
Avaliação fenotípica e genotípica dos genes HLA LOCI (A*, B*, C*, DRB1* e DQB1*) dos doadores e paciente pré-TMO do hospital de câncer de Barretos-SP

Phenotypic evaluation and genotypic genes HLA LOCI (A, B*, C*, DRB1* and DQB1*) donor and patients in pre-BMT Barretos cancer hospital São Paulo state*

Débora Greice Campagnuolo¹, Rafael Formeton Cita², Tatiana Elias Colombo¹

¹Curso de Biomedicina da Universidade Paulista, São José do Rio Preto-SP, Brasil; ²Laboratório de Histocompatibilidade da Fundação Pio XII, Barretos-SP, Brasil.

Resumo

Objetivo – Descrever e analisar a frequência dos alelos, genótipos e haplótipos HLA de classe I (HLA-A, -B e -C) e classe II (HLA-DRB1 e -DQB1) dos pacientes na fase pré-transplante de medula óssea, genotipados no laboratório de Imunogenética-HLA do Hospital de Câncer de Barretos. O estudo da frequência dos alelos detectados nos doadores e pacientes previamente selecionados para o transplante de medula óssea permite estimar as reais chances de um paciente em lista de espera encontrar um doador HLA idêntico não relacionado, além de facilitar e direcionar o planejamento do crescimento do Registro. **Métodos** – Os dados foram obtidos através da técnica de amplificação em cadeia de polimerase e para a genotipagem dos alelos dos genes A, B, C, DRB1 e DQB1 foi empregado o método de sequenciamento de nucleotídeos. **Resultados** – Entre outubro de 2014 a outubro de 2015 foram tratados 106 pacientes e 98 doadores de medula óssea cadastrados. As doenças de base mais comuns que levaram o paciente ao transplante foram as leucemias agudas linfóides (34%) e mielóides (29,2%). A caracterização imunogenética dos pacientes na fase pré-transplante de medula óssea mostrou um total de 19 alelos do loco A, 24 do loco B, 14 do loco C, 5 do loco DQ, 13 do loco DR; já nos doadores de medula óssea, 16 alelos do loco A, 25 do loco B, 13 do loco C, 5 do loco DQ e 12 do loco DR. **Conclusão** – Os grupos alélicos mais frequentes nos registros foram A*02, A*24, A*03, A*01, B*35, B*44, C*07, DQB1*03, DQB1*05, DQB1*06, DRB1*01 e DRB1*13. Apenas o conhecimento da frequência do tipo HLA específico do paciente na população não garante que ele encontre o doador compatível, é necessário também que o portador desse tipo HLA se encontre cadastrado no REDOME como doador voluntário.

Descritores: Complexo principal de histocompatibilidade; Transplante de medula óssea

Abstract

Objective – Describe and analyze the frequency of the alleles, genotypes, and haplotypes HLA class I (HLA-A*, -B* and -C*) and class II (HLA-DRB1* and -DQB1*) of patients in the bone marrow before transplantation phase genotyped in laboratory of Immunogenetics-HLA Barretos Cancer Hospital. The study detected the frequency of alleles in patients and donors selected for bone marrow transplantation allows to estimate the real chances of a patient on the waiting list to find an unrelated HLA-identical donor, and to facilitate and direct the Brazilian Registry of planning Bone Marrow Transplantation (REDOME). **Methods** – The data were obtained by amplification using polymerase chain, and for genotyping the alleles of the genes A, B, C, DRB1 and DQB1 was employed nucleotide sequencing method. **Results** – From October 2014 to October 2015 were treated 106 patients and 98 donors registered bone marrow. The most common underlying diseases that led to transplantation patients were acute lymphoid leukemias (34%) and myeloid (29.2%). Immunogenetics characterization of patients in the bone marrow pre-transplant phase showed a total of 19 alleles at the A loci, 24 in B loci, 14 in C loci, 5 in DQB1 loci and 13 in DRB1 loci; already in the bone marrow donors, 16 alleles at the A loci, 25 in B loci, 13 in C loci, 5 in DQB1 loci and 12 in DRB1 loci. **Conclusion** – The most frequent allelic groups were A*02, A*24, A*03, A*01, B*35, B*44, C*07, DQB1*03, DQB1*05, DQB1*06, DRB1*01 and DRB1*13. Knowledge of the frequency of HLA genes patients are not enough to find a compatible donor, it is necessary that the record contains the donor available.

