

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA

ANÁLISE DAS ASSOCIAÇÕES ENTRE OS ALELOS HLA DRB1*1501 E DQB1*0602 E
A ESCLEROSE MÚLTIPLA: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

THYAGO PEDROSA MAGALHÃES

DISERTAÇÃO DE MESTRADO

Goiânia
2015

THYAGO PEDROSA MAGALHÃES

ANÁLISE DAS ASSOCIAÇÕES ENTRE OS ALELOS HLA DRB1*1501 E DQB1*0602 E
A ESCLEROSE MÚLTIPLA: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Genética.

Orientadora: Prof^ª Dra. Vera Aparecida Saddi

Goiânia
2015

Dados Internacionais de Catalogação da Publicação (CIP)
(Sistema de Bibliotecas PUC Goiás)

M188a

Magalhães, Thyago Pedrosa.
Análise das associações entre os alelos HLA DRB1*1501
e DQB1*0602 e a esclerose múltipla [manuscrito] : revisão
sistemática e meta-análise / Thyago Pedrosa Magalhães –
Goiânia, 2015.
68 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica
de Goiás, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em
Genética.

“Orientadora: Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi”.
Bibliografia.

1. Esclerose múltipla. 2. Genética. I. Título.

CDU 616.8(043)

ATA COMPLEMENTAR Nº 99/20145

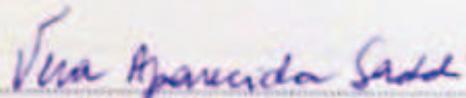
MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

DISCENTE: THYAGO PEDROSA MAGALHÃES

DEFENDIDA EM 10 DE MARÇO DE 2015 E aprovado COM CONCEITO A

O título foi alterado não () sim _____

BANCA EXAMINADORA



Prof.a Dra. Vera Aparecida Saddi
(presidente-orientador)



Prof. Dr. Wilson de Melo Cruvinel / PUC Goiás
(membro interno)



Prof.a Dra. Denise Sisternalli Diniz / UFG
(membro externo)

Dedico esta dissertação a minha esposa, família e minha orientadora, pois sem o apoio, incentivo, companheirismo e amizade deles nada disso seria possível.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por me amparar e iluminar nos momentos difíceis que passei ao longo desses dois anos de estudo.

À minha esposa Arianne, que sempre me apoiou em todas as fases do projeto e me incentivou a continuar mesmo com as inúmeras ausências e horas infindáveis em frente ao computador.

Agradeço aos meus pais, irmãos, tios e minha avó, que mesmo estando longe sempre me incentivaram a nunca desistir e sempre tiveram grande amor e dedicação comigo.

Agradeço a Prof.^a Dra. Vera Aparecida Saddi de todo o meu coração, não apenas por ter me orientado, mas acima de tudo, por não ter me permitido desistir.

A todos os meus colegas de trabalho e do mestrado, pelo apoio e cumplicidade neste período de estudo.

Aos funcionários e professores do Programa de Mestrado em Genética, por todo o suporte e ajuda prestada durante o curso.

À PUC-GO pela estrutura e condições propiciadas para o desenvolvimento desta dissertação.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Prevalência da Esclerose Múltipla em diferentes regiões geográficas	pg. 17
Figura 2. Fotomicrografia mostrando a atividade desmielinizante aguda na Esclerose Múltipla	pg. 21
Figura 3. Formas clínicas da Esclerose Múltipla.....	pg. 25
Figura 4. Ressonância Nuclear Magnética do crânio demonstrando lesões hiperatenuantes periventriculares e subcorticais típicas de Esclerose Múltipla.....	pg. 29
Figura 5. Localização e organização gênica do sistema HLA no cromossomo 6.....	pg. 32
Figura 6. Estrutura do HLA Classe I e II.....	pg. 34
Figura 7. Fluxograma da pesquisa de artigos científicos nas bases de dados disponíveis..	pg. 42
Figura 8. Gráfico <i>Forest plot</i> para a meta-análise que avaliou a associação entre a presença do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo	pg. 52
Figura 9. Gráfico <i>Forest plot</i> para a meta-análise que avaliou a associação entre a presença do alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo	pg. 54

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Critérios diagnósticos de McDonald para Esclerose Múltipla	pg. 27
Quadro 2. Critérios de McDonald, revisados em 2010, para demonstração da disseminação da Esclerose Múltipla no espaço.....	pg. 28
Quadro 3. Critérios de McDonald, revisados em 2010, para demonstração da disseminação da Esclerose Múltipla no tempo.....	pg. 29
Quadro 4. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise.....	pg. 45
Quadro 5. Estudos que avaliaram a frequência do alelo DRB1*1501 em pacientes com Esclerose Múltipla e controles.....	pg. 46
Quadro 6. Estudos que avaliaram a frequência do alelo DQB1*0602 em pacientes com Esclerose Múltipla e controles.....	pg. 47
Quadro 7. Estudos que avaliaram a associação entre o alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diferentes populações do mundo.....	pg. 48
Quadro 8. Estudos que avaliaram a associação entre o alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diferentes populações do mundo.....	pg. 50
Quadro 9. Estudos incluídos na meta-análise que avaliaram a associação entre a presença do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo	pg. 52
Quadro 10. Estudos incluídos na meta-análise que avaliaram a associação entre a presença do alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo	pg. 54

LISTA DE ABREVIATURAS

ABEM - Associação Brasileira de Esclerose Múltipla

BOC - Bandas Oligoclonais

CIS - Do inglês: *Clinical Isolated Syndrome*

DIS - Do inglês: *Dissemination in Space*

DIT - Do inglês: *Dissemination in Time*

DNA – Do inglês: *Deoxyribonucleic Acid*

EAE – Encefalomielite Autoimune Experimental

EM - Esclerose Múltipla

EM-PP - Esclerose Múltipla Forma Primariamente Progressiva

EM-PS – Esclerose Múltipla Forma Progressiva com Surtos

EM-RR - Esclerose Múltipla Forma Remitente Recorrente

EM-SP - Esclerose Múltipla Forma Secundariamente Progressiva

EUA - Estados Unidos da América

HLA - Do inglês: *Human Leucocyte Antigen*

IFN β - Do inglês: *Interferon Beta*

IFN β 1a – Do inglês: *Interferon Beta 1a*

IFN β 1b – Do inglês: *Interferon Beta 1b*

IgG - Imunoglobulina G

IM– Intramuscular

IL1 – Do inglês: *Interleukin 1*

kDa - Kilodalton

LCR - Líquido Cefalorraquidiano

MHC – Do inglês: *Major Histocompatibility Complex*

MOG – Do inglês: *Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein*

MPB – Do inglês: *Myelin Protein Basic*

NI – Não Informado

PCR – Do inglês: *Polymerase Chain Reaction*

PLP - Do inglês: *Protelipid*

RNM - Ressonância Nuclear Magnética

SC - Subcutâneo

SNC - Sistema Nervoso Central

SNP – Sistema Nervoso Periférico

TNFa – Do inglês: *Tumor Necrosis Factor Alfa*

RESUMO

A Esclerose Múltipla é uma doença inflamatória crônica do sistema nervoso central, caracterizada por desmielinização e degeneração neuronal, sendo uma importante causa de incapacidade em jovens. Decorre de uma resposta autoimune contra autoantígenos neuronais, com destruição da bainha de mielina em indivíduos com predisposição genética, expostos a determinados fatores ambientais. Dentre os fatores genéticos, estudos apontam para uma interação complexa de alelos do Antígeno Leucocitário Humano (HLA-DRB1*1501 e DQB1*0602), e o risco de desenvolver a doença. O alelo DRB1*1501 foi associado à doença em pacientes caucasianos na América do Norte e Norte da Europa e o alelo DQB1*0602 em caucasianos da Norte da Europa e afrodescentes. O objetivo do estudo foi realizar uma revisão sistemática e meta-análise sobre os estudos que investigaram a contribuição dos alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 no risco de desenvolver EM nas diversas populações do mundo. Uma revisão sistemática e uma meta-análise foram realizadas acerca das principais publicações encontradas na base de dados eletrônicas do PUBMED utilizando os termos “HLA” “MULTIPLE SCLEROSIS”, “DR” “DQ” e “HLA” “MULTIPLE SCLEROSIS” e “BRAZIL”, resultando em um total de 181 artigos. Após a leitura dos artigos, 18 preencheram os critérios de inclusão e foram selecionados para a revisão. Com base nos resultados obtidos dos artigos foi possível concluir que os dois alelos avaliados são mais frequentes em pacientes com Esclerose Múltipla do que em controles, sendo o alelo DRB1*1501 mais comum nas populações europeias e caucasianas e o alelo DQB1*0602 com uma distribuição mais heterogênea nas populações. Os resultados obtidos pela meta-análise demonstraram associações estatisticamente significativas entre os alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla, (OR combinada DRB1*1501= 2,934, 95% IC: 2,154 – 3,998, $p < 0,0001$ e OR combinada DQB1*0602 = 2,906, 95% IC: 2,167 – 3,896, $p < 0,0001$).

Palavras Chaves: HLA, Esclerose Múltipla, DRB1*1501, DQB1*0602

ABSTRACT

Multiple sclerosis is a chronic inflammatory disease of the central nervous system, characterized by demyelination and neuronal degeneration, a major cause of disability in young. Subjects an autoimmune response against neuronal auto antigen, with destruction of the myelin sheath, is observed in individuals with genetic predisposition exposed to certain environmental factors. Among the genetic factors, studies suggest a complex interaction between the alleles of the human leukocyte antigen (HLA-DRB1*1501 and DQB1*0602) and the risk of developing the disease. The allele DRB1 * 1501 was associated with the disease in Caucasian patients in North America and Northern Europe, and the DQB1*0602 allele in Caucasians of Northern Europe and African descendant. The aim of this study was to conduct a systematic review and a meta-analysis of studies that investigated the contribution of DRB1*1501 and DQB1*0602 in the risk of developing MS in different populations of the world. A systematic review and meta-analysis were performed on the main publications in the electronic database of PubMed, by using the terms "HLA" "MULTIPLE SCLEROSIS", "DR" "DQ" and "HLA" "MULTIPLE SCLEROSIS" and "BRAZIL "resulting in a total of 181 articles. After reading the articles, 18 met the inclusion criteria and were selected for review. Based on the results it was possible to conclude that the two alleles are more common in MS patients than in controls, with the allele DRB1*1501 more frequent in European and Caucasian populations and the DQB1 * 0602 with a distribution more heterogeneous in populations. The results obtained by the meta-analysis showed a statistically significant association between DRB1 * 1501 and DQB1 * 0602 allele and the risk of developing multiple sclerosis (OR combined DRB1 * 1501 = 2.934, 95% CI: 2.154 to 3.998, p <0, 0001 and DQB1 * 0602 combined OR = 2.906, 95% CI: 2.167 to 3.896, p <0.0001).

Key words: HLA, Multiple Sclerosis, DRB1 * 1501, DQB1 * 0602

SUMÁRIO

1. Introdução	12
1.1 Histórico	14
1.2 Definição	16
1.3 Epidemiologia	16
1.4 Fatores de Risco Ambientais	18
1.5 Fatores de Risco Genéticos	19
1.6 Patogenia da Esclerose Múltipla	21
1.7 Clínica	24
1.8 Critérios Diagnósticos	26
1.9 Tratamento	30
2. O Sistema HLA	31
2.1 Introdução	31
2.2 Localização Gênica	31
2.3 Classificação do Sistema HLA	32
2.4 Estrutura e Função	33
2.4.1 HLA classe I	33
2.4.2 HLA classe II	34
2.5 Nomenclatura do Sistema HLA	35
2.6 Polimorfismos dos genes HLA	35
2.7 Polimorfismos genéticos do HLA e a Esclerose Múltipla – revisão sistemática e meta-análise	36
3. Objetivos	39
3.1 Objetivo Geral	39
3.2 Objetivos Específicos	39
4. Metodologia	40
5. Resultados	44
6. Discussão	55
7. Conclusão	60
8. Referências Bibliográficas	61

1 INTRODUÇÃO

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença inflamatória crônica do sistema nervoso central, caracterizada por inflamação, desmielinização e degeneração neuronal, sendo considerada uma importante causa de incapacidade permanente em adultos jovens (BETTENCOURT et al, 2012). É considerada uma desordem predominantemente imunológica, decorrente de resposta imune aberrante, mediada pelas células T, contra autoantígenos, levando à destruição da bainha de mielina em indivíduos com predisposição genética (TILBERY, 2005).

A doença é comum na população jovem, aparecendo por volta dos 20 a 40 anos de idade, embora possa ocorrer mais raramente em crianças e adulto velhos. Apresenta incidência duas vezes maior nas mulheres quando comparada aos homens (KAIMEN-MACIEL et al, 2009).

Estudos epidemiológicos demonstram existir aproximadamente 2,5 milhões de pessoas com a doença no mundo, sendo que no Brasil, dados da Associação Brasileira de Esclerose Múltipla (ABEM) registram cerca de 30 mil casos no país (MACHADO et al, 2012).

A EM apresenta um curso clínico variável, vez que aproximadamente 85% dos pacientes apresentam a forma remitente-recorrente (EM-RR), caracterizada por ataques súbitos de déficits neurológicos com duração de dias e recuperação total ou parcial. Cerca de 10-15% apresentam a forma primariamente progressiva (EM-PP), caracterizada por déficits neurológicos de evolução progressiva desde o início da doença. Até 40% dos pacientes podem evoluir da forma remitente-recorrente para a forma progressiva (BETTENCOURT et al, 2012).

Em todas as suas formas, o curso clínico da EM evolui ao longo de décadas, com importante comprometimento da qualidade de vida do paciente e redução na expectativa de vida em até 10-15 anos. A principal causa de morte nos pacientes é o quadro infeccioso (infecções urinárias, pneumonia), bastante comum quando já instalada a incapacidade neurológica avançada (COMPSTON; COLES, 2008).

A etiologia da EM ainda encontra-se sob investigação, sendo considerada uma doença multifatorial, que desenvolve em indivíduos geneticamente suscetíveis, quando são expostos a fatores ambientais que funcionariam como gatilhos, tais como fatores hormonais,

processos infecciosos e estresse ambiental. Considerando os fatores genéticos, diversos estudos apontam para a associação de alelos do Antígeno Leucocitário Humano (HLA) com a EM, havendo uma interação complexa entre os diversos alelos da região com o desenvolvimento da doença (KAIMEN-MACIEL et al, 2009; KWON et al, 1999).

Entre as diversas regiões gênicas do HLA, uma região conhecida como classe II merece atenção devido à sua importância na regulação da resposta imune contra antígenos peptídicos. As moléculas do HLA classe II são expressas pelas células apresentadoras de antígenos, como os macrófagos, linfócitos B e células dendríticas, sendo responsáveis pela participação no reconhecimento e apresentação de antígenos aos linfócitos T. Genes do HLA classe II estão associados à suscetibilidade a várias doenças autoimunes, como diabetes mellitus, artrite reumatóide e Esclerose Múltipla (SCHMIDT; WILLIAMSON; KOCH, 2007).

Dentro da região denominada classe II do HLA, alelos da subregião DR e DQ (HLA-DRB1*1501 e DQB1*0602) são considerados os principais associados ao risco de desenvolver Esclerose Múltipla na população caucasiana (ROJAS et al, 2010). O alelo DRB1*1501 parece estar associado à doença em pacientes caucasianos na América do Norte e Norte da Europa, enquanto os alelos DRB1*1501, DRB1*0301 e DRB1*0401 parecem ser os responsáveis pela doença na Sardenha. O alelo HLA-DRB1*04 é descrito como relacionado à doença em outras regiões do mundo, como Turquia e Ilhas Canárias (BRUM et al, 2007).

No Brasil, existem poucos estudos que avaliaram a associação entre o HLA e a suscetibilidade à Esclerose Múltipla, com grande heterogeneidade nos resultados encontrados (KAIMEN-MACIEL et al, 2009). Um estudo realizado no RJ mostra que o alelo DQB1*0602 estaria associado à doença em afro-brasileiros, demonstrando uma associação entre este alelo e a doença na ausência do alelo DRB1*1501 (CABALLERO et al, 1993). Outro estudo demonstrou que o HLA DRB1*1501 estaria associado à Esclerose Múltipla em brasileiros caucasianos (ALVES-LEON et al, 2007), enquanto os alelos DRB1*1501 e DRB1*1503 estariam associados à doença tanto em caucasianos quanto em mulatos do estado de São Paulo (BRUM et al, 2007).

Devido ao grande desequilíbrio de ligação entre os alelos presentes na região DR e DQ do HLA, torna-se difícil determinar com precisão a importância de cada alelo isoladamente na suscetibilidade à doença, sendo igualmente possível que tanto os alelos pertencentes ao locus DR quanto ao DQ estejam relacionados ao risco de desenvolver a

doença, sendo difícil determinar a importância quantitativa de cada alelo nesta associação genética em relação à suscetibilidade de desenvolvimento da doença (LAAKSONEN et al, 2002).

Assim, o desequilíbrio de ligação entre os diversos alelos das regiões DR e DQ do HLA torna difícil determinar primariamente qual *locus* é responsável por determinar a suscetibilidade à Esclerose Múltipla, sendo inconclusivas as diversas tentativas de investigar quais alelos conferem risco ao desenvolvimento da doença nas diferentes populações (TILBERY, 2005).

Como os padrões de desequilíbrio de ligação entre os alelos do sistema HLA diferem entre as populações, a melhor abordagem para se tentar resolver esse obstáculo genético seria através da análise e comparação de um grande número de haplótipos de pacientes com Esclerose Múltipla em populações bem distintas. No entanto, estudos que avaliam a associação entre HLA e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nos diversos grupos étnicos, em geral, usam pequenos coortes e os resultados são muitas vezes inconclusivos ou conflitantes (OKSENBERG et al, 2004)

No contexto discutido acima, justifica-se a realização de revisão sistemática e meta-análise dos estudos de associação entre os alelos do HLA classe II DRB1*1501 e DQB1*0602 e o risco desenvolver Esclerose Múltipla. Uma vez que se trata de uma doença rara, existe um nível de insegurança grande acerca das inferências estatísticas e as controvérsias apontadas nos estudos isolados. No caso específico dos alelos em questão e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla, uma revisão sistemática e meta-análise possibilita vencer o desafio imposto pela reduzida força estatística própria dos estudos isolados desta área de atenção à saúde da população.

1.1 Histórico

A história oficial da Esclerose Múltipla iniciou-se em meados do século XIX, quando duas descrições de casos clínicos isolados foram publicadas na década de 1830, por Robert Carswell e Jean Cruveilhier, que começaram a descrever uma “nova doença” que causava lesão múltipla e irregular do SNC. Uma vez que as descrições da época eram pobres na área clínica, as descrições patológicas já chamavam a atenção para a presença de tecido lesionado em placas, que para os patologistas de hoje já poderiam ser reconhecidas como as lesões glióticas típicas da Esclerose Múltipla (HICKEY, 1999).

O neurologista francês Jean-Martin Charcot (1825- 1893) foi o primeiro a reconhecer a Esclerose Múltipla como uma doença distinta, descrevendo observações clínicas e patológicas detalhadas da doença, que chamou de “esclerose em placas”. É atribuída à Charcot a descrição dos três sinais clínicos conhecidos como tríade de Charcot: nistagmo, tremor mãos e discurso telegráfico, além do relato de mudança na cognição dos pacientes (BHATTACHARYA, MISHRA, TIWARI, 2012).

