

# ASPECTOS GENÉTICOS DA ESCLEROSE MÚLTIPLA

## II. SISTEMA HLA

PATRÍCIA ALMEIDA DE REZENDE\*, WALTER OLESCHKO ARRUDA\*\*

---

**RESUMO** - Foi feita análise e revisão de estudos populacionais de associação entre antígenos HLA e a esclerose múltipla (EM). Há evidências de que os genes HLA, principalmente os de classe II, das sub-regiões DR e DQ possam estar envolvidos. O haplótipo DRB1\*1501.DQA1\*0102.DQB1\*0602 referente ao fenótipo DR2.Dw2.DQ6 foi encontrado em associação positiva em vários estudos realizados em populações caucasóides. O desequilíbrio de ligação entre os genes DR e DQ dificulta o reconhecimento da contribuição individual de cada alelo. A heterogeneidade de critérios diagnósticos da EM constitui importante fator metodológico que dificulta a comparação entre os diversos estudos. A padronização dos critérios diagnósticos e dos métodos laboratoriais empregados, assim como a análise individual de grupos de pacientes com formas clínicas diferentes, são medidas que provavelmente permitirão avaliação mais precisa dos fatores genéticos envolvidos no desenvolvimento da EM.

**PALAVRAS-CHAVE:** esclerose múltipla, sistema HLA, genética.

### Genetic aspects in multiple sclerosis: HLA system

**ABSTRACT** - Review of studies about HLA antigens and multiple sclerosis (MS). The HLA system, in special class II antigens, subregions DR and DQ, is probably involved in the immunopathogenesis of MS. Haplotype DRB1\*1501.DQA1\*0102.DQB1\*0602, corresponding to phenotype DR2.Dw2.DQ6, is positively associated with MS in several caucasoid populations. Clinical heterogeneity of MS, as well as different diagnostic criteria adopted by investigators are potential sources of confusion and may lead to discrepant results. A better standardization of clinical and laboratorial methodology, appropriate subdivision of patients with different clinical forms of MS, may allow a more accurate evaluation of the role of genetic factors in the pathogenesis of MS.

**KEY WORDS:** multiple sclerosis, HLA system, genetics.

---

A associação entre especificidades HLA (human leukocyte antigen) e a esclerose múltipla (EM) foi determinada pela primeira vez em 1972, tendo sido encontrada associação positiva com os genes HLA-A3 e -B7<sup>5,26</sup>. Estudos posteriores indicaram a existência de associações mais fortes com a região de classe II, envolvendo principalmente as sub-regiões DR e DQ. Os estudos iniciais baseados na análise segregacional de haplótipos HLA em famílias com dois ou mais membros afetados pela EM não indicaram associação com o HLA<sup>6,21</sup>. Mesmo nos estudos mais recentes, as associações com o HLA em famílias somente são evidenciadas sob condições especiais<sup>39</sup>, em que se encontrou associação com o haplótipo DQA1\*0102.DQB1\*0602, apenas após a exclusão das famílias em que um dos parentais é homocigoto quanto a DQA1\*0102. As principais evidências da participação dos genes HLA na suscetibilidade à EM advêm de estudos populacionais. Os resultados são algumas

---

\*Mestre em Genética, Universidade Federal do Paraná (UFPR); \*\* Neurologista. Aceite: 14-março-1996.

vezes contraditórios e não foi possível definir até o momento qual (ou quais) o alelo que realmente estaria relacionado à maior ou menor predisposição à EM.

Nesta análise são avaliados diversos trabalhos de associação do sistema HLA e a EM.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Análise dos dados obtidos

Os dados de estudos populacionais de associação entre antígenos HLA e a EM foram agrupados em tabelas, e os referentes às populações caucasóides foram submetidos ao cálculo do risco relativo (RR), que representa a chance de um indivíduo com um determinado alelo HLA desenvolver a doença, comparado aos que não possuem o alelo em questão, num contexto populacional definido. O RR é empregado nos estudos populacionais de associação entre alelos HLA e doenças, podendo-se fazer menção ao "fenótipo HLA", quando somente é conhecida a especificidade sorológica dos indivíduos. Desta forma, os dados são agrupados em tabelas 2x2, conforme mostrado no exemplo a seguir.

fenótipo HLA	pacientes	controles
presente	p+	c+
ausente	p-	c-

O RR é, então, calculado pela fórmula <sup>138</sup>:

$$RR = \frac{p^+ \times c^-}{p^- \times c^+} \quad (1)$$

onde p<sup>+</sup> e p<sup>-</sup> são os números de pacientes com e sem o fenótipo em estudo, e c<sup>+</sup> e c<sup>-</sup> correspondem aos números de controles normais com e sem o fenótipo em questão, respectivamente.

Nos estudos de associação entre HLA e doença é imprescindível que a amostra de controles seja obtida da mesma população dos pacientes. Isto porque a frequência dos alelos HLA varia entre diferentes grupos étnicos e, dentro do mesmo grupo étnico, há frequentemente variações entre as populações de diferentes procedências.

Quando RR > 1 diz-se que a associação é positiva, isto é, há evidências de que o alelo em questão, ou outro ligado a ele, possa conferir maior suscetibilidade à doença. Assim, por exemplo, um RR = 7 para determinado alelo indica que os indivíduos com o alelo em questão têm uma probabilidade 7 vezes maior de desenvolver a doença em estudo do que os que não têm o referido alelo. Quanto maior o RR, mais frequente é o alelo no grupo de pacientes. Quando RR < 1 diz-se que a associação é negativa, significando que o alelo em questão, ou outro intimamente ligado a ele, confere proteção contra a doença em estudo. Um valor de RR = 1 indica ausência de associação<sup>38</sup>.

