

## ASSOCIAÇÃO ENTRE HLA E LEUCEMIA EM UMA POPULAÇÃO BRASILEIRA DE ETNIA MISTA

LÚCIA APARECIDA BARION, LUIZA TAMIE TSUNETO, GIULIANA VITORIANO TESTA, SOFIA ROCHA LIEBER, LIGIA BEATRIZ LOPES PERSOLI, SILVIA BARBOSA DUTRA MARQUES, AFONSO CELSO VIGORITO, FRANCISCO JOSÉ PENTEADO ARANHA, KÁTIA APARECIDA BRITO EID, GISLAINE BORBA OLIVEIRA, ELIANA CRISTINA MARTINS MIRANDA, CÁRMINO ANTONIO DE SOUZA, JEANE ELIETE LAGUILA VISENTAINER\*

Trabalho realizado no Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Paraná e no Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP

### RESUMO

**OBJETIVO.** O objetivo deste estudo foi investigar a frequência de antígenos HLA Classe I e de alelos HLA Classe II em 164 pacientes com vários tipos de leucemias: 35 pacientes com LLA (leucemia linfóide aguda), 50 com LMA (leucemia mielóide aguda) e 78 com LMC (leucemia mielóide crônica).

**MÉTODOS.** A tipagem HLA Classe I foi realizada por microlinfocitotoxicidade e a de Classe II por PCR-SSP (*polymerase chain reaction - sequence specific of primers*), ambas da One Lambda (Canoga Park, CA, US).

**RESULTADOS.** Em pacientes com LLA, as frequências das variantes HLA-B45 e HLA-B56 foram maiores ( $P = 0,02$ ; OR = 3,13; 95%IC = 0,94-10,44;  $P = 0,03$ ; OR = 3,61; 95%IC = 0,47-27,64, respectivamente), quando comparadas com controles. Nos pacientes com LMA, a frequência de HLA-B7 ( $P = 0,01$ ; OR = 2,41; 95%IC = 1,25-4,67) foi maior que em controles. A presença de HLA-B45 ( $P = 0,01$ ; OR = 3,29; 95%IC = 1,46-7,40) e de HLA-DRB1\*04 ( $P = 0,002$ ; OR = 2,17; 95%IC = 1,36-3,46) e HLA-DRB1\*08 ( $P = 0,004$ ; OR = 2,36; 95%IC = 1,34-4,16) foi associada ao maior risco de desenvolver LMC.

**CONCLUSÃO.** Nossos resultados sugerem que variantes HLA conferem susceptibilidade a algumas formas de leucemia e podem prover novas ferramentas para a investigação da genética e etiologia desta doença.

UNITERMOS: HLA. Leucemia. Associação genética.

### \*Correspondência

Universidade Estadual de Maringá  
Departamento de Análises Clínicas  
Av. Colombo, 5790;  
Maringá - PR - Brasil  
Cep: 87020-900  
Tel: (44) 3261-4864  
Fax: (44) 3261-4931  
jelvisentainer@uem.br

### INTRODUÇÃO

As leucemias constituem um grupo especial de doenças hematopoiéticas graves e fatais, que, mesmo bem estudadas do ponto de vista morfológico, genético e biológico ainda requerem muitos estudos elucidativos quanto à sua real etiologia. Esta ainda é desconhecida no todo, embora muitas associações estejam comprovadas, relacionando a predisposição genética e o risco de produtos químicos e irradiações no desenvolvimento destas doenças<sup>1,2</sup>.

As principais são: leucemia linfóide aguda (LLA), leucemia linfóide crônica (LLC), leucemia mielóide aguda (LMA), leucemia mielóide crônica (LMC) e leucemia mielomonocítica crônica (LMMC).

O complexo principal de histocompatibilidade (CPH) humano, também chamado de sistema HLA (do inglês: *human leucocyte antigen*), é conhecido por atuar como principal determinante para muitas doenças<sup>3</sup>. Em estudos relacionados nos indexadores latino-americanos e internacionais, as leucemias estão entre as doenças associadas ao sistema HLA.