Em 1884, Pierre Marie, caracterizou os componentes espásticos e cerebelares da marcha e distúrbios vesicais, intestinais e sexuais da EM. Descreveu uma grande variabilidade de sintomas clínicos iniciais, delineou várias síndromes estereotipadas e documentou o curso clínico da doença – incluindo a categoria da EM benigna e distinguindo a forma progressiva primária da secundária (COMPSTON et al, 2006).

Na América Latina, o primeiro registro de um caso da doença foi feito pelo brasileiro Aluizio Marques, em 1923, e, em 1926, o médico brasileiro Antônio Austregésilo publicou o primeiro estudo neuropatológico da EM na América Latina (TILBERY, 2005).

O conceito de EM como doença autoimune foi estabelecido em 1935 por Rivers e Schwentker, através da produção da encefalite alérgica experimental por inoculação de fragmentos purificados de proteínas da bainha de mielina no tecido neural de macacos (MACHAY; ANDERSON, 2010).

A participação genética na etiologia da EM vem sendo postulada há mais de um século. Estudos genéticos realizados na Dinamarca a partir de 1972 foram os primeiros a demonstrar a relação entre antígenos do sistema HLA e a EM, sendo o haplótipo HLA DRB1*1501-DQA1*0102-DQB1*0602 descrito como fator de risco genético para a doença no Norte da Europa, em americanos e em afro-americanos, por meio de estudos posteriores. Na década de 1990, Sadovnick evidenciou a susceptibilidade genética para a doença através da herança poligênica, na qual genes do sistema HLA e não HLA estariam associados ao risco de desenvolver a doença (FERNANDEZ et al, 2009; TILBERY, 2005).

A teoria Viking sugere que a distribuição da doença está fortemente ligada à disseminação de genes escandinavos, inicialmente pelos Vikings e mais tarde por uma onda migratória dos escandinavos para as diversas regiões do mundo (REDJAK; JACKSON; GIOVANNONI, 2010).

1.2 Definição

A Esclerose Múltipla é uma doença inflamatória crônica do SNC, causada por um processo de inflamação, desmielinização e degeneração neuronal, afetando principalmente adultos jovens em populações caucasianas, e considerada uma importante causa de incapacidade permanente nessa faixa etária (ALCINA et al, 2012; MESADI et al, 2010).

A EM é considerada uma desordem predominantemente autoimune, com a presença de processo inflamatório conduzido por macrófagos e linfócitos T contra a bainha de mielina neuronal e oligodendrócitos, levando a um infiltrado perivascular de células inflamatórias com conseqüente processo de desmielinização e gliose da substância branca do SNC (encéfalo e medula), o que ocasiona uma série de sinais e sintomas neurológicos decorrente de lesões na substância branca, que podem ocorrer na forma de ataques súbitos (surtos) ou serem insidiosos e progressivos (MESSADI et al, 2010; MILO; KAHANA, 2009).

A etiologia da Esclerose Múltipla é complexa e heterogênea, com predisposição genética e fatores de risco ambientais, herança poligênica com penetrância incompleta e sintomas diversos que variam no tempo e espaço (ZUVICH et al, 2009).

Atualmente, a associação genética da EM com o antígeno leucocitário humano (HLA) é bem documentada. As associações iniciais da doença com o HLA foram observadas na região de classe I (alelos HLA-A3 e HLA-B7) e mais tarde com os polimorfismos na região de classe II, sendo que o principal alelo associado à EM em diferentes estudos é o DRB1*15 (BETTENCOURT et al, 2012; BRUM et al, 2007; KAIMEN-MACIEL et al, 2009).

1.3 Epidemiologia

A EM é mais incidente na faixa etária de 15 a 55 anos, sendo rara a sua apresentação na infância e acima de 50 anos. Apresenta um pico de incidência por volta de 24 anos de idade, diferenciando-se de outras doenças autoimunes, como a artrite reumatóide e a miastenia gravis, nas quais a incidência aumenta com a idade. É mais prevalente em mulheres, com incidência três vezes (3:1) maior em relação ao sexo masculino e em pacientes de origem caucasiana (MACHADO et al, 2010; ZUVICH et al, 2009).

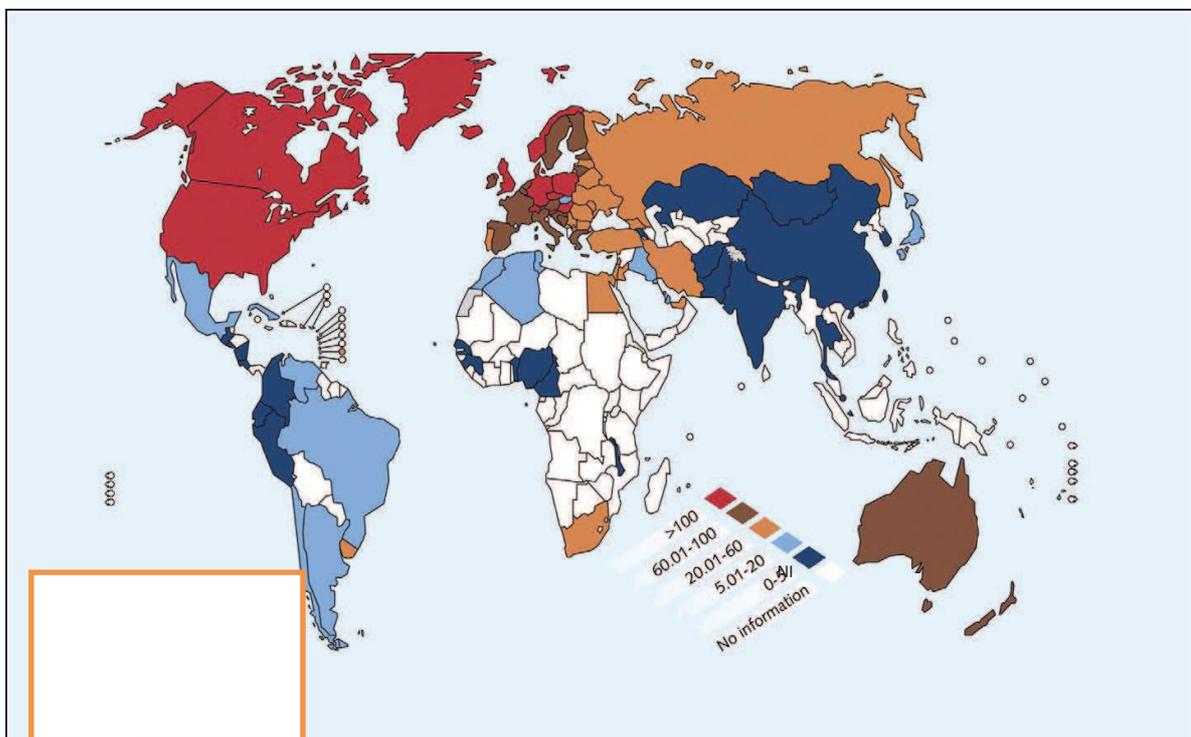
O início da Esclerose Múltipla geralmente ocorre em torno de 30 anos de idade. A distribuição dos pacientes pela idade de aparecimento dos sintomas

demonstra que em torno de 10% dos casos iniciam antes dos 20 anos, em 70% entre 20 e 40 anos, e em 20% após a idade de 40 anos, sendo o início após os 55 anos considerados raro, devendo questionar o diagnóstico de EM (CONFAVREYZ et al, 2008).

Estima-se que o número total de pessoas com EM no mundo seja de 2-2.500.000 de pessoas, com uma distribuição desigual ao longo do globo, existindo uma nítida relação entre a distribuição latitudinal e a prevalência da doença, com aumento da prevalência em regiões de maior latitude geográfica (44° a 66°) e climas temperados, mas com distribuição incompleta entre as regiões (MILO; KAHANA, 2010; ZUVICH et al, 2009).

Quanto à prevalência (figura 1), as regiões podem ser divididas em regiões de alta (>30/100.000 casos/habitantes), média (5-30/100.000 casos/habitantes) e baixa prevalência (<5/100.000 casos/habitantes), sendo que aquelas entre os paralelos 44 e 64° são consideradas com as maiores taxas de prevalência (TILBERY, 2005). A distribuição da EM ao redor do mundo vai desde 5/100.000 casos/habitantes em áreas tropicais e Ásia, até 100-200 casos por 100.000 habitantes nas regiões de clima temperado, como o Norte Europeu, EUA, Canadá, Nova Zelândia e Austrália (MILO; KAHANA, 2010).

Figura 1. Prevalência da Esclerose Múltipla em diferentes regiões geográficas (Adaptado de MILO; KAHANA, 2010)



Aproximadamente 1:1000 americanos são afetados pela doença (cerca de 400.000), com uma prevalência estimada em 0,1% (TILBERY, 2005). A doença apresenta prevalência moderada (0.1 a 0.2%) em países como EUA, Canadá, Rússia, Israel, Europa, Nova Zelândia e partes da Austrália e áreas de baixa prevalência como a Ásia, África e América do Sul, que apresentam incidências muito menores que 0,1% (ZUVICH et al, 2009).

Embora a Esclerose Múltipla fosse considerada uma doença muito rara no Brasil até a década de 1990, estudos caso-controle realizada nos últimos 10 anos têm mostrado que, apesar da baixa prevalência da doença no país, devido ao clima equatorial e à miscigenação racial, a prevalência vem aumentando, chegando em algumas regiões à prevalência semelhante às observadas nos países ocidentais (ALVES-LEON et al, 2007; CABALLERO et al, 1999; KAIMEN-MACIEL et al, 2009; SILVA et al, 2009;).

No Brasil, não existem dados estatísticos nacionais sobre a EM, apenas dados epidemiológicos regionais nos quais a prevalência varia conforme a região geográfica, observando-se maior incidência da doença no Sul e Sudeste, sugerindo a existência do fator latitudinal no país (MACHADO et al, 2012). A região Nordeste apresenta prevalência de 10:100.000 habitantes, na região Sudeste essa prevalência aumenta para 12 a 18:100.000 habitantes. Na região Centro-Oeste, a prevalência varia de 4,41 a 19:100.000 habitantes e na região Sul, a prevalência é a maior do país, variando entre 14 a 27:100.000 habitantes (CALLEGARO; GOLDBAUM; MORAIS, 2001; DINIZ et al, 2008; FERREIRA et al, 2004; LANA-PEIXOTO et al 2002; RIBEIRO et al, 2011).

1.4 Fatores de Risco Ambientais

Vários fatores ambientais, infecciosos e não infecciosos, como vírus Epstein-Barr, tabagismo, imunização e clima são considerados fatores de risco em potencial para o desenvolvimento da EM. Contudo, até o momento, nenhum desses fatores foi consistentemente identificado como primordial para o desenvolvimento da doença (MARRIE, 2004; RAMAGAPALAN et al, 2010).

Entre os fatores ambientais, a infecção pelo vírus Epstein-Barr está associada ao desenvolvimento da EM, possivelmente pelo mecanismo de mimetismo molecular ou por ser capaz de imortalizar células B autorreativas apresentadoras de antígenos (ZUVICH et al, 2009). Outros agentes infecciosos como Herpes virus humano 6, rubéola, varicela,

Chlamydomydia pneumoniae também foram apontados como possíveis desencadeadores da doença (REDJAK; JACKSON; GIOVANNONI, 2010).

No mecanismo de mimetismo molecular, patógenos (como o EBV) apresentam antígenos com semelhança estrutural a moléculas próprias do hospedeiro (como proteínas da bainha de mielina), os linfócitos T específicos para o EBV iniciariam uma resposta imune que, devido à semelhança entre antígenos virais e de proteínas da bainha mielina, se tornam autoimune ao gerar uma resposta inflamatória “cruzada” entre o vírus e neurônios do SNC (KAKALACHEVE; LUNEMANN, 2011).

A diminuição da exposição ao sol, comum em moradores de regiões de clima temperado, também têm sido considerada fator ambiental importante associada ao risco de desenvolver a doença. A redução da produção de vitamina D, comum nessas pessoas, causa uma interferência na atividade imunológica, sendo considerado o principal mecanismo biológico que explica esse risco (TILBERY, 2005). Outros fatores ambientais também são considerados, como estresse severo, tabagismo, vacinação e exposição ocupacional a toxinas (principalmente solventes orgânicos) (BHATTACHAR; MISHRA; TIWARI, 2012).

Quanto à migração, observa-se redução da incidência da EM entre os indivíduos oriundos de áreas de alta prevalência que migram para regiões de baixa prevalência da EM quando a migração ocorre antes dos 15 anos (apresentam a incidência da área para onde migraram), e caso a migração para áreas de baixa prevalência ocorra após os 15 anos, irão apresentar incidência idêntica à da área de origem (MACHADO et al, 2012)

1.5 Fatores de Risco Genéticos

As causas genéticas de uma doença são investigadas por meio de estudos de concordância. Tais estudos comparam a incidência da doença em indivíduos geneticamente relacionados, como gêmeos monozigóticos, dizigóticos e irmãos não gêmeos e em indivíduos geneticamente não relacionados. Caso a incidência da doença seja maior em membros geneticamente relacionados ao caso, sugere-se que há um componente genético importante na suscetibilidade à doença (COMPSTON; COLES, 2008; MESSADI et al, 2010; WOOD, 2013).

No caso da EM, estudos de concordância realizados inicialmente na década de 70 (BOBOWICK et al; 1978) e 80 (EBERS et al, 1986) com gêmeos revelam taxa de concordância de 30% entre gêmeos monozigóticos em comparação a 5% entre gêmeos dizigóticos, sugerindo-se um forte componente genético para doença, contudo, como a

concordância entre gêmeos monozigóticos não é 100%, acredita-se que fatores ambientais também contribuem para o desenvolvimento da doença (BETTENCOURT et al, 2012).

Desde a década de 70, diversos estudos demonstram que alelos do HLA exercem a maior contribuição genética para à suscetibilidade a doença, mas o mecanismo exato desse risco ainda não é totalmente compreendido (JERSILD et al, 1972; OLERUP et al, 1987; SERJEANTSON et al, 1992). Estudos realizados em indivíduos com EM e outras doenças autoimunes demonstraram que alelos pertencentes aos loci DR e DQ (HLA classe II) estariam associados como maior risco genético para desenvolvimento da doença (ALCINA et al, 2012; KELLY et al, 1995; SPURKLAND et al, 1991).

O alelo HLA DRB1*1501 foi associado à EM na América do Norte e em caucasianos no Norte da Europa (KURSTZKE et al, 1995), enquanto os alelos DRB1*1501, DRB1*0301 e DRB1*0401 estão associados à doença na Sardenia (MARROSU et al, 1997). O alelo DRB1*1501 também foi associado com EM em caucasianos brasileiros do Rio de Janeiro (ALVES-LEON et al, 2007), enquanto que o alelo DRB1*1503 foi associada à doença em pacientes afro-americanos e norte-americanos, mas não em afro-brasileiros do Rio de Janeiro (OKSENBERG et al, 2007).

Uma forte associação entre a EM e a presença do alelo DQB1*0602 foi descrita em diferentes populações étnicas, como caucasianos do norte da Europa (CONCHA et al, 1997), afro-caribenhos e chineses (KELLY et al, 1995a), sendo que em caucasianos, os alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 estão em desequilíbrio de ligação quase absoluta, sendo difícil determinar a importância quantitativa do locus DR ou DQ nesta associação genética (QUELVENNEC et al, 2003).

Muitos alelos distintos dos *loci* DR\DQ fazem parte de haplótipos distintos. O haplótipo DR15 é frequentemente associado ao DQ6 como parte do haplótipo DRB1*1501, DRB5*0101, DQB1*0602 e usualmente ligado aos alelos de classe I, sendo razoável admitir que a associação dos alelos do HLA de classe I com a EM é secundária ao desequilíbrio de ligação com alelos de classe II (COMPSTON et al, 2006).

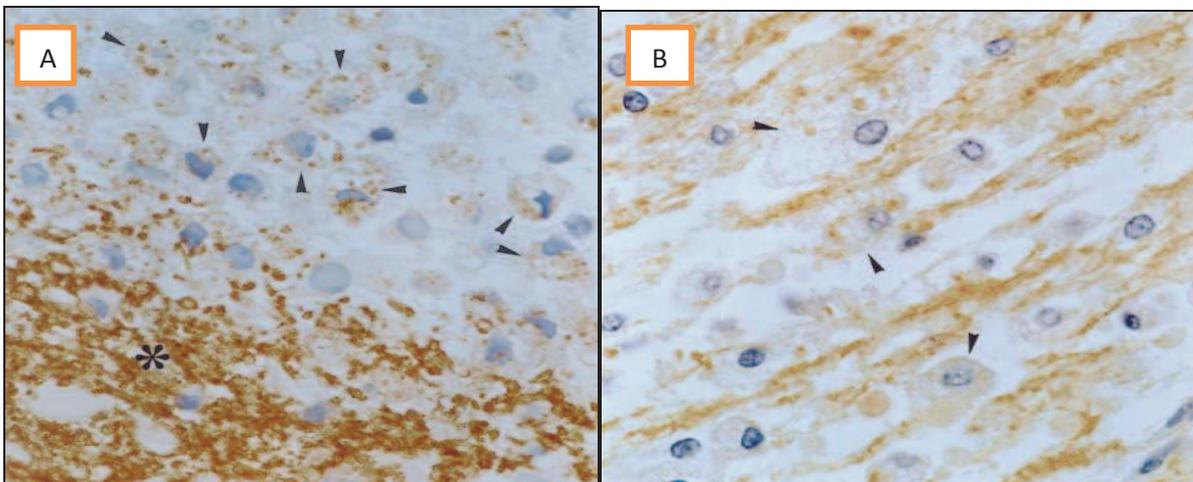
Diversos outros genes não relacionados ao sistema HLA também foram identificados como importantes para o risco de desenvolver EM, sendo que através de estudos de associação genômica foram encontrados mais de 110 genes que podem estar associados ao risco de desenvolver EM, sendo que a maior parte deles está envolvida na regulação da resposta imune, podendo estar associados também na gênese de outras doenças autoimunes (DIDONNA; OKSENBERG, 2015).

Entre esses genes, destacam-se aqueles relacionados ao receptor da interleucina 7 (cromossomo 5p13) e interleucina 2 (cromossomo 10p15.7) (BETTENCOUT et al, 2012), da hemocromatose (COMPSTON et al, 2006), fator de necrose tumoral alfa e apolipoproteína E (REDJAK; JACKSON; GIOVANNONI, 2010). Apesar de diversos estudos apontarem para vários outros genes como possíveis fatores de risco no desenvolvimento da EM, a região do HLA ainda continua representando o principal risco para a doença.

1.6 Patogenia da Esclerose Múltipla

A esclerose múltipla é considerada uma doença inflamatória crônica do SNC, envolvendo mais comumente a substância branca periventricular, nervo óptico e medula espinhal. O sistema nervoso periférico (SNP) raramente é acometido (TILBERY, 2005). A doença é acompanhada de um processo de desmielinização primária e de lesão axonal com posterior processo de reparação (remielinização) neuronal pelos oligodendrócitos nas fases iniciais (figura 2) (COMPSTON et al, 2006).

