

**INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA**

Luis Fernando da Silva Bouzas

**Análise da capacidade do
REDOME/RENACORD em suprir as
necessidades dos pacientes
registrados no REREME**



**Rio de Janeiro, Brasil.
2011**

Luis Fernando da Silva Bouzas

Análise da capacidade do
REDOME/RENACORD em suprir as
necessidades dos pacientes
registrados no REREME

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-
Graduação em Oncologia do Instituto Nacional
de Câncer, para a obtenção do título de Doutor
em Oncologia.*

Orientadora: Dra. Eliana Abdelhay

Rio de Janeiro
Fevereiro, 2011

Folha de Aprovação

Luis Fernando da Silva Bouzas

Análise da capacidade do REDOME/RENACORD em suprir as necessidades dos pacientes registrados no REREME.

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação em Oncologia do Instituto Nacional de Câncer, para a obtenção do título de Doutor em Oncologia.

Rio de Janeiro, ____ de Fevereiro de 2011.

Orientadora –
Dra. Eliana Abdelhay, INCa

Revisor/Banca - Dr. _____, _____

Banca 1 - Dr. _____, _____

Banca 2 - Dr. _____, _____

Banca 3 - Dr. _____, _____

Suplente interno - Dr. _____, _____

Suplente externo - Dr. _____, _____

BOUZAS, Luis Fernando da Silva
Análise da capacidade do REDOME/RENACORD em suprir as
necessidades dos pacientes registrados no REREME./ Luis
Fernando da Silva Bouzas - Rio de Janeiro, 2011.

xiii. 78

Tese (Doutorado em Oncologia) – Programa de Pós-
graduação em Oncologia/INCA, 2011.

Orientador: Eliana Abdelhay

1. HLA. 2. frequências

I. ABDELHAY, Eliana.

II. Instituto Nacional do Câncer, Pós-Graduação em
Oncologia.

III. Análise da capacidade do REDOME/RENACORD em
suprir as necessidades dos pacientes registrados no REREME.

RESUMO

A prática clínica do transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) somente foi possível com a melhoria dos conhecimentos na área de imunologia e histocompatibilidade (HLA). Entre os fatores facilitadores está a obtenção de um doador HLA compatível que idealmente é um irmão, mas na maioria das vezes (70%) é um doador não aparentado. As alternativas viáveis para populações como a brasileira, com grande miscigenação, foram a expansão do Registro Brasileiro de Doadores de Medula Óssea – REDOME e da Rede de Bancos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário (SCUP) - BRASILCORD. O presente estudo teve por objetivo avaliar as frequências dos alelos e haplótipos de HLA identificados no REDOME, no Registro de Receptores – REREME e nas unidades de SCUP armazenadas no BRASILCORD e registradas no Registro Nacional de Sangue de Cordão - RENACORD. Trata-se de uma amostragem significativa da população brasileira, com cadastros oriundos de todas as regiões do país. As frequências de grupos alélicos HLA foram obtidas dos três bancos de dados e através do teste estatístico do qui-quadrado foram realizadas comparações das frequências observadas entre os registros. Para determinação das frequências dos haplótipos utilizou-se o programa Arlequin 3.01. A constituição genética da população brasileira de doadores de medula óssea, calculada em janeiro de 2009 (887.616 doadores) foi composta de 21 grupos alélicos HLA-A*, 36 grupos alélicos HLA-B* e 13 grupos alélicos HLA-DRB1*. Esta constituição foi a mesma encontrada nos registros do REREME e RENACORD. A identificação de haplótipos presentes no cadastro do REREME e ausentes ou pouco frequentes no REDOME e no RENACORD assim como a análise da origem destes haplótipos mostrou a presença de haplótipos nunca descritos em outras populações. A análise dos alelos que compõem estes haplótipos mostra uma miscigenação entre grupos antropológicos distintos como asiáticos, negróides, indígenas e caucasianos. Os dados obtidos neste estudo contribuem para o estabelecimento dos critérios necessários para o planejamento estratégico de expansão do BRASILCORD e do próprio REDOME. Além desta contribuição, em função do número de indivíduos incluídos nos cadastros dos registros, trata-se da maior e mais diversificada fonte de informação sobre a constituição genética da população brasileira.

ABSTRACT

Stem cell transplantation clinical practice was only possible with knowledge improvement in Immunology and Histocompatibility (HLA). Whereas transplants between HLA identical siblings ideally produce the best outcomes, the majority (70%) does not have one family donor and will depend on an unrelated donor. Possible alternatives for mixed populations as the Brazilian, include the expansion of the Volunteer Marrow Donor Brazilian Registry - REDOME and the Cord Blood Bank Network – BRASILCORD. The aim of the present study was to evaluate the HLA alleles and haplotypes frequencies in REDOME, REREME – Brazilian Receptor Registry and Brazilian Cord Blood Registry - RENACORD. This database can be considered a representative sample of the Brazilian population originated from all regions of the country. HLA alleles groups frequencies were obtained from the three Registries and were compared using chi square test. To determine haplotype frequencies, Arlequin 3.01 software was used. In this study we included, from 2004 till January 2009, 887616 donors and 21 HLA-A*, 36 HLA-B* and 13 HLA-DRB1* alleles groups were identified. Haplotypes existing in REREME database but absent or less frequent in REDOME and in RENACORD, as well as the analysis of haplotypes origins, revealed haplotypes identification never described before in other populations. The allele analysis of the haplotypes showed miscegenation among different anthropological groups such as Asians, Blacks, Indians and Caucasians. Data obtained in this study contributed to establish the necessary criteria for a strategic plan to expand BRASILCORD and REDOME as well. Moreover, considering the huge number of individuals evaluated, this study is one of the biggest and the most diverse source of information about the genetic profile of the Brazilian population.

*Aos Meus pais Manolo e Irene
que me deram a vida e o caminho.*

*Andréa, Guilherme e Julia pela compreensão,
carinho e amor irrestrito,
de todas as horas.*

AGRADECIMENTOS

À **Prof. Dra. Eliana S. F. Abdelhay**, Chefe da Divisão de Laboratórios do CEMO-INCA e orientadora deste estudo, pelos ensinamentos, pelo apoio constante e pela amizade no trato diário.

Aos **colaboradores Leandro T. Guimarães e Sheila Prado**, pelo suporte na obtenção dos dados e na análise estatística.

À **colaboradora Amanda Moraes Maia**, pelo trabalho incansável e comprometimento no Laboratório do CEMO-INCA além da amizade e auxílio na formatação final desta tese.

Ao **Prof. Pedro Cabello**, pelos ensinamentos e orientações, quando da análise estatística das amostras populacionais.

À **Equipe do REDOME e REREME**, pelo excelente e dedicado trabalho que realizam em prol deste bem sucedido Programa público nacional.

Às **Equipes dos Hemocentros, Bancos da Rede BrasilCord e Laboratórios de Imunogenética**, cujo trabalho incansável contribuiu para o desenvolvimento destes programas e para os quais este estudo será de grande utilidade.

À minha **Secretária Executiva Tânia Pimenta e ao Dr. Flávio P. Braga**, pela parceria, amizade, fidelidade e dedicação em todos os momentos.

Aos **Drs. Décio Lerner, Rita de Cássia Tavares, Maria Claudia Moreira e Márcia Matos**, pela dedicação ao CEMO, pela parceria e amizade que sempre me dedicaram.

Aos **Drs. José Roberto Moraes (In memoriam) e Maria Elisa Moraes**, pelo idealismo na criação do REDOME e inspiração para a sua continuidade.

Ao **ex-Ministro da Saúde Prof. Dr. José Gomes Temporão** pelo grande incentivo dado à causa do REDOME e do BrasilCord, em sua gestão.

À **Direção Geral do INCA**, pelo incentivo, pela confiança depositada e suporte no desenvolvimento das ações dos Registros e do CEMO.

À **equipe da Fundação do Câncer**, pelo constante trabalho de desenvolvimento dos processos e infra-estrutura dos Registros e pela implantação da Rede BrasilCord.

Aos **Prof. Dr. Ayrton Pires Brandão e Prof. Maria Lúcia A. Brandão**, pelo exemplo de profissionalismo, pelo incentivo constante ao meu desenvolvimento acadêmico e pelo carinho no trato diário.

À **Prof. Dra. Andréa Araújo Brandão**, minha esposa e companheira de todas as horas, grande incentivadora da atividade acadêmica e cujas observações contribuíram para este estudo.

Aos **Pacientes e doadores**, pela lição de vida e de solidariedade que deveria ser assimilada por todos para um mundo cada vez melhor.

LISTA DE FIGURAS

	pg
Figura 1: Principais etapas de desenvolvimento do transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) no mundo. Adaptado de Appelbaum F. Hematopoietic-cell transplantation at 50. N Eng J M 2007;357:1472-5.	01
Figura 2: Estrutura das Proteínas do MHC. As moléculas MHC são ancoradas na membrana celular e podem se ligar a receptores de células imunológicas. As moléculas de MHC classe I se ligam a receptores de célula T (TCR) CD8 ⁺ ; as de MHC classe II se ligam a receptores de célula T (TCR) CD4 ⁺ . (adaptado de http://en.wikipedia.org/wiki/Major_histocompatibility_complex em 25/01/2011).	05
Figura 3: Estrutura detalhada das moléculas de MHC classe I (a) e II (b), quanto à composição das cadeias. (adaptado de http://en.wikipedia.org/wiki/Major_histocompatibility_complex em 25/01/2011).	06
Figura 4: Esquema representativo da disposição dos genes para os MHC Classe I e Classe II em humanos e camundongos (adaptado de http://www.ufpe.br/biolmol/Aula-Imunogenetica/aula-imuno-05.htm em 25/01/2011).	07
Figura 5: Nomenclatura atual do HLA. Cada alelo de HLA tem um número único, correspondendo a até 4 campos de dígitos separados por (:). O tamanho da designação do alelo é dependente da sequência do alelo e genes próximos. Todos os alelos recebem pelo menos um nome de 4 dígitos, que correspondem aos campos 1 e 2; os campos 3 e 4 só são designados quando necessário. (adaptado de http://hla.alleles.org/announcement.html em 25/01/2011).	15
Figura 6 - Crescimento do cadastro de doadores no REDOME - dados de 1993 a novembro de 2010.	28
Figura 7 - Distribuição de doadores do REDOME por região - dados até novembro de 2010.	28
Figura 8 – Pacientes inscritos no REREME por período desde o desenvolvimento do REDOME	30
Figura 9 – Origem geográfica dos pacientes inscritos no REREME	31
Figura 10 – Probabilidade de encontrar um doador compatível HLA 6x6 em baixa resolução no REDOME	31
Figura 11 – Probabilidade de encontrar um doador compatível de acordo com o tamanho do Registro e diversidade étnica.	33

LISTA DE TABELAS	pg
Tabela 1 - Propriedades das moléculas do MHC de classe I e II.	06
Tabela 2 – Nomenclatura do HLA segundo a classificação de 2002.	14
Tabela 3 - Distribuição de doadores do REDOME por Estado - dados até novembro de 2010.	29
Tabela 4 - Distribuição por sexo (*) e idade - dados até novembro de 2010	30
Tabela 5 - Frequência (por 100) dos Alelos de HLA encontrados no banco de dados do REREME.	34
Tabela 6 - Frequência (por 100) dos Alelos de HLA encontrados no banco de dados do RENACORD.	35
Tabela 7 - Frequência (por 100) dos Alelos de HLA encontrados no banco de dados do REDOME.	36
Tabela 8 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-A* encontrados nos bancos de dados do REDOME e do REREME.	37
Tabela 9 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-B* encontrados nos bancos de dados do REDOME e REREME.	38
Tabela 10 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA –DRB1* encontrados nos bancos de dados do REDOME e REREME.	39
Tabela 11 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-A* encontrados nos bancos de dados do RENACORD e REREME.	40
Tabela 12 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-B* encontrados nos bancos de dados do RENACORD e REREME.	41
Tabela 13 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-DRB1* encontrados nos bancos de dados do RENACORD e REREME.	42
Tabela 14 – Alelos mais frequentes encontrados no REDOME, REREME E RENACORD.	43
Tabela 15 – Alelos menos frequentes encontrados no REDOME, REREME E RENACORD.	43
Tabela 16 - Haplótipos que foram identificados no REDOME com frequências superiores a 0,001 (n=208) em comparação com o REREME.	45- 49
Tabela 17 - Haplótipos identificados no RENACORD (n=231) com frequência superior a 0,001 em comparação com o REREME.	49- 54
Tabela 18 - Haplótipos com frequência superior a 0,005 no REDOME em comparação com o REREME (n=19).	54
Tabela 19 - Haplótipos com frequência superior a 0,005 no RENACORD (n=21) em comparação com o REREME.	55
Tabela 20 - Haplótipos existentes no banco de dados do REREME e inexistentes no cadastro do REDOME (n = 48 de 123).	56
Tabela 21 – Haplótipos raros encontrados em mais de um paciente no REREME.	57
Tabela 22 – Origem geográfica dos alelos raros identificados em mais de um paciente cadastrado no REREME.	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASHI – *American Society of Histocompatibility* - Sociedade Americana de Histocompatibilidade
APC - células apresentadoras de antígenos
BNDES – Banco Nacional de Desenvolvimento Social
BRAASILCORD – Rede Brasileira de Bancos de Sangue de Cordão Umbilical
BSCUP – banco de sangue do cordão umbilical e placentário
BMDW – *Bone Marrow Donor Worldwide* – Doadores de Medula Óssea pelo mundo
DNA – ácido desoxirribonucleico
CTH - células-tronco hematopoéticas
DECH - doença do enxerto-contra-hospedeiro
EM - *Expectation Maximization* – algoritmo de estudos estatísticos
HCUFPR – Hospital Universitário da Universidade Federal do Paraná
HLA – *human leukocyte antigen* - antígeno de histocompatibilidade humana
HWE - equilíbrio de Hardy-Weinberg
INCA - Instituto Nacional de Câncer
Kb – kilobases (1000 bases)
LA - *leukocyte antigen* – antígeno leucocitário
mHA - antígenos menores de histocompatibilidade
MHC - Complexo Maior de Histocompatibilidade
MiAgs - antígenos secundários de histocompatibilidade
MS – Ministério da Saúde
NMDP – *National Marrow Donor Program* – Programa nacional de doadores de medula americano
OMS - Organização Mundial da Saúde
PCR - reação de cadeia da polimerase
REDOME – Registro de Doadores de Medula Óssea
RENACORD – Registro Nacional de Sangue de Cordão Umbilical
REREME – Registro de Receptores de Medula Óssea
RMR – registro de pacientes do REREME
SBT - *Sequence based Typing* - tipificação baseada em seqüenciamento
SCUP - sangue do cordão umbilical e placentário
SSOP - *sequence-specific oligonucleotide probe* – sonda de oligonucleotídeo sequência-específica
SSP - *sequence-specific primer* - iniciador de oligonucleotídeo sequência-específica
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TCTH – transplante de células-tronco hematopoéticas
TCR - receptores de célula T
TMO - transplante de medula óssea
WMDA – *World Marrow Donor Association* – Associação Mundial de Doadores de Medula Óssea

