



## Frequência dos alelos do sistema antígeno leucocitário humano em doadores e pacientes pré-transplante de medula óssea

### *Human leukocyte antigen alleles frequency in donors and pre-transplant patients from bone marrow*

Débora Greice Campagnuolo<sup>1</sup>, Rafael Formeton Cita<sup>2</sup>, Tatiana Elias Colombo<sup>1</sup>.

#### Resumo

**Introdução:** O estudo da frequência dos alelos detectados nos doadores e pacientes previamente selecionados para o transplante de medula óssea permite estimar as reais chances de um paciente em lista de espera encontrar um doador com antígeno leucocitário humano (*Human leukocyte antigen*; HLA) idêntico não relacionado, além de facilitar e direcionar o planejamento do crescimento do Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea. **Objetivo:** Descrever e analisar a frequência dos alelos do sistema HLA de classe I (HLA-A, -B e -C) e classe II (HLA-DRB1 e -DQB1) de doadores e pacientes pré-transplante de medula óssea, do Hospital de Câncer de Barretos. **Material e Métodos:** Um total de 98 amostras de doadores e 106 amostras de pacientes foi selecionado com tipificações em alta resolução, no período de outubro de 2014 a outubro de 2015. As amostras foram tipificadas para os loci HLA-A, -B, -C, -DR e -DQ. **Resultados:** O predomínio da raça branca reflete a composição étnica do Brasil. As doenças de base mais comuns que levaram o paciente ao transplante foram a leucemia aguda linfóide (34%) e mielóide (29,2%). Os grupos alélicos mais frequentes nos registros foram A\*02, A\*24, A\*03, A\*01, B\*35, B\*44, C\*07, DQB1\*03, DQB1\*05, DQB1\*06, DRB1\*01 e DRB1\*13. **Conclusão:** Os resultados encontrados reforçam a importância de conhecer o perfil demográfico e imunogenético das regiões do Brasil, contribuindo desta forma na redução do tempo de espera por um doador histocompatível.

**Descritores:** Complexo Principal de Histocompatibilidade; Teste de Histocompatibilidade; Transplante de Medula Óssea;

#### Introdução

Em humanos, o Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC - *Major Histocompatibility Complex*) está localizado no braço curto do cromossomo 6, mais precisamente em 6p21.31, formado por genes distribuídos ao longo de quatro milhões de pares de bases. Esses genes estão agrupados em três regiões, de acordo com certas características funcionais<sup>1</sup>. A região mais distante corresponde ao MHC de classe I, que contém os genes que codificam as cadeias pesadas clássicas (1a) HLA-A, -B, e -C e não clássicas (HLA-E, -F e -G). Um grau extraordinário

#### Abstract

**Introduction:** The study of allele frequencies detected in donors and patients previously selected for bone marrow transplantation allows us to estimate the real chances of a patient in the waiting list to find an *Human leukocyte antigen* (HLA) identical unrelated donor. This also facilitates and drives the growth planning of the Brazilian Registry of planning Bone Marrow Transplantation (REDOME). **Objective:** Describe and analyze the frequency of HLA class I alleles (HLA-A\*, -B\* and -C\*) and class II alleles, genotypes, and haplotypes (HLA-DRB1\* and -DQB1\*) from donors and bone marrow pre-transplant patients. **Material and Methods:** A total of 98 donor samples and 106 patient samples were selected with high resolution typing, from October 2014 to October 2015. Samples were typed for HLA-A, -B, -C, -DR and -DQ loci. **Results:** The predominance of the white race reflects the ethnic composition of Brazil. The most common underlying diseases that led to transplantation patients were acute lymphoid leukemia (34%) and myeloid (29.2%). The most frequent allelic groups were A\*02, A\*24, A\*03, A\*01, B\*35, B\*44, C\*07, DQB1\*03, DQB1\*05, DQB1\*06, DRB1\*01 and DRB1\*13. **Conclusion:** The results reinforce the importance of understanding the demographic and immunogenic profile from Brazilian Regions. This can contribute to the reduction of waiting time for a histocompatible donor.

**Descriptors:** Major Histocompatibility Complex; Histocompatibility Testing; Bone Marrow Transplantation;

de polimorfismo caracteriza esses genes (2.735 alelos nos locos em HLA-A, 3.455 alelos em HLA-B e 2.259 alelos em HLA-C) e a maioria desses alelos é funcional<sup>1-3</sup>.

