

HLA - UMA QUESTÃO DE FREQUÊNCIAS ENTRE AS DIFERENTES POPULAÇÕES

HLA - A MATTER OF FREQUENCIES BETWEEN DIFFERENT POPULATIONS

Anadilton Santos Hora

(Biomédico – EBMS – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Especialista em Saúde Coletiva pelo Centro Universitário Internacional Uninter. ditodahora@hotmail.com)

RESUMO

O complexo HLA (Antígenos Leucocitários Humanos) é a região com maior densidade de genes relacionados de todo o genoma humano. O extenso polimorfismo e o desequilíbrio de ligação existente entre diferentes *loci* do sistema HLA são amplamente utilizados como marcadores genéticos em estudos antropológicos. As frequências alélicas e haplotípicas dos *loci* HLA variam entre as diferentes populações e grupos étnicos. Os genes do sistema HLA demonstram serem mais similares entre populações com origens comuns. O Brasil apresenta uma grande mistura racial e originou-se, principalmente, de caucasoides de origem europeia, africanos e índios. E a Bahia é uma região de intensa migração e confluência. O presente trabalho tem por objetivo apresentar a função, a nomenclatura e os métodos de detecção do polimorfismo HLA e relatar a distribuição da frequência de HLA, dentro de nossa população que é multirracial. Os dados utilizados como metodologia para esta revisão foram identificados por pesquisas de *PubMed*, *Medline*, *Current Contents*, e referências de artigos relevantes; inúmeros artigos foram identificados por meio de pesquisas de os arquivos extensos dos autores. Em conclusão, muitos estudos demonstram estatísticas e as frequências entre HLA de classe I e II, e moléculas para uma variedade de complexos. O principal trabalho que temos pela frente é proporcionar conclusivos dados genéticos e funcionais para suportar um papel para HLA, além de permitir a compreensão da distribuição dos antígenos HLA na população.

Palavras-chave: HLA, MHC, polimorfismo, alelo, e frequência.

ABSTRACT

The HLA (Human Leukocyte Antigens) is the region with the highest density of genes related to the entire human genome. The extensive polymorphism and linkage disequilibrium between different HLA *loci* have been widely used as genetic markers in anthropological studies. Allele frequencies and haplotype of HLA *loci* vary among different populations and ethnic groups. The HLA genes have been shown to be more similar among populations with common origins. Brazil has a mixed racial and originated primarily of Caucasians of European ancestry, Africans and Indians. Bahia is a region of intense migration and confluence. This paper aims to present the function, the nomenclature and methods of detection of HLA polymorphism and report the distribution of the frequency of HLA within our population that is multi-racial. The data used as the methodology for this review were identified through searches of *PubMed*, *Medline*, *Current Contents*, and references from relevant articles, numerous articles were identified through searches of the extensive files of the authors. In conclusion, many studies have demonstrated statistical frequencies between and HLA class I and II molecules and for a variety of complexes. The main task now is to provide conclusive genetic and functional data to support a role for HLA, and enable the distribution of HLA antigens in the population.

Keywords: HLA, MHC, polymorphism, allele, and frequency.

INTRODUÇÃO

Os genes do Sistema HLA (Human Leukocyte Antigens–Antígenos Leucocitários Humanos) são a região com maior densidade de genes relacionados de todo o genoma humano. O extenso polimorfismo e o desequilíbrio de ligação existente entre diferentes *loci* do sistema HLA são amplamente utilizados como marcadores genéticos em estudos antropológicos.

As frequências alélicas e haplotípicas dos *loci* HLA variam entre as diferentes populações e grupos étnicos. Os genes do sistema HLA demonstram serem mais similares entre populações com origens comuns. Determinados alelos são mesmo característicos de algumas populações humanas com determinadas origens geográficas.

Devido ao interesse por este assunto, houve um crescimento principalmente nos aspectos imunológicos e genéticos desses sistemas (estruturas, função, origem, distribuição dos alelos nas diferentes populações, etc.).

Este trabalho é uma revisão de literatura que foi construída por meio de observações em bases de dados a saber: Medline, PubMed, Lilacs, Ovid, Science Direct, BioMed Central e High Wire Current Contents, Web of Science, Scielo/Brasil, Periódicos CAPES, e referências de artigos relevantes; inúmeros artigos foram identificados por meio de pesquisas e diversos atores foram selecionados. Para a seleção de referências nas bases de dados de idioma português e sua correspondência em inglês, foram incluídas combinações de "HLA", "MHC", "genética", "polimorfismo", "haplótipo", "Ligação genética", "frequência", e genes e produtos de genes (por exemplo, HLA-A, B, DR, e DQ).

Os artigos foram selecionados de acordo com os critérios: estudos completos e sem nenhuma restrição de data ou idioma para essas pesquisas. Os critérios de inclusão dos artigos foram: estudos dos genes HLA, função, a nomenclatura e os métodos de detecção e estudos populacionais dos *loci* HLA. Artigos que estavam disponíveis somente o *abstract* e o que não tinham relação com o tema estudado foram excluídos.

Uma análise inicial foi realizada com base nos títulos dos manuscritos; resumos de todos os artigos que preenchiam os critérios de inclusão. Após análise dos resumos, todos os artigos selecionados foram obtidos na íntegra e posteriormente examinados de

acordo com os critérios de inclusão estabelecidos.

Após definição de quais estudos seriam incluídos com base na busca eletrônica, foram realizadas buscas pelo nome do primeiro autor dos artigos selecionados, visando a localizar outras publicações que preenchessem os critérios de inclusão. A coleta de dados se deu por meio da leitura de documentos científicos e revistas especializadas na área, bem como do material mencionado anteriormente e a posterior compilação dos recortes mais significativos para o presente trabalho. Tais recortes foram extraídos de autores já examinados.

A organização deles se deu da seguinte forma: foram reunidas informações sobre HLA, tais como suas múltiplas funções, estrutura, evolução, etc. E a partir daí, descobriu-se a importância da interdisciplinaridade das áreas do conhecimento para o diagnóstico, e futuras associações das patologias nas populações.

Este trabalho de revisão visa estabelecer um esclarecimento sobre o Sistema HLA e suas frequências, a fim de encontrar uma base teórica que sustentasse o ponto de vista adotado no referido trabalho.