Figura 2. Fotomicrografia mostrando a atividade desmielinizante aguda na Esclerose Múltipla (coloração de imunohistoquímica para mielina com coloração dos núcleos celulares em azul). (A) lesão ativa com infiltrado inflamatório (asterisco) e produtos da degradação da mielina presentes em numerosos macrófagos (setas); (B) macrófagos contendo debris de mielina (setas) entremeados com fragmentos da bainha de mielina degenerada (Adaptado de NOSEWORTHY et al, 2000)



Acredita-se que o processo inflamatório resulte de um mecanismo de autoimunidade, na qual um distúrbio ou processo infeccioso sistêmico em um indivíduo geneticamente suscetível leve ao desencadeamento do processo inflamatório, presumivelmente iniciado por linfócitos T autorreativos que de forma anormal passam a reconhecer certos componentes do SNC como estranhos (BHATTACHARYA; MISHRA; TIWARI, 2012; KAUSHANSKY et al, 2012).

A EM é marcada pela formação de placas escleróticas, que consistem de uma área hipocelular bem demarcada e que representa a fase final de um processo que envolve inflamação, desmielinização e remielinização, esgotamento de oligodendrócitos e astrócitos e degeneração neuronal e axonal (COMPSTON; COLES, 2008)

A inflamação em diferentes regiões do SNC e a heterogeneidade das manifestações clínicas nos pacientes parece ser influenciada pela especificidade do reconhecimento antigênico dos linfócitos T ativados que migram para o SNC e também por mecanismos efetores dependentes de autoanticorpos (WOOD, 2013). Outro aspecto importante da participação dos linfócitos B na desmielinização refere-se à sua capacidade de funcionar como célula acessória na apresentação de antígenos solúveis durante a resposta imune inicial (CARVALHO et al, 2003)

Estudos que utilizam modelos animais bem caracterizados, conhecidos como modelo da encefalomielite autoimune experimental (EAE) demonstraram que linfócitos T ativados específicos para certos componentes da bainha de mielina, quando transferidos para um modelo animal são capazes de causar o desenvolvimento de encefalomielite clínica semelhante à EM, reforçando o conceito de autoimunidade na doença. Nesta teoria, os linfócitos T autorreativos iniciam a resposta inflamatória no SNC por provável reação cruzada com antígenos bacteriano\virais e epítópos peptídeos derivados dos componentes da bainha de mielina, num processo de mimetismo molecular (KAUSHANSKY et al, 2010; NOSEWORTH et al, 2000).

A proteína básica da mielina (MBP), o proteolipídeo (PLP) e a glicoproteína da mielina do oligodendrócito (MOG) são consideradas os principais componentes encefalitogênicos da mielina do SNC, implicados na patogenia da EM e na indução da encefalomielite autoimune experimental (EAE) em animais de laboratório (CARVALHO et al, 2003; KAUSHANSKY et al, 2010).

Após entrar em contato com esses autoantígenos, os linfócitos T ativados por células apresentadoras de antígenos atravessam a barreira hemato-encefálica, onde proliferam e produzem citocinas pró-inflamatórias que ativam a microglia, astrócitos e células endoteliais, que, por sua vez, produzem mais citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 e TNF- α . Estes mediadores regulam positivamente a expressão de moléculas de adesão no endotélio, recrutando outras células inflamatórias para a lesão. Mediadores citotóxicos (proteases, radicais livres etc) em combinação com autoanticorpos levam à ativação do sistema complemento, causando a morte celular dos oligodendrócitos. Os anticorpos contra os antígenos na superfície da bainha de mielina ou oligodendrócitos podem causar

desmielinização diretamente, possivelmente por meio da ativação de complemento e citólise (NOSEWORTHY et al, 2000; REDJAK; JACKSON; CIOVANNONI, 2010).

Vários tipos celulares e subpopulações de linfócitos T autoreativos estão envolvidos na patogênese da EM, sendo papel-chave atribuído ao linfócito T helper 17. Esta célula secreta citocinas pró-inflamatórias (IL-17, IL-6 IL-23) que causam inflamação e desmielinização do SNC. A atração e migração das células Th17 no liquor e espaços perivasculares com liberação das citocinas leva ao aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica com migração de células inflamatórias adicionais e tardiamente a uma ruptura completa da barreira, resultando em lesões inflamatórias ativas e exacerbação clínica da doença (HOGLUND; MAGHAZACHI, 2014).

Os linfócitos B apresentam diversos papéis na patogênese da EM, sendo responsáveis pela produção de autoanticorpos além de auxiliar na apresentação de autoantígenos aos linfócitos T auto-reativos. Ao reconhecer os autoantígenos apresentados pelos linfócitos B, os linfócitos T autorreativos são ativados e secretam preferencialmente interleucinas 4, 5 e 10, que por sua vez estimulam os linfócitos B a produzirem autoanticorpos, gerando e perpetuando o processo inflamatório (COMPSTON et al, 2007).

Finalmente, pode ser ainda que a Esclerose Múltipla não seja decorrente apenas de um distúrbio autoimune, mas sim da resposta a um processo de neurodegeneração intrínseca do sistema nervoso central, indicando que a inflamação pode apenas seguir a degeneração axonal inicialmente causada por um fator atualmente desconhecido (HOGLUND; MAGHAZACHI, 2014).

Com relação aos aspectos histológicos, a composição do infiltrado inflamatório no exame histopatológico depende do estágio de atividade da doença, sendo as placas ativas caracterizadas pela presença de infiltrado inflamatório (principalmente macrófagos e linfócitos T e B) em veias de pequeno e médio calibre da substância branca e cinzenta, onde podem ser identificados produtos de degradação da mielina, pela presença de debris celulares no interior do citoplasma das células inflamatórias. As placas nativas crônicas caracterizam-se pela ausência de destruição da bainha de mielina associada a uma profunda perda da mielina e oligodendrócitos, com número variável de células inflamatórias nas placas (COMPSTON et al, 2006).

As lesões ativas da EM podem ser classificadas em diferentes subtipos histológicos com base nos padrões de desmielinização encontrados, definida em função da perda da MPB, extensão das placas, padrões de destruição dos oligodendrócitos e a evidência

imunopatológica de ativação do complemento. Os subtipos I e II são semelhantes à encefalomielite autoimune por anticorpos, e os subtipos III e IV são sugestivos de uma distrofia primária dos oligodendrócitos (LUCCINETTI et al, 2000).

1.7 Clínica

A Esclerose Múltipla manifesta-se clinicamente por uma variedade de sinais e sintomas neurológicos recorrentes, com caráter evolutivo, variável de paciente para paciente, com manifestações clínicas sucessivas decorrentes de eventos sequenciais de desmielinização e dano axonal, caracterizando a disseminação das lesões no tempo e espaço, o que implica no comprometimento de diversas áreas do SNC em momentos diferentes (COMPSTON et al, 2006; TILBERY, 2005).

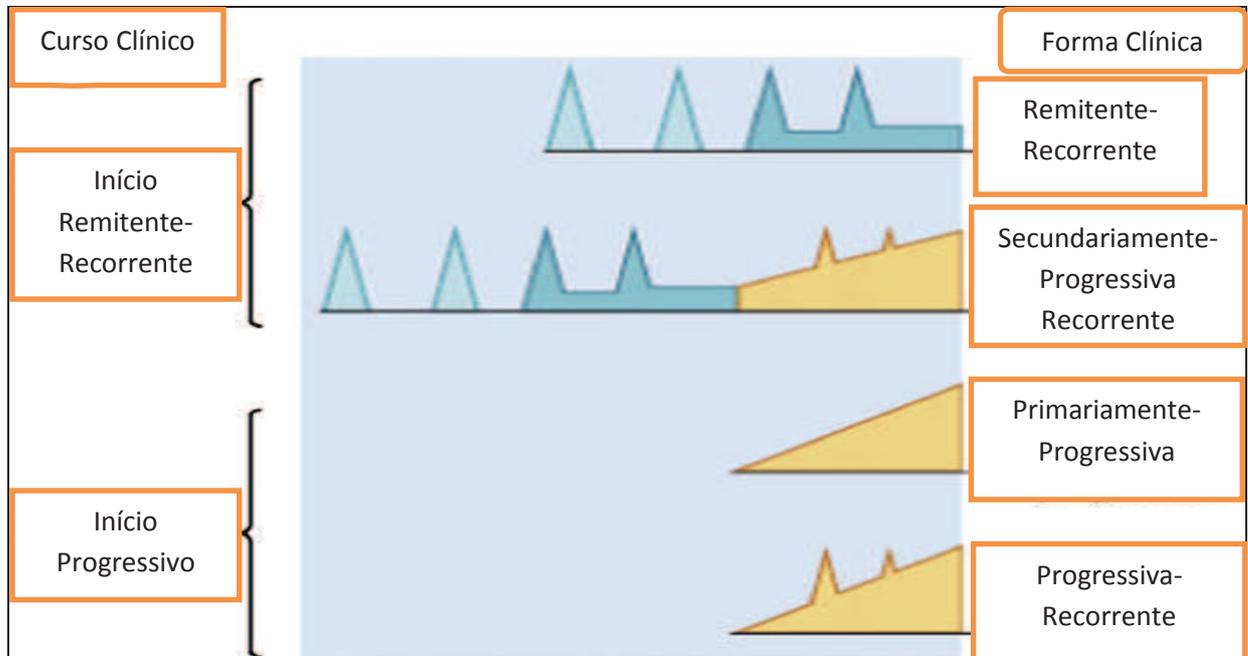
Os pacientes apresentam uma grande heterogenicidade nos sinais e sintomas clínicos, podendo iniciar a doença com sintomas neurológicos isolados, conhecidos como síndrome clínica isolada ou CIS, seguida por surtos de déficits neurológicos recorrentes intercalados por meses a anos, decorrentes principalmente de lesões na substância branca, e mais raramente na substância cinzenta (HOGLUND; MAGHAZACHI, 2004).

Os sintomas iniciais mais comuns são parestesia nos membros e sinais de liberação piramidal (espasticidade e hiper-reflexia), ataxia, disartria, parestesias ou hipoestesia, alteração esfíncteriana (urinária e fecal) e disfunção sexual (que refletem o comprometimento autonômico) (BERTOLUCCI et al, 2011). Outros sintomas, como alterações visuais (amaurose, diplopia), disartria, espasmos musculares, fadiga e sintomas cognitivos e do humor, como déficit de memória recente, depressão, demência e ansiedade também podem ocorrer (ZUVICH et al, 2009).

Quanto à evolução clínica, a EM pode ser classificada em quatro formas (figura 3): (1) forma remitente-recorrente (EM-RR), considerada a forma mais comum (55% dos casos), caracterizando-se por surtos de déficits neurológicos seguidos por recuperação parcial ou total de sintomas; (2) forma secundariamente progressiva (EM-SP), que representa cerca de 30% dos casos, sendo caracterizada por evolução inicial semelhante à EM-RR, contudo, com incapacidade progressiva ao longo da evolução (podendo evoluir com ou sem surtos); (3) forma primariamente progressiva (EM-PP), que ocorre em aproximadamente 10% dos casos caracterizadas pela incapacidade progressiva sem episódios recorrentes, portanto sem fase

remittente. Assim, os indivíduos apresentam déficits neurológicos com pouco ou nenhum alívio sintomático (BERTOLUCCI et al, 2011; ZUVICH et al, 2009).

Figura 3. Formas clínicas da Esclerose Múltipla (Adaptado de CONFAVREUX; VUKUSIC, 2008)



A forma progressiva com surtos (EM-PS), considerada a forma mais rara da doença (5% casos), apresenta início progressivo com presença posterior de surtos bem definidos durante a evolução, sendo que o período entre os surtos também cursa com contínua progressão. É importante ressaltar que uma forma pode evoluir para outra (MACHADO et al, 2012).

Independente da forma clínica apresentada, a evolução da doença ocorre ao longo de décadas, com um tempo médio de 30 anos entre o início dos sintomas e a morte do paciente, o que representa uma redução na expectativa de vida entre 5-10 anos, e as mortes atribuídas em 2/3 dos casos à processos infecciosos. As pessoas com a doença também apresentam um risco maior de suicídio, refletindo uma maior incidência de depressão (até 50%) durante a vida, decorrente do processo degenerativo ou, mais provavelmente devido às restrições impostas pela doença (COMPSTON; COLES, 2008). Cerca de quinze anos após o início da doença, 20% dos pacientes estão acamados ou institucionalizados, outros 20% irão necessitar do uso de cadeiras de rodas ou bengalas para deambular (ROLAK, 2003).

1.8 Critérios Diagnósticos

O diagnóstico da Esclerose Múltipla tornou-se uniforme a partir da publicação dos critérios de POSER, em 1983, que tinham como propósito demonstrar a disseminação das lesões neurológicas no tempo e no espaço, considerando-se dados clínicos e paraclínicos, como análise do líquido cefalorraquidiano (LCR), Ressonância Nuclear Magnética (RNM) e estudo eletrofisiológico. Em 2001, McDonald e colaboradores propuseram uma revisão dos critérios de POSER para incluir a RNM como método auxiliar na determinação da disseminação temporal e espacial da doença, tornando o diagnóstico mais rápido (BERTOLUCCI et al, 2011).

Os critérios de MacDonald foram revistos em 2005, e atualizados em 2010, (quadro 1), refletindo a importância da ressonância magnética na avaliação das lesões da substância branca presentes na EM. O diagnóstico da doença deve sempre levar em consideração a exclusão de qualquer outra doença que possa explicar o quadro clínico do paciente, ou seja, deve-se considerar um diagnóstico de exclusão (RODRIGUES; BERTOLUCCI, 2014).

Quadro 1. Critérios diagnósticos de McDonald para Esclerose Múltipla (Adaptado de POLMAN et al, 2011)

Apresentação Clínica	Dados adicionais necessários para o diagnóstico de EM
Dois ou mais surtos: evidência clínica objetiva de dois ou mais lesões ou evidência clínica objetiva de uma lesão com evidência histórica razoável de um surto prévio	Nenhum
Dois ou mais surtos; evidência clínica objetiva de uma lesão	Disseminação no espaço, demonstrada por: Uma ou mais lesões T2 em pelo menos duas de quatro regiões típicas (periventricular, justacortical, infratentorial ou medula espinhal); ou aguardar um segundo surto clínico, envolvendo um sítio diferente do SNC
Um surto, evidência clínica objetiva de duas ou mais lesões	Disseminação no tempo demonstrada por: Presença simultânea de lesões que realcem e não realcem após gadolínio em qualquer tempo ou nova lesão T2 com realce por gadolínio em uma RNM de acompanhamento, independentemente da distância temporal entre essa e a RNM basal; ou aguardar um segundo surto clínico
Um surto; evidência clínica objetiva de uma lesão (síndrome clínica isolada)	Disseminação (a) no espaço e (b) no tempo, demonstrada por: (a) uma ou mais lesões T2 em, pelo menos, duas de quatro regiões típicas (periventricular, justacortical, infratentorial ou medula espinhal) (b) Presença simultânea de lesões que realcem e não realcem após gadolínio em qualquer tempo; ou nova lesão T2 ou com realce por gadolínio em uma ressonância de acompanhamento, independentemente da distância temporal entre essa e a RNM basal; ou aguardar novo surto clínico
Progressão neurológica insidiosa sugestiva de Esclerose Múltipla (Esclerose Múltipla Primariamente Progressiva)	Um ano de progressão da doença (determinado prospectiva ou retrospectivamente) e dois de três dos critérios a seguir: 1) Evidência de disseminação no espaço, baseado na presença de uma ou mais lesões T2 em, pelo menos uma área característica da EM (periventricular, justacortical ou infratentorial) 2) Evidência de disseminação no espaço na medula espinhal, baseado na presença de duas ou mais lesões T2* na medula espinhal 3) LCR positivo (presença de bandas oligoclonais por localização e/ou índice de IgG elevado)

Os critérios diagnósticos para EM incluem avaliação clínica e laboratorial paraclínica, sempre enfatizando a necessidade de demonstrar lesões no espaço (DIS) e no tempo (DIT), excluindo outros diagnósticos alternativos. Os critérios revisados de McDonald (2010) resultaram em diagnóstico mais precoce com elevado grau de especificidade e sensibilidade, permitindo melhor orientação ao paciente e tratamento precoce (POLMAN et al, 2011).

Para os critérios de DIS (quadro 2), é necessária a caracterização da presença de pelo menos uma lesão na RNM crânio em T2, em dois ou mais dos quatro locais considerados característicos de EM (justacortical, periventricular, infratentorial e medula espinhal). A impregnação da lesão pelo contraste de gadolínio na RNM do crânio não é necessária para a caracterização de DIS, e a manifestação clínica do paciente relacionada com o comprometimento de tronco cerebral ou medula espinhal deve ser desconsiderada na contagem (YAMOUT et al, 2013).

Quadro 2. Critérios de McDonald, revisados em 2010, para demonstração da disseminação da Esclerose Múltipla no espaço (Adaptado de POLMAN et al, 2011)

A DIS pode ser demonstrada pela presença de uma ou mais lesões T2* em pelo menos duas de quatro áreas do SNC:
Periventricular Justacortical Infratentorial Medula Espinhal**
*Não é necessário realce por gadolínio **Se o paciente têm uma síndrome de tronco encefálico ou medula espinhal, a lesão sintomática é excluída do critério e não contribui para contagem

A disseminação no tempo (quadro 3) passa a ser demonstrada pela caracterização de uma nova lesão em T2 e/ou pela caracterização de uma ou mais lesões com impregnação pelo gadolínio no exame de acompanhamento evolutivo, independentemente do tempo decorrido após o primeiro exame, abandonando a exigência do intervalo temporal (POLMAN et al, 2011).

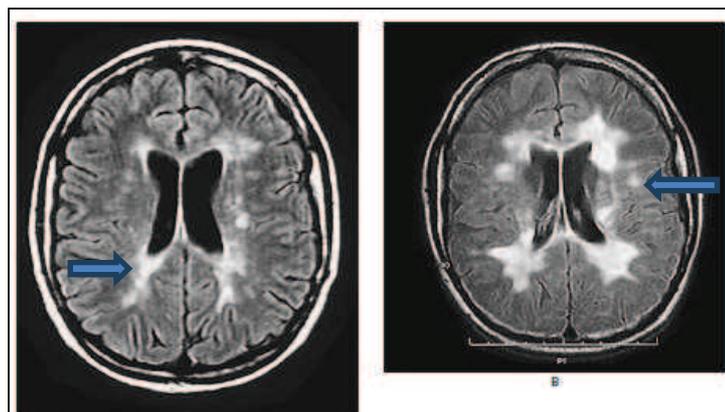
Quadro 3. Critérios de McDonald, revisados em 2010, para demonstração da disseminação da Esclerose Múltipla no tempo (Adaptado de POLMAN et al, 2011)

A DIT pode ser demonstrada por:
1) Nova lesão T2 e/ou com realce por gadolínio em uma ressonância magnética de controle de evolução, com referência à primeira RNM (ou basal), independente do tempo entre os exames.
2) Presença simultânea de lesão assintomática com realce por gadolínio associada a lesões que não realcem a qualquer tempo.