Vários estudos de associação entre os sistemas HLA e as leucemias têm sido realizados, muitos dos quais com resultados diferentes e havendo necessidade de confirmá-los através da análise de um número maior de pacientes com leucemia, conforme sugerido por vários autores. Esta inconsistência de resultados pode

ser devida ao caráter multifatorial das leucemias e à grande heterogeneidade observada nos diferentes tipos de leucemias, principalmente para a leucemia mielóide aguda<sup>4</sup>. Além disso, devido às diferenças nas frequências de alelos HLA entre as populações no mundo, algumas associações podem ser encontradas em determinadas populações e não em outras<sup>3</sup>.

A importância dos estudos entre o sistema HLA e as leucemias não reside apenas em definir a predisposição à doença, mas também para melhor entender os mecanismos da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) que se desenvolve em pacientes transplantados, na compreensão do estabelecimento da leucemia, na avaliação do prognóstico e no desenvolvimento de novas terapias celulares.

O objetivo principal deste estudo foi verificar a existência de associação entre os antígenos HLA-A e -B e os alelos HLA-DRB1 e alguns tipos de leucemias, tais como a LLA, LMA e LMC.

### MÉTODOS

#### Pacientes e Controles

Os dados referentes aos pacientes com diagnóstico de leucemia e aos doadores de medula óssea avaliados neste estudo foram provenientes do Serviço de Transplante de Medula Óssea, da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Os dados

utilizados referem-se a tipificações HLA, idade, sexo e grupo étnico dos indivíduos analisados, pertencentes à região geográfica de Campinas, Estado de São Paulo. O estudo foi desenvolvido de acordo com o estabelecido pelo Comitê de Ética desta instituição.

Quinhentos e setenta e um pacientes portadores de doenças como a anemia aplásica grave, anemia diseritropoiética congênita, hemoglobinúria paroxística noturna, leucemias, linfoma de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin, mieloma múltiplo, síndrome mielodisplásica e tumor de testículo foram submetidos ao transplante de medula óssea na Unicamp, no período de setembro de 1993 a março de 2006. Dentre os 571 pacientes, o número de portadores de leucemias foi de 289 (50,6%), sendo 47 com LLA (8,2%), um paciente com LLC (0,2%), 88 pacientes com LMA (15,4%), 151 pacientes com LMC (26,5%) e dois pacientes com LMMC (0,4%). Não foi possível incluir na amostra todos os pacientes com leucemia. Alguns foram excluídos devido à falta de tipificação HLA, no caso daqueles que receberam transplante autólogo, ou pela falta de tipificação HLA por biologia molecular de Classe II.

Dessa forma, o total de indivíduos analisados para cada tipo de leucemia foi de 35 pacientes com LLA (6,1%), 50 pacientes com LMA (8,7%) e 79 pacientes com LMC (13,8%). Os pacientes com LLC (N = 1) e LMMC (N = 2) foram excluídos do estudo devido ao número pequeno de pacientes para a análise.

O grupo de pacientes com LLA apresentava idade entre 1 e 44 anos, sendo 26 do sexo masculino e 9 do sexo feminino. Os pacientes de LMA tinham idade entre 2 e 62 anos de idade, sendo 32 do sexo masculino e 18 do sexo feminino. Entre os pacientes com LMC, a idade variou de 8 a 56 anos de idade, com 54 pacientes do sexo masculino e 25 pacientes do sexo feminino. Os pacientes envolvidos neste estudo eram todos de etnia mista.

O grupo controle foi constituído de 2.472 doadores voluntários de medula óssea, do mesmo grupo étnico e região geográfica que os pacientes (Campinas, sudeste de São Paulo), com idade variando entre 18 e 55 anos, de ambos os sexos, tipificados pelo Serviço de Transplante de Medula Óssea da Unicamp.

### Tipificação HLA

Os pacientes e doadores em estudo foram tipificados para as variantes HLA pelo Laboratório HLA - Hemocentro da Unicamp. Para a Classe I, foram tipificados os antígenos HLA-A e HLA-B, e para a Classe II foram tipificados os alelos HLA-DRB1.

