

Sônia Maria Usó Ruiz Silva¹
 Claudia Peres Monteiro Carvalho²
 Elaine Valim Camarinha Marcos³
 Fabiana Covolo de Souza⁴
 Somei Ura⁵
 Ricardo Augusto Monteiro de
 Barros Almeida⁶

IDENTIFICAÇÃO DOS ALELOS HLA DE CLASSE I E CLASSE II EM PACIENTES CO-INFECTADOS COM HANSENÍASE E AIDS

Identification of HLA alleles class I and class II in co-infected patients with leprosy and aids

RESUMO

O complexo HLA tem sido amplamente estudado, na tentativa de elucidar os mecanismos que levam ao direcionamento da forma clínica na hanseníase. Foram observadas associações positivas dos alelos HLA-DR2 e HLA-DR3, com a forma tuberculóide (HT) e do alelo HLA-DQ1, com a forma virchoviana (HV). Em relação ao HIV os alelos de classe I, HLA-B35 e HLA-Cw4 parecem estar mais fortemente associados com a deterioração imunológica e com a aceleração da progressão para a aids e os alelos HLA-A1, HLA-B8, HLA-B27, HLA-Cw7 e os de classe II, HLA-DR3 e HLA-DQ2 com a progressão lenta da doença. Por não haver nenhum dado na literatura descrevendo a participação dos alelos HLA em indivíduos co-infetados com hanseníase e HIV, o presente estudo teve como objetivo avaliar a frequência dos alelos HLA de Classe I e II (locus A, B, C, DR e DQ) em pacientes co-infetados, atendidos no Instituto Lauro de Souza Lima de Bauru. Foi possível observar que a presença de alelos descritos na literatura como associados com rápida progressão da aids parece não influenciar no espectro clínico da hanseníase.

Silva S M U R, Carvalho C P M, Marcos E V C, Souza F C, Ura S, Almeida R A M B. Identificação dos alelos HLA de classe I e classe II em pacientes co-infetados com hanseníase e Aids. *Hansen int* 2006; 31 (2): 29-34.

Embora a infecção pelo HIV cause profundos danos no sistema imune, não houve direcionamento para a forma virchoviana multibacilar como se poderia esperar. Estudos abrangendo maior casuística devem ser conduzidos para que os resultados sejam mais informativos uma vez que a co-infecção HIV/*M. leprae* é um evento importante em área endêmica para ambas as doenças.

Palavras-chave: HLA; hanseníase; aids; co-infecção hanseníase/aids

Recebido em 02/08/2007.
 Última correção 20/08/2007.
 Aceito em 25/08/2007.

- 1 Sônia Maria Usó Ruiz Silva. Instituto Lauro de Souza Lima. Rodovia Comandante João Ribeiro de Barros, km 225. Caixa Postal 3021. Bauru – SP. CEP 17034-971 Fone (14) 3103-5858 – FAX (14) 3103-5914. soniauso@iisl.br
 Mestre em Doenças Tropicais pela Faculdade de Medicina da UNESP- Botucatu. Pesquisador científico II, Instituto Lauro de Souza Lima, – Bauru – São Paulo. soniauso@iisl.br
- 2 Biomédica aprimoranda da FUNDAP Instituto Lauro de Souza Lima – Bauru – São Paulo. claudiaesavio@yahoo.com.br
- 3 Mestre em Doenças Tropicais pela Faculdade de Medicina da UNESP - Botucatu. Pesquisador científico III, Instituto Lauro de Souza Lima – Bauru – São Paulo. emarcos@iisl.br
- 4 Mestre em Ciências pela Coordenadoria de Controle de Doenças. Pesquisador científico II, Instituto Lauro de Souza Lima – Bauru – São Paulo. fsouza@iisl.br
- 5 Mestre em Doenças Tropicais pela Faculdade de Medicina da UNESP - Botucatu. Diretor da Divisão de Pesquisa e Ensino e Pesquisador científico V, Instituto Lauro de Souza Lima – Bauru – São Paulo. sura@iisl.br
- 6 Mestre em Doenças Tropicais pela UNESP de Botucatu. Médico Infectologista da Faculdade de Medicina da UNESP de Botucatu. ralmeida@fmb.unesp.br