A RNM é considerada a principal ferramenta complementar para o diagnóstico da EM (figura 4), demonstrando precocemente a presença de disseminação do processo desmielinizante no tempo e no espaço e muitas vezes permitindo o diagnóstico da EM na primeira manifestação clínica. Também é útil para a monitorização da resposta terapêutica permitindo o acompanhamento *in vivo* de todas as fases evolutivas da EM (ROCHA et al, 2012).

As lesões da EM são frequentemente situadas na substância branca periventricular e de centros semiovais, podendo ser encontradas em qualquer local da substância branca no encéfalo e medula, sendo o acometimento da substância cinzenta (córtex e núcleos da base) ocorrendo menos frequentemente (cerca de 10%) nos exames de imagem. Contudo, a baixa sensibilidade da RNM para detectar lesões corticais pode ser responsável por esse achado, uma vez que em estudos post-mortem demonstram comumente envolvimento cortical e núcleos da base (TILBERY, 2005; COMPSTON et al, 2007).

Figura 4. Ressonância Nuclear Magnética do crânio demonstrando lesões hiper-atenuantes peri-ventriculares e subcorticais (setas azuis) típicas de Esclerose Múltipla (Adaptado de NOSEWORTHY et al, 2000)



Os achados do líquido cefalorraquidiano (LCR) são importantes para excluir outras condições inflamatórias que afetam o SNC e que podem mimetizar a doença. Além disso, a presença de bandas oligoclonais (BOC) IgG intratecais no LCR é uma característica invariável da doença, sendo encontrada em até 98% dos pacientes. Contudo, com o aumento da disponibilidade da RNM, esse exame está sendo menos realizado, tornando-se importante, mas, não essencial para o diagnóstico (REDJAK; JACKSON; GIOVANNI et al, 2010).

1.9 Tratamento

O principal objetivo da terapia para a EM consiste em prevenir ou retardar a progressão dos déficits neuróxicos reduzindo a atividade inflamatória do SNC e com isso evitar a evolução da doença (YAMOUT et al, 2013). Durante os ataques sintomáticos agudos de déficits neurológicos (surtos), a administração de altas doses de corticosteróides intravenosos, como metilprednisolona, na forma de pulsoterapia é considerada a terapia de escolha, sendo eficaz para a melhora sintomática aguda e recuperação dos déficits neuróxicos decorrentes do surto, contudo, não apresenta grande impacto sobre a recuperação posterior do paciente (BHATTACHARYA; MISHRA; TIWARI, 2012).

As terapias modificadoras da doença, como os imunomoduladores, incluem o interferon- β 1a (IFN 1a), administrado por via intramuscular (IM) ou subcutânea (SC) e o interferon- β 1b, administrado por via subcutânea, além do Acetato de Glatiramer administrado por via subcutânea, que apresentam eficácia semelhante na redução das recorrências (cerca de 30%). Existem três preparações comerciais de IFN β , um IFN β 1b (Betaferon e Extavia) e dois IFN β -1a (Avonex e Rebif), sendo que as três preparações são licenciadas para uso em EM-RR, entretanto, apenas o Betaferon foi licenciado para uso em pacientes com a forma EM-SP (CORREALE et al, 2014; REDJAK; JACKSON; GIOVANNI et al, 2010).

O Fingolimod foi o primeiro agente oral aprovado para o tratamento de EM-RR com redução na taxa de recidiva em 55% e na progressão da incapacidade neurológica em 30%, sendo considerado hoje como agente de primeira linha no tratamento da doença, exceto na Europa, onde foi aprovado como droga de segunda linha. Natalizumab é o único anticorpo monoclonal aprovado para o tratamento de EM-RR, que reduz a taxa de recidiva em 68% e a progressão da incapacidade neurológica em 42% dos pacientes. Contudo, a medicação é geralmente reservada nos casos refratários às medicações de primeira linha (resgate) ou em doença altamente agressiva desde o início (CORREALE et al, 2014; YAMOUT et al, 2013).

O tratamento com drogas imunossupressoras como a azatioprina, metotrexate, ciclofosfamida, micofenolato, anticorpos monoclonais (rituximab) e transplante de medula óssea são reservados quando os casos são refratários às medicações de primeira e segunda linha (falha terapêutica) e naqueles com evolução fulminante, sendo capaz de melhorar e estabilizar a evolução clínica nesse grupo de pacientes (BOSTER et al, 2008).

Os desafios atuais no tratamento da Esclerose Múltipla esbarram na inexistência de uma terapia eficaz que evite a evolução da doença nas formas recorrentes e a não existência de tratamento para a forma primariamente progressiva (EM-PP), sendo que apesar das inúmeras opções terapêuticas, as medicações atuais têm apenas um efeito parcial sobre a prevenção das recaídas e acúmulo de déficits neurológicos, não sendo capaz de evitar a conversão da doença para as formas progressivas (CARRITHERS, 2014).

2 O SISTEMA HLA

2.1 Introdução

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC – do inglês *Major Histocompatibility Complex*) é formado por um grupo de genes responsáveis pela codificação de receptores proteicos presentes na superfície de diversas células do organismo e descritos inicialmente durante processos de rejeição de tecidos (histo = tecido) em ratos. Em seres humanos, o MHC é chamado de HLA (*Human Leukocyte Antigen*) pelo fato de ter sido identificado inicialmente na superfície de leucócitos em pacientes transplantados. (FERNANDES et al, 2003; WOOD, 2013).

O HLA é reconhecido como tendo participação central na resposta imune contra diversos patógenos responsáveis por doenças infecciosas intra e extracelulares, neoplasias, autoimunidade e compatibilidade no transplante de tecidos, por meio da ativação de linfócitos T mediante apresentação de antígenos (MORRIS, 2008).

2.2 Localização Gênica

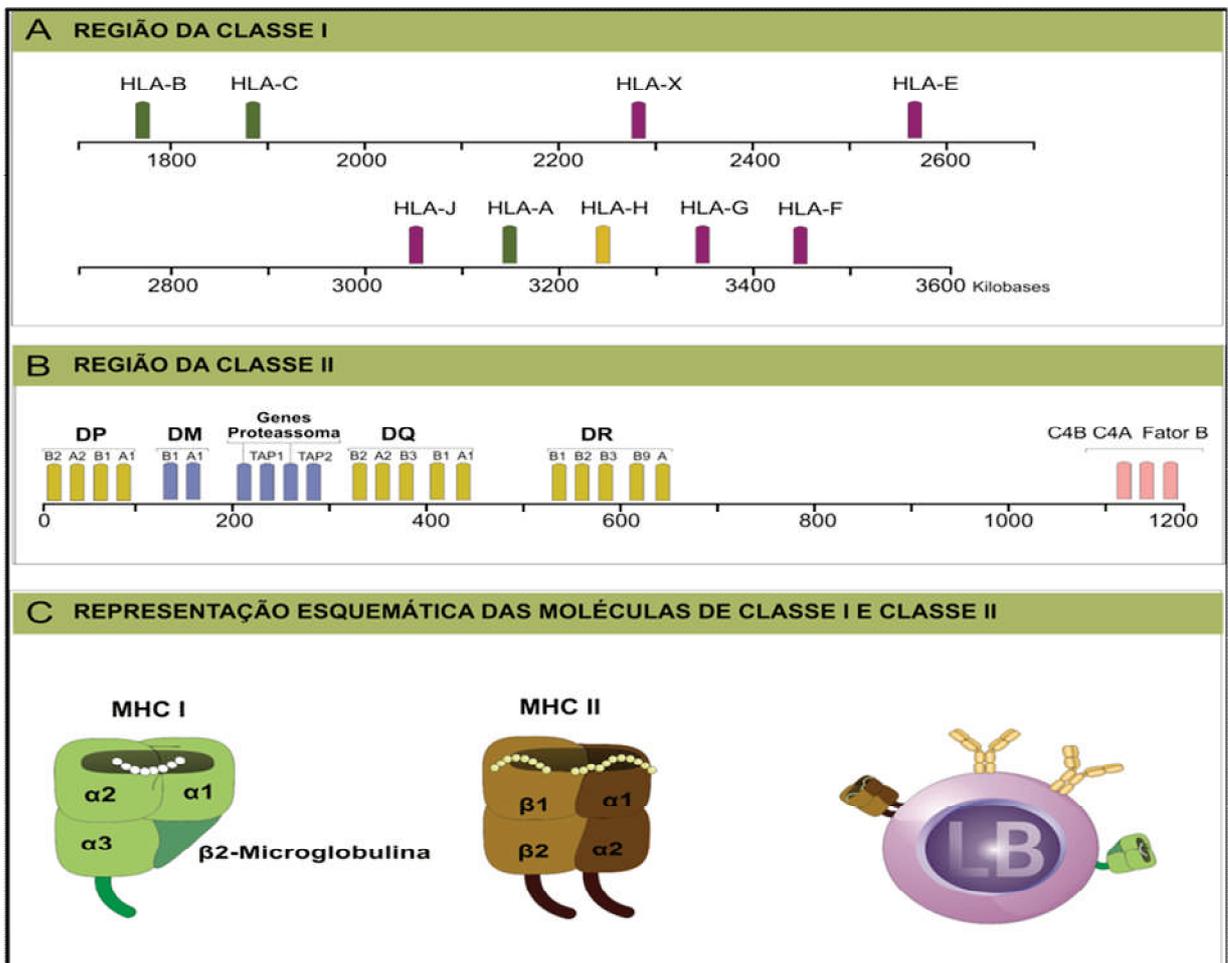
O sistema HLA localiza-se no braço curto do cromossomo 6 (locus 6p21.3), ocupando uma porção no DNA equivalente a 3.500 quilobases e contém mais de 200 genes na sua estrutura. Esses genes estão intimamente ligados, representam aproximadamente 0,1% do

genoma humano, e a maior parte está associada à resposta imune (OLIVEIRA; SELL, 2002; RAMAGOPALANA; KNIGHTA; EBERS, 2009).

2.3 Classificação do Sistema HLA

Os genes do sistema HLA são divididos em três classes: I, II e III (figura 5), sendo que a região classe I é responsável por codificar as moléculas do HLA A, B e C, encontradas em praticamente todas as células nucleadas. A região classe II codifica as moléculas HLA-DR, -DQ e -DP, expressas na superfície de células apresentadoras de antígenos (células dendríticas, macrófagos e linfócitos B), e os genes de classe III são responsáveis pela síntese de proteínas associadas à imunidade, como os fatores de necrose tumoral, componentes do complemento (C2 e C4) e a enzima 21-hidroxilase (ALVES et al, 2006)

Figura 5. Localização e organização gênica do sistema HLA no cromossomo 6 (adaptado de KLEIN; SATO, 2000)



2.4 Estrutura e Função das Moléculas HLA

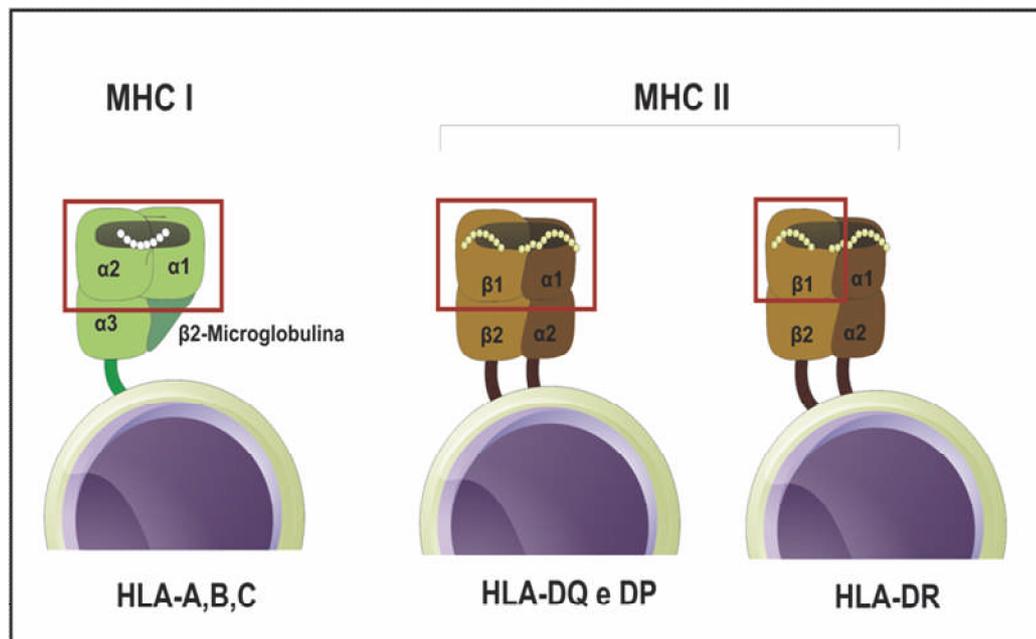
2.4.1 HLA Classe I

Três *loci* de HLA classe I são descritos, chamados de HLA-A, HLA-B e HLA-C ou genes clássicos (classe IA) cujos produtos moleculares são expressos na superfície de praticamente todas as células nucleadas, tendo como função principal a apresentação de antígenos peptídeos aos linfócitos T CD8⁺. São glicoproteínas constituídas de duas cadeias polipeptídicas ligadas não covalentemente, uma maior, chamada cadeia alfa, altamente polimórfica, com peso molecular de 45 kDa, codificada por genes localizados no cromossomo 6, e outra menor, chamada de microglobulina- β 2, com peso de 12 kDa, codificada por um gene no cromossomo 15 (WOOD, 2013).

A cadeia alfa apresenta três domínios extracelulares (α 1, α 2 e α 3) e se insere na membrana celular por meio de uma sequência hidrofóbica, sendo seguida por uma região intracitoplasmática hidrofílica (figura 6). Os domínios α 1 e α 2 interagem formando uma plataforma de oito alças beta pregueadas no topo das quais ocorrem duas α hélices, separadas por uma longa fenda, onde ocorre a ligação para os antígenos peptídeos processados, com tamanho de 8-10 aminoácidos. O domínio α 3 se insere na membrana plasmática e se liga à cadeia β (OLIVEIRA; SELL, 2002).

Os domínios α 1 e α 2 (fenda de ligação) são considerados os resíduos polimórficos das moléculas classe I, que contribuem para as diversas variações existentes entre os alelos de classe I, na ligação a antígenos peptídeos e no reconhecimento pelos linfócitos T CD8⁺ (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012).

Figura 6. Estrutura do HLA Classe I e II. As regiões mais polimórficas nas moléculas de classe I ocorrem nos domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$ sendo a cadeia β não polimórfica. Nas moléculas de classe II, o polimorfismo mais acentuado ocorre nos domínios $\alpha 1$ (HLA-DQ e HLA-DP) e $\beta 1$ (HLA-DR, DQ e DP) (Modificado de DONADI, 2000)



2.4.2 HLA Classe II

O HLA classe II apresenta três *loci*, chamados DP, DQ e DR e cada um contém um gene α (DPA, DQA e DRA) que é responsável pela codificação da cadeia α . Os *loci* DP e DQ apresentam também genes β , chamados de DPB e DQB, que codificam a cadeia β , enquanto que o *loci* DR apresenta quatro genes diferentes que codificam as cadeias β (DRB1, DRB3, DRB4 e DRB5) (WOOD, 2013).

As moléculas do HLA classe II são constituídas por duas cadeias polipeptídicas que estão ligadas de modo não covalente, sendo denominadas cadeias α e β , com pesos moleculares de 33 kD e 28 kD, cujos genes codificantes para essas cadeias localizam-se no cromossomo 6 (locus HLA) e são altamente polimórficos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2012)

As cadeias apresentam três porções: extracelular, transmembrana e uma porção intracelular. Os domínios mais distais ($\alpha 1$ e $\beta 1$ aminoterminais) formam a fenda da ligação dos peptídeos, estruturalmente semelhantes a de classe I, e capazes de acomodar antígenos peptídicos de 10-20 aminoácidos de extensão (MORRIS, 2008).

2.5 Nomeclatura do Sistema HLA

A nomenclatura do sistema HLA é normatizada por um comitê internacional que se reúne regularmente para atribuir novos nomes aos genes recentemente descobertos ou para mudar a nomenclatura vigente (ALVES et al, 2006). Inicialmente, a tipificação do HLA era feita sorologicamente pela identificação apenas do antígeno, sendo que nesse método o alelo é descrito pela sigla HLA seguida por uma ou duas letras maiúsculas que representam o *locus* gênico e por um ou dois algarismos que representam o gene (p. ex. HLA-A1, HLA-DR4, HLA-B2) (MONTEAGUDO, 2014)

Com a evolução da classificação por métodos de biologia molecular, foi possível a detecção do alelo específico e não apenas do antígeno, aumentando a sua variedade. Os alelos são representados pela letra do *locus* seguida por um asterisco (que identifica o método como sendo de biologia molecular) e por dois a oito dígitos (p.ex, HLA DRB1*1501, A*0101). Os dois dígitos iniciais definem a família sorológica à qual pertence o alelo; o terceiro e o quarto especificam o alelo dentro da família; o quinto e o sexto dígitos descrevem variações do alelo e o sétimo e oitavo descrevem variações nos íntrons (regiões 5' ou 3' do gene) (DONADI, 2000).

A nomenclatura de alelos HLA de classe II é feita com a designação do HLA e seu *locus* gênico, acrescentam-se a letra “A” ou “B” para representar as cadeias polimórficas alfa ou beta do HLA-DR e HLA-DQ e a letra “B” para representar a cadeia polimórfica beta do HLA-DP (por exemplo, HLA-DQA, HLA-DRB, HLA-DPB). Em seguida, como definido para o HLA de classe I, quatro a oito dígitos são adicionados após um asterisco (por exemplo, HLA-DRB1*0101) (ALVES et al, 2006).

2.6 Polimorfismo do HLA

Dentro de uma mesma espécie, os cromossomos homólogos são bastante similares, contudo, em determinadas localizações (*loci*) pode haver variabilidade na sequência de nucleotídeos dos genes. Se essa variação é encontrada na população em uma frequência superior a 1%, denomina-se polimorfismo (ALVES et al, 2006). Assim, um determinado gene pode ter uma sequência diferente em indivíduos distintos da mesma espécie resultando ou não em uma sequência diferente de aminoácidos na proteína (DONADI, 2000). Os polimorfismos também são responsáveis pela diversidade humana, já que diferentes fenótipos são

decorrentes de diferentes polimorfismos, como o sistema ABO, Rh e o sistema HLA (ROCHA et al, 2007).

No sistema HLA, uma de suas principais características é o extenso grau de polimorfismo mostrado em diferentes *loci*. Um gene particular pode existir em formas ligeiramente diferentes em indivíduos distintos. Essas formas são chamadas de alelos, e surgem quando o gene para uma determinada proteína modifica-se fornecendo outra sequência diferente de DNA, resultando em uma sequência diferente de aminoácidos na proteína (CHOO, 2007). Muitas dessas mutações são perdidas por acaso ou porque a proteína modificada não funciona tão bem quanto a original. Quando um gene apresenta diferentes alelos, diz-se que ele é polimórfico, sendo que as formas da proteína codificada pelos diferentes alelos diferem por um ou poucos aminoácidos (WOOD, 2013).

O estudo dos diversos alelos do sistema HLA em diversos grupos étnicos aponta para conversão gênica e as mutações de ponto como principais mecanismos de geração da diversidade alélica, sendo que os locais de maior polimorfismo estão nas regiões das cadeias alfa e beta, que estão em contato com peptídeos antigênicos (DONADI, 2000). Uma explicação razoável para essa observação é que a diversidade alélica tenha sido gerada em decorrência da interação com os agentes patogênicos, havendo a seleção de moléculas induzidas pelos patógenos (DONADI, 2000).