As tipificações HLA de Classe I dos pacientes foram realizadas pela técnica sorológica de microlinfocitotoxicidade dependente de complemento, com o uso de anticorpos monoclonais (One Lambda, CA, US), e as tipificações HLA de Classe II foram realizadas pela técnica de biologia molecular PCR-SSP (*polymerase chain reaction - sequence specific of primers*) (One Lambda, CA, US), ambas descritas em detalhes por Visentainer (2003)<sup>5</sup>.

Os controles foram tipificados para os alelos de Classes I (A e B) e II (DRB1) do sistema HLA pela técnica de biologia molecular PCR-SSP (One Lambda, CA, US).

Neste estudo, as equivalências sorológicas e alélicas do HLA de Classe I de pacientes e controles foram obtidas para permitir a

utilização de dados provenientes de tipificações realizadas pelas duas técnicas: a sorológica e aquela por biologia molecular de acordo com a literatura<sup>6</sup>. Para homogeneização dos dados, os "splits" A68 e A69 foram classificados como A28; B38 e B39 como B16; B60 e B61 como B40; B62, B63, B70, B71 e B72 como B15; e B64 e B65 como B14.

### Análise estatística

As frequências alélicas e/ou fenotípicas foram obtidas por contagem direta dos alelos ou antígenos observados. Os programas Arlequin e Convert foram utilizados para avaliar se estas frequências estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A análise da associação entre as variantes HLA e a ocorrência dos tipos de leucemia foi realizada pelo Teste do Qui-Quadrado, com correção de Yates ou Teste Exato de Fisher quando necessário, através do programa QuickCalcs, GraphPad Software (<<http://www.graphpad.com/quickcalcs/contingency1.cfm>>). Os valores da probabilidade (*P*) foram considerados significativos quando inferiores a 0,05. Valores de *P* superiores a 0,05 e inferiores ou iguais a 0,09 foram considerados como tendência para a associação com a doença. Quando os valores de *P* foram significativos ou mostraram uma tendência à significância e não haviam sido descritos anteriormente na literatura, eles foram corrigidos por meio da multiplicação do valor de *P* pelo número de antígenos ou alelos testados. Para a Classe I, o valor de *P* foi multiplicado por 47, e, para a Classe II, o valor de *P* foi multiplicado por 13.

O valor de OR e os intervalos de confiança (IC) ao nível de 95% foram calculados para avaliar o risco de o indivíduo desenvolver a doença possuindo um tipo de HLA. Para esses cálculos, foi utilizado o programa DPP Braille Biomédica (<<http://www.braille.com.br/cientifica/pesqciem.htm>>).

### RESULTADOS

Os resultados obtidos na análise das frequências das variantes HLA-A, HLA-B e HLA-DRB1, relacionados nas Tabelas 1 a 3, indicam que as associações foram positivas para as leucemias estudadas, exceto para os alelos DRB1\*01 e DRB1\*13, os quais mostraram uma tendência à associação negativa na LMC, ou seja, à proteção. Aquelas associações já anteriormente relatadas na literatura não foram corrigidas, por meio da multiplicação do valor de *P* pelo número de variantes HLA analisadas, portanto nas tabelas somente alguns valores de *P* aparecem.

Na Tabela 1, os resultados mostram que houve associação positiva significativa para os antígenos HLA-B45 (*P* = 0,02; OR = 3,13 e 95%IC = 0,94 - 10,44) e HLA-B56 (*P* = 0,03; OR = 3,61 e 95%IC = 0,47 - 27,64) e tendência à associação positiva para os antígenos HLA-A74 (*P* = 0,06; OR = 2,66 e 95%IC = 0,35-20,17), a qual desaparece após a correção do *P*, e HLA-B53 (*P* = 0,09; OR = 3,04 e 95%IC = 0,91-10,15).

