ERNESTO BURATTO DOS SANTOS QUEIROZ

FREQUÊNCIA DOS ALELOS HLA A, B E DRB1 EM DOADORES VOLUNTÁRIOS DE MEDULA ÓSSEA DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL NO PERIODO DE 2012 A 2013.

CAMPO GRANDE

2016

ERNESTO BURATTO DOS SANTOS QUEIROZ

FREQUÊNCIA DOS ALELOS HLA A, B E DRB1 EM DOADORES VOLUNTÁRIOS DE MEDULA ÓSSEA DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL NO PERIODO DE 2012 A 2013.

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de mestre pelo Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Orientadora: Profª. Dra. Inês Aparecida Tozetti.

CAMPO GRANDE

2016

Dedico esse trabalho a meu pai, Wilton Alves de Queiroz. Que Deus o abençoe onde quer que esteja. Se hoje chego até aqui, foi graças aos seus ensinamentos e seus exemplos. A alegria em concluir este trabalho só não é maior que a dor da saudade do meu companheiro. Que Deus permita a sua assistência e presença em todas minhas conquistas. Obrigado meu pai.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, eu agradeço a **Deus**, por me dar a oportunidade de ter saúde e força de vontade para realizar esse mestrado.

À **Profª. Dra. Inês Aparecida Tozetti** por ter acreditado no projeto e ter me dado a oportunidade de realizá-lo.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região do Centro-Oeste** e da **Universidade Federal de Mato Grosso do Sul** por permitirem a realização deste projeto.

Ao **Laboratório de Histocompatibilidade Biomolecular** e todos seus funcionários pela dedicação e auxilio. Em especial à **Dra. Zuleica Ascenso**, que permitiu a utilização dos dados necessários para realização do trabalho.

À minha mãe **Maria de Lourdes Buratto** e meu irmão **Victor Buratto**, por terem ajudado na formatação do trabalho.

À meu pai, **Wilton Alves de Queiroz**, por ter financiado o curso de inglês. Obrigado pai.

À minha esposa **Iara Carvalho** e meu Filho **Théo**, pelo suporte, amor, carinho e dedicação a mim.

Agradeço a todos que participaram, direta e indiretamente à realização deste estudo.

"Não nos surpreendemos com a raridade de uma espécie, mas ficamos chocados com o seu desaparecimento; é como admitir que a doença é o prelúdio da morte e não se sentir surpreso diante da doença, mas apenas com a morte da pessoa doente, não atribuindo o falecimento ao mal de que ela sofria, mas a algum ato desconhecido de violência" (Charles Darwin).

FREQUÊNCIA DOS ALELOS HLA A, B E DRB1 EM DOADORES VOLUNTÁRIOS DE MEDULA ÓSSEA DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL NO PERIODO DE 2012 A 2013.

RESUMO: A população brasileira apresenta grande miscigenação racial e originou-se, principalmente, de caucasóides de origem européia, africanos e índios. Devido a diferenças no grau e padrão de miscigenação, a composição de nossa população pode variar consideravelmente de uma região para outra. Portanto, a investigação da frequência dos antígenos HLA e sua diversidade alélica é extremamente relevante permitindo o aprimoramento da rotina de transplantes em no estado de MS. O presente estudo objetivou investigar a frequência dos antígenos HLA e sua diversidade alélica no período de 2012 a 2013. Os resultados das tipagens de HLA foram obtidos de dados secundários do banco de amostras processadas pelo Laboratório de Biologia Molecular e Histocompatibilidade Ltda. (Laboratório Biomolecular), coletadas em parceria com o Centro de Hematologia e Hemoterapia de Mato Grosso do Sul (MS) "José Scaff" (HEMOSUL). As determinações alélicas foram realizadas utilizando os kits LABType PCR-SSO One Lambda. Os dados foram inseridos em uma planilha Excel, que posteriormente foi processado, por dois softwares, IBM SPSS Statistics 22 (SPSS - StatisticalPackage for the Social Sciences) e Arlequin. Foram selecionadas de forma aleatória 10% das 16.430 amostras analisadas no período, sendo assim, o estudo contou com 1.643 amostras. Os indivíduos foram categorizados em: Brancos (n=999; 60,8%), Pardos (n=421; 25,6%), Amarelos (n=24; 1,4%), Pretos (n=86; 5,2%), Indígenas (n=11; 0,7%) e 102 (6,3%) indivíduos que não declararam sua raça. Também foram categorizados por regiões do Estado de Mato Grosso do Sul: Centro-Norte (n=366; 22,3%), Leste (n=497; 30,2%), Pantanal (n=281; 17,1%) e Sudoeste (n=499; 30,4%). Os alelos HLA A, B e DRB1 mais comuns foram A*02 (24,4%), B*35 (11,7%) e DRB1*04 (14,0%). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes quanto à heterozigosidade e também no que se refere aos resultados do teste de Hardy-Weinberg.

Palavras-chave: Tipagem HLA. Frequência genética. Frequências Haplotípicas.

THE FREQUENCY OF ALLELES HLA A, B AND DRB1 ON VOLUNTEER BONE MARROW DONORS FROM SOUTH MATO GROSSO STATE FROM 2012 TO 2013.

ABSTRACT: The Brazilian population presents great racial miscegenation and it has originated primarily, from the Caucasians of European origin, Africans and Indians. The Brazil's largest population group is understood by mixed race people originated from the miscegenation occurred between different races. Therefore, the investigation of the frequency of HLA antigens and their allelic diversity, held in the state of Mato Grosso do Sul, it is extremely relevant enabling the improvement of routine transplants in our state. This study aimed to investigate the frequency of HLA antigens and their allelic diversity from 2012 to 2013. The results of HLA typing were obtained from secondary data from the sample database processed by the Molecular Biology Laboratory and Histocompatibility Ltda. (Biomolecular Laboratory), collected in partnership with the "José Scaff" Center of Hematology and Hemotherapy of Mato Grosso do Sul (MS-HEMOSUL). The allele determinations were made using the kits LABType PCR-SSO One Lambda. The data were placed in an Excel spreadsheet, which was then processed by two softwares, IBM SPSS Statistics 22 (SPSS - StatisticalPackage for Social Sciences) and Arlequin. It was randomly selected 10% of the 16,430 samples analyzed in the period, and the study had 1,643 samples. The subjects were categorized into: White people (n = 999; 60.8%), Brown people (n = 421; 25.6%), Yellow people (n = 24; 1.4%), Black people (n = 86; 5, 2%), Indigenous (n = 11; 0.7%) and 102 (6.3%) patients who did not declare their race. They were also categorized by regions of Mato Grosso do Sul: Central - north (n = 366; 22.3%), East (n = 497; 30.2%), Pantanal (n = 281; 17.1%) and Southwest (n = 499; 30.4%). The HLA A, B alleles and common DRB1 were A * 02 (24.4%) B * 35 (11.7%) and DRB1 * 04 (14.0%). No statistically significant differences were observed regarding the heterozygosity, and also on the results of Hardy-Weinberg test.

Keywords: HLA typing. Genetics frequency. haplotype frequencies

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Esquema representativo da nomenclatura atual do antígeno leucocitário humano.....17

FIGURA 2 - Organização genômica da região do MHC no cromossomo 6.....19

FIGURA 3 - Estrutura esquemática da molécula de antígeno HLA de classe I.....20

FIGURA 4 - Estrutura esquemática da molécula de antígeno HLA de classe II.....21

FIGURA 5 - Esquema representativo do processamento e apresentação de antígenos via MHC de classe I às células T CD8.....23

FIGURA 6 - Esquema de processamento e apresentação de antígenos via MHC de classe II às células T CD4.....24

FIGURA 7 - Condições da amplificação para PCR com a técnica de SSO para tipificação do HLA-A, -B, -DR.....26

FIGURA 8 - Esquema ilustrando os possíveis resultados do gel de agarose 2,5% do resultado da PCR SSO para tipificação do HLA-A, -B, -DR.....27

FIGURA 9 – Esquema demonstrando afinidade do amplicon marcado com biotina pela streptoavidina/ficoeritrina.....28

FIGURA 10 - Distribuição percentual do Alelo HLA-A no estado de Mato Grosso do Sul em amostra de doadores voluntários de medula óssea em 2012 - 2013 (n=1643).....42

FIGURA 11 - Distribuição percentual do Alelo HLA-B no estado de Mato Grosso do Sul em amostra de doadores voluntários de medula óssea em 2012 - 2013 (n=1643).....43

FIGURA 12 - Distribuição percentual do Alelo HLA-DR no estado de Mato Grosso do Sul em amostra de doadores voluntários de medula óssea em 2012 - 2013 (n=1643).....44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Frequências Alélicas no Locus HLA-A em doadores voluntários de medula óssea nas diferentes regiões do estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....45
TABELA 2 - Frequências Alélicas no Locus HLA-B em doadores voluntários de medula óssea nas diferentes regiões do estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....46
TABELA 3 - Frequências Alélicas no Locus HLA-DRB1 em doadores voluntários de medula óssea nas diferentes regiões do estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....47
TABELA 4 - Distribuição das frequências dos alelos no Locus HLA-A entre os doadores voluntários de medula óssea, segundo a raça declarada no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....48
TABELA 5 - Distribuição das frequências dos alelos no Locus HLA-B entre os doadores voluntários de medula óssea, segundo a Raça declarada no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....49
TABELA 6 - Distribuição das frequências dos alelos no Locus HLA-DRB1 entre os doadores voluntários de medula óssea, segundo a raça declarada no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....50
TABELA 7 - Número de alelos segundo à raça autodeclarada entre os doadores voluntários de medula óssea no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....50

TABELA 8 - Heterozigosidade observada segundo à raça autodeclarada entre os doadores voluntários de medula óssea no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....51

TABELA 9 - Equilíbrio de Hardy-Weinberg segundo a raça autodeclarada entre os doadores voluntários de medula óssea no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....51

TABELA 10 - Distribuição da frequência haplotípica segundo a raça autodeclarada entre os doadores voluntários de medula óssea no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.....52

LISTA DE QUADRO

QUADRO 1 - Principais tópicos discutidos desde a criação dos Workshops Internacionais de Imunogenética e Histocompatibilidade.....15
QUADRO 2 - Nomenclatura vigente dos alelos e antígenos HLA e seus respectivos significados.....18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 11
2 REVISÃO DE LITERATURA..... 13
2.1 Complexo Principal de Histocompatibilidade..... 13
2.1.1 Histórico..... 13
2.2 Nomenclatura das especificidades HLA..... 16
2.3 Genética dos *Loci* do Complexo Principal de Histocompatibilidade Humano..... 19
2.4 Estrutura da molécula HLA..... 19
2.5 Polimorfismo genético..... 21
2.6 Expressão gênica e o reconhecimento dos antígenos pelos receptores das células T e B..... 22
2.7 Tipificação dos *loci* HLA..... 25
2.8 HLA e doenças..... 28
2.8.1 HLA e doenças auto-Imune..... 28
2.8.2 HLA e doenças infecciosas 29
2.8.3 Transplantes e HLA..... 31
3 ORIGEM E FORMAÇÃO DA POPULAÇÃO DE MATO GROSSO DO SUL..... 33
4 REGISTRO NACIONAL DE DOADORES DE MEDULA ÓSSEA - REDOME..... 35
5 OBJETIVOS..... 36
5.1 Objetivo Geral..... 36
5.2 Objetivos específicos..... 36
6 METODOLOGIA..... 37
6.1 Tipo de estudo..... 37
6.2 Coleta de dados referentes à tipagem HLA 37
6.3 Sujeitos da pesquisa..... 37
6.4 Analise de dados 38
6.5 Equilíbrio de Hardy-Weinberg..... 38
6.6 Análise estatística..... 39
6.6.1 Frequência alélica..... 39
6.6.2 Diversidade e heterozigosidade..... 39
6.7 Aspectos éticos..... 40
7 RESULTADOS..... 41
7.1 Frequências alélicas do estado do Mato Grosso do Sul..... 41
7.1.1 Frequências alélicas por região do estado de Mato Grosso do Sul..... 44
7.1.2 Frequência alélica por raça declarada..... 47
7.1.3 Diversidade e heterozigosidade..... 50
7.1.4 Equilíbrio de Hardy-Weinberg..... 51
7.1.5 Frequências haplotípicas..... 51
8 DISCUSSÃO..... 53
9 CONCLUSÃO..... 57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 58
ANEXO 1..... 65

1 INTRODUÇÃO

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (*Major Histocompatibility Complex* - MHC), o qual codifica proteínas de superfície celular denominadas HLA (*Human Leucocyte Antigens*) em humanos, compreende um grupo de genes localizados no braço curto do cromossomo 6 e agrupados em três sub-regiões: HLA classe I (A, B e C), HLA classe II (DR, DQ e DP) e HLA classe III, sendo que apenas os genes HLA classe I e classe II determinam compatibilidade tecidual (MONTE *et al.*, 2004).

Os antígenos codificados pelo MHC são utilizados na prática para avaliar a compatibilidade entre doador e receptor de transplantes, de tecidos e órgãos e como auxiliar na coleta de evidências da prática forense. Além disso, tem-se tornado importante ferramenta no entendimento da patogenia de várias doenças. O conhecimento dos alelos ou haplótipos HLA herdados por um indivíduo permite predizer o risco de ele vir a desenvolver determinada doença ou estar protegido dela. O diagnóstico de doenças associadas ao HLA aumenta diariamente e o grau de associação é bastante variável (ALVES *et al.*, 2005).

Novos métodos de tipificação e a frequente atualização da nomenclatura têm facilitado o entendimento do polimorfismo desse sistema e sua relação com várias doenças. Entretanto, estas contribuições não têm sido adequadamente divulgadas na literatura clínica, dificultando a compreensão do HLA na prática médica (ALVES *et al.*, 2005).

O transplante de órgãos entre dois indivíduos geneticamente relacionados pode induzir uma resposta imune potente por parte do receptor ou do enxerto, dependendo do tipo de transplante, conduzindo à rejeição. Esta reação imunológica é largamente determinada por fatores genéticos. As estratégias para inibir esta reação incluem ótima compatibilidade genética entre doador e receptor e a utilização de terapia imunossupressora evitando, assim, a rejeição. Além do sistema de antígenos HLA, outros fatores imunogenéticos surgem como sendo de interesse significativo nos transplantes (LAPERROUSAZ *et al.,* 2012).

A população brasileira apresenta grande miscigenação racial e originou-se, principalmente, de caucasóides de origem européia, africanos e índios. O maior grupo populacional do Brasil é compreendido pelos mestiços, originários da miscigenação ocorrida entre as diferentes raças. Devido a diferenças no grau e

padrão de miscigenação, a composição da população pode variar consideravelmente de uma região para outra, ocorrendo grande variabilidade dos “subtipos” de mestiços (DALALIO *et al*., 2002).

Os estudos relacionados com a associação dos antígenos de histocompatibilidade (HLA) e doenças baseiam-se, fundamentalmente, nas comparações das frequências desses marcadores entre pacientes e indivíduos saudáveis utilizados como controles. Uma vez que os genes que codificam as moléculas HLA apresentam um polimorfismo muito grande nas diversas populações estudadas, a definição do perfil imunogenético da população de indivíduos saudáveis de cada região é essencial para esses estudos. Mesmo em indivíduos caucasianos da América do Norte ou da Europa, o número de especificidades dos *loci* HLA-A, -B, -C e das regiões HLA-DR e -DQ é significativamente grande, quando comparado, por exemplo, com o dos indivíduos nativos ou com os dos aborígenes da América Latina (DONADI *et al*., 2000).

Portanto, a investigação da frequência dos antígenos HLA e sua diversidade alélica, ainda não realizadas no Estado do Mato Grosso do Sul, é extremamente relevante, permitindo o aprimoramento da rotina de transplantes em nosso estado, maior agilidade em relação à lista de receptores e o conhecimento prévio da identidade genética predominante nessa população.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Complexo Principal de Histocompatibilidade

2.1.1 Histórico

O MHC (*Major Histocompatibility Complex*) foi descrito primariamente em camundongos, na década de 30, por Peter A. Gorer. Evidências demonstraram a existência de um grupo de antígenos envolvidos nos processos de rejeições dos transplantes de pele entre diferentes linhagens desses animais (GORER, 1937). Esses antígenos responsáveis pela rejeição de tecidos foram denominados antígenos de histocompatibilidade e a região foi designada de sistema H2 no camundongo estando localizada no cromossomo 17. Desde a descoberta do MHC em camundongos, o MHC se tornou uma das regiões gênicas mais estudadas no genoma dos vertebrados (KLEIN, 1986).