Descriptors: Major histocompatibility complex; Bone marrow transplant

Introdução

O complexo principal de Histocompatibilidade humano está localizado no braço curto do cromossomo 6, mais precisamente em 6p21.31, densamente povoado por genes distribuídos ao longo de quatro milhões de pares de bases. Esses genes estão agrupados em três regiões, de acordo com certas características funcionais¹. Na região HLA classe I, mais próxima ao telômero, estão localizados os genes HLA classe I clássicos (HLA-A, B e C), genes HLA classe I não clássicos (HLA-E, F e G), além de outros genes e pseudogenes^{1,2}.

A região HLA de classe II (ou região HLA-D), mais

próxima ao centrômero, alberga sub-regiões DR, DQ e DP que contêm os genes que codificam as moléculas de HLA classe II e diversos outros genes que também participam da resposta imune. A sub-região DR inclui um gene DRA, não polimórfico, que codifica a cadeia alfa, a qual pode combinar com qualquer uma das cadeias beta codificadas por genes DRB. Os produtos dos genes DPA1 (cadeia DP alfa) e DPB1 (cadeia DP beta) associam-se para formar as moléculas HLA-DP e, similarmente, DQA1 (cadeia DQ alfa) e DQB1 (cadeia DQ beta) constituem as moléculas de HLA-DQ^{1,2}.

A região de classe III, localizada entre as regiões de classe I e II, contém genes C2, C4A, C4B e fator B que

codificam proteínas do sistema complemento, além de outros genes envolvidos na resposta imune inata e nos processos inflamatórios^{1,2}.

Os genes HLA estão ligados e, por essa razão, são geralmente transmitidos para a descendência como uma unidade, por segregação mendeliana simples. As variantes alélicas dos genes HLA são expressas de forma codominante. Isso significa que um indivíduo expressa na superfície de suas células os produtos alélicos codificados pelos genes presentes nos cromossomos paternos e maternos. Entretanto, os genes HLA são divididos em classes devidos às suas diferenças na estrutura, na função e na expressão tecidual. Os de classe I se expressam em praticamente em todas as células nucleadas do organismo, enquanto que os de classe II têm expressão restrita às células apresentadoras de antígeno, tais como linfócito B, macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans e células do epitélio tímico¹.

Ao conjunto de alelos presentes em cada um dos genes HLA localizados em um dos cromossomos, do par homólogo número 6, denomina-se haplótipo. Por convenção, os dois haplótipos paternos são designados a e b, e os haplótipos maternos c e d, sendo que os descendentes podem herdar uma dentre as quatro combinações parentais possíveis: ac, ad, bc e bd^{1,3}.

O estudo das frequências dos alelos e haplótipos detectados nos doadores e pacientes pré-selecionados para o transplante de medula óssea permite estimar as reais chances de um paciente em lista de espera encontrar um doador HLA idêntico não relacionado, além de facilitar e direcionar o planejamento do crescimento do Registro. Além disso, a análise dos alelos e haplótipos associados a doenças poderão auxiliar no planejamento de políticas públicas de prevenção^{1,3}.

Considerando a grande dificuldade de se encontrar um doador compatível não aparentado, para transplantes de órgãos sólidos e tecidos hematopoéticos, principalmente no Brasil onde há uma grande miscigenação, e tendo sido observado uma relação entre alelos e etnia. Esse estudo tem a intenção de verificar a frequência dos alelos mais frequentes na população brasileira e relacioná-los com a etnia, isso com o intuito de diminuir o tempo de procura por um doador compatível.

Métodos

Importante ressaltar que os reagentes utilizados para realização do presente trabalho foram fornecidos pelo laboratório Imunogenética-HLA do Hospital de Câncer de Barretos, SP.