### Noções gerais sobre o sistema HLA

O MHC (do inglês *major histocompatibility complex*) da espécie humana é designado HLA (do inglês *human leukocyte antigen*). A região HLA está localizada no braço curto do cromossomo 6 humano, banda 6p21.3<sup>19</sup> ocupando um segmento de cerca de 4 cM, equivalente a aproximadamente 3500 kb do DNA. As moléculas HLA estão subdivididas em três classes de acordo com a sua estrutura e função, e os genes que as codificam estão distribuídos numa ordem determinada ao longo do cromossomo. A região de classe I é mais telomérica, a de classe II está localizada mais próxima ao centrômero e a de classe III é intermediária a essas duas (Figs 1 e 2). Os produtos dos genes HLA de classe I e de classe II são glicoproteínas de membrana, cuja função primordial é a apresentação de antígenos na superfície das células e, em última análise, a regulação das respostas imunes. O complexo HLA é um sistema altamente polimórfico, que compreende vários genes codominantes e apresenta grande diversidade de alelos para cada loco. Ao conjunto dos genes HLA herdados no mesmo cromossomo, dá-se o nome de *haplótipo*. Há pouca recombinação entre esses genes. Frequentemente alguns genes HLA, localizados muito próximos, são herdados em conjunto numa frequência maior da que seria esperada considerando-se as frequências individuais de cada um desses genes numa determinada população, um fenômeno designado *desequilíbrio de ligação*<sup>1</sup>.

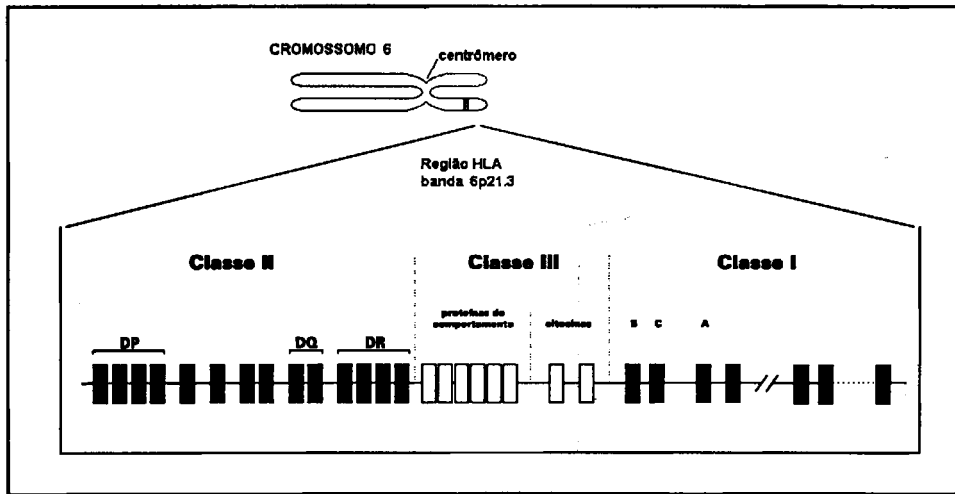


Fig 1. Localização cromossômica da região HLA<sup>31</sup>.

As principais moléculas HLA de classe I são designadas HLA-A, -B e -C, sendo heterodímeros constituídos de duas cadeias polipeptídicas: a cadeia  $\alpha$ , de aproximadamente 44 kD e a  $\beta$ 2-microglobulina de peso molecular em torno de 12 kD<sup>38</sup>. Esta última é praticamente invariável em toda a sua extensão e é codificada por um gene localizado no cromossomo 15 humano. As moléculas HLA de classe II também são constituídas de duas cadeias polipeptídicas, designadas  $\alpha$  (PM ~ 34 kD) e  $\beta$  (PM ~ 29 kD), ambas codificadas por genes do cromossomo 6 humano.

A expressão das moléculas de classe II é limitada a determinados tipos celulares, como linfócitos B, monócitos, macrófagos, células de Langerhans e células dendríticas, enquanto as de classe I são expressas em quase todas as células nucleadas. As células que normalmente expressam moléculas HLA de classe II recebem o nome genérico de *células apresentadoras de antígeno* (CAA) e, naturalmente, expressam também as moléculas de classe I<sup>1</sup>.

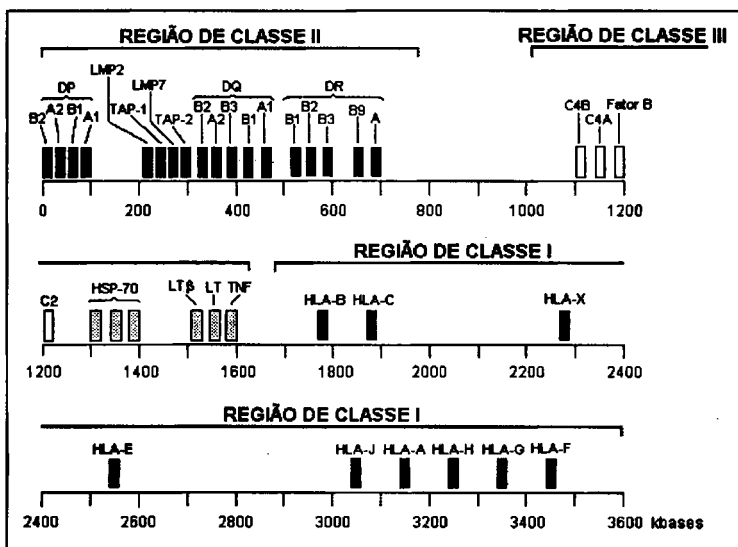
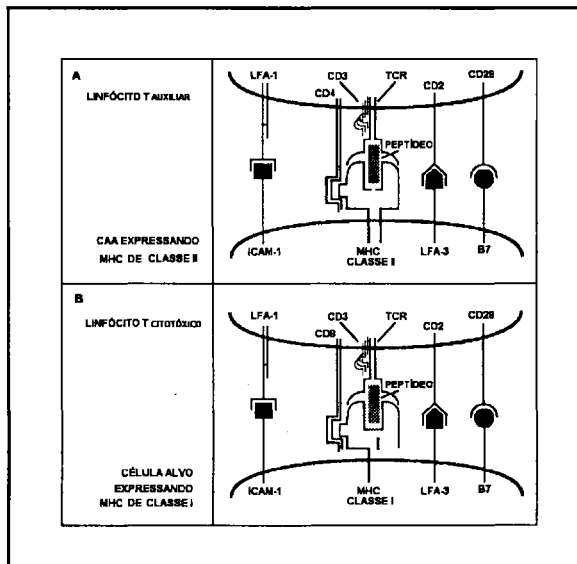


Fig 2. Mapa simplificado da região HLA<sup>1</sup>.