ÍNDICE

	pg
I. INTRODUÇÃO	01
I.1. Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC)	03
I.2. Estrutura das Proteínas do MHC	04
I.3. Genética dos Loci do MHC Humano	06
I.3.1. Polimorfismo genético do MHC	08
I.3.2. Desequilíbrio de Ligação	09
I.4. O Sistema HLA e Histocompatibilidade	09
I.4.1. Tipificação HLA	09
I.4.1.A Método Sorológico	10
I.4.1.B Tipificação Celular	10
I.4.1.C Métodos de Tipificação por DNA	11
I.5. Identificação de doadores voluntários não-aparentados para TCTH	15
I.6. Os registros brasileiros de doadores voluntários para os TCTH – uma Política de Saúde	17
I.6.1. O REDOME – Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea	17
I.6.2. O BRASILCORD – Rede Brasileira de Bancos de Sangue de Cordão Umbilical	19
I.6.3. O REREME – Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea	21
I.7. Planejamento estratégico dos registros	22
II. OBJETIVOS	24
III. METODOLOGIA	25
III.1. Amostras	25
III.2. Tipificação HLA	25
III.3. Análise estatística	26
III.3.1. Cálculo das Frequências	26
III.3.2. Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE)	27
III.4. Investigação da origem geográfica dos alelos e haplótipos	27
IV. RESULTADOS	28
IV.1. Avaliação do crescimento dos registros desde sua criação, das características dos doadores e da capacidade atual de suprir as necessidades dos pacientes registrados no REREME.	28
IV.2. Análise das Frequências de Alelos de HLA nos três Bancos de dados	33
IV.3. Análise das frequências de haplótipos HLA no REDOME, REREME E RENACORD.	44
IV.4. Identificação de haplótipos presentes somente no REREME.	55
IV.5. Avaliação da origem geográfica dos haplótipos só encontrados no REREME.	58
V. DISCUSSÃO	60
VI. CONCLUSÕES	70
VII. REFERÊNCIAS	72
VIII. ANEXO I	78

I. INTRODUÇÃO

A toxicidade à medula óssea é uma séria limitação do tratamento do câncer em geral. O transplante de medula óssea (TMO) ou de células-tronco hematopoéticas (TCTH) permite a administração de doses elevadas e potencialmente curativas de drogas quimioterápicas associadas ou não a radioterapia. Sob estas circunstâncias a terapêutica estaria limitada principalmente pela toxicidade não-hematopoética¹⁻⁴.

Há cerca de sessenta anos, pesquisadores demonstraram a capacidade da medula óssea em proteger animais previamente irradiados com doses letais através da reconstituição do sistema hematopoético¹⁻³.

As principais etapas do desenvolvimento do transplante de células tronco hematopoéticas no mundo estão representadas esquematicamente na figura 1, mostrando as conquistas científicas e tecnológicas que permitiram avanços nos resultados e na aplicação dos transplantes.

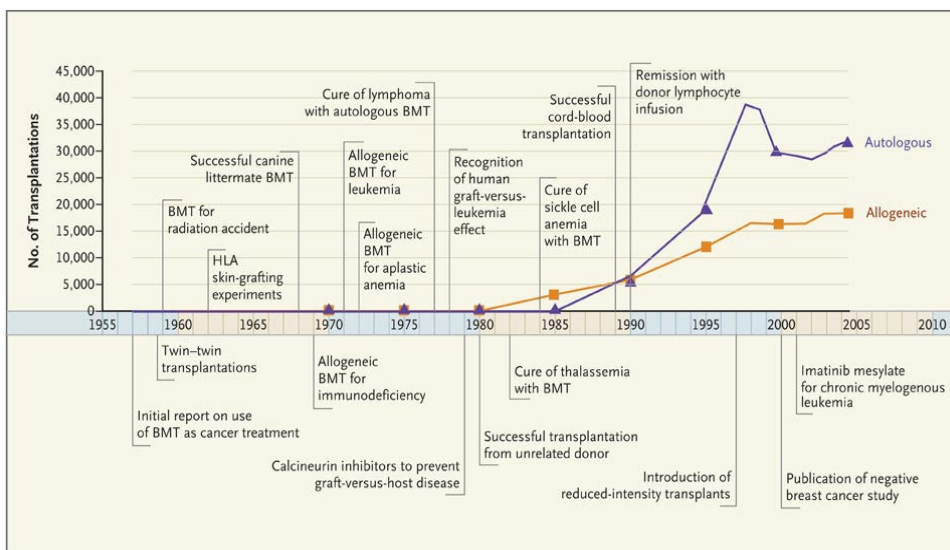


Figura 1: Principais etapas de desenvolvimento do transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) no mundo. Adaptado de Appelbaum F. Hematopoietic-cell transplantation at 50. N Eng J M 2007;357:1472-5.

A evolução da prática clínica do TCTH somente foi possível no final da década de 60, após inúmeros insucessos, com os conhecimentos adquiridos nas

áreas de imunologia e histocompatibilidade (HLA - sistema de antígenos leucocitários humanos)^{1,4,5}.

Nesta época, um pequeno número de crianças portadoras de imunodeficiência grave e com leucemia avançada, recebeu infusões de medula óssea de doadores familiares HLA idênticos^{1,4} e surgiram os primeiros resultados bem sucedidos que impulsionaram o método.

Inicialmente, o TCTH foi usado como derradeira e desesperada medida em pacientes que não respondiam ao tratamento convencional existente, porém os avanços nos cuidados de suporte e a compreensão ampla do procedimento estabelecendo suas principais indicações, bem como as limitações e complicações, tornaram este procedimento uma estratégia terapêutica cada vez mais utilizada para diversas enfermidades. Dentre as principais limitações podemos destacar a escolha do doador que preferencialmente, além de estar saudável deve ser compatível com o receptor^{1,2,3,4,5,7}.

São tipos de doador de medula óssea:

- singênico (irmão gêmeo)
- alogênico
 - relacionado ou aparentado (irmão ou familiar)
 - não-relacionado ou não aparentado (não familiar)ex.: Registro de doadores de medula óssea
- autólogo ou autogênico (medula óssea originária do próprio paciente com ou sem tratamento *in vitro*)

As fontes de células-tronco hematopoéticas, com padrão de compatibilidade ideal (ex.irmãos gêmeos - singênicos) são raras e nem sempre podem ser utilizadas. A maioria dos transplantes alogênicos realizados têm como doador, os membros da família geneticamente idênticos para o HLA. Em geral, são irmãos HLA A, B, DR idênticos com o receptor. A probabilidade de um indivíduo obter um irmão compatível é de 25% sendo influenciada pelo número de irmãos existentes em cada família. Para outros membros da família, a probabilidade é inferior a 5%^{1,2,3,4,5,7}.

As complicações relacionadas ao TCTH aumentam na proporção da disparidade de compatibilidade incluindo o risco de rejeição, desenvolvimento tardio ou incompleto do enxerto e doença do enxerto-contra-hospedeiro (DECH)².

I.1. Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC)

A importância do MHC foi primeiramente observada em camundongos, em estudos de rejeição de tecidos entre diferentes membros da mesma espécie e, 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 T¹⁴. 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 destas espécies. Foi inicialmente identificado na década de 50 seguindo observações de que soro de pacientes apresentando reações febris pós-transfusionais poderiam causar a aglutinação de leucócitos oriundos de seus doadores bem como de outros indivíduos. Estudos subsequentes também demonstraram que anticorpos contra proteínas leucocitárias (glicoproteínas) de outros indivíduos da população, poderiam estar presentes em soro de mulheres múltiparas^{1,11,14,17}.

O MHC de organismos distintos recebe denominação específica para cada espécie. O MHC humano, localizado no braço curto do cromossomo 6, é conhecido como o sistema de antígenos leucocitários humanos (HLA). O termo HLA foi derivado da combinação *the human-1* (HU-1) e *leukocyte antigen* (LA) designações usadas por Dausset e Payne, para descrever o novo sistema de antígenos leucocitários descoberto²¹. Até hoje, o termo HLA é usado como sinônimo de proteínas do MHC humano. Desde 1964, uma série de 13 reuniões colaborativas internacionais ampliou os conhecimentos do sistema HLA e contribuiu para a padronização dos métodos de tipificação bem como da nomenclatura^{11,14,20,21,22,23,24}.

Durante a resposta imune, células do sistema imune interagem através do reconhecimento de moléculas da superfície celular codificadas por genes do MHC humano. As células T reconhecem antígenos estranhos presentes como fragmentos de peptídeos em associação com moléculas MHC. Para que ocorra o reconhecimento de um antígeno, este deve ser processado por células apresentadoras de antígenos (APC), ligados às moléculas do próprio MHC, e transportadas para a superfície celular. Muitos antígenos (peptídeos) diferentes

podem ser processados e apresentados às células T, incluindo aqueles derivados de bactérias, vírus, toxinas, tecidos e células de outros organismos, bem como oriundos de produtos celulares e tissulares autólogos. A definição das características da ligação da molécula de HLA e os peptídeos fornecem importante subsídio para o papel do sistema HLA na apresentação de antígenos, resposta imune e susceptibilidade a doenças. O papel do MHC na apresentação de antígenos, por sua vez, explica o extenso polimorfismo do mesmo a nível populacional, ou seja, quanto maior o polimorfismo do MHC, maior será a gama de peptídeos estranhos que serão apresentados ao sistema imune. Desta forma, os genes MHC podem influenciar a resposta imune mediada por células T pela seleção de antígenos que podem ser ligados e apresentados para o seu reconhecimento ^{4,11,14}.

As moléculas MHC têm um efeito importante nos transplantes de órgãos, tecidos e células, devido ao papel fundamental que exercem sobre a ativação de células T e iniciação da resposta alogênica.

Com o advento de métodos de tipificação por DNA, tornou-se possível definir cada classe de molécula HLA pela identificação de sua seqüência específica. A diversidade significativa entre os genes do sistema HLA ultrapassou as expectativas. Portanto a análise do polimorfismo do HLA é claramente importante para o entendimento de como os antígenos de histocompatibilidade funcionam como determinantes nos transplantes ^{11,14,20,21,23}.

I.2. Estrutura das Proteínas do MHC

Existem dois tipos de moléculas do MHC:

- MHC de Classe I - presentes em todas as células nucleadas, ligam-se aos peptídeos para os apresentarem aos linfócitos T CD8⁺ (figura 2a).
- MHC de Classe II – presentes em Linfócitos B, macrófagos e células dendríticas (APCs), ligam-se aos peptídeos para os apresentarem aos linfócitos T CD4⁺ (figura 2b).

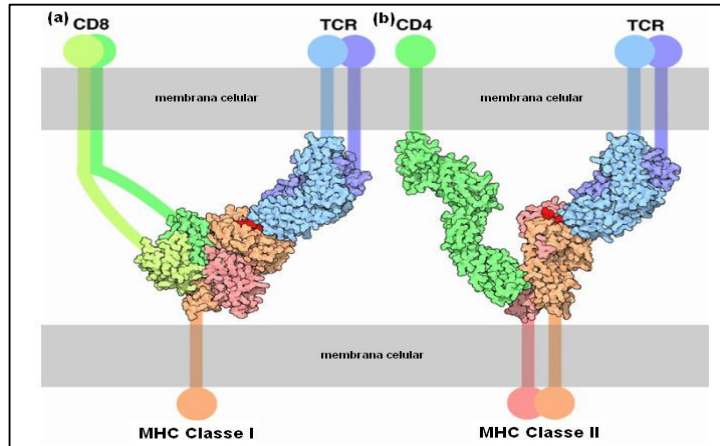


Figura 2: As moléculas MHC são ancoradas na membrana celular e podem se ligar a receptores de células imunológicas. A moléculas de MHC classe I se ligam a receptores de célula T (TCR) CD8⁺; as de MHC classe II se ligam a receptores de célula T (TCR) CD4⁺. (adaptado de http://en.wikipedia.org/wiki/Major_histocompatibility_complex em 25/01/2011).

A molécula de Classe I do MHC apresenta três cadeias α_1 , α_2 e α_3 e é expressa na superfície de uma célula em associação com a cadeia β_2 microglobulina que é codificada por genes localizados fora do complexo HLA. Assim essa molécula apresenta quatro domínios, sendo que α_3 e β_2m se justapõem à membrana, e α_1 e α_2 formam uma fenda que constitui o local de ligação do peptídeo. Essa abertura composta por 8 a 9 aminoácidos é fechada em ambas terminações (figura 3a).

Cada molécula de MHC pode se ligar a vários peptídeos diferentes, mas apenas um por vez. Toda molécula de MHC, tanto Classe I como Classe II apresenta uma região não polimórfica ou não variante (semelhante a todas as formas alélicas de Classe I e II) e uma região variável ou polimórfica que apresenta uma seqüência única àquele alelo. A molécula CD8 expressa na membrana do linfócito T liga-se à região não variante de todas as moléculas de Classe I do MHC do mesmo modo que a molécula CD4 liga-se à essa região nas moléculas de Classe II^{11,14}.

A molécula de Classe II do MHC apresenta duas cadeias (α e β) formando 4 domínios; α_1 , α_2 , β_1 e β_2 . A fenda de ligação ao peptídeo é formada por interações entre os domínios α_1 e β_1 , com o TCR (figura 3b)¹¹.