Casuística

Após aprovação pelo Comitê de Ética (CAAE: 44870715.2.0000.5512) (Anexo 1), foi realizado um estudo retrospectivo e exploratório, por meio do levantamento de dados do Laboratório de Histocompatibilidade do Hospital de Câncer de Barretos, HCB, Fundação Pio XII, referentes ao período entre outubro de 2014 a outubro de 2015.

O banco de dados foi criado a partir de informações contidas no Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea (REDOME), que contém por volta de quatro milhões de registros de doadores voluntários de medula óssea. Para os pacientes, foram utilizadas as informações do Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea (REREME).

As amostras foram tipificadas para os *loci* HLA-A, -B, -C, -DR e -DQ. Um total de 98 amostras de doadores e 106 amostras de pacientes foram selecionados com tipificações em alta resolução.

Todas as etapas do projeto foram realizadas no laboratório de Histocompatibilidade da Fundação Pio XII, sob responsabilidade do pesquisador principal e com supervisão da chefia do departamento; que possui toda a infraestrutura necessária para a realização da pesquisa.

As informações cadastrais dos indivíduos pertencentes ao banco de doadores voluntários de medula óssea do REDOME e de receptores REREME, envolvidos neste projeto, foram mantidas em absoluto sigilo, havendo o compromisso de não revelar, reproduzir, utilizar ou dar conhecimento, em hipótese alguma, a terceiros, de dados pessoais ou informações científicas.

Caracterização da amostra populacional

As amostras em estudo foram obtidas por meio das campanhas de cadastramento de doadores voluntários de medula óssea realizadas em todo Brasil, oriundas de todos os estados brasileiros. Na ocasião, cada indivíduo assinou um termo de consentimento que possibilitou a utilização das amostras para futuros testes genéticos sigilosos.

Os critérios de inclusão utilizados foram: pacientes com idade superior a 18 anos; pacientes e doadores provindos de qualquer região do Brasil; pacientes com diagnóstico prévio de Leucemia Mieloide Crônica e Aguda, Leucemia Linfóide Aguda e Aplasia da Medula Óssea atendidos no Hospital de Câncer de Barretos no período de outubro de 2014 a outubro de 2015 e cujo material biológico (DNA) foi encontrado armazenado no Laboratório de Imunogenética-HLA; e doadores voluntários de medula óssea selecionados pelo REDOME para TMO.

Foram excluídos os participantes de pesquisa que não consentiram em participar de estudos genéticos.

Dez mililitros (10mL) de sangue periférico foram coletados de cada indivíduo, através de punção venosa, em tubos estéreis tipo *Vacutainer* (*BDVacutainer, Franklin Lakes, NJ, USA*) com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético); como alternativa poderia ser utilizado 8,5mL de sangue periférico coletados em tubos estéreis tipo *Vacutainer* com anticoagulante ACD (citrato ácido dextrose).

Após a coleta, as amostras foram enviadas ao Laboratório de Histocompatibilidade – HCB, onde 1mL de cada amostra foi alíquotada em tubos tipo *Eppendorf* (*Eppendorf AG, HAM, GER*) devidamente identificados, e armazenados a -20°C até a extração do DNA.

Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído à partir de 200µL de sangue periférico, utilizando o kit de extração BIOPUR (*One Lambda, Canoga Park, CA, USA*), de acordo com as recomendações do fabricante.

Amplificação

Para a amplificação dos genes correspondentes aos alelos HLA loci A, B, C, DRB1 e DQB1 foi empregado o método de amplificação em cadeia de polimerase (PCR), por meio do *Kit* comercial *SeCore (Life Technologies)*⁵.

Eletroforese

Para verificar se os produtos de PCR foram devidamente amplificados, cada amostra foi aplicada em gel de agarose 2,5%, corados com brometo de etídeo (*Invitrogen, Carlsbad, CA, USA*) e submetida à corrida eletroforética em tampão TBE (*Invitrogen, Carlsbad, CA, USA*) 10x (Tris base 45mM, ácido bórico 45mM, EDTA 0,01M em pH 8,0), à 140-150V, durante dez minutos. Os fragmentos amplificados foram visualizados sob luz UV, em um transluminador (*UVP, Upland, CA, USA*), e o gel fotografado. A eficácia do procedimento técnico e dos reagentes utilizados foi avaliada em cada bateria de amplificação por um controle negativo com água ultrapura e um controle positivo com DNA de uma célula conhecida.