ABSTRACT

In the attempt to elucidate the mechanisms that direct to the clinical forms of leprosy, HLA complex has been widely studied. Positive associations of the alleles were observed for HLA-DR2 and HLA-DR3 with the tuberculoid form (HT) and allele HLA-DQ1 with the lepromatous form (HV). In relation to HIV, HLA-B35 and HLA-Cw4 class I alleles seem to be more strongly associated with immunological deterioration and accelerated aids progression. Class I HLA-A1, HLA-B8, HLA-B27, HLA-Cw7 and class II alleles, HLA-DR3 and HLA-DQ2 are associated with long-term nonprogressive disease. Because no literature data has described the participation of alleles HLA in individuals co-infected with leprosy and HIV, the present study aimed at evaluating in class I (locus A,B,C) and class II (locus DR and DQ) HLA frequencies in co-infected patients, attended at the Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru. It was possible to observe that presence of alleles associated with fast progression of aids did not influence the clinical spectrum of leprosy. Although HIV infection intensively affects the immune system, it seems not to lead to leprosy multibacillary forms. Since co-infection HIV/*M.leprae* is an important event in endemic areas for both diseases such as Brazil, more patients should be evaluated in order to increase the significant of these findings.

Key-words: HLA; leprosy; aids; co-infection leprosy/aids

INTRODUÇÃO

Desde o início da epidemia da aids causada pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), surgiu a preocupação com o impacto que poderia haver na interação com o *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*) em áreas endêmicas para a hanseníase, no Brasil e alguns países da África. Por causar acentuada imunossupressão, a infecção pelo HIV, aumenta a suscetibilidade às infecções oportunistas como a tuberculose, com prognóstico de maior gravidade para ambas as doenças, diminuindo a expectativa de vida dos pacientes¹.

A infecção pelo *M. leprae* e HIV tem aspecto crônico, e a interação entre essas doenças ainda não é inteiramente compreendida. Sabe-se que a incidência de hanseníase não é aumentada em pacientes infectados pelo HIV²⁻⁴. Todas as formas clínicas da hanseníase têm sido descritas em pacientes com aids, sugerindo que a imunodepressão generalizada da aids não interfere na sua forma clínica.

Segundo Sampaio⁵ a resposta granulomatosa ao *M. leprae* no sítio da lesão, encontra-se preservada em indivíduos HIV positivos ao contrário da tuberculose em que o grau de imunodeficiência, associado com a diminuição da contagem de linfócitos T CD4+, apresenta granuloma pobremente formado no qual faltam linfócitos, células epitelióides e gigantes, incapaz de conter o bacilo.

HIV e *M. leprae* são antígenos intracelulares que estimulam o perfil Th1 e a resposta imune celular. Os linfócitos T reconhecem esses antígenos quando apresentados juntamente com as moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (HLA) na superfície da célula apresentadora de antígeno (APC), desencadeando a resposta imune específica⁶⁻⁸. Muitos estudos têm sido realizados na tentativa de associar HLA com diversas patologias. Atualmente, mais de 40 doenças apresentam ligações genéticas estabelecidas com o HLA^{9,10}.

A capacidade de resposta que os indivíduos saudáveis e os doentes possuem em reconhecer os mesmos antígenos pode ser determinada através de características genéticas¹¹. Acredita-se que a participação do complexo HLA na hanseníase ocorra na modulação da forma e na manifestação clínica da doença e não na suscetibilidade propriamente dita para a infecção^{11,12}. As moléculas HLA em pacientes portadores de HIV parecem estar mais fortemente associadas com a deterioração imunológica, pela diminuição dos linfócitos T CD4, do que com a manifestação clínica da doença.

Ambas são doenças infecciosas crônicas de longo período de incubação, dificultando um estudo prospectivo caso-controle¹³.

Na hanseníase, o HLA tem sido amplamente estudado, na tentativa de elucidar os mecanismos imunológicos envolvidos na manifestação das diferentes formas clínicas, uma vez que estas moléculas atuam de forma direta na resposta imune através da apresentação do peptídeo antigênico para o linfócito T. Associações positivas de HLA-DR2 e HLA-DR3 com hanseníase tuberculóide (HT) e de HLA-DQ1, com hanseníase virchoviana (HV) têm sido descritas em diferentes populações do mundo¹⁴⁻¹⁷.

Vários estudos associam consistentemente as moléculas de classe I, HLA-B35 e HLA-Cw4 com a progressão rápida para a aids, enquanto as moléculas HLA-A1, HLA-B8, HLA-B27, HLA-Cw7 e as de classe II, HLA-DR3 e HLA-DQ2 estão associadas com a progressão lenta¹⁸⁻²¹.

