

## **Gargarismo para identificar polimorfismo genético del correceptor CCR5**

Gargarism to identify genetic polymorphism of the CCR5 co-receptor

Juan Mario Junco Rodríguez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8209-1254>

Daymé Hernández Requejo<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3325-6219>

Enrique Iglesias<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9294-9349>

Narjara Castillo Ferrán<sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7626-3283>

Yaxsier de Armas<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6255-5525>

<sup>1</sup> Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Instituto de Neurología, La Habana, Cuba.

\* Autor para la correspondencia: [yaxsier@ipk.sld.cu](mailto:yaxsier@ipk.sld.cu)

Recibido: 07/06/2021

Aprobado: 16/06/2023

El material genético se obtiene comúnmente a partir de muestras de sangre necesario en los estudios de polimorfismo del genoma humano. Sin embargo, la técnica de extracción tiene como inconvenientes que produce dolor, no está exenta del riesgo de infección, en ocasiones puede ser difícil canalizar la vena y para

algunos individuos resulta intolerable ver la sangre, todo lo cual suele provocar rechazo a este proceder. Además, en general las personas aparentemente sanas ofrecen resistencia a la venopunción debido a que subvaloran la importancia de las pruebas clínicas de laboratorio. Por último, hay que considerar el rechazo prácticamente unánime de los pacientes pediátricos a este proceder.<sup>(1)</sup> Por todo lo anterior, una metodología de toma de muestra que evite estos inconvenientes sería de gran utilidad.

Una alternativa viable para la obtención de muestras de material genético de los pacientes podría ser el gargarismo. En tal sentido, se debe considerar que las células de la cavidad bucal se pueden colectar a través de un proceder fácil de realizar, no invasivo, ni traumático. Es importante señalar que el gargarismo se ha utilizado en años recientes para el diagnóstico de patógenos oportunistas.<sup>(2,3)</sup> Sin embargo, en las búsquedas realizadas en la literatura científica, no hemos encontrado trabajos que empleen este procedimiento para identificar polimorfismo genético en el genoma humano.

El receptor 5 de quimiocina C-C (CCR5) pertenece a la familia de los receptores acoplados a proteína G expresado sobre la superficie de monocitos, células T y macrófagos. La expresión diferencial del gen *ccr5* se relaciona con la susceptibilidad/resistencia en una amplia gama de enfermedades virales (Virus de Inmunodeficiencia Humana, Hepatitis B y C, Virus del Nilo Occidental, entre otras). Dicho gen se ubica en el brazo corto (p.21) del cromosoma 3. La variante *ccr5*<sup>Δ32/Δ32</sup> produce una proteína truncada que disminuye significativamente la expresión del receptor.<sup>(4)</sup> Recientemente, se ha demostrado en modelos de ratones de laboratorio y en linfocitos T CD4+ aislados de individuos con la mutación *ccr5*<sup>+/Δ32</sup> que estos producen menos citoquinas y anticuerpos de alta afinidad en respuesta a una segunda exposición al antígeno, lo que sugiere una memoria deficiente para la

protección a largo plazo.<sup>(4)</sup> Considerando lo referido anteriormente, es importante el estudio de los polimorfismo genéticos de esta molécula.

En la actual investigación se realizó un estudio de corte transversal con el objetivo de describir el polimorfismo genético del correceptor CCR5. Para ello, se tuvo en cuenta el trabajo de Juliano JJ y cols. quienes usaron una metodología similar para diagnosticar la infección por *Pneumocystis jirovecii*.<sup>(3)</sup> Las muestras fueron obtenidas por gargarismo de dos grupos de 50 individuos cada uno. Se emplearon Tubos Falcon de 50 mL estériles a los cuales se les adicionó 25 mL de solución salina (NaCl 0.9 %) con lo cual cada paciente realizó gárgaras por al menos 60 segundos. La muestra colectada inmediatamente se colocó en hielo y se transportó al laboratorio hasta su posterior análisis.<sup>(3)</sup>

En el grupo 1 se incluyeron todos los individuos ingresados en el Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK) en el período de enero – abril de 2019. En el grupo 2 se estudió el personal sanitario (médicos, enfermeros, estudiantes, maestrantes, secretarias de sala, residentes, internos, etc) que laboraban en el Instituto en ese período.

La determinación del polimorfismo del gen *ccr5* se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se utilizó como secuencia diana el fragmento de 172 pb del gen *ccr5* según lo descrito por Veloso y cols.<sup>(5)</sup> El estudio se realizó de conformidad con la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial para las investigaciones médicas en seres humanos. Además, fue aprobado por el comité de ética del IPK y los voluntarios participantes dieron su consentimiento escrito para participar en el mismo.

