

O Complexo HLA e Doenças

*Elza Araújo Torres**

*Ana Lúcia Peroni Costa Cardoso***

- **Resumo:** Aproximadamente 530 doenças têm sido estudadas em correlação com genes do complexo HLA. Em alguns casos, a associação é fraca e pode ser fortuita, mas em outros é tão forte que muito provavelmente certos genes HLA estão diretamente envolvidos. Por exemplo, a espondilite anquilosante está fortemente associada a B27, havendo evidência de que esta molécula por si representa predisposição para o seu desenvolvimento. Estudos populacionais e familiares têm sido utilizados para se demonstrar a relação de marcador genético dentro do complexo HLA e doenças. Estes dois tipos de estudos fornecem diferentes tipos de informação: estudos populacionais permitem verificar a associação entre um marcador HLA e a doença e estudos familiares fornecem informação sobre a cossegregação entre genes localizados dentro do complexo HLA e a suscetibilidade ou proteção à doença e evidencia o tipo de herança recessiva, dominante, codominante.

Unitermos: complexo HLA, doenças, genes, associação, cossegregação.

Abstract: Nearly 530 diseases have been found to be associated to one or more genes in the HLA complex. For many of them, the HLA associations are weak and may be fortuitous. For others, by contrast, these associations are so strong that they are most probably the result of a direct involvement of certain HLA genes in the pathogenesis of the disease. For example, ankylosing spondylitis is strongly associated to B27 and there is strong evidence that the B27 molecule itself represents the genetic predisposition to develop it. Both population and family studies have been used to demonstrate the relationship between marker genes within the HLA complex and various diseases states. The two types of studies yield different types of information. Population studies permit a statistically significant association between a particular HLA marker gene and a particular disease. Family studies provide an opportunity to establish a cosegregation between a disease susceptibility gene and the HLA complex and may provide evidence for simple dominant or recessive inheritance.

Keywords: HLA complex, genes, diseases, association, cosegregation.

* Professora Doutora, pesquisadora do Hospital de Pesquisa e Reabilitação de Lesões Lábio-palatais/ USP/ Bauru e professora adjunta da USC/Bauru.

** Pesquisadora do Hospital de Pesquisa e Reabilitação de Lesões Lábio-palatais/ USP/ Bauru

O complexo HLA exerce o controle da resposta imune, é altamente polimórfico, os genes codificadores estão cercados por tantos outros relacionados a funções imunológicas e não imunológicas e segue o padrão de herança mendeliana. Desta forma, surgiu o interesse pelo estudo de HLA e suscetibilidade a doenças. Desde que *AMIEL (1967)* relatou pela primeira vez que a doença de Hodgkin's parecia ocorrer mais frequentemente em indivíduos portadores de um determinado HLA, cerca de 530 entidades nosológicas distintas já foram estudadas em relação a este sistema (*TIWARI & TERASAKI, 1985*). As associações mais fortes entre HLA e doenças podem ser verificadas na Tabela 1 (*THORSBY, 1995*).

Para muitas doenças, a associação é fraca e pode ser fortuita; para outras, em contraste, a associação é tão forte que provavelmente resultem de envolvimento direto de certos genes do complexo HLA.

Apesar das várias associações estabelecidas, muitas questões sobre os mecanismos de suscetibilidade permanecem obscuras. No entanto, há evidências suficientes de que não é o mesmo loco gênico envolvido e nem é o mesmo mecanismo que atua nas diversas patologias.

Segundo *BATCHELOR & Mc MICHAEL (1987)* e *RISCH (1987)*, existem 3 grupos de doenças associadas ao HLA: 1) um grupo maior envolvendo mecanismos imunológicos e os próprios genes HLA, como as doenças autoimunes, 2) um grupo pequeno no qual fatores imunológicos parecem não estar envolvidos: genes de suscetibilidade poderiam estar presentes no cromossomo 6 e segregar junto, em desequilíbrio de ligação ou não, 3) um grupo no qual a patogênese é tão incerta que a doença não pode ser incluída em nenhum dos grupos anteriores, talvez por envolver outros genes.

De acordo com *THORSBY (1995)*, antes da realização de estudos direcionados para desvendar quais os mecanismos por trás de uma associação, deve-se estabelecer quais genes do complexo HLA são os principais na determinação da suscetibilidade ou proteção a doença, ou seja, se são os próprios genes codificadores de moléculas HLA apresentadoras de peptídeos (associação primária) ou se são outros genes do complexo em desequilíbrio de ligação (associação secundária).

Tabela 1 - Algumas associações entre HLA e doenças.

