imunocomplexos em excesso causam inflamação (e.g., vasculite) e dano de tecidos e órgãos por dois mecanismos principais: 1. reconhecimento por recetores Fc de neutrófilos, macrófagos, mastócitos e outros leucócitos, levando à sua ativação; 2. ativação da via clássica do complemento e produção de C5a.
 - Hipersensibilidades do tipo IV, também designadas “tardias”, “retardadas” ou “celulares”, incluem respostas mediadas por vários tipos de linfócitos T. Geralmente são tardias, após vários dias de exposição, mas podem ser rápidas, em apenas algumas horas se mecanismos p-i estiverem envolvidos. Atingem frequentemente a pele (um órgão rico em linfócitos T e APCs) e podem originar sintomatologia grave e fatal, contribuindo, no seu conjunto, para mais mortes do que as reações anafiláticas a fármacos. De acordo com o tipo de citocinas produzidas pelos linfócitos T e com o tipo de células efetoras, as reações de tipo IV dividem-se em:
 - IVa – mediadas por células com fenótipo Th1 produtoras de IFN- γ e TNF- α , com ativação de monócitos/macrófagos. Os linfócitos Th1 têm também capacidade de ativar linfócitos T CD8⁺, levando à combinação frequente da HS IVa com mecanismos da HS IVc, como ocorre na dermatite de contacto alérgica;
 - IVb – mediada por células Th2 produtoras de IL4/IL5/IL13 com recrutamento e ativação de eosinófilos. Podem causar reações graves, como o DRESS, e estão frequentemente associadas à fase crónica das patologias de HS de tipo I;
 - IVc – são mediadas por linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ com capacidade citotóxica, podendo causar reações ligeiras, como o exantema maculopapular, ou reações graves com destruição tecidual extensa, como a síndrome de Stevens-Johnson (STS), a necrólise epidérmica tóxica (TEN), ou hepatites tóxicas. Neste tipo de HS os próprios linfócitos T são as células efetoras, através da expressão de FasL e da produção de granzimas, perforina e granulina (uma molécula produzida por linfócitos T CD8⁺ e NK e recentemente identificada como a principal responsável pela morte generalizada dos queratinócitos no SJS ou NET⁵⁵);
 - IVd – mediadas por linfócitos produtores de CXCL-8/GM-CSF com recrutamento de neutrófilos originando reações pustulosas estéreis, como a pustulose exantemática generalizada aguda (AGEP).
- As reações de hipersensibilidade a fármacos do tipo I e IV são mais frequentes do que as dos tipos II ou III. As reações tipo II e tipo III dependem, geralmente, de

grandes quantidades de antigénio e no caso das HS a fármaco ocorrem apenas em tratamentos prolongados com doses altas de medicamentos. No Quadro 2 agrupamos as HS I-IV de acordo com alguns critérios adicionais que nos parecem úteis para a compreensão dos desencadeantes, dos mediadores e das suas manifestações clínicas:

- As HS de tipo I, II e III são mediadas por anticorpos de diversas classes; as de tipo IV são mediadas por linfócitos T, de diferentes polarizações funcionais;
- O reconhecimento específico de fármacos nas HS dos tipos I, II e III depende da haptização/pró-haptização do fármaco; nas HS de tipo IV o reconhecimento pode ser do tipo haptenos/pró-haptenos ou do tipo *p-i concept*;
- Nas HS do tipo I, III e IVd, pode haver reconhecimento de fármacos solúveis ou ligados a proteínas em solução, enquanto nas HS dos tipos II, IVa, IVb e IVc, os fármacos reconhecidos estão ligados à matriz extracelular ou à superfície das células, ou são por elas apresentados no contexto do MHC;
- As reações do tipo I, “imediatas”, são regra geral mais rápidas do que as restantes reações, uma vez que todos os mediadores se encontram pré-formados e prontos a serem libertados. No entanto, as reações de tipo IV, em que o reconhecimento ocorre por mecanismos “p-i”, podem ser muito rápidas e desenvolver-se em apenas alguns minutos.