*Fig 3. A) Apresentação de antígeno aos linfócitos T auxiliares pelas células apresentadoras de antígeno (CAA); B) apresentação de antígenos aos linfócitos T citotóxicos. Em ambas as situações observa-se o complexo trimolecular HLA-peptídeo-TCR e moléculas acessórias<sup>1</sup>.*

Em relação às células do sistema nervoso central (SNC), observou-se que os astrócitos expressam constitutivamente em sua membrana moléculas HLA de classe I e normalmente não expressam as de classe II<sup>41</sup>. Porém, após indução com citocinas como IL-1, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , tais células podem passar a produzir também moléculas HLA de classe II, tornando-se capazes de apresentar antígenos, cuja expressão é limitada ao SNC. Neurônios e oligodendrócitos não expressam moléculas HLA e aparentemente são resistentes à indução por citocinas<sup>42</sup>. Graeber et al.<sup>10</sup> mencionam a existência de células fagocíticas expressando antígenos HLA de classe II ao redor dos vasos sanguíneos no cérebro de pessoas normais, correspondendo provavelmente às células da microglia. Tais células são muito semelhantes aos macrófagos, possuem receptores para imunoglobulinas e para o fragmento C3b do complemento, e são também encontradas no parênquima do SNC<sup>34</sup>.

A região de classe II inclui as subregiões HLA-DP, -DQ e -DR, cada qual contendo genes A e genes B, que codificam as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  da molécula HLA de classe II, respectivamente (Fig 2). Diversos outros genes foram identificados dentro da região de classe II, cuja função é desconhecida ou estão implicados indiretamente na apresentação de antígenos, como os genes da proteína transportadora (TAP, transporter associated with antigen processing) e da protease multifuncional (LMP, large multifunctional protease). Os genes TAP e LMP codificam produtos envolvidos no *processamento* de antígenos. Este termo refere-se ao processo de clivagem das proteínas antigênicas reduzindo-as a peptídeos de 8-15 aminoácidos, os quais se associam intracelularmente às moléculas HLA e são expressos na superfície das células. As proteínas LMP são subunidades de um complexo enzimático localizado no citosol, envolvido na degradação de proteínas sintetizadas endogenamente, como as proteínas próprias e as virais. As proteínas TAP são responsáveis pelo transporte de peptídeos através do retículo endoplasmático, possibilitando a associação destes com as moléculas HLA de classe I. Os complexos peptídeo-HLA expressos na superfície das células são reconhecidos por células T com receptores específicos que finalmente desencadeiam uma resposta imune. Linfócitos T auxiliares CD4+ reconhecem complexos peptídeo-HLA de classe II da superfície das CAA, enquanto os linfócitos T citotóxicos CD8+ reconhecem complexos peptídeo-HLA de classe I na membrana das células-alvo (Fig 3). A região de classe III compreende genes que codificam moléculas com função diversa das de classe I e II, como as proteínas C2 e C4 e o fator B do complemento, além da 21-hidroxilase, do fator de necrose tumoral (TNF, tumor necrosis factor) e das proteínas de choque térmico (HSP70, heat shock protein).

A tipagem HLA pode ser feita por diferentes métodos: *celular*, através da reação mista de linfócitos (RML); *sorológica*, através do teste de microlinfocitotoxicidade que utiliza antissoros contendo anticorpos contra diversas especificidades HLA contra um painel de células do paciente em estudo; *molecular*, através da utilização das técnicas de RFLP (restriction fragment length polymorphism), PCR-SSO (polymerase chain reaction - sequence-specific oligonucleotide), Southern blot, dot blot e sequenciamento. De acordo com a técnica adotada e a época em que foi empregada, pode-se fazer referência a nomenclaturas distintas. Por exemplo, em relação às especificidades da região HLA de classe II, a tipagem feita pela RML deu origem à série Dw (Dw1-Dw26). A partir da década de 70, a tipagem sorológica subdividiu as especificidades Dw em DR, DQ e DP. Mais recentemente, através da tipagem molecular ao nível do DNA, tem-se a especificação dos alelos concernentes a cada uma dessas especificidades sorológicas. Sabe-se atualmente que há, por exemplo, pelo menos 71 diferentes alelos DRB, 10 DQA e 21 DQB.

Algumas especificidades sorológicas correspondem, na verdade, a um grupo de moléculas HLA com segmentos em comum e estrutura muito semelhante que, não raro, reagem aos mesmos antissoros. Assim, por exemplo, a especificidade HLA-DR2 é subdividida em DR15 e DR16, e a especificidade HLA-DQ1 é também subdividida em DQ5 e DQ6. Tais subdivisões se baseiam na reatividade sorológica cruzada entre as diversas especificidades<sup>38</sup>. O conhecimento dos grupos de reatividade cruzada é de crucial importância na interpretação dos resultados das tipagens HLA para os estudos de associação.

Existem vários relatos de associação do sistema HLA com doenças. O sistema HLA, contudo, não é o fator único decisivo na manifestação dessas doenças, constituindo apenas um fator de risco. Da mesma forma, uma doença pode estar associada a diversas especificidades HLA, cada qual conferindo um risco relativo diferente.

## RESULTADOS

Na Tabela 1 estão resumidos os resultados de 22 estudos populacionais de associação entre o sistema HLA e a EM, incluindo-se dados referentes à população analisada, ao tamanho amostral, objetivos e metodologia de cada estudo. Além disso, foram acrescentados dados relativos ao grupo de pacientes estudado e ao critério de diagnóstico empregado pelos diversos autores.

Na Tabela 2 estão resumidos os valores de RR das associações entre HLA e EM, calculados segundo a fórmula 1, das populações caucasóides estudadas pelos mesmos autores listados na Tabela 1, os quais frequentemente se limitam a informar se encontraram ou não associação, sem fazer menção ao RR correspondente.