DOENÇA	HLA	FREQUÊNCIA (%)	
		PACIENTES	CONTROLES
Hemocromatose	A3	72	28
Espondilite anquilosante	B27	>95	9
Síndrome de Reiter	B27	>80	9
Uveíte anterior aguda	B27	68	9
Tireoidite subaguda	B35	70	14
Psoríase vulgar	Cw6	87	33
Narcolepsia	DQ6	>95	33
Doença de Graves	DR3	65	27
Miastenia gravis	DR3	50	27
Doença de Addison	DR3	69	27
Artrite reumatóide	DR4	81	33
Artrite reumatóide juvenil	DR8	38	7
Doença celíaca	DQ2	99	28
Esclerose múltipla	DR2/DQ6	86	33
Diabetes tipo I	DQ8	81	23

RR = risco relativo

FONTE: THORSBY, 1995

Podem ser feitos 2 tipos de estudos que fornecem informações diferentes: estudos populacionais (associação) e estudos familiares (cossegregação ou ligação). Dependendo do grau de penetrância dos genes de suscetibilidade, de sua frequência na população, da existência de outros genes fora do complexo HLA e da importância de fatores ambientais na suscetibilidade à doença, maiores informações são obtidas pelo método de associação ou pelo método de cossegregação.

Estudos populacionais permitem investigar associação entre um gene marcador e uma determinada doença. O método de associação entre HLA e doenças consiste na comparação das frequências dos antígenos em pacientes e indivíduos sadios do mesmo grupo étnico, através de teste do qui-quadrado ou do teste exato de Fisher, dependendo do tamanho da amostra (SIEGEL, 1979). O valor de p deve ser corrigido (p x número de antígenos HLA pesquisados), pois os dois grupos estudados são submetidos a comparações múltiplas, uma vez que cada antígeno HLA pesquisado gera uma tabela de contingência 2 x 2. Aceitando-se como 5% a probabilidade de erro em cada uma das comparações, se 20 comparações forem analisadas, é altamente provável ($20 \times 5 = 100$) que uma delas apresente $p < 0,05$ simplesmente ao acaso. A correção do valor de p reduz as chances de erros estatísticos do tipo I (aceitar a hipótese H 1 como verdadeira quando é falsa), mas pode induzir a erro do tipo II (rejeitar a hipótese H 1 quando é verdadeira) (SVEJGAARD & RYDER, 1979).

Através do cálculo do risco relativo (RR) pode ser estimada a força da associação. O RR indica quantas vezes um indivíduo portador do antígeno em

questão é mais suscetível à doença do que um indivíduo não portador do mesmo (SVEJGAARD & RYDER, 1979; SVEJGAARD *et al.*, 1983; SVEJGAARD *et al.* 1994).

Algumas associações são muito fortes e provavelmente resultem do envolvimento direto de certos genes HLA na patogenese da doença. A espondilite anquilosante, por exemplo, dificilmente ocorre em indivíduos que não carregam a molécula HLA-B27 (BREWERTON *et al.*, 1973; SCHOLOSSTEIN *et al.*, 1973) sendo que na maior parte dos pacientes em que há falta da referida molécula, ocorrem outras doenças concomitantes como psoríase ou inflamação crônica do intestino (EDMONDS *et al.*, 1984). Neste caso, há fortes evidências de que a molécula B27, por si, representa uma predisposição à espondilite anquilosante. No entanto, a ocorrência familiar desta doença é relativamente rara e isto explica-se pela existência de outros genes reguladores fora do complexo HLA (DAWKINS *et al.*, 1983).

Quase todas as doenças fortemente associadas ao HLA resultam de interação entre vários fatores genéticos e o meio ambiente, e os genes do complexo HLA parecem justificar a predisposição genética. Esta situação pode ser bem ilustrada pela diabetes tipo I (insulina-dependente), na qual a taxa de concordância para gêmeos monozigóticos é de 35 a 50%; contudo, o risco de um irmão HLA idêntico ao paciente desenvolver a doença é de 15 a 25%, considerado alto se comparado ao risco de 1% para um irmão com ambos os haplótipos diferentes (THORSBY & RÖNNINGER, 1993). Recentes estudos sugerem que os genes HLA são os mais importantes na suscetibilidade, porém outros (desconhecidos) também tem papel (DAVIES *et al.*, 1994).

Um bom exemplo de associação secundária é a hemocromatose, doença recessiva cujo gene primário envolvido ainda não foi identificado, mas está em forte desequilíbrio de ligação com genes codificadores da molécula HLA-A3 (WORDWOOD *et al.*, 1994; THORSBY, 1995).