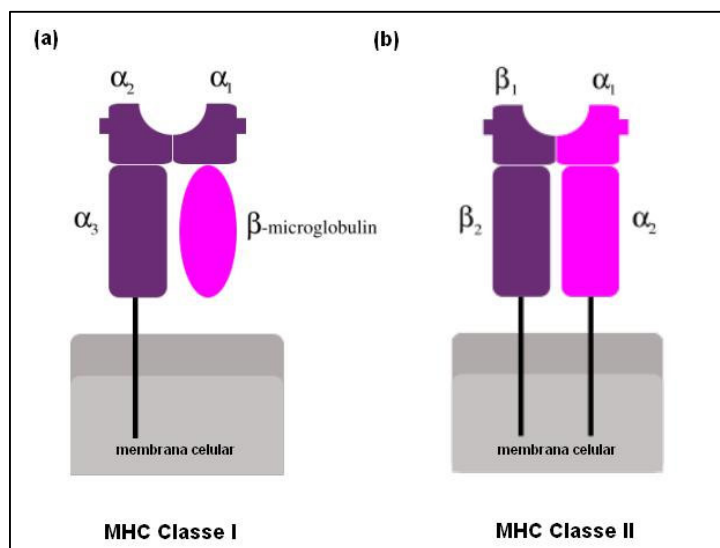


Figura 3: Estrutura detalhada das moléculas de MHC classe I (a) e II (b), quanto a composição das cadeias. (adaptado de http://en.wikipedia.org/wiki/Major_histocompatibility_complex em 25/01/2011).

Tabela 1. Propriedades das moléculas do MHC de classe I e II.

	CLASSE I	CLASSE II
Locus genético	Humanos: HLA-A, -B, -C	Humanos: DP, DQ, DR ...
Estrutura da cadeia	Cadeia α + β2 microglobulina	Cadeia α + cadeia β
Distribuição celular	Maioria das células nucleadas	Células apresentadoras de antígeno (macrófago, células dendríticas entre outras)
Envolvidas em apresentar antígeno	Células T citotóxica	Células T helper
Fontes de fragmentos peptídicos	Proteínas produzidas no citosol	Membrana plasmática endocitada e proteínas extracelulares
Domínios polimórficos	α1 + α2	α1 + β1

Adaptado de Mackay e Rosen, 2000.

I.3. Genética dos *Loci* do MHC Humano

Os antígenos HLA são codificados por uma série de genes estritamente ligados e localizados na região p21.3 do braço curto do cromossomo 6. Este complexo gênico ocupa aproximadamente 4000 kb de DNA, equivalente a 0,1% do genoma humano e os genes são distribuídos em três regiões distintas denominadas Classe I, II e III. Os três *loci* α da Classe I (HLA-A,-B e -C) estão juntos em um lado dessa região, enquanto os três da classe II (HLA-DR,-DQ, -DP cada um com seus

genes α e β) ocupam o outro lado (figura 4). A combinação particular de alelos encontrados nesses 6 *loci*, em qualquer um dos cromossomos do par, é herdada em conjunto e é denominada de *Haplótipo*. A combinação de dois haplótipos parentais herdados por um indivíduo compreende o *genótipo* HLA deste indivíduo. Em função do polimorfismo extenso a maioria dos indivíduos é heterozigoto em cada *locus* HLA^{11,14,16,21,23,24}.

Os genes do MHC são expressos de forma co-dominante, ou seja, cada célula expressa as proteínas que são traduzidas a partir das mensagens contidas nos cromossomos maternos e paternos. Os seis alelos de Classe I são expressos juntos na superfície de cada célula nucleada. Entretanto, o HLA-C é geralmente expresso num nível mais baixo do que o HLA-A e HLA –B. Os *loci* da classe II também são expressos de forma co-dominante, porém são apenas ativos no subgrupo de células que expressam a classe II bem como a classe I. O HLA-DR tende a ser expresso em níveis mais altos do que o HLA-DP ou HLA-DQ^{11,16}.

O polimorfismo proporcionado pelos genes HLA, associado com a sua tendência de estarem fortemente ligados uns aos outros, tem implicação importante na identificação de histocompatibilidade entre doador e receptor em TCTH^{11,15,16,18}.

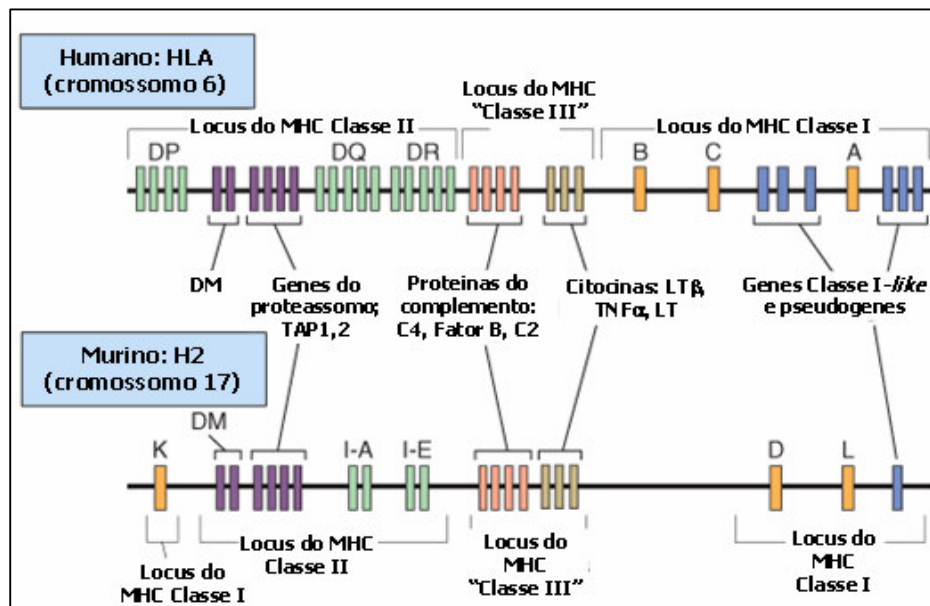


Figura 4: Esquema representativo da disposição dos genes para os MHC Classe I e Classe II em humanos e camundongos (adaptado de <http://www.ufpe.br/biolmol/Aula-Imunogenetica/aula-imuno-05.htm> em 25/01/2011).

I.3.1. Polimorfismo genético do MHC

O polimorfismo genético é a variabilidade em um *locus* gênico, isto é, existem muitas versões alternativas de cada gene que codificam proteínas ligeiramente distintas¹¹.

O MHC é o sistema genético mais polimórfico no organismo, por conseguinte, na população. Este polimorfismo extenso de genes MHC torna pouco provável que dois indivíduos escolhidos aleatoriamente expressem grupos de moléculas MHC idênticas. Este polimorfismo é a base para a rejeição rápida de enxerto entre indivíduos geneticamente diferentes¹⁴.

Mais de 2800 variantes alélicas já foram identificadas até o momento nestes múltiplos *loci* MHC humanos (HLAs), incluindo cerca de 2187 de classe I e acima de 800 de classe II^{16,19-23}. Dentre os *loci* HLA Classe I, o HLA-B é o mais polimórfico com 1109 alelos. Os *loci* HLA-A e HLA-C apresentam 697 e 381 alelos, respectivamente. O *locus* HLA classe II que tem maior variabilidade é o DRB1, com 690 alelos, enquanto HLA-DQA1 tem 34 e DQB1 95 alelos já identificados (<http://www.anthonynolan.org.uk/research/hlainformatics-group/> em 2007).

Esta variabilidade alélica, que cresce continuamente pela descoberta de novos alelos, resulta na codificação de proteínas que diferem umas das outras em um ou mais resíduos de aminoácidos²⁵. Segundo o banco de dados www.hla.alleles.org, até 25/01/2011 já foram cadastrados 6189 alelos.

Os antígenos HLA mostram ainda variações características de um grupo racial para outro. As frequências de alelos HLA individuais variam fortemente dentro de uma população e entre populações distintas. Por exemplo, o alelo que codifica HLA-B8 é muito comum em populações caucasianas (frequência gênica de 7,7 – 16,3%), mas muito pouco frequente em populações asiáticas (frequência gênica de 0,0 – 0,2%). Por outro lado, o alelo que codifica HLA-B46 é comum em populações asiáticas (frequência genética de 4,7 – 12,5%), mas virtualmente ausente em caucasianos. Esta diversidade mais uma vez reforça a necessidade do conhecimento das frequências de alelos e haplótipos em populações específicas^{5,8,9,11,12,14}.

I.3.2. Desequilíbrio de Ligação

O fato de certas combinações de alelos (haplótipos) serem encontradas com uma frequência significativamente diferente da esperada, a qual corresponde ao produto da frequência gênica dos alelos na população, deve-se ao fenômeno do *desequilíbrio de ligação*. Ele é definido como a diferença (Δ) entre a frequência observada de uma determinada combinação de alelos em *loci* ligados e a frequência esperada, podendo ser positivo ou negativo conforme a frequência observada seja maior ou menor que a esperada, respectivamente.

Certos alelos de HLA são encontrados associados com outros mais frequentemente que o esperado isoladamente. Em contrapartida, outros alelos são raramente ou nunca encontrados associados a outros. O *desequilíbrio de ligação* é, portanto, uma associação não *randomizada* de alelos HLA. As bases exatas para explicar este fenômeno são desconhecidas. Por exemplo, uma determinada população apresenta a frequência gênica de 0,14 (14%) para o HLA-A1 e 0,09 (9%) para o HLA-B8, então se espera que HLA-A1 e HLA-B8 estejam presentes, no mesmo haplótipo, com uma frequência de 0,0126 (1,26% ou $0,14 \times 0,09$). Entretanto a frequência é de 0,08 (8%), observada nesta população, muito mais elevada do que a esperada, caracterizando um *desequilíbrio de ligação* positivo²⁵.

As explicações possíveis incluem mutações, migrações, miscigenação racial e seleção positiva. Uma hipótese mais remota propõe que alguma vantagem evolutiva é derivada da associação de certos alelos de HLA e que esta vantagem seria suficiente como justificativa para que os mecanismos habituais randômicos e de recombinação genética não ocorram. Os pacientes que possuem haplótipos com alelos com ligações mais fracas terão mais dificuldades para encontrar doadores¹¹.

I.4. O Sistema HLA e Histocompatibilidade

I.4.1. Tipificação HLA

Nos último trinta anos ocorreram avanços significativos nos métodos de laboratório usados para definir a tipificação de genes e alo-antígenos HLA. A evolução tecnológica culminou na disseminação do uso de técnicas de tipificação baseadas no DNA para a definição dos alelos HLA^{11,14}.

I.4.1.A Método Sorológico

Historicamente, antígenos HLA Classe I foram definidos por métodos sorológicos utilizando um ensaio de microcitotoxicidade dependente de complemento e painéis de anti-soros alogênicos contendo anticorpos anti-HLA. Estes anti-soros foram altamente selecionados por especificidade HLA e foram geralmente obtidos de gestantes imunizadas a antígenos HLA durante a gravidez. O conjunto de anti-soros utilizados deve ser capaz de reconhecer todas as especificidades sorológicas oficialmente reconhecidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS). A tipificação HLA demonstrou que alo-antígenos HLA expressam múltiplas especificidades ou *epítotos*. Os epítotos comuns a mais de um antígeno são denominados *públicos* enquanto que os que são específicos de um único antígeno, *particulares ou privativos*. As especificidades particulares são também denominadas *splits*. Em geral detectam-se duas especificidades para cada loco analisado, devido à frequência de indivíduos heterozigotos, por exemplo: HLA-A68, A3, B7 e B44. Se o indivíduo for homozigoto para um determinado *locus* será identificada apenas uma especificidade para o *locus* em questão, por exemplo: HLA-A68, B7 e B44. A falta de identificação de uma segunda especificidade em um *locus* (*Ax ou blank*) pode ser devida à falta de expressão do antígeno (alelo nulo) ou à sua baixa expressão, ou a inexistência de anticorpos, no painel, capazes de caracterizar uma determinada especificidade. A homozigose é comprovada somente pelo estudo da família, que permite a determinação do genótipo do indivíduo, por exemplo, HLA-A3, -B7 (haplótipo paterno) e HLA-A3, -B44 (haplótipo materno)²⁵.

Um número cada vez maior de alelos de Classe I e II tem sido definido por métodos de tipificação por DNA e não por sorologia que identifica várias especificidades sorológicas (antígenos), mas não discrimina todo o polimorfismo das proteínas HLA. A fim de criar uma transição na nomenclatura da sorologia para os métodos baseados em DNA, uma designação “equivalente sorológica” foi estabelecida^{11,23}.

I.4.1.B Tipificação Celular

Um segundo método de tipificação HLA envolve o teste de células T *in vitro* para sua habilidade em reconhecer certos antígenos HLA. O ensaio celular

mais utilizado é a reação CML ou cultura mista de linfócitos, no qual disparidades para antígenos Classe II da região HLA-D induzem ativação e proliferação de linfócitos. As células que proliferam neste ensaio são do tipo T_h e a medida quantitativa correlaciona-se com o grau de incompatibilidade²¹.

Outro método baseado em atividade celular é a chamada linfólise mediada por células que correlaciona a resposta a antígenos de classe I de células citotóxicas CD8⁺.

O método denominado *crossmatch* ou Prova cruzada de Linfócitos, realizado por citotoxicidade dependente de complemento (método clássico) ou por citometria de fluxo, investiga a presença de anticorpos pré-formados no receptor que tenham especificidade para antígenos expressos nas células do doador. Este método complementar, deve ser analisado com cautela em função da variedade de antígenos expressos na membrana dos linfócitos e pela possibilidade de existirem auto anticorpos, fatores que podem falsear os resultados²⁶.

I.4.1.C Métodos de Tipificação por DNA

O desenvolvimento de métodos de tipificação baseados em DNA para a análise de genes HLA aumentou o conhecimento da diversidade do MHC, do papel das moléculas de Classe I e II na resposta imune e dos fatores importantes na seleção de doadores voluntários não aparentados de células-tronco hematopoéticas^{21,27}.

A maioria dos métodos atualmente em uso em laboratórios clínicos ou de pesquisa é baseada em amplificação de genes HLA específicos do DNA genômico usando a reação de cadeia da polimerase (PCR). Os métodos baseados em *PCR* fornecem tanto a determinação direta da seqüência inteira da região de codificação de um alelo (*SBT-Sequence based Typing* ou tipificação baseada em seqüenciamento) ou informação parcial da seqüência, a qual permite a inferência do alelo HLA (*SSOP* ou *sequence-specific oligonucleotide probe* por hibridização ou tipificação por *sequence-specific primer* – *SSP*)^{11,21}.