Note-se que as associações negativas com DR $\beta$ Gli86 e DQ7 são representadas por valores de RR < 1. Dentre todas as populações de caucasóides estudadas, a de suecos parece melhor caracterizada quanto às associações entre HLA e EM.

## DISCUSSÃO

Existem várias hipóteses para explicar a associação de alelos HLA com doenças. Dentre as mais aceitas, citam-se: a) moléculas HLA como receptores para agentes etiológicos; b) moléculas HLA seletivas para peptídeos antigênicos; c) TCR determina predisposição à doença; d) agentes causais mimetizam moléculas do hospedeiro; e) expressão anormal de moléculas HLA de classe II<sup>38</sup>. O papel dos receptores de células T (TCR, T cell receptor) não é analisado neste estudo, mas é revisado em detalhes por Rezende<sup>31</sup>.

A primeira hipótese supõe que moléculas HLA específicas podem agir como receptores para agentes etiológicos tais como vírus ou toxinas bacterianas. Neste caso, obviamente, o desencadeamento da doença depende de exposição prévia ao agente etiológico. A segunda hipótese, por sua vez, supõe que determinadas moléculas HLA se associam preferencialmente a certos peptídeos antigênicos, os quais desencadeiam uma resposta agressiva contra o próprio hospedeiro. A terceira hipótese responsabiliza o TCR pela predisposição à doença. Neste caso, seria detectada uma associação indireta com o HLA, dado que existe correspondência entre essas duas moléculas, através de interações específicas entre diferentes TCRs e diferentes complexos antígeno-molécula HLA.

Segundo a hipótese do mimetismo molecular, o agente etiológico apresenta semelhança estrutural com moléculas próprias do hospedeiro, codificadas por genes de dentro ou não da região

Tabela 1. Estudos populacionais de associação do sistema HLA e esclerose múltipla.

Autor (Referência)	Ano	População	N	Casos Clínicos	Critério de Diagnóstico	Objetivo e Metodologia	Resultados
Bertrams et al. (5)	1972	Alemanha caucasóides	393 / 648	PCP	não especificado	Investigar associação com especificidades de classe I (sorologia)	Associação positiva com A3 e B7
Kurdi et al. (18)	1977	árabes procedentes da Jordânia, Síria e Líbano	32 / 75	definido ou provável	não especificado	Investigar associação com HLA classe II (sorologia)	Associação positiva com DR4
Naito et al. (25)	1978	Japão - orientais	43 / 89	não especificado	Schumacher-McAlpine	Investigar associação com HLA classe I e II (sorologia)	Associação positiva com A9, B7, C4 e DR6
Marrosu et al. (21)	1988	Sardenha- caucasóides	45 / 182	definido, PCP e SR	Rose	Investigar associação com DR e DQ (RFLP)	Associação positiva com D4 e DQ3
Odum et al. (27)	1988	Suécia - caucasóides	45 / 211	não especificado	não especificado	Investigar associação com DR e DP (RFLP)	Associação positiva com DR2 e DP4 ou ambos
Olerup et al. (28)	1989	Suécia - caucasóides	100 / 200	definido, PCP/SR	não especificado	Investigar associação com DR e DQ (RFLP)	i) Associação positiva amostra total com DR 15 e com DQ6; ii) PCP: a) positiva com DR15 e DR4.DQ8 ou ambos; b) negativa com DQ7; iii) SR: associação positiva com DR15 e DR17.DQ2 ou ambos
Vardal et al. (40)	1989	Noruega - caucasóides	61 / 361	definido ou provável	Poser	Investigar associação com HLA-A, -B, -DR (sorologia) e polimorfismo-DQ (PCR-SSO)	Associação positiva com B27, DR2 e DQ6; segmentos 10-29, 31-52, 58-69 e 71-83 de diferentes moléculas DQβ comuns a 97% dos pacientes
Fugger et al. (7)	1990	Dinamarca-caucasóides	37 / 133	SR	não especificado	Investigar associação com alelos DPB (PCR-SSO,DB)	Não encontraram associação
Howebl et al. (15)	1991	Canadá - descendentes de franceses	52 / 99	não especificado	não especificado	Investigar associação com HLA-DP (PCR-SSO)	Não encontraram associação
Muntoni et al. (24)	1991	Norte da Itália - caucasóides Sardenha - caucasóides	a) 9 / 25 b) 14 / 13	não especificado	não especificado	Investigar associação com diferentes haplótipos HLA-DR2 (RFLP)	a) Associação positiva com DR15w.Dw2.DQ6 na pop. Norte da Itália presente em 100% dos pacientes e 50% dos controles b) nenhuma associação na pop. Sardenha