Gorer, em 1937 descobriu nos genes o Complexo Principal de Histocompatibilidade, presente em todos os vertebrados, com importantes funções imunológicas. Anos depois Dausset (1958), descobriu o primeiro antígeno humano, denominado MAC agora HLA, que é o correspondente humano do MHC.

Em seguida com o surgimento da técnica de cultura linfocitária mista (Bach e Hirschhorn, 1964; Bain, Vas et al., 1964) acumularam resultados de novos genes, nomeadamente o HLA-DR na década de 70 (Yunis e Amos, 1971; Tosi, Tanigaki et al., 1978).

DESCOBERTA DO SISTEMA HLA

O Complexo Principal de Histocompatibilidade ou MHC (do inglês *Major Histocompatibility Complex*), presente em todos os vertebrados, é constituído por genes com importantes funções imunológicas e foi descoberto por Peter Gorer durante o estudo de transplantes em ratos (GORER, 1937). Mais tarde, Jean Dausset (1958) publicou as suas observações e conclusões sobre a capacidade do soro de pessoas submetidas a

transfusões sanguíneas aglutinar leucócitos de outros indivíduos. Dausset descobriu assim o primeiro antígeno humano, denominado MAC (agora HLA-A*02), um dos produtos dos genes do sistema humano de antígenos leucocitários ou HLA (do inglês *Human Leukocyte Antigens*), que é o correspondente humano do MHC. Mais tarde, Jon van Rood e van Leeuwen (1963) publicaram a descoberta de outro gene do sistema HLA que foi denominado de FOUR (agora HLA-B). Com o surgimento da técnica de cultura linfocitária mista (BACH e HIRSCHHORN, 1964; BAIN, VAS *et al.*, 1964) foram-se acumulando resultados que conduziram à descoberta de novos genes, nomeadamente o HLA-DR na década de 70 (YUNIS e AMOS, 1971; TOSI, TANIGAKI *et al.*, 1978).

O envolvimento do Complexo Principal de Histocompatibilidade na resposta imunitária do organismo só foi confirmado no início da década de setenta (SHEVACH, PAUL *et al.*, 1972), mas agora já se conhece em detalhe a estrutura e função dos genes classe I e classe II do sistema HLA (BJORKMAN, SAPER *et al.*, 1987; BROWN, JARDETZKY *et al.*, 1993). Atualmente ainda desconhecemos os mecanismos exatos que associam determinados alelos e haplótipos do sistema HLA a uma predisposição elevada de desenvolver determinadas doenças (SIEGLER, AMIEL *et al.*, 1992).

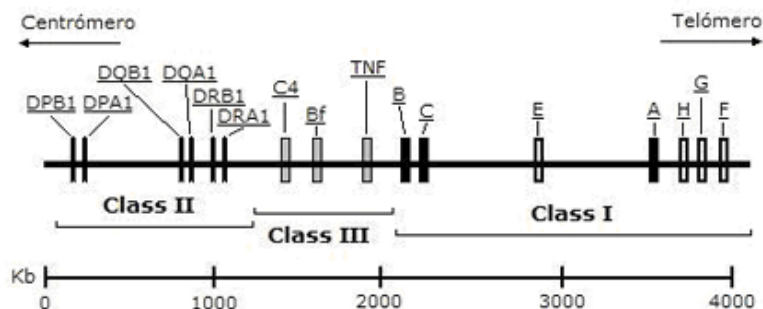
Devido às suas múltiplas funções, nomeadamente na histocompatibilidade e regulação imunitária, a investigação em torno do sistema HLA despertou o interesse de várias equipas de investigação possibilitando a descoberta de centenas de alelos nos diferentes genes.

ESTRUTURAS GENÉTICAS E PROTEICAS DO SISTEMA HLA DE CLASSE I & II

Os *loci* HLA estão localizados no braço curto do cromossomo 6 na banda 6p21.3 formando um complexo sistema de genes funcionalmente relacionados entre si (Figura 1) (BENDER, BISSBORT *et al.*, 1983). O sistema HLA é constituído por 224 genes, dos quais 128 são genes funcionais e 96 são pseudogenes.

Os genes funcionais do sistema HLA são os mais variáveis do genoma humano com

Figura 1 Mapa da região HLA (banda 6p21.3 do cromossomo 6). Os genes e pseudogenes não clássicos de classe I estão representados por retângulos não preenchidos.

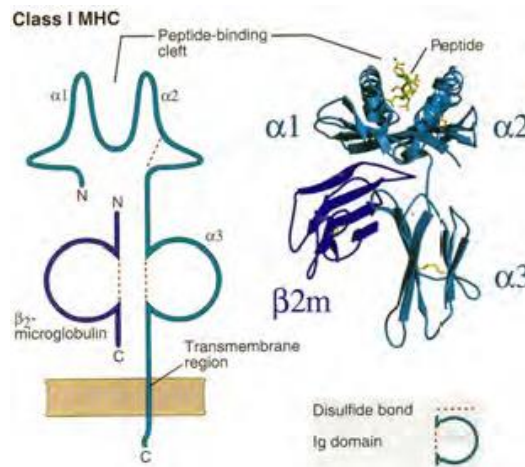


grande capacidade de expressão, sendo que 40% desempenham um importante papel em funções imunológicas (GARRIGAN e HEDRICK, 2003).

O sistema HLA está subdividido em três regiões: classe I, classe II e classe III, de acordo com a estrutura e função dos seus genes. Os genes que codificam as cadeias pesadas de HLA de classe I possuem uma estrutura característica, na qual os diferentes domínios da proteína são codificados por éxons separados. O peptídeo líder é codificado pelo éxon 1; os três domínios extracelulares (α_1 , α_2 e α_3) são codificados pelos éxons 2, 3 e 4, respectivamente; a porção transmembrânica é codificada pelo éxon 5; a cauda citoplasmática, pelos éxons 6 e 7; e a região não traduzida 3', pelo éxon 8.

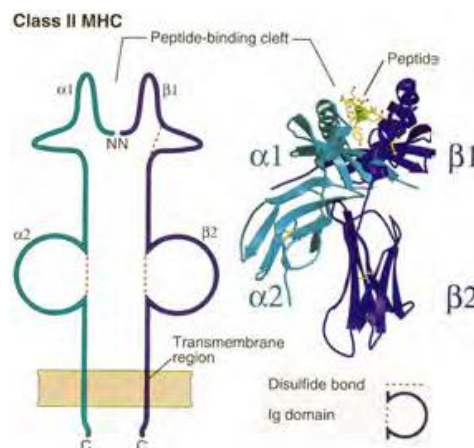
Os polimorfismos nos genes classe I localizam-se essencialmente nos éxons 2 e 3, os quais codificam as estruturas moleculares alfa 1 e alfa 2 do receptor membranar onde se localiza o sítio de ligação aos antígenos (Figura 2) (LEMONNIER, LE BOUTEILLER *et al.*, 1983).