A classificação de Gell e Coombs apresenta algumas insuficiências na caracterização das reações imunológicas a fármacos:

- A classificação é uma simplificação de fenómenos complexos que ocorrem *in vivo* e envolvem muitas outras células e moléculas efetoras. Descreve bem a fisiopatologia das reações de tipo I, mas não é exaustiva a descrever outros tipos de HS;

- Frequentemente, o quadro clínico apresenta características mistas de vários tipos de HS, por exemplo I/IVb nas reações imediatas com fase crónica eosinofílica, IVa/IVc nas dermatites de contacto alérgicas, IVb/IVc nos exantemas maculopapulares, etc.;
- Não explica todas as patologias provocadas por HS a fármacos, por exemplo a erupção fixa a fármaco e as reações de autoimunidade induzida por fármacos: as reações *lupus-like* (amiodarina, isoniazida, etc.), *pênfigo-like* (penicilamina) ou a dermatose bolhosa linear por IgA (vancomicina, ceftriaxone, ciprofloxacina, metronidazol) não parece encaixarem em nenhum dos modelos de HS de Gell e Coombs;
- Algumas reações de HS a fármacos apresentam manifestações específicas de órgão, enquanto outras parecem ser reações sistémicas de hipersensibilidade. A classificação de Gell e Coombs não inclui mecanismos fisiopatológicos específicos de tecido ou de órgão, nem eventuais mecanismos de tolerância imunológica envolvidos^{13,56}.

A *World Allergy Organization* (WAO) recomenda a classificação das reações de hipersensibilidade a fármacos em duas categorias: imediatas (que ocorrem na 1.^a hora após a administração do fármaco) e tardias (que ocorrem após a 1.^a hora, mais frequentemente após mais de 6 horas). Esta classificação temporal tem algum significado na identificação de reações mediadas pela IgE com potencial para causar anafilaxia com risco de vida na readministração (os fármacos são a causa mais frequente de anafilaxia fatal nos EUA, sendo responsáveis por 1445 mortes em 11 anos⁵⁷) mas é insuficiente para explicar outros mecanismos patológicos.

É nossa opinião que a classificação de Gell e Coombs continua válida e com utilidade clínica na maioria das reações: permite identificar o principal mecanismo imunopatológico envolvido, o que tem implicações na decisão terapêutica, na escolha dos exames complementares de diagnóstico e no estudo imunológico necessário para cada doente.

CONCLUSÃO

As reações de HS imunológicas a fármacos têm mecanismos imunopatológicos diversos e não devem ser consideradas uma patologia única. A identificação do mecanismo de HS envolvido tem implicações clínicas importantes no diagnóstico, tratamento, prognóstico e rastreio. Estas conclusões, aparentemente óbvias, podem ser facilmente esquecidas durante a prática clínica. Deve, ainda, ser tido em conta que o mesmo fármaco pode causar diferentes tipos de HS em indivíduos ou ocasiões diferentes.

É possível que a imprevisibilidade das reações de HS imunológica a fármacos traduza limitações do nosso conhecimento e não seja, como tem sido interpretado até agora, uma característica inerente a este tipo de reações. Os estudos de associação entre alelos ou haplótipos HLA e reações de HS de tipo IV a fármacos vieram clarificar alguma desta imprevisibilidade. O rastreio da suscetibilidade genética para reações de HS constitui um exemplo notável de medicina personalizada. O elevado valor preditivo negativo destes testes permite administrar o medicamento com segurança ao identificar os indivíduos em risco e evitar reações graves ou fatais. Por outro lado, o valor preditivo positivo destas associações é geralmente baixo e permanecem dúvidas sobre que outros fatores determinam a ocorrência de reações.

No futuro, é de esperar que avanços da imunologia, metabolismo ou farmacogenética permitam caracterizar totalmente o risco de um indivíduo desenvolver HS a um determinado fármaco. A forma como algumas infeções funcionam como cofatores das reações de HS, a manutenção da memória imunológica para o fármaco, os mecanismos envolvidos na dessensibilização a fármacos e a possibilidade de indução de tolerância duradoura a fármacos são outras das questões fundamentais da imunopatologia das HS a fármacos para as quais a resposta permanece incerta.