Na Tabela 2, para a LMA, a associação positiva foi com o antígeno HLA-B7 (*P* = 0,01; OR = 2,41 e 95%IC = 1,25 - 4,67), sendo que o alelo DRB1\*01 (*P* = 0,048; OR = 1,91 e 95%IC = 1,05-3,46), a princípio associado a esta leucemia, deixa de sê-lo após a correção do *P*.

**Tabela 1 - Frequências de variantes HLA em pacientes com leucemia linfóide aguda e controles**

Variante	Pacientes N = 35	%	Controles N = 2.472	%	OR	IC (95%)	P*	Pc
A74	1	2,86	27	1,09	2,66	0,35-20,17	0,06	NS
B45	3	8,57	72	2,91	3,13	0,94-10,44	0,02	
B53	3	8,57	74	2,99	3,04	0,91-10,15	0,09	
B56	1	2,86	20	0,81	3,61	0,47-27,64	0,03	

\*Teste exato de Fisher; N = número de indivíduos; OR = Odds Ratio; IC = Intervalo de Confiança; P = Probabilidade; Pc = Probabilidade corrigida pelo número de antígenos testados; NS = Não significativo.

**Tabela 2 - Frequências de variantes HLA em pacientes com leucemia mielóide aguda e controles**

Variante	Pacientes N = 50	%	Controles N = 2.472	%	OR	IC (95%)	P*	Pc
B7	12	24,00	286	11,57	2,41	1,25-4,67	0,01	
DRB1*01	N = 49 17	17,35	539	10,90	1,91	1,05-3,46	0,048	NS

\*Qui-quadrado com correção de Yates; N = número de indivíduos; OR = Odds Ratio; IC = Intervalo de Confiança; P = Probabilidade; Pc = Probabilidade corrigida pelo número de antígenos e/ou alelos testados; NS = Não significativo

**Tabela 3 - Frequências de variantes HLA em pacientes com leucemia mielóide crônica e controles**

Variante	Pacientes N = 78	%	Controles N = 2.472	%	OR	IC (95%)	P*	Pc
A24	21	26,92	458	18,53	1,62	0,97-2,70	0,09	
A43	1	1,28	0	0,00	64,21	2,14-1928,52	0,01	NS
B45	N = 78 7	8,97	72	2,91	3,29	1,46-7,40	0,01	
DRB1*01	N = 77 10	6,49	539	10,90	0,54	0,27-1,05	0,09	NS
DRB1*04	30	19,48	562	11,37	2,17	1,36-3,46	0,002	
DRB1*08	16	10,39	247	5,00	2,36	1,34-4,16	0,004	
DRB1*13	13	8,44	644	13,03	0,58	0,32-1,05	0,09	

\*Qui-quadrado com correção de Yates; N = número de indivíduos; OR = Odds Ratio; IC = Intervalo de Confiança; P = Probabilidade; Pc = Probabilidade corrigida pelo número de antígenos e/ou alelos testados; NS = Não significativo

Na LMC (Tabela 3), estão forte e positivamente associados o antígeno HLA-B45 ( $P = 0,01$ ; OR = 3,29 e 95%IC = 1,46-7,40) e os alelos HLA-DRB1\*04 ( $P = 0,002$ ; OR = 2,17 e 95%IC = 1,36 - 3,46) e DRB1\*08 ( $P = 0,004$ ; OR = 2,36 e 95%IC = 1,34-4,16). O antígeno HLA-A24 apresentou tendência à associação positiva ( $P = 0,09$ ; OR = 1,62 e 95% IC = 0,97-2,70), enquanto que o alelo DRB1\*13 ( $P = 0,09$ ; OR = 0,58 e 95%IC = 0,32-1,05) apresentou tendência à associação negativa. Para esta leucemia, o antígeno HLA-A43 mostrou associação positiva ( $P = 0,01$ ; OR = 64,21 e 95%IC = 2,14-1928,52), enquanto o alelo HLA-DRB1\*01 ( $P = 0,09$ ; OR = 0,54 e 95%IC = 0,27-1,05) apresentou tendência à associação negativa, ambos tornando-se não significativos após correção do  $P$ .