Estes métodos esclareceram a relação entre os genes HLA e os antígenos codificados por eles. Para um dado *locus* HLA (ex. HLA-A), o gene variante neste *locus* é denominado *alelo* (ex. A*0201) e os alelos expressos pelos dois haplótipos parentais constituem o *genótipo* (ex. A*0201,*0301). Cada alelo HLA consiste de

uma seqüência única de nucleotídeos, que codifica a molécula de HLA específica expressa na superfície celular. As moléculas são caracterizadas e classificadas pela sua reação com anticorpos anti-HLA e denominadas *antígenos* HLA. A combinação de dois antígenos em um dado *locus*, codificada por alelos dos dois cromossomos parentais é denominado *fenótipo* (ex HLA-A2,A3). Devido à ampla reatividade dos anticorpos HLA, duas ou mais seqüências específicas (ex. HLA-A*0201, A*0205 e A*0213) podem ser definidas por sorologia como o mesmo fenótipo (ex. HLA-A2)¹¹.

Os métodos baseados em DNA variam de acordo com o nível de discriminação que fornecem na definição da seqüência de nucleotídeos de um gene HLA. Quando o método de tipificação por DNA permite a identificação de um antígeno com equivalência sorológica (ex. HLA-A2), o método é denominado de *baixa resolução*. Os métodos que fornecem informações entre o nível sorológico, porém com definição menor que o nível de alelos, são denominados métodos de, *resolução intermediária*. Finalmente, os métodos que geram a informação da seqüência de nucleotídeos permitindo a precisa identificação de um alelo HLA (ex. HLA-A* 0201), são denominados de *alta resolução*. A tipificação de alta resolução pode ser obtida por seqüenciamento direto automatizado de um gene HLA (SBT) ou pelo uso de amplos painéis de *probes* para oligonucleotídeos que testam todas as regiões conhecidas de um determinado gene.

No sentido de interpretar os resultados da tipificação HLA e selecionar doadores para transplantes, é necessário saber qual é o nível de resolução utilizado nos testes. Um paciente e um doador que são compatíveis nos antígenos HLA-A e – B por método de baixa resolução podem não ser idênticos para alelos HLA-A e/ou – B em métodos de alta resolução.

Os estudos populacionais fornecem informações antropológicas, essenciais para fins de transplante, são básicos para as abordagens de predisposição genética e dos mecanismos moleculares relacionados ao desenvolvimento de enfermidades. As análises profundas do polimorfismo do Sistema HLA em populações miscigenadas podem revelar diferentes freqüências de alelos e haplótipos de HLA, em comparação com outros grupos raciais e étnicos, que pode influenciar as associações entre HLA e doenças. Estas diferenças contribuem para a discriminação entre alelos diretamente envolvidos no desenvolvimento de doenças e aqueles apenas intimamente ligados.

Neste sentido alguns estudos já foram conduzidos em populações da América do Sul. Estudos realizados entre mestiços, na Venezuela, que representam uma mistura de aborígenes mongolóides primitivos, imigrantes caucasóides europeus e negros trazidos da África ocidental, incluíram análises moleculares de HLA-DRB1, DQA1 e DQB1 e respectivas frequências de alelos e haplótipos. Os alelos mais frequentes foram HLA-A*02, -B*35, -CW*7, DRB1*0407, DRB1*1407 e DRB1*0411. Dentre os haplótipos foram encontrados o HLA-A*29B*44 e o HLA-B*44 DRB1*0701³⁰.

Em outro estudo realizado no Uruguai em 2003, com 346 receptores de TCTH, 298 receptores foram analisados quanto ao polimorfismo do HLA-A, - B e DR observando-se as respectivas frequências dos alelos. Os mais prevalentes foram: A*02 (28,97%), B*35 (12,49%) e DRB1*04 (15,24%). Somente para o *locus* HLA DRB1 o desvio do equilíbrio de HW foi altamente significativo. Os haplótipos mais comuns foram A*02B*51 e A*02B*07 para HLA-A, -B e A*02DRB1*01 e A*02-DRB1*04 para HLA-A-DRB1³¹.

Já no Brasil, em 2002, o grupo do HEMEPAR – Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná, publicou análise de 1600 doadores voluntários de medula óssea cadastrados no REDOME, caracterizados como caucasóides (1183), orientais (13), e negróides (333) que incluíam negros, mulatos e cafuzos e um grupo de 71 indivíduos não identificados por grupo étnico. Os haplótipos mais frequentes na amostra total foram HLA-A*01B*08DR*03 (0,02%), HLA-A*29B*44DR*07 (0,01%) e HLA-A*03B*07 DR*15 (0,01%). Para esta análise foi considerado um *cut off* de 0,001 para as frequências dos haplótipos mais prevalentes. Neste estudo foi ainda ressaltado que o grupo oriental apresentou distribuição peculiar, não sendo verificado nenhum dos 20 haplótipos mais frequentes encontrados em outros grupos étnicos. Entre os orientais, o haplótipo mais frequente foi o HLA-A*33B*44DR*13¹².

Adicionalmente, em concordância com estudos anteriores realizados na população paranaense, foi verificado que o grupo alélico HLA-A*02 (0,229) e HLA-B*35 (0,114) são os mais frequentes diferindo, no entanto, dos estudos de Prado e colaboradores, onde HLA-B*05 (0,132) foi o mais frequente¹².

Estes estudos populacionais são importantes porque se conhecendo as frequências HLA pode-se estimar as chances de se encontrar um doador compatível para um paciente de um grupo étnico específico. Contudo apenas este conhecimento da frequência não é suficiente e depende da existência de um amplo

Registro de Doadores Voluntários com diversidade genética, suficientemente abrangente e com frequências igualmente prevalentes.

A nomenclatura das especificidades HLA é definida por um Comitê Internacional que se reúne periodicamente para nomear alelos recentemente descobertos e rever a nomenclatura vigente, e está exemplificada na tabela 2 e na figura 5.

Tabela 2 – Nomenclatura do HLA segundo a classificação de 2002.

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, HLA-B1, HLA-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, <i>locus</i> A, antígeno 02 (codificado por vários alelos), anteriormente definido pela sorologia como HLA-A2
HLA-A*0201	HLA de classe I, <i>locus</i> 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, <i>locus</i> -DR, antígeno 1, definido por sorologia
HLA-DRB1*	HLA de classe II, <i>locus</i> -DR, cadeia β , gene 1, definido por biologia molecular
HLA-DRB1*13	HLA de classe II, <i>locus</i> -DR, cadeia β , gene 1, grupo alélico 13 (codificado por vários alelos), antes definido pela sorologia como HLA-D
HLA-DRB1*1301	HLA de classe II, <i>locus</i> -DR, cadeia β , 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

Adaptado de Marsh e col, 2002 ■

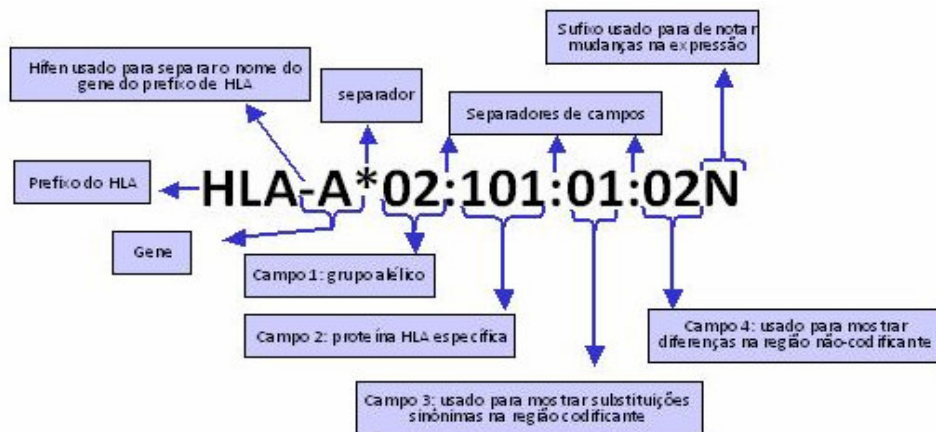


Figura 5: Nomenclatura atual do HLA. Cada alelo de HLA tem um número único, correspondendo a até 4 campos de dígitos separados por (:). O tamanho da designação do alelo é dependente da sequência do alelo e genes próximos. Todos os alelos recebem pelo menos um nome de 4 dígitos, que correspondem aos campos 1 e 2; os campos 3 e 4 só são designados quando necessário. (adaptado de <http://hla.alleles.org/announcement.html> em 25/01/2011).

I.5. Identificação de doadores voluntários não-aparentados para TCTH

Um doador compatível pode ser identificado para aproximadamente 50 a 80% dos pacientes para os quais uma busca de doador não aparentado foi iniciada. A probabilidade de se identificar um doador aumenta se o doador e o paciente possuem a mesma origem étnica ou racial. As chances de se encontrar um doador idêntico também aumentam quando o paciente tem dois haplótipos e genótipo de HLA estendido comum. Um desequilíbrio de ligação fortemente positivo entre HLA-B e -C e entre HLA-DR e -DQ aumentam as possibilidades que um doador HLA-A,-B,-DR idêntico seja também para HLA-C e -DQ. Por outro lado, a falta de identidade em HLA-B e -DR aumenta as chances de HLA-C e -DQ também serem incompatíveis, respectivamente.

Quando um doador compatível HLA-A, -B -DR não estiver disponível e a seleção será feita entre doadores parcialmente idênticos, deve-se evitar a incompatibilidade em HLA-B e -DR pelo risco de aumentarmos o número total de incompatibilidades. A importância da tipificação HLA-DP e -DQ ainda precisa ser explicitada na seleção de doadores para TCTH.

Em 1994, Anasetti e Hansen demonstraram a relevância do vetor da compatibilidade HLA no risco de falência do enxerto e DECH aguda em TCTH

haploidêntico aparentado. O vetor (direção) pode ser definido por: enxerto-contra-hospedeiro (ECH) ou hospedeiro-contra-enxerto (HCE) alo-reação. A presença de antígenos e alelos no doador não compartilhados pelo receptor determina o reconhecimento HCE. Por outro lado, a presença de antígenos e alelos no receptor não compartilhados pelo doador determina o vetor no sentido ECH. A falta de identidade entre paciente e doador pode ser ainda bidirecional se ambas as situações estão presentes. A incompatibilidade unidirecional onde prevalece o vetor ECH, ocorre quando o doador é homozigoto e o receptor é heterozigoto e compartilha um alelo ou antígeno com o doador (ex. paciente A*0201,*0205 e doador A*0201,*0201). O sentido inverso (HCE) ocorre quando o paciente é homozigoto e o doador é heterozigoto e compartilha um alelo com o paciente (ex. paciente A*0201,*0201 e doador A*0201, *0205)^{21,27,28,34,35,36,37,41}.

Enquanto os genes MHC e suas proteínas representam a maior barreira para os transplantes de órgãos e tecidos, a disparidade para antígenos codificados por genes localizados fora do MHC, denominados antígenos menores de histocompatibilidade–mHA, também podem provocar significativa resposta imune alogênica. Os mHA são pequenos peptídeos endógenos polimórficos que são reconhecidos pelas células T de uma forma MHC restrita.

O sistema gênico HLA não é o único que codifica moléculas que se comportam como marcadores da histocompatibilidade. Os antígenos secundários de histocompatibilidade (MiAgs), H-Y e ABO, também se relacionam com o sucesso e o insucesso de um transplante. No entanto, o sistema HLA é considerado um dos mais importantes fatores genéticos, pois seus produtos sendo fortemente imunogênicos são de maior impacto no processo de rejeição. Já os antígenos secundários são codificados por genes muito menos polimórficos em comparação com o MHC e não foram abordados com detalhes nesta revisão^{5,12,27,35,40,44}.

O impacto da compatibilidade entre o doador e o receptor na evolução clínica após os TCTH assumiu vital importância principalmente nos transplantes com doadores não aparentados. O desenvolvimento do conhecimento tem produzido informações detalhadas para a escolha do melhor doador possível tanto no que concerne à prevenção das complicações imediatas quanto tardias e o aumento significativo dos indivíduos que passam a ser beneficiados com esta técnica^{28,34,41}.

A utilidade clínica da tipificação por método baseado em DNA para a seleção de doadores está bem clara em pelo menos dois aspectos:

- A identificação e priorização de doadores com a melhor compatibilidade possível (a compatibilidade acurada e completa reduz os riscos de falência do enxerto e DECH com impacto positivo na sobrevida);
- A identificação e não utilização de doadores incompatíveis para inúmeros alelos (disparidades em vários *loci* estão associadas com o aumento dos riscos de falência do enxerto, DECH e mortalidade).

Os requisitos mínimos para a compatibilidade HLA podem variar com a situação clínica. Existem dados comprovando que, na ausência de doadores compatíveis em nível alélico, o uso de um doador com um único alelo diferente, não necessariamente reduz a sobrevida⁵¹. Os fatores que regem em que situações a incompatibilidade genética será ou não tolerada, são extremamente complexos e dependentes das diferenças entre os alelos ou antígenos do binômio doador – receptor, do procedimento relacionado ao transplante (regime de condicionamento e imunossupressão) e outras variáveis não ligadas ao HLA.

As análises para a compreensão das disparidades de Classe I e II em populações etnicamente diversas submetidas aos transplantes são necessárias no sentido de entender como diferenças em qualidade e quantidade, no que concerne às incompatibilidades, podem ser adicionadas às permissividades identificadas sem comprometer os resultados^{20,23,24,43,44,49,50,51}.

I.6. Os registros brasileiros de doadores voluntários para os TCTH – uma Política de Saúde

A constituição de Registros Internacionais de doadores não-aparentados permitiu a expansão do número de pacientes que se beneficiam com o procedimento de TCTH. Porém, as limitações ainda são grandes já que estes registros com cerca de 14.500.000 de doadores voluntários têm, em sua maioria, uma grande representação de indivíduos caucasianos (85%), não atendendo adequadamente portanto, às populações mais miscigenadas e às minorias étnicas como orientais, negros e indígenas^{9,10,12,15,40}.

As alternativas viáveis para populações como a brasileira, com características tão peculiares quanto à miscigenação, são o estabelecimento de um

Registro Brasileiro de Doadores de Medula Óssea – REDOME representativo e de uma Rede de Bancos de Sangue de Cordão Umbilical – BRASILCORD^{7,12,56,57}.