Declaração de apoios financeiros: Nada a declarar.

Contactos:

Frederico S. Regateiro
Serviço de Imunoalergologia
Centro Hospitalar Universitário de Coimbra
Praceta Prof. Mota Pinto
3000-075 Coimbra, Portugal

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Internacional drug monitoring: the role of national centres. Report of a WHO Meeting. 1972: 1-25.
2. Gomes ER, Demoly P. Epidemiology of hypersensitivity drug reactions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:309-16.
3. Rawlins M, Thompson J. Pathogenesis of adverse drug reactions. In: *Textbook of adverse drug reactions*. 1977:10.
4. Aronson J. Drug therapy. In: In: Haslett C, Chilvers ER, Boon NA, Colledge NR, Hunter JAA (Eds.). *Davidson's principles and practice of medicine* 19th ed Edinburgh: Elsevier Science. 2002:47-63.
5. Zanni MP, Mauri-Hellweg D, Brander C, Wendland T, Schnyder B, Frei E, et al. Characterization of lidocaine-specific T cells. *J Immunol* 1997;158:1139-48.
6. Baker MP, Reynolds HM, Lumicisi B, Bryson CJ. Immunogenicity of protein therapeutics The key causes, consequences and challenges. *Self/Nonself* 2010;1:314-22.
7. Chung CH, Mirakhur B, Chan E, Le Q-T, Berlin J, Morse M, et al. Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose- α -1,3-galactose. *N Engl J Med* 2008;358:1109-17.
8. Didier A, Cador D, Bongrand P, Furstoss R, Fournier P, Senft M, et al. Role of the quaternary ammonium ion determinants in allergy to muscle relaxants. *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:578-84.
9. Landsteiner K, Jacobs J. Studies on the sensitization of animals with simple chemical compounds. *J Exp Med* 1935;61:643-56.
10. Batchelor FR, Dewdney JM GD. Penicillin allergy: the formation of the penicilloyl determinant. *Nature* 1965;206:362-4.
11. Brander C, Mauri-Hellweg D, Bettens F, Rolli H, Goldman MPW. Heterogeneous T cell responses to beta-lactam-modified self-structures are observed in penicillin-allergic individuals. *J Immunol* 1995;155:2670-8.
12. Jenkins RE, Meng X, Elliott VL, Kitteringham NR, Pirmohamed M PB. Characterisation of flucloxacillin and 5-hydroxymethyl flucloxacillin haptenated HSA in vitro and in vivo. *Proteomics Clin Appl* 2009;3:720-9.
13. Pichler WJ, Naisbitt DJ, Park BK. Immune pathomechanism of drug hypersensitivity reactions. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 127:S74-81.
14. Castrejon JL, Berry N, El-Ghaiesh S, Gerber B, Pichler WJ, Park BK, et al. Stimulation of human T cells with sulfonamides and sulfonamide metabolites. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:411-18.