## DISCUSSÃO

Vários estudos populacionais vêm sugerindo associações de variantes HLA com mais de 40 doenças<sup>3</sup>. Nesse estudo, foram

analisadas as frequências de antígenos HLA-A e B e alelos HLA-DRB1 em pacientes com leucemia e em um grupo de controles. As associações positivas estão relacionadas aos antígenos HLA-A43, HLA-B7, HLA-B45 e HLA-B56 e aos alelos HLA-DRB1\*01 (para a LMA), DRB1\*04 e DRB1\*08, para os três diferentes tipos de leucemias analisadas. Entre estas, duas associações deixaram de ser significativas após a correção de  $P$ : HLA-A43 e HLA-DRB1\*01. As tendências de associação positiva obtidas foram para os antígenos HLA-A24, HLA-A74 e HLA-B53, sendo que para o HLA-A74 deixou de ser significativa após a correção do  $P$ . As tendências negativas foram relacionadas aos alelos HLA-DRB1\*01 e DRB1\*13 para a LMC; a tendência negativa para o alelo HLA-DRB1\*01 deixou de existir após a correção do  $P$ .

As associações positivas entre a LMC e os alelos HLA-DRB1\*04 e DRB1\*08 observadas neste estudo corroboram o estudo de Yassukawa et al. (2003)<sup>7</sup>, no qual foram analisadas as associações entre os genótipos HLA-DRB1 e dois tipos de LMC,

b2a2 e b3a2. Em pacientes com LMC b2a2, foram obtidas associações com baixa frequência para os alelos HLA-DRB1\*0405 ( $P = 0,005$ ), DRB1\*08032 ( $P = 0,033$ ), DRB1\*1502 ( $P = 0,046$ ) e com alta frequência para o alelo HLA-DRB1\*1201 ( $P = 0,046$ ). Nos pacientes com LMC b3a2, foram obtidas associações com alta frequência para os alelos HLA-DRB1\*0403 ( $P = 0,001$ ), DRB1\*0802 ( $P = 0,010$ ), DRB1\*1403 ( $P = 0,023$ ), DRB1\*1405 ( $P = 0,002$ ) e em baixa frequência para os alelos DRB1\*08032 ( $P = 0,001$ ) e DRB1\*1501 ( $P = 0,046$ ).

Nos Estados Unidos, Mundhada et al. (2004)<sup>8</sup> estudaram pacientes, de etnia mista, com LMC (163 pacientes) e com LLA (26 pacientes), todos com translocação t(9;22)(q34;q11), dentre os quais, 28 expressavam transcrições b2a2 e b3a2, 68 expressavam transcrição b2a2, 76 expressavam transcrição b3a2 e 17 expressavam a transcrição e1a2. Entre os vários alelos com associações positivas para a transcrição b2a2, estão os alelos HLA-B\*45, HLA-B\*53 e HLA-B\*56. Entre as associações positivas para a transcrição b3a2, estão os alelos HLA-B\*56, DRB1\*0405 e DRB1\*0802. Para a transcrição e1a2, os autores encontraram associação negativa para o alelo DRB1\*0401 e positiva para o alelo DRB1\*0802. Em nosso estudo, o antígeno HLA-B45 apresentou-se associado positivamente às leucemias LLA e LMC, e o antígeno HLA-B56 apresentou associação positiva com a LLA, enquanto que os alelos DRB1\*04 e DRB1\*08 estiveram associados, também de modo positivo, à LMC.

No estudo realizado nos Estados Unidos, por Joventino et al. (1995)<sup>4</sup>, em 165 pessoas adultas com diferentes subtipos de LMA, foi encontrada associação positiva para o antígeno HLA-B7 relacionado à LMA 11q23, a qual pôde ser confirmada no presente estudo. Estes autores encontraram associação significativa do antígeno -DR4 ( $P < 0,05$ ) com o subtipo inv(16) e FAB-M4Eo, da LMA; em nosso estudo, o alelo HLA-DRB1\*04 esteve associado à LMC.