A região HLA de classe II (ou região HLA-D), mais próxima ao centrômero, alberga sub-regiões DR, DQ e DP que contêm os genes que codificam as moléculas de HLA classe II e diversos outros genes que também participam da resposta imune. A sub-região DR inclui um gene DRA, não polimórfico, que codifica a cadeia alfa, a qual pode combinar com qualquer uma das cadeias beta codificadas por genes

<sup>1</sup>Curso de Biomedicina da Universidade Paulista, São José do Rio Preto - SP.

<sup>2</sup>Hospital de Câncer de Barretos - SP

**Conflito de interesses:** Não

**Contribuição dos autores:** DGC coleta, tabulação, delineamento do estudo e redação do manuscrito. RFC coleta, tabulação dos dados e delineamento do estudo. TEC orientação do projeto, delineamento do estudo e elaboração do manuscrito.

**Contato para correspondência:** José Jeová Mourão Netto

E-mail: jeovamourao@yahoo.com.br

**Recebido:** 19/02/2017; **Aprovado:** 30/01/2018

DRB. Os produtos dos genes DPA1 (cadeia DP alfa) e DPB1 (cadeia DP beta) associam-se para formar as moléculas HLA-DP e, similarmente, DQA1 (cadeia DQ alfa) e DQB1 (cadeia DQ beta) constituem as moléculas de HLA-DQ<sup>1-4</sup>.

A região de classe III, localizada entre as regiões de classe I e II, contém genes C2, C4A, C4B e fator B que codificam proteínas do sistema complemento, além de outros genes envolvidos na resposta imune inata e nos processos inflamatórios<sup>1-4</sup>.

Os genes HLA estão ligados e, por essa razão, são geralmente transmitidos para a descendência como uma unidade, por segregação mendeliana simples. As variantes alélicas dos genes HLA são expressas de forma codominante. Isso significa que um indivíduo expressa na superfície de suas células os produtos alélicos codificados pelos genes presentes nos cromossomos paternos e maternos. Entretanto, os genes HLA são divididos em classes em virtude de suas diferenças na estrutura, na função e na expressão tecidual. Os de classe I se expressam em praticamente em todas as células nucleadas do organismo, enquanto que os de classe II têm expressão restrita às células apresentadoras de antígeno, tais como linfócito B, macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans e células do epitélio tímico<sup>1</sup>.

Ao conjunto de alelos presentes em cada um dos genes HLA, localizados em um dos cromossomos, do par homólogo número 6, denomina-se haplótipo. Por convecção, os dois haplótipos paternos são designados *a* e *b*, e os haplótipos maternos *c* e *d*, sendo que os descendentes podem herdar uma dentre as quatro combinações parentais possíveis: *ac*, *ad*, *bc* e *bd*<sup>1-4</sup>.

O estudo das frequências dos alelos detectados nos doadores e pacientes pré-selecionados para o transplante de medula óssea, permite estimar as reais chances de um paciente em lista de espera encontrar um doador HLA idêntico não relacionado, além de facilitar e direcionar o planejamento do crescimento do Registro. Além disso, a análise dos alelos associados a doenças poderão auxiliar no planejamento de políticas públicas de prevenção, pois em estudos relacionados nos indexadores latinoamericanos e internacionais, as leucemias estão entre as doenças associadas ao sistema HLA, onde sugerem que variantes HLA conferem susceptibilidade a algumas formas de leucemia<sup>5, 6</sup>.

Considerando a grande dificuldade de se encontrar um doador compatível, não aparentado, para transplantes de órgãos sólidos e tecidos hematopoéticos, principalmente no Brasil, onde há uma grande miscigenação, o presente estudo, assim como outros estudos realizados no Brasil<sup>7-10</sup>, apresentou como objetivo descrever e analisar a frequência dos alelos, genótipos e haplótipos HLA de classe I (HLA-A, -B e -C) e classe II (HLA-DRB1 e -DQB1) dos doadores e pacientes pré-transplante de medula óssea, genotipados no laboratório de Imunogenética-HLA do Hospital de Câncer de Barretos (SP).

## Materiais e Métodos

Após aprovação pelo Comitê de Ética, Parecer nº 1.103.457, foi realizado um estudo transversal, descritivo, com abordagem quantitativa, por meio do levantamento de dados do Laboratório de Histocompatibilidade do Hospital de Câncer de Barretos, HCB, Fundação Pio XII, referentes ao período entre outubro de 2014 a outubro de 2015.