Em 1958, um aloantígeno presente nos leucócitos humanos foi identificado, tornando-se o “primeiro” antígeno leucocitário humano (HLA), denominado HLA-A2 (DAUSSET, 1958)

Esta pesquisa foi continuada por George Snell, que estabeleceu que a rejeição de enxerto em camundongos é devido à incompatibilidade a certos antígenos. O MHC murino foi chamado de "H2" em honra do antígeno II descoberto por Gorer (SNELL, 1986).

Durante quase 20 anos após a descoberta do MHC, a sua única função documentada foi em relação à rejeição de transplantes. Foi descoberto posteriormente que regiões gênicas do MHC eram fundamentais para todas as respostas imunológicas a antígenos proteicos. Em 1960, Baruj Benacerraf, Hugh McDevitt e colaboradores descobriram que linhagens endogâmicas de cobaias de camundongos diferiam na sua habilidade em produzir anticorpos contra polipeptídios sintéticos simples. Os genes do MHC foram denominados de genes da resposta imune e todos foram encontrados no mapa do MHC (ABBAS, 2011).

Posteriormente, verificou-se que todos os vertebrados possuem genes do MHC e seus produtos, e que as respostas de rejeição a transplantes eram mediadas por células T. Trata-se de uma família gênica que inclui vários genes altamente

polimórficos e que participa ativamente na defesa de vertebrados contra parasitas e outros patógenos. Os antígenos codificados pelos genes do MHC estão expressos virtualmente em todas as células nucleadas do organismo. O MHC controla a atuação do sistema imune em todos os vertebrados e tem-se mantido durante a evolução dessas espécies (SILVA, 2012).

O estudo dos autores Dausset, Payne e Rolfs, Van Rood, Eernisse e colaboradores, demonstravam a presença de anticorpos no soro humano de pacientes politransfundidos ou mulheres multíparas, que reagiam com leucócitos, mas não de todos os indivíduos testados. Os anticorpos destes soros detectavam um sistema polimórfico de antígenos nos leucócitos humanos. O crédito da descoberta do primeiro antígeno HLA foi dado a Jean Dausset, que em 1980 recebeu o Prêmio Nobel de Medicina. Ele nomeou este antígeno de MAC em homenagem a três indivíduos voluntários, cujos nomes começavam com M, A e C, respectivamente. O antígeno MAC, que mais tarde foi denominado HLA-A2, estava presente em 60% da população francesa. Finalmente, o estudo dos antígenos leucocitários adquiria grande importância em transplante de tecidos. Desde a descoberta do HLA-A2, *Workshops Internacionais de Imunogenética e Histocompatibilidade* (WIIH) são realizados, quando os investigadores da área se encontram e comparam seus reagentes, técnicas, resultados e comunicam novas descobertas. Várias descobertas importantes foram discutidas e publicadas nos WIIH, conforme Quadro 1 (THORSBY, 2009).

Quadro 1: Principais tópicos discutidos desde a criação dos Workshops Internacionais de Imunogenética e Histocompatibilidade.

Ano	**Principais tópicos discutidos**
1967	Demonstração da associação dos antígenos HLA com doenças
1968	Criação de um comitê da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o estabelecimento da nomenclatura para os alelos HLA
1970	Estabelecimento de dois *loci* HLA, LA (posteriormente HLA-A) e 4 (mais tarde HLA-B) e constatação de que os *loci* eram ligados e continham pelo menos sete e oito alelos, respectivamente
1972	Descoberta de que o sistema HLA constituía-se em uma importante ferramenta para investigações antropológicas devido ao polimorfismo observado
1977	Mapeamento do MHC no braço curto do cromossomo 6 (já descritos os *loci* HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ e -DP)
1980	Papel da compatibilidade HLA em transplantes renais
1984	Introdução de várias técnicas para o estudo do polimorfismo dos *loci* HLA
1987	Estabelecimento de um painel de referência de linhagens celulares tipificadas
2002	Estabelecimento da acessibilidade pública a bancos de dados sobre HLA
2008	Novos dados e aplicações em medicina, antropologia etc.

fonte: Thorsby, 2009.

2.2 Nomenclatura das especificidades HLA

Um assunto que gera muita confusão tem sido a nomenclatura do sistema de HLA, que é periodicamente avaliado e revisto pelo Comitê de Nomenclatura da Organização Mundial da Saúde (OMS), demonstrado na figura 1 e no quadro 2. O complexo principal de histocompatibilidade ou MHC é um termo geral utilizado para todas as espécies e refere-se à região genética prolongada, que contempla muitos *loci*. Existem mais de 400 genes que mapeiam para o MHC do ser humano ou do camundongo, e embora tecnicamente eles sejam todos os genes MHC, são separados em MHC de classe I (MHC-I) e MHC de classe II (MHC-II), que consistem em um conjunto de *loci* que codificam proteínas que estão intimamente relacionadas em estrutura e a função. Esses genes em especifico são designados por uma letra (ou letras) para seus respectivos *loci* (por exemplo, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR) e genes alélicos foram denotados pela adição de um número ou uma letra. Assim, o HLA-A2 e HLA-A3 são alelos do locus HLA-A e HLA-B8 e HLA-B27 são alelos do locus HLA-B (NAIK, 2003).

Com o passar dos anos, o avanço nas técnicas de detecção de antígenos HLA permitiu a identificação de inúmeras moléculas. Na década de 70, quando a técnica de microlinfocitotoxicidade ainda era padrão na identificação de alelos HLA, o Comitê da OMS estabeleceu que os *loci* HLA fossem designados por uma letra, precedida pela sigla HLA (por exemplo HLA-A) e que as especificidades antigênicas determinadas por sorologia fossem indicadas por números (por exemplo: HLA-A1). Com o advento das técnicas moleculares, tornou-se possível identificar os alelos do sistema HLA, e a nomenclatura foi restabelecida. Quando a sequência é conhecida, deve-se assinalar a letra correspondente ao locus HLA com um asterisco (por exemplo HLA-A*). No Workshop de 1987 foi determinado que os alelos HLA recebessem quatro dígitos para diferenciar as proteínas que eles codificavam. Os primeiros dois números descrevem o correspondente sorológico para um grupo alélico específico (por exemplo: HLA-A*02). O terceiro e quarto dígitos se referem a substituições de um ou mais nucleotídeos que mudam a sequência de aminoácidos da proteína codificada, ou seja, a variante alélica (por exemplo: HLA-A*0201). Desde então, esta nomenclatura tem sido aperfeiçoada e um alelo pode possuir até 8

dígitos. Para facilitar a identificação dos alelos, foi estabelecida a introdução de dois pontos (:) na nomenclatura (por exemplo: A*02:01) (BORTOLOTTO, 2011).

Figura 1 - Esquema representativo da nomenclatura atual do antígeno leucocitário humano. Cada alelo de HLA tem um numero único, correspondendo a até 4 campos de dígitos separados por":". O tamanho da designação do alelo depende da sequência do alelo e genes próximos. Todos os alelos recebem pelo 4 dígitos, que correspondem aos campos 1 e 2; os campos 3 e 4 só são designados quando necessário.

Fonte: http://hla.alleles.org/announcement.html.

Quadro 2 - Nomenclatura vigente dos alelos e antígenos HLA e seus respectivos significados.

Exemplos de Nomenclaturas	**Significado**
Classe I	
HLA-A, -B, -C	Genes do HLA de Classe I que codificam as moléculas de Classe I clássicas
HLA-A2, -B1, -Cw2	Moléculas ou antígenos do HLA de Classe I definido por sorologia, mostrando exemplos de antígenos em cada tipo
HLA-A*, -B*, -C*	HLA de Classe I, definido por biologia molecular
HLA-A*02	HLA de Classe I, *locus* A, antígeno 02 (codificado por vários alelos), anteriormente definido pela sorologia como HLA-A2
HLA-A*0201	HLA de Classe I, *locus* A, grupo alélico 02, alelo específico 01
Classe II	
HLA-DR, -DQ, -DP	Principais regiões do HLA de Classe II
HLA-DR1	HLA de Classe II, *locus* DR, antígeno 1, definido por sorologia
HLA-DRB1*	HLA de Classe II, *locus* DR, cadeia Beta, gene 1, definido por biologia molecular
HLA-DRB1*13	HLA de Classe II, *locus* DR, cadeia Beta, gene 1, grupo alélico 13 (codificado por vários alelos), antes definido pela sorologia como HLA-D
HLA-DRB1*1301	HLA de Classe II, *locus* DR, cadeia Beta, gene 1, grupo alélico 13, alelo 1 (representa um alelo específico e não um grupo de alelos)
HLA-DRB1*1301N	Alelo nulo
HLA-DRB1*130102	Alelo que difere por uma mutação sinônima
HLA-DRB1*13010102	Alelo que contém uma mutação fora da região codificadora
HLA-DRB1*13010102N	Alelo nulo com uma mutação fora da região codificadora

Fonte: Marsh *et al.,* 2002.

2.3 Genética dos *Loci* do Complexo Principal de Histocompatibilidade Humano

O MHC é uma região do genoma que se estende por cerca de 4.000 kb no braço curto do cromossomo 6 humano entre 6p21.31 e 6p21.32. O mapa humano revela aglomerados de genes agrupados basicamente em uma região de classe MHC II com cerca de 1.000 kb, uma região de classe MHC III, e uma região MHC de classe I. Os genes MHC I e II codificam os denominados antígenos de leucócitos humanos (HLA). Genes HLA-DP (DPA que codifica a cadeia α, e DPB que codifica a cadeia β) estão próximos do centrômero no braço curto do cromossomo e estão ligados aos genes que codificam para o HLA- M relacionado à molécula (DMB e DMA) como demonstrado na figura 2 (NAIK, 2003).

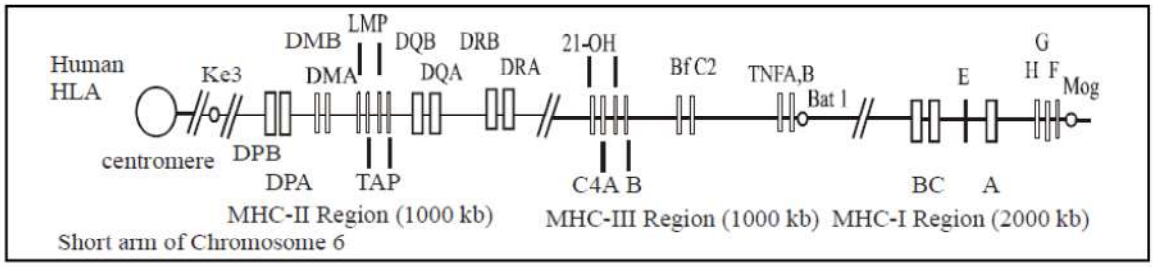

Figura 2 - Organização genômica da região do MHC no cromossomo 6.

Fonte: Jornal Indian Rheumatol Association.

Os genes do complexo MHC são expressos de forma codominante e herdados em haplótipos (unidade isolada do cromossomo 6), sendo um proveniente do pai e outro da mãe (MAGALHÃES, 2004).

Assim, a segregação independente pode resultar em quatro combinações diferentes entre os haplótipos paterno e materno: 25% de chance de herdar os mesmos 2 haplótipos do irmão, 25% de chance de não herdar nenhum dos haplótipos dos seus irmãos e 50% de chance de compartilhar pelo menos 1 haplótipo com seus irmãos (SILVA, 2015).

2.4 Estrutura da molécula HLA

As moléculas de MHC da classe I contêm duas cadeias polipeptídicas separadas: uma cadeia α (pesada), codificada pelo MHC com aproximadamente 44kDa e uma cadeia β não codificada pelo MHC, com 12 kDa. A cadeia α é formada

por um polipeptídeo central contendo um ou dois oligossacarídeos. Cada cadeia α é orientada de tal modo que cerca de três quartos do peptídeo completo, incluindo a região aminoterminal e o(s) grupos(s) oligossacarídeos estão externamente à célula com uma porção transmembrânica, e os 30 resíduos de aminoácidos da porção carboxiterminal estão localizados no citoplasma. A cadeia β, denominada β_2-microglobulina interage não covalentemente com a porção extracelular da cadeia α, não tendo assim uma ligação direta com a célula. Podemos dividir a molécula da classe I em quatro porções: uma porção extracelular aminoterminal responsável pela ligação com peptídeos; uma porção extracelular semelhante à imunoglobulina; uma porção trans-membrânico; e uma porção citoplasmática. A cadeia α é então dividida em três domínios conhecidos como α1, α2 e α3. O sítio de ligação do peptídeo está entre α1 e α2. O segmento α3 da cadeia pesada e a cadeia β2-microglobulina formam um domínio semelhante ao de imunoglobulina na molécula de classe I, como observado na figura 3 (MAGALHÂES; BÖHLKE; NEUBARTH, 2004).

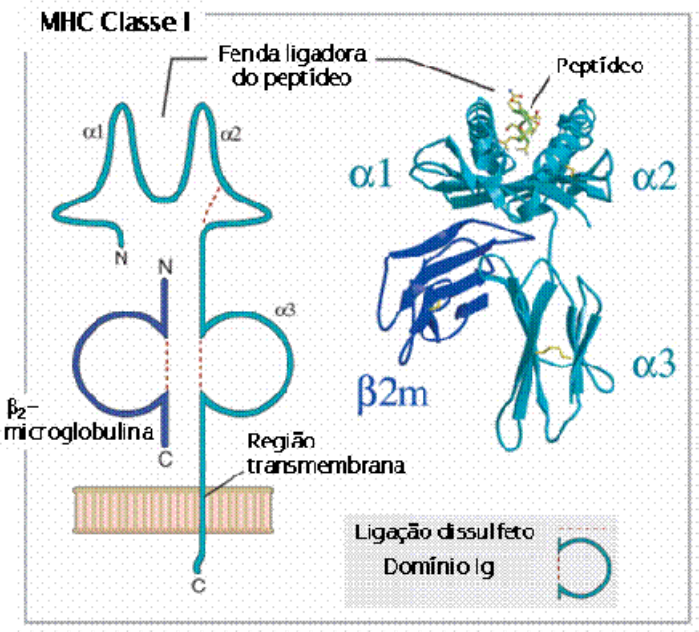

Figura 3 - Estrutura esquemática da molécula de antígeno HLA de classe I.

Fonte: ABBAS *et al.*, 2011.

Os produtos dos genes de classe II, também, são glicoproteínas, mas formadas por duas cadeias polipeptídicas não covalentemente associadas, α e β. As cadeias α e β são transmembrânicas tendo a mesma estrutura geral. Uma porção extracelular composta por dois domínios de cadeia α (α1 e α2) e uma cadeia β,

também com dois domínios (β1 e β2), ancorada na membrana por uma pequena região transmembrânica e um domínio citoplasmático. O polimorfismo de classe II ocorre na região aminoterminal do domínio β1 (Figura 4). Os domínios α1 e β1 formam a fenda de ligação para os peptídeos, que podem medir mais de 12 resíduos de aminoácidos. Os genes que codificam as cadeias α são designados A (por exemplo, DRA, DQA) e os genes que codificam as cadeias β são designados como B (por exemplo, DRB, DQB). Os genes que codificam as cadeias α e β do HLA-DR são DRA1 e DRB1 (MARSH; PARHAM; BARBER, 2000).

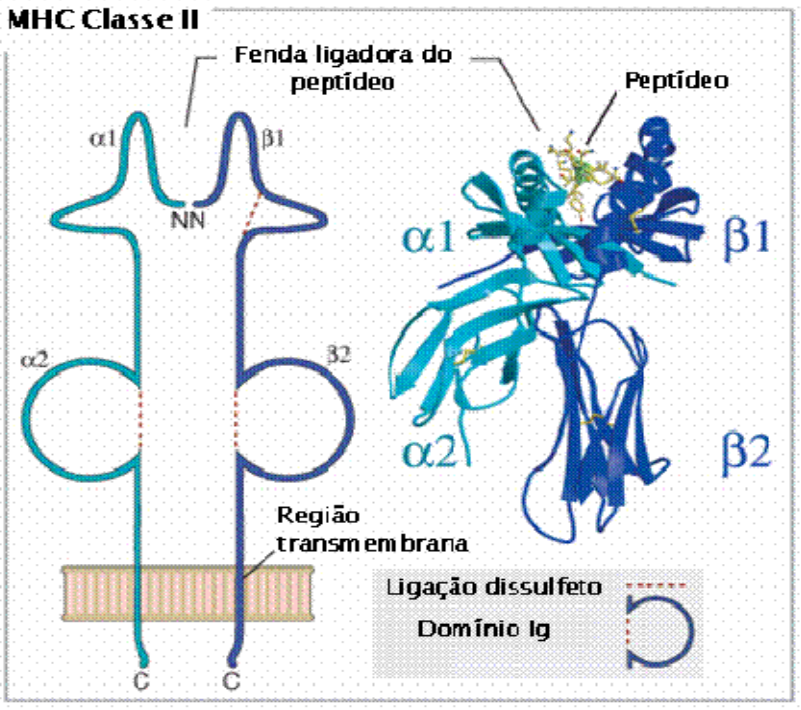

Figura 4 - Estrutura esquemática da molécula de antígeno HLA de classe II.