Em nosso trabalho, o antígeno HLA-A24 apresentou uma tendência de associação positiva à LMC ( $P = 0,09$ ), tendo sido relatada também uma associação deste antígeno nos estudos de Villalobos et al. (2003)<sup>9</sup> e Oguz et al. (2003)<sup>10</sup>. Na Venezuela, Villalobos et al. (2003)<sup>9</sup> avaliaram 60 pacientes com LMA e LLA e 30 indivíduos saudáveis, e encontraram somente associação positiva significante entre a LMA e os alelos HLA-B\*39 ( $P = 0,237$ ; OR = 16,184) e HLA-Cw\*03 ( $P = 0,0127$ ; RR = 5,0). Entre as associações positivas, foi encontrada associação com o haplótipo A\*24-Cw\*03. Não foram encontradas associações evidentes para a LLA, talvez pelo baixo número de pacientes e controles.

Na Universidade de Istambul, Oguz et al. (2003)<sup>10</sup> estudaram 169 pacientes adultos com LMC Ph+. Associações fracas foram encontradas para os alelos HLA-A\*02 e A\*24 e uma associação maior para o alelo HLA-B\*37 ( $P = 0,006$  e OR = 5,35). Houve efeito protetor do alelo HLA-B\*35 ( $P = 0,007$  e OR = 0,54), o segundo alelo mais comum na população turca. Entre os alelos de Classe II, houve associação de risco com o alelo DRB1\*10 ( $P = 0,034$  e OR = 2,88) e efeito protetor de DRB1\*11 ( $P = 0,017$  e OR = 0,61).

Li et al. (2005)<sup>11</sup>, na China, em pacientes com LLA, obtiveram frequências altas para os alelos HLA-A\*26, A\*68 e B\*56 e uma baixa frequência do alelo HLA-Cw\*06 quando comparados com os controles. Para os pacientes com LMA e LMC, as associações encontradas foram diferentes das encontradas em nossa avaliação. Em nosso estudo, o antígeno HLA-B56 também foi associado positivamente com a LLA.

Na Índia, Chhaya (2006)<sup>12</sup> estudou a possibilidade de associações de variantes HLA em 180 pacientes com LMC. Entre os alelos DRB1, foi observada associação negativa com DRB1\*13 ( $P = 0,031$ ; OR = 0,41), não sendo significativa após a correção do  $P$ . Entre os antígenos da Classe I, estiveram negativamente associados os antígenos HLA-A11 ( $P = 0,027$ ; OR = 0,54) e Cw6 ( $P = 0,005$ ; OR = 0,34), sendo que apenas o Cw6 manteve o efeito protetor, enquanto que a associação negativa do antígeno HLA-I1 deixou de ser significativa após a correção do  $P$ . De maneira similar, em nosso estudo, o alelo DRB1\*13 apresentou, também, uma tendência negativa à associação no com LMC ( $P = 0,09$ , OR = 0,58; 95%IC = 0,32-1,05).

Contrariamente às associações negativas encontradas em nosso estudo e nos estudos de Chhaya (2006)<sup>12</sup> para o alelo DRB1\*13, Cao et al. (2005)<sup>13</sup>, na China, obtiveram associação positiva deste alelo com a LMA ( $P = 0,008$ ) e LMC ( $P < 0,001$ ). Além da associação com o alelo DRB1\*13, também encontraram frequências significativamente aumentadas para os alelos DRB1\*03 ( $P = 0,004$ ), DRB1\*07 ( $P < 0,001$ ) e DRB1\*08 ( $P < 0,001$ ) na LMA e dos alelos DRB1\*07 ( $P = 0,017$ ), DRB1\*11 ( $P = 0,005$ ) e DRB1\*12 ( $P = 0,040$ ) na LMC. No grupo de pacientes com LLA, a associação positiva ocorreu com o alelo DRB1\*01 ( $P = 0,021$ ). Diferentemente, em nossa análise, o alelo DRB1\*08 ocorreu fortemente associado à LMC ( $P = 0,004$ ), enquanto que o alelo DRB1\*01 apresentou associação positiva com a LMA ( $P = 0,048$ ) e tendência à associação negativa com a LMC ( $P = 0,09$ ), as quais não se mantêm após correção do valor de  $P$ .