Sequenciamento

Para a caracterização/genotipagem dos alelos dos genes A, B, C, DRB1 e DQB1, foi empregado o método de sequenciamento de nucleotídeos (SBT), por meio do *Kit* comercial *SeCore (Life Technologies)*⁵.

Purificação da amostra

A purificação da amostra foi obtida através da precipitação com etanol e tampão PPT 5. Após esta etapa a amostra foi submetida a eletroforese capilar no aparelho 3.500, e analisada através de software específico.

Resultados

Entre outubro de 2014 a outubro de 2015, foram tratados no Hospital de Câncer de Barretos 206 pacientes, sendo 65 homens (61,30%) e 41 mulheres (38,70%) (Tabela 1). O predomínio da raça branca (66%) reflete a composição étnica da nossa região estudada (Tabela 1).

Sessenta e três pacientes foram procedentes do estado de São Paulo, seis de Minas Gerais, quatro da Bahia, quatro de Santa Catarina, três do Amazonas, três do Mato Grosso do Sul, três do Rio Grande do Sul, três de Sergipe, dois do Ceará, dois de Pernambuco, dois do Paraná, dois de Rondônia, dois do Rio Grande do Norte, dois de Goiânia, uma de Alagoas, um do Maranhão, um do Pará, um de Paraíba e um do Distrito Federal (Tabela 1).

As doenças de base mais comuns, que levaram o paciente ao transplante, foram as leucemias agudas lin-

foide (34%, N=36) e mielóide (29,20%, N=31). A anemia aplástica idiopática ocupou o terceiro lugar (7,60%). A leucemia mielóide crônica contribuiu com cinco (4,70%) dos casos, assim como as síndromes mielodisplásicas. Outras doenças de base foram encontradas, tais como a anemia aplástica constitucional, anemia aplástica não especificada, anemia refratária sem sideroblastos, doença mieloproliferativa crônica, imunodeficiência comum variável com predominância de transtornos imunorregulatórios, imunodeficiência combinada grave (SCID) com números baixos de células T e B, leucemia monocítica aguda, linfoma não-Hodgkin de grandes células (difuso), linfoma não-Hodgkin de pequenas células clivadas (difuso), linfoma de células B não especificado, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome mielodisplásica não especificada, outras leucemias linfóides, outras esfigolipidoses, outros tipos especificados de linfoma não-Hodgkin, somando 20% delas (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição clínica e epidemiológica dos 106 pacientes na fase pré-transplante de medula óssea, Hospital do câncer de Barretos (SP)

Variável	Frequência	%
Total pacientes	106	100%
Gênero		
Masculino	65	61,30%
Feminino	41	38,70%
Etnia		
Branca	70	66,00%
Parda	28	26,40%
Negros	7	6,60%
Amarela	1	1,00%
Doença de base		
Leucemia linfoblástica aguda	36	34,00%
Anemia aplástica idiopática	7	6,60%
Doença de Hodgkin	1	0,90%
Leucemia mielóide aguda	31	29,20%
Síndromes mielodisplásicas	5	4,70%
Anemia aplástica não especificada	2	1,90%
Outras leucemias linfóides (C910)	1	0,90%
Doença mieloproliferativa Crônica	2	1,90%
Linfoma não-Hodgkin de Grandes células (difuso)	2	1,90%
Leucemia mielóide crônica	5	4,70%
Anemia aplástica constitucional	1	0,90%
Imunodeficiência comum variável com predominância de transtornos imunorregulatórios	1	0,90%
Síndrome de Wiskott-Aldrich	1	0,90%
Síndrome mielodisplásica não especificada	3	2,80%
Leucemia monocítica aguda	1	0,90%
Anemia refratária sem sideroblastos	1	0,90%
Linfoma de células B, não especificado	2	2,00%
Linfoma não-Hodgkin de Pequenas células clivadas (difuso)	1	1,00%