O polimorfismo não é uniformemente distribuído ao longo da molécula, estando mais concentrado na região da fenda de ligação peptídica, alterando a especificidade de ligação do peptídeo a molécula do HLA, sendo que a distribuição e frequência dos diferentes alelos HLA variam muito entre os diferentes grupos étnicos, tendo sido postulado que a pressão seletiva por diferentes agentes infecciosos em diferentes áreas geográficas sejam responsáveis pelo aparecimento desses polimorfismos. (CHOO, 2007).

2.7 Polimorfismos genéticos do HLA e a Esclerose Múltipla – Revisão Sistemática e Meta-análise

Os genes do complexo HLA são altamente polimórficos, com vários de seus alelos implicados na susceptibilidade e/ou proteção a várias doenças autoimunes. Forte associação dos alelos DQB1*0602, DQA1*0102 e DRB1*1501 que compõem o haplótipo DR2, no desenvolvimento da EM na população caucasiana tem sido descrita. Contudo, o alelo

DQB1*0602 parece conferir susceptibilidade à doença, mesmo na ausência da expressão dos alelos DQA1*0102, DRB1*1501 (CARVALHO et al, 2003).

O alelo DRB1*1501 já foi associado à doença em pacientes caucasianos na América do Norte e Norte da Europa, enquanto os alelos DRB1*1501, DRB1*0301 e DRB1*0401 parecem ser os responsáveis pela doença na Sardenha. O alelo HLA-DRB1*04 é descrito como relacionado à doença em outras regiões do mundo, como Turquia e Ilhas Canárias (BRUM et al, 2007). Devido ao forte desequilíbrio de ligação entre os alelos das regiões DR e DQ, ainda não é consenso qual alelo está primariamente associado ao risco de desenvolver EM. Contudo, os alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 são os mais estudados dentro do sistema HLA, sendo os resultados muitas vezes divergentes e conflitantes (KAUSHANSKY et al, 2009).

Como a distribuição dos alelos do sistema HLA difere entre as populações, a melhor abordagem para se tentar resolver esse obstáculo genético seria por meio da análise e comparação de um grande número de haplótipos de pacientes com Esclerose Múltipla em populações bem distintas. No entanto, estudos que avaliam a associação entre o HLA e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nos diversos grupos étnicos, em geral, usam pequenos coortes, metodologias diferentes para análise molecular, diferentes critérios para a inclusão de casos e controles e métodos estatísticos diferentes para avaliar a associação. Como consequência, os resultados são muitas vezes inconclusivos ou contraditórios (OKSENBERG et al, 2004).

Neste contexto, as revisões sistemáticas e meta-análises têm se tornado cada vez mais importante na área científica, pois resumem e sintetizam os resultados de uma grande quantidade de estudos científicos. Contudo, não substituem a necessidade de realização de trabalhos e estudos randomizados que são importantes como fonte de novos conhecimentos (GREEN, 2005).

A revisão sistemática da literatura médica refere-se a uma revisão planejada da literatura científica, utilizando métodos sistemáticos para identificar, selecionar e avaliar criticamente estudos relevantes sobre uma questão claramente formulada, reduzindo assim os vieses de uma revisão não sistemática (SOUSA; RIBEIRO, 2008). São de particular importância quando se avalia uma série de estudos realizados separadamente a respeito de um determinado tema, com resultados similares ou contraditórios, sendo úteis ao sintetizar os dados obtidos nos diversos trabalhos (LOVATTO et al, 2007)

A meta-análise é um método que combina resultados de vários estudos para melhorar a potência estatística dos resultados das pesquisas isoladas, sendo bastante utilizada na área médica, na qual geralmente, muitos estudos são conduzidos em grupos populacionais pequenos, decorrentes da raridade do evento (GREEN, 2005). A meta-análise avalia de modo simultâneo, os resultados de várias investigações sobre um mesmo tema, aumentando o nível de confiança nas inferências estatísticas. O seu emprego também se justifica porque muitos estudos sobre um mesmo tema podem apresentar concordância, enquanto outros são discordantes, gerando desconforto e insegurança acerca das conclusões apresentadas (LOVATTO et al, 2007)

O grande número de estudos de casos que investigaram a associação entre a presença dos alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla e as constantes divergências entre os resultados apresentados nesses estudos justificam a realização de uma revisão sistemática e meta-análise. Uma vez que se trata de uma doença rara, existe um nível de insegurança grande acerca das inferências estatísticas e muitas controvérsias são apontadas nos estudos isolados.

No caso específico dos alelos avaliados no presente estudo e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla, uma revisão sistemática e meta-análise possibilitaria vencer a reduzida força estatística própria dos estudos isolados acerca desta associação, e por métodos estatísticos apropriados, as possíveis associações entre a presença dos alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla poderiam ser mais bem elucidadas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Investigar por meio de uma revisão sistemática e meta-análise a contribuição dos alelos HLA DRB1*1501 e DQB1*0602 no risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo.

3.2 Objetivos Específicos

- Revisar os principais estudos que investigaram a associação dos alelos HLA DRB1*1501 e DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo.

- Descrever a frequência dos alelos HLA DRB1*1501 e DQB1*0602 nos pacientes com Esclerose Múltipla e em grupos controle nas diferentes populações do mundo.

- Avaliar a associação dos alelos HLA DRB1*1501 e DQB1*0602 com o risco de desenvolver Esclerose Múltipla.

4 METODOLOGIA

No presente trabalho, uma revisão sistemática das principais publicações encontradas na base de dados eletrônicas PUBMED foi realizada de forma independente por dois pesquisadores.

A pesquisa foi realizada em 29/04/2014, utilizando os termos HLA, MULTIPLE SCLEROSIS, DR, DQ, com período de publicação entre 1990 e 2014 correspondendo aos últimos 24 anos de pesquisas sobre o assunto. As pesquisas na base de dados identificaram um total de 173 artigos com potencial de inclusão na revisão. Com a revisão já em andamento, uma nova busca na base de dados PUBMED foi realizada em 25/05/2014 utilizando-se os termos HLA, MULTIPLE SCLEROSIS, BRAZIL com o objetivo de encontrar artigos específicos sobre temas publicados por autores brasileiros, sendo identificados mais nove artigos com publicações entre 1999 e 2014, perfazendo um total de 182 artigos utilizados inicialmente para o trabalho.

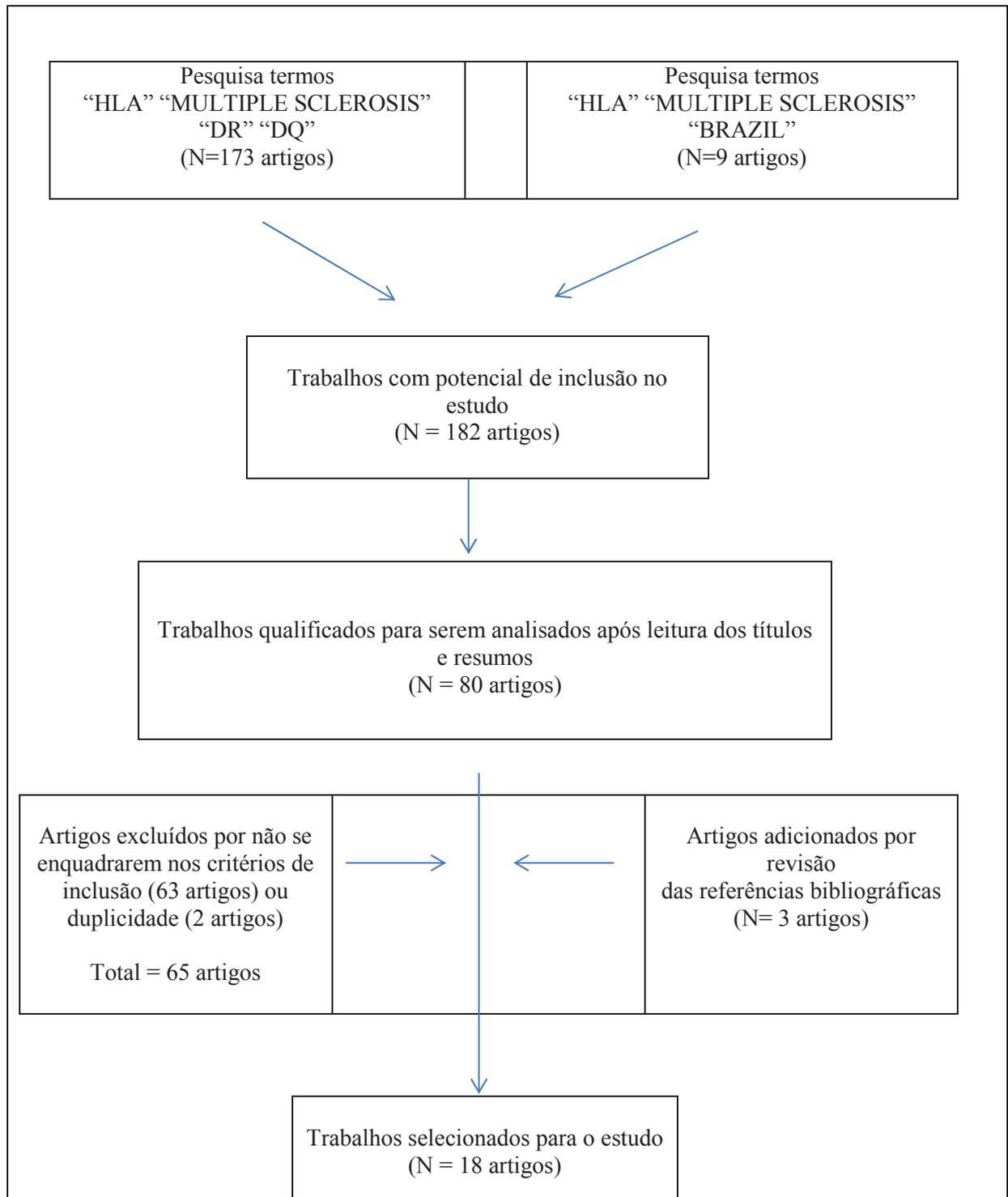
Após leitura dos títulos e resumos dos 182 artigos, 102 artigos foram excluídos, pois não estavam relacionados à associação entre os alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 e o risco desenvolver EM, sendo então selecionados 80 artigos para leitura na íntegra. Dois examinadores leram e avaliaram os artigos quanto aos critérios de inclusão e exclusão, sendo 76 artigos oriundos da primeira pesquisa e 4 artigos da segunda. Após a leitura na íntegra dos 80 artigos, 15 artigos preencheram os critérios de inclusão. Além disso, foi feita uma revisão das referências bibliográficas de todos os artigos lidos com o objetivo de ampliar a busca, o que resultou na adição de três novos artigos, restando no final em 18 artigos que preencheram os critérios de inclusão e foram selecionados para a revisão sistemática e meta-análise.

Os critérios de inclusão utilizados foram: (1) Diagnóstico de Esclerose Múltipla definidos pelos critérios de Poser ou MacDonald; (2) Estudo tipo caso-controle; (3) Análise dos polimorfismos do HLA DRB1*1501 e DQB1*0602 utilizando técnicas de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase) e outros métodos moleculares como hibridização ou sequenciamento gênico, independente da análise de outros polimorfismos HLA ou não-HLA; (4) Publicação em língua inglesa; (5) Ano de publicação entre 1990 e 2014; (6) Apresentação da frequência alélica dos polimorfismos avaliados ou de dados brutos que permitissem o seu cálculo; (7) Possibilidade de avaliar a frequência dos alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 de forma isolada.

Foram excluídos os artigos que não obedeciam a todos os critérios de inclusão, ou aqueles nos quais havia impossibilidade de extrair dados que permitissem calcular a frequência alélica, ou com impossibilidade de avaliação isolada dos alelos DRB1*1501 e DQB1*0602.

As seguintes informações foram coletadas de cada estudo: (1) autor (último nome do primeiro autor); (2) ano de publicação; (3) país ou área onde o estudo foi realizado; (4) número de casos; (5) número de controles; (6) frequência alélica (DRB1*1501 e/ou DQB1*0602). Os estudos encontrados foram lidos por dois examinadores e avaliados quanto aos critérios de qualidade, à metodologia, à análise estatística e às conclusões apresentadas. O presente estudo não foi submetido à aprovação de um comitê de ética em pesquisa, visto que os trabalhos selecionados já haviam sido devidamente aprovados pelos seus respectivos comitês.

Figura 7 - Fluxograma da pesquisa de artigos científicos nas bases de dados disponíveis



No contexto da meta-análise, é importantes avaliar a heterogeneidade entre os estudos agrupados, pois a natureza distinta dos diferentes estudos, em termos de delineamento e em relação aos métodos empregados em cada um é o principal obstáculo na combinação de resultados. A heterogeneidade é definida como a diversidade entre os estudos, podendo interferir fortemente nos resultados e pode ser avaliada pelo teste do χ^2 de heterogeneidade (SOUSA; RIBEIRO, 2008). Assim, os achados de todos os artigos foram agrupados em tabela única e a diversidade foi avaliada com o emprego do teste do χ^2 de heterogeneidade, com intervalo de confiança de 95%, determinada em seus respectivos estudos.

Caso o teste do χ^2 de heterogeneidade revele um p-valor $> 0,05$, a hipótese nula é confirmada, ou seja, os estudos são homogêneos. Recomenda-se então utilizar os testes de efeito fixo que pressupõem que todos os estudos apontam em uma mesma direção. Neste contexto, o mais utilizado é o teste de Mantel-Haenszel. Por outro lado, se o teste do χ^2 de heterogeneidade resultar em um valor $< 0,05$, isso indica diversidade e heterogeneidade entre os estudos. Desta forma, recomenda-se o uso de testes de efeito randômico ou aleatório, como o testes de *DerSimonian-Laird* (HAIDICH, 2010)

Testes globais de associação foram então utilizados para avaliar a significância das correlações e os valores de cada estudo foram combinados com testes de efeitos fixo e randômico. Tanto para testes de efeito fixo quanto para os de efeito randômico, calculam-se as *Odds Ratios*, seus intervalos de confiança (95%) e os pesos para cada estudo individualmente e combinados, gerando a estimativa de efeito conjunto. Estudos com maior poder estatístico, ou seja, com maior população e maior efeito de intervenção, possuirão maior peso (HAIDICH, 2010).

Adicionalmente, gráficos do tipo *forest plot* foram elaborados para os testes. A vantagem destes gráficos é sumarizar no mesmo espaço todas as informações sobre o efeito e a contribuição de cada estudo para a análise.

Neste tipo de gráfico, cada linha representa um estudo, sendo que a última, no formato de um losango, representa a combinação dos resultados. O resultado de cada estudo é descrito nas formas gráfica e numérica. Na forma gráfica, os quadrados centrais representam o risco relativo (RR) ou a razão de riscos e os traços, os intervalos de confiança (IC). Quando o IC não ultrapassa a linha de nulidade (posição 1.0 no gráfico), pode-se afirmar que o estudo é estatisticamente significativo, tanto isoladamente quanto para o valor combinado (SOUSA; RIBEIRO, 2008). Como o agrupamento de todos os estudos revelou homogeneidade, aplicou-se o teste de efeito randômico de *DerSimonian-Laird*

5. RESULTADOS

5.1 Revisão Sistemática

5.1.1 Descrição dos Estudos

Foram encontrados na literatura 18 artigos que preencheram os critérios de inclusão para esta revisão sistemática (quadro 4), com período de publicação entre 1990 e 2014 e um total de 1.631 casos e 2.322 controles analisados em conjunto.

Dentre os estudos incluídos, 15 estudos avaliaram a frequência dos alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 conjuntamente e três estudos avaliaram apenas o alelo DQB1*0602, perfazendo um total de 15 estudos que avaliaram a frequência do alelo DRB1*1501 (quadro 5) e 18 estudos que avaliaram o alelo DQB1*0602 (quadro 6).

Quanto aos grupos populacionais estudados, observaram-se três estudos brasileiros (CABALLERO et al, 1993; CARVALHO et al, 2003; ALVES-LEON et al, 2007), um norueguês (SPURKLAND et al, 1991a), dois japoneses (SPURKLAND et al, 1991b; HAO et al, 1992), dois chineses (SERJEANTSON et al, 1992; KELLY et al, 1995b), um italiano (CIUSANI et al, 1995), um inglês (KELLY et al, 1995b), dois espanhóis (CONCHA et al, 1995; FERNANDEZ et al; 2009), um turco (DIRESKENELI et al, 1997), um australiano (STEWUART et al, 1997), um israelense (KWON et al, 1999), um alemão (ZIPP et al, 2000), um indiano (KELLY et al, 1995a) e um martinicano (KELLY et al, 1995a). Um desses estudos (Kelly et al, 1995a), realizado no Reino Unido, analisou a população indiana e caribenha residentes naquele país e outro estudo (KELLY et al, 1995b) foi realizado conjuntamente entre pesquisadores do Reino Unido e China estudando a população inglesa e chinesa separadamente.

No presente estudo, artigos de 14 países foram selecionados, havendo uma predominância de estudos no continente Asiático, com a população de seis países avaliados (Japão, China, Turquia, Israel, Irã e Índia), dois na América (Brasil e Martinica), cinco na Europa (Noruega, Itália, Reino Unido, Espanha e Alemanha) e um na Oceania (Austrália). Nenhum estudo realizado no continente africano foi selecionado.

Em um dos estudos (Kelly et al, 1995b), os números dos grupos caso e controle selecionados inicialmente não correspondiam ao número de casos e controles submetidos à análise molecular, assim a frequência alélica analisada estatisticamente corresponde aos casos e controles que tiveram análise molecular concluída.