continua

Tabela 1. Continuação

Olerup & Hillert (29)	1991	Suécia - caucasóides	179 / 429	definido, PCP e SR	não especificado	Investigar associação com HLA de classe II (RFLP, SB, PCR-SSO)	i) amostra total: associação positiva com DR15.Dw2.DQ6 ou DR15 ou DQ6; ii) SR: associação positiva com DR17.DQ2, iii) Não encontraram associação com DP
Spurkland et al. (35)	1991	Noruega - imigrantes japoneses	24 / 47	definido ou provável	Poser	Investigar associação com DRB1, DQA1, DQB1, DPA1 e DPB1 (PCR-SSO)	Não encontraram associação
Fuzakawa et al. (8)	1992	Japão - orientais	67 / 255	definido, SR, PCP	Poser	Investigar associação com especificidades de classe I (-A, -B, -C) e de classe II (-DR, -DQ)(sorologia)	i) Associação positiva com DR4, DR8 e DQ7 ii) Associação negativa com DR53 e DR9
Hillert et al. (13)	1992	Noruega - caucasóides	62 / 160	definido, PCP e SR	não especificado	Investigar associação com HLA de classe II (SB, RFLP, PCR-SSO)	Frequência de DR17.DQ2 cinco vezes mais comum na SR do que PCP
Haegert & Francis (11)	1993	Canadá - caucasóides	a) 79 / 151 b) 62 / 131	definido	Poser	Investigar associação com HLA de classe II (PCR-SSO e RFLP)	a) Associação positiva com DRB1 *1501. DQA1 *0102. QB1 *0602 e DQB1Leu26 b) Associação positiva com RB1 *1501
Hillert & Olerup (14)	1993	Suécia - caucasóides	148 / 306	definido, PCP e SR	Schumacher	Investigar associação com C4, CYP21 e HLA-B (SB, RFLP)	Associação positiva com C4/CYP21B em pacientes DR15.Dw2.DQ6 e com C4/CYP21C em pacientes DR17.DQ2
Libiau et al. (20)	1993	Suécia - caucasóides	60 / 120	definido, SR	Poser	Investigar associação com LMP e TAP (RFLP, PCR-SSO)	Não encontraram associação
Tienari et al. (39)	1993	Finlândia - caucasóides	72 / 157	não especificado	Poser	Investigar associação com alelos DQA1 e DQB1 (PCR-SSO)	Associação positiva com DQA1 *0102 e DQB1 *0602
Allen et al. (2)	1994	Suécia - caucasóides	94 / 269	definido, SR	McDonald e Halliday	Investigar associação com alelos de classe II (PCR-SSO)	i) Associação positiva com DRB1 *1501. DQA1 *0102. DQB1 *0602 e DRβVal86; ii) Associação negativa com DRB1 *0401. DQA1 *0301. DQB1 *0301 e DRβGII86
Kellar-Wood et al. (16)	1994	Reino Unido - caucasóides	173 / 301	definido	Poser	Investigar associação com TAP1 E TAP2 em indivíduos previamente tipados quanto a DR e DQ (RFLP, SB, PCR-SSO)	Não encontraram associação
Spurkland et al. (36)	1994	Noruega - caucasóides (?)	69 / 242	não especificado	não especificado	Investigar associação com TAP2 (PCR-SSO)	Não encontraram associação
Kelly et al. (17)	1995	Reino Unido descendentes de asiáticos: imigrantes do Caribe (negros) e da Índia (asiáticos)	negros: 30 / 126 asiáticos: 40 / 133	definido ou provável	Poser	Investigar associação com DRB1, DQA1 e DOB1 (RFLP, PCR-SSO)	i) negros: associação positiva DRB1 *1501. DQA1 *0102. DQB1 *0602; ii) asiáticos: associação positiva com DRB1 *1501.. DQA1 *0102. DQB1 *0602

N, nº amostral (pacientes / total); DB, dot blotting; PCR-SSO, polymerase chain reaction - sequence-specific oligonucleotide; RFLP, restriction fragment length polymorphism; SB, southern blotting; SR, surto/remissão; PCP, progressiva crônica primária.

Tabela 2. Associações sistema HLA x esclerose múltipla em populações caucasóides de diversas procedências.

População	HLA	RR~	Ref.
1) alemães	A3	1,5	(5)
	B7	2,4	(5)
2) árabes	DR4	13,1	(18)
3) canadenses	DR15.Dw2.DQ6	2,6	(11)
	DQβLeu26	5,7	(11)
4) finlandeses	DQA1*0102	3,8	(39)
	DQB1*0602	4,0	(39)
5) italianos	Norte DR15.Dw2.DQ6	NC	(24)
	Sardenha DR4	2,5	(21)
	DQ3	2,2	(21)
6) noruegueses	B7	3,7	(40)
	DR2	7,6	(40)
	DQ6	5,3	(40)
	SR DR17.DQ2	NS	(13)
7) suecos	amostra total DR2	6,1	(27)
	DP4	5,4	(27)
	DR2/DP4	8,1	(27)
	DR15	3,3	(29)
	DR15	3,5	(28)
	DR15.Dw2.DQ6	3,9	(29)
	DQ6	2,2	(28,29)
	C4/CYP21B/DR15.Dw2.DQ6	2,7	(14)
	C4/CYP21C/DR17.DQ2	13,7	(14)
	DRβVal86	3,5	(2)
	DRβGli86	0,17	(2)
	PCP DR15	2,7	(28)
	DR4.DQ8	2,3	(28)
	DR15/DR4.DQ8	7,0	(28)
DQ7	0,06	(28)	
SR DR15	3,8	(28)	
DR17.DQ2	1,8	(28)	
DR17.DQ2	2,2	(29)	
DR15/DR17.DQ2	5,6	(28)	



HLA. Isto pode resultar em duas formas de reação do hospedeiro: 1) o agente etiológico passa despercebido e nenhuma resposta imune é acionada; 2) o hospedeiro aciona uma resposta imune contra o antígeno e, dada a similaridade deste com certa molécula própria do organismo hospedeiro, a resposta é também autoimune. Por fim, segundo a última hipótese mencionada no parágrafo anterior, a associação de doenças com moléculas HLA de classe II é devida à indução de expressão destas em células que normalmente não as expressam, levando à apresentação de antígenos próprios que, por serem tecido-específicos, escapam ao processo de educação tímica. Desta forma, clones de células T autorreativas migrariam para o tecido em questão, lisando células próprias do hospedeiro.

No caso da EM, mais de uma destas hipóteses pode ser aplicada. A semelhança da proteína básica da mielina (myelin basic protein, MBP) com antígenos virais corrobora a hipótese de mimetismo molecular<sup>3</sup>. A presença de linfócitos T autorreativos na corrente sanguínea e no líquido cefalorraquidiano (LCR), e concomitante surgimento de células apresentadoras de antígeno nas meninges e espaços perivasculares no SNC, podem estar relacionados com a expressão anormal de moléculas HLA de classe II. Vale lembrar aqui que as associações mais fortes do HLA com a EM envolvem justamente a sub-regiões DR e DQ. Entretanto, seria precoce qualquer afirmação neste sentido, pois a suscetibilidade à EM provavelmente envolve a participação de vários genes, alguns dos quais ainda estão para ser identificados.

A análise comparativa dos dados sobre a EM é dificultada por alguns problemas inerentes à doença como, por exemplo, a diferença de prevalência entre as regiões geográficas, a heterogeneidade clínica da doença, a falta de uniformidade quanto aos critérios de diagnóstico e a inexistência de testes laboratoriais específicos da EM.