15. Pichler W. Pharmacological interaction of drugs with antigen-specific immune receptors: the p-i concept. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002;2:301-5.
16. Pichler WJ, Watkins S. Interaction of small molecules with specific immune receptors: The p-i concept and its consequences. *Current Immunology Reviews* 2014;7:18.
17. Zanni MP, Von Greyerz S, Schnyder B, Brander KA, Frutig K, Hari Y, et al. HLA-restricted, processing- and metabolism-independent pathway of drug recognition by human $\alpha\beta$ T lymphocytes. *J Clin Invest* 1998;102:1591-8.
18. von Greyerz S, Zanni MP, Frutig K, Schnyder B, Burkhart C, Pichler WJ. Interaction of sulfonamide derivatives with the TCR of sulfamethoxazole-specific human alpha beta+ T cell clones. *J Immunol* 1999;162:595-602.
19. Illing PT, Vivian JP, Dudek NL, Kostenko L, Chen Z, Bharadwaj M, et al. Immune self-reactivity triggered by drug-modified HLA-peptide repertoire. *Nature* 2012; 486:554-8.
20. Ostrov DA, Grant BJ, Pompeu YA, Sidney J, Harndahl M, Southwood S, et al. Drug hypersensitivity caused by alteration of the MHC-presented self-peptide repertoire. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:9959-64.
21. Adam J, Pichler WJ, Yerly D. Delayed drug hypersensitivity: Models of T-cell stimulation. *Br J Clin Pharmacol* 2011;71:701-7.
22. von Greyerz S, Bültemann G, Schnyder K, Burkhart C, Lotti B, Hari Y, et al. Degeneracy and additional alloreactivity of drug-specific human alpha beta(+) T cell clones. *Int Immunol* 2001;13:877-85.
23. Burkhart C, Britschgi M, Strasser I, Depta JPH, Von Greyerz S, Barnaba V, et al. Non-covalent presentation of sulfamethoxazole to human CD4+ T cells is independent of distinct human leucocyte antigen-bound peptides. *Clin Exp Allergy* 2002;32(11):1635-43.
24. Watkins S, Pichler WJ. Activating interactions of sulfanilamides with T cell receptors. *Open J Immunol* 2013;3:139-57.
25. Watkins S, Pichler WJ. Sulfamethoxazole induces a switch mechanism in T cell receptors containing TCRV β 20-1, altering pHLA recognition. *PLoS One* 2013;8 e76211.
26. Ko TM, Chung WH, Wei CY, Shih HY, Chen JK, Lin CH, et al. Shared and restricted T-cell receptor use is crucial for carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:1266-76.e11
27. Pichler WJ, Watkins S. Interaction of small molecules with specific immune receptors: The p-i concept and its consequences. *Curr Immunol Rev* 2014;10:7-18.
28. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, et al. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet* 2002;359:727-32.
29. Hetherington S, Hughes AR, Mosteller M, Shortino D, Baker KL, Spreen W, et al. Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir. *Lancet* 2002;359:1121-2.
30. Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina J-M, Workman C, Tomazic J, et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med* 2008;358:568-79.
31. Chessman D, Kostenko L, Lethborg T, Purcell AW, Williamson NA, Chen Z, et al. Human leukocyte antigen class I-restricted activation of CD8+ T cells provides the immunogenetic basis of a systemic drug hypersensitivity. *Immunity* 2008;28:822-32.
32. Gonçalo M, Coutinho I, Teixeira V, Gameiro A, Brites M, Nunes R, et al. HLA-B*58:01 is a risk factor for allopurinol induced DRESS and SJS/TEN in a portuguese population. *Br J Dermatol* 2013; 169:660-5.
33. Wei CY, Chung WH, Huang HW, Chen YT, Hung SI. Direct interaction between HLA-B and carbamazepine activates T cells in patients with Stevens-Johnson syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1562-9.
34. Norcross MA, Luo S, Lu L, Boyne MT, Gomarteli M, Rennels AD, et al. Abacavir induces loading of novel self-peptides into HLA-B*57: 01: an autoimmune model for HLA-associated drug hypersensitivity. *AIDS* 2012;26:F21-9.
35. Adam J, Wuillemin N, Watkins S, Jamin H, Eriksson KK, Villiger P, et al. Abacavir induced T cell reactivity from drug naive individuals shares features of allo-immune responses. *PLoS One* 2014;9:e95339
36. Tohyama M, Hashimoto K, Yasukawa M, Kimura H, Horikawa T, Nakajima K, et al. Association of human herpesvirus 6 reactivation with the flaring and severity of drug-induced hypersensitivity syndrome. *Br J Dermatol* 2007;157:934-40.
37. Daly AK, Donaldson PT, Bhatnagar P, Shen Y, Pe'er I, Floratos A, et al. HLA-B*5701 genotype is a major determinant of drug-induced liver injury due to flucloxacillin. *Nat Genet* 2009;41:816-9.
38. Wuillemin N, Adam J, Fontana S, Krähenbühl S, Pichler WJ, Yerly D, et al. HLA haplotype determines hapten or p-i T cell reactivity to flucloxacillin. *J Immunol* 2013; 190: 4956-64.
39. Matzinger P. Tolerance, danger and the extended family. *Annu Rev Immunol* 1994;12:991-1045.
40. Hemmi H, Kaisho T, Takeuchi O, Sato S, Sanjo H, Hoshino K, et al. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nat Immunol* 2002;3:196-200.
41. Naisbitt DJ, Farrell J, Gordon SF, Maggs JL, Burkhart C, Pichler WJ, et al. Covalent binding of the nitroso metabolite of sulfamethoxazole leads to toxicity and major histocompatibility complex-restricted antigen presentation. *Mol Pharmacol* 2002;62:628-37.
42. Rodriguez-Pena R, Lopez S, Mayorga C, Antunez C, Fernandez TD, Torres MJ, et al. Potential involvement of dendritic cells in delayed-type hypersensitivity reactions to beta-lactams. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:949-56.
43. Elsheikh A, Lavergne SN, Castrejon JL, Farrell J, Wang H, Sathish J, et al. Drug antigenicity, immunogenicity, and costimulatory sig-