Variável	Frequência	%
Outras esfingolipidoses	1	1,00%
Outros tipos especificados de linfoma não-Hodgkin	1	1,00%
Imunodeficiência combinada grave (SCID) com números baixos de células T e B	1	1,00%
Procedência (Estado)		
São Paulo	63	59,40%
Sergipe	3	2,80%
Santa Catarina	4	3,80%
Amazonas	3	2,80%
Alagoas	1	0,90%
Ceará	2	1,90%
Minas Gerais	6	5,70%
Maranhão	1	0,90%
Mato Grosso do Sul	3	2,80%
Bahia	4	3,80%
Paraíba	1	0,90%
Pernambuco	2	1,90%
Pará	1	0,90%
Paraná	2	1,90%
Distrito Federal	1	1,00%
Rondônia	2	1,90%
Rio Grande do Norte	2	1,90%
Rio Grande do Sul	3	2,80%
Goiás	2	2,00%
Mato Grosso	0	0,00%

Fonte: dados da pesquisa (2016)

Com relação aos dados epidemiológicos referentes aos 98 doadores de medula óssea cadastrados entre outubro de 2014 a outubro de 2015, 57 pertenciam ao gênero masculino (58,2%) e 41 ao gênero feminino (41,8%) (Tabela 2).

Com relação à procedência dos doadores de medula óssea, 58 eram do estado de São Paulo, 15 do Paraná, cinco de Santa Catarina, cinco do Mato Grosso do Sul, quatro do Ceará, dois de Goiânia, dois de Rondônia, dois do Rio Grande do Sul, um do Amazonas, um do Distrito Federal, um do Mato Grosso, um do Pará e um da Paraíba (Tabela 2).

A caracterização imunogenética dos pacientes na fase pré-transplante de medula óssea mostrou um total de 19 alelos do loci A, 24 do loci B, 14 do loci C, cinco do loci DQ e 13 do loci DR. No entanto os alelos mais frequentes foram: A*02 (31,43%), A*01 (10,40%), B*44 (10,90%), B*35 (9,90%), C*07 (27,36%), DQB1*03 (26,90%), DQB1*05 (23,11%), DQB1*06 (25,47%) e DRB1*13 (13,2%) (Tabela 3).

A caracterização imunogenética dos doadores de medula óssea mostrou um total de 16 alelos do loci A, 25 do loci B, 13 do loci C, cinco do loci DQ e 12 do loci DR. No entanto os alelos mais frequentes foram: A*02 (29,59%), A*01 (11,73%), B*35 (12,35%), B*44 (11,73%), C*07 (29,6%), DQB1*03 (26,53%), DQB1*06 (25,02%) e DRB1*01 (15,34%) (Tabela 4).

Tabela 2. Descrição epidemiológica dos 98 doadores medula óssea cadastrados no Hospital do câncer de Barretos (SP)

Variável	Frequência	%
Total pacientes	98	100%
Gênero		
Masculino	65	58,20%
Feminino	41	41,80%
Etnia		
Branca	75	76,50%
Parda	18	18,40%
Negros	4	4,10%
Amarela	1	1,00%
Procedência (Estado)		
São Paulo	58	59,20%
Sergipe	0	0,00%
Santa Catarina	5	5,20%
Amazonas	1	2,00%
Alagoas	0	0,00%
Ceará	4	4,10%
Minas Gerais	0	0,00%
Maranhão	0	0,00%
Mato Grosso do Sul	5	5,20%
Bahia	0	0,00%
Paraíba	1	1,00%
Pernambuco	0	0,00%
Pará	1	1,00%
Paraná	15	15,30%
Distrito Federal	1	1,00%
Rondônia	2	2,00%
Rio Grande do Norte	0	0,00%
Rio Grande do Sul	2	2,00%
Goiás	2	2,00%
Mato Grosso	1	2,00%

Fonte: dados da pesquisa (2016)

Discussão

Assim como o presente estudo, diversos outros trabalhos vêm apresentando a distribuição de HLA na população dos estados de São Paulo⁶⁻¹⁵.