Quadro 4. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise

N	AUTOR	LOCAL	CASO (n)	C0NTROLE (n)	ALELOS
1	Spurkland et al, 1991a	Noruega	69	181	DQB1*0602
2	Spurkland et al, 1991b	Japão	24	23	DRB1*1501 DQB1*0602
3	Serjeantson et al, 1992	China	11	36	DRB1*1501 DQB1*0602
4	Hao et al, 1992	Japão	49	44	DRB1*1501 DQB1*0602
5	Caballero et al, 1993	Brasil	44 (mulatos)	88 (mulatos)	DRB1*1501 DQB1*0602
6	Ciusani et al, 1995	Itália	94	98	DRB1*1501 DQB1*0602
7	Kelly et al, 1995a	Reino Unido	70 (40 Indianos e 30 Caribenhos)	178 (87 Indianos e 91 Caribenhos)	DQB1*0602
8	Kelly et al, 1995b	Reino Unido/China	159 (111 Ingleses e 48 Chineses)	209 (115 Ingleses e 94 Chineses)	DRB1*1501 DQB1*0602
9	Concha et al, 1997	Espanha	135	168	DRB1*1501 DQB1*0602
10	Direskeneli et al, 1997	Turquia	103	101	DRB1*1501 DQB1*0602
11	Stewart et al, 1997	Austrália	100	100	DRB1*1501 DQB1*0602
12	Kwon et al, 1999	Israel	162 (104 Ashkenazi e 58 não Ashkenazi)	252 (132 Ashkenazi e 120 não Ashkenazi)	DRB1*1501 DQB1*0602
13	Zipp et al, 2000	Alemanha	66	210	DRB1*1501 DQB1*0602
14	Carvalho et al, 2003	Brasil	26	54	DQB1*0602
15	Quelvennec et al, 2003	Martinica	55	100	DRB1*1501 DQB1*0602
16	Alves-Leon, 2007	Brasil	84 (44 mulatos/40 brancos)	180 (88 mulatos/92 brancos)	DRB1*1501 DQB1*0602
17	Ghabaee et al, 2009	Irã	183	100	DRB1*1501 DQB1*0602
18	Fernández et al, 2009	Espanha	197	200	DRB1*1501 DQB1*0602
TOTAL			1.631 casos	2.322 controles	

Quadro 5 . Estudos que avaliaram a frequência do alelo DRB1*1501 em pacientes com Esclerose Múltipla e controles

N	AUTOR	LOCAL	CASOS		CONTROLE		OR	IC
			Alelo + (%)	Alelo – (%)	Alelo + (%)	Alelo – (%)		
1	Spurkland et al, 1991b	Japão	4 (17)	20 (83)	2 (9)	21 (91)	--	--
2	Serjeantson et al, 1992	China	8 (72,7)	3 (27,3)	20 (55,6)	16 (44,4)	--	--
3	Hao et al, 1992	Japão	11 (22,5)	38 (77,5)	5 (11,4)	39 (88,6)	--	--
4	Caballero et al, 1993	Brasil	3 (6,8)	41 (93,2)	1 (1,1)	87 (98,9)	--	--
5	Ciusani et al, 1995	Itália	15 (15,9)	79 (84,1)	11 (11,2)	87 (88,8)	--	--
6	Kelly et al, 1995b	China/Reino Unido	9 (18,8) ¹ 60 (54,1) ²	39 (81,2) 51 (45,9)	19 (20,2) 20 (17,4)	75 (79,8) 95 (82,6)	-- --	-- --
7	Concha et al, 1997	Espanha	41 (30)	94 (70)	29 (17)	139 (83)	2.09	--
8	Direskeneli et al, 1997	Turquia	29 (28,2)	74 (71,8)	14 (13,9)	87 (86,1)	2.4	--
9	Stewart et al, 1997	Australia	87 (66,7)	43 (43)	17 (17)	83 (83)	6.47	--
10	Kwon et al, 1999	Israel	24 (23,1) ³ 10 (17,2) ⁴	80 (76,9) 48 (82,8)	7 (5,3) 7 (5,8)	125 (94,7) 113 (94,2)	5.36 3.36	
11	Zipp et al, 2000	Alemanha	38 (57,6)	28 (42,4)	54 (25,7)	156 (74,3)	--	--
12	Quelvenec et al, 2003	Martinica	6 (11)	49 (89)	3 (3)	97 (97)	--	--
13	Alves-Leon et al, 2007	Brasil	16 (40) ⁵ 3 (6,8) ⁶	24 (60) 41 (93,2)	11 (12) 1 (1,1)	81 (88) 87 (98,1)	-- --	-- --
14	Ghabaee et al, 2009	Irã	82 (46)	96 (54)	12 (20)	46 (80)	--	--
15	Fernández et al, 2009	Espanha	76 (38,6)	121 (61,4)	51 (25,5)	149 (24,5)	1.83 5	1.196– 2.816
TOTAL			522 (35)	969 (65)	284 (15,2)	1583 (84,8)	--	--

¹ Grupo Chinês ² Grupo Inglês ³ Grupo Ashkenazi ⁴ Grupo Não-Ashkenazi

⁵ Grupo Caucasiano ⁶ Grupo Mulato

Quadro 6. Estudos que avaliaram frequência do alelo DQB1*0602 em pacientes com Esclerose Múltipla e controles

N	AUTOR	LOCAL	CASOS		CONTROLE		OR	IC
			Alelo + (%)	Alelo - (%)	Alelo + (%)	Alelo - (%)		
1	Spurkand et al, 1991(a)	Noruega	50 (72)	19 (28)	60 (33)	121 (67)	--	--
2	Spurkland et al, 1991 (b)	Japão	4 (17)	20 (83)	2 (9)	21 (91)	--	--
3	Serjeantson et al, 1992	China	6 (54,5)	5 (45,5)	6 (16,7)	30 (83,3)	--	--
4	Hao et al, 1992	Japão	11 (22,5)	38 (77,5)	3 (6,8)	41 (93,2)	--	--
5	Caballero et al, 1993	Brasil	18 (41)	26 (59)	15 (17)	73 (83)	3.3	--
6	Ciusani et al, 1995	Itália	9 (9,6)	85 (90,4)	3 (3,1)	95 (96,9)	3.32	--
7	Kelly et al, 1995 (a)	Reino Unido	6 (15) ¹ 15 (55,5) ²	34 (85) 12 (44,5)	4 (4,4) 32 (36,8)	87 (95,6) 55 (63,2)	--	--
8	Kelly et al, 1995 (b)	China/Reino Unido	7 (14,9) ³ 56 (52,3) ⁴	40 (85,1) 51 (47,7)	12 (13,8) 19 (17,3)	75 (86,2) 91 (82,7)	-- --	-- --
9	Concha et al, 1997	Espanha	41 (30)	94 (70)	38 (23)	130 (77)	--	--
10	Direskeneli et al, 1997	Turquia	27 (26,2)	76 (73,8)	10 (9,9)	91 (90,1)	3.2	--
11	Stewart et al, 1997	Austrália	54 (54)	46 (46)	18 (18)	82 (82)	5.35	--
12	Kwon et al, 1999	Israel	20 (19,2) ⁵ 8 (13,8) ⁶	84 (80,8) 50 (86,2)	11 (8,3) 6 (5)	121 (91,7) 114 (95)	2.62 --	-- --
13	Zipp et al, 2000	Alemanha	39 (61,9)	24 (38,1)	39 (18,6)	171 (81,4)	--	--
14	Carvalho et al, 2003	Brasil	15 (58)	11 (42)	22 (40)	32 (60)	--	--
15	Quelvenec et al, 2003	Martinica	27 (49)	28 (51)	29 (29)	71 (71)	2.4	--
16	Alves-Leon et al, 2007	Brasil	16 (40) ⁷ 18 (45) ⁸	24 (60) 26 (41)	12 (13) 15 (17)	80 (87) 73 (83)	-- --	-- --
17	Ghabaee et al, 2009	Irã	43 (24)	135 (76)	17 (30)	41 (70)	--	--
18	Fernández et al, 2009	Espanha	76 (38,6)	121 (61,4)	49 (24,5)	151 (75,5)	1.93	1.25–2.98
TOTAL			566 (35,5)	1029 (64,5)	422 (18,6)	1846 (81,4)	--	--

¹ Grupo Indiano ² Grupo Caribenho ³ Grupo Chinês ⁴ Grupo Inglês

⁵ Grupo Ashkenazi ⁶ Grupo Não-Ashkenazi ⁷ Grupo Caucasiano ⁸ Grupo Mulato

5.1.2. Associações entre o alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla

Quinze estudos avaliaram a associação entre o alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diferentes populações (quadro 7), sendo que em praticamente todos eles, exceto no estudo chinês (KELLY et al, 1995b) foi encontrado uma frequência alélica consideravelmente maior no grupo de casos do que nos controle.

Quadro 7: Estudos que avaliaram a associação entre o alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diferentes populações do mundo.

N	AUTOR	LOCAL	ASSOCIAÇÃO
1	Spurkland et al, 1991b	Japão	NÃO ASSOCIADO
2	Serjeantson et al, 1992	China	NÃO ASSOCIADO
3	Hao et al, 1992	Japão	NÃO ASSOCIADO
4	Caballero et al, 1993	Brasil	MULATO - NÃO ASSOCIADO
5	Ciusani et al, 1995	Itália	NÃO ASSOCIADO
6	Kelly et al, 1995b	Reino Unido/China	INGLÊS – ASSOCIADO CHINÊS – NÃO ASSOCIADO
7	Concha et al, 1997	Espanha	ASSOCIADO
8	Direskeneli et al, 1997	Turquia	ASSOCIADO
9	Stewart et al, 1997	Austrália	ASSOCIADO
10	Kwon et al, 1999	Israel	ASHKENAZI – ASSOCIADO NÃO ASHKENAZI - ASSOCIADO
11	Zipp et al, 2000	Alemanha	ASSOCIADO
12	Quelvenec et al, 2003	Martinica	NÃO ASSOCIADO
13	Alves-Leon et al, 2007	Brasil	CAUCASIANO – ASSOCIADO MULATO – NÃO ASSOCIADO
14	Ghabae et al, 2009	Irã	ASSOCIADO
15	Fernández et al, 2009	Espanha	NÃO ASSOCIADO

Dentre os estudos que investigaram as possíveis associações entre a presença do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla, foi demonstrada associação estatisticamente significativa no Reino Unido (KELLY et al, 1995b), Espanha (CONCHA et al, 1997), Turquia (DIRESKENELI et al, 1997), Austrália (STEWART et al, 1997), população ashkenazi e não-ashkenazi de Israel (KWON et al, 1999), Alemanha (ZIPP et al, 2000), população caucasiana no Brasil (ALVES-LEON et al, 2007) e Irã (GHABAE et al, 2009).

Associação estatisticamente significativa não foi demonstrada entre o alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla no Japão (SPURKLAND et al, 1991b; HAO et al, 1992), China (SERJEANTSON et al, 1992; KELLY et al, 1995b), Martinica (QUELVENEC et al, 2003), Espanha (FERNANDEZ et al, 2009), população

afrodescendente do Brasil (CABALLERO et al, 1993; ALVES-LEON et al, 2007) e Itália (CIUSANI et al, 1995).

Além disso, os estudos na população espanhola foram discordantes, com um estudo que demonstrou associação entre a presença do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver EM (CONCHA et al, 1997) e outro que não demonstrou tal associação (FERNANDEZ et al, 2009). No Brasil, os resultados também são conflitantes e os estudos realizados (CABALLERO et al, 1993; ALVES-LEON et al, 2007) não demonstraram associação significativa entre o alelo DRB1*1501 e risco da doença apenas na população de origem afrodescendente, sendo significativa a associação na população de origem caucasiana (ALVES-LEON et al, 2007).

5.1.3 Associações entre o alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla

Dezoito estudos avaliaram a associação entre o alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diferentes populações do mundo (quadro 8).

Quadro 8: Estudos que avaliaram a associação entre o alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diferentes populações do mundo.

N	AUTOR	LOCAL	ASSOCIAÇÃO
1	Spurkand et al, 1991a	Noruega	ASSOCIADO
2	Spurkland et al, 1991b	Japão	NÃO ASSOCIADO
3	Serjeantson et al, 1992	China	ASSOCIADO
4	Hao et al, 1992	Japão	ASSOCIADO
5	Caballero et al, 1993	Brasil	MULATO - ASSOCIADO
6	Ciusani et al, 1995	Itália	NÃO ASSOCIADO
7	Kelly et al, 1995a	Reino Unido	INDIANO – ASSOCIADO CARIBENHO – NÃO ASSOCIADO
8	Kelly et al, 1995b	Reino Unido/China	INGLÊS – ASSOCIADO CHINÊS – NÃO ASSOCIADO
9	Concha et al, 1997	Espanha	NÃO ASSOCIADO
10	Direskeneli et al, 1997	Turquia	ASSOCIADO
11	Stewart et al, 1997	Austrália	ASSOCIADO
12	Kwon et al, 1999	Israel	ASHKENAZI – ASSOCIADO NÃO ASHKENAZI – NÃO ASSOCIADO
13	Zipp et al, 2000	Alemanha	ASSOCIADO
14	*Carvalho et al, 2003	Brasil	NÃO ASSOCIADO
15	Quelvennec et al, 2003	Martinica	NÃO ASSOCIADO
16	Alves-Leon et al, 2007	Brasil	CAUCASIANO – ASSOCIADO MULATO - ASSOCIADO
17	Ghabae et al, 2009	Irã	NÃO ASSOCIADO
18	Fernández et al, 2009	Espanha	ASSOCIADO

*No estudo CARVALHO et al (2003) não houve distinção na cor dos grupo caso e controle.

Associação estatisticamente significativa entre a presença do alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla foi demonstrada na Noruega (SPURKLAND et al, 1991a), Japão (HAO et al, 1992), China (SERJEANTSON et al, 1992), população indiana residente na Inglaterra (KELLY et al, 1995a), Inglaterra (KELLY et al, 1995b), Turquia (DIRESKENELI et al, 1997), Austrália (STEWART et al, 1997), em judeus de origem ashkenazi em Israel (KWON et al, 1999), Alemanha (ZIPP et al, 2000), população caucasiana e afrodescendente no Brasil (CABALLERO et al, 1993; ALVES-LEON et al, 2007) e Espanha (FERNANDEZ et al, 2009).

Não foi demonstrada associação estatisticamente significativa entre o alelo DRB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla no Japão (SPURKLAND et al, 1991b), população caribenha residente Inglaterra (KELLY et al, 1995a), China (KELLY et al, 1995b), Itália (CIUSANI et al, 1995), Espanha (CONCHA et al, 1997), judeus de origem não

ashkenazi em Israel (KWON et al, 1999), Brasil (CARVALHO et al, 2003), Martinica (QUELVENNEC et al, 2003) e Irã (GHABAEE et al, 2009).

No caso da Martinica (QUELVENNEC et al, 2003), o estudo demonstrou inicialmente associação entre o risco de desenvolver EM e a presença do alelo DQB1*0602, entretanto, após correção estatística, a associação tornou-se não significativa. Além disso, os estudos na população japonesa, espanhola, chinesa e brasileira foram discordantes, havendo trabalhos que demonstraram associação entre o alelo DQB1*0602 e risco de desenvolver EM (HAO et al, 1992; SERJEANTSON et al, 1992; CABALLERO et al, 1993; ALVES-LEON et al, 2007; FERNANDEZ et al, 2009), enquanto outros não demonstraram tal associação (SPURKLAND et al, 1991b; KELLY et al, 1995b; CONCHA et al, 1997; CARVALHO et al, 2003). No Brasil, os estudos realizados demonstraram associação significativa entre o alelo DQB1*0602 e a população caucasiana (ALVES-LEON et al, 2007) e afrodescendente (CABALLERO et al, 1993; ALVES-LEON et al, 2007), resultado que não foi demonstrado no estudo de CARVALHO et al, 2003. Contudo, o mesmo estudo não faz distinção entre a cor/raça dos indivíduos na composição dos grupos caso e controle.

5.2 Meta-Análise

5.2.1 Descrição dos Estudos

Dezoito estudos preencheram os critérios de inclusão para esta meta-análise, sendo que entre os estudos incluídos, 15 avaliaram a frequência do alelo DRB1*1501 (quadro 5) e 18 estudos avaliaram o alelo DQB1*0602 (quadro 6).

5.2.2 Estudos incluídos na meta-análise que avaliaram a associação do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo.

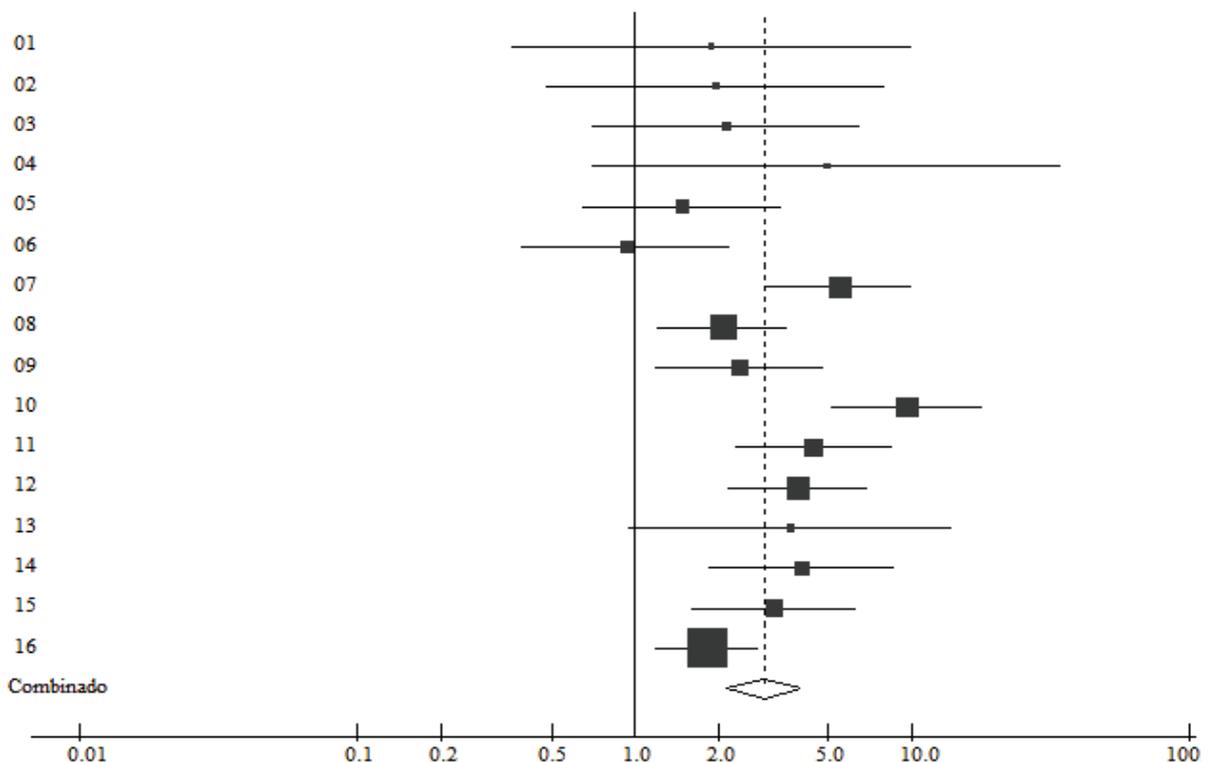
Quinze estudos avaliaram a associação entre a presença do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo (Quadro 9 e Figura 8), Uma associação estatisticamente significativa entre a presença do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla foi demonstrada nesta meta-análise (OR combinada = 2,934, 95% IC: 2,154 – 3,998, $p < 0,0001$).