Figura 2 Estrutura das moléculas HLA de classe I



A organização éxon-intron dos genes de classe II é semelhante a dos genes de classe I, na qual éxons diferentes codificam domínios distintos da proteína (LEE, TROWSDALE *et al.*, 1982). Os genes que codificam as cadeias α (genes A) e as cadeias β (genes B) possuem estrutura semelhante, com éxon 1 codificando o peptídeo líder e os éxons 2 e 3, os dois domínios extracelulares. Nos genes da cadeia β , o éxon 4 codifica a cauda citoplasmática. Ao contrário, nos genes de cadeia α , tanto a região transmembrânica quanto a cauda citoplasmática são codificados pelo éxon 4 (figura 3).

Figura 3 Estrutura das moléculas HLA de classe II



II

A região classe III do sistema HLA localiza-se entre os genes classe I e classe II e, apesar de não ser tão polimórfico como estes últimos, constituem o segmento do genoma humano com maior densidade de genes (XIE, ROWEN *et al.*, 2003). Os genes presentes na região de classe III não são, na sua maioria, relacionados entre si nem com os genes da classe I e II e não possuem um padrão comum de expressão. Estes genes possuem várias funções, destacando-se o seu papel na codificação de proteínas solúveis importantes na modulação e regulação da resposta imune (XIE, ROWEN *et al.*, 2003).

Os genes clássicos HLA-A, HLA-B, HLA-Cw (classe I), HLA-DRB1, HLA-DPB1 e HLA-DQB1 (classe II), co-dominantes, são os mais polimórficos e mais estudados do sistema HLA (MIZUKI e KIMURA, 1996). Por outro lado, os genes não clássicos, nomeadamente HLA-E, HLA-F e HLA-G (classe I), com funções ainda desconhecidas, possuem uma distribuição muito restrita, baixos níveis de expressão e são pouco polimórficos comparativamente aos genes clássicos, com os quais partilham uma estrutura similar (LE BOUTEILLER, 1997).

FUNÇÕES BIOLÓGICAS DO SISTEMA HLA

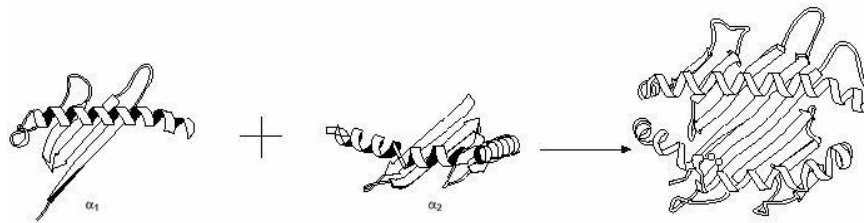
As moléculas do MHC ligam apenas um peptídeo de cada vez, e todos os peptídeos que se ligam a uma forma alélica específica da molécula do MHC compartilham padrões estruturais comuns. Os resíduos polimórficos das moléculas do MHC são localizados no domínio de ligação dos peptídeos (MAGALHÃES, BOHLKE *et al.*, 2004). Alguns resíduos de MHC polimórficos determinam as especificidades de ligação aos peptídeos pela formação de estruturas complementares que interagem com as regiões conservadas do peptídeo. Os resíduos polimórficos do MHC que não estão envolvidos na ligação peptídeo-molécula formam um determinante antigénico reconhecido pelas células T e isto é denominado de restrição MHC.

O processamento de proteínas exógenas por células apresentadoras de antígenos (APCs), consiste na introdução destas moléculas protéicas nas células e posterior degradação proteolítica, ligação dos peptídeos às moléculas recém-montadas do MHC e exposição dos complexos peptídeos – MHC à superfície das APCs para o

reconhecimento potencial pelas células T (MAGALHÃES, BOHLKE *et al.*, 2004).

Basicamente existem duas vias pelas quais o antígeno pode se ligar à molécula do MHC: pelo MHC de classe I para antígenos endógenos e pelo MHC de classe II para proteínas exógenas.

Figura 4 Estrutura quaternária da molécula de MHC. Observa-se como a partir dos domínios α_1 e α_2 se forma uma cavidade para albergar o peptídeo intramolecular. Farreras e Rozman, Medicina Interna 13ed.



EVOLUÇÃO E DIVERSIFICAÇÃO DO SISTEMA HLA

O sistema principal de histocompatibilidade, cujo correspondente humano é o sistema HLA, surgiu por meio de repetidas duplicações e conversões de genes ao longo de milhões de anos no decorrer da evolução dos vertebrados desde a divergência dos ciclóstomos (KASAHARA, HAYASHI *et al.*, 1996; KASAHARA, NAKAYA *et al.*, 1997). A análise do MHC de alguns vertebrados mostra diferenças notórias a nível de inclusão, ordem e sequências nucleotídicas nos genes, mas, por outro lado, revela a existência de uma estrutura comum principalmente entre os mamíferos (YUHKI, BECK *et al.*, 2003). Ao contrário do que sucede nos mamíferos, em outros vertebrados, como aves e peixes, os *loci* MHC nem sempre estão reunidos num único conjunto, dispersando-se no mesmo ou em cromossomos diferentes (MILLER, GOTO *et al.*, 1994; BINGULAC-POPOVIC, FIGUEROA *et al.*, 1997).

A grande quantidade de informação disponível relativamente à diversidade, estrutura e função dos genes do sistema HLA apresentam padrões de variação que mostram sinais evidentes de seleção. A frequência de homozigóticos em vários *loci* HLA é

significativamente inferior ao esperado em condições neutras em inúmeras populações humanas. Vários *loci* do sistema HLA submetidos ao teste de Ewens-Watterson têm rejeitado a neutralidade em inúmeras populações (TIERCY, SANCHEZ-MAZAS *et al.*, 1992; ELLIS, MACK *et al.*, 2000; RENQUIN, SANCHEZ-MAZAS *et al.*, 2001; CAO, MOORMANN *et al.*, 2004; PIANCATELLI, CANOSSO *et al.*, 2004). A variação nos *loci* HLA está essencialmente concentrada nas regiões envolvidas na codificação dos sítios de ligação aos antígenos dos receptores de membrana, situação que não é susceptível de ter sido originada a partir de uma evolução neutral (PARHAM, LOMEN *et al.*, 1988; HEDRICK, WHITTAM *et al.*, 1991; VALDES, MCWEENEY *et al.*, 1999). O acúmulo de substituições não-sinônimas nas regiões que codificam os sítios de ligação aos antígenos revela a atuação da seleção natural, privilegiando o aumento da variação que neste caso é funcionalmente relevante (NEI e GOJOBORI, 1986; HUGHES e NEI, 1988).