Além disso, vários outros trabalhos de associação entre o sistema HLA e leucemias foram realizados por autores em vários países, com resultados variáveis<sup>14-18</sup>.

Diante do exposto, podemos observar que ainda há muito para ser pesquisado em relação a associações entre polimorfismos genéticos do sistema HLA e doenças como as leucemias. Como sabemos, existem grandes diferenças de frequências de alelos e haplótipos HLA nas diversas populações mundiais, e as leucemias são doenças de caráter multifatorial, ou seja, diversos fatores genéticos e ambientais podem estar contribuindo para o seu desenvolvimento. Além disso, as leucemias apresentam diferentes manifestações clínicas quanto ao caráter agudo e crônico e quanto à linhagem das células precursoras hematopoiéticas envolvidas que as diferenciam em vários tipos e subtipos.

## CONCLUSÃO

No presente estudo de associação, variantes HLA de risco foram encontradas em pacientes com leucemias. As associações corroboradas por outros autores estão assim distribuídas: HLA-

B53 e HLA-B56 associados à LLA; HLA-B7 associado à LMA; HLA-A24, HLA-B45, HLA-DRB1\*04 e DRB1\*08 associados à LMC. Somente o alelo HLA-DRB1\*13 mostrou uma tendência ao efeito protetor na LMC.

Para os antígenos HLA-A43 (associação positiva com a LMC), HLA-A74 (tendência positiva para LLA) e o alelo HLA-DRB1\*01 (associação positiva para a LMA e tendência negativa para a LMC) são necessários estudos com maior número de pacientes, a fim de se obter uma associação mais fidedigna, visto que, na literatura pesquisada, nenhum deles foi relatado em associação com leucemias.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à equipe do laboratório HLA da Unicamp e aos pacientes e controles que participaram do estudo.

**Conflito de interesse:** não há

### SUMMARY

#### ASSOCIATION BETWEEN HLA AND LEUKEMIA IN A MIXED BRAZILIAN POPULATION

**OBJECTIVE.** The main purpose of this study was to investigate the class I HLA antigens and class II HLA allele frequencies in 164 patients with leukemia: 35 patients with ALL (acute lymphoid leukemia), 50 with AML (acute myeloid leukemia) and 78 with CML (chronic myeloid leukemia).

**METHODS.** The genotyping of class I HLA was performed by microlymphocytotoxicity and of class II by PCR-SSP (polymerase chain reaction - sequence specific of primers) (One Lambda, Canoga Park, CA, USA).

**RESULTS.** In patients with LLA, frequencies of HLA-B45 and HLA-B56 were higher ( $P = 0.02$ ;  $OR = 3.13$ ;  $95\%IC = 0.94-10.44$ ;  $P = 0.03$ ;  $OR = 3.61$ ;  $95\%IC = 0.47-27.64$ , respectively), than in controls. In patients with AML, the frequency of HLA-B7 ( $P = 0.01$ ;  $OR = 2.41$ ;  $95\%IC = 1.25-4.67$ ) was higher than in controls. The presence of HLA-B45 ( $P = 0.01$ ;  $OR = 3.29$ ;  $95\%IC = 1.46-7.40$ ), HLA-DRB1\*04 ( $P = 0.002$ ;  $OR = 2.17$ ;  $95\%IC = 1.36-3.46$ ) and HLA-DRB1\*08 ( $P = 0.004$ ;  $OR = 2.36$ ;  $95\%IC = 1.34-4.16$ ) was associated to increased risk of CML developing.