Considerando que não foi encontrado nenhum estudo na literatura que evidenciasse a frequência de HLA em indivíduos co-infectados com hanseníase e HIV, o objetivo desse estudo foi identificar HLA de classe I e II (locus A, B, C, DR e DQ) neste grupo de pacientes, pertencentes à população do estado de São Paulo, visando pesquisar possíveis associações HLA/hanseníase, HLA/HIV, bem como HLA/hanseníase/HIV.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Pacientes: foram estudados nove pacientes co-infectados com hanseníase e HIV, atendidos no ambulatório de Dermatologia do Instituto Lauro de Souza Lima de Bauru, no período de 1981 a 2006. A doença inicialmente diagnosticada foi aids em seis pacientes

Tabela 1. Caracterização dos pacientes pertencentes ao estudo, co-infectados com *M. leprae*/HIV, de acordo com os aspectos clínicos e imunológicos apresentados.

Paciente nº	Idade/sexo	Mitsuda	Baciloscopia	Diag. HIV/MH	Forma clínica	Tratamento	CD4 [#] (cel/mm ³)	CV [#] (cópias/ml)	CD4 ^{##} (cel/mm ³)	CV ^{##} (cópias/ml)
1	37/M	2+ (10mm)	negativo	2000/1999	HT	PQT/PB	160	NR	196	56.145
2	44/M	negativo	2+*	1989/1997	HD	PQT/MB	347	110.000	730	< limite
3	43/F	NR	negativo	2003/1996	HD	PQT/MB	490	3.287	484	1.709
4	10/M	2+ (8,5mm)	1+*	1996/2004	HT	PQT/PB	485	133.324	900	< limite
5	40/M	NR	NR	2001/1998	HD	PQT/MB	831	NR	875	< limite
6	53/M	3+ (12,5mm)	negativo	2000/2001	HT	PQT/PB	333	5.400	686	< limite
7	32/F	negativo	1+	2000/2002	HV	PQT/MB	278	80.116	237	805
8	38/F	NR	negativo*	2001/2005	HT	PQT/PB	385	59.537	333	182.671
9	48/F	negativo	1+	1998/2002	HV	PQT/MB	102	20.302	195	NR

* baciloscopia do histopatológico

PQT= poliquimioterapia; MB= multibacilar; PB= paucibacilar

NR= não realizado

Contagem de linfócitos T CD4 e carga viral no momento do diagnóstico de hanseníase.

Contagem de linfócitos T CD4 e carga viral ao final do estudo (2006).

(66,7%) e hanseníase em três (33,3%). Em relação às formas clínicas da hanseníase quatro pacientes eram HT, dois HV e três HD.

Aspectos éticos: todos os pacientes foram devidamente esclarecidos sobre os objetivos e procedimentos da pesquisa e concordaram em participar assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com a Resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto foi aprovado pela Comissão Científica e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do ILSL, sob o número 009/06.

Coleta de Sangue: foram coletados 5ml de sangue venoso periférico em tubo de coleta a vácuo, comercial, descartável, contendo anti-coagulante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) sendo observadas as condutas padrão de antissepsia.

Extração de DNA: foi realizada pela técnica de *Salting-out*²².

Tipificação de HLA: HLA classe I (-A, -B, -Cw) e classe II(-DR e -DQ), foram realizados pelo método de PCR-SSP, utilizando-se kits comerciais de baixa resolução da marca One-Lambda/USA.

RESULTADOS

Na Tabela 1 estão caracterizados os indivíduos co-infectados quanto suas respectivas idades, sexo, características clínicas e imunológicas, determinadas no momento do diagnóstico de hanseníase e no momento da coleta de amostras. De modo geral houve queda acentuada no número de cópias do vírus no decorrer

do tempo desde o diagnóstico de hanseníase até o momento da coleta das amostras para a determinação do HLA. Houve um aumento na contagem de linfócitos T CD4 (média de 515 células /mm³), embora os níveis iniciais no momento do diagnóstico de hanseníase não estivessem abaixo de 200 células/mm³ (média = 379).

A Tabela 2 apresenta os alelos HLA de classe I (-A, -B e -C) identificados nos pacientes co-infectados com hanseníase/HIV, destacando-se aqueles que na

Tabela 2. HLA de classe I determinados nos pacientes co-infectados com hanseníase e HIV.