No trabalho de Barion e colaboradores (2007)¹⁶, referente às doenças dos pacientes na fase pré-transplante de medula óssea, foi relatado um estudo contendo 289 pacientes portadores de leucemia, onde 151 tinham leucemia mielóide crônica, 88 leucemia mielóide aguda, 47 leucemia linfoblástica aguda e dois pacientes com leucemia mielomonocítica crônica; diferente do que foi observado no presente estudo, no qual houve a predominância de pacientes com leucemia linfoblástica aguda, seguida pela leucemia mielóide aguda.

A distribuição das frequências dos alelos HLA de classe I (HLA-A, B e C) e de classe II (HLA-DQB1 e DRB1) foram determinadas e comparadas entre pacientes e doadores. Assim como no trabalho realizado por Bortolloto (2011)¹⁰, o alelo A*02, foi o mais frequente, seguido pelos alelos A*03, A*24 e A*01.

Tabela 3. Frequência de alelos HLA-A, -B, -C, -DR e -DQ em pacientes na fase pré-transplante de medula óssea, Hospital do câncer de Barretos (SP)

Alelo HLA-A			Alelo HLA-B			Alelo HLA-C			Alelo HLA-DQ			Alelo HLA-DR		
	N	%		N	%		N	%		N	%		N	%
A*01	22	10,40	B*07	20	9,43	C*01	3	1,41	DQB1*02	43	20,28	DRB1*01	28	13,20
A*02	66	31,13	B*08	17	8,01	C*02	16	7,60	DQB1*03	57	26,90	DRB1*03	24	11,32
A*03	14	6,60	B*13	3	1,41	C*03	19	8,10	DQB1*04	9	4,24	DRB1*04	26	12,20
A*11	10	4,80	B*14	16	7,60	C*04	30	14,20	DQB1*05	49	23,11	DRB1*07	30	15,88
A*23	9	4,24	B*15	19	8,10	C*05	8	3,80	DQB1*06	54	25,47	DRB1*08	4	2,00
A*24	19	8,10	B*18	10	4,80	C*06	12	5,95				DRB1*09	3	1,41
A*25	3	1,41	B*27	5	2,60	C*07	58	27,36				DRB1*10	5	2,60
A*26	5	2,60	B*35	21	9,90	C*08	15	7,10				DRB1*11	18	6,36
A*29	8	3,80	B*37	2	0,91	C*12	20	9,43				DRB1*12	2	0,91
A*30	14	6,70	B*38	8	3,80	C*14	4	2,00				DRB1*13	36	16,92
A*31	6	3,00	B*39	6	3,00	C*15	9	4,24				DRB1*14	6	3,00
A*32	6	3,00	B*40	8	3,80	C*16	10	4,80				DRB1*15	22	10,40
A*33	7	3,30	B*41	3	1,41	C*17	5	2,60				DRB1*16	8	3,80
A*34	1	0,50	B*42	2	0,91	C*18	3	1,41						
A*36	1	0,50	B*44	23	10,90									
A*66	3	1,41	B*45	4	2,00									
A*68	15	7,10	B*48	2	0,91									
A*74	2	0,91	B*49	7	3,30									
A*80	1	0,50	B*50	3	1,41									
			B*51	15	7,10									
			B*52	2	0,91									
			B*53	3	1,41									
			B*57	11	5,47									
			B*58	2	0,91									

Fonte: Dados da pesquisa (2016)

Tabela 4. Frequência de alelos HLA-A, -B, -C, -DR e -DQ entre doadores de medula óssea cadastrados no Hospital do câncer de Barretos (SP)