O provável mecanismo que parece ter maior participação na manutenção dos elevados níveis de polimorfismo encontrados nos genes do sistema HLA e que fazem deles os mais variáveis do genoma humano é a seleção oscilante, decorrente da ação de diferentes parasitas (HEDRICK e THOMSON, 1983; HEDRICK, 1998). A seleção oscilante refere-se a mecanismos de seleção natural que conduzem à manutenção de polimorfismos genéticos numa população, em oposição à seleção direcional que favorece um único alelo. Entre os diferentes mecanismos inerentes à seleção oscilante destacam-se como os mais estudados a "vantagem dos heterozigóticos" e a "seleção dependente da frequência". A "vantagem dos heterozigóticos" é baseada na idéia de que os heterozigóticos são capazes de reconhecer o dobro dos parasitas, um por cada alelo, apresentando uma vantagem adaptativa em relação aos homozigóticos (Spencer & Marks, 1988). A "seleção dependente da frequência" baseia-se no pressuposto de que os alelos mais raros possuem uma forte vantagem seletiva relativamente aos mais comuns para os quais os parasitas podem ter já desenvolvido resistência (BODMER, 1972).

NOMENCLATURA DO SISTEMA HLA

Devido a enorme diversidade genética do sistema HLA tornou-se necessário o

estabelecimento de regras definidas periodicamente em Workshops Internacionais de Histocompatibilidade (WSIH) sendo o primeiro organizado em 1964, em Durhan (USA) e nesta ocasião foi proposta a técnica de microlinfocitotoxicidade por Paul Terasaki, basicamente utilizada até hoje para exames realizados na transplantação de órgãos (TERASAKI e MCCLELLAND, 1964). A padronização da nomenclatura veio finalmente após o VI WISH, realizado na Dinamarca em 1975.

Um código de 4 dígitos que distingue os alelos que diferem as proteínas codificadas foi implementado pela primeira vez no Relatório de Nomenclatura em 1987 após o X WISH que ocorreu em Nova Iorque nesse mesmo ano. Desta forma foi possível acomodar os diferentes alelos, identificados por meio de métodos moleculares, que constituem cada grupo sorológico. A utilização de um asterisco depois da designação do locus permitiu distinguir a definição alélica por métodos moleculares da caracterização por métodos sorológicos. Em 1990 foi adicionado um quinto dígito para distinguir as sequências que diferem apenas por substituições nucleotídicas sinônimas (mutações silenciosas) (BODMER, MARSH *et al.*, 1991).

Em 2002 surgiu uma nova situação para os grupos alélicos HLA-A A*02 e HLA-B*15 que passaram a possuir mais do que 100 alelos descritos. Sendo assim, houve a necessidade de se realizar uma revisão na nomenclatura vigente para que esta contemplasse estes novos alelos. A decisão tomada foi criar famílias adicionais de alelos HLA-A*92 e HLA-B*95, respectivamente.

Com o advento da metodologia de sequenciamento automático de DNA, o número de alelos descritos aumentou vertiginosamente em todas as famílias de alelos, antecipando que este sistema de nomenclatura não seria capaz de contemplar todos os novos alelos descritos.

No XV WISH, que ocorreu no Brasil em 2008 foram criados grupos de discussão a cerca das modificações que se faziam necessárias. O novo sistema de nomenclatura HLA utiliza separadores (:) entre os números dos alelos que atuam como delimitadores de campo, possibilitando assim a designação de famílias de alelos contendo mais do que 100 diferentes proteínas descritas, como as famílias A*92 e B*95 previamente citadas.

O banco norte-americano de doadores de medula óssea se utiliza de códigos, designados como códigos NMDP, para identificar grupos de alelos e dessa maneira

facilitar a forma como esses resultados são reportados. Por exemplo, um resultado reportado como DRB1*01:AD significa que este código contempla os alelos DRB1*01:01 ou DRB1*01:04, mas não outros alelos. Esta codificação NMDP é atualmente utilizada pelos laboratórios, centros transplantadores e toda a rede de pessoal envolvida na busca de compatibilidade de doadores com o(a) receptor(a). A nova nomenclatura do sistema HLA está vigente desde abril de 2010.

TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA HLA

A evolução das técnicas utilizadas na identificação e caracterização das diferentes formas dos genes que compõem o sistema HLA constituiu um dos fatores cruciais no desenvolvimento dos conhecimentos nesta área. Os primeiros passos na descoberta do sistema HLA foram dados com recurso às técnicas de leuco-aglutinação com as quais foi possível definir vários antígenos codificados por este conjunto de genes (BERAH e DAUSSET, 1963). Até meados dos anos 80 do século XX as técnicas sorológicas constituíam a única forma de caracterizar a diversidade alélica do sistema HLA.

O teste linfocitotóxico foi amplamente divulgado na abordagem sorológica para identificação dos antígenos do sistema HLA, existindo atualmente múltiplas variações desta técnica base. O procedimento consiste na incubação de linfócitos T ou B com soro contendo anticorpos específicos para determinados antígenos do sistema HLA. Estes anticorpos, quando na presença de linfócitos T ou B contendo antígenos leucocitários, ligam-se às células e provocam, após adição de proteínas do sistema complemento, a lise celular permitindo que o corante vital penetre no interior da célula (SINNOTT, KIPPAX *et al.*, 1985; ZACHARY, KLINGMAN *et al.*, 1995) Devido a problemas de reação cruzada e indisponibilidade de certos anticorpos, muitos laboratórios adotaram técnicas de genética molecular para a caracterização do sistema HLA. No entanto, estes métodos sorológicos continuam a ser amplamente utilizados em testes de prova cruzada com o objetivo de identificar potenciais doadores para transplantes de órgãos e tecidos. Este procedimento é utilizado para evitar a ocorrência de rejeição aguda, pois alguns pacientes podem ter sido previamente sensibilizados contra determinados antígenos

HLA. Mesmo que os alelos do doador e do receptor sejam compatíveis, após determinadas situações, tais como: transfusões sanguíneas, transplante prévio ou ocorrência de gestação, o paciente pode desenvolver anticorpos contra alguns antígenos do doador levando a ocorrência episódios de rejeição após transplante (MOORE, PLOEGER *et al.*, 1997).