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

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

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

Dez mililitros (10 mL) de sangue periférico foram coletados de cada indivíduo, através de punção venosa, em tubos estéreis tipo *Vacutainer* (*BDVacutainer, Franklin Lakes, NJ, USA*) com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético). Após a coleta, as amostras foram enviadas ao Laboratório de Histocompatibilidade - HCB, onde 1mL de cada amostra foi alíquotada em tubos tipo *Eppendorf* (*Eppendorf AG, HAM, GER*) devidamente identificados, e armazenados a -20° C até a extração do DNA.

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

Para a amplificação dos genes correspondentes aos alelos HLA *loci* A, B, C, DRB1 e DQB1 foi empregado o método de amplificação em cadeia de polimerase (PCR), por meio do *Kit* comercial *SeCore* (*Life Technologies*)<sup>11</sup>.

Para verificar se os produtos de PCR foram devidamente amplificados, cada amostra foi aplicada em gel de agarose 2,5%, sendo os fragmentos amplificados visualizados sob luz ultravioleta. A eficácia do procedimento técnico e dos reagentes utilizados foi avaliada em cada bateria de amplificação por um controle negativo com água ultrapura e um controle positivo com DNA de uma célula conhecida.

Para a caracterização/genotipagem dos alelos dos genes A, B, C, DRB1 e DQB1, foi empregado o método de sequenciamento de nucleotídeos, por meio do *Kit* comercial *SeCore* (*Life Technologies*)<sup>11</sup>. A purificação da amostra foi obtida por precipitação com etanol e tampão PPT<sup>11</sup>. Após esta etapa, a amostra foi submetida à eletroforese capilar no aparelho Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer, e analisada por meio de *software* específico.

## Resultados

Entre outubro de 2014 a outubro de 2015, foram tratados no Hospital de Câncer de Barretos 106 pacientes, sendo a maioria homens, com predomínio da raça branca (Tabela 1).

**Tabela 1.** Descrição clínica e epidemiológica dos pacientes na fase pré-transplante de medula óssea e doadores de medula óssea cadastrados no Hospital do câncer de Barretos (SP), 2016.

	Variável	Pacientes (n=106)		Doadores(n=98)	
		N	Proporção	N	Proporção
Sexo	Masculino	65	61,30	57	58,20
	Feminino	41	38,70	41	41,80
Etnia	Branca	70	66,00	75	76,50
	Parda	28	26,40	18	18,41
	Negros	7	6,60	4	4,10
	Amarela	1	1,00	1	1,00

A maioria dos pacientes procedia do estado de São Paulo (59,4%) e o restante era procedente de outros estados do Brasil como Minas Gerais (5,7%), Santa Catarina e Bahia (3,8% cada um); Mato Grosso do Sul, Amazonas e Sergipe (2,8% cada um); Ceará, Pernambuco e Paraná (1,9% cada um); e, Alagoas, Maranhão, Paraíba, Pará e Distrito Federal (1,0% cada um).

As doenças de base mais comuns, que levaram o paciente ao transplante, foram as leucemias agudas linfóide e mieloide (34 e 29,25% dos pacientes, respectivamente); a anemia aplástica idiopática ocupou o terceiro lugar (6,6%); a leucemia mieloide crônica e as síndromes mielodisplásicas corresponderam ao quarto grupo em frequência (2,8% dos pacientes, cada uma). Outras doenças de base foram linfoma de células B não especificado (2% dos pacientes); anemia aplástica não especificada, doença mieloproliferativa crônica, linfoma não-Hodgkin de grandes células – difuso (1,9% dos pacientes, cada uma); linfoma não-Hodgkin de pequenas células clivadas-difuso, outras esfingolipidoses, outros tipos especificados de linfoma não-Hodgkin, imunodeficiência combinada grave [SCID] com números baixos de células T e B (1,0% dos pacientes, cada uma); doença de Hodgkin, outras leucemias linfóides (C910), anemia aplástica constitucional, imunodeficiência comum

variável com predominância de transtornos imunorregulatórios, síndrome de Wiskott-Aldrich, leucemia monocítica aguda e anemia refratária sem sideroblastos (0,9% dos pacientes, cada uma).

Com relação aos dados epidemiológicos referentes aos 98 doadores de medula óssea cadastrados, entre outubro de 2014 a outubro de 2015, 57 pertenciam ao sexo masculino (58,2%) e 41 ao sexo feminino (41,8%) (Tabela 1). Os doadores de medula óssea eram procedentes principalmente de São Paulo (59,2%) e Paraná (15,3%). Uma menor proporção de pacientes procedia dos seguintes outros estados: Santa Catarina e Mato Grosso do Sul (5,2% dos pacientes, cada um); Ceará (4,1%); Amazonas, Rondônia, Rio Grande do Sul, Goiás e Mato Grosso (2% dos pacientes, cada um); Paraíba, Pará e Distrito Federal (1,0% dos pacientes, cada um).