**CONCLUSION.** Our results suggest that variants of HLA confer susceptibility to the same forms of leukemia, and could provide new tools for the investigation of genetics and etiology of this disease. [Rev Assoc Med Bras 2007; 53(3): 252-6]

**KEY WORDS:** HLA. Leukemia. Genetic association.

### REFERÊNCIAS

1. Bowen DT. Etiology of acute myeloid leukemia in the elderly. *Semin Hematol* 2006; 43(2):82-8.
2. Yamamoto M, Figueiredo VLP. Epidemiologia da leucemia linfocítica crônica e leucemia linfocítica crônica familiar. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2005;27(4):229-32.
3. Ghodke Y, Joshi K, Chopra A, Patwardhan B. HLA and disease. *European*

- Journal of Epidemiology 2005; 20:475-88.
4. Joventino LP, Stock W, Lane NJ, Daly KM, Mick R, Le Beau MM, et al. Certain HLA-DR antigens are associated with specific morphologic and cytogenetic subsets of acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1995; 9(3):433-9.
5. Visentainer JEL. Testes prognósticos de rejeição e doença do enxerto contra o hospedeiro em transplantes de células progenitoras hematopoiéticas com doadores HLA-idênticos. 2003. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
6. Schreuder GM, Hurley CK, Marsh SGE, Lau M, Vina-Fernandez M, Noreen HJ, et al. The HLA dictionary 2004: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5 and -DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR and -DQ antigens. *Tissue Antigens* 2005;65:1-55.
7. Yassukawa M, Ohnami H, Kojima K, Inokuchi K, Nishimura Y, Fujita S. Analysis of HLA-DRB1 alleles in Japanese patients with chronic myelogenous leukemia. *American Journal of Hematology* 2000;63:99-101.
8. Mundhada S, Luthra R, Cano P. Association of HLA class I and class II genes with bcr-abl transcripts in leukemia patients with t(9;22) (q34;q11). *BMC Cancer* 2004;4(25):1-8.
9. Villalobos C, Rivera S, Weir-Medina J, Hassani M, Montiel M, Gonzales R. Association of HLA class I and leukemia in Mestizo patients of the state of Zulia, Venezuela. *Invest Clin* 2003;44(4):283-9.
10. Oguz FS, Kalayoglu S, Sarper Diler A, Tozkir H, Sargin D, Carin M, et al. HLA system affects the age-at-onset in chronic myeloid leukemia. *Am J Hematol* 2003;73(4):256-62.
11. Li D, Xi B, Liu Hy, Yu Y. Association of gene HLA-class I with leukemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2005;13(4):563-6.
12. Chhaya SU. Human leukocyte antigens in Indian patients with chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2006;47(2):291-5.
13. Cao HX, Zhao L, Zhou LX. HLA-DRB1 allele polymorphism associated with susceptibility to leukemia in Han nationality of Gansu. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2005;13(5):788-92.
14. Gowans D, O'Sullivan A, Rollinson S, Roddam P, Groves M, Fegan C, et al. Allele and haplotype frequency at human leukocyte antigen class I/II and immunomodulatory cytokine locos in patients with myelodysplasia and acute myeloid leukemia: in search of an autoimmune aetiology. *British J Haematol* 2002(117):541-5.
15. Rosas-Cabral A, Irigoyen L, Alvarado L, Vela-Ojeda J, Ayala SM, Tripp-Villanueva F, et al. HLA Cw3 and HLA Cw4 have a protective effect on acquisition of chronic myeloid leukemia on Mexican patients. *Rev Invest Clin* 2003;5(4):423-8.
16. Khamaganova E, Aleschenko S, Murashova L, Zaretskaya Y. Immunogenetic factors of predisposition to blood malignancies in Russian population. *Russ J Immunol* 2001;6(3):265-70.
17. Tian H, Zhou SY, Liu Zh, Fu YG, Lu FJ, Lin JH, et al. Association of HLA - DPB1 alleles with chronic myelogenous leukemia in Southern Chinese hans. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2003;11(43):266-8.
18. Barrios LMM, Suárez VM, Hernández AMG, Blanco RV, Ruiz MF, Martínez MA. Estudio de los haplotipos HLA en leucemias. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1997;13(2):153-7.

Artigo recebido: 22/09/06

Aceito para publicação: 04/12/06