Como se pode notar pelos dados apresentados nas Tabelas 1 e 2, há relatos de associações positivas da EM com diversas especificidades e/ou alelos HLA nas populações de diferentes etnias. Em caucasóides, encontrou-se associação principalmente com o haplótipo DRB1\*1501.DQA1\*0102.DQB1\*0602 ou com as especificidades sorológicas correspondentes em amostras de suecos<sup>2,27,29</sup>, noruegueses<sup>40</sup>, italianos<sup>24</sup> e canadenses<sup>11</sup>.

Admitindo-se que o fenótipo HLA-DR2 confere susceptibilidade à EM, há que se considerar que na Europa ocorre um gradiente Norte-Sul de frequência deste alelo. Portanto, é de se esperar que a prevalência da doença difira entre populações de diversas procedências. Além disto, estudos moleculares evidenciam a ocorrência de pelo menos 5 alelos diferentes de DR2. Notou-se que entre húngaros e escandinavos há alta frequência do gene DR2, porém a prevalência da doença é maior entre os escandinavos<sup>37</sup>. Isto pode estar relacionado à diferente distribuição das frequências alélicas do gene HLA-DR2 entre essas populações. Sendo assim, é razoável que no Brasil haja predomínio da doença nas regiões Sul e Sudeste<sup>9</sup>, pois nestas regiões houve maior confluência de imigrantes europeus, oriundos das regiões de alta prevalência da EM. Contudo, ainda há poucos estudos que incluem negróides e ameríndios em suas amostras e a prevalência da EM entre estes grupos étnicos ainda é pouco caracterizada.

É provável que em outros grupos étnicos não caucasóides, outras associações sejam mais frequentes. Em orientais, encontrou-se associação com DR4, DR8 e DQ7<sup>8</sup> ou predominância de DR6<sup>25</sup>. Em árabes, encontrou-se associação com DR4<sup>18</sup>. Numa amostra de negróides da Inglaterra, descendentes de imigrantes do Caribe, encontrou-se associação com o haplótipo DRB1\*1501.DQA1\*0102.DQB1\*0102<sup>17</sup>, que bem pode ser em decorrência da miscigenação com caucasóides. Em outros estudos há relatos de associação negativa com DRB1\*0401.DQA1\*0301.DQB1\*0301 em caucasóides<sup>2</sup> e com DR53 e DR9 em orientais<sup>8</sup>. No entanto, muitas dessas associações não foram confirmadas em vários outros estudos, seja porque foi encontrada associação com outros alelos, seja porque não foi encontrada associação alguma.

Com exceção do trabalho de Odum et al.<sup>27</sup>, os demais autores não confirmaram a participação da sub-região DP na suscetibilidade à EM<sup>7,15,29,35</sup>. Da mesma forma, os que investigaram associação

Tabela 3. Exemplos de doenças autoimunes associadas ao sistema HLA em populações caucasóides.

Doença	Fenótipo HLA	RR ~
Artrite reumatóide	DR4	6
Diabete melitus insulino-dependente	DR2	0,25
	DR3	5
	DR4	6,3
	DR3 / DR4	20
	DQ8	31,8
Doença celíaca	DR3	12
Doença de Graves	DR3	3,8
Espondilite anquilosante	B27	81,8
Hepatite crônica	DR3	14
Lupus eritematoso sistêmico	DR3	2,7
	C4Adel	5,5
Pênfigo vulgar	DR4	24
Síndrome de Sjögren	DR3	10
Esclerose múltipla	DR2.DQ6	3,7
	DR2	5,1
	DQ6	3,9

RR~, risco relativo aproximado. Adaptado de Sütes & Terr, 1992<sup>38</sup>.

da EM com os genes LMP e TAP não obtiveram resultados positivos<sup>16,20,36</sup>. É provável que tais genes não estejam implicados na expressão da EM.

Chama a atenção o fato de que nem todos os estudos especificam com maior detalhe o grupo de pacientes estudados ou os critérios de diagnóstico empregados. Naqueles em que há informações a este respeito, nota-se certa diversificação dos critérios de diagnóstico adotados<sup>22,23,30,32,33</sup>. Quanto aos grupos de pacientes, nota-se certa despreocupação dos pesquisadores em realizar estudos em separado de acordo com as características clínicas da EM, citando-se poucos que o fizeram<sup>7,8,13,20,29</sup>.

A EM é doença heterogênea do ponto de vista clínico e possivelmente imunogenético. Assim, parece essencial nos estudos de associação do sistema HLA e EM analisar em separado os grupos de pacientes com diferentes formas da doença. Nota-se tendência das associações positivas com o haplótipo DR17.DQ2 na forma surto-remissão (SR) da EM nas populações caucasóides<sup>13,28,29</sup>. De fato, Hillert et al.<sup>13</sup> sugerem que as formas SR e progressiva crônica primária (PCP) da EM devam ser consideradas duas doenças distintas que requerem ação preventiva e tratamento específicos, dado que estas diferem quanto à epidemiologia, idade de início, evolução clínica, e dados laboratoriais.

Além disto, deve-se uniformizar os critérios diagnósticos da EM e as técnicas laboratoriais empregadas nesses estudos a fim de tornar possível a comparação entre os resultados dos diversos trabalhos e para que sejam feitas conclusões pertinentes à possível influência dos fenótipos HLA na EM. Em vista do pequeno número de dados de populações não caucasóides, será interessante realizar mais estudos de associação em amostras de orientais, negros africanos e ameríndios, dentre outras populações *sui genere*. Nestes estudos o número amostral deverá ser algo maior do que tem sido adotado em caucasóides, em que a prevalência da doença é maior.

Outros dois fatores que certamente interferem nos resultados das associações são o número amostral e a escolha dos controles.

Amostras muito pequenas podem resultar em dados pouco confiáveis, como em Muntoni et al.<sup>24</sup> (N = 9/25) que encontraram o haplótipo DR15.Dw2.DQ6 em 100% de seus pacientes e em Spurkland et al.<sup>35</sup> (N = 24/47) que, apesar de terem utilizado técnica relativamente segura (PCR-SSO) e terem investigado vários alelos das sub-regiões DR, DQ e DP, não encontraram qualquer associação.