I.6.1. O REDOME – Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea

O REDOME foi criado em 1993, na Fundação Pró-Sangue, em São Paulo. Entretanto, somente a partir do ano 1999, com sua incorporação, por determinação do Ministério da Saúde, ao Instituto Nacional de Câncer - INCA, foi possível a ampliação e aplicação de recursos específicos na busca de doadores. Para tal, foi fundamental a contribuição do Ministério da Saúde através da regulamentação e do ressarcimento dos procedimentos envolvidos com o cadastro e seleção de doadores, pesquisas em registros nacional e internacionais, testes laboratoriais, coleta e transporte de unidades de células-tronco hematopoéticas.

Neste período de transição, do ano 2000 a dezembro de 2003, cerca de 45.000 doadores foram cadastrados no Registro e apenas dois Centros de referência (HCUFPR – Hospital Universitário da Universidade Federal do Paraná - e INCA), realizavam os transplantes proporcionados pelo sistema REDOME/INCA/MS.

Em função da crescente demanda de doadores não aparentados no país e da complexidade que envolve o procedimento, foram iniciados esforços no sentido de reestruturar e ordenar o Sistema Nacional de Transplantes de Células Tronco Hematopoéticas conferindo ao mesmo, principalmente, equidade, agilidade e confiabilidade. Desta forma, através de regulamentação específica foi centralizada a gerência técnica desta atividade no INCA, estabelecida uma divisão estrutural e operacional do REDOME – Registro de Doadores e do REREME – Registro de Receptores de Medula Óssea, bem como o credenciamento de oito novos centros de transplante.

Como estratégia operacional para o crescimento do REDOME em número de doadores, na abrangência das características populacionais e na agilidade para a disponibilidade dos doadores do REDOME para busca, foi desenvolvido em 2005 o sistema REDOME-NET, através de cooperação entre o DATASUS e o Setor de Tecnologia da Informação do INCA. Este sistema permite a inclusão de doadores no cadastro através de conexão direta com Hemocentros e Laboratórios de Imunogenética em todo o país. Esta ação, somada à intensa atividade na área de comunicação, às campanhas estruturadas envolvendo empresas, organizações

públicas, privadas e representantes da sociedade em geral, modificaram o cenário existente proporcionando, em apenas seis anos, uma evolução do cadastro de doadores para mais de 2.000.000 de doadores, até dezembro de 2010.

I.6.2. O BRASILCORD – Rede Brasileira de Bancos de Sangue de Cordão Umbilical

Na última década, vários estudos demonstraram o potencial das células obtidas do sangue do cordão umbilical e placentário (SCUP) que contendo número suficiente de células progenitoras pode ser utilizado como fonte para reconstituição hematopoética. Estas células são menos imunorreativas que as da medula óssea permitindo a sua utilização num projeto de banco ou registro de SCUP proporcionando transplantes não aparentados idênticos ou parcialmente idênticos com menos complicações^{7,42,45,46,47,48}.

Nos últimos 15 anos, o SCUP de irmão recém nascido ou existente em um Banco, foi utilizado como fonte de células progenitoras em mais de 10.000 transplantes. Para o uso de SCUP necessitamos, portanto, do estabelecimento de um amplo painel de doadores ou Banco de SCUP.

No mundo inteiro existem mais de 450.000 unidades de SCUP armazenadas. A proporção de células tronco no SCUP por volume pode ser maior que nas coletas de medula óssea. Quanto às doenças infecciosas, recomenda-se muita cautela, processando as amostras com testes de rastreamento para as principais afecções prevalentes no âmbito materno-fetal e as transmitidas pelo sangue. Da mesma forma, a principal maneira de se reduzir a possibilidade de transmissão de doenças genéticas é além dos testes disponíveis, a obtenção de questionários bem delineados e aplicados a fim de identificá-las na historia familiar^{7,47,48}.

Quanto aos aspectos éticos, trata-se de material de fácil obtenção e descartável. É necessária a obtenção de consentimento materno para sua coleta e armazenamento bem como para a utilização no Banco de SCUP. No sentido de preservar possíveis solicitações futuras, todas as informações são confidenciais e a identificação nos questionários e dos prontuários maternos são substituídos por códigos logo que a unidade seja liberada para uso do registro.

A menor reatividade imunológica das CTH do SCUP, facilita a utilização em transplantes com maior grau de disparidade entre doador e receptor, o que aumenta a potencialidade de utilização de cada amostra, fazendo que um estoque muito menor de doadores possa atender à população. Duas grandes desvantagens destes bancos, no entanto, em relação aos Registros de doadores não-aparentados são a limitação representada pela necessidade de um número mínimo de CTH (e portanto estes bancos atendem preferentemente a crianças, pelo baixo peso corporal) e a necessidade de estabelecer um banco com armazenamento físico de amostras, enquanto que nos Registros há apenas a coleta de amostras e armazenamento de dados, sendo que a coleta de CTH ocorre apenas no momento do transplante, quando o doador e o receptor já foram identificados.

Desde o primeiro transplante de SCUP bem sucedido em um paciente com Anemia de Fanconi, em 1988, os conhecimentos na área evoluíram e bancos se desenvolveram em todo o mundo. O EUROCORD foi organizado para padronizar métodos de coleta, testes, criopreservação de SCUP de doadores aparentados ou não aparentados, para estudar as propriedades destas células e criar um registro próprio para estes transplantes na Europa. Até 2002, vários centros faziam parte deste registro com 650 transplantes já realizados^{7,48,49}.

Em 2001, foi inaugurado no Instituto Nacional de Câncer – INCA/MS, no Rio de Janeiro, o primeiro Banco de SCUP do país que desde então vem contribuindo para o desenvolvimento desta área com: treinamento de pessoal; difusão de conhecimentos e tecnologia; apoio aos órgãos competentes como a ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no desenvolvimento da regulamentação específica; projeto piloto para o estabelecimento do BRASILCORD. Este Banco possui a capacidade instalada para armazenar 10600 unidades e encontra-se em pleno funcionamento. Os procedimentos de captação de doadores, coleta, transporte, processamento, criopreservação e fornecimento de unidades de SCUP estão bem estabelecidos e seguem as normas vigentes nacionais e internacionais. A media de unidades coletadas é de 100 por mês e cerca de 4500 unidades foram armazenadas até setembro de 2010.

O estabelecimento da Rede BRASILCORD se concretizou, pela publicação da portaria GM/MS 2381 em outubro de 2004, incorporando imediatamente os Bancos do Hospital Israelita Albert Einstein, do Hemocentro de Campinas e do Hemocentro de Ribeirão Preto. A rede prevê o estabelecimento de

um total de 13 Bancos em diferentes capitais do país a fim de atender a nossa diversidade étnica. Para cumprir esta meta, o INCA, responsável pela organização, desenvolvimento e implantação da rede BRASILCORD, obteve financiamento através de projeto de cunho social do BNDES e até dezembro de 2010, 11 bancos de SCUP já foram inaugurados, contemplando as cidades do Rio de Janeiro, São Paulo (2), Campinas, Belém, Recife, Brasília, Florianópolis, Fortaleza, Porto Alegre, restando ainda Curitiba e Belo Horizonte a inaugurar.

As unidades de SCUP armazenadas também farão parte do Registro de Doadores de Medula Óssea – REDOME através do sistema RENACORD - Registro Nacional de Sangue de Cordão Umbilical que reúne as informações das unidades armazenadas pela rede BRASILCORD. A distribuição geográfica dos BSCUPs não deve ser uma preocupação, em virtude de que o acesso estará disponível a qualquer centro de transplante que necessite, e o transporte das células para transplante em qualquer ponto do país não representa dificuldade operacional maior.

A rede pode ser expandida futuramente, de duas maneiras: aumentando o número de centros de captação e processamento, e criando um ou mais centros de grande capacidade de armazenamento. Isto deverá ocorrer depois que a rede inicial de 13 centros for implantada e sua viabilidade técnica e econômica demonstrada.

I.6.3. O REREME – Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea

Em dois de maio de 2006, foi publicada a portaria número 931 do Ministério da Saúde, que aprova o Regulamento Técnico para Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas e controla toda a atividade no Brasil. Ressaltamos que cerca de 90% destes procedimentos no país, ocorrem em instituições públicas, credenciadas ou filantrópicas, com recursos públicos.

A portaria estabeleceu as regras necessárias, considerando a necessidade de organizar o acesso com equidade e otimizar a aplicação dos recursos para a manutenção e atualização do cadastro nacional de doadores não aparentados de células-tronco hematopoéticas.

Em seu artigo 6º, parágrafo Único, estabeleceu que o Sistema Nacional de Transplantes contará com a assessoria técnica do Instituto Nacional de Câncer -

INCA, nas atividades relacionadas a TCTH. Estabeleceu ainda, o programa informatizado de gerenciamento do Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea - REREME, que contribuirá para o cadastro único de pacientes candidatos a TCTH alogênico. Desta forma, o INCA que desenvolveu este sistema de registro, manterá os cadastros do REDOME, que incluem os dados da Rede Pública Nacional de Bancos de Células de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário - BRASILCORD e do REREME, atualizados com as situações clínicas dos receptores e dos doadores.

I.7. Planejamento estratégico dos registros

A pesquisa de doadores e obtenção de uma unidade de CTH não-aparentada no Registro Nacional (REDOME) vem superando anualmente o procedimento com unidades de procedência internacional. Com o crescente número de doadores cadastrados no REDOME, alcançaremos num futuro breve a possibilidade de encontrar um doador compatível para a grande maioria dos pacientes necessitados. Trata-se de uma alternativa concreta à necessidade de doadores internacionais, reduzindo o custo de obtenção e distribuição por unidade que atualmente é em média de 60.000 reais (sem incluir o valor referente ao TCTH propriamente dito). Em se tratando de procedimento que em geral envolve maiores complicações e complexidade devido às possíveis disparidades imunológicas (DECH, rejeição, etc.) existentes, torna-se fundamental buscar outras soluções para a aplicação adequada de recursos em nosso meio.

Este crescimento foi atingido com o auxílio de políticas públicas que acarretaram em um esforço multiplicador de diversas instituições públicas no sentido de ampliar a captação de novos doadores e melhorar a infra-estrutura dos registros de modo a atender a demanda crescente.

Além disso, a constituição da Rede BRASILCORD, levando a um aumento de unidades de SCUP armazenadas e disponibilizadas através do Sistema RENACORD, tem levado a uma progressiva utilização de CTHs de SCUP principalmente no contexto de uma população jovem e com grande diversidade étnica.

A partir de agora, faz-se necessário um planejamento estratégico que leve a ações integradas para um crescimento dos Registros que nos levem a auto-suficiência.

Uma destas ações é o estudo das frequências dos alelos e haplótipos detectados nos cadastros do REDOME, RENACORD e REREME, por etnia e por naturalidade do doador, o que pode encurtar a procura de um doador ideal, pois a busca inicial poderá ser efetuada dentro do próprio grupo étnico do paciente onde há, teoricamente, maiores chances de se encontrar um doador compatível. Por outro lado, o conhecimento dessas frequências 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.

Neste sentido, a análise das frequências dos alelos e haplótipos encontradas para os doadores inscritos no REDOME, representa uma excelente amostragem da constituição genética da população brasileira. Estes dados podem servir de controle para a análise e para pesquisas de inúmeros segmentos de uma população a ser estudada.

O local de cadastro destes doadores esta de acordo com a localização dos Hemocentros e Laboratórios de Imunogenética e não representa ainda a naturalidade dos doadores. Porém, torna-se importante, para a abrangência do Registro, que mais centros de captação sejam agregados em todas as regiões do país contribuindo desta forma para a maior diversidade genética representativa da população brasileira. Isto é especialmente importante no planejamento de novas unidades de coleta de SCUP, pois o conhecimento da origem de haplótipos raros necessários para a população doente permitirá o direcionamento para o estabelecimento de novos bancos em diferentes regiões do país, onde estes haplótipos sejam mais freqüentes.

II. OBJETIVOS

II.1. Geral:

- Avaliar a capacidade do REDOME/RENACORD em suprir as necessidades dos pacientes registrados no REREME e fornecer subsídios para o planejamento do crescimento e manutenção dos registros de doadores.

II.2. Específicos:

- Avaliar o crescimento dos registros desde sua criação, as características dos doadores e a capacidade atual de suprir as necessidades dos pacientes registrados no REREME;
- Analisar as frequências dos alelos e haplótipos de HLA das unidades de sangue de cordão umbilical e placentário armazenadas no RENACORD, dos doadores voluntários cadastrados no REDOME e dos receptores incluídos no cadastro do REREME;
- Comparar as frequências de haplótipos nos três bancos de dados citados;
- Identificar os alelos e haplótipos prováveis mais frequentes em nossa população assim como aqueles presentes somente no REREME;
- Avaliar a origem geográfica destes alelos e haplótipos de modo a fornecer subsídios técnicos para o estabelecimento de novos bancos como parte da Rede BRASILCORD;
- Propor ações para reduzir a falta de um doador não aparentado compatível para o TCTH;

III. METODOLOGIA

III.1. Amostras

A amostra utilizada como objeto deste estudo, foi coletada no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2008, e incluiu os registros dos dados pessoais e dos testes de tipificação HLA das unidades de sangue de cordão umbilical e placentário armazenados e disponíveis no BRASILCORD (2503 unidades), dos doadores cadastrados no Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea – REDOME (887.616 unidades) e dos receptores cadastrados no REREME (5543). Para tal foram consultados os respectivos bancos de dados.

Todos os indivíduos que constituem estes bancos foram informados e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) relativo a sua doação ou recepção.

Tendo em vista que os dados de HLA presentes no REDOME são obtidos em baixa/média resolução para os *loci* HLA-A*, -B* e DRB1*, todas as análises foram efetuadas para os grupos alélicos destes *loci*.