Quadro 9. Estudos incluídos na meta-análise que avaliaram a associação entre a presença do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo

N	Autor	Ano	Local	Caso				Controle				OR	IC 95%		Peso
				DRB1 +	f(%)	DRB1 -	f(%)	DRB1 +	f(%)	DRB1 -	f(%)		Inf	Sup	
1	SPURKLAND(b)	1991	Japão	4	16,7	20	83,3	2	8,7	21	91,3	1,888	0,359	9,931	1,394
2	SERJEANTSON.	1992	China	8	72,7	3	27,3	20	55,6	16	44,4	1,955	0,480	7,954	1,950
3	HAO	1992	Japão	11	22,4	38	77,6	5	11,4	39	88,6	2,145	0,708	6,502	3,124
4	CABALLERO	1993	Brasil	3	6,8	41	93,2	1	1,1	87	98,9	4,920	0,701	34,514	1,012
5	CIUSANI	1995	Itália	15	16,0	79	84,0	11	11,2	87	88,8	1,483	0,653	3,372	5,699
6	KELLY(b)	1995	China	9	18,8	39	81,3	19	20,2	75	79,8	0,931	0,392	2,213	5,125
7	KELLY(b)	1995	Reino Unido	60	54,1	51	45,9	20	17,4	95	82,6	5,473	2,989	10,019	10,504
8	CONCHA	1997	Espanha	41	30,4	94	69,6	29	17,3	139	82,7	2,077	1,211	3,562	13,202
9	DIRESKENELI	1997	Turquia	29	28,2	74	71,8	14	13,9	87	86,1	2,389	1,186	4,814	7,814
10	STEWART	1997	Austrália	87	66,9	43	33,1	17	17,0	83	83,0	9,598	5,108	18,033	9,658
11	KWON	1999	Israel	34	21,0	128	79,0	14	5,6	238	94,4	4,416	2,306	8,458	9,097
12	ZIPP	2000	Alemanha	38	57,6	28	42,4	54	25,7	156	74,3	3,879	2,185	6,888	11,655
13	QUELVENNEC	2003	Martinica	6	10,9	49	89,1	3	3,0	97	97,0	3,658	0,954	14,022	2,128
14	ALVES-LEON	2007	Brasil	19	22,6	65	77,4	12	6,7	168	93,3	4,013	1,867	8,627	6,558
15	GHABAE	2009	Irã	82	46,1	96	53,9	12	20,7	46	79,3	3,180	1,595	6,342	8,065
16	FERNÁNDEZ	2009	Espanha	76	38,6	121	61,4	51	25,5	149	74,5	1,828	1,193	2,801	21,093
Combinado				522	35,0	969	65,0	284	15,2	1583	84,8	2,934	2,154	3,998	

*No estudo KWON et al, os grupos de judeus Ashkenazi e não-Ashkenazi foram considerados como um só grupo para efeito de cálculo **No estudo ALVES-LEON, os grupos de brasileiros mulatos e caucasianos foram considerados como um só grupo para efeito de cálculo.

Figura 8. Gráfico *Forest plot* para a meta-análise que avaliou a associação entre a presença do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo (OR combinada = 2,934, 95% IC: 2,154 – 3,998, $p < 0,0001$).



5.2.3 Estudos incluídos na meta-análise que avaliaram associação do alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo.

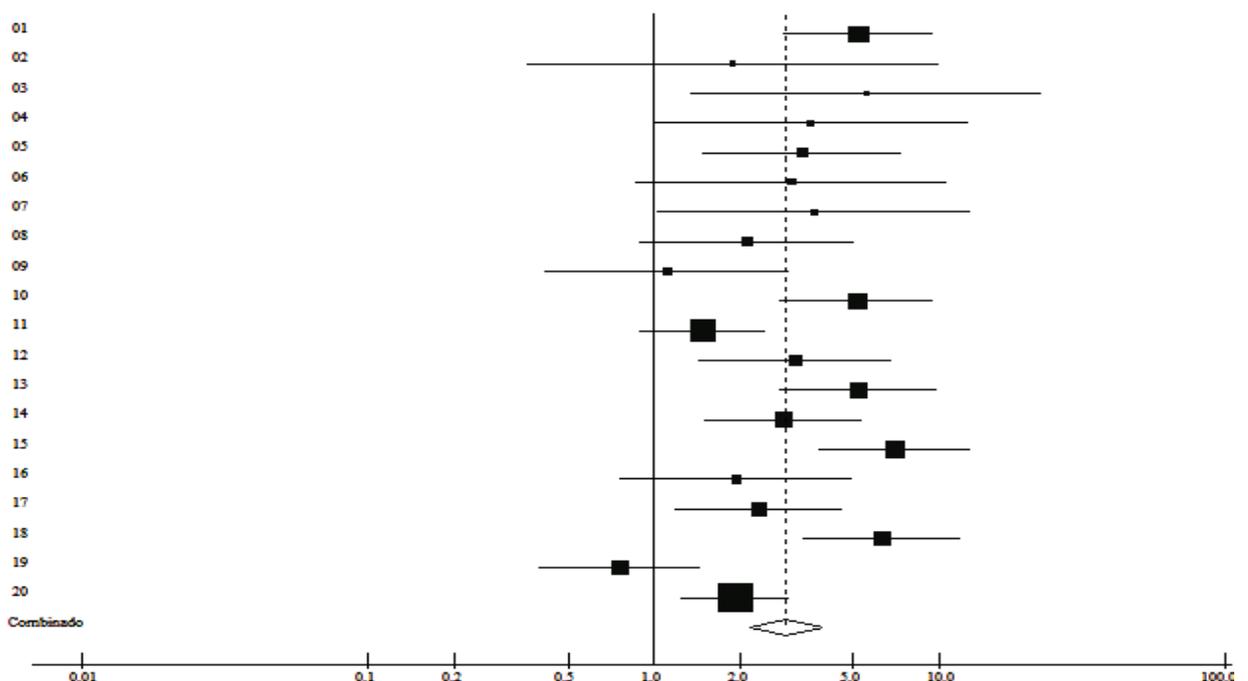
Dezoito estudos avaliaram a associação entre a presença do alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo (Figura 9 e Quadro 10). Uma associação estatisticamente significativa entre a presença do alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla foi demonstrada nesta meta-análise (OR combinada = 2,906, 95% IC: 2,167 – 3,896, $p < 0,0001$).

Quadro 10. Estudos incluídos na meta-análise que avaliaram a associação entre a presença do alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo

1 SPURKLAND(a)	1991	Noruega	50	72,5	19	27,5	60	33,1	121	66,9	5,201	2,835	9,541	10,434
2 SPURKLAND(b)	1991	Japão	4	16,7	20	83,3	2	8,7	21	91,3	1,888	0,359	9,931	1,394
3 SERJEANTSON	1992	China	6	54,5	5	45,5	6	16,7	30	83,3	5,545	1,345	22,862	1,915
4 HAO	1992	Japão	11	22,4	38	77,6	3	6,8	41	93,2	3,542	0,990	12,667	2,366
5 CABALLERO	1993	Brasil	18	40,9	26	59,1	15	17,0	73	83,0	3,310	1,476	7,426	5,885
6 CIUSANI	1995	Itália	9	9,6	85	90,4	3	3,1	95	96,9	3,032	0,860	10,686	2,420
7 KELLY(a)	1995	Reino Unido	6	15,0	34	85,0	4	4,4	87	95,6	3,663	1,034	12,979	2,401
8 KELLY(a)	1995	Reino Unido	15	55,6	12	44,4	32	36,8	55	63,2	2,118	0,895	5,013	5,173
9 KELLY(b)	1995	China	7	14,9	40	85,1	12	13,8	75	86,2	1,119	0,416	2,988	3,980
10 KELLY(b)	1995	Reino Unido	56	52,3	51	47,7	19	17,3	91	82,7	5,148	2,776	9,548	10,068
11 CONCHA	1997	Espanha	41	30,4	94	69,6	38	22,6	130	77,4	1,489	0,892	2,485	14,638
12 DIRESKENELI	1997	Turquia	27	26,2	76	73,8	10	9,9	91	90,1	3,133	1,446	6,787	6,427
13 STEWART	1997	Australia	54	54,0	46	46,0	18	18,0	82	82,0	5,227	2,761	9,895	9,431
14 KWON	1999	Israel	28	17,3	134	82,7	17	6,7	235	93,3	2,852	1,516	5,364	9,624
15 ZIPP	2000	Alemanha	39	61,9	24	38,1	39	18,6	171	81,4	7,000	3,798	12,900	10,280
16 CARVALHO	2003	Brasil	15	57,7	11	42,3	22	40,7	32	59,3	1,947	0,766	4,950	4,411
17 QUELVENNEC	2003	Martinica	27	49,1	28	50,9	29	29,0	71	71,0	2,339	1,188	4,603	8,380
18 ALVES-LEON	2007	Brasil	34	53,1	30	46,9	27	15,0	153	85,0	6,314	3,349	11,903	9,556
19 GHABAEI	2009	Irã	43	24,2	135	75,8	17	29,3	41	70,7	0,761	0,396	1,465	8,960
20 FERNANDEZ	2009	Espanha	76	38,6	121	61,4	49	24,5	151	75,5	1,927	1,254	2,962	20,788
Combinado			566	35,5	1029	64,5	422	18,6	1846	81,4	2,906	2,167	3,896	

*O estudo KELLY et al (a) foi realizado no Reino Unido mas estudou descendentes da população indiana residentes naquele país **O estudo KELLY et al (a) foi realizado no Reino Unido mas estudou descendentes da população caribenha residentes naquele país *** No estudo KWON et al, os grupos de judeus Ashkenazi e não-Ashkenazi foram considerados como um grupo só para efeito de calculo **** No estudo ALVES-LEON, os grupos de brasileiros mulatos e caucasianos foram considerados com um só grupo para efeito de calculo.

Figura 9. Gráfico *Forest plot* para a meta-análise que avaliou a associação entre a presença do alelo DQB1*0602 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo (OR combinada = 2,906, 95% IC: 2,167 – 3,896, $p < 0,0001$).



6 DISCUSSÃO

Esta revisão sistemática e meta-análise avaliaram estudos que investigaram a associação entre a presença dos alelos do HLA classe II DRB1*1501 (15 estudos) e DQB1*0602 (18 estudos) e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo. O grande número de estudos que investigou esta associação, as divergências existentes entre métodos e os resultados apresentados justificaram a realização desta análise, que combinou os dados disponíveis na literatura e investigou as possíveis associações existentes.

Diversos estudos já demonstravam que alelos do HLA classe II (locus DR e DQ) exerciam a maior contribuição genética para a suscetibilidade a doença, mas o mecanismo exato desse risco ainda não era totalmente compreendido (SPURKLAND et al, 1990; CONCHA et al, 1997; QUELVENNEC et al, 2002; ALCINA et al, 2012). A explicação para essa contribuição foi em parte, conferida por meio de modelos para a encefalite autoimune experimental (EAE) em ratos, que demonstraram que um pequeno fragmento da proteína básica da mielina (MPB) (sequência aminoácidos 85-99) seria capaz de se ligar à fenda de ligação da molécula do HLA DRB1*1501/1503, mais precisamente, o polimorfismo na posição 71 do DRB1*1501 (alanina) seria essencial para a ligação com o resíduo de fenilalanina do MPB 85-99 (KAUSHANKY et al, 2009). Contudo, outros autoantígenos candidatos (glicoproteína da mielina do oligodendrócito e proteolípídeo) também podem apresentar sequências de aminoácidos capazes de se ligar à fenda de ligação das moléculas HLA. As moléculas do HLA que se ligam aos resíduos da MBP 85-99 e a outras proteínas (p.ex. PLP, MOG) ao apresentarem esses autoantígenos aos linfócitos T autorreativos, iniciam uma resposta autoimune que acaba destruindo a bainha de mielina neuronal, causando desmielinização em diversas regiões do SNC e levando ao desenvolvimento da Esclerose Múltipla (QUELVENNEC et al, 2003).

Estudos mais recentes, também realizados em ratos para o modelo de encefalite autoimune experimental (EAE) mostraram, à semelhança do alelo DRB1*1501, que o alelo DQB1*0602 também é capaz de desencadear uma resposta autoimune mediada por células T autoreativas quando em contato com epítopos encefalitogênicos da PLP e MOG (KAUSHANKY et al, 2009). Esses resultados fornecem uma base racional para os mecanismos da participação dos alelos do HLA (DRB1*1501 e DQB1*0602) na patogênese da Esclerose Múltipla (KAUSHANSKY; BEN-NUR, 2014).

Diversos estudos genéticos demonstram que o HLA DRB1*1501 é o principal alelo de suscetibilidade à Esclerose Múltipla, sendo essa associação mais forte no Norte da Europa, mas também encontrada em praticamente todas as populações do mundo, com exceção de algumas populações do Mediterrâneo (como a Itália), em que a Esclerose Múltipla parece estar relacionada com o alelo DRB1 (DRB1*04) (HOPPENBROUWERS; HINTZEN, 2011). Os dados apresentados nesta revisão sistemática demonstram que na maioria das populações estudadas existe uma associação significativa entre a presença do alelo DRB1*1501 e o risco de desenvolver Esclerose Múltipla (quadro 7).

Em poucos grupos populacionais, os investigadores não conseguiram demonstrar associação entre o alelo DRB1*1501 e a doença, observando que a maior parte desses estudos foi realizada em populações não europeias e afrodescendentes, como no Japão, China, Martinica e Afrodescendentes Brasileiros (quadro 7). Esses resultados sugerem que as populações orientais e afrodescendentes (mulatos) devem ser geneticamente diferentes das populações europeias e caucasianas (ALVES-LEON et al, 2007; SPURKLAND et al, 1991b)

Os resultados obtidos com relação ao risco demonstrado pelo alelo DQB1*0602 para EM apresentaram maior heterogeneidade (quadro 8), com este alelo menos frequente nas populações estudadas em relação ao alelo DRB1*1501, sendo considerado fator de risco apenas em certas populações caucasianas (SPURKLAND et al, 1991a, ZIPP et al, 2000), orientais (SERJEANTSON et al, 1992; HAO et al, 1992), e não caucasianos, como os afrodescendentes brasileiros (CABALLERO et al, 1993; ALVES-LEON et al, 2007).

Diversos estudos relataram associação significativa entre a EM e o alelo DQB1*0602 na ausência de DRB1*1501, tal como foi encontrado em afrodescendentes do Rio de Janeiro (CABALLERO et al, 1993). A associação positiva do alelo DQB1*0602 na ausência do alelo DRB1*1501 em uma população etnicamente distinta, como os afrodescendentes, sugere que esse alelo possa conferir maior suscetibilidade a EM nesse grupo étnico independente do alelo DRB1*1501, sendo essa associação independente do desequilíbrio de ligação em relação ao alelo DRB1*1501 (TILBERY, 2005).

O alelo DRB1*1501 é mais comum em populações europeias e caucasianas e o DQB1*0602 apresenta uma associação mais heterogênea em diferentes grupos étnicos sendo considerado fator de risco em certas populações caucasianas, orientais, asiáticas e não caucasianos como Afrodescendentes brasileiros (quadro 7 e 8). As diferenças observadas nos diversos estudos populacionais podem ser explicadas tanto pela participação de fatores ambientais como pelas particularidades genéticas dos grupos étnicos estudados. Erros metodológicos dos estudos também podem explicar essas discrepâncias, como pequenas

coortes, falta de uniformidade nos critérios diagnósticos de EM e na escolha dos grupos. Destaca-se também o fato de que a participação desses alelos pode ter importância relativa na suscetibilidade da Esclerose Múltipla em algumas populações, explicando assim os resultados divergentes encontrados em alguns estudos.

Devido aos resultados contraditórios apresentados em alguns dos estudos e para resolver essas divergências, uma meta-análise foi realizada, demonstrando claramente que os alelos HLA DRB1*1501 e DQB1*0602 do Sistema HLA estão significativamente associados ao risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas populações estudadas. De acordo com os resultados, ambos os alelos conferem risco significativo (OR combinado DRB1*1501 = 2,934 e OR combinado DQB1*0602 = 2,906) para o desenvolvimento da EM. Ao combinar os resultados (concordantes e divergentes) de todos os estudos realizados e avaliá-los de modo global através da meta-análise, onde se observou associação estatisticamente significativa, permitiu-se um maior nível de confiança nos resultados encontrados ao melhorar a potência estatística dos estudos isolados.

Na literatura mundial, três meta-análises foram publicadas sobre o tema, contudo, as populações avaliadas e os métodos de análise dos alelos empregados nos estudos eram diferentes entre si. ROJAS et al (2010) encontrou associação positiva entre a presença dos alelos DRB1*1501 (OR = 2,599) e DQB1*0602 (OR = 2,488) e o desenvolvimento de Esclerose Múltipla na população da América Latina. QIU et al (2010) demonstrou que o alelo DRB1*15 (OR = 1,390) estaria associado a doença na população chinesa e ZHANG et al (2011) encontrou associação entre o alelo DRB1*15 (OR = 3,350) e populações de etnia caucasiana. As meta-análises realizadas por ROJAS et al (2010) e ZHANG et al (2011) avaliaram apenas estudos que utilizaram métodos moleculares para análise dos alelos, enquanto QIU et al (2010) avaliou estudos que usaram tanto métodos moleculares quanto sorológicos.

Não foi encontrada nenhuma meta-análise na literatura que avaliasse todas as populações do globo em conjunto, independente de etnia ou cor. Nossa meta-análise selecionou e analisou todos os trabalhos que avaliaram a associação dos alelos DRB1*1501 e DQB1*0602 com o risco de desenvolver Esclerose múltipla em todas as populações do mundo (exceto continente africano), independente de etnia ou cor, tendo confirmado claramente aumento da suscetibilidade para o desenvolvimento da Esclerose Múltipla na presença desses alelos, vez que associações estatisticamente significativas foram demonstradas para os dois alelos. Além disso, o OR dessa meta-análise foi superior a de

ROJAS et al (2010) que também avaliou os alelos DRB1*1501 e DQB1*0602, demonstrando maior poder estatístico.

Observa-se que nossos resultados estão de acordo com os resultados encontrados em outras meta-análises já realizados sobre a associação desses alelos com o risco de desenvolver EM (ROJAS et al, 2010; QIU et al, 2010; ZHANG et al, 2011). Contudo, as meta-análises existentes na literatura foram mais restritas a grupos étnicos distintos (caucasianos e população chinesa) ou populações de uma determinada região (América Latina), sendo esta meta-análise mais abrangente e não limitada a grupos étnicos ou cor.

A classificação e tipagem do HLA podem ser realizadas por técnicas sorológicas ou por genotipagem, sendo que historicamente o teste sorológico foi o método inicial usado por um longo tempo devido à sua facilidade e ao baixo custo, sendo posteriormente substituído por métodos de genotipagem, como a técnica de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase), que pode usar ou não sondas específicas para os alelos, e mais recentemente o sequenciamento gênico de alta resolução (SCHIMIDT; WILLIAMSON; KOCH, 2007). Observou-se nos estudos avaliados grande heterogeneidade nos métodos de tipagem dos alelos, sendo que os estudos mais antigos usavam técnicas sorológicas e as mais recentes técnicas moleculares (PCR de alta/baixa resolução e/ou sequenciamento genético). Esta observação pode ser explicada pela disponibilidade da tecnologia na época da realização do estudo. Entretanto, todos os estudos selecionados nesta meta-análise usaram métodos moleculares.

Algumas dificuldades foram encontradas durante a realização do estudo, devido à grande mistura étnica das amostras (casos e controles) avaliadas e a falta de cálculos estatísticos apropriados para determinar o tamanho amostral ideal dos grupos de casos e controles. O limitado número de indivíduos com Esclerose Múltipla nas diferentes regiões geográficas certamente justifica esta falha. Entretanto, a realização de cálculos amostrais adequados é sugerida para futuros estudos. Outra limitação importante consiste na ausência de estudos do continente africano, o que poderia auxiliar na determinação da relação dos alelos estudados com a cor negra em detrimento da caucasiana. Além disso, houve diferenças entre os estudos em relação aos métodos estatísticos utilizados para avaliar o risco nas diversas populações, (por exemplo, alguns trabalhos realizavam cálculo do *odds ratio* e outros risco relativo para determinar as associações), bem como a presença de erros tipográficos e cálculos incorretos, o que dificultou em muitos casos a comparação dos estudos e a confecção dos resultados.