Fonte: ABBAS *et al.*, 2011.

2.5 Polimorfismo genético

Até outubro de 2013 foram descritos 10.104 alelos HLA, sendo 7.678 alelos de classe I e 2.268 alelos de classe II. O *locus* HLA classe II que tem maior variabilidade é o DRB1, com 1.476 alelos, enquanto HLA-DQA1 tem 51 e DQB1 459 alelos já identificados (http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/stats.html). Os antígenos HLA mostram variações características de um grupo racial para outro. As

frequências de alelos HLA individuais variam fortemente dentro de uma população e entre populações distintas (PIMENTA *et al*., 2006).

Dentre as variações características de um grupo racial para outro, podemos observar, o alelo que codifica HLA-B8 é muito comum em populações caucasianas (frequência gênica de 7,7% a 16,3%), mais muito pouco frequente em populações asiáticas (frequência gênica de 0% a 0,2%). Por outro lado, o alelo que codifica HLA-B46 é comum em populações asiáticas (frequência gênica de 4,7% a 12,5%), mas virtualmente ausente em caucasianos. Essa diversidade mais uma vez reforça a necessidade do conhecimento das frequências de alelos e haplótipos (combinações de alelos) em populações especificas. (SILVA, 2012)

Um nível adicional de complexidade existe na sub-região HLA-DR. Cerca de 90% dos indivíduos têm um segundo gene DRB: DRB3, DRB4 ou DRB5. Este segundo loci DRB codifica pelo menos um sorotipo polimórfico DR52, DR53 e DR51 respectivamente (LAPERROUSAZ et al., 2012).

2.6 Expressão gênica e o reconhecimento dos antígenos pelos receptores das células T e B

A característica mais distinta do reconhecimento de antígenos pelas células T é a forma como o receptor dessa célula reconhece o ligante. Este compreende um peptídeo derivado do antígeno unido a uma molécula do MHC. As moléculas do MHC são glicoproteínas de superfície celular que possuem fenda de ligação ao peptídeo na qual pode se ligar a uma grande variedade de fragmentos peptídicos (JANEWAY *et al.,* 2002).

Em linhas gerais, antígenos endógenos irão se ligar ao MHC classe I da seguinte maneira (Figura 5): O proteassoma é um complexo multiprotéico citoplasmático que degrada proteoliticamente algumas proteínas citoplasmáticas. Quando uma proteína antigênica está no interior da célula, a proteassoma ira quebrar estas proteínas gerando peptídeos antigênicos que serão liberados no citoplasma e posteriormente transportados para o retículo endoplasmático (RE). No RE estes peptídeos antigênicos irão se associar e se ligar aos dímeros recém-formados da classe I do MHC. A ligação aos peptídeos estabiliza as moléculas da classe I do MHC, permitindo que se forme uma vesícula que deixará o RE e migrará

pelo complexo de Golgi até a membrana celular. Parte do complexo peptídeo-MHC então é exteriorizada permitindo o seu reconhecimento pelas células T CD8+ citotóxicas (MAGALHÂES; BÖHLKE; NEUBARTH, 2004).

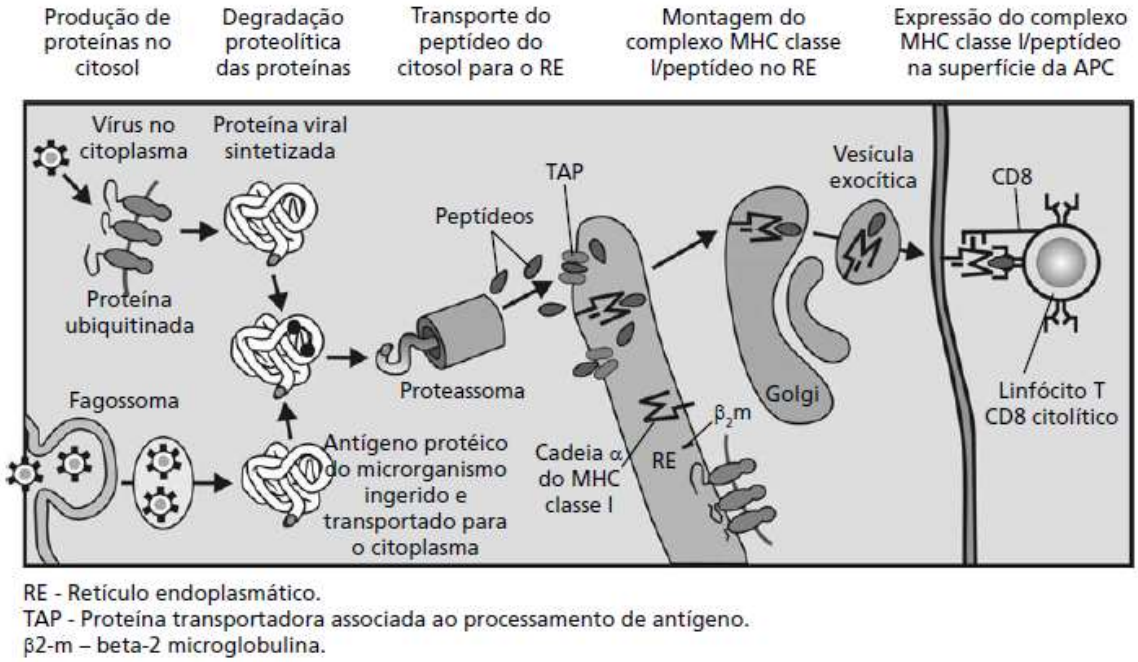

Figura 5 - Esquema representativo do processamento e apresentação de antígenos via MHC de classe I às células T CD8.

Fonte: Imunologia fundação CEDERJ (2010).

Para os antígenos exógenos por sua vez (Figura 6), as células apresentadoras de antígenos (APCs) especializadas, incluindo macrófagos, linfócitos B e células dendríticas interiorizam as proteínas extracelulares nos endossomas para processamento pela via de classe II do MHC. Antígenos derivados de patógenos extracelulares, proteínas internalizadas por fagocitose e proteínas aderidas à superfície celular via imunoglobulina nas células B são internalizadas por endocitose e armazenados em um endossomo citoplasmático. Este endossomo torna-se ácido e começa a clivar proteoliticamente as proteínas exógenas. Neste momento, no retículo endoplasmático, os heterodímeros recém-sintetizados da classe II do MHC associam-se à cadeia invariante, sendo liberados no interior de um endossomo especializado que é transportado pelo complexo de Golgi até a vesícula contendo as partículas antigênicas. Ocorre então a fusão dos dois endossomos, a cadeia invariante é clivada proteoliticamente e um pequeno remanescente peptídico

da cadeia invariante é removido da fenda de ligação peptídica das moléculas do MHC II. Os peptídeos antigênicos se associam à molécula do MHC formando o complexo peptídeo-MHC, que migra até a superfície celular, permitindo seu reconhecimento pelas células T CD4+ helper. A associação de um peptídio exógeno com uma proteína MHC classe II indica que uma célula encontrou um antígeno extra-celular e serve como pedido de auxílio para as células T helper iniciarem a resposta imune específica. (MAGALHÂES; BÖHLKE; NEUBARTH, 2004).

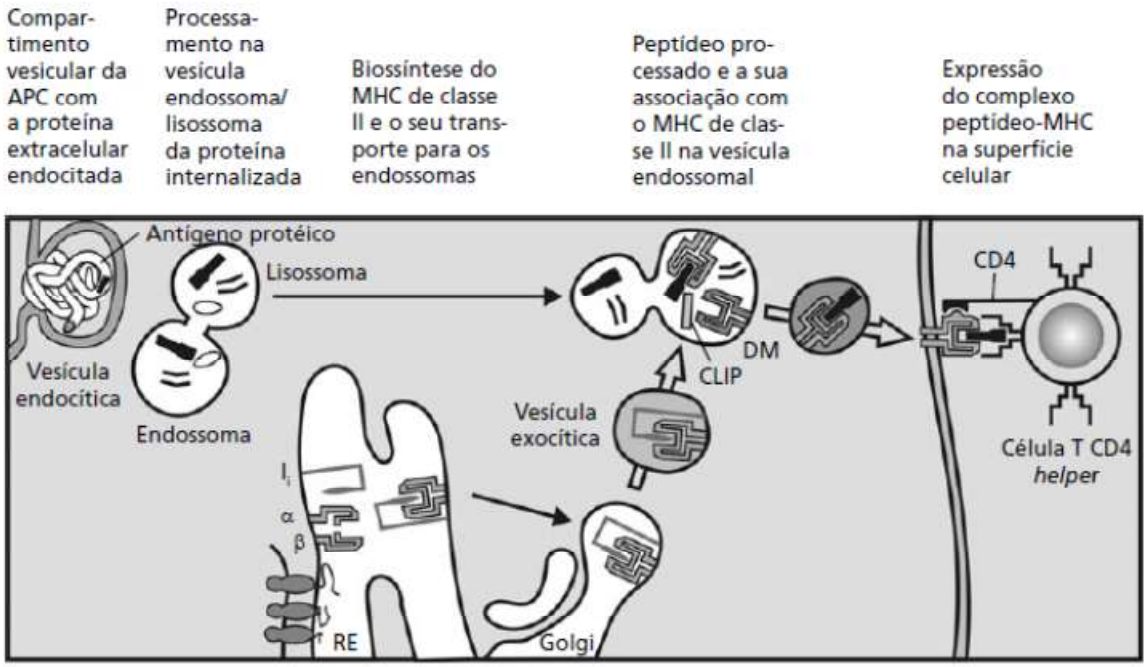

Figura 6 - Esquema de processamento e apresentação de antígenos via MHC de classe II às células T CD4.

Fonte: Imunologia fundação CEDERJ (2010).

Os genes de classe I na região do MHC, considerados principais agentes da resposta imune, são apenas três, HLA-A, B e C, e são os chamados clássicos. Estes genes codificam glicoproteínas, consideradas as moléculas clássicas de histocompatibilidade de classe I, são expressas na superfície de todas as células nucleadas e são responsáveis por apresentar peptídeos endógenos às células T CD8+. Na região de classe II, são reconhecidos diversos genes, sendo que os *loci* HLA-DR, DQ e DP que codificam glicoproteínas expressas na superfície de células do sistema imune, neste caso as células apresentadoras de antígenos (APCs), incluindo, linfócito B, macrófago e células dendríticas. As moléculas clássicas de

histocompatibilidade de classe II estão envolvidas na rejeição contra enxertos e na apresentação de peptídeos exógenos aos receptores dos linfócitos T CD4+. Além desses, também são conhecidos vários outros genes de classe II que não codificam as moléculas apresentadoras de antígenos, mas codificam outras moléculas que podem participar de alguma forma da resposta imune do individuo (MEDONÇA; FERREIRA, 2010).

Zinkernagel e Dougherty demonstraram, em 1974, que, para induzir a resposta imune, os linfócitos T devem ter a mesma molécula HLA que a da célula apresentadora de antígeno. O fato de que os peptídeos são ligados às moléculas HLA e estes complexos são reconhecidos na superfície das células T pelos seus receptores de células T (TCR) ficou conhecido como restrição ao MHC (ZINKERNAGEL; DOHERTY, 1974). Tal descoberta resultou de experimentos mostrando que um linfócito T somente reconhecerá peptídeos quando eles estiverem ligados a uma molécula MHC própria. O descobrimento da restrição imunológica pelo MHC desempenhou papel chave na resposta imune adaptativa e permitiu que seu alto polimorfismo fosse interpretado no contexto funcional. A combinação específica MHC-peptídeo foi usada para concluir que a resposta imune de indivíduos heterozigotos nos *loci* MHC seria mais efetiva por responderem de forma bem-sucedida a uma maior variedade de patógenos (HEDRICK, 2000).

2.7 Tipificação dos *loci* HLA

Este procedimento tem a finalidade de realizar a tipificação molecular para a caracterização dos alelos HLA do individuo através das tecnologias de reação em cadeia da polimerase (PCR). O primeiro passo é a extração do DNA, realizada através de purificação utilizando Kit BIOPUR (Mobius Life Science - Curitiba).

Os alelos HLA-A, -B e -DRB1 são tipificados utilizando reação em cadeia da polimerase e técnicas de hibridização através de sondas de oligonucleotídeos (PCR-SSO). Os kits utilizados para a tipificação pode ser RSSO1A para HLA-A, RSSO1B para HLA-B e RSSO2B1 para HLA-DR (One Lambda, CA-USA). Os iniciadores (*primers*) acompanham os kits comerciais de acordo com o fabricante.

Resumidamente, o DNA extraído é amplificado utilizando iniciadores (*primers*) que anelam em 5’ e 3’ das regiões flanqueadoras. O DNA amplificado pelos *primers*

da PCR abrangem fragmentos que incluem os exons 2 e 3. A amplificação feita é realizada em termociclador (Figura 7).

Ao final desta etapa, as amostras ficam prontas para análise e interpretação do resultado através da leitura do amplificado em gel de agarose 2,5% corado com brometo de etídeo, com a finalidade de verificar o padrão da amplificação, e posteriormente, para a etapa de hibridização (Figura 8).

Os produtos de PCR são imobilizados em membranas de nylon hibridados com sondas correspondentes às sequências polimórficas dos alelos HLA-A, -B e -DRB1. O sinal de hibridação é detectado com um substrato quimioluminescente, Estreptavidina conjugada com Ficoeritrina (SAPE), como observado na figura 9.

Através do analisador de fluxo, (*LABScan* 100 - Luminex) identifica-se a intensidade fluorescente da PE (ficoeritrina) em cada micro-esfera. Por fim, as análises foram feitas através do software HLA Fusion versão 3.0 (One Lambda), que realiza a determinação dos genótipos HLA.

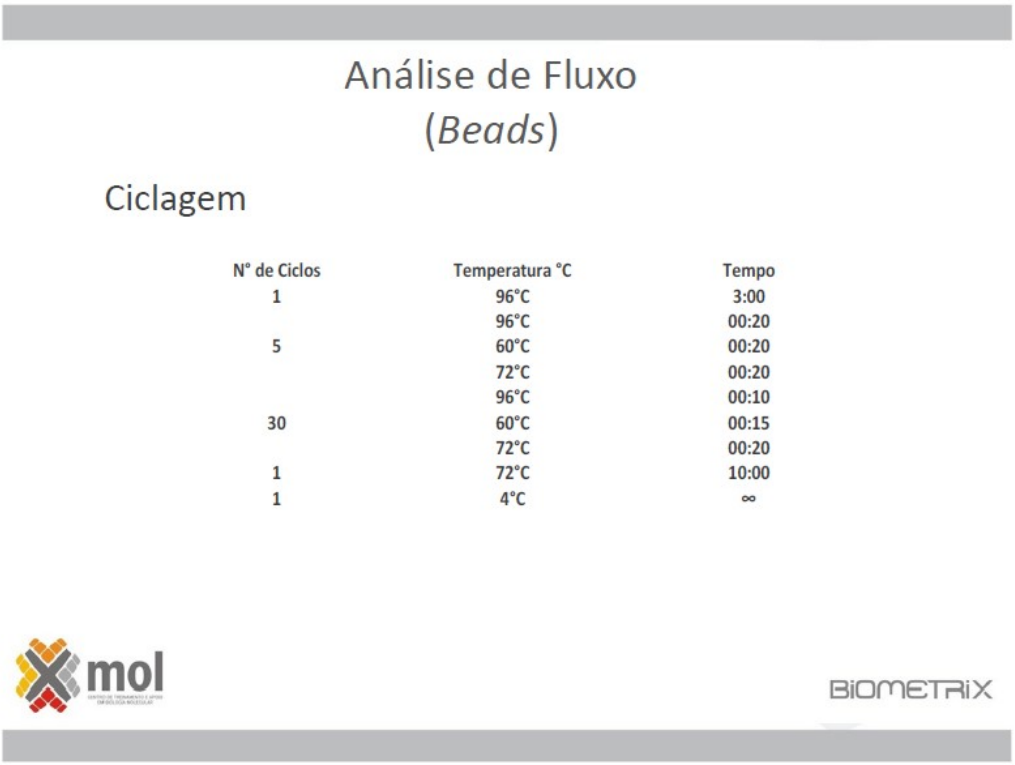

Figura 7 - Condições da amplificação para PCR com a técnica de SSO para tipificação do HLA-A, -B, -DR.
Fonte: www.onelambda.com. Acesso:13/0310016.