III.2. Tipificação HLA

O DNA genômico foi extraído por caotopia através do kit GFX Genomic Blood DNA Purification (GE Health Care, com modificações). As tipificações foram realizadas por técnicas de biologia molecular em baixa-média resolução para os *loci* HLA-A*, -B*, -DRB1* pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR-SSOP-*Polymerase Chain Reaction – Sequence-Specific Oligonucleotides Probes*) (One Lambda Inc. e InnoGenetics Inc., com modificações), que consiste no princípio de que iniciadores (*primers*) de oligonucleotídeos com correspondência completa sejam utilizados para amplificar uma seqüência específica de um alelo ou grupos de alelos. Parte dos produtos da PCR (2,0 µl) foram submetidos à corrida eletroforética em gel de agarose 2% para verificar o sucesso da amplificação. Após esta etapa, os amplicons (produtos da PCR) foram submetidos à hibridização com sondas complementares de DNA conjugados com as micro-esferas magnéticas marcadas por fluorescência. Um analisador de fluxo, o LABScan™ 100 foi utilizado para

identificar a intensidade de fluorescência em cada micro-esfera. A tipagem HLA baseou-se no padrão de reação comparado com os padrões associados às sequências de genes HLA já identificadas. Também foi utilizada outra metodologia de hibridização onde os produtos amplificados para uma série de sondas de oligonucleotídeos imobilizadas em fitas de nitrocelulose, específicas da sequência, e a detecção ocorreu por intermédio de uma reação colorimétrica.

III.3. Análise estatística

A partir dos resultados obtidos em cada Registro, e realizadas as comparações entre os bancos de dados, foi utilizado o programa ARLEQUIN 3.01 para calcular, a partir da frequência dos alelos, os haplótipos mais frequentes e menos frequentes nos respectivos bancos de dados. Este programa já foi utilizado em estudos populacionais em nosso país e em publicações especializadas oriundas de centros e registros do exterior^{12,29}.

III.3.1. Cálculo das Frequências

As frequências dos grupos alélicos foram obtidas por contagem direta e as frequências haplotípicas foram estimadas pelo algoritmo EM (*Expectation Maximization*)³⁸, que é usado quando não se sabe a fase gamética. Este algoritmo permite fazer iterações sucessivas de frequências dos haplótipos uma vez que se inicia com valores arbitrários e estes valores iniciais são utilizados como se fossem frequências desconhecidas verdadeiras para estimar as frequências genotípicas (fase de expectativa). Estas frequências genotípicas esperadas são utilizadas na próxima iteração (fase de maximização) e assim por diante até alcançar uma convergência (quando as mudanças nas frequências haplotípicas em iterações consecutivas são menores que alguns valores). O software Arlequin 3.01 foi utilizado para esta análise³⁹. O teste do χ^2 foi utilizado para verificar o nível de significância entre as populações, sendo considerado $p < 0,05$.

III.3.2. Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE)

O teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg especifica que, quando não existe uma força seletiva, as frequências dos alelos permanecerão estáveis na população e são denominadas proporções de Hardy-Weinberg. No contexto de análise de múltiplas populações, pode-se usar desvios a partir destas proporções para determinar resultados de: (1) erro de digitação; (2) população miscigenada; (3) operação da seleção natural; ou (4) cruzamento dentro da mesma população.

O teste de HWE foi calculado *locus a locus* enquanto que para o haplótipo não foi possível devido ao fato da fase gamética ser desconhecida neste estudo.

III.4. Investigação da origem geográfica dos alelos e haplótipos

A verificação da frequência dos haplótipos ou alelos em diferentes populações foi efetuada no site www.allelefrequencias.net, que resume todos os estudos em HLA já publicados. A última atualização deste site, mantido pela Sociedade Americana de Histocompatibilidade (ASHI), foi efetuada em 01 de janeiro de 2011.

O local de maior frequência (pelo menos > 10%) foi considerado como o de origem do alelo ou haplótipo.

IV. RESULTADOS

IV.1. Avaliação do crescimento dos registros desde sua criação, das características dos doadores e da capacidade atual de suprir as necessidades dos pacientes registrados no REREME.

Desde a sua criação, em 1993, foram recrutados e cadastrados no REDOME até novembro de 2010, mais de um milhão e novecentos mil doadores sendo 97,5%, a partir de janeiro de 2004 (figura 6). Apesar do crescimento do cadastro ser mais intenso nas regiões Sul e Sudeste, verificamos que com o aproveitamento do potencial da rede de hemocentros, distribuída no país, foi possível aumentar a representatividade dos estados das demais regiões (figura 7 e tabela 3).

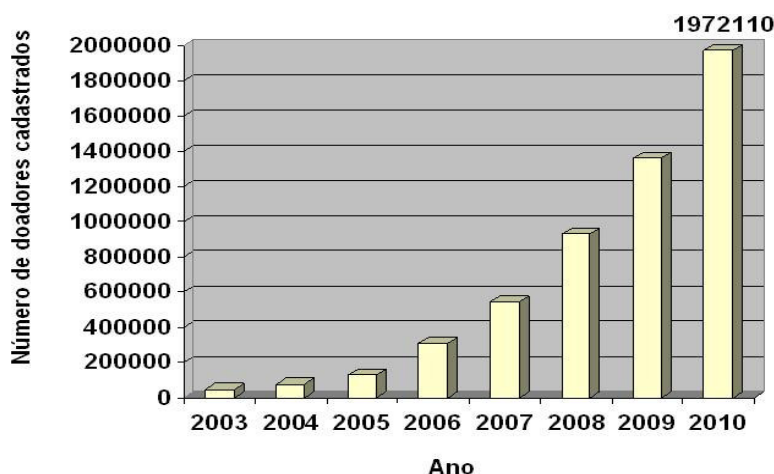


Figura 6: Crescimento do cadastro de doadores no REDOME - Dados de 1993 a novembro de 2010.

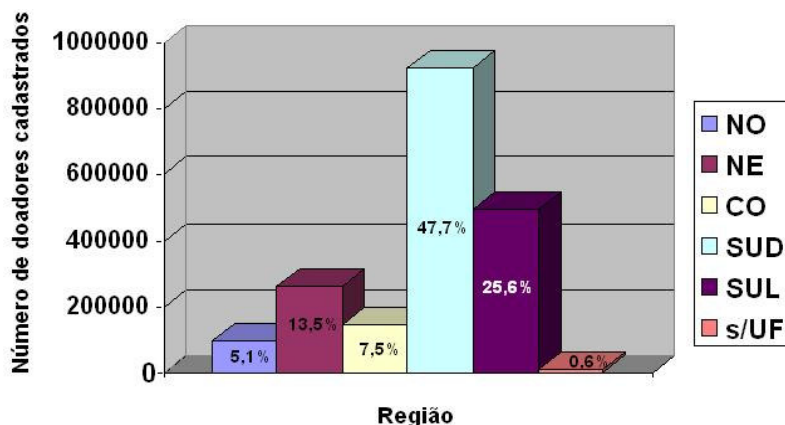


Figura7:Distribuição de doadores do REDOME por região - dados até novembro de 2010.

Tabela 3 - Distribuição de doadores do REDOME por Estado - dados até novembro de 2010.

Unidade Federativa	Total
Acre	555
Alagoas	20634
Amazonas	15454
Amapá	9865
Bahia	35768
Ceará	66741
Distrito Federal	23184
Espírito Santo	61097
Goiás	52310
Maranhão	5695
Minas Gerais	236031
Mato Grosso do Sul	54934
Mato Grosso	18001
Pará	33630
Paraíba	13462
Pernambuco	51310
Piauí	37780
Paraná	276313
Rio de Janeiro	110297
Rio Grande do Norte	31316
Rondônia	27289
Roraima	2893
Rio Grande do Sul	153114
Santa Catarina	72917
Sergipe	4998
São Paulo	531017
Tocantins	14075
s/ UF	11430
Total	1972 110

A distribuição dos doadores cadastrados por faixa etária sinaliza para um Registro com predominância de 18 a 45 anos e, portanto, com possibilidade de contribuir para sua utilização por um longo período. Também observamos que há um maior número de doadores do sexo feminino (tabela 4).

Tabela 4 - Distribuição por sexo (*) e idade - dados até novembro de 2010

Idade (anos)	Masculino	Feminino
<18	1197	1350
18 a 25	274962	369534
26 a 35	285315	342525
36 a 45	200211	242489
46 a 55	104204	131437
> 56	2666	3187

(*) s/ informar o sexo n= 13033

No período de 1993 a novembro de 2010, foram incluídos no cadastro de pacientes, REREME, para busca de um doador não aparentado, 7655 pacientes sendo 4084 pacientes de 2006 a 2010 (gráfico 3). A origem geográfica destes pacientes pode ser vista na figura 9. Comparando-se a porcentagem de contribuição das diferentes regiões do país na constituição do REDOME e do REREME, podemos observar que os dois registros têm uma representatividade bastante semelhante.

As principais indicações, representando 90% dos casos, para a inclusão deste pacientes foram: Leucemia Mielóide crônica e aguda, Leucemia Linfóide aguda, Anemia aplástica, Anemia de Fanconi e Síndromes Mielodisplásicas.

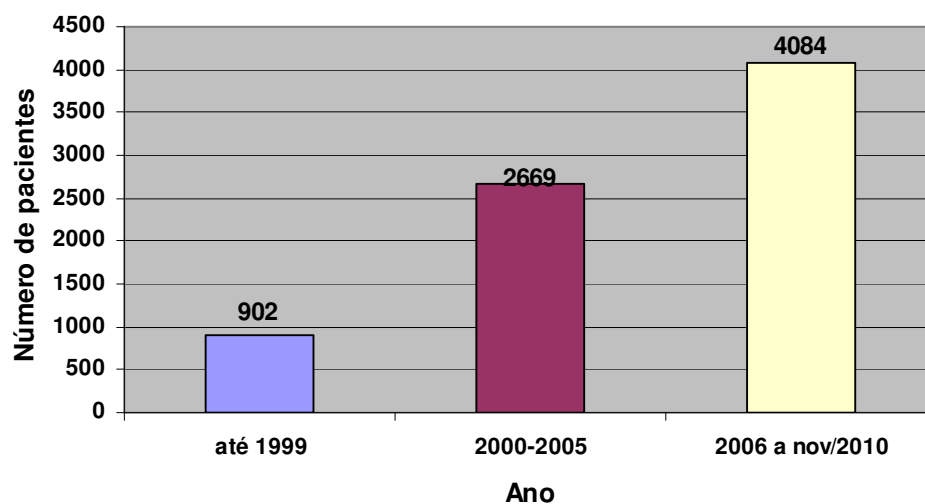


Figura 8: Pacientes inscritos no REREME por período desde o desenvolvimento do REDOME.

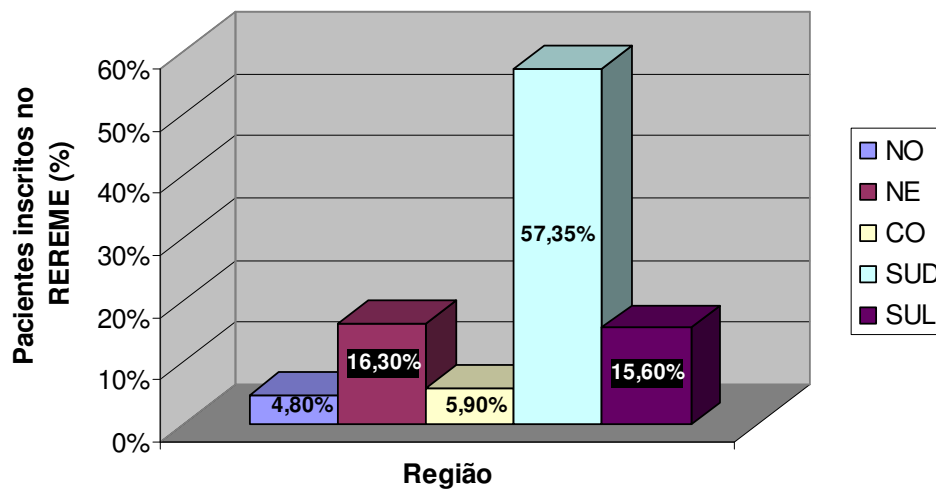


Figura 9: Origem geográfica dos pacientes inscritos no REREME.

As características mais significativas dos pacientes e que podem auxiliar no direcionamento do REDOME são: 51% dos pacientes têm menos de 18 anos; 59% são do sexo masculino; 73% se classificam como brancos, 12% negros e 10% pardos ou mulatos.

Dentre os fatos mais importantes da reestruturação dos Registros de Doadores e pacientes está a agilidade em conseguir um doador no Brasil. Com o crescimento do REDOME e a utilização dos SCUPs armazenados nos Bancos (BRASILCORD), verificamos que 48% dos pacientes incluídos no REREME no período de 2005 a outubro de 2006 (n=1197) tinham pelo menos um doador idêntico HLA A, B, DR de baixa resolução (6X6) e este dado sobe para 70,53% nos registrados até 2009 (figura 10).

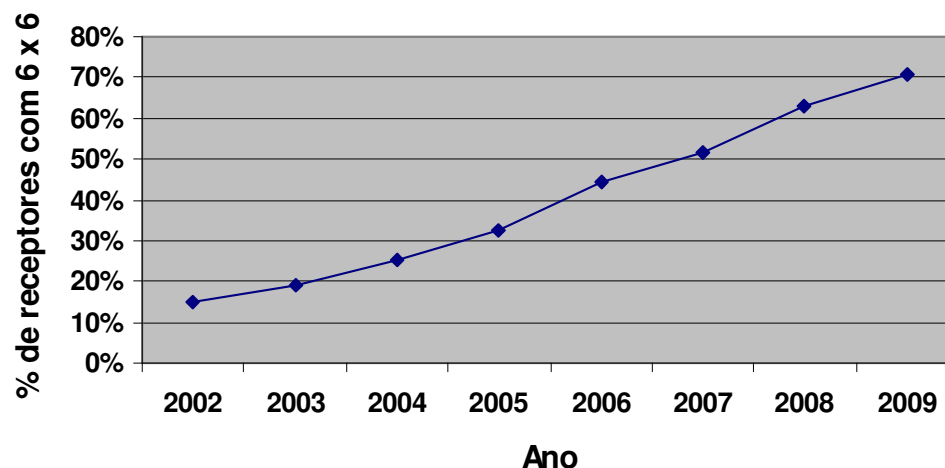


Figura 10: Probabilidade de encontrar um doador compatível HLA 6x6 em baixa resolução no REDOME.