Para estudos futuros que visem avaliar a associação entre os alelos do sistema HLA e a Esclerose Múltipla, recomenda-se melhor padronização das características demográficas (idade, sexo, raça/etnia) da população estudada, dos critérios usados para selecionar os participantes e da uniformização do diagnóstico da Esclerose Múltipla, além dos métodos laboratoriais utilizados. A realização de revisões sistemáticas e meta-análises, para sistematizar os conhecimentos adquiridos sobre o tema, deve ser incentivada, além do desenvolvimento de pesquisas sobre novos alelos do sistema HLA (principalmente HLA classe I) e genes não-HLA que também possam estar associados ao risco de desenvolver a doença e sobre o qual não existem muitos estudos disponíveis na literatura mundial.

Conclui-se que este estudo reforçou a associação entre os alelos do sistema HLA (DRB1*1501 e DQB1*0602) e a predisposição à EM, contribuindo para uma melhor elucidação do papel do sistema HLA na fisiopatogenia da doença, abrindo perspectivas para o planejamento de ações que facilitem o diagnóstico precoce, aconselhamento genético para familiares, além de auxiliar no tratamento ao identificar variações genéticas que podem estar relacionadas à resposta às drogas usadas no tratamento da doença.

7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo é possível concluir que:

a) Dezoito estudos obedeceram aos critérios de inclusão estabelecidos, sendo que 15 estudos avaliaram a associação do alelo DRB1*1501 ao risco de desenvolver Esclerose Múltipla nas diversas populações do mundo e 18 estudos avaliaram a associação do alelo DQB1*0602.

b) A frequência do alelo DRB1*1501 foi maior no grupo de pacientes com EM em relação aos controles, variando de 6,8% a 72,7% nos casos e 1,1% a 55,6% nos controles.

c) A frequência do alelo DQB1*0602 foi maior nos grupos de pacientes com EM em relação aos controles, variando de 9,6% a 72% nos casos e 5% a 40% nos controles.

d) O alelo DRB1*1501 esteve associado ao risco de desenvolver a doença na maioria das populações estudadas, sendo estatisticamente associado à doença nas populações europeias e caucasianas.

e) O alelo DQB1*0602 esteve associado ao risco de desenvolver a doença nas populações estudadas, com grande heterogeneidade nas diversas populações, sendo considerado fator de risco em certas populações caucasianas, orientais, asiáticas e não caucasianas como Afrodescendentes brasileiros.

f) A meta-análise demonstrou que os alelos HLA DRB1*1501 e DQB1*0602 estão significativamente associados ao risco de desenvolver Esclerose Múltipla na população mundial (exceto continente africano), (OR combinada DRB1*1501 = 2,934, 95% IC: 2,154 – 3,998, $p < 0,0001$ e OR combinada DQB1*0602 = 2,906, 95% IC: 2,167 – 3,896, $p < 0,0001$), sendo essa associação independente de fatores como etnia ou cor.

8 REFERÊNCIA

ABBAS, Abul K; LICHTMAN, Andrew H; PILLAI, Shiv. **Imunologia celular e molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

ALCINA, A. et al. Multiple Sclerosis Risk Variant HLA-DRB1*1501 Associates with High Expression of DRB1 Gene in Different Human Populations. **PLoS ONE**, v.7, n.1, p.1-9, 2012.

ALVEL-LEON, S. V. et al. Ethnicity-dependent association of HLA DRB1-DQA1-DQB1 alleles in Brazilian multiple sclerosis patients. **Acta Neurol Scand**, v.111, p. 306–311, 2007.

ALVES, C. et al. Antígenos de histocompatibilidade humanos e dermatologia: da pesquisa para a prática clínica. **An Bras Dermatol**, n. 81, v. 1, p.65-73, 2006.

BERTOLUCCI, Paulo H. F. et al. **Guia de Medicina Ambulatorial e Hospitalar da UNIFESP-EPM: Neurologia**. 1. ed. São Paulo: Editora Manole, 2011.

BETTENCOUT, A. et al. Molecular genetic studies of multiple sclerosis in the portuguese population. **Acta Med Port**, v. 25, n. 4, p. 224-30, Jul/Aug, 2012.

BHATTACHARYA, A; MISHRA, R; TIWARI, P. Multiple sclerosis: an overview. **Asian Pac J Trop Biomed**, v.10, p.1954-62, 2012.

BOBOWICK, A. R. et al. Twin study of multiple sclerosis: an epidemiologic inquiry. **Neurology**, n. 28, p. 978-987.

BOSTER, A. et al. Intense immunosuppression in patients with rapidly worsening multiple sclerosis: treatment guidelines for the clinician. **Lancet Neurol**, v.7, n.2, p.173–183, Feb 2008.

BRUM, D. G. et al. Association of the HLA-DRB1*15 allele group and the DRB1*1501 and DRB1*1503 alleles with multiple sclerosis in White and Mulatto samples from Brazil. **J Neuroimmunol**, v. 189, p. 118–124, 2007.

CABALLERO, A. et al. DQB1*0602 confers genetic susceptibility to multiple sclerosis in Afro-Brazilians. **Tissue Antigens**, v. 54, p. 524–6, 1999.

- CALLEGARO, D; GOLDBAUM, M; MORAIS, L. The prevalence of multiple sclerosis in the city of São Paulo, Brazil. **Acta Neurol Scand**. n. 104, p. 208-13, 2001.
- CARRITHERS, M. D. Update on Disease-Modifying Treatments for Multiple Sclerosis. **Clin Ther**, v. 36, n. 12, p. 1938-1945, 2014.
- CARVALHO, A. et al. Determinação de autoanticorpos para antígenos da mielina no soro de pacientes HLA DQB1*0602 com Esclerose Múltipla. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 61, n.4, p.968-973, 2003.
- CHOO, S. Y. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing and clinical implications. **Yonsei Med J**, v. 48, n. 1, p. 11-23, 2007.
- CIUSANI, E. et al. Analysis of HLA-class II DQA1, DQB1, DRB1 and DPB1 in Italian multiple sclerosis patients. **Eur J Immunogenet**, v. 22, p. 171–8, 1995.
- COMPSTON, A; COLES, A. Multiple sclerosis. **Lancet**, v. 372, p. 1502 – 17, 2008.
- CONFAVREYX, C; VUKUSIC, S. The Clinical Epidemiology of Multiple Sclerosis. **Neuroimag Clin N Am**, v. 18, p. 589–622, 2008.
- CORREALE, J. et al. Management of relapsing-remitting multiple sclerosis in Latin America: practical recommendations for treatment optimization. **J Neurol Sci**, v. 15, n. 339, p. 196-206, 2014.
- COMPSTON, Alastair. et al. **McAlpines's MULTIPLE SCLEROSIS**. 4. ed. China: Elsevier, 2006.
- CONCHA, E. G. et al. Combined effect of HLA-DRB1*1501 and interleukin-1 receptor antagonist gene allele 2 in susceptibility to relapsing/remitting multiple sclerosis. **J Neuroimmunol**, v. 80, p. 172–8, 1997.
- DIDONNA, A; OKSENER, J. R; Genetic determinantes of risk and progression in multiple sclerosis. **Clin Chim Acta**, v. 4, pag 215-222, 2015.
- DINIZ, D. S. et al. Estudo epidemiológico da prevalência de portadores de esclerose múltipla na cidade de Goiânia – protocolo e resultados iniciais. **Arq Neuropsiquiatr**. n. 66, p. 163, 2008.

DIRESKENELY, G. et al. HLA DR and DQ associations with multiple sclerosis in Turkey. **Hum Immunol**, v. 55, p. 59–65, 1997.

DONADI, E. A. Como entender a nomenclatura e os mecanismos de associação entre os antígenos e os alelos de histocompatibilidade com as doenças. **Medicina: Ribeirão Preto**, n. 33, p. 7-18, jan./mar, 2000.

EBERS, G. C. et al. A population based study of multiple sclerosis in twins. **N Engl J Med**, n. 315, p. 1638-1642, 1986.

FERNANDEZ, O. et al. HLA class II alleles in patients with multiple sclerosis in the Biscay province (Basque Country, Spain). **J Neurol**, v. 256, n. 12, p. 1977–1988, 2009.

FERREIRA, M. L. B. et al. S, et al. Epidemiologia de 118 casos de esclerose múltipla com seguimento de 15 anos no centro de referência do Hospital da Restauração de Pernambuco. **Arq. Neuropsiquiatr.** n. 62, v. 4, p. 1027- 32, 2004.

GABHAEI, M. et al. Analysis of HLA DR2&DQ6 (DRB1*1501, DQA1*0102, DQB1*0602) Haplotypes in Iranian Patients with Multiple Sclerosis. **Cell Mol Neurobiol**, v. 29, p. 109–114, 2009.

GREEN, S. Systematic reviews and meta-analysis. **Singapore Med J**, v. 46, n. 6, p. 270-274, 2005.

HAO, Q. et al. HLAs and genes in Japanese patients with Multiple Sclerosis: Evidence for increase frequencies of HLA-Cw3, HLA-DR2, and HLA DQB1*0602. **Human Immunology**, v. 35, p. 116-124, 1992.

Haidich, A. B. Meta-analysis in medical research. **Hippokratia**, v. 14, n. 1, p. 29-37, 2010.

Hickey, W. F. The pathology of multiple sclerosis: a historical perspective. **J Neuroimmunol**, v. 98, n. 1, p. 37–44, 1999.

Hoglund, R. A; Maghazachi, A. A. Multiple sclerosis and the role of immune cells. **World J Exp Med**, v.4, n.3, p.27-37. Ago 2014.

Hoppenbrouwers, I. A; Hintzen, R. Q. Genetics of Multiple Sclerosis. **Biochim Biophys Acta**. v. 1912, p. 194-201, 2011.

JERSILD, C. et al. HLA-A antigens and multiple sclerosis. **Lancet**. n. 12, p. 1240-1241, 1972.

KAIMEN-MACIEL, D. R. et al. HLA-DRB1^{*} allele-associated genetic susceptibility and protection against multiple sclerosis in Brazilian patients. **Mol Med Rep** v. 2, p. 993-998, 2009.

KAKALACHEVA, K; LUNEMANN, J. D; Review Environmental triggers of multiple sclerosis, **FEBS Letters**, v. 585, pag. 3724–3729, 2011.

KAUSHANSKY. N. et al. DQB1*0602 rather than DRB1*1501 confers susceptibility to multiple sclerosis-like disease induced by proteolipid protein (PLP). **J Neuroinflammation**, v. 9, n. 29, p. 1-15, 2012.

KAUSHANSKY, N. et al. The myelin associated oligodendrocytic basic protein (MOBP) as a relevant primary target autoantigen in multiple sclerosis. **Autoimmun Rev**, v. 9, p. 233–236, 2010.

KAUSHANSKY, N; BEN-NUR, A. DQB1*06:02-associated pathogenic anti-myelin autoimmunity in multiple sclerosis-like disease: potential function of DQB1*06:02 as a disease-predisposing allele. **Front Oncol**, v. 4, n. 280, p. 1-6, 2014.

KWON, O. J. et al. HLA class II susceptibility to multiple sclerosis among Ashkenazi and non-Ashkenazi Jews. **Arch Neurol**, v. 56, p. 555–60, 1999.

LAAKSONEN, M. et al. HLA class II associated risk and protection against multiple sclerosis – A Finnish family study. **J Neuroimmunol**, v. 122, n. 1-2, p. 140-145, 2002.

KELLY, M. A. et al. An investigation of HLA-encoded genetic susceptibility to multiple sclerosis in subjects of Asian Indian and Afro-Caribbean ethnic origin. **Tissue Antigens**, v. 45, p. 97–202, 1995.

KELLY, M. A. et al. Genetics susceptibility to Multiple Sclerosis in a Shangai chinese population. **Hum Immunol**, v. 42, p. 203–209, 1995.

KURSTZKE, J. F. et al. MS epidemiology world wide one view of current status. **Acta Neurol Scand**, n. 161, p. 23–33, 1995.

- LANA-PEIXOTO, M.A. et al. The prevalence of multiple sclerosis in Belo Horizonte, Brazil. **Mult Scler.** n. 8, v. S38, 2002.
- LOVATTO, P. A. et al. Meta-análise em pesquisas científicas - enfoque em metodologias. **R. Bras. Zootec.** v. 36, suplemento especial, p. 285-294, 2007.
- LUCCHINETTI, C; Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination, **Ann Neurol**, v. 47, n. 6, pag. 707-17, 2000.
- MACHADO, Suzana et al. Recomendações Esclerose Múltipla, **ACADEMIA BRASILEIRA DE NEUROLOGIA**, 1. Ed. São Paulo: Omnifarma Ltda, 2012.
- MACKAY, I. R; ANDERSON, W. H. What's in a name? Experimental encephalomyelitis: allergic or autoimmune. **J Neuroimmunol**, v. 223, n. 1-2, p. 1-4. Jun 2010.
- MANDIA, D. et al. Environmental Factors and Multiple Sclerosis Severity: A Descriptive Study. **Res. Public Health**, v. 11, p. 6417-6432, 2014.
- MARRIE, R. A. Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. **Lancet Neurol**, v. 3, p. 709–18, 2004.
- MARROSU, M. G. et al. Multiple sclerosis in Sardinia is associated and in linkage disequilibrium with HLA- DR3 and -DR4 alleles. **Am J Hum Genet**, n. 61. p. 454–7, 1997.
- MESSADI, A. et al. HLA class II alleles and multiple sclerosis in Tunisian patients. **Clin Neurol Neurosurg**, v. 112, p. 849–852, 2010.
- MILO, R; KAHANA, E. Multiple Sclerosis: Geoepidemiology, Genetics and the Environment. **Autoimmun Rev**, v. 9, n. 5, p. 387-394, 2009.
- MONTEAGUDO, A. C. Evolución de la nomenclatura de los factores del sistema de Antígenos Leucocitarios Humanos. **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.** v. 30, n. 1, 2014
- MORRIS, Peter J; KNECHTLE, Stuart J. Kidney transplantation: principles and practice. 6 ed. United States of America: Editora Elsevier, 2008.
- NOSEWORTHY, J. H. et al. Multiple Sclerosis. **N Engl J Med**, v. 343, n. 13, p. 938-952, 2000.

- OLERUP, O. et al. Genomic HLA typing by RFLP analysis, using DR beta and DQ cDNA beta probes reveals normal DR-DQ linkages in patients with multiple sclerosis. **Tissue Antigens**, n. 30, pag. 135-138, 1987.
- OLIVEIRA, E. A de, SELL, A. M. Antígenos HLA e a hemoterapia. **Acta Scient**, v. 24, n. 3, p. 731-736, 2002.
- OKSENBERG, J. R. Et al. Mapping Multiple Sclerosis Susceptibility to the HLA-DR Locus in African Americans, **Am. J. Hum. Genet.**v. 74, p. 160–167, 2004
- POLMAN, C. H. et al. Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald Criteria. **American Neurological Association**, v. 69, n. 2, p. 292-302, 2011.
- QIU, W. et al. HLA-DR allele polymorphism and multiple sclerosis in Chinese populations: a meta-analysis, **Mult Scler J**, n. 17, v. 4, p. 382–388, 2011.
- QUELVENNEC, E. et al. Genetic and functional studies in multiplesclerosis patients from Martinique attestfor a specific and direct role of the HLA-DR locus in the syndrome. **Tissue Antigens**, v. 61, p. 166–171, 2003
- RAMAGOPALAN, S. V. et al. Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways, **Lancet Neurol**, v. 9, p. 727–39, 2010.
- RAMAGOPALANA, E; KNIGHTA, A. C; EBERS, J. Multiple sclerosis and the major histocompatibility complex. **Opin Neurol**, v. 22, p. 219–225, 2010.
- REJDAK, K; JACKSON, S; GIOVANNONI, G. Multiple sclerosis: a practical overview for clinicians. **Br Med Bull**, v. 95, p. 79–104, 2010.
- RIBEIRO, S. B. F. et al. Clinical and epidemiological profile of patients with multiple sclerosis in Uberaba, Minas Gerais, **Arq Neuropsiquiatr**, n. 69, v. 2-A, p. 184-187, 2011.
- ROCHA, A. J. et al. Esclerose Múltipla: Diagnóstico por imagem. **Projeto Diretrizes e Associação Médica Brasileira**, v. 2, p. 1-22, 2012.
- ROCHA, A. P da. et al. Polimorfismos genéticos: Implicações na patogênese do carcinoma medular da tireoide. **Arq Bras Endocrinol Metabol.**, n. 51, v. 5, p. 723-730, 2007.
- RODRIGUES, Marcelo Masruha; BERTOLUCCI, Paulo Henrique Ferreira. **Neurologia para o Clínico-geral**. 1. ed, São Paulo: Manole, 2014.

- ROLAK, L. A. Multiple Sclerosis: It's Not The Disease You Thought It Was. **Clin Med Res**, v. 1, n. 1, p. 57-60, 2003.
- ROJAS, O. L. et al. HLA class II polymorphism in Latin American patients with multiple sclerosis. **Autoimmun Rev.** n. 9, p. 407–413, 2010.
- SERJEANTSON, S. W. et al. Novel HLA DR2 related haplotypes in Hong Kong Chinese implicate the DQB1*0602 allele in susceptibility to Multiple Sclerosis. **Eur J Immunogenet.** v. 19, p. 11-19, 1992.
- SCHMIDT, H; WILLIAMSON, D; ASHLEY-KOCH, A. HLA-DR15 Haplotype and Multiple Sclerosis: A HuGE Review. **Am J Epidemiol**, v. 165, n. 10, 2007.
- SPURKLAND, A. et al. HLA-DQA1 and DQB1 genes may jointly determine susceptibility to develop Multiple Sclerosis. **H Immunol**, v. 30, p. 69-75, 1991.
- SPURKLAND, A. et al. HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1 and -DPA1 in Japanese multiple sclerosis patients. **Tissue Antigens**, v. 37, p. 171-173, 1991.
- STEWART, G. J. et al. HLA-DR, -DQA1 and -DQB1 associations in Australian multiple sclerosis patients. **Eur J Immunogenet**, v. 24, p. 81–92, 1997.
- SILVA, K. R. P da. et al. Potential Risk Factors for Multiple Sclerosis in Rio de Janeiro: A case-control study. **Arq Neuropsiquiatria**, v. 67, n. 2-A, p. 229-234, 2009.
- TILBERY, Charles Peter. **Esclerose Múltipla no Brasil: aspectos clínicos e terapêuticos**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.
- WOOD, Peter. **Imunologia**. 3.ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2013.
- YAMOUT, B. et al. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of multiple sclerosis. **Curr Med Res Opin**, v. 29, n. 6, p. 611-621, 2013.
- ZHANG, Q. et al. Relationship between HLA-DRB1 polymorphism and susceptibility or resistance to multiple sclerosis in Caucasians: A meta-analysis of non-family-based studies. **Autoimmun Rev**, n. 10, p. 474–481, 2010.
- ZIPPI, F. Multiple Sclerosis Associated Amino Acids of Polymorphic Regions Relevant for the HLA Antigen Binding Are Confined to HLA-DR2. **H Immunol**, v. 61, p. 1021–1030, 2000.

ZUVICH, R. L. et al. Genetics and Pathogenesis of Multiple Sclerosis. **Semin Immunol**, v. 21, n. 6, p. 328–333, 2009.