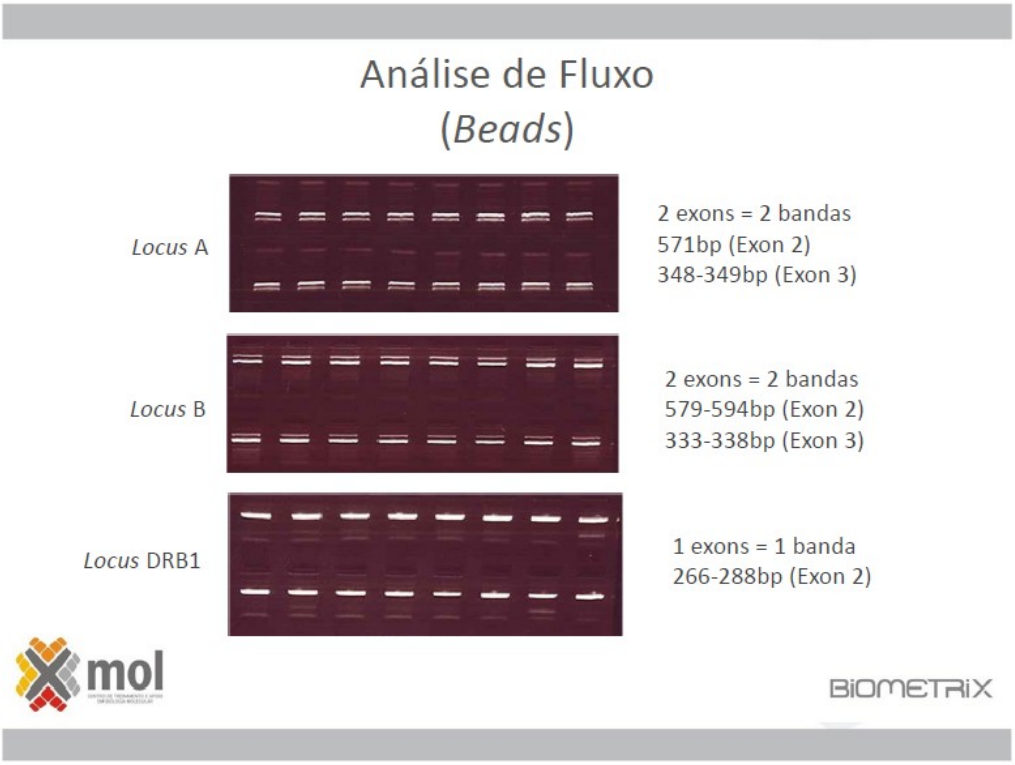

Figura 8 - Esquema ilustrando os possíveis resultados do gel de agarose 2,5% do resultado da PCR SSO para tipificação do HLA-A, -B, -DR.
Fonte: www.onelambda.com. Acesso:13/0310016

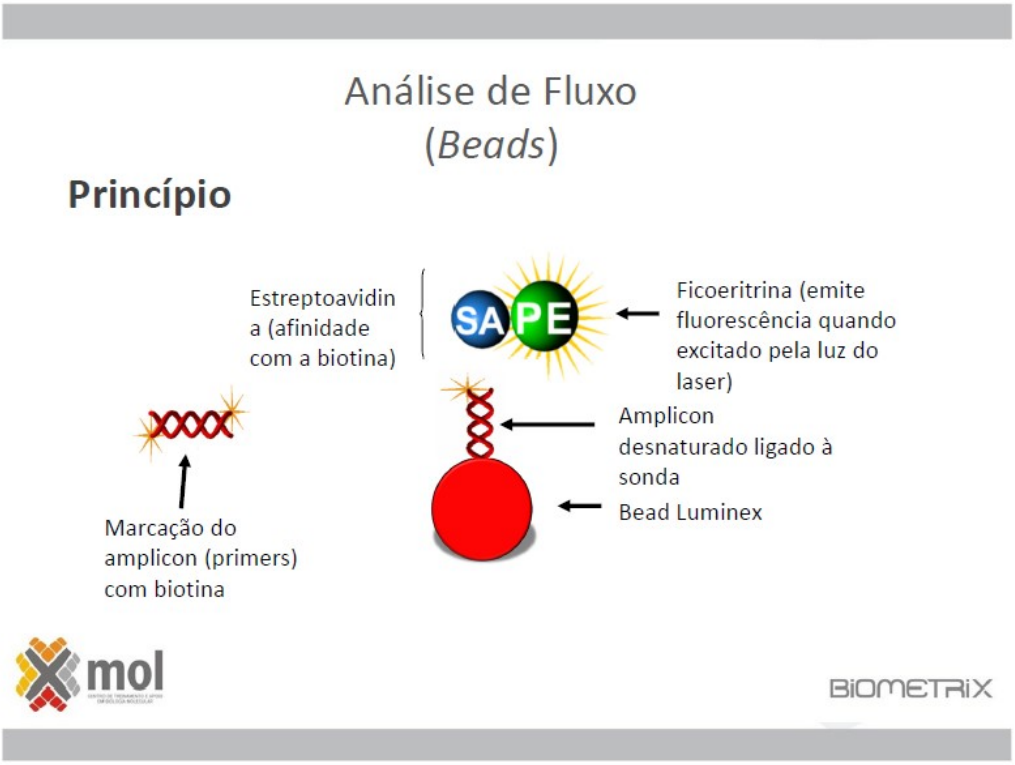

Figura 9 – Esquema demonstrando afinidade do amplicon marcado com biotina pela streptoavidina/ficoeritrina
Fonte: www.onelambda.com. Acesso: 13/03/2016.

2.8 HLA e doenças

O sistema HLA é fortemente associado a diversas doenças, incluindo na maioria, as autoimunes. Nos estudos existentes na área, um ou mais antígenos HLA são associados a uma determinada patologia se as suas frequências estiverem aumentadas ou reduzidas significativamente nos doentes quando comparadas com um grupo controle adequado. Dessa maneira, é possível calcular o risco relativo de um paciente desenvolver a doença (BORTOLOTTO, 2011).

2.8.1 HLA e doenças auto-Imune

A consequência normal de uma resposta imune adaptativa contra um antígeno é eliminação deste. As respostas aos antígenos teciduais próprios, denominadas resposta autoimune podem levar a doenças auto-imunes caracterizadas por lesão tecidual e a rejeição de enxertos pós transplantes (JANEWAY *et al*., 2002).

Para o *diabetes mellitus* insulino-dependente, essa metodologia demonstrou uma associação com o alelo DR3 e DR4 - inicialmente descoberta pela sorotipagem do HLA utilizando anticorpos. Esses estudos demonstram que o alelo MHC de classe II HLA-DR2 tem efeito protetor dominante; observa-se que indivíduos portadores de HLA-DR2, mesmo em associação com um dos alelos de suscetibilidade, raramente desenvolvem a doença (JANEWAY *et al.,* 2002).

Diabetes mellitus do tipo 1 (DM1) é uma doença crônica auto-imune caracterizada por deficiência na secreção de insulina. Atualmente a incidência da DM1 aumenta mais depressa do que o esperado. Etiologicamente a DM1 é complexa, e os fatores genéticos e ambientais desempenham papéis importantíssimos. O risco para a doença é aumentado quando encontrado principalmente os alelos específicos DRB1*03-DQB1*02:01(DR3) ou DRB1*04-DQB1*03:02(DR4) (KESKIN *et al*., 2012).

No caso da psoríase, outra doença auto-imune, existe a detecção de 70% de HLA-Cw6 nos pacientes portadores dessa doença, a qual frequentemente inicia-se antes dos 40 anos. O risco relativo aumenta pela presença de outros marcadores, incluindo HLA-B13 e HLA-B17 (MARQUES, 2009). Em caucasianos, a presença do alelo HLA-Cw6 aumenta em 10 vezes o seu risco de desenvolvimento da doença. Para a associação entre psoríase e a artrite sacroilíaca, o HLA-B27 é bem determinante (RUIZ; AZEVEDO; LUPI, 2012).

2.8.2 HLA e doenças infecciosas

Descobertas de associação entre alelos HLA e doenças infecciosas mostram que a variação no sistema HLA está relacionada à resistência ou à susceptibilidade a doenças infecciosas, como 1) demonstrado por evidências que indicam associação HLA e doenças infecciosas mostram casos em que os patógenos contribuem para a distribuição dos alelos HLA em populações humanas, 2) ou ainda naqueles que mostram que indivíduos heterozigotos para os alelos HLA que podem ser mais resistentes a algumas doenças infecciosas do que os homozigotos (CARRINGTON; NELSON, 1999).

Células T CD8+ são componentes chave do sistema imunológico adaptativo na resposta ao imunodeficiência humana do tipo 1 (HIV-1), tanto na forma aguda da

infecção quanto na crônica. Esta resposta é dirigida pela apresentação de epítopos do HIV-1 nas superfícies das células infectadas através das moléculas HLA de classe I do hospedeiro. O *locus* HLA-B tem sido relatado como o mais associado a doença, entretanto, os efeitos benéficos de certos alelos como HLA-A e o HLA-Cw também têm sido relatados (MATTHEWS, *et al.,* 2012). Células T CD8+ desempenham um papel crucial contra formas crônicas diversas das infecções virais. Na infecção por HIV-1, a frequência de células T CD8+ se correlaciona inversamente com a viremia e a progressão da doença para AIDS (ELAHI; HORTON, 2012).

Muitos linfócitos TCD8+ HIV específicos possuem receptores de membrana restritos aos alelos HLA-B*27 ou HLA-B*57 (alelos de proteção), e podem continuar a proliferar em todo processo da infecção crônica (HORTON *et al.,* 2006).

Alguns alelos já foram relacionados com progressão para síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), resistência ou susceptibilidade ao HIV, tais como: A1, A2, A3, A11, A24, A31, A32, A28, A29, A48, A66 (MATTE, 2012).

Nos últimos anos, tem havido uma intensificação nos estudos sobre o HLA e na maneira que são apresentados os antígenos virais para células T CD4+ e T CD8+. Na Espanha, analisaram o genótipo de HLA-DRB1 em pacientes com hepatite aguda e crônica causadas pelo vírus da Hepatite B (HBV) e descobriram que o alelo HLA-DRB1*1301 e DRB1*1302 foram os alelos associados com a resolução da infecção (COTRINA *et al.,* 1997).

Diversas pesquisas apontam a resposta específica ao vírus da Hepatite C (HCV) restrita ao MHC classe I através de LTCD8+, contribuindo para eliminação viral bem como para o desenvolvimento de doença hepática durante a infecção. Embora a resposta celular citotóxica mediada por LTCD8+ tenha inicialmente o objetivo de eliminar a infecção viral do organismo, sua execução defeituosa é um dos responsáveis pela cronificação da Hepatite C (II CONSENSO DA SOCIEDADE PAULISTA DE INFECTOLOGIA PARA MANUSEIO E TERAPIA DA HEPATITE C - 2004).

As células NK representam a primeira linha de defesa contra infecções e tumores e atuam matando diretamente as células infectadas, tumorais e também

modulam uma resposta imune existente por secreção de fatores solúveis, tais como as citocinas. As células NK efetoras são reguladas por um complexo sistema de moléculas de superfície, incluindo Receptores Ativadores das Células Killers (KARS) e Inibitórios (KIRS). Estes últimos, ligam-se ao HLA de Classe I e o conjunto de sinais ativadores ou inibitórios podem induzir ou não a ação citotóxica dessas células (HADAYA *et al*., 2008).

A infecção pelo citomegalovírus (CMV) é a mais comum complicação para o transplante de células tronco (TCTH) e também para o transplante de órgãos sólidos (SOT). Embora a imunidade provocada pelas células T citotóxicas específicas represente um fator-chave para eliminar o CMV, pouco se sabe sobre o potencial papel de ação antiviral das células Natural Killer (NK) nas células pós-transplante (HADAYA *et al*., 2008).

Estudos recentes têm chamado a atenção para o papel dos genes de classe I não clássicos, como o HLA-G, visto que esta molécula está envolvida na supressão da resposta do sistema imunológico durante as infecções virais (MATTE, 2012).

2.8.3 Transplantes e HLA

O transplante é um processo de retirada de células, tecidos ou órgãos de um indivíduo e sua inserção em um indivíduo (geralmente) diferente. Um enxerto transplantado de um indivíduo para si mesmo é chamado de enxerto autólogo. Um enxerto transplantado entre dois indivíduos geneticamente diferentes da mesma espécie é chamado enxerto alogênico (ou aloenxerto) (ABBAS *et al,.* 2011).

O polimorfismo do HLA representa uma importante barreira imunológica no transplante de órgãos, e o risco de rejeição aguda ou crônica devido a antígenos HLA incompatíveis persiste. O número de disparidades do HLA aumenta o risco de falência do enxerto. A compatibilidade HLA melhora as chances de um sucesso do transplante (LAPERROUSAZ *et al*., 2012).

O primeiro transplante renal foi realizado com êxito entre gêmeos univitelinos no ano de 1958, demonstrando a importância dos estudos de histocompatibilidade HLA na evolução e sobrevida do enxerto (OLIVEIRA, 2009).

Em transplantes de tecidos e órgãos envolvendo células nucleadas ocorrem respostas de células T às moléculas do MHC, altamente polimórficas, quase sempre desencadeando uma resposta contra o órgão enxertado. O êxito no transplante aumenta quando há compatibilidade entre doador e receptor, principalmente quando são parentes. Porém, mesmo com parentesco, diferenças em outros *loci* podem desencadear a rejeição. Ainda existem limitações quanto ao número de doadores, sejam vivos ou falecidos, dessa forma o número de pacientes em lista de espera aumenta e consequentemente o número de doadores vivos geneticamente não-relacionados (SILVA, 2015).

3 ORIGEM E FORMAÇÃO DA POPULAÇÃO DE MATO GROSSO DO SUL

O crescimento do Sul de Mato Grosso nas primeiras décadas do Séc. XX se deu pela implantação da ferrovia que facilitou o intercâmbio com cidades de outras regiões do Brasil. Pessoas e mercadorias circularam mais intensamente dinamizando a vida das localidades por onde os trilhos passavam. A ferrovia foi construída para o Oeste sob a alegação da guarnição das fronteiras internacionais com a Bolívia e com o Paraguai (IBGE, 2010).

Presente no Estado de Mato Grosso do Sul desde o primórdio, a migração das mais diversas regiões do país contribuiu para o seu desenvolvimento e com as características culturais do povo deste Estado. Com o tempo a base comercial, outrora sediada em Corumbá, transferiu-se aos poucos para a capital, Campo Grande, com contribuição da visão estratégica dos árabes (IBGE, 2010).

No censo demográfico de 1920, os estrangeiros representavam apenas 9,12% da população do Brasil. Entretanto, eles contribuíram com uma influência decisiva na vida das cidades do Estado. Foram fatos primordiais da identidade campo-grandense, os japoneses que participavam da construção da ferrovia, e os árabes porque lhe agregaram uma nova função, que passa a ser um de seus traços, o de centro do comércio regional. A estes seguem os portugueses, italianos e espanhóis que vieram em busca de oportunidades. Chegam também os armênios e palestinos, além de paraguaios e bolivianos que, dada a proximidade com seus países de origem, tinham aqui uma oportunidade para emigrar. Cada grupo contribuindo do seu jeito com suas características para a diversidade e riqueza cultural do Estado de Mato Grosso do Sul (IBGE, 2010).

O estado do Mato Grosso do Sul é o mais meridional do Brasil, formado por uma área de aproximadamente 357.145,534 Km^2 com uma população estimada em mais de 2 milhões e 449 mil habitantes e Campo Grande, sua capital, possui 786.797 habitantes. O último censo demográfico demonstra que a distribuição racial no Mato Grosso do Sul é caracterizada por 49,6% de brancos, 4,9% de pretos, 43,9% de pardos e 1,6% de amarelos ou indígenas (IBGE, 2010).

Tais aspectos definem a relevância de nosso estudo, uma vez estabelecida a importância do HLA em relação à saúde humana, que o pioneirismo em determinar a frequência dos principais alelos HLA permitirá importantes decisões por parte dos serviços públicos de saúde para agilizarem a realização de transplantes bem como o melhor prognóstico dos transplantados.