A análise preliminar dos dados referentes aos transplantes realizados aponta para uma representação adequada do REDOME/RENACORD, demonstrada pela sua progressiva capacidade em identificar doadores no âmbito nacional. Esta capacidade é diretamente proporcional e pode ser evidenciada se compararmos os números, antes e depois, da reestruturação do REDOME, em janeiro de 2004. Em julho de 2004, apenas 25% dos doadores identificados para pacientes que necessitavam e aguardavam em lista, eram nacionais sendo os demais de origem internacional. Em novembro de 2010, com 513 TCTHs facilitados, esta percentagem passou para 70,53% de origem nacional e apenas 29,17% eram de origem internacional. Considerando o uso de sangue de cordão umbilical em 395 TCTHs, até esta data, verificamos que 24% das unidades foram fornecidas por bancos da rede BRASILCORD. As implicações deste desenvolvimento são inúmeras, dentre elas a perspectiva de reduzir custos, de agilizar as buscas e ampliar a participação do REDOME/RENACORD no fornecimento de doadores para a comunidade internacional, onde as minorias étnicas são pouco representadas.

No entanto podemos ver que a medida que os registros aumentam, menor é o incremento na identificação de doadores compatíveis. Este já é um fato conhecido. A simples captação de mais doadores não aumenta linearmente a identificação de doadores compatíveis (figura 11).

No momento, a probabilidade de se encontrar um doador compatível A B DRB1 (6x6), na pesquisa preliminar, em teste de baixa ou intermediária resolução, para um brasileiro no REDOME é de 70,53%. Este fato, mesmo significando uma grande melhoria, ainda é insuficiente, visto que os requisitos mínimos para a seleção do doador ideal vêm aumentando progressivamente. Os critérios de seleção utilizados atualmente, exigem um mínimo de 8 de 8 alelos compatíveis, por técnicas de alta resolução, o que reduz esta chance para cerca de 30% apenas. Em países com uma maior uniformidade populacional, como a Alemanha e o Japão, é possível encontrar um doador para os nativos, quando o Registro alcança um milhão de doadores, para 85 a 90% dos receptores^{52,56}.

Esta análise aponta para a necessidade de um crescimento contínuo do REDOME/RENACORD e para o planejamento de ações que busquem a diversidade genética e a representatividade da população brasileira, a fim de atender às necessidades dos pacientes sem doador familiar, aguardando por um TCTH.

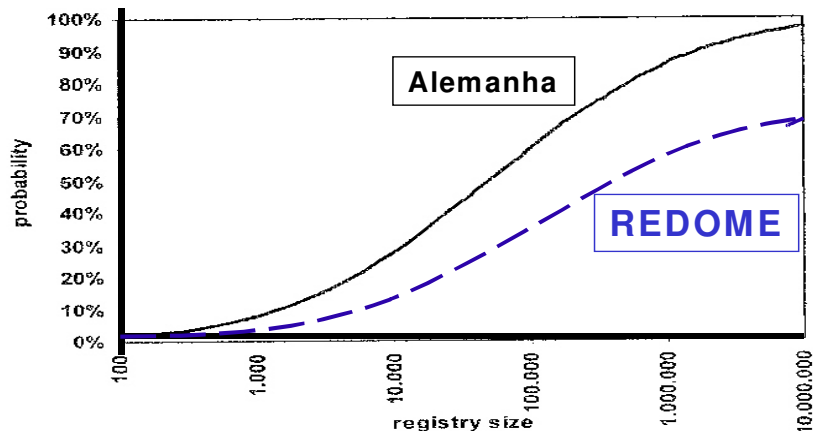


Figura 11: Probabilidade de encontrar um doador compatível de acordo com o tamanho do Registro e diversidade étnica.

IV.2. Análise das Frequências de Alelos de HLA nos três Bancos de dados

No sentido de fornecer subsídios para o planejamento dos Registros REDOME/RENACORD, em janeiro de 2009 foram obtidos dados dos cadastros existentes que foram organizados em planilhas correspondentes, respectivamente, do REREME, RENACORD (BRASILCORD) e do REDOME.

Em função das possíveis dificuldades técnicas para a tipificação dos doadores do REDOME com cadastros anteriores a dezembro de 2003 (uso de técnicas sorológicas), optou-se por realizar a organização e análise dos dados após janeiro de 2004.

As planilhas foram organizadas de acordo com os alelos de HLA-A, -B e -DR, encontrados em cada um dos cadastros e as frequências de cada alelo. Foram excluídos os resultados de tipificação que continham algum erro de anotação, não havia definição do alelo ou os dados encontravam-se incompletos.

Nas tabelas 5, 6 e 7 encontram-se listadas as frequências dos grupos alélicos A, B e DRB1 calculadas nos 5543 registros do cadastro do REREME/INCA, em 2503 unidades de SCUP incluídas no RENACORD e em 887.616 doadores cadastrados no REDOME.

Estes dados mostram que 21 grupos alélicos HLA-A, 36 grupos alélicos HLA-B e 13 grupos alélicos HLA-DRB1 estão presentes na população brasileira sendo mais frequentemente observados os alelos HLA-A*02, A*24, HLA-B*44, B*35,

HLA-DRB1*01, DRB1*04, DRB1*07, DRB1*11, DRB1*13 e DRB1*15 que estão representados em todos os cadastros, com as maiores frequências.

Tabela 5 - Frequência (por 100) dos Alelos de HLA encontrados no banco de dados do REREME.

HLA-A*	FREQUÊNCIA	HLA-B*	FREQUÊNCIA	HLA-DRB1*	FREQUÊNCIA
01	0.091918	07	0.074148	01	0.096518
02	0.254916	08	0.053401	03	0.099675
03	0.087408	13	0.016056	04	0.126827
11	0.054393	14	0.052679	07	0.127819
23	0.052679	15	0.090565	08	0.059264
24	0.101479	18	0.047537	09	0.019664
25	0.011997	27	0.020115	10	0.020206
26	0.032473	35	0.113747	11	0.120963
29	0.047177	37	0.009471	12	0.018672
30	0.059805	38	0.021739	13	0.127819
31	0.043388	39	0.032473	14	0.040411
32	0.031571	40	0.045914	15	0.109417
33	0.031211	41	0.012268	16	0.032744
34	0.008930	42	0.015966		
36	0.006314	44	0.107884		
43	0.000271	45	0.020927		
66	0.011275	46	0.000902		
68	0.055746	47	0.002796		
69	0.002977	48	0.006585		
74	0.012358	49	0.030489		
80	0.001714	50	0.020657		
		51	0.078928		
		52	0.019033		
		53	0.026069		
		54	0.001082		
		55	0.010644		
		56	0.002977		
		57	0.027693		
		58	0.029316		
		59	0.000271		
		67	0.000451		
		73	0.001082		
		78	0.000992		
		81	0.004781		
		82	0.000361		
		83	0.000000		

Tabela 6 - Frequência (por 100) dos Alelos de HLA encontrados no banco de dados do RENACORD.

HLA-A*	FREQUÊNCIA	HLA-B*	FREQUÊNCIA	HLA-DRB1*	FREQUÊNCIA
01	0.097683	07	0.069517	01	0.102078
02	0.257491	08	0.049341	03	0.092089
03	0.092089	13	0.021374	04	0.118857
11	0.055334	14	0.056532	07	0.129844
23	0.045945	15	0.069117	08	0.051738
24	0.099081	18	0.049541	09	0.015382
25	0.010987	27	0.022773	10	0.016780
26	0.038753	35	0.123052	11	0.140431
29	0.046145	37	0.010188	12	0.020775
30	0.052537	38	0.027167	13	0.140831
31	0.038753	39	0.025769	14	0.037555
32	0.033160	40	0.044746	15	0.096884
33	0.036356	41	0.019976	16	0.036756
34	0.005793	42	0.010388		
36	0.002996	44	0.108470		
43	0.000000	45	0.017379		
66	0.011986	46	0.001199		
68	0.061127	47	0.001998		
69	0.002797	48	0.004994		
74	0.009588	49	0.032960		
80	0.001398	50	0.023172		
		51	0.083500		
		52	0.019976		
		53	0.023372		
		54	0.001798		
		55	0.011586		
		56	0.004994		
		57	0.027767		
		58	0.030164		
		59	0.000599		
		67	0.000599		
		73	0.001199		
		78	0.000599		
		81	0.003995		
		82	0.000200		

Tabela 7 - Frequência (por 100) dos Alelos de HLA encontrados no banco de dados do REDOME.

HLA-A*	FREQUÊNCIA	HLA-B*	FREQUÊNCIA	HLA-DRB1*	FREQUÊNCIA
01	0.092168	07	0.069517	01	0.102078
02	0.258206	08	0.049341	03	0.092089
03	0.094169	13	0.021374	04	0.118857
11	0.053803	14	0.056532	07	0.129844
23	0.049702	15	0.069117	08	0.051738
24	0.099182	18	0.049541	09	0.015382
25	0.012962	27	0.022773	10	0.016780
26	0.033620	35	0.123052	11	0.140431
29	0.044924	37	0.010188	12	0.020775
30	0.051623	38	0.027167	13	0.140831
31	0.044821	39	0.025769	14	0.037555
32	0.032092	40	0.044746	15	0.096884
33	0.030240	41	0.019976	16	0.036756
34	0.007456	42	0.010388		
36	0.005334	44	0.108470		
43	0,0000806	45	0.017379		
66	0.009592	46	0.001199		
68	0.060091	47	0.001998		
69	0.001847	48	0.004994		
74	0.011370	49	0.032960		
80	0.001767	50	0.023172		
		51	0.083500		
		52	0.019976		
		53	0.023372		
		54	0.001798		
		55	0.011586		
		56	0.004994		
		57	0.027767		
		58	0.030164		
		59	0.000599		
		67	0.000599		
		73	0.001199		
		78	0.000599		
		81	0.003995		
		82	0.000200		
		83	0.000000		

É interessante notar que os grupos alélicos A*43 e B*83 estão presentes em muito baixa frequência, de tal forma que muitas vezes não é possível calcular sua frequência.

No caso do grupo alélico A*43 uma pesquisa individual nos bancos de dados mostrou que no REDOME ele está representado com um n=143 indivíduos,

estando ausente no RENACORD, e com uma frequência muito baixa no REREME – 0,027% (n=3).

Já o grupo alélico B83 foi encontrado em 4 indivíduos no REDOME, não sendo encontrado no REREME nem no RENACORD.

Para avaliar diferenças significativas entre as frequências dos grupos alélicos nos diferentes Registros com maior acurácia foi efetuada a comparação entre as frequências usando-se o teste do χ^2 e calculando-se o valor de p.

Tabela 8 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-A* encontrados nos bancos de dados do REDOME e do REREME.

HLA-A*	REDOME	REREME	valor de p
01	0.092168	0.091918	0.8800
02	0.258206	0.254916	0.4800
03	0.094169	0.087408	0.0050
11	0.053803	0.054393	0.8700
23	0.049702	0.052679	0.2700
24	0.099182	0.101479	0.7100
25	0.012962	0.011997	0.3400
26	0.033620	0.032473	0.3000
29	0.044924	0.047177	0.3000
30	0.051623	0.059805	0.0003
31	0.044821	0.043388	0.3400
32	0.032092	0.031571	0.8200
33	0.030240	0.031211	0.7600
34	0.007456	0.008930	0.0800
36	0.005334	0.006314	0.1900
43	0.000000	0.000271	0,03**
66	0.009592	0.011275	0.0700
68	0.060091	0.055746	0.0600
69	0.001847	0.002977	0.0060
74	0.011370	0.012358	0.3700
80	0.001767	0.001714	0.9000

**REDOME N=143

REREME N=3

Valores em vermelho foram estatisticamente significativos.

Tabela 9 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-B* encontrados nos bancos de dados do REDOME e REREME.

HLA-B*	REDOME	REREME	valor de p
07	0.069458	0.074148	0.0600
08	0.052259	0.053401	0.7500
13	0.016237	0.016056	0.6800
14	0.052921	0.052679	0.7800
15	0.089457	0.090565	0.6600
18	0.048783	0.047537	0.5300
27	0.022680	0.020115	0.0700
35	0.117793	0.113747	0.1400
37	0.010675	0.009471	0.2300
38	0.021646	0.021739	0.8900
39	0.032714	0.032473	0.9800
40	0.046101	0.045914	0.7100
41	0.013091	0.012268	0.4400
42	0.013470	0.015966	0.0200
44	0.108832	0.107884	0.8100
45	0.019705	0.020927	0.4500
46	0.000443	0.000902	0.0600
47	0.002276	0.002796	0.2400
48	0.006466	0.006585	0.8100
49	0.028550	0.030489	0.3600
50	0.021497	0.020657	0.3800
51	0.083258	0.078928	0.1100
52	0.018969	0.019033	0.8900
53	0.023141	0.026069	0.0600
54	0.000730	0.001082	0.3000
55	0.011000	0.010644	0.7500
56	0.003746	0.002977	0.2000
57	0.028214	0.027693	0.8400
58	0.025353	0.029316	0.0300
59	0.000198	0.000271	0.5800
67	0.000348	0.000451	0.5600
73	0.001067	0.001082	0.9400
78	0.000927	0.000992	0.8100
81	0.003977	0.004781	0.1600
82	0.000439	0.000361	0.7000
83	0.00000225	0.000000	0.8700

Valores em vermelho foram estatisticamente significativos.

Tabela 10 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-DRB1* encontrados nos bancos de dados do REDOME e REREME.

HLA-DRB1*	REDOME	REREME	valor de p
01	0.100088	0.096518	0.0600
03	0.098666	0.099675	0.8600
04	0.123245	0.126827	0.4100
07	0.130878	0.127819	0.2100
08	0.059577	0.059264	0.7400
09	0.016689	0.019664	0.0200
10	0.019247	0.020206	0.5800
11	0.121093	0.120963	0.7000
12	0.016620	0.018672	0.0700
13	0.134647	0.127819	0.1600
14	0.040368	0.040411	1.0000
15	0.097600	0.109417	0.0001
16	0.037340	0.032744	0.0100

Valores em vermelho foram estatisticamente significativos.

Como é possível verificar nas tabelas 8, 9 e 10, as frequências dos alelos HLA-A*03, HLA-A*30, HLA-A*43 e HLA-A*69 apresentaram diferença significativa, na análise estatística comparativa, do banco de dados do REDOME com o cadastro dos pacientes do REREME (tabela 8).

Da mesma forma, os alelos HLA-B*42 e HLA-B*58 foram encontrados com frequência superior no cadastro de pacientes do REREME e alcançou significância estatística (tabela 9).

Já os alelos HLA-DRB1*09 e HLA-DRB1*15 foram mais encontrados no REREME que no REDOME enquanto o alelo HLA-DRB1*16 se comportou de maneira oposta, todos com significância estatística (tabela 10).