Por outro lado, a hiperplasia congênita da supra-renal é uma doença recessiva causada por defeito no gene estrutural CYP21, localizado no complexo HLA, que codifica a enzima 21-OH. Através de estudos em famílias, foi verificado que todos os irmãos afetados apresentam dois haplótipos comuns. O gene defeituoso está em desequilíbrio de ligação com genes codificadores da molécula HLA-B47, mas a associação é fraca (DUPONT *et al.*, 1977; CARROL *et al.*, 1985; THORSBY, 1995).

Os estudos familiares consistem em método para a verificação de genes de suscetibilidade a doenças dentro ou próximo do complexo HLA, por análise de cossegregação ou ligação. Através da análise de cossegregação, utilizando famílias em que há mais de um irmão afetado, compara-se a ocorrência da doença com a herança dos haplótipos HLA. Em caso de ligação nula, a segregação é independente e os irmãos apresentam haplótipos HLA na proporção esperada por herança mendeliana simples, isto é, 2, 1 e 0 haplótipos em comum, ou seja, 2, 1 e 0 IBD ("Identity by descent") na proporção de 25%, 50% e 25% respectivamente. Sempre que houver, entre os irmãos doentes, um número significativamente maior de haplótipos HLA em comum do que seria esperado, configura-se a existência de genes de suscetibilidade ou de genes causadores da doença no complexo HLA (CUDWORTH & WOODROW, 1975; GREEN & WOODROW, 1977).

O método de cossegregação permite avaliar o caráter recessivo ou dominante do gene de suscetibilidade e não há necessidade de homogeneidade étnica entre as famílias estudadas. Além disto, permite detectar genes de suscetibilidade mesmo que não correspondam a genes HLA conhecidos e/ou não estejam em desequilíbrio de ligação com os mesmos e pode auxiliar na localização do gene dentro do complexo HLA, desde que algum irmão afetado apresente recombinação entre os genes do complexo HLA (HORS, 1985).

Este método não supõe que a ausência de doenças necessariamente signifique a ausência de herança do gene de suscetibilidade. Assim, irmãos não afetados não são utilizados na análise. Para interpretação dos estudos de ligação, devemos considerar o seguinte: se o gene de suscetibilidade localizado no complexo HLA for de natureza dominante, esperamos que 50% dos pares de irmãos afetados apresentem 2 IBD e 50% apresentem 1 IBD, desde que apenas um dos pais seja portador do gene e heterozigoto, isto é, 100% dos irmãos afetados devem ter pelo menos um haplótipo comum. Porém, se ambos os pais forem heterozigotos, ou se um deles for homozigoto para o gene de suscetibilidade em questão, podem surgir pares de irmãos afetados que não compartilham nenhum haplótipo HLA (0 IBD), e isto não significa que a anomalia não esteja ligada ao complexo HLA.

A proporção de irmãos afetados com haplótipos HLA em comum varia de acordo com a frequência do gene de suscetibilidade ligado ao complexo. Quanto maior sua frequência, maior a proporção de famílias com pais homozigotos ou ambos os pais heterozigotos, e portanto, menor a proporção de irmãos afetados com haplótipos HLA comuns. Portanto, é importante conhecer a frequência do gene de suscetibilidade para cálculo das proporções esperadas de irmãos afetados com 2, 1 ou 0 IBD (SUAREZ *et al.*, 1978; SUAREZ, 1993; SUAREZ & HAMPE, 1994).

Por outro lado, a ausência de doença em indivíduos portadores do gene de suscetibilidade ligado ao complexo HLA pode ser facilmente compreendida considerando-se vários fatores não mutuamente exclusivos: penetrância incompleta; controle poligênico da suscetibilidade, com participação de genes localizados fora do complexo HLA; participação de fatores ambientais e heterogeneidade. (RISCH, 1990).

Desta forma, a diversidade destes genes HLA aliada ao seu grande polimorfismo e demais características, tornaram esta região cromossômica extremamente atraente sob o ponto de vista de marcadores genéticos de suscetibilidade a doenças, auxiliando no tratamento e prevenção.

Referências Bibliográficas

- AMIEL, J.L. - Study of the leucocyte phenotypes in Hodgkin's disease. In: Curtoni, E.S.; Mattiuz, P.L. & Tosi, R.M. (eds), *Histocompatibility Testing 1967*, Munksgaard, Copenhagen, 1967. pp. 79-81.
- BATCHELOR, J.R. & McMICHAEL, A.J. - Progress in understanding HLA and disease associations. *Brit.Med.Bull.*, 43:156-183, 1987.