4 REGISTRO NACIONAL DE DOADORES DE MEDULA ÓSSEA - REDOME

Para reunir informações tais como dados pessoais, condições quanto a higidez, características genéticas e outras, obtidas de pessoas que se voluntariaram á doação de medula óssea para transplante foi criado no Brasil, o Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea (REDOME), com sede no Instituto Nacional do Câncer (INCA-RJ). O REDOME é um sistema informatizado que cruza as informações genéticas dos doadores voluntários de medula ósssea com os dados dos pacientes que precisam de transplante. Quando é verificada compatibilidade, o doador é convocado para efetivar a doação (REDOME , 2016).

Quando não há um doador aparentado compatível (geralmente um irmão ou parente próximo, geralmente um dos pais), a solução para o transplante de medula é fazer uma busca nos registros de doadores voluntários, tanto no REDOME como nos registros pertencentes a outros países. No Brasil a miscigenação de raças dificulta a localização de doadores compatíveis, entretanto. atualmente existem mais de 21 milhões de doadores cadastrados em todo o mundo. Somente no Brasil,o o REDOME conta com mais de 3 milhões de doadores (REDOME , 2016).

Sempre que potenciais doadores compatíveis são identificados, a equipe do REDOME entra em contato para confirmar a vontade e a disponibilidade destes realizarem a doação. A informação é logo transmitida ao médico do paciente inscrito na busca de um doador e este, junto com a equipe do REDOME, analisa as melhores possibilidades, faz a escolha e é dado início aos procedimentos de seleção. Os doadores são, então, convocados a realizar novos testes confirmatórios e a avaliação clínica. A retirada das células para a doação é feita em hospital habilitado, o mais próximo possível da residência do doador. Assim que retiradas, as células são transportadas até o centro onde o será feito o transplante (REDOME , 2016).

Os bancos internacionais também acessam os dados dos candidatos a doadores a partir de sistemas especializados. O registro brasileiro foi o que mais cresceu na última década. A chance de identificar um doador compatível, no Brasil, na fase preliminar da busca é de até 88%, e ao final do processo, 64% dos pacientes têm um doador compatível confirmado (REDOME , 2016).

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Estimar a frequência dos Alelos HLA A, B e DR em doadores voluntários de medula óssea no estado de Mato Grosso do Sul no período de 2012 a 2013.

5.2 Objetivos específicos

a) Estimar os parâmetros da diversidade genética.

b) Verificar a diferenciação genética com base na raça declarada**.**

c) Verificar a diferenciação genética com base na procedência regional da amostra.

6 METODOLOGIA

6.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo transversal, estimando a frequência dos alelos HLA A, B e DRB1 em doadores voluntários de medula óssea do estado de Mato Grosso do Sul no período de 2012 a 2013.

6.2 Coleta de dados referentes à tipagem HLA

Os resultados das tipagens de HLA foram obtidos de dados secundários do banco de amostras processadas pelo Laboratório de Biologia Molecular e Histocompatibilidade Ltda. (Laboratório Biomolecular), coletadas em parceria com o Centro de Hematologia e Hemoterapia de Mato Grosso do Sul (MS) "José Scaff" (HEMOSUL). Esse banco conta com dados referentes ao HLA de 16.430 amostras, coletadas no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2013.

As coletas foram feitas pelo Hemosul nas seguintes regiões do estado: Região do Pantanal (Aquidauana e Corumbá), Região Centro-Norte (Campo Grande, Coxim e Dourados), Região Sudoeste (Ponta Porã e Naviraí) e Região Leste (Nova Andradina, Três Lagoas e Paranaíba).

6.3 Sujeitos da pesquisa

Foram coletadas amostras de sangue periférico utilizando tubos com anti-coagulante EDTA. As determinações alélicas foram feitas pelo Laboratório Biomolecular de Campo Grande MS, utilizando os kits LABType PCR-SSO One Lambda (CA-USA), através da metodologia que determina tanto MHC Classe I quanto MHC Classe II.

Foram incluídos no estudo dados secundários relativos a amostras de indivíduos de 18 a 59 anos, hígidos de ambos os sexos, raças distintas que procuraram o HEMOSUL para doação de medula óssea, no período de 2012 a 2013. Os indivíduos foram de forma voluntária ao Hemosul ou a postos de coletas e preencheram um formulário contendo nome, endereço, idade, nacionalidade, sexo, raça e tipagem sanguínea.

Foram excluídos do banco de dados secundários as informações relativas aos pacientes que apresentaram algum tipo de ambiguidade em suas tipagens ou algum tipo de problema durante a extração do DNA, não sendo possível a imediata tipagem.

As informações referentes à autodeclaração de cor foram obtidas de todos os indivíduos não relacionados, de acordo com a classificação adotada para o Censo Demográfico 2010, coletado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

6.4 Analise de dados

Os dados foram inseridos em uma planilha Excel, que posteriormente foram processada por dois softwares, IBM SPSS Statistics 22® (SPSS - StatisticalPackage for the Social Sciences) e Arlequin® 3.5 (2009).

6.5 Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

Verificada por Hardy e Weinberg em 1908.

Este equilíbrio pode ser matematicamente demonstrado baseando-se em uma binominal simples (para dois alelos) ou multinominal (alelos múltiplos) e na distribuição da frequência genética, como descrito a seguir: $p^2 + pq + q^2$. Adotando-se como limite de significância $p>0,05$.

Em uma população grande, com casamento aleatório, se seleção, mutação ou migração, as frequência alélicas e genotípicas permanecem constantes de geração a geração, considerando-se uma população em completo equilíbrio.

Com as frequências alélicas de uma população real construímos uma população teórica e comparamos as duas distribuições de frequências genotípicas. Fazemos isso porque a distribuição teórica tem propriedades matemáticas que permitem tirar conclusões importantes. Se a população real for semelhante à população teórica podemos entender as conclusões para a população real e compreender seu comportamento genético. Se as frequências genotípicas das duas populações forem diferentes, os acasalamentos, nesta população, não são aleatórios.

O qui-quadrado é uma estatística que avalia diferenças entre distribuições esperadas e observadas. Se o qui-quadrado calculado for menor que o qui-quadrado de tabela , podemos dizer que as diferenças entre as duas distribuições não são significativas e usar a distribuição teórica como se fosse a distribuição real. O qui-quadrado de referência, na tabela de qui-quadrado, é 3,841. A formula do qui-quadrado:

$$x^2 = \frac{\Sigma(o-E)}{\mathrm{E}}$$

6.6 Análise estatística

6.6.1 Frequência alélica

As frequências alélicas foram feitas através da contagem direta dos alelos encontrados. Pressupondo que exista um estado ideal de EHW, a variância de uma frequência alélica é representada por:

$$\sigma_x^2 = \frac{x(1-x)}{2n}$$

x é a frequência alélica e n, o número de indivíduos da amostra.

6.6.2 Diversidade e heterozigosidade

Heterozigosidade é a medida de variabilidade genética, onde considera-se um *locus* polimórfico quando o alelo mais comum tem frequência menor que 0,9. É a número de alelos e da sua frequência na população.

A heterozigosidade observada é a proporção de indivíduos heterozigotos nas amostras da população. A heterozigosidade média esperada ou diversidade genética de um *loco* é equivalente à heterozigosidade observada, considerando-se apenas as população em completo equilíbrio.

Portanto, a heterozigosidade observada é a determinação da proporção de genes que são heterozigotos e o número de indivíduos que são heterozigotos para cada gene em particular. Para apenas um *locos:*

$$heterozigosidade\ observada = \frac{nº\ de\ heterozigotos\ em\ cada\ loco}{nº\ total\ de\ indivíduos\ pesquisados}$$

6.7 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul sob o número CAAE 35097914.0.0000.0021 submetido em 15 de Agosto de 2014 (Anexo 1).

7 RESULTADOS

Foi selecionado de forma aleatória 10% das 16.430 amostras analisadas no período, sedo assim, o estudo contou com 1.643 amostras. Os 1.643 indivíduos foram categorizados em: branco (n=999; 60,8%), pardo (n=421; 25,6%), amarelo (n=24; 1,4%), preto (n=86; 5,2%), indígena (n=11; 0,7%) e 102 (6,3%) indivíduos que não declararam sua raça. Também foram separados por regiões do estado de Mato Grosso do Sul: Centro-Norte (n=366; 22,3%), Leste (n=497; 30,2%), Pantanal (n=281; 17,1%) e Sudoeste (n=499; 30,4%).

7.1 Frequências alélicas do estado do Mato Grosso do Sul

O número de alelos representado nos *loci* HLA-A, -B e -DRB1 foram respectivamente: 21, 33 e 13. Os *Loci* HLA-A mais frequentes foram: A*02 (24,4%), A*24 (10,8%), A*03 (8,9%) e A*01 (8,8%), observados na figura 10. Para os *loci* HLA-B, B*35 (11,7%), B*15 (10,3%), B*44 (10,2%) e B*51 (7,5%), observados na figura 11. Para os *loci* HLA-DR, DRB1*04 (14,0%), DRB1*13 (13,0%), DRB1*07 (12,1%) e DRB1*11 (12,0%), observados na figura 12.

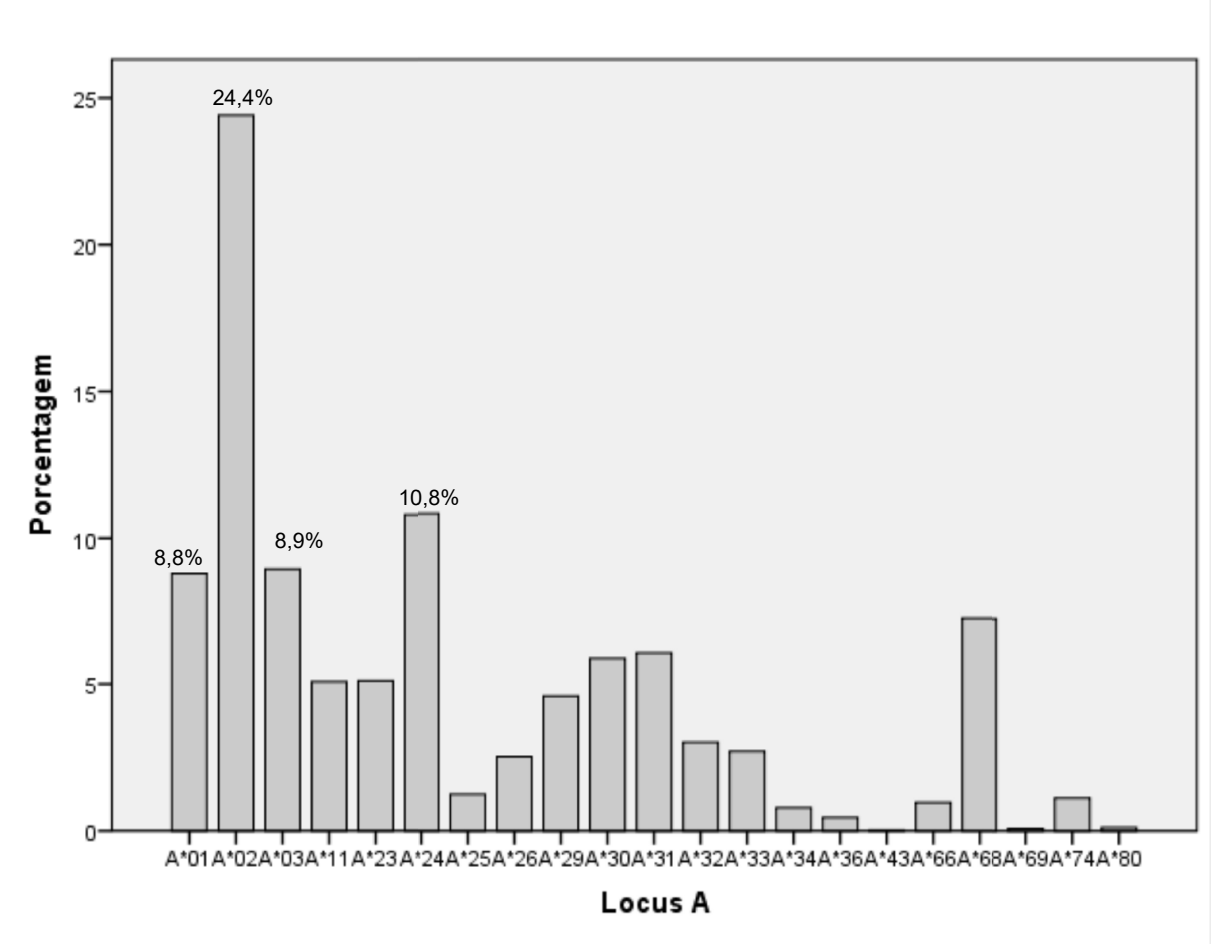

Figura 10 - Distribuição percentual do Alelo HLA-A no estado de Mato Grosso do Sul em amostra de doadores voluntários de medula óssea em 2012 - 2013 (n=1643).

.

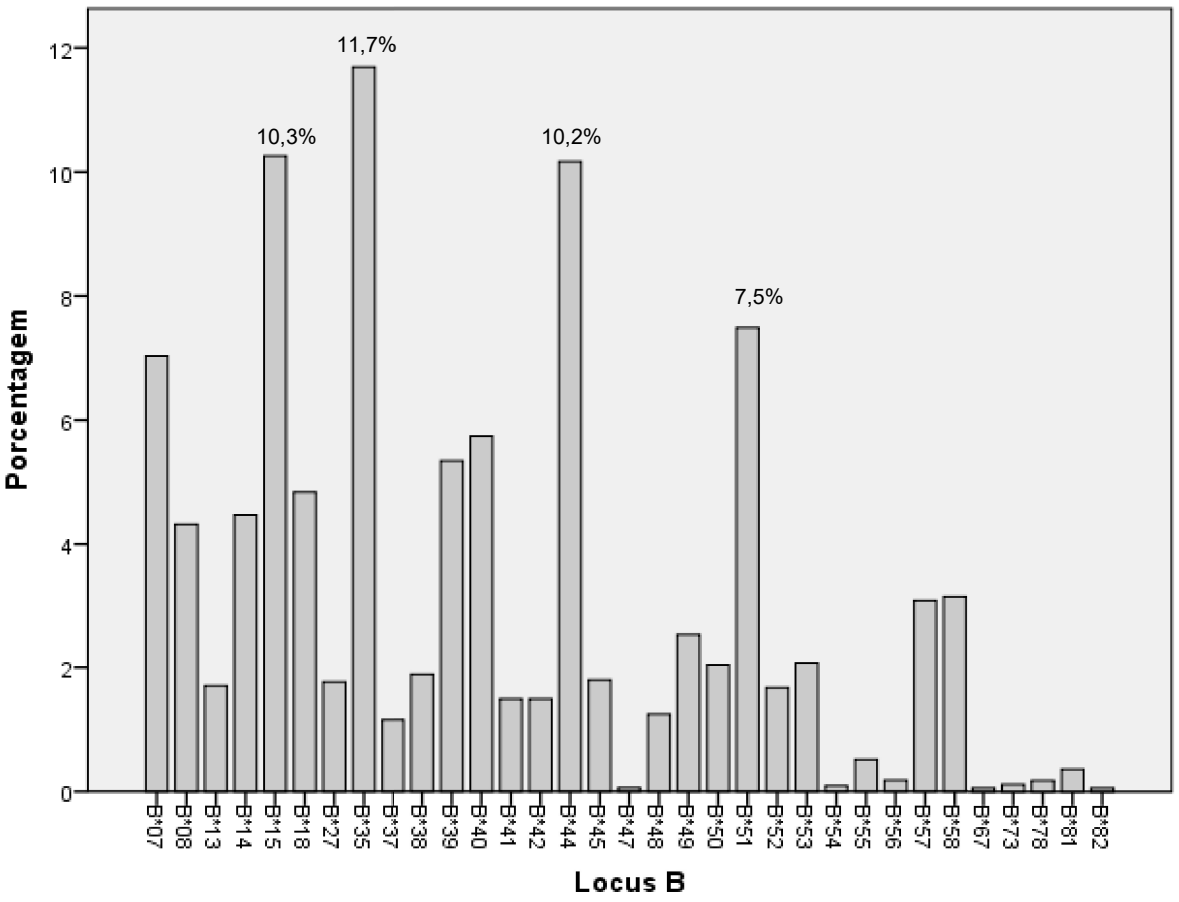

Figura 11 - Distribuição percentual do Alelo HLA-B no estado de Mato Grosso do Sul em amostra de doadores voluntários de medula óssea em 2012 - 2013 (n=1643).