A caracterização imunogenética dos pacientes na fase pré-transplante de medula óssea mostrou um total de 19 alelos do loci A, 24 do loci B, 14 do loci C, 5 do loci DQ e 13 do loci DR. No entanto os alelos mais frequentes foram: A\*01, A\* 02, A\*24, B\*35, B\*44, C\*07, DQB1\*03, DQB1\* 05, DQB1\*06 e DRB1\*13. (Tabela 3).

**Tabela 3.** Frequência de alelos HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DQ e HLA-DR em pacientes na fase pré-transplante de medula óssea, Hospital do câncer de Barretos (SP), 2016

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

A caracterização imunogenética dos doadores de medula óssea mostrou um total de 16 alelos do loci A, 25 do loci B, 13 do loci C, 5 do loci DQ e 12 do loci DR. No entanto os alelos mais

frequentes foram: A\*01, A\* 02, B\*35, B\*44, C\*07, DQB1\*03, DQB1\*06 e DRB1\*01 (Tabela 4).

**Tabela 4.** Frequência de alelos HLA A, HLA-B, HLA-C, HLA-DQ e HLA-DR entre doadores de medula óssea cadastrados no Hospital do câncer de Barretos (SP), 2016.

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

## Discussão

O presente estudo, de forma similar a outros trabalhos, contribui com a caracterização da distribuição do HLA na população brasileira<sup>7-12</sup>. Referente às doenças dos pacientes na fase pré-transplante de medula óssea, a literatura apresenta um estudo contendo 289 pacientes portadores de leucemia, onde 151 tinham leucemia mieloide crônica, 88 leucemia mieloide aguda, 47 leucemia linfoblástica aguda e dois pacientes com leucemia mielomonocítica crônica; diferente do que foi observado no presente estudo, no qual houve a predominância de pacientes com leucemia linfoblástica aguda, seguida pela leucemia mieloide aguda<sup>6</sup>.

A distribuição das frequências dos alelos HLA de classe I (HLA-A, B e C) e de classe II (HLA-DQB1 e DRB1) foram determinadas e comparadas entre pacientes e doadores. Assim como na literatura<sup>7</sup>, o alelo A\*02 foi o mais frequente no presente estudo, seguido pelos alelos A\*03, A\*24 e A\*01.

Os grupos de alelos B\*35 e B\*44 foram relatados como os mais frequentes, semelhante ao estudo realizado no Rio Grande do Sul<sup>6</sup>, porém difere do estudo realizado no Piauí<sup>8</sup>, que apresentou predomínio do alelo B\*52.

Uma elevada frequência do grupo de alelo C\*07 foi observada no presente estudo entre os doadores e pacientes pré-TMO autodeclarados brancos e também nos negros, fato que corrobora a literatura<sup>2</sup>.

No estudo realizado no Rio Grande do Sul<sup>7</sup>, os grupos de alelos mais frequentes foram os alelos DRB1\*11 e DRB1\*13, enquanto que para as amostras referentes ao presente estudo, os mais frequentes foram DRB1\*01, nos doadores e DRB1\*13, nos pacientes.

Em decorrência da colonização europeia, o último censo demográfico demonstrou que a distribuição racial no Rio Grande do Sul foi caracterizada por 81,4% de brancos e 5,0% de negros, sendo assim uma alta porcentagem de pessoas que se autodeclararam brancas, dado este que infelizmente não foi possível constatar no presente estudo devido a pequena quantidade de participantes (três pacientes e dois doadores de medula óssea) provenientes do Rio Grande do Sul<sup>7</sup>.

## Conclusão

Os grupos alélicos mais frequentes nos registros tanto de pacientes como dos doadores foram A\*02, A\*24, A\*03, A\*01, B\*35, B\*44, C\*07, DQB1\*01, DQB1\*03, DQB1\*06, já referente ao DRB1 nos doadores o mais frequente foi o alelo DRB1\*01, enquanto que nos pacientes o mais frequente foi o alelo DRB1\*13. É fundamental que, além de se conhecer as frequências HLA dos pacientes e doadores voluntários de medula óssea, é necessário que o número de amostras seja cada vez maior e de todas as regiões do país, para que haja uma maior chance de um paciente em fila de transplante de medula óssea encontrar um doador compatível.