A utilização como controle de amostras de diferentes etnias em relação ao grupo de pacientes é igualmente inapropriada, posto que as frequências alélicas variam entre diferentes populações. Note-se, por exemplo, as diferentes associações entre italianos do Norte da Itália e da Sardenha<sup>21,24</sup>. É questionável, portanto, a validade da associação com DP4 encontrada por Odum et al.<sup>27</sup>, com pacientes suecos e os controles normais dinamarqueses. Os autores alegaram que as diferenças de distribuição dos genes HLA-DR e -DP entre essas duas populações são mínimas, porém, estudos posteriores não confirmaram tal associação ou, em alguns casos, a associação com DP foi considerada secundária a DR2 (DRB1\*1501)<sup>4,15,29</sup>.

Diante do fato de que o RR em relação ao DR2 e/ou haplótipos associados varia de 2,6 até 7,6 (Tabela 2) e da herdabilidade média da EM ser de apenas 28%, nota-se que a participação do componente genético, e em particular o envolvimento dos genes HLA na suscetibilidade à EM, é insuficiente para desencadear a doença. Compare-se, por exemplo, o RR = 81,8 em relação ao B27 na espondilite anquilosante<sup>38</sup> e em outras doenças autoimunes, conforme mostrado na Tabela 3. Certamente outros genes ainda não estudados estão implicados na suscetibilidade à EM.

## CONCLUSÕES

Nos estudos de associação entre antígenos HLA e EM encontrou-se:

1. Associações positivas com diferentes especificidades HLA em amostras populacionais distintas, sendo mais frequentes as associações com o haplótipo DR15.Dw2.DQ6 (RR=2,6 a 3,9) ou com as especificidades DR15<sup>2</sup> e DQ6<sup>1</sup> em separado, cujos valores de RR variam no primeiro caso de 2,7 a 7,6 e no segundo caso de 2,2 a 5,7 nas populações caucasóides estudadas;

2. A heterogeneidade dos critérios de diagnóstico e das diferentes formas de EM (SR, PCP) dificulta a comparação dos resultados dos diversos autores. Futuramente deve-se uniformizar a metodologia clínica e laboratorial de estudo, analisar e comparar amostras de pacientes com formas clínicas distintas da EM, para chegar-se a conclusões mais precisas quanto à participação de alelos HLA na susceptibilidade à EM.

**Agradecimentos** - Ao apoio financeiro de CAPES, ao Sr. Armando Guedes Vicentini pelo seu inestimável apoio na elaboração deste estudo.

## REFERÊNCIAS

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Philadelphia: Saunders. 1994.
2. Allen M, Sandberg-Wollheim M, Sjögren K, Erlich H, Petterson U, Gyllensten U. Association of susceptibility to multiple sclerosis in Sweden with HLA class II DRB1 and DQB1 alleles. *Hum Immunol* 1994;39:41-48.
3. Atkins G, Daly E, Sheahan B, Higgins D, Sharp P. MS and molecular mimicry. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1990;16:179.
4. Begovich AB, Helmuth RC, Oksenberg JR et al. HLA-DP beta and susceptibility to multiple sclerosis: an analysis of Caucasian and Japanese patient population. *Hum Immunol* 1990;28:365-372.
5. Bertrams J, Kuwert E. HL-A antigen frequencies in multiple sclerosis: significant increase of HL-A3, HL-A10 and W5 and decrease of HL-A12. *Eur Neurol* 1972;7:74.
6. Ebers GC. Genetics and multiple sclerosis: an overview. *Ann Neurol* 1994;36(Suppl):12-14.
7. Fugger L, Ryder LP, Morling N, Odum N, Friis J, Pedersen FK, Heilmann C, Sandberg-Wollheim M, Svejgaard A. DNA typing for HLA-DPB1\*02 and DPB1\*04 in multiple sclerosis and juvenile rheumatoid arthritis. *Immunogenetics* 1990;32:150-156.
8. Fukazawa T, Hamada T, Tashiro K, Moriwaka F, Yanagihara T, Sugiyama K, Tsukada Y. HLA profiles of multiple sclerosis in Hokkaido, the northernmost island of Japan. *Acta Neurol Scand* 1992;86:517-520.
9. Gomes MM, Almeida GFG. Esclerose múltipla e doenças correlatas: tendências diagnósticas no Brasil (capitais), 1979-1987. *Rev Bras Neurol* 1991;27:187-192.
10. Graeber MB, Streit WJ, Buringer D, Sparks DL, Kretzberg GW. Ultrastructural location of major histocompatibility complex (MHC) class II positive perivascular cells in histologically normal human brain. *J Neuropathol Exper Neurol* 1992;51:303-311.
11. Haegert DG, Francis GS. HLA-DQ polymorphisms do not explain HLA class II associations with multiple sclerosis in two Canadian patient groups. *Neurology* 1993;43:1207-1210.