Com o advento da Reação em Cadeia da Polimerase ou PCR (do inglês *Polymerase Chain Reaction*) (SAIKI, SCHARF *et al.*, 1985; MULLIS e FALOONA, 1987), particularmente após a sua automatização, os métodos de caracterização alélica do sistema HLA tornaram-se mais precisos (HOWELL, EVANS *et al.*, 1989; OTA, SEKI *et al.*, 1992). Vários métodos foram desenvolvidos com base na RCP. No teste PCR-SSP (*Sequence Specific Priming*) a técnica de RCP é usada diretamente para identificar os alelos do sistema HLA utilizando oligonucleotídeos complementares a sequências polimórficas conhecidas (OLERUP e ZETTERQUIST, 1992; BUNCE, TAYLOR *et al.*, 1993; OLERUP e ZETTERQUIST, 1993). Após a reação é realizada uma separação eletroforética em gel de agarose para visualização de bandas específicas que caracterizam os diferentes antígenos HLA (WILLIAMS, MALLON *et al.*, 1997; WILLIAMS, MAWHINNEY *et al.*, 1997).

O método RCP-SSOP (*Sequence Specific Oligonucleotide Probes*) utiliza “primers” marcados e complementares a zonas conservadas para amplificar os éxons polimórficos dos loci HLA (éxons 2 e 3 nos genes HLA classe I e exon 2 nos genes classe II). O DNA amplificado e marcado é hibridizado às sondas oligonucleotídicas fixadas a uma superfície inerte e posteriormente marcado com um fluorocromo. As sondas complementares às zonas polimórficas do DNA amplificado produzem um padrão de hibridização, cuja análise permite identificar os alelos presentes do sistema HLA (MIDDLETON, WILLIAMS *et al.*, 2000). Esta técnica permite a caracterização do sistema HLA em baixa ou alta resolução conforme o painel de sondas utilizado e é adequada para grandes quantidades de amostras (WILLIAMS, MALLON *et al.*, 1997; WILLIAMS, MAWHINNEY *et al.*, 1997).

A caracterização alélica dos genes do sistema HLA por meio da sequenciamento nucleotídico (SBT- *Sequence Based Typing*) é o método molecular recomendado para a identificação direta de novos alelos (MCGINNIS, CONRAD *et al.*, 1995; WILLIAMS, MALLON *et al.*, 1997; WILLIAMS, MAWHINNEY *et al.*, 1997; KURZ, STEIERT *et al.*, 1999).

Esta técnica envolve a amplificação por PCR dos fragmentos contendo os éxons polimórficos a sequenciar.

OS GENES HLA NOS ESTUDOS POPULACIONAIS

Os alelos dos diferentes genes do sistema HLA são frequentemente transmitidos em bloco de geração em geração e certas combinações (haplotipos) são encontradas mais frequentemente do que o esperado pelas respectivas frequências alélicas. Este fenômeno conhecido como desequilíbrio de ligação resulta de uma localização fisicamente próxima dos *loci* envolvidos e do efeito das forças seletivas (HUTTLEY, SMITH *et al.*, 1999).

O extenso polimorfismo e o desequilíbrio de ligação existentes entre diferentes *loci* do sistema HLA são amplamente utilizados como marcadores genéticos em estudos antropológicos. As frequências alélicas e haplotípicas dos *loci* HLA variam entre as diferentes populações e grupos étnicos. Esta variabilidade nos genes HLA tem sido amplamente investigada em diferentes populações de forma a elucidar as suas origens e relações evolutivas (PIMTANOTHAI, HURLEY *et al.*, 2001; LUO, EMBREE *et al.*, 2002; AYED, AYED-JENDOUBI *et al.*, 2004; PIANCATELLI, CANOSSI *et al.*, 2004). Foram identificados inúmeros haplotipos do sistema HLA cuja distribuição geográfica coincide com a existência de relações passadas entre as populações (GOMEZ-CASADO, DEL MORAL *et al.*, 2000; ARNAIZ-VILLENA, MARTINEZ-LASO *et al.*, 2001; SANCHEZ-VELASCO, GOMEZ-CASADO *et al.*, 2003).

As frequências alélicas nos genes do sistema HLA demonstram serem mais similares entre populações com origens comuns. Determinados alelos são mesmo característicos de algumas populações humanas com determinadas origens geográficas (MIDDLETON, WILLIAMS *et al.*, 2000). Desta forma, estas frequências e a presença ou ausência de determinados alelos específicos permitem inferir sobre a origem e relações passadas das populações. Exemplificando, frequências elevadas do alelo HLA-A*02:01 (acima de 20%) é uma característica muito comum nas populações do Oeste Euro-asiático enquanto que as populações da África subsaariana apresentam outros alelos mais

frequentes como o A*23:01 e A*30:01 (CAO, MOORMANN *et al.*, 2004; VALLURI, MUSTAFA *et al.*, 2005). O alelo A*02:01 corresponde a mais de 95% dos alelos do grupo A*02 em populações europeias enquanto que nos chineses de Singapura corresponde apenas a 25% e menos de 3% em hindus indianos (TIERCY, SANCHEZ-MAZAS *et al.*, 1992). O A*02:11, raro em outras populações mundiais, é o alelo mais frequente no norte e oeste da Índia (SHANKARKUMAR, PRASANAVAR *et al.*, 2003).

As populações europeias apresentam no grupo A*68 o alelo A*68:01 como o mais predominante enquanto que nas populações subsaarianas o A*68:02 é o mais prevalente (CAO, MOORMANN *et al.*, 2004; VALLURI, MUSTAFA *et al.*, 2005). Também os alelos A*30:01 e A*30:02 apresentam frequências muito mais elevadas nas populações africanas do que nas europeias (CAO, MOORMANN *et al.*, 2004; VALLURI, MUSTAFA *et al.*, 2005). O alelo A*02:06 aparece com frequências elevadas apenas em populações asiáticas e ameríndias, podendo aparecer em quantidades residuais noutras populações por influência das primeiras (VALLURI, MUSTAFA *et al.*, 2005). Os alelos A*11:01, A*24:02 e A*33:03 aparecem nos asiáticos com frequências significativamente mais elevadas do que em outras populações. Por outro lado, os alelos B*08:01 e B*44:02 aparecem nos caucasianos com frequências muito mais elevadas do que noutras populações (CAO, HOLLENBACH *et al.*, 2001).