## Referências

- Goldberg AC, Rizzo LV. Estrutura do MHC e função – apresentação de antígenos. Eistein [periódico na Internet] 2015 [acesso em 2016 Fev 4];13(1):153-6. DOI: 10.1590/S1679-45082015RB3122.
- Veiga-Castelli LC, Castelli EC, Mendes Jr CT, Silva Jr WA, Faucher MC, Beauchemin K, et al. Non-classical HLA-E gene variability in Brazilians: a nearly invariable locus surrounded by the most variable genes in the human genome. Tissue Antigens [periódico na Internet] 2012 [acesso em 2016 Fev 4];79(1):15-24. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2011.01801.x>.
- Castelli EC, Albuquerque RS, Veiga-Castelli LC, Felício LP, Beauchemin K, Faucher MC, et al. Identification of two new HLA-G alleles, G\*01:01:03:03 and G\*01:01:21, in Brazilian individuals. Tissue Antigens [periódico na Internet] 2012 [acesso em 2016 Fev 4];80(1):70-1. doi: 10.1111/j.1399-0039.2012.01869.x.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Imunologia celular e molecular. 8ª ed. São Paulo: Elsevier; 2015.
- Slavcev A. Prediction of organ transplant rejection by

HLA-specific and non-HLA antibodies - brief literature review. *Int J Immunogenet* [periódico na Internet] 2013 [acesso em 2016 Fev 4];40(2):83-7. doi: 10.1111/j.1744-313X.2012.01139.x.

6. Barion LA, Tsuneto LT, Testa GV, Lieber SR, Persoli LBL, Marques SBD, et al. Associação entre HLA e leucemia em uma população brasileira de etnia mista. *Rev Assoc Med Bras* [periódico na Internet] 2007 [acesso em 2016 Fev 4];53(3):252-6. p://dx.doi.org/10.1590/S0104-42302007000300024.

7. Bortolotto AS. Frequências de alelos e haplótipos hla -A,-B e -DRB1 em uma amostra de doadores voluntários de medula óssea do estado do Rio Grande do Sul. [dissertação de mestrado na Internet]. Porto Velho: Faculdade de Biociências. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2011 [acesso em 2016 Fev 4]. Disponível em: <http://repositorio.pucrs.br/dspace/bitstream/10923/1438/1/000431855-Texto%2bCompleto-0.pdf>.

8. Carvalho MG, Tsuneto LT, Moita Neto JM, Sousa LC, Vendas Filho HL, Macêdo MB, et al. HLA-A, HLA-B and HLA-DRB1 haplotype frequencies in Piauí's volunteer bone marrow donors enrolled at the Brazilian registry. *Hum Immunol* [periódico na Internet] 2013 [acesso em 2016 Fev 4];74(12):1598-1602. <http://dx.doi.org/10.1007/s12016-013-0283-3>.

9. Nunes K, Piovezan B, Torres MA, Pontes G, Kimura L, Carnavalli JE, et al. Population variation of HLA genes in rural communities in Brazil, the Quilombos from the Vale do Ribeira, São Paulo - Brazil. *Hum Immunol* [periódico na Internet] 2016 [acesso em 2016 Fev 4];77(6):447-8. doi: 10.1016/j.humimm.2016.04.007.

10. Mendes-Junior CT, Castelli EC, Meyer D, Simões AL, Donadi EA. Genetic diversity of the HLA-G coding region in Amerindian populations from the Brazilian Amazon: a possible role of natural selection. *Genes Immun* [periódico na Internet] 2013 [acesso em 2016 Fev 4];14(8):518-26. doi: 10.1038/gene.2013.47.

11. Estados Unidos. Invitrogen. Manual de sequenciamento. California: Invitrogen; 2013.

12. Bouzas LFS. REDOME-REREME e Brasil Cord. In: Junqueira PC, Hamerschlag N, Rosenblit J. Hemoterapia clínica. São Paulo: Roca; 2010. p. 409- 424.

Débora Greice Campagnuolo é biomédica formada na Universidade Paulista UNIP e responsável técnica no laboratório Hemac de Barretos. E-mail: [deboracampagnuolo@hotmail.com](mailto:deboracampagnuolo@hotmail.com)

Rafael Formento Cita é biomédico, mestre em Clínica Médica, coordenador do setor HLA no Hospital de Câncer de Barretos. E-mail: [rforcita@gmail.com](mailto:rforcita@gmail.com)

Tatiana Elias Colombo é biomédica, doutora em Microbiologia pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita e Filho", pós doutoranda pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto e professora da Universidade Paulista UNIP. E-mail: [taty\\_ec@hotmail.com](mailto:taty_ec@hotmail.com)