La caracterización sociodemográfica arrojó que el mayor porcentaje de individuos del grupo 1 se encontró entre el rango de edad de 30 a 39 años (40 %), con predominio de los hombres (72,0 %) y los individuos de piel blanca (48,0 %). El grupo

2 contó con individuos entre el rango de edad 20 a 29 años (36,0 %), con predominio de las mujeres (74,0 %) y los individuos de piel blanca (52,0 %).

En el grupo 1 la mutación heterocigótica  $ccr5^{+/\Delta 32}$  se identificó en un paciente (2 %).

En el grupo 2, cuatro individuos presentaban la mutación (8,0 %). No se detectó el genotipo homocigótico  $ccr5^{\Delta 32/\Delta 32}$  en el estudio.

De las 100 muestras analizadas mediante la técnica de gargarismo, en 91 se obtuvo amplificación (91,0 %) del gen  $ccr5$ . De las nueve muestras que no amplificaron el material genético, ocho correspondían al grupo 1 y una al grupo 2. Lo anterior pudo deberse a una pobre recogida de la muestra, poca celularidad del paciente o el incumplimiento de los requisitos necesarios para la correcta toma de la misma en los pacientes ingresados. Tomando en cuenta las condiciones clínicas de los mismos esto es lógico, y este resultado apunta a que un deterioro en la condición clínica puede influir negativamente. No obstante, el 90 % de éxito obtenido indica que la metodología puede usarse aún en estos casos quedando como alternativa la extracción de sangre como segunda opción. Sin embargo, se aprecia que en pacientes sanos que cooperan en la realización de la toma de muestra la efectividad es prácticamente del 100 %.

Se debe mencionar que la técnica *per se*, así como las condiciones para la obtención y almacenamiento de la muestra son aspectos importantes a considerar para tener éxito. Con respecto a la técnica, se debe tener en cuenta que una incorrecta realización de la misma y el incumplimiento de los requisitos para su ejecución pueden dificultar la amplificación del material genético. Por ejemplo, el lavado de la boca y desayuno previo a la toma de la muestra, así como la profundidad del gargarismo pueden afectar la calidad de la muestra obtenida.<sup>(3)</sup>

Esta investigación preliminar sugiere la posibilidad y utilidad del uso de los gargarismos para el estudio de los polimorfismos genéticos del genoma humano en la serie analizada. Una de las ventajas más importantes de esta metodología es

que se puede emplear para la toma de muestra de poblaciones de mayor tamaño y de modo simultáneo para lo cual se requiere poca capacitación del personal.

Por último, es importante señalar que el conocimiento del polimorfismo genético del correceptor CCR5 a nivel poblacional podría convertirse en una herramienta que ayude a decidir cuales estrategias son las más adecuadas para el control de varias enfermedades infecciosas.<sup>(4)</sup>

### Conflicto de Intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses. Esta investigación no recibe financiamiento de agencias públicas o comerciales.

### Referencias bibliográficas

1. Canbulat N, Ayhan F, Inal S. Effectiveness of external cold and vibration for procedural pain relief during peripheral intravenous cannulation in pediatric patients. *Pain Manag Nurs*. [Internet] 2015 [consultado 20 mayo 2021]; (16):33-39. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1524904214000459?via%3Dihub>
2. Suleiman I, Wu BG, Li Y, Scott AS, Malecha P, Scaglione B, *et al*. Evaluation of the airway microbiome in nontuberculous mycobacteria disease. *Eur Respir J*. [Internet] 2018 [consultado 20 mayo 2021]; 52(4): 1800810. Disponible en:  
<https://erj.ersjournals.com/content/52/4/1800810>
3. Juliano JJ, Barnett E, Parobek CM, Taylor SM, Meshnick SR, Stone S, *et al*. Use of Oropharyngeal Washes to Diagnose and Genotype *Pneumocystis jirovecii*. *Open Forum Infect Dis*. [Internet] 2015 [consultado 20 mayo 2021]; 2(3): ofv080. Disponible en:  
<https://academic.oup.com/ofid/article/2/3/ofv080/2460230>

4. Martín-Leal A, Blanco R, Casas J, Sáez ME, Rodríguez-Bovolenta E, de Rojas I, *et al.* CCR5 deficiency impairs CD4 + T-cell memory responses and antigenic sensitivity through increased ceramide synthesis. *EMBO J.* [Internet]. 2020 [consultado 20 mayo 2021]; 39(15): e104749. Disponible en: <https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/embj.2020104749>
5. Veloso S, Olona M, García F, Domingo P, Alonso-Villaverde C, Broch M, *et al.* Effect of TNF- $\alpha$  genetic variants and CCR5 $\Delta$ 32 on the vulnerability to HIV-1 infection and disease progression in Caucasian Spaniards. *BMC Med Genet.* [Internet] 2010 [consultado 20 mayo 2021]; 11(63). Disponible en: <https://bmcmmedgenet.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2350-11-63>