Entre os caucasianos o alelo DRB1*04:01 é o mais frequente do seu grupo enquanto que nas populações asiáticas o mais prevalente é o DRB1*04:05 (JAINI, KAUR *et al.*, 2002). Alguns alelos são considerados específicos do continente africano (p.ex. A*02:02, A*02:25, B*15:03, B*15:16, B*27:03, B*42:02 e B*57:03) e a sua presença em populações de outras origens reflete misturas ocorridas no passado (CAO, MOORMANN *et al.*, 2004).

O grupo HLA-B*27 constitui mais um exemplo das diferenças na distribuição alélica entre populações. O B*27:05 é o alelo que possui uma distribuição mais ampla no globo apresentando frequências mais elevadas nas regiões circumpolar e sub-ártica da Eurásia e América do Norte. O B*27:02 possui distribuição restrita às populações caucasianas, sendo particularmente predominante em algumas populações caucasianas do Médio Oriente (Judeus) e do Norte de África. O B*27:03 é o alelo deste grupo que predomina nas populações subsaarianas e o B*27:04 o mais frequente nas populações

asiáticas (BLANCO-GELAZ, LOPEZ-VAZQUEZ *et al.*, 2001; BIRINCI, BILGICI *et al.*, 2006).

As frequências haplotípicas do sistema HLA, associadas às frequências alélicas, permitem identificar a influência genética nas populações humanas das migrações e contatos existentes entre elas ao longo do período histórico e mesmo pré-históricos. Por exemplo, os haplótipos A*01:01:01-B*08:01-DRB1*03:01:01 e A*29:02-B*4403-DRB1*0701 são de origem européia, considerando-se o primeiro de influência celta (MURO, MARIN *et al.*, 2001). O haplótipo A*02:01:01-B*44:03:01-DRB1*07:01:01 é encontrado nas populações do Norte e Oeste Europeu (SANCHEZ-VELASCO, GOMEZ-CASADO *et al.*, 2003). Já os haplótipos A*33:01-B*14:02-DRB1*01:02:01 e A*02:01:01-B*18:01:01-DRB1*11:04 são considerados de origem mediterrânica (GOMEZ-CASADO, DEL MORAL *et al.*, 2000). O haplótipo A*02:01:01-B*07:02:01-DRB1*15:01:01 tem sido encontrado em populações européias e norte africanas e os haplótipos A*02:01:01-B*51:01:01-DRB1*13:01:01, A*01:01:01-B*58:01-DRB1*07:01:01 e A*30:02-B*18:01:01-DRB1*03:01:01 têm sido apontados como de origem ibérica e berbere (GOMEZ-CASADO, DEL MORAL *et al.*, 2000; SANCHEZ-VELASCO, GOMEZ-CASADO *et al.*, 2003).

A população brasileira apresenta grande mistura racial que originou-se, principalmente, de caucasóides de origem européia, africanos e índios. O maior grupo populacional do Brasil é compreendido pelos mestiços, originários da miscigenação ocorrida entre as diferentes raças. Devido a diferenças no grau e padrão de miscigenação, a composição da população pode variar consideravelmente de uma região para outra, ocorrendo grande variabilidade dos "subtipos" de mestiços (MORAES, FERNANDEZ-VINA *et al.*, 1993).

CONCLUSÃO

Muitos estudos demonstram estatísticas, frequências entre e HLA de classe I e II, e moléculas para uma variedade de complexos. O principal trabalho que temos pela frente é proporcionar conclusivos dados genéticos e funcionais para suportar um papel para HLA, além de permitir a compreensão da distribuição dos antígenos HLA na população.

O presente artigo tenta mostrar o assunto em função de sua alta complexidade e conteúdo extenso, o que propicia uma visão geral do Sistema HLA e de suas implicações atuais e futuras no reconhecimento e prognóstico de um número crescente de variações de alelos. A publicação de revisões auxilia nas atualizações dos profissionais da saúde, aprimorando o conhecimento e otimizando os esforços terapêuticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNAIZ-VILLENA, A.; MARTINEZ-LASO, J.; ALONSO-GARCIA, J. The correlation between languages and genes: the Usko-Mediterranean peoples. **Hum Immunol**, v. 62, n. 9, p. 1051-61, Sep 2001.

AYED, K. et al. HLA class-I and HLA class-II phenotypic, gene and haplotypic frequencies in Tunisians by using molecular typing data. **Tissue Antigens**, v. 64, n. 4, p. 520-32, Oct 2004.

BACH, F.; HIRSCHHORN, K. LYMPHOCYTE INTERACTION: A POTENTIAL HISTOCOMPATIBILITY TEST IN VITRO. **Science**, v. 143, p. 813-4, Feb 21 1964.

BAIN, B.; VAS, M. R.; LOWENSTEIN, L. The Development of Large Immature Mononuclear Cells in Mixed Leukocyte Cultures. **Blood**, v. 23, n. 1, p. 108-116, January 1, 1964 1964.

BENDER, K. et al. On regional mapping of human chromosome 6. Review and own findings. **Acta Anthropogenet**, v. 7, n. 2, p. 85-105, 1983.

BERAH, M.; DAUSSET, J. The Use of the Inverted Microscope in Leuco -Agglutination. **Vox Sanguinis**, v. 8, n. 3, p. 371-375, 1963.

BINGULAC-POPOVIC, J. et al. Mapping of class I and class II regions to different linkage groups in the zebrafish, *Danio*. **Immunogenetics**, v. 46, n. 2, p. 129-134, 1997.

BIRINCI, A. et al. HLA-B27 polymorphism in Turkish patients with ankylosing spondylitis. **Rheumatology International**, v. 26, n. 4, p. 285-287, 2006.

BJORKMAN, P. J. et al. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. **Nature**, v. 329, n. 6139, p. 506-512, 1987.