Pacientes	Forma clínica	HLA de classe I					
		A	A	B	B	Cw	Cw
1	HT	1 [#]	24	8 [#]	52	7 [#]	15
2	HD	1 [#]	2	57 [#]		7 [#]	3
3	HD	2	2	61	42	4 ^{##}	15
4	HT	2	36	51	53	2	4 ^{##}
5	HD	2	74	50	53	2	7 [#]
6	HT	2	2	18	51	7 [#]	14
7	HV	2	68	62	15	3	4 ^{##}
8	HT	2	3	35 ^{##}	45	4 ^{##}	16
9	HV	23	26	38	44	4 ^{##}	12

alelos relacionados à lenta progressão da aids

alelos relacionados à rápida progressão da aids

literatura, apresentam relação com hanseníase e HIV. Observa-se a presença de HLA-A1, HLA-B8, HLA-B57 e HLA-Cw7, associados a baixa progressão do HIV e dos alelos HLA-B35 e HLA-Cw4 relacionados à rápida progressão da doença.

Na Tabela 3 estão relacionados os alelos HLA de classe II (-DR e -DQ) identificados nos nove pacientes co-infectados com hanseníase/HIV, destacando-se aqueles que na literatura, apresentam relação com hanseníase e HIV. Observa-se a presença do alelo HLA-DR16, subdivisão do HLA-DR2 e do alelo HLA-DR17, subdivisão do HLA-DR3, ambos associados com HT. Nota-se ainda a presença do alelo HLA-DQ5, subdivisão do HLA-DQ1, que segundo a literatura está associado com HV. Em relação ao HIV observa-se a presença dos alelos HLA-DQ2 e HLA-DR17 (-DR3), ambos relacionados à lenta progressão da aids.

Foi determinada a frequência dos alelos HLA-A, -B e -C dos pacientes co-infectados com hanseníase/HIV (Tabela

Tabela 3. HLA de classe II determinados nos pacientes co-infectados com hanseníase e HIV.

Pacientes	Forma clínica	HLA de classe II			
		DR	DR	DQ	DQ
1	HT	4	17**	2 [#]	8
2	HD	4	7	8	9
3	HD	1	16*	5**	
4	HT	1	7	2 [#]	5**
5	HD	7	16*	2 [#]	5**
6	HT	4	8	4	8
7	HV	7	16*	2 [#]	7
8	HT	1	12	5**	7
9	HV	4	7	2 [#]	8

loco DR - alelo16 (HLA-DR2) / alelo 17 (HLA-DR3)

loco DQ – alelo 5 (HLA-DQ1)

alelos relacionados à lenta progressão da aids

* alelos relacionados à forma HT

** alelos relacionados à forma HV

4) e a frequência dos alelos HLA-DR e -DQ dos pacientes co-infectados com hanseníase/HIV (Tabela 5).

Tabela 4. Frequência de HLA de classe I em 9 pacientes co-infectados com hanseníase e HIV pertencentes ao estudo.

HLA	VA	%	HLA	VA	%	HLA	VA	%
A1	2	22	B22	0	0	Cw1	0	0
A2	9	100	B27	0	0	Cw2	2	22
A3	0	0	B35	0	0	Cw3	2	22
A9	0	0	B37	0	0	Cw4	5	55
A10	0	0	B3816	1	11	Cw5	0	0
A11	0	0	B3916	0	0	Cw6	0	0
A19	0	0	B40	1	11	Cw7	4	44
A239	1	11	B41	0	0	Cw8	0	0
A249	1	11	B42	1	11	Cw9	0	0
A2510	0	0	B4412	1	11	Cw10	0	0
A2610	1	11	B4512	1	11	Cw12	1	11
A28	0	0	B46	0	0	Cw14	1	11
A2919	0	0	B47	0	0	Cw15	2	22
A3019	0	0	B48	0	0	Cw16	1	11
A3119	0	0	B4921	0	0	Cw17	0	0
A3219	0	0	B5021	1	11	Cw18	0	0
A3319	0	0	B515	2	22			
A3410	0	0	B525	1	11			
A36	1	11	B53	2	22			
A43	0	0	B5422	0	0			
A6610	0	0	B5522	0	0			
A6828	1	11	B5622	0	0			
A6928	0	0	B5717	1	11			
A7419	1	11	B5817	0	0			
			B6040	0	0			
B5	0	0	B6140	1	11			
B7	0	0	B6215	1	11			
B8	1	11	B6315	0	0			
B12	0	0	B6414	0	0			
B13	0	0	B6514	0	0			
B14	0	0	B70	0	0			
B15	2	22	B73	0	0			
B16	0	0	B7515	0	0			
B17	0	0	B7615	0	0			
B18	1	11	B81	0	0			
B21	0	0						

VA= valor absoluto

Tabela 5. Freqüência de HLA de classe II (DR e DQ) em 9 pacientes co-infectados com hanseníase e HIV pertencentes ao estudo.