- BREWERTON, D.A.; CAFFREY, M.; HART, F.D.; JAMES, D.C.O.; NICHOLLS, A. & STURROCK, R.D. - Ankylosing spondylitis and HL-A27. *Lancet.*, 1:904-907, 1973.
- CAVALLI-SFORZA, L.L. & BODMER, W.F. - *The genetics of human populations*. WH Freeman, San Francisco, 1971, pp. 553-565.
- CUDWORTH, A.G. & WOODROW, J.C. - Evidence for HLA-linked genes in "juvenile" diabetes melitus. *Brit.Med.J.*, 3:133-135, 1975.
- DAVIES, J.L.; KAWAGUCHI, Y.; BENNETT, S.T.; COPEMAN, J.B. et al. A genome-wide search for human type I diabetes susceptibility genes. *Nature*, 371:130-136, 1994.
- DAWKINS, R.L.; CHRISTIANSEN, F.T.; KAY, P.H.; GARLEPP, M.; McCLUSKEY, J.; HOLLINGSWORTH, P.N. & ZILKO, P.J. - Diseases associations with complotypes, supratypes and haplotypes. *Immunol.Rev.*, 70:5-9, 1983.
- DUPONT, B.; OBERFIELD, S.E.; SMITHWICK, E.M.; LEE, T.D. & LEVINE, L.S. - Close genetic linkage between HLA and congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency). *Lancet*, 2:1309-1312, 1977.
- EDMONDS, J.; BASHIR, H.; THOMSON, G.; CARBONARA, A.O. HLA-B27-negative ankylosing spondylitis. In *Histocompatibility testing 1984*. Berlin: Springer Verlag, 1984, pp.388-394.
- GREEN, J.R. & WOODROW, J.C. - Sibling method for detecting HLA - linked genes in disease. *Tissue Antigens*, 9:31-35, 1977.
- HORS, J. HLA et maladies. In: DAUSSET, J. & PLA, M. (eds.), *HLA Complexe Majeur d' histocompatibilité de l'homme*, Flammarion Medicine - Sciences, Paris, 1985, pp. 227-256.
- RISCH, N. - Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *Am.J.Hum.Genet.*, 40:001-014, 1987.
- RISCH, N. - Linkage strategies for genetically complex traits. I. Multilocus Model. *Am.J.Hum.Genet.*, 46: 222-228, 1990.
- SCHOLOSSTEIN, L.; TERASAKI, P.I.; BLUESTONE, R. & PEARSON, G.M. High association of a HL-A antigen, w27 with ankylosing spondylitis. *New Eng.J.Med.*, 288:704-706, 1973.
- SIEGEL, S. - *Estatística não paramétrica para ciências do comportamento*. Ed. McGraw-Hill do Brasil, Ltda., São Paulo, 1979. pp.106-124.
- SUAREZ, B. K.; RICE, J.; & REICH, T. - The generalized sib pair IBD distribution: its use in the detection of linkage. *Ann. Hum. Genet.*, 42: 87-94, 1978.
- SUAREZ, B. K. - The affected sib pair IBD distribution for HLA-linked disease susceptibility genes. *Tissue Antigens*, 12: 87-93, 1993
- SUAREZ, B. K. & HAMPE, C.L. - Linkage and Association. *Am. J. Hum. Genet.*, 54: 554-559, 1994.
- SVEJGAARD, A.; PLATZ, P. & RYDER, L.P. - HLA and disease 1982 - A Survey. *Immunol.Rev.*, 70:193-218, 1983.
- SVEJGAARD, A. & RYDER, L.P. - Disease association. In: KISSMEYER-NIELSEN, F. - *Histocompatibility techniques*. Amsterdam Elsevier, 1979. p. 185-205.

- SVEJGAARD, A. & RYDER, L.P. - HLA and disease associations: Detecting the strongest association. *Tissue Antigens*, 43:18-27, 1994.
- THORSBY, E. - HLA-associated disease susceptibility - Which genes are primarily involved? *Immunologist*, 3(2): 51-58, 1995
- THORSBY, E. & RØNNINGER, K.S. Particular HLA-DQ molecules play a dominant role in determining susceptibility of resistance to type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*, 36:371-377, 1993.
- TIWARI, J.L. & TERASAKI, P.I. *HLA and disease associations*. New York: Springer Verlag, 1985. 472p.
- WORDWOOD M.; RAHA-CHOWDHURY, R.; DORAK, M.T.; DARKE, D.C. et al. Alleles at D6S265 and D6S105 define a hemochromatosis-specific genotype. *Br. J. Haematol.*, 86:863-866, 1994.