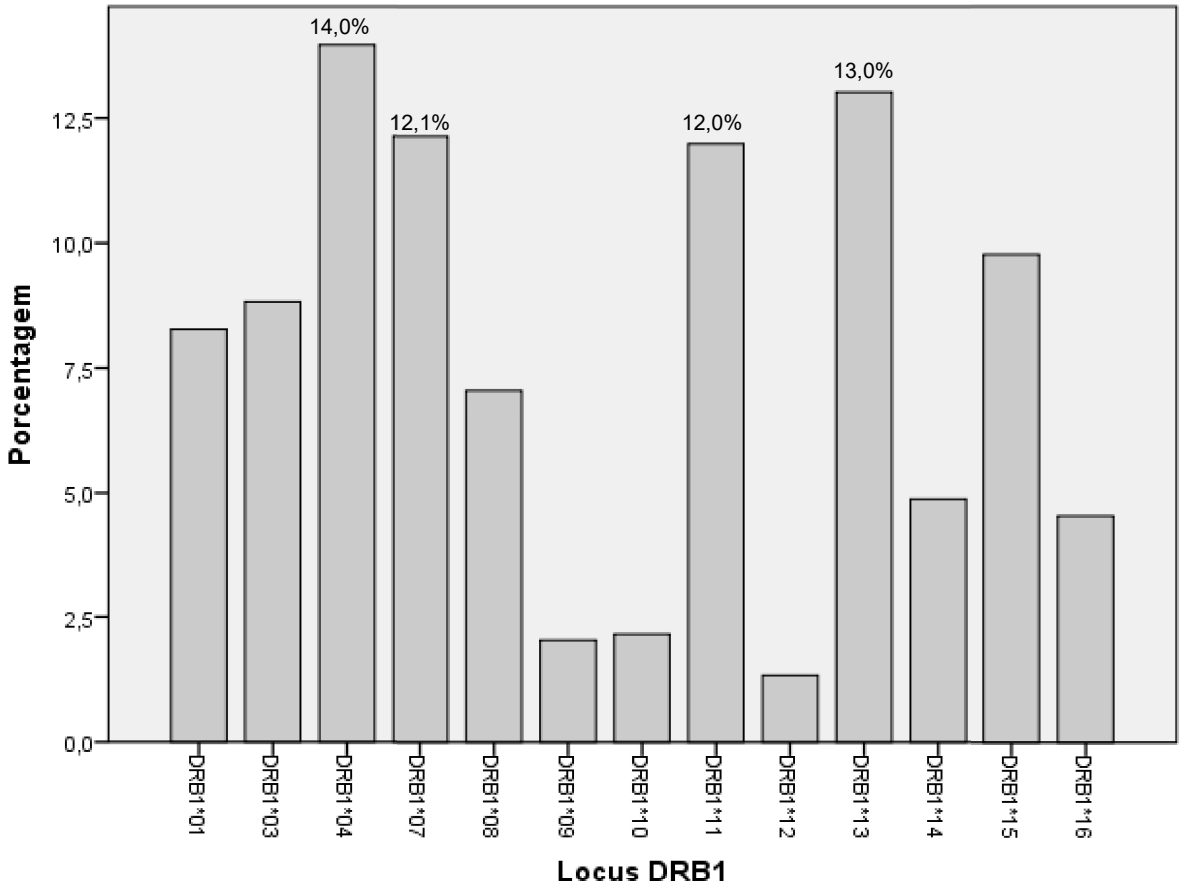

Figura 12 - Distribuição percentual do Alelo HLA-DR no estado de Mato Grosso do Sul em amostra de doadores voluntários de medula óssea em 2012 - 2013 (n=1643).

7.1.1 Frequências alélicas por região do estado de Mato Grosso do Sul

As frequências alélicas dos *loci* HLA-A, -B e -DRB1 observadas em todas as regiões estão demonstradas nas tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. Os alelos mais frequentes do HLA-A na Região do Centro-Norte foi, A*02, seguido do A*24 e A*01. Para HLA-B foi B*15, seguido do B*44 e B*51. Quando considerado o HLA-DR foram DRB1*13, seguido do DRB1*11 e DRB1*04. Na região Leste do Estado os mais frequentes alelos HLA-A foram A*02, seguido do A*03 e A*01. Para HLA-B foram B*35, seguido do B*15 e B*44, já os alelos HLA-DR os mais frequentes foram DRB1*04, seguido do DRB1*07 e DRB1*13. Os alelos mais frequentes do HLA-A na Região do Pantanal foram, A*02, seguido do A*24 e A*68. Para HLA-B foram B*35, seguido do B*15 e B*39. Quanto aos alelos HLA-DR foram DRB1*04, seguido do

DRB1*13 e DRB1*07. Na região Sudoeste do Estado os mais frequentes alelos HLA-A foram A*02, seguido do A*24 e A*03. Para HLA-B foram B*35, seguido do B*44 e B*15, já os alelos HLA-DR mais frequentes foram DRB1*04, seguido do DRB1*13 e DRB1*11.

Tabela 1 - Frequências Alélicas no Locus HLA-A em doadores voluntários de medula óssea nas diferentes regiões do estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

HLA-A	Centro-Norte (n=366)	Leste (n=497)	Pantanal (n=281)	Sudoeste (n=499)	Frequencia Geral (n=1643)
A*01	0.0833	0.1016	0.0801	0.0822	0.0879
A*02	0.2678	0.2404	0.2651	0.2184	0.2441
A*03	0.0765	0.1026	0.0605	0.1022	0.0895
A*11	0.0423	0.0573	0.0463	0.0531	0.0508
A*23	0.0587	0.0584	0.0463	0.0411	0.0511
A*24	0.0984	0.0956	0.1192	0.1212	0.1080
A*25	0.0082	0.0131	0.0142	0.0140	0.0125
A*26	0.0246	0.0282	0.0160	0.0281	0.0253
A*29	0.0587	0.0352	0.0445	0.0481	0.0460
A*30	0.0574	0.0614	0.0623	0.0551	0.0587
A*31	0.0669	0.0392	0.0765	0.0681	0.0606
A*32	0.0273	0.0302	0.0196	0.0381	0.0301
A*33	0.0301	0.0252	0.0267	0.0271	0.0271
A*34	0.0068	0.0080	0.0125	0.0060	0.0079
A*36	0.0068	0.0040	0.0053	0.0030	0.0046
A*43	0.0014	0	0	0	0.0003
A*66	0.0027	0.0131	0.0125	0.0100	0.0097
A*68	0.0683	0.0674	0.0783	0.0772	0.0724
A*69	0	0.0030	0	0	0.0009
A*74	0.0123	0.0141	0.0142	0.0060	0.0113
A*80	0.0014	0.0020	0	0.0010	0.0012

Tabela 2 - Frequências Alélicas no Locus HLA-B em doadores voluntários de medula óssea nas diferentes regiões do estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

HLA-B	Centro-Norte (n=366)	Leste (n=497)	Pantanal (n=281)	Sudoeste (n=499)	Frequencia Geral (n=1643)
B*07	0.0669	0.0724	0.0694	0.0711	0.0703
B*08	0.0396	0.0453	0.0409	0.0451	0.0432
B*13	0.0150	0.0161	0.0107	0.0230	0.0170
B*14	0.0396	0.0382	0.0409	0.0571	0.0447
B*15	0.0997	0.1076	0.1103	0.0952	0.1026
B*18	0.0423	0.0523	0.0569	0.0441	0.0484
B*27	0.0219	0.0252	0.0107	0.0110	0.0177
B*35	0.0888	0.1227	0.1281	0.1253	0.1169
B*37	0.0123	0.0141	0.0071	0.0110	0.0116
B*38	0.0191	0.0181	0.0107	0.0240	0.0189
B*39	0.0560	0.0372	0.0890	0.0471	0.0533
B*40	0.0642	0.0412	0.0641	0.0641	0.0572
B*41	0.0150	0.0171	0.0107	0.0150	0.0149
B*42	0.0123	0.0221	0.0196	0.0070	0.0149
B*44	0.0970	0.1066	0.0801	0.1122	0.1016
B*45	0.0191	0.0211	0.0142	0.0160	0.0180
B*47	0.0014	0.0010	0	0	0.0006
B*48	0.0191	0.0070	0.0249	0.0060	0.0125
B*49	0.0314	0.0231	0.0196	0.0261	0.0253
B*50	0.0178	0.0211	0.0125	0.0261	0.0204
B*51	0.0956	0.0714	0.0712	0.0651	0.0749
B*52	0.0260	0.0091	0.0107	0.0210	0.0167
B*53	0.0191	0.0231	0.0178	0.0210	0.0207
B*54	0.0014	0.0010	0	0.0010	0.0009
B*55	0	0.0060	0.0071	0.0070	0.0052
B*56	0.0041	0.0010	0.0018	0.0010	0.0018
B*57	0.0328	0.0342	0.0231	0.0301	0.0307
B*58	0.0328	0.0332	0.0409	0.0230	0.0313
B*67	0	0.0010	0	0.0010	0.0006
B*73	0.0014	0.0020	0	0.0010	0.0012
B*78	0.0014	0.0020	0.0036	0.0010	0.0018
B*81	0.0068	0.0050	0.0018	0.0010	0.0037
B*82	0	0.0010	0.0018	0	0.0006

Tabela 3 - Frequências Alélicas no Locus HLA-DRB1 em doadores voluntários de medula óssea nas diferentes regiões do estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

HLA-DRB1	Centro-Norte (n=366)	Leste (n=497)	Pantanal (n=281)	Sudoeste (n=499)	Frequencia Geral (n=1643)
DRB1*01	0.0656	0.0865	0.0605	0.1042	0.0828
DRB1*03	0.0902	0.0976	0.0783	0.0832	0.0883
DRB1*04	0.1243	0.1439	0.1548	0.1383	0.1397
DRB1*07	0.1216	0.1298	0.1103	0.1192	0.1214
DRB1*08	0.0820	0.0694	0.0890	0.0531	0.0706
DRB1*09	0.0246	0.0161	0.0267	0.0180	0.0204
DRB1*10	0.0219	0.0282	0.0142	0.0190	0.0216
DRB1*11	0.1407	0.1177	0.0943	0.1212	0.1199
DRB1*12	0.0123	0.0131	0.0160	0.0130	0.0134
DRB1*13	0.1421	0.1258	0.1192	0.1323	0.1302
DRB1*14	0.0478	0.0322	0.0783	0.0491	0.0487
DRB1*15	0.0874	0.1026	0.0943	0.1022	0.0977
DRB1*16	0.0396	0.0372	0.0641	0.0471	0.0453

7.1.2 Frequência alélica por raça declarada

As frequências alélicas dos *loci* HLA-A, -B e -DRB1 podem ser observadas segundo a raça declarada entre os doadores de medula óssea do estado do MS podem ser observadas nas tabelas 4, 5 e 6, respectivamente.

Os alelos mais frequentes do HLA-A entre aqueles que se declararam pertencentes à raça branca foram A*02, seguido do A*03 e A*24. Para HLA-B foi B*35, seguido do B*44 e B*15. Para o HLA-DR foi DRB1*13, seguido do DRB1*04 e DRB1*11. Na raça parda do estado, os alelos HLA-A mais frequentes foram A*02, seguido do A*24 e A*68. Para HLA-B foi B*15, seguido do B*35 e B*44, já em relação HLA-DR o mais frequente foi DRB1*04, seguido do DRB1*07 e DRB1*13.

Os alelos mais frequentes do HLA-A na raça preta foram A*02, seguido do A*23 e A*30. Para HLA-B foi B*15, seguido do B*35 e B*44. Em relação ao HLA-DR o DRB1*15 foi o mais frequente, seguido do DRB1*07 e DRB1*04. Na raça amarela do estado os alelos HLA-A mais frequentes foram A*02, seguido do A*24 e A*30. Para HLA-B foi B*44, seguido do B*35 e B*51, já o HLA-DR mais frequente foi DRB1*11, seguido do DRB1*04, DRB1*03 e DRB1*15. E por último os alelos HLA-A mais frequentes na raça indígena foram o A*02, seguido do A*24. Para HLA-B foi o B*39, seguido do B*40. E quanto a frequencia mais encontrada do HLA-DR foi do DRB1*04.

Tabela 4 - Distribuição das frequências dos alelos no Locus HLA-A entre os doadores voluntários de medula óssea, segundo a raça declarada no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

HLA-A	Branca (n=999)	Parda (n=421)	Preta (n=86)	Amarela (n=24)	Indígena (n=11)	Frequencia Geral (n=1541)
A*01	0.0941	0.0808	0.0465	0.1458	0.0455	0.0883
A*02	0.2357	0.2577	0.2791	0.2083	0.4091	0.2450
A*03	0.1031	0.0748	0.0581	0.0417	0	0.0912
A*11	0.0576	0.0439	0.0349	0.0417	0	0.0519
A*23	0.0485	0.0546	0.0930	0.0208	0	0.0519
A*24	0.0946	0.1295	0.0814	0.1875	0.1818	0.1055
A*25	0.0145	0.0095	0.0174	0	0	0.0130
A*26	0.0295	0.0190	0.0058	0.0208	0	0.0250
A*29	0.0480	0.0404	0.0349	0.0625	0	0.0451
A*30	0.0576	0.0546	0.0930	0.1250	0	0.0594
A*31	0.0531	0.0736	0.0581	0	0.1364	0.0587
A*32	0.0345	0.0249	0.0058	0.0625	0	0.0305
A*33	0.0250	0.0273	0.0349	0.0208	0	0.0260
A*34	0.0095	0.0048	0.0058	0	0	0.0078
A*36	0.0030	0.0071	0.0174	0	0	0.0049
A*43	0	0	0.0058	0	0	0.0003
A*66	0.0120	0.0036	0	0	0	0.0088
A*68	0.0681	0.0843	0.0814	0.0625	0.1364	0.0737
A*69	0.0010	0	0.0058	0	0	0.0010
A*74	0.0090	0.0083	0.0407	0	0.0909	0.0110
A*80	0.0015	0.0012	0	0	0	0.0013

Tabela 5 - Distribuição das frequências dos alelos no Locus HLA-B entre os doadores voluntários de medula óssea, segundo a Raça declarada no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

HLA-B	Branca (n=999)	Parda (n=421)	Preta (n=86)	Amarela (n=24)	Indígena (n=11)	Frequencia Geral (n=1541)
B*07	0.0691	0.0689	0.0930	0.1042	0	0.0704
B*08	0.0490	0.0356	0.0291	0.0417	0	0.0438
B*13	0.0170	0.0166	0.0233	0	0	0.0169
B*14	0.0430	0.0451	0.0407	0.0625	0	0.0435
B*15	0.0906	0.1247	0.1453	0.0417	0.0909	0.1022
B*18	0.0556	0.0416	0.0349	0.0417	0.0455	0.0503
B*27	0.0200	0.0154	0.0058	0.0208	0	0.0178
B*35	0.1191	0.1140	0.0988	0.1042	0.0909	0.1162
B*37	0.0120	0.0166	0	0	0	0.0123
B*38	0.0240	0.0119	0	0	0	0.0188
B*39	0.0475	0.0606	0.0581	0.0208	0.3182	0.0532
B*40	0.0546	0.0689	0.0349	0.0208	0.2727	0.0584
B*41	0.0165	0.0107	0.0291	0	0	0.0152
B*42	0.0120	0.0178	0.0465	0	0.0455	0.0156
B*44	0.1011	0.0986	0.0930	0.1667	0	0.1003
B*45	0.0190	0.0214	0.0058	0	0.0455	0.0188
B*47	0.0010	0	0	0	0	0.0006
B*48	0.0115	0.0190	0	0	0	0.0127
B*49	0.0270	0.0238	0.0174	0.0417	0	0.0256
B*50	0.0235	0.0154	0.0116	0.0208	0	0.0204
B*51	0.0811	0.0629	0.0523	0.0833	0	0.0740
B*52	0.0120	0.0154	0.0523	0.0208	0.0909	0.0159
B*53	0.0215	0.0190	0.0407	0	0	0.0214
B*54	0.0005	0	0	0.0417	0	0.0010
B*55	0.0045	0.0059	0.0058	0	0	0.0049
B*56	0.0010	0.0024	0	0.0208	0	0.0016
B*57	0.0290	0.0285	0.0407	0.0625	0	0.0299
B*58	0.0310	0.0273	0.0407	0.0417	0	0.0305
B*67	0.0010	0	0	0	0	0.0006
B*73	0.0005	0.0024	0	0	0	0.0010
B*78	0.0015	0.0036	0	0	0	0.0019
B*81	0.0030	0.0048	0	0.0208	0	0.0036
B*82	0	0.0012	0	0.0208	0	0.0006

Tabela 6 - Distribuição das frequências dos alelos no Locus HLA-DRB1 entre os doadores voluntários de medula óssea, segundo a raça declarada no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

HLA-DRB1	Branca (n=999)	Parda (n=421)	Preta (n=86)	Amarela (n=24)	Indígena (n=11)	Frequencia Geral (n=1541)
DRB1*01	0.0881	0.0736	0.0640	0.1042	0	0.0824
DRB1*03	0.0981	0.0665	0.0814	0.1250	0.0909	0.0889
DRB1*04	0.1356	0.1473	0.1221	0.1458	0.3182	0.1395
DRB1*07	0.1171	0.1295	0.1337	0.1042	0.0455	0.1207
DRB1*08	0.0611	0.0843	0.0698	0.0625	0.1818	0.0688
DRB1*09	0.0175	0.0202	0.0349	0.0208	0	0.0191
DRB1*10	0.0220	0.0178	0.0291	0.0833	0	0.0221
DRB1*11	0.1286	0.1128	0.0814	0.1667	0	0.1213
DRB1*12	0.0145	0.0083	0.0233	0.0417	0	0.0136
DRB1*13	0.1396	0.1211	0.0988	0	0	0.1291
DRB1*14	0.0375	0.0736	0.0407	0.0208	0.1818	0.0483
DRB1*15	0.0966	0.0962	0.1686	0.1250	0	0.1003
DRB1*16	0.0435	0.0487	0.0523	0	0.1818	0.0457

7.1.3 Diversidade e heterozigosidade

O número de alelos e a heterozigosidade observados por *loci* HLA estão demonstrados nas tabelas 7 e 8, respectivamente. Não observamos diferença estatisticamente significativa quanto a heterozigosidade, conforme o resultado do teste de HW (Tabela 9).