Alelo HLA-A			Alelo HLA-B			Alelo HLA-C			Alelo HLA-DQ			Alelo HLA-DR		
	N	%		N	%		N	%		N	%		N	%
A*01	23	11,73	B*07	18	9,18	C*01	5	2,55	DQB1*02	44	22,44	DRB1*01	30	15,34
A*02	58	29,59	B*08	18	9,18	C*02	5	2,55	DQB1*03	52	26,53	DRB1*03	24	12,24
A*03	17	8,67	B*13	1	0,51	C*03	15	7,65	DQB1*04	7	3,57	DRB1*04	20	10,20
A*11	12	6,12	B*14	19	9,69	C*04	33	16,83	DQB1*05	44	22,44	DRB1*07	24	12,24
A*23	13	6,63	B*15	19	9,69	C*05	11	5,61	DQB1*06	49	25,02	DRB1*08	8	4,08
A*24	13	6,63	B*18	5	2,55	C*06	7	3,57				DRB1*09	3	1,53
A*25	2	1,02	B*27	4	2,04	C*07	58	29,60				DRB1*11	20	10,20
A*26	3	1,53	B*35	24	12,35	C*08	19	9,69				DRB1*12	3	1,53
A*29	7	3,50	B*38	6	3,06	C*12	14	7,14				DRB1*13	25	12,75
A*30	12	6,12	B*39	4	2,04	C*14	6	3,06				DRB1*14	7	3,57
A*31	8	4,08	B*40	7	3,57	C*15	9	4,60				DRB1*15	25	12,75
A*32	2	1,02	B*41	2	1,02	C*16	9	4,60				DRB1*16	7	3,57
A*33	8	4,08	B*42	3	1,53	C*17	5	2,55						
A*34	2	1,02	B*44	23	11,73									
A*68	13	6,63	B*45	1	0,51									
A*74	3	1,53	B*48	1	0,51									
			B*49	5	2,55									
			B*50	3	1,53									
			B*51	13	6,63									
			B*52	6	3,06									
			B*53	3	1,53									
			B*55	1	0,51									
			B*57	7	3,50									
			B*58	2	1,02									
			B*81	1	0,51									

Fonte: dados da pesquisa (2016)

Os grupos de alelos B*35, B*44 foram relatados como os mais frequentes, assim como o trabalho realizado por Bortolotto (2011)¹⁰, diferente do que foi observado no trabalho realizado por Carvalho e colaboradores (2013)¹⁴ que apresentou a predominância do alelo B*52.

No estudo de Bouzas (2011)¹⁷ foi relatado uma elevada frequência do grupo de alelos C*07, sendo esse grupo de alelo mais frequente também no presente estudo entre os doadores e pacientes pré-transplantados, autodeclarados brancos e negros.

No estudo de Bortolotto (2011)¹⁰ para os grupos de alelos de pessoas com características europeia, os mais frequentes foram os alelos DRB1*11 e DRB1*13, enquanto que para as amostras referentes ao presente estudo, os mais frequentes foram DRB1*01 e DRB1*13.

Bortolotto (2011)¹⁰ relata que devido a colonização europeia, o último censo demográfico demonstrou que a distribuição racial no Rio Grande do Sul foi caracterizada por 81,4% de brancos, 5,0% de negros, sendo assim uma alta porcentagem de pessoas que se autodeclarou brancas, assim como no presente trabalho.

A informação dessa distribuição de alelos HLA permite a comparação com dados existentes na literatura e a atualização da composição genética da população brasileira.

Conclusões

O polimorfismo HLA é importante do ponto de vista biológico, pois dota os indivíduos de uma maior abrangência de moléculas apresentadoras de antígenos ao sistema imune.

Os grupos alélicos mais frequentes nos registros foram A*02, A*24, A*03, A*01, B*35, B*44, C*07, DQB1*01, DQB1*03, DQB1*06, DRB1*01 e DRB1*13. Conhecendo-se as frequências HLA, pode-se estimar as chances de se encontrar um doador compatível. Contudo, apenas o conhecimento da frequência do tipo HLA específico do paciente na população não garante que ele encontre o doador compatível. É necessário, também, que o portador desse tipo HLA se encontre cadastrado no REDOME como doador voluntário.

Como a população brasileira é altamente miscigenada, a probabilidade de se encontrar um doador não relacionado com o mesmo grau de miscigenação fora do Brasil é muito pequena. Daí a importância da conscientização da doação voluntária para ampliação dos cadastros nacionais. Com um registro de doadores voluntários relativamente grande, as perspectivas dos pacientes em lista de espera melhoram significativamente porque eles podem contar com um número muito maior de doadores, como se observa nos Estados Unidos.