12. Hillert J. Human leukocyte antigen studies in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1994;36(Suppl):15-17.
13. Hillert J, Gronning M, Nylund H, Link H, Olerup O. An immunogenetic heterogeneity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992;55:887-890.
14. Hillert J, Olerup O. Multiple sclerosis is associated with genes within or close to the HLA-DR-DQ subregion on a normal DR15, DQ6, DW2 haplotype. *Neurology* 1993;43:163-168.
15. Howell WM, Sage DA, Evans PR, Smith JL, Francis GS, Haegert DG. No association between susceptibility to multiple sclerosis and HLA-DPB1 alleles in the French Canadian population. *Tissue Antig* 1991;37:156-160.
16. Kellar-Wood HF, Powis SH, Gray J, Compston DAS. MHC-encoded TAP1 and TAP2 dimorphisms in multiple sclerosis. *Tissue Antig* 1994;43:129-132.
17. Kelly MA, Jacobs KH, Penny MA, Mijovic CH, Nightingale S, Barnett AH, Francis DA. An investigation of HLA-encoded genetic susceptibility to multiple sclerosis in subjects of Asian Indian and Afro-Caribbean ethnic origin. *Tissue Antig* 1995;45:197-202.
18. Kurdi A, Ayesh I, Abdallat A, Maayta U, McDonald WI, Compston, DAS, Batchelor JR. Different B lymphocyte alloantigens associated with multiple sclerosis in Arabs and North Europeans. *Lancet* 1977;28:1123-1125.
19. Lamm LU, Olaisen B. Report of the committee constitution of chromosomes 5 and 6. *Cytog Cell Genet* 1985;40:128.
20. Liblau R, Endert PN, Sandberg-Wollheim M, Patel SD, Lopez MT, Land S, Fugger L, McDevitt HO. Antigen processing gene polymorphisms in HLA-DR2 multiple sclerosis. *Neurology* 1993;43:1192-1197.
21. Marrosu MG, Muntoni F, Spinicci G, Pischedda MP, Goddi F, Cossu P, Pirastu M. Sardinian multiple sclerosis is associated with HLA-DR4: a serologic and molecular analysis. *Neurology* 1988;38:1749-1753.
22. McAlpine D, Lumsden CE, Acheson ED. Multiple sclerosis, a reappraisal. Ed2. Edinburgh: Churchill-Livingstone, 1972.
23. McDonald WI, Halliday AM. Diagnosis and classification of multiple sclerosis. *Br Med Bull* 1977;33:4.
24. Muntoni F, Murru MR, Costa G, Congia M, Cucca F, Cossu P, Cao A, Dessalvi L, Pirastu M, Marrosu MG. Different HLA DR2-DQw1 haplotypes in Sardinian and northern Italian populations: implications for multiple sclerosis susceptibility. *Tissue Antig* 1991;38:34-36.
25. Naito S, Kurdiwa Y, Itoyama T, Tsubaki T, Horikawa A, Sakazuki T, Noguchi S, Ohtsuki S, Tokuomi H, Miyatake T, Takahata N, Kawanami S, McMichael AJ. HLA and Japanese MS. *Tissue Antig* 1978;12:19-24.
26. Naito S, Manerow N, Mickey MR, Terasaki PI. Multiple sclerosis: association with HL-A3. *Tissue Antig* 1972;2:1-4.
27. Odum N, Hyldig-Nielsen J, Morling N, Sandberg-Wollheim M, Platz P, Svejgaard A. HLA-DP antigens are involved in susceptibility to multiple sclerosis. *Tissue Antig* 1988;31:235-237.
28. Olerup O, Hillert J, Fredrikson S, Olsson T, Kam-Hansen S, Moller E, Carlsson B, Wallin J. Primarily chronic progressive and relapsing/remitting multiple sclerosis: two immunogenetically distinct disease entities. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:7113-7117.
29. Olerup O, Hillert J. HLA class II-associated genetic susceptibility in multiple sclerosis: a critical evaluation. *Tissue Antig* 1991, 38:1-15.
30. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983;13:227-231.
31. Rezende PA. Aspectos imunogenéticos da esclerose múltipla. Dissertação de Mestrado, UFPR - Curitiba, 1995.
32. Rose AS, Ellison GW, Myers LM, Tourtellotte WW. Criteria for the clinical diagnosis of multiple sclerosis. *Neurology* 1976;26(Suppl):20-22.
33. Schumacher GA, Beebe G, Kibler RF, Kurland LT, Kurtzke JF, McDowell F, Nagler B, Sibley WA, Tourtellotte WW, Willmon TL. Problems of experimental trials of therapy in multiple sclerosis: report by the panel on the evaluation of experimental trials of therapy in multiple sclerosis. *Ann NY Acad Sci* 1965;122:552-568.
34. Smith ME, Sommer MA. Association between cell-mediated demyelination and astrocyte stimulation. *Progr Brain Res* 1992;94:411-422.
35. Spurkland A, Tabira T, Ronningen KS, Vandvik B, Thorsby E, Vartdal F. HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1, -DPA1 and -DPB1 in Japanese multiple sclerosis patients. *Tissue Antig* 1991;37:171-173.
36. Spurkland A, Knutsen I, Undlien DE, Vartdal F. No association of multiple sclerosis to alleles at the TAP2 locus. *Hum Immunol* 1994;39:299-301.
37. Stites DP, Terr AI. Basic and clinical immunology. Los Altos, CA: Lange, 1991.
38. Stites DP, Terr AI. *Imunologia básica*. Rio de Janeiro:PHB, 1992.
39. Tienari PJ, Wikstrom J, Koskimies S, Partanen J, Palo J, Peltonen L. Reappraisal of HLA I in multiple sclerosis: close linkage in multiplex families. *Eur J Hum Genet* 1993;1:257-268.
40. Vartdal F, Sollid LM, Vandvik B, Markussen G, Thorsby, E. Patients with multiple sclerosis carry DQB1 genes which encode shared polymorphic amino acid sequences. *Hum Immunol* 1989;25:103-110.
41. Weber F, Meinel E, Aloisi F, Nevinny-Sücker C, Albert E, Wekerle H, Hohlfield R. Human astrocytes are only partially competent antigen presenting cells: possible implications for lesion development in multiple sclerosis. *Brain* 1994;117:59-69.
42. Wucherpfennig KW. Autoimmunity in the central nervous system: mechanisms of antigen presentation and recognition. *Clin Immunol Immunopathol* 1994;72:293-306.

CORREÇÃO. Duas correções são necessárias no artigo *Rezende PA, Arruda WO. Aspectos genéticos da esclerose múltipla: II. Sistema HLA. Arq Neuropsiquiatr 1996; 54(3): 439-450*. A primeira, na Figura 1 (página 441): onde consta “proteínas do comportamento” leia-se “proteínas do complemento”. A segunda, no título da Tabela 2 (página 446): onde consta “de diversas rocedências”, leia-se “de diversas procedências”. Essas incorreções foram notadas por Patrícia Almeida de Rezende, a primeira autora do artigo, cuja cooperação o Editor agradece.