Tabela 7 - Número de alelos segundo à raça autodeclarada entre os doadores voluntários de medula óssea no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

Locus	Branca (n=999)	Parda (n=421)	Preta (n=86)	Amarela (n=24)	Indígena (n=11)
HLA-A	20	19	19	12	6
HLA-B	32	22	30	20	8
HLA-DRB1	13	13	13	11	6

Tabela 8 - Heterozigosidade observada segundo à raça autodeclarada entre os doadores voluntários de medula óssea no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

Locus	Branca (n=999)	Parda (n=421)	Preta (n=86)	Amarela (n=24)	Indígena (n=11)
HLA-A	0.88689	0.83721	0.87173	0.95833	0.72727
HLA-B	0.92993	1.00000	0.94774	0.91667	0.72727
HLA-DRB1	0.89189	0.89535	0.90261	0.95833	0.81818

p>0,05.

7.1.4 Equilíbrio de Hardy-Weinberg

Para avaliar a significância do desvio do EHW, foi utilizado o procedimento, análogo ao teste exato de Fisher, descrito por Guo e Thompson observado na tabela 9 (GUO; THOMPSON, 1992).

Tabela 9 - Equilíbrio de Hardy-Weinberg segundo a raça autodeclarada entre os doadores voluntários de medula óssea no estado de Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

Locus	Branca (n=999)	Parda (n=421)	Preta (n=86)	Amarela (n=24)	Indígena (n=11)
HLA-A	0.00959	0.48986	0.59840	0.71661	0.05718
HLA-B	0.02117	0.67027	0.24271	0.06583	0.58863
HLA-DRB1	0.06893	0.08386	0.70433	0.59507	0.76318

p>0,05.

x^2 de referência: 3,841.

Não se observaram desvios das frequências genotípicas de Hardy-Weinberg nos *loci,* adotando um limite de significância p>0,05.

7.1.5 Frequências haplotípicas

A raça branca apresentou um número total de 2.448 cópias de possíveis haplótipos, com o haplótipo A*01 B*08 DR*03 apresentando maior frequência

(0,021189). A raça parda apresentou um total de 1.482 cópias de possíveis haplótipos, com o A*02 B*40 DR*04 sendo o mais frequente (0,020681). Já a raça preta apresentou um total de 490 cópias de possíveis haplótipos, com A*02 B*44 DR*04 apresentando maior frequência (0,02907). A raça amarela apresentou um número total de 170 cópias de possíveis haplótipos, com três haplótipos apresentando a mesma frequencia A*29 B*44 DR*07 / A*02 B*44 DR*04 / A*24 B*54 DR*04 (0,041667). A raça indígena apresentou um número total de 49 cópias de possíveis haplótipos, com A*02 B*39 DR*04 sendo o mais frequente (0,181818). Todas essas frequências estão mostradas na tabela 10.

Tabela 10 - Distribuição da frequência haplotípica segundo a raça autodeclarada entre os doadores voluntários de medula óssea no Mato Grosso do Sul - 2012 e 2013.

Haplótipos HLA	Branca (n=999)	Parda (n=421)	Preta (n=86)	Amarela (n=24)	Indígena (n=11)
A*01 B*08 DR*03	0.021189	N.D.	0.016495	0.020833	N.D.
A*29 B*44 DR*07	0.016428	0.017442	0.011876	0.041667	N.D.
A*03 B*07 DR*15	0.014167	N.D.	0.006909	N.D.	N.D.
A*02 B*44 DR*04	0.012412	0.029070	0.008541	0.041667	N.D.
A*02 B*51 DR*11	0.011211	N.D.	N.D.	0.020833	N.D.
A*02 B*14 DR*07	0.001279	0.023260	N.D.	N.D.	N.D.
A*68 B*07 DR*15	0.001540	0.023260	0.001188	N.D.	N.D.
A*02 B*15 DR*04	N.D.	0.011628	0.015511	N.D.	N.D.
A*02 B*40 DR*04	0.003651	N.D.	0.020681	N.D.	N.D.
A*24 B*54 DR*04	N.D.	N.D.	N.D.	0.041667	N.D.
A*02 B*39 DR*04	0.007445	N.D.	N.D.	N.D.	0.181818
A*02 B*40 DR*16	0.001941	N.D.	0.001509	N.D.	0.136364

N.D. - Não Detectado.

8 DISCUSSÃO

Neste estudo os indivíduos com maior representatividade foram da raça branca (60,8%), seguidos de pardo (25,6%), preta (5,2%), amarela (1,4%), indígena (0,7%) e 6,3% não declararam sua raça. Cita *et al*., 2012 relataram em Rondônia maior heterogeneidade (brancos: 48,94%, pardos: 42,55%, pretos: 8,25%, amarelos: 0,23% e indígenas: 0,03%), enquanto que em São Paulo os indivíduos brancos tiveram maior representatividade (brancos: 73,48%, pardos: 18,16%, pretos: 7,49%, amarelos: 0,85% e indígenas: 0,02%). Tal observação demonstra a heterogeneidade étnica de nosso país, quando consideramos as diferentes regiões, resultado da colonização e ondas de imigração para estas áreas.

O número de alelos encontrados no presente estudo nos *loci* HLA-A, -B e -DRB1 foram respectivamente: 21, 33 e 13. Os *Loci* HLA-A mais frequentes foram: A*02 (24,4%), A*24 (10,8%), A*03 (8,9%) e A*01 (8,8%); HLA-B, B*35 (11,7%), B*15 (10,3%), B*44 (10,2%) e B*51 (7,5%); HLA-DRB1, DRB1*04 (14,0%), DRB1*13 (13,0%), DRB1*07 (12,1%) e DRB1*11 (12,0%). Tais dados demonstram certa correspondência alélica com outros estudos, como aquele que detectou em uma amostra de 21.943 Doadores Voluntários de Medula Óssea (DVMO) do Piauí, observou-se 21 diferentes grupos alélicos no *locus* A, 32 em *locus* B e 13 em *locus* DRB1. Os cinco grupos alélicos mais frequentes de cada *locus* foram: HLA-A, A*02 (25%), A*24 (9%), A*03 (8%), A*01 (7%) e A*30 (7%); HLA-B, B*15 (11%), B*35 (11%), B*44 (10%), B*51 (7%) e B*07 (6%); HLA-DRB1, DRB1*13 (14%), DRB1*04 (13%), DRB1*07 (12%), DRB1*15 (10%) e DRB1*03 (9%) (CARVALHO *et al*., 2012).

O locus HLA-A do sorológico A*02 foi o mais frequente entre as 4 regiões do estado de Mato Grosso do sul: Centro-Norte (26,8%), Pantanal (26,5%), Leste (24%) e Sudoeste (21,8%). Na Turquia os 3 alelos mais frequentes para o locus HLA-A foram: HLA-A* 02, HLA-A*24 e HLA-A*11. Para locus de HLA-B, foram mais proeminentes os alelos HLA-B*35 e HLA-B*51. Em relação ao HLA-DR, os mais frequentes foram HLA DRB1*11, HLA-DRB1*04, HLA-DRB1*13 e HLA-DRB1*03, respectivamente (KAYHAN, 2013). Na Espanha o alelo HLA-A mais frequente com 26,3% foi o A*02 (BALAS; SÁNCHEZ; VICARIO, 2010). O mesmo HLA-A A*02 tem presença marcante em uma população croata com 29,16% (GRUBIC *et al*., 2014).

Na região Nordeste na Bahia, a miscigenação foi muito mais efetiva do que nas demais regiões do país, o que torna praticamente impossível distinguir um indivíduo como pertencente a uma determinada raça. Na população nordestina os antígenos HLA de classe I mais frequentes foram os antígenos HLA-A2 (24,3%), HLA-A30 (9,6%) e HLA-A68 (7,6%), HLA-B15 (11,2%), HLA-B35 (10,9%), HLA-B44 (10%) e HLA-B7 (7,5%). Já os de classe II foram HLA-DR13 (15,1%); HLA-DR7 (12,3%) e HLA-DR15 (12%) (HORA; SANTOS; MENEZES, 2012).

Os alelos mais frequentes do HLA-A entre aqueles que se declararam pertencentes à raça branca no estado de MS foram A*02 (24%), seguido do A*03 (10,3%) e A*24 (9,3%). Para HLA-B foi B*35 (11,9%), seguido do B*44 (10,1%) e B*15 (9%). Para o HLA-DR foi DRB1*13 (14%), seguido do DRB1*04 (13,6%) e DRB1*11 (12,9%). Na raça parda do estado de MS os mais frequentes alelos HLA-A foi A*02 (25,8%), seguido do A*24 (13%) e A*68 (8,4%). Para HLA-B foi B*15 (12,5%), seguido do B*35 (11,4%) e B*44 (9,9%), já o HLA-DR o mais frequente foi DRB1*04 (14,7%), seguido do DRB1*07 (13%) e DRB1*13 (12,1%). Os alelos mais frequentes encontrados no estado de MS para o HLA-A da raça preta foram o A*02 (27,9%), seguido do A*23 (9,3%) e A*30 (9,3%). Para HLA-B foram B*15 (14,5%), seguido do B*35 (9,9%) e B*44 (9,3%). E o HLA-DR foi DRB1*15 (16,9%), seguido do DRB1*07 (13,4%) e DRB1*04 (12,2%). O HLA-A*02 é o mais frequente comparado entre as raças estudadas em MS (branca, preta, parda, indígena e amarela).

Os alelos mais frequentes em Minas Gerais (MG) no *locus* HLA-A foram HLA-A*02, seguido de A*24, A*01, A*03 nos brancos, A*23, A*68, A*03 nos pretos e A*03, A*30, A*01 nos pardos. O alelo HLA-A*43 foi pouco frequente e observado somente no grupo branco. No *locus* HLA-B, os dois alelos mais frequentes em todos os grupos foram o B*44 e o B*35, seguidos de B*51, B*07, B*08 nos brancos, B*07, B*51, B*53 nos pretos, e B*07, B*51 e B*08 nos pardos. No *locus* HLA-DRB1, os cinco alelos mais frequentemente observados foram DRB1*03, DRB1*04, DRB1*07, DRB1*11, DRB1*13 e DRB1*15. No *locus* HLA-DRB1 não foram observados alelos exclusivos de um grupo (OLIVEIRA, 2009).

Particularidades foram encontradas entre os estados de MS e MG, sendo que no estado de MS o HLA-A A*43 só foi encontrado na Raça Preta, o HLA-B B*47 e B*67 apenas na Raça Branca. Enquanto que em MG o alelo HLA-B47 foi observado

nos brancos e pardos, o B*67 somente nos brancos e ainda, o B*78 somente nos pardos (OLIVEIRA, 2009).

O alelo HLA-A*02 foi o mais frequente no estudo realizado nos doadores de medula óssea no Rio Grande do Sul. O HLA-A*03, -A*24 e -A*01 apresentaram mais de 10% da frequência dos alelos. No grupo alélico B os mais comuns eram HLA-B*35, -B*44, -B*51 e -B*15. Já no locus HLA-DRB1, o HLA-DRB1*13, -DRB1*07, -DRB1*04, e -DRB1*11 alelos foram os mais comuns. Os dados indicam uma contribuição mais representativa dos alelos de população de origem europeia. Em contraste, os dados também indicam a ocorrência de alelos de influência Africana, tais como HLA-B*15 (BORTOLOTTO, 2011).

Na raça amarela do estado de MS os mais frequentes alelos HLA-A foram A*02 (20,8%), seguido do A*24 (18,8%) e A*30 (12,5%). Para HLA-B foi B*44 (16,7%), seguido do B*35 (10,4%) e B*51 (8,3%). Já o HLA-DR mais frequente observado foi DRB1*11 (16,7%), seguido do DRB1*04 (14,6%), DRB1*03 (12,5%) e DRB1*15 (12,5%). Para os haplótipos, os três mais frequentes foram: A*29 B*44 DR*07, A*02 B*44 DR*04 e A*24 B*54 DR*04.

Em uma população paranaense de ancestralidade oriental (amarela) os cinco grupos alélicos mais frequentes de cada loco foram HLA-A: A*02 (25%), A*24 (10%), A*01 (9%), A*03 (8%) e A*68 (7%); HLA-B: B*44 (11%), B*35 (11%), B*15 (10%), B*51 (8%) e B*07 (6%); HLA-DRB1: DRB1*13 (16%), DRB1*04 (14%), DRB1*07 (12%), DRB1*01 (10%) e DRB1*11 (9%). Para os haplótipos, os três mais frequentes foram: A*01 B*08 DRB1*03, A*29 B*44 DRB1*07 e A*02 B*44 DRB1*04. (ZECK; CONSTANTINO; BICALHO, 2012). Comparando estes resultados com os do presente estudo, observou-se diferença apenas no locus HLA-DRB1 e duas diferenças nos haplótipos de maior frequencia.

Uma análise das frequências haplótipas de 21.918 residentes que vivem em Liaoning, China. Mostrou que os haplótipos mais frequentes encontrados foram A*30 B*13 DRB1*07 (4,88%), A*02 B*46 DRB1*09 (2,38%) e A*02 B*13 DRB1*12 (1.61%) (LI *et al*., 2014). Resultados não condizentes com os de Mato Grosso do Sul, demonstrando que a miscigenação ocorrida na formação de nosso estado, deu-se principalmente a migração de orientais advindas do Japão.

Os alelos mais frequentes no HLA-A na raça indígena no estado de MS foram o A*02, seguido do A*24. Para HLA-B foi B*39, seguido do B*40. E quanto HLA-DR

foi o DRB1*04. Na população Indígena Mapuche do Chile, os alelos mais frequentes foram A*02 (181 casos), A*19 (136 casos) e A*28 (154 casos). Para HLA-B, os mais frequentes foram B*05 (77 casos), B*16 (178 casos) e B*35 (119 casos); para os antígenos de classe II: DRB1*02 (50 casos), DRB1*04 (161 casos), e DRB1*06 (143 casos) (DROGUETT *et al*., 2008). A presença do alelo HLA-A A*02 também é muito marcante nas duas populações Indígenas.

Observamos também que o haplótipo mais frequente no estado de MS presente na raça Branca é também um haplótipo típico Europeu (HLA- A*01 B*08 DRB1*03) (RUIZ *et al.,* 2005). Tal fato remonta aos desbravadores de nosso estado predominantemente portugueses, e séculos depois a imigração de indivíduos do sul de nosso país, cuja origem também é predominantemente europeia.

Identificar as características da composição HLA na população brasileira é importante para a compreensão de determinada suscetibilidade à doenças auto-imunes, o entendimento de desfechos relativos à progressão, remissão ou cura de doenças infecciosas e a organização de registros de doadores voluntários de medula óssea. Em nossa análise, foi demonstrado que a distribuição de alelos e haplótipos HLA foi semelhante entre as diferentes amostras da população brasileira relatados na literatura.

Apesar de algumas diferenças observadas, tornou-se claro que a origem étnica influencia a caracterização dos alelos HLA de uma dada população, por exemplo: o sul do Brasil têm uma maior frequência de alelos de origem caucasiana, e o nordeste é caracterizada pela miscigenação de raças. São necessários estudos adicionais para fornecer uma melhor compreensão do conjunto de doadores registrados no banco de dados de doadores voluntários de medula óssea, com vistas a facilitar a busca por doadores compatíveis.