- naling: Evidence for formation of a functional antigen through immune cell metabolism. *J Immunol* 2010;185:6448-60
44. Lavergne SN, Wang H, Callan HE, Park BK, Naisbitt DJ. "Danger" conditions increase sulfamethoxazole-protein adduct formation in human antigen-presenting cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009; 331:372-81.
 45. Pleasants RA, Walker TR, Samuelson WM. Allergic reactions to parenteral beta-lactam antibiotics in patients with cystic fibrosis. *Chest* 1994;106:1124-8.
 46. Milpied-Homsi B, Moran EM, Phillips EJ. Antiviral drug allergy. *Immunol Allergy Clin North Am* 2015;34:645-62.
 47. Slatore CG, Tilles SA. Sulfonamide hypersensitivity. *Immunol Allergy Clin North Am* 2004;24:477-90.
 48. Shiohara T, Inaoka M, Kano Y. Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS): a reaction induced by a complex interplay among herpesviruses and antiviral and antidrug immune responses. *Allergol Int* 2006;55:1-8.
 49. Pavlos R, Mallal S, Ostrov D, Pompeu Y, Phillips E. Fever, rash, and systemic symptoms: Understanding the role of virus and HLA in severe cutaneous drug allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2014;2:21-33.
 50. Elsheikh A, Castrejon L, Lavergne SN, Whitaker P, Monshi M, Callan H, et al. Enhanced antigenicity leads to altered immunogenicity in sulfamethoxazole-hypersensitive patients with cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:1543-51.e3.
 51. Coombs R, Gell P. Classification of allergic reactions responsible for drug hypersensitivity reactions. *In: Clinical aspects of immunology* Coombs RRA, Gells, PGH (Eds). 1968: 575-96.
 52. Caubet J, Pichler WJ, Eigenmann PA. Educational case series : Mechanisms of drug allergy. *Pediatric Allergy and Immunology* 2011;22:559-67.
 53. Pumphrey R. Anaphylaxis: Can we tell who is at risk of a fatal reaction? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004;4:285-90.
 54. Commins SP, James HR, Kelly LA, Pochan SL, Workman LJ, Perzanowski MS, et al. The relevance of tick bites to the production of IgE antibodies to the mammalian oligosaccharide galactose- α -1,3-galactose. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:1286-93.
 55. Chung W, Hung S, Yang J, Su S, Huang S, Wei C, et al. Granulysin is a key mediator for disseminated keratinocyte death in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Nat Med* 2008;14:1343-50.
 56. Pichler WJ, Adam J, Daubner B, Gentinetta T, Keller M, Yerly D. Drug hypersensitivity reactions: Pathomechanism and clinical symptoms. *Medical Clin North Am* 2010;94:645-64.
 57. Jerschow E, Lin RY, Scaperotti MM, Mcginn AP. Fatal anaphylaxis in the United States, 1999-2010 : Temporal patterns and demographic associations. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134: 1318-28.e7.