HLA	VA	%
DR1	3	33
DR2	3	33
DR3	1	11
DR4	4	44
DR5	0	0
DR6	0	0
DR7	5	55
DR8	1	11
DR9	0	0
DR10	0	0
DR115	0	0
DR125	1	11
DR136	0	0
DR146	0	0
DR152	0	0
DR162	3	33
DQ1	4	44
DQ2	5	55
DQ3	7	77
DQ4	1	11
DQ5	0	0
DQ6	0	0

VA= valor absoluto

DISCUSSÃO

Considerando que a co-infecção HIV/*M.leprae* é um evento importante em área endêmica para ambas as doenças no Brasil, o principal objetivo deste estudo foi identificar os alelos HLA de classe I (-A, -B e -Cw) e de classe II (-DR e -DQ), bem como as associações HLA/hanseníase, HLA/HIV, e HLA/hanseníase/HIV.

Com relação à associação HLA/hanseníase, dos quatro pacientes HT, um apresentou o alelo HLA-DR3, concordando com os dados de literatura.

Dos três pacientes HD, dois apresentaram simultaneamente alelos relacionados às formas HT (DR2) e HV (DQ1). Nenhum dos dois pacientes HV apresentou o alelo HLA-DQ1.

Como resultado da associação HLA/HIV, quatro pacientes apresentaram alelos HLA envolvidos com a lenta progressão da aids (HLA-A1, -B8, -B57 e -Cw7) e cinco pacientes apresentaram os alelos HLA-B35 e HLA-Cw4, relacionados à sua alta progressão¹⁸⁻¹⁹. Destes, todos apresentaram o alelo HLA-Cw4.

A presença dos alelos HLA-B35 e HLA-Cw4, na casuística estudada, que poderiam predispor a uma rápida

progressão para a aids¹⁸, parece não ter influenciado na forma clínica da hanseníase, uma vez que dos cinco pacientes que apresentaram esses alelos, dois manifestaram HT, mais responsiva sob os aspectos imunológicos, inclusive um deles apresentou ambos os alelos. Um paciente apresentou HD e dois HV, não havendo portanto, predominância da forma multibacilar como se poderia esperar em pacientes infectados pelo vírus HIV.

Do mesmo modo os pacientes que apresentaram alta carga viral, que poderia definir uma maior imunossupressão pela queda de perfil Th1, desenvolveram a forma HT caracterizada por forte resposta imune celular ao bacilo.

Embora com alta carga viral o paciente 1 apresentou reação de Mitsuda fortemente positiva, demonstrando sua capacidade de resposta imune celular específica ao *M. leprae*. O paciente 7, diagnosticado como HV, inicialmente com carga viral muito alta (80.116 cópias/ml) apresentou, no decorrer do tratamento, queda acentuada para 805 cópias/ml sem que houvesse alteração de sua forma clínica, concordando com dados da literatura. Em relação aos linfócitos T CD4 foi observado que nos pacientes HT a contagem variou de 160 a 485 células/mm³ no momento de diagnóstico da hanseníase, enquanto nos HV, variou de 102 a 278 células/mm³, mostrando que os valores de T CD4 abaixo de 200 células/mm³ não influenciaram na forma clínica da hanseníase.

No presente estudo, observamos maior relação dos alelos HLA/HIV do que em relação à HLA/hanseníase nos pacientes co-infectados.

Apesar dos profundos efeitos da infecção pelo HIV no sistema imune, vários estudos demonstraram não influenciar no espectro clínico da hanseníase em pacientes co-infectados, fato que pudemos observar na casuística estudada¹⁸⁻²¹.

O longo período de incubação da hanseníase e do HIV torna difícil o estudo prognóstico de *coorte*, e embora a casuística seja pequena é importante salientar que o estudo abrangeu o período de janeiro de 1981 a novembro de 2006, tendo sido realizado em um centro de referência para hanseníase. Não existem parâmetros para a discussão dos resultados devido à ausência de dados na literatura sobre a influência do HLA na co-infecção hanseníase/HIV até o momento.