BLANCO-GELAZ, M. A. et al. Genetic variability, molecular evolution, and geographic diversity of HLA-B27. **Hum Immunol**, v. 62, n. 9, p. 1042-50, Sep 2001.

BODMER, J. G. et al. NOMENCLATURE FOR FACTORS OF THE HLA SYSTEM, 1990. **International Journal of Immunogenetics**, v. 18, n. 4, p. 265-277, 1991.

BODMER, W. F. Evolutionary significance of the HL-A system. **Nature**, v. 237, n. 5351, p. 139-45 passim, May 19 1972.

BROWN, J. H. et al. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. **Nature**, v. 364, n. 6432, p. 33-9, Jul 1 1993.

BUNCE, M.; TAYLOR, C. J.; WELSH, K. I. Rapid HLA-DQB typing by eight polymerase chain reaction amplifications with sequence-specific primers (PCR-SSP). **Hum Immunol**, v. 37, n. 4, p. 201-6, Aug 1993.

CAO, K. et al. Analysis of the frequencies of HLA-A, B, and C alleles and haplotypes in the five major ethnic groups of the United States reveals high levels of diversity in these *loci* and contrasting distribution patterns in these populations. **Hum Immunol**, v. 62, n. 9, p. 1009-30, Sep 2001.

CAO, K. et al. Differentiation between African populations is evidenced by the diversity of alleles and haplotypes of HLA class I *loci*. **Tissue Antigens**, v. 63, n. 4, p. 293-325, Apr 2004.

DAUSSET, J. Iso-Leuko-Antibodies*. **Vox Sanguinis**, v. 3, n. 1, p. 40-41, 1958.

ELLIS, J. M. et al. Diversity is demonstrated in class I HLA-A and HLA-B alleles in Cameroon, Africa: description of HLA-A*03012, *2612, *3006 and HLA-B*1403, *4016, *4703. **Tissue Antigens**, v. 56, n. 4, p. 291-302, Oct 2000.

GARRIGAN, D.; HEDRICK, P. W. Perspective: detecting adaptive molecular polymorphism: lessons from the MHC. **Evolution**, v. 57, n. 8, p. 1707-22, Aug 2003.

GOMEZ-CASADO, E. et al. HLA genes in Arabic-speaking Moroccans: close relatedness to Berbers and Iberians. **Tissue Antigens**, v. 55, n. 3, p. 239-49, Mar 2000.

GORER, P. A. The genetic and antigenic basis of tumour transplantation. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 44, n. 3, p. 691-697, 1937.

HEDRICK, P. W. Balancing selection and MHC. **Genetica**, v. 104, n. 3, p. 207-14, 1998.

HEDRICK, P. W.; THOMSON, G. Evidence for balancing selection at HLA. **Genetics**, v. 104, n. 3, p. 449-56, Jul 1983.

HEDRICK, P. W.; WHITTAM, T. S.; PARHAM, P. Heterozygosity at individual amino acid sites: extremely high levels for HLA-A and -B genes. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 88, n. 13, p. 5897-901, Jul 1 1991.

HORA, A. S.; SANTOS, L. C. S.; MENEZES, E. P. Frequência alélica de antígenos HLA classe I e II no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 34(supl.1), p. 15, 2012.

HOWELL, W. M. et al. A comparison of serological, cellular and DNA-RFLP methods for HLA matching in the selection of related bone marrow donors. **Bone Marrow Transplant**, v. 4, n. 1, p. 63-8, Jan 1989.

HUGHES, A. L.; NEI, M. Pattern of nucleotide substitution at major histocompatibility complex class I loci reveals overdominant selection. **Nature**, v. 335, n. 6186, p. 167-70, Sep 8 1988.

HUTTLEY, G. A. et al. A scan for linkage disequilibrium across the human genome. **Genetics**, v. 152, n. 4, p. 1711-22, Aug 1999.

JAINI, R.; KAUR, G.; MEHRA, N. K. Heterogeneity of HLA-DRB1*04 and its associated haplotypes in the North Indian population. **Hum Immunol**, v. 63, n. 1, p. 24-9, Jan 2002.

KASAHARA, M. et al. Chromosomal localization of the proteasome Z subunit gene reveals an ancient chromosomal duplication involving the major histocompatibility complex. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 17, p. 9096-9101, August 20, 1996 1996.

KASAHARA, M. et al. Chromosomal duplication and the emergence of the adaptive immune system. **Trends Genet**, v. 13, n. 3, p. 90-2, Mar 1997.

KURZ, B. et al. New high resolution typing strategy for HLA-A locus alleles based on dye terminator sequencing of haplotypic group-specific PCR-amplicons of exon 2 and exon 3. **Tissue Antigens**, v. 53, n. 1, p. 81-96, 1999.

LE BOUTEILLER, P. HLA-G: on the track of immunological functions. **Eur J Immunogenet**, v. 24, n. 5, p. 397-408, Oct 1997.

LEE, J. S. et al. Sequence of an HLA-DR alpha-chain cDNA clone and intron-exon organization of the corresponding gene. **Nature**, v. 299, n. 5885, p. 750-2, Oct 21 1982.

LEMONNIER, F. A. et al. Transformation of murine LMTK- cells with purified HLA class I genes. I. Modification of conformation of murine beta 2-microglobulin upon its association with HLA heavy chains. **J Immunol**, v. 130, n. 3, p. 1432-8, Mar 1983.

LUO, M. et al. HLA-A and HLA-B in Kenya, Africa: allele frequencies and identification of HLA-B*1567 and HLA-B*4426. **Tissue Antigens**, v. 59, n. 5, p. 370-80, May 2002.

MAGALHÃES, P. S. C. D.; BOHLKE, M.; NEUBARTH, F. Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC): codificação genética, bases estruturais e implicações clínicas. **Rev. Med. UCPEL**, v. 2, n. 1, p. 54-59, 2004.

MCGINNIS, M. D. et al. Automated, solid-phase sequencing of DRB region genes using T7 sequencing chemistry and dye-labeled primers. **Tissue Antigens**, v. 46, n. 3, p. 173-179, 1995.

MIDDLETON, D. et al. Frequency of HLA-B alleles in a Caucosoid population determined by a two-stage PCR-SSOP typing strategy. **Hum Immunol**, v. 61, n. 12, p. 1285-97, Dec 2000.

MILLER, M. M. et al. Two Mhc class I and two Mhc class II genes map to the chicken Rfp-Y system outside the B complex. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 10, p. 4397-4401, May 10, 1994 1994.