Portanto, é fundamental que, além de se conhecer as frequências HLA dos doadores voluntários de medula óssea, é necessário que o número de amostras seja cada vez maior e de todas as regiões do país, que haja

um estímulo da doação voluntária para a ampliação dos registros nacionais, visando justamente a melhorar as perspectivas de pacientes em lista de espera.

Referências

1. Pereira NF, Moraes ME, Lima MG. Imunogenética no transplante de células-tronco hematopoéticas. In: Voltarelli JC, Pasquini R, Ortega ETT. Transplante de células-tronco hematopoéticas. São Paulo: Atheneu; 2009. p.93-113.
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Imunologia Celular e Molecular. 7ª ed. São Paulo, Elsevier; 2012.
3. Rodey G. EHLA Beyond Tears. 2ª ed. Durango, CO, De Novo; 2000.
4. Castelli EC, Mendes-Junior CT, Veiga-Castelli LC, Pereira NF, Petzl-Erlar ML, Donadi EA. Evaluation of computational methods for the reconstruction of HLA haplotypes. *Tissue Antigens*. 2010;76(6):459-66.
5. Manual de sequenciamento. Califórnia: Invitrogen; 2010.
6. Guo S, Thompson E. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*. 1992; 48: 361-72.
7. Donadi EA. Evaluation of computational methods for the reconstruction of HLA haplotypes. *Tissue Antigens* 2010;76:459-66.
8. Nishimura WE, Costallat LTL, Associação de HLA-DRB5*01 com proteção contra manifestação cutânea de vasculite reumatoide em pacientes brasileiros. *Rev Bras Reumatol*. 2012;52(3).
9. Visentainer JEL, Pereira FC, Dalalao MMO. Frequência dos antígenos HLA e HLA-B em populações das regiões de Curitiba e Norte/Noroeste do Estado do Paraná. *Acta Scientiarum* 2002;24(3):743-8.
10. Williams F, Nascimento E, Middleton D: HLA-A and -B Alleles in a population from Belo Horizonte, Brazil. *Hum Immunol*. 2004;65:866-70.
11. Bortolotto AS. Frequência de alelos e haplótipos HLA-A, B e DRB1 em uma amostra de doadores voluntários de medula óssea no Estado do Rio Grande do Sul [dissertação de mestrado]. Rio Grande do Sul: Pontifícia Universidade Católica; 2011.
12. Braun-Prado K. HLA class I polymorphism, as characterised by PCR-SSOP, in a Brazilian exogamic population. *Tissue Antigens*. 2000;56,(5):417-27.
13. Bicalho MG, Ruiz TM, Costa SMC, Zacarias FR. Haplótipos HLA mais frequentes em doadores voluntários de medula óssea de Curitiba, Paraná. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2002;24(4).
14. Ruiz TM, Human leucocyte antigen allelic groups and haplotypes in a brazilian sample of volunteer donors for bone marrow transplant in Curitiba, Paraná, Brazil. *Transplant Proc*. 2005; 37: 2293-6.
15. Carvalho MG. HLA-A, HLB-B, and HLA-DRB1 haplotype frequencies in Piauí's volunteer bone marrow donors enrolled at the Brazilian registry. *Human Immunol*.2013; 74(12):1598-602

16. Barion LA, Associação entre HLA e leucemia em uma população brasileira de etnia mista. Rev Assoc Med Bras 2007; (53):252-6.
17. Bouzas LFS. Redome-Rereme e Brasil Cord. In: Junqueira PC. Hemoterapia clínica. São Paulo; Roca; 2009. p.409-24.

Autor de correspondência:

Tatiana Elias Colombo
Av. Juscelino K. de Oliveira, s/nº – Jd. Tarraf II
São José do Rio Preto-SP, CEP 15091-450
Brasil

E-mail: taty_ec@hotmail.com

Recebido em 6 de fevereiro de 2017
Aceito em 11 de outubro de 2017