9 CONCLUSÃO

Os alelos HLA mais comuns encontrados no estado de Mato Grosso do Sul (MS) foram A*02 (24,4%), B*35 (11,7%) e DRB1*04 (14,0%).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes quanto à heterozigosidade, e também referentes aos resultados do teste de Hardy-Weinberg.

A raça branca é predominante no estado de MS, seguida da raça parda.

O alelo HLA-A*02 é o mais frequente entre as raças, e o mais frequente entre as regiões do estado do MS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS; LICHTMAN; PILLAI. **Imunologia**. Celular e molecular. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

ALVES, C.; SOUZA, T.; VEIGA, S.; ALVES, Cândida; TORRELLIS, M.B; LEMAIRE, D. **Importância do sistema de histocompatibilidade humano (HLA) em Pediatria**. v. 27, p. 274-286, 2005.

BALAS, A.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; VICARIO, J.L. Allelic and haplotypic HLA frequency distribution in Spanish hematopoietic patients. Implications for unrelated donor searching. Departamento de Histocompatibilidad, Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid. Spain/Madrid: John Wiley & Sons A/S. **Tissue Antigens**, n.77, p.45–53, 2010.

BORTOLOTO, A.S.; PETRY, M.G.; SILVEIRA, J.G.; RAYA, A.R.F.; FERNANDES, S.R.; NEUMANN, J.; BONORINO, C. HLA-A, -B, and -DRB1 allelic and haplotypic diversity in a sample of bone marrow volunteer donors from Rio Grande do Sul State, Brazil. Journal American Society for Histocompatibility and Immunogenetics. **Human Immunology**. n.73, p.180-185, 2012.

CARRINGTON, M. Recombination within the human MHC. **Immunol Rev**, v.167, Feb, p.24556, 1999.

CARRINGTON, M.; NELSON, G. W. et al. HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage. **Science**, v.283, n.5408, Mar 12, p.1748-1752, 1999.

CARVALHO, M.G.; FILHO, H.L.A.S.; MACÊDO, M.B.; BARROSO, J.R.P.M.; SOUSA, L.C.D.M.; ARAÚJO, A.S.; SILVA, A.S.; TSUNETO, L.T.; NETO, J.M.M.; MONTE, S.J.H.D. Histocompatibilidade. Distribuição de alelos e haplótipos de antígenos leucocitários humanos LOCI A, B e DRB1 em uma amostra de doadores voluntários de medula óssea (DVMO) do Piauí. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. n.34, supl.1, p.24, 2012.

CARVALHO, M.G.; TSUNETO, L.T.; MOITA NETO, J.M.; SOUSA, L.C.D.M.; SALES FILHO, H.L.A.; MACÊDO, M.B.; BARROSO, J.R.P.M.; PEREIRA, E.M.; ARAÚJO, A.S.; SILVA, A.S.; MONTE, S.J.H. HLA-A, HLA-B and HLA-DRB1 haplotype frequencies in

Piauí's volunteer bone marrow donors enrolled at the Brazilian registry. Journal American Society for Histocompatibility and Immunogenetics. **Human Immunology**. n.74, p.1598-1602, 2013.

CITA, R.F.; JUNIOR, C.T.M.; FRANCA, M.A.; GIGLIOTTI, C.B.; MEDEIROS, L.; DONADI, E.A. Histocompatibilidade. Avaliação da freqüência dos alelos dos genes HLA-A, HLA-B e HLA-DR na população do Estado de São Paulo e Rondônia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. n.34, supl.1, p.11, 2012.

CORRÊA, B.M.; LOPES, E.P.A.; ALBUQUERQUE, M.F.P.M.; DOURADO, L. Association between HLA-DRB1* polymorphisms and hepatitis B infection in a Brazilian population. **Revista Associação Médica Brasileira**. v. 58, n.5, p. 537-542, 2012.

COTRINA, M.; BUTI, M.; JARDI, R.; CAMPINS, M.; ESTEBAN, R.; GUARDIA, J. Study of HLA-II antigens in chronic hepatitis C and B and in acute hepatitis B. **Gastroenterol Hepatol.** v.20, p.115-118. 1997.

DALALIO, M.M.O.; SELL, A.M.; TODA, L.Y.; CANO, M.F.F.; SOSAI, C.R.; FRACALOSSI, L. Frequência dos antígenos HLA-A e HLAB em populações das regiões de Curitiba e Norte/Noroeste do Estado do Paraná. **Acta Sientarium**.v. 24, n.3, p. 743-748, 2002.

DAUSSET, J. [Iso-leuko-antibodies.]. Acta Haematol, v.20, n.1-4, Jul-Oct, p.156-66. 1958.

DEBONI, Luciane. **Estudo da incidência da infecção por citomegalovírus através da técnica de antigenemia, em uma coorte de pacientes transplantados renais**. 2001, 101 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Faculdade de Ciências Médicas: Nefrologia, UFRGS-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 2001.

DONADI, E.A.; SILVA, L.M.S.; SANTOS, C.M.P.; SILVEIRA, R.D.; DEGHAIDE, N.H.S.; FERRAZ, A.S.; VOLTARELLI, J.C. Frequência dos antígenos de histocompatibilidade na população normal da região nordeste do estado de São Paulo Brasil**. Revista de Medicina**. v.33, cap. II, p.19-26, jan./mar., 2000.

DROGUETT, M.A.; BELTRAN, R.; ARDILES, R.; RADDATZ, N.; LABRAÑA, C.; ARENAS, A.; FLORES, J.; ALRUIZ, P.; MEZZANO, S.; ARDILES. L. Ethnic Differences in HLA Antigens in Chilean Donors and Recipients: Data From the National Renal Transplantation Program. **Transplantation Proceedings.** New York: NY. n.40, p.3247–3250, 2008.

ELAHI, S.; HORTON, H. Association of HLA-Alleles with the immune regulation of chronic viral infections. **Inst. J. Biochem Cell Bio**, August, v. 44, n.8, p. 1361-1365, 2012.

GORER, P.A. The genetic and antigenic basis of tumour transplantation**. J Pathol Bacteriol**. v.44, p.691–697, 1937.

GRUBIC, Z.; KAMENARIC, M.B.; MIKULICT, M.; JANKOVIC, K.S.; MASKALAN, M.; ZUNEC, R. HLA-A, HLA-B and HLA-DRB1 allele and haplotype diversity among volunteer bone marrow donors from Croatia. **International Journal of Immunogenetics**. n.41, p.211–221, 2014.

GUO, S. W.; THOMPSON, E. A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. **Biometrics**, v.48, n.2, Jun, p.361-372. 1992.

HADAYA, K.; RHAM, C.; BANDELIER, C.; BANDELIER, C.; FERRARI-LACRAZ, S.; JENDLY, S.; BERNEY, T.; BUHLER, L.; KAISER, L.; SEEBACH, J.D.; TIERCY, J.M.; MARTIN, P.Y.; VILLARD, J. Natural killer cell receptor repertoire and their ligands, and the risk of CMV infecton. **American Journal of Transplantation**. n. 8, p. 2674-2683, 2008.

HEDRICK, P. W. Genetics of Populations: **Jones & Bartlett Pub**. 2000.

HORA, A.S.; SANTOS, L.C.S.; MENEZES, E.P. Histocompatibilidade. Frequência alélica de antígenos HLA Classe I e II no Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. n.34, supl.1, p.18, 2012.

HORTON, H; FRANK, I.; BAYDO, R.; JALBERT, E.; PENN, J.; WILSON, S. et al. Preservation of T cell proliferation restricted by protective HLA alleles is critical for immune control of HIV-1 infection. **Journal of Immunology.** n. 177, p.7406–7415, 2006.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2010.

II CONSENSO DA SOCIEDADE PAULISTA DE INFECTOLOGIA PARA MANUSEIO E TERAPIA DA HEPATITE C- 2004. São Paulo: Office Editora e Publicidade Ltda, 2004, p.64.

JANEWAY, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SWLOMCHIK, M.J. Auto-Imunidade e Transplante. **Imunobiologia**: o sistema imune na saúde e na doença, 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

KAYHAN, B.; KURTOGLU, E.L.; TASKAPAN, H.; PISKIN, T.; SAHIN, I. ; OTLU, G. ; UNAL, B. HLA-A, -B, -DRB1 Allele and Haplotype Frequencies and Comparison With Blood Group Antigens in Dialysis Patients in the East Anatolia Region of Turkey. **Transplantation Proceedings**. Elsevier Inc.: Nova York/NY, n.45, p.2123 e 2128, 2013.

KESKIN, M.; AYGÜM, A.; PEHLIVAN, S.; KESKIN, Ö.; KOR, Y.; BALAT, A.; COSKUN, Y. Trends in the frequency of HLA DR-DO haplotypes among children and adolescents with type 1 Diabetes Mellitus in the southeast region of Turkey. University Faculty of Medicine, 2012. Gaziantep, Turkey. **Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology,** v.4, n.4, p. 189-192, 2012.

KLEIN, J. Natural History of the Major HistocompatibilityComplex. New York: Wiley & Sons. 1986

LAPERROUSAZ, S.; TIERCY, J.M.;VILLARD, J.; FERRARRI-LACRAZ, S. HLA and non-HLA polymorphisms in renal transplantation. Geneva University Hospital an Medical School. Geneva, Switzerland. Medical intelligence.**Journal Swiss Medical Weekly**, n.142, p. 1-12, August 2012.

LI, X-F; ZHANG, X; CHEN, Y; ZHANG, K-L; LIU, X-J; LI, J-P. An Analysis of HLA-A, -B, and -DRB1 Allele and Haplotype Frequencies of 21,918 Residents Living in Liaoning, China. **Plos One.** vol.9, April, 2014.

MAGALHÃES, P.S.C.; BÖHLKE, M.; NEUBARTH, F. Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC): codificação genética, bases estruturais e implicações clínicas.

Revista de Medicina. Universidade Católica de Pelotas/RS. n.2, vol.1, p.54-59, Jan.-Jun, 2004.

MARQUES, S. A. **Conceito, Epidemiologia, Genética e Imunopatogênese**. Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP. Consenso Brasileiro de Psoríase 2009 - Sociedade Brasileira de Dermatologia, Botucatu, 2009.

MARSH, S. G. E.; PARHAM, P.; BARBER, L.D. **Evolution and anthropology of HLA**. The HLA Facts Book. London: Academic Press, p.73-83, 2000.

MATTE, M. C. C. **Influência dos genes HLA classe I na progressão para a Aids em indivíduos HIV positivos**. 2012, 89 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Instituto de Biociências, UFRGS-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 2012.

MATTHEWS, P.C.; LISTGARTEN, J.; CARLSON, J.M.; PAYNE, R.; H; KUANG, K.-H.G.; FRATER, J.; GOEDHALS, D.; STEYN, D.; VUUREN, C.; PAIONI, P. JOOSTE, P.; OGWU, A.; SHAPIRO, R.; MNCUBE, Z.; NDUNG'U, T.; WALTER, B.D.; HECKERMAN, D.; GOULDER, P.J.R. Co-Operative Additive Effects between HLA Alleles in Control of HIV-1. **Plosone**. v. 7, n. 10, p. 1-7, October, 2012.

MENDONÇA, L.A.M.; FERREIRA, M. **Associação do HLA com transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas.** 2008, 35 f. Monografia (Análises Clínicas) - Centro Universitário Newton Paiva. Belo Horizonte/MG, 2008.

MONTE, S.J.H.; MOITA NETO, J.M.; RAMPIM, G.F.;SHULZHENKO, N.; MORGUN, A.; DeLIMA, M.G. Polimorfismo do Sistema HLA em uma amostra de mestiços da população de Teresina, Piauí. **Revista Associação de Medicina Brasileira**. São Paulo, v. 50, n.4, p. 422-426, 2004.

NAIK, S. The Human HLA System. Jornal Indian Rheumatol Assoc. Immunology for Rheumatologist. Indian. p. 79-83, 2003.

OLIVEIRA, R.A.F.; **Análise da diversidade genética dos LOCI HLA-A, -B, -DRB1 e da estrutura da população humana do Estado de Minas Gerais, Brasil**. 2009, 91 f. (Mestrado

em Genética Evolutiva e de Populações) - Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

ONE LAMBDA. **Manual modificado de LABType® SSO Typing Tests (One Lambda).** Acesso em 07 de fevereiro de 2016. Disponível em: http://www.onelambda.com/pdffiles/productinserts/labtype_pi_PT.pdf

PIMENTA, JR, ZUCCHERATO, L.W.; DEBES, A.A. et al. Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with Forensic microsatellites. **Hum Hered.** n.62, vol.4, p.190-1955, 2006.

REDOME. Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva. **O Redome**. Rio de Janeiro, 2016. Disponível em <http://www.redome.inca.gov.br/o-redome>,. Acesso em 13 abr, 2016.

RUIZ, D.G.; AZEVEDO, M.N.L; LUPI, O. HLA-B-27 frequency in a group of patients with psoriatic arthritis. (Frequência de HLA-B27 em uma amostra de pacientes com artrite psoriática). **Anais Brasileiros de Dermatologia**. n.6, vol.87, p.847-850, 2012.

RUIZ, T.M.; DA COSTA, S.M.C.M.; RIBAS, F.; LUZ, P.R.; LIMA, S.S.; BICALHO, M.G. Human Leukocyte Antigen Allelic Groups and Haplotypes in a Brazilian Sample of Volunteer Donors for Bone Marrow Transplant in Curitiba, Paraná, Brazil. **Transplantation Proceedings.** New York: NY. n.37, p.2293–2296, 2005.

SILVA, A. A. **Perfil humoral dos pacientes renais transplantados do Estado de Mato Grosso do Sul e sua relação com a rejeição.** 2015, 89 f. (Mestrado em Biotecnologia aplicada à Saúde) - Universidade Católica Dom Bosco do Mato Grosso do Sul, Campo Grande/MS, 2015.

SILVA, J.A.G. Instituto Nacional de Câncer. **Tópicos em Transplante de Células-tronco Hematopoéticas**. Rio de Janeiro: INCA, 2012.

SNELL, G.D. Some recollections of peter gorer and his work on this fiftieth anniversary of his discovery of h-2. **Immunogenetics**. v.24, p.339–340, 1986.

THORSBY, E. A short history of HLA. **Tissue Antigens**. vol.74, n.2, Aug, p.101-116, 2009.

TORRES, M.; HAMERSCHLAK, N.; MASAKI, V.; KONDO, A.;, MORAES, M.E.; MARTININEZ, M.; COULTURATO, V.; HUE, M.I.;, TIMONER, B.; BUB, C. Histocompatibilidade. A importância da pesquisa de aloanticorpos HLA no transplante de células-tronco-hematopoética. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. n.34, supl.1, p.10, 2012.

VANDIEDONCK, C.; KNIGHT, J.C. The human major histocompatibility complex as a paradigm in genomics research. **Brief Funct Genomic Proteomic**. September, n.8, vol.5, p.379–394, 2009.

ZECK, S.C.; COSTANTINO, P.R.; BICALHO, M.G. Histocompabilidade. Descrição das freqüências grupo alélicas e haplotípicas dos LOCI HLA-A, -B e –DRB1 em população Paranaense com anestralidade oriental. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. n.34, supl.1, p.28, 2012.

ZINKERNAGEL, R. M.; DOHERTY, P. C. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. **Nature**, v.248, n.450, Apr 19, p.701-2. 1974.

ANEXO 1

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS

Carta de Aprovação

O protocolo do Pesquisador Ernesto Buratto dos Santos Queiroz, CAAE: 35097914.0.0000.0021, intitulado "Frequência genética alélica do Estado do Mato Grosso do Sul no período de 2008 a 2013", aprovado em 11 de março de 2015, sob o Parecer nº 981.336, teve seu título emendado para "FREQUÊNCIA DOS ALELOS HLA A, B E DRB1 EM DOADORES VOLUNTÁRIOS DE MEDULA ÓSSEA DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL NO PERIODO DE 2012 A 2013", notificação enviada pelo Sistema Plataforma Brasil em 15 de março de 2016 com ciência e aceite do Comitê de Ética em Pesquisa em 16 de março de 2016, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.

Paulo Roberto Haidamus de Oliveira Bastos
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 16 de março de 2016.

Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
cep.sites.ufms.br
cepconep.propp@ufms.br
fone 0XX67 345-7187

ERNESTO BURATTO DOS SANTOS QUEIROZ

FREQUÊNCIA DOS ALELOS HLA A, B E DRB1 EM DOADORES VOLUNTÁRIOS DE MEDULA ÓSSEA DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL NO PERIODO DE 2012 A 2013.

CAMPO GRANDE

2016