MIZUKI, N.; KIMURA, M. [Gene structure of the human MHC region]. **Nihon Rinsho**, v. 54, n. 6, p. 1705-17, Jun 1996.

MOORE, S. B.; PLOEGER, N. A.; DEGOEY, S. R. HLA antibody screening: comparison of a solid phase enzyme-linked immunoassay with antiglobulin-augmented lymphocytotoxicity. **Transplantation**, v. 64, n. 11, p. 1617-20, Dec 15 1997.

MORAES, M. E. et al. HLA class II DNA typing in two Brazilian populations. **Tissue Antigens**, v. 41, n. 5, p. 238-42, May 1993.

MULLIS, K. B.; FALOONA, F. A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods Enzymol**, v. 155, p. 335-50, 1987.

MURO, M. et al. HLA polymorphism in the Murcia population (Spain): in the cradle of the archaeological Iberians. **Hum Immunol**, v. 62, n. 9, p. 910-21, Sep 2001.

NEI, M.; GOJOBORI, T. Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions. **Mol Biol Evol**, v. 3, n. 5, p. 418-26, Sep 1986.

OLERUP, O.; ZETTERQUIST, H. DR "low-resolution" PCR-SSP typing--a correction and an up-date. **Tissue Antigens**, v. 41, n. 1, p. 55-6, Jan 1993.

OLERUP, O.; ZETTERQUIST, H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. **Tissue Antigens**, v. 39, n. 5, p. 225-35, May 1992.

OTA, M. et al. HLA-DRB1 genotyping by modified PCR-RFLP method combined with group-specific primers. **Tissue Antigens**, v. 39, n. 4, p. 187-202, Apr 1992.

PARHAM, P. et al. Nature of polymorphism in HLA-A, -B, and -C molecules. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 85, n. 11, p. 4005-9, Jun 1988.

PIANCATELLI, D. et al. Human leukocyte antigen-A, -B, and -Cw polymorphism in a Berber population from North Morocco using sequence-based typing. **Tissue Antigens**, v. 63, n. 2, p. 158-72, Feb 2004.

PIMTANOTHAI, N. et al. HLA-DR and -DQ polymorphism in Cameroon. **Tissue Antigens**, v. 58, n. 1, p. 1-8, Jul 2001.

PINHO, O. D. A. O efeito do sexo: políticas de raça, gênero e miscigenação. **Cadernos Pagu**, p. 89-119, 2004.

RENQUIN, J. et al. HLA class II polymorphism in Aka Pygmies and Bantu Congolese and a reassessment of HLA-DRB1 African diversity. **Tissue Antigens**, v. 58, n. 4, p. 211-22, Oct 2001.

SAIKI, R. K. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, v. 230, n. 4732, p. 1350-4, Dec 20 1985.

SANCHEZ-VELASCO, P. et al. HLA alleles in isolated populations from North Spain: origin of the Basques and the ancient Iberians. **Tissue Antigens**, v. 61, n. 5, p. 384-92, May 2003.

SHANKARKUMAR, U. et al. HLA A*02 allele frequencies and B haplotype associations in Western Indians. **Hum Immunol**, v. 64, n. 5, p. 562-6, May 2003.

SHEVACH, E. M.; PAUL, W. E.; GREEN, I. Histocompatibility-linked immune response gene function in guinea pigs. Specific inhibition of antigen-induced lymphocyte proliferation by alloantisera. **J Exp Med**, v. 136, n. 5, p. 1207-21, Nov 1 1972.

SIEGLER, M.; AMIEL, S.; LANTOS, J. Scientific and ethical consequences of disease prediction. **Diabetologia**, v. 35 Suppl 2, p. S60-8, Dec 1992.

SINNOTT, P. J. et al. A simple and rapid method for the detection of lymphocytotoxic antibodies using cell panels frozen on Terasaki plates. **Tissue Antigens**, v. 26, n. 5, p. 318-22, Nov 1985.

TERASAKI, P. I.; MCCLELLAND, J. D. MICRODROPLET ASSAY OF HUMAN SERUM CYTOTOXINS. **Nature**, v. 204, p. 998-1000, Dec 5 1964.

TIERCY, J. M. et al. HLA-DR polymorphism in a Senegalese Mandenka population: DNA oligotyping and population genetics of DRB1 specificities. **Am J Hum Genet**, v. 51, n. 3, p. 592-608, Sep 1992.

TOSI, R. et al. Immunological dissection of human Ia molecules. **J Exp Med**, v. 148, n. 6, p. 1592-611, Dec 1 1978.

VALDES, A. M. et al. Locus and population specific evolution in HLA class II genes. **Ann Hum Genet**, v. 63, n. Pt 1, p. 27-43, Jan 1999.

VALLURI, V. et al. Frequencies of HLA-A, HLA-B, HLA-DR, and HLA-DQ phenotypes in the United Arab Emirates population. **Tissue Antigens**, v. 66, n. 2, p. 107-13, Aug 2005.

VAN ROOD, J. J.; VAN LEEUWEN, A. LEUKOCYTE GROUPING. A METHOD AND ITS APPLICATION. **J Clin Invest**, v. 42, p. 1382-90, Sep 1963.

WILLIAMS, F.; MALLON, E.; MIDDLETON, D. Development of PCR-SSOP for HLA-A typing of bone marrow registry donors. **Tissue Antigens**, v. 49, n. 1, p. 61-6, Jan 1997.

WILLIAMS, F.; MAWHINNEY, H.; MIDDLETON, D. Application of an HLA-B PCR-SSOP typing method to a bone marrow donor registry. **Bone Marrow Transplant**, v. 19, n. 3, p. 205-8, Feb 1997.

XIE, T. et al. Analysis of the gene-dense major histocompatibility complex class III region and its comparison to mouse. **Genome Res**, v. 13, n. 12, p. 2621-36, Dec 2003.

YUHKI, N. et al. Comparative genome organization of human, murine, and feline MHC class II region. **Genome Res**, v. 13, n. 6A, p. 1169-79, Jun 2003.

YUNIS, E. J.; AMOS, D. B. Three closely linked genetic systems relevant to transplantation. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 68, n. 12, p. 3031-5, Dec 1971.

ZACHARY, A. A. et al. Variations of the lymphocytotoxicity test. An evaluation of sensitivity and specificity. **Transplantation**, v. 60, n. 5, p. 498-503, Sep 15 1995.