Novos estudos abrangendo maior casuística devem ser conduzidos para que se possa discutir estatisticamente os resultados obtidos tornando-os mais elucidativos.

REFERÊNCIAS

- 1 Ustionowski AP, D Lawn S, Lockwood DNJ. Interactions between HIV infection and leprosy: a paradox. *Lancet Infect Dis* 2006;6:350-60.
- 2 Andrade V, Alves TM, Avelleira JCR, Bayona M. Prevalência de HIV-1 em pacientes de hanseníase no Rio de Janeiro. *Hansen int* 1996; 21(1):22-33.
- 3 Lucas S. Human immunodeficiency virus and leprosy. *Lepr rev* 1993; 64:97-103.
- 4 Opromolla DVA, Tonello CJS, Fleury RN. Hanseníase dimorfa e infecção pelo HIV (aids). *Hansen int* 2000; 25(1):54-9.
- 5 Sampaio EP, Caneshi JRT, Nery JAC, Duppre NC, Pereira GMB, Vieira LMM *et al.* Cellular Immune Response to *Mycobacterium leprae* infection in Human Immunodeficiency Virus-Infected Individual. *Infect and Imun* 1995; 63(5):1848-54.
- 6 Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. 4thed. New York: W.S.Saunders Co., 2000.
- 7 Munro A, Bright S. Products of the major histocompatibility complex and their relationship to the immune response. *Nature* 1976; 264:145-52.
- 8 Sasazuki T, Nishimura Y, Muto M, Ohta N. HLA-linked genes controlling immune response and disease susceptibility. *Immunol Rev* 1983; 70: 51-75.
- 9 Naik S. The Human HLA System. *J Indian Rheumatol Assoc* 2003; 11:79-83.
- 10 Klein J, Sato A. The HLA System. Review Articles. *Advances in Immunology. The New England Journal of Medicine* 2000; 343(11):782-6.
- 11 Ottenhoff THM. Immunology of leprosy. New developments. *Trop Geogr Med.* 1994;46(2):72-80.
- 12 Petzel-Erler ML. Genetics of the immune response and disease susceptibility. *Cienc Cult (São Paulo)* 1999; 51: 199-211.
- 13 Ustionowski AP, D Lawn S, Lockwood DNJ. Interactions between HIV infection and leprosy: a paradox. *Lancet Infect Dis.* 2006;6:350-60.
- 14 Van Eden W, Mehra NK, Vaidya MC, D'Amarco J, Schreuder GMTh, Van Rood JJ. HLA and sporadic tuberculoid leprosy: a population study in Maharashtra, India. *Tissue antigens* 1981; 18(3): 189-94.
- 15 Van Eden W, de Vries RR, D'Amaro J, Schreuder I, Leiker DL, Van Rood JJ. HLA-DR associated genetic control of the type of leprosy in a population from Surinam. *Human Immunol.* 1982; 4(4):343-50.
- 16 Izumi S, Sugiyama K, Matsumoto Y, Ohkawa S. Analysis of the immunogenetic background of Japanese leprosy patients by the HLA system. *Vox sang* 1982; 42(5): 243-7.
- 17 Ottenhoff THM, Gonzalez NM, De Vries RR, Convit J, Van Rood JJ. Association of HLA specificity LB-E12 (MB1, DC1, MT1) with lepromatous leprosy in a Venezuelan population. *Tissue antigens* 1984; 24 (1): 25-9.
- 18 Carrington M, Nelson GW, Martins MP, Kissner T, Vlahov D, Goedert JJ, et al. HLA and HIV-1: Heterozygote Advantage and B35-CW4. Disadvantage. *Science* 12 march 1999. v 283.
- 19 Scherer A, Frater J, Oxenius A, Aguderlo J, Price DA, Günthard HF et al.. quantifiable cytotoxic T lymphocyte responses and HLA-related risk of progression to AIDS. *PNAS* 2004;101(33): 12266-70.
- 20 Kelleher AD, Long C, Holmes EC, Allen RL, Wilson J, Conlon C et al.. Clustered mutations in HIV-1 gag are consistently required for escape from HLA-B27-restricted cytotoxic T lymphocyte response. *J Exp Med* 2001;193(3): 375-85.
- 21 Dubey DP, Yunis I, Leslie CA, Mehta C, Yunis EJ. Homozygosity in the major histocompatibility complex region influences natural killer cell activity in man *Eur. J. Immunol.* 1987;17(1):61-66.
- 22 Miller SA., Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids. Res* 1988; 16: 1215.