Apesar destas diferenças estatísticas, todos estes alelos estão muito bem representados nos dois bancos sendo a única exceção os alelos A*43 e o B*83.

Também foram efetuadas comparações entre as frequências usando os dados do RENACORD como referência (tabelas 11, 12 e 13).

Tabela 11 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-A* encontrados nos bancos de dados do RENACORD e REREME.

HLA-A*	RENACORD	REREME	valor de p
01	0.097683	0.091918	0.3000
02	0.257491	0.254916	0.7100
03	0.092089	0.087408	0.1300
11	0.055334	0.054393	0.9700
23	0.045945	0.052679	0.0500
24	0.099081	0.101479	0.5800
25	0.010987	0.011997	0.6100
26	0.038753	0.032473	0.0500
29	0.046145	0.047177	0.9500
30	0.052537	0.059805	0.0300
31	0.038753	0.043388	0.2300
32	0.033160	0.031571	0.5900
33	0.036356	0.031211	0.0900
34	0.005793	0.008930	0.0400
36	0.002996	0.006314	0.0080
43	0.000000	0.000271	0.2400
66	0.011986	0.011275	0.6900
68	0.061127	0.055746	0.2100
69	0.002797	0.002977	0.8200
74	0.009588	0.012358	0.1100
80	0.001398	0.001714	0.6300

Valores em vermelho foram estatisticamente significativos.

Quando comparadas às frequências dos alelos do RENACORD com o REREME, verificamos que alcançaram significância estatística, as diferenças entre os alelos HLA-A*23, HLA-A*30, HLA-A*34 e HLA-A*36 em favor de frequências mais elevadas identificadas no REREME e oposição ao alelo HLA-A*26 cuja frequência se mostrou maior no RENACORD.

Tabela 12 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-B* encontrados nos bancos de dados do RENACORD e REREME.

HLA-B*	RENACORD	REREME	valor de p
07	0.069517	0.074148	0.4500
08	0.049341	0.053401	0.2400
13	0.021374	0.016056	0.0100
14	0.056532	0.052679	0.3900
15	0.069117	0.090565	0.0001
18	0.049541	0.047537	0.6800
27	0.022773	0.020115	0.2600
35	0.123052	0.113747	0.0800
37	0.010188	0.009471	0.0900
38	0.027167	0.021739	0.0400
39	0.025769	0.032473	0.0100
40	0.044746	0.045914	0.7900
41	0.019976	0.012268	0.0001
42	0.010388	0.015966	0.0060
44	0.108470	0.107884	0.8500
45	0.017379	0.020927	0.0900
46	0.001199	0.000902	0.4600
47	0.001998	0.002796	0.3400
48	0.004994	0.006585	0.2200
49	0.032960	0.030489	0.3100
50	0.023172	0.020657	0.2600
51	0.083500	0.078928	0.3200
52	0.019976	0.019033	0.5500
53	0.023372	0.026069	0.3100
54	0.001798	0.001082	0.1800
55	0.011586	0.010644	0.5800
56	0.004994	0.002977	0.0500
57	0.027767	0.027693	0.9100
58	0.030164	0.029316	0.5800
59	0.000599	0.000271	0.3200
67	0.000599	0.000451	0.7000
73	0.001199	0.001082	0.8500
78	0.000599	0.000992	0.4300
81	0.003995	0.004781	0.4800
82	0.000200	0.000361	0.5900
83	0.000000	0.000000	1.0000

Valores em vermelho foram estatisticamente significativos.

Quanto à análise das frequências dos alelos HLA-B*13, -B*38, -B*41, -B*56 comparando o banco do RENACORD com o REREME, apresentaram-se mais

elevadas e de maneira significativa em favor do RENACORD. Os alelos HLA-B*15, HLA-B*39 e HLA-B*42 foram mais encontrados no REREME.

Na Tabela 13, registramos as diferenças entre os cadastros do RENACORD em relação ao REREME que apresentaram significância estatística, ou seja, HLA-DRB1*15 e HLA-DRB1*11.

Tabela 13 - Comparação entre as Frequências dos Alelos de HLA-DRB1* encontrados nos bancos de dados do RENACORD e REREME.

HLA-DRB1*	RENACORD	REREME	valor de p
01	0.102078	0.096518	0.1100
03	0.092089	0.099675	0.2100
04	0.118857	0.126827	0.1700
07	0.129844	0.127819	0.8300
08	0.051738	0.059264	0.0700
09	0.015382	0.019664	0.0700
10	0.016780	0.020206	0.1600
11	0.140431	0.120963	0.0005
12	0.020775	0.018672	0.4400
13	0.140831	0.127819	0.1200
14	0.037555	0.040411	0.4000
15	0.096884	0.109417	0.0200
16	0.036756	0.032744	0.2100

Valores em vermelho foram estatisticamente significativos.

Da mesma forma que o ocorrido nas análises entre REDOME e REREME, apesar destas diferenças estatisticamente significativas em todos os casos estes grupos alélicos estão bem representados nos dois bancos, exceto pelo grupo alélico B*56 com frequências menores que 0,5% no RENACORD e o A*36, que apresentou uma frequência baixa nos dois registros (0,3% no RENACORD e 0,6% no REREME), mas com frequência mais alta no REREME.

No entanto, este dado não é preocupante, uma vez que no REDOME as frequências destes grupos alélicos também estão neste patamar.

O que é possível verificar nestas análises é que apesar de pequenas inversões nas frequências dos grupos alélicos encontrados nos três bancos de dados, todos eles apresentam os mesmos grupos alélicos como os mais frequentes, assim como os mesmos grupos menos frequentes, sumarizado nas tabelas 14 e 15.

Tabela 14 – Alelos mais frequentes encontrados no REDOME, REREME E RENACORD.

ALELOS MAIS FREQUENTES (%)			
Alelo	REDOME	RENACORD	REREME
A*02	25,8%	25,7%	25,5%
A*24	9,9%	9,9%	10,1%
A*03	9,4%	9,2%	8,7%
A*01	9,1%	9,7%	9,1%
B*44	10,8%	10,8%	10,8%
B*35	12,3%	12,3%	11,4%
DRB1*01	10,2%	10,2%	9,6%
DRB1*04	11,9%	11,9%	12,7%
DRB1*07	12,9%	12,9%	12,8%
DRB1*11	14%	14%	12,1%
DRB1*13	14%	14%	12,8%
DRB1*15	9,7%	9,7%	10,9%

Tabela 15 – Alelos menos frequentes encontrados no REDOME, REREME E RENACORD.

ALELOS MENOS FREQUENTES (%)			
Alelo	REDOME	RENACORD	REREME
A*34	0,75%	0,6%	0,9%
A*36	0,53%	0,39%	0,6%
A*43	0%	0%	0,03%
A*66	0,9%	1,2%	1,1%
A*69	0,2%	0,3%	0,3%
A*80	0,2%	0,1%	0,2%
B*46	0,1%	0,2%	0,1%
B*47	0,2%	0,2%	0,3%
B*48	0,5%	0,5%	0,6%
B*54	0,2%	0,2%	0,1%
B*56	0,5%	0,5%	0,3%
B*59	0,06%	0,06%	0,03%
B*67	0,06%	0,06%	0,05%
B*73	0,2%	0,1%	0,1%
B*78	0,06%	0,06%	0,09%
B*81	0,4%	0,4%	0,5%
B*82	0,02%	0,02%	0,03%
B*83	0%	0%	0%

IV.3. Análise das frequências de haplótipos HLA no REDOME, REREME E RENACORD.

A partir dos resultados obtidos em cada Registro e realizadas as comparações entre os bancos de dados, foi utilizado o software Arlequin 3.0.1 para calcular, a partir das frequências dos alelos, os haplótipos esperados nos respectivos bancos de dados. Este programa é indicado para estudos populacionais já tendo sido bastante utilizados em publicações em nosso país ou oriundas de centros e registros do exterior^{12,29}. As frequências haplotípicas esperadas foram estimadas pelo algoritmo EM (*Expectation Maximization*) conforme descrito na metodologia.

Estas frequências haplotípicas esperadas foram então comparadas entre os três bancos de dados para que se pudesse verificar os haplótipos previstos para um registro, mas não encontrado em outro. Principal atenção foi dada para haplótipos previstos para o REREME que não estivessem presentes no REDOME e RENACORD.

O registro com maior número de haplótipos esperados foi o REDOME com 5062 haplótipos distintos com frequências variando de 2,2% a 0,001%. Três haplótipos se mostraram os mais freqüentes na população (HLA-A*01B*08DRB1*03, HLA-A*29B*44DRB1*07, HLA-A*03B*07DRB1*15), com frequências acima de 1%. Por outro lado, 208 haplótipos mostraram frequências acima de 0,1% (o que em um Registro com 1.000.000 de doadores significa 1.000 indivíduos), 460 haplótipos mostraram frequências acima de 0,05% e 1550 haplótipos tiveram frequências acima de 0,01% (100 indivíduos/milhão). Frequências abaixo de 0,01% foram consideradas baixas. Neste caso foram propostos 3512 diferentes haplótipos.

Para o RENACORD foram previstos 1.322 haplótipos distintos, sendo 1090 com frequências menores do que 0,1% e 18 com frequências menores do que 0,01%.

Já o REREME também mostrou os mesmos 3 haplótipos como mais freqüentes entre os 1985 haplótipos preditos. Neste banco, 493 haplótipos tiveram frequências menores que 0,01%.

Foram realizadas comparações entre as frequências preditas para os Registros. Na tabela 16 temos listado a comparação entre os 208 haplótipos identificados com frequências superiores a 0,1% no REDOME. Como é possível

verificar, todos os haplótipos estão também representados no REREME com frequências muito similares. A exceção é o haplótipo HLA-A*02B*58DRB1*11, presente no REDOME e ausente no REREME. Este haplótipo é considerado raro e encontrado no Registro americano NMDP, em americanos de origem africana com uma frequência de 0,1% em uma população estudada de 412.861 doadores. Uma frequência semelhante foi encontrada em nossa população total de doadores.

Na tabela 17 estão listados os 231 haplótipos com frequências acima de 0,1% preditos para o RENACORD. Podemos verificar que o RENACORD apresenta todos os haplótipos de maior frequência no REREME. O contrário, por outro lado, não é verdadeiro, pois 15 haplótipos do RENACORD não foram previstos para o REREME. O significado deste achado deve ser mais bem investigado.

Tabela 16 - Haplótipos que foram identificados no REDOME com frequências superiores a 0,001 (n=208) em comparação com o REREME.

REREME		REDOME	
FREQUÊNCIA	HAPLÓTIPO	FREQUÊNCIA	HAPLÓTIPO
0,021095	01 08 03	0,0224295	01 08 03
0,015833	29 44 07	0,0149775	29 44 07
0,011679	03 07 15	0,0103755	03 07 15
0,007983	02 44 04	0,0083225	02 44 04
0,007536	33 14 01	0,0080750	33 14 01
0,007751	02 07 15	0,0074715	02 07 15
0,005802	03 35 01	0,0072635	03 35 01
0,007868	02 44 07	0,0072245	02 44 07
0,006346	11 35 01	0,0071575	11 35 01
0,006001	23 44 07	0,0062960	23 44 07
0,007977	02 44 13	0,0060350	02 44 13
0,004862	02 51 11	0,0060245	02 51 11
0,004986	02 50 07	0,0057970	02 50 07
0,005802	02 15 04	0,0057655	02 15 04
0,005456	24 35 11	0,0056185	24 35 11
0,006425	02 51 13	0,0055230	02 51 13
0,005320	02 51 08	0,0054775	02 51 08
0,005237	02 18 11	0,0053140	02 18 11
0,005091	01 57 07	0,0051995	01 57 07
0,002749	02 15 13	0,0046160	02 15 13
0,003469	30 18 03	0,0040980	30 18 03
0,004365	30 13 07	0,0040540	30 13 07
0,004043	02 51 04	0,0040005	02 51 04
0,004528	02 40 04	0,0039680	02 40 04
0,004019	31 39 08	0,0039650	31 39 08
0,003573	02 51 07	0,0039260	02 51 07
0,003950	02 44 11	0,0036635	02 44 11

0,004088	02 14 01	0,0036330	02 14 01
0,004422	24 07 15	0,0035540	24 07 15
0,004205	02 18 03	0,0035225	02 18 03
0,002143	02 35 11	0,0033910	02 35 11
0,003209	02 40 13	0,0033885	02 40 13
0,003247	02 35 01	0,0033470	02 35 01
0,002654	68 40 04	0,0033340	68 40 04
0,003234	02 35 03	0,0031495	02 35 03
0,004559	30 42 03	0,0031440	30 42 03
0,003646	02 08 03	0,0030730	02 08 03
0,001756	03 35 11	0,0030405	03 35 11
0,003015	02 48 09	0,0030115	02 48 09
0,002872	25 18 15	0,0029160	25 18 15
0,002828	02 35 14	0,0028570	02 35 14
0,003493	02 13 07	0,0028300	02 13 07
0,002497	26 38 13	0,0027350	26 38 13
0,003354	24 15 13	0,0027165	24 15 13
0,003639	02 35 04	0,0026100	02 35 04
0,003817	02 15 16	0,0026070	02 15 16
0,002348	31 40 04	0,0025920	31 40 04
0,001668	02 07 01	0,0025880	02 07 01
0,002403	02 39 08	0,0025485	02 39 08
0,003046	01 35 11	0,0025350	01 35 11
0,002001	02 44 15	0,0025275	02 44 15
0,002049	02 57 07	0,0025075	02 57 07
0,002588	24 15 04	0,0024795	24 15 04
0,001667	24 14 01	0,0024780	24 14 01
0,001365	24 08 03	0,0024570	24 08 03
0,001999	31 39 04	0,0024515	31 39 04
0,002699	68 53 13	0,0024355	68 53 13
0,002839	03 07 11	0,0024325	03 07 11
0,002104	31 35 08	0,0024290	31 35 08
0,002097	02 39 16	0,0023590	02 39 16
0,002792	24 35 14	0,0023335	24 35 14
0,002660	01 51 04	0,0023110	01 51 04
0,003069	24 35 04	0,0022085	24 35 04
0,001425	02 44 01	0,0022020	02 44 01
0,001531	02 15 11	0,0021910	02 15 11
0,002602	24 18 11	0,0021850	24 18 11
0,000440	02 35 13	0,0021730	02 35 13
0,001450	03 14 01	0,0021660	03 14 01
0,001510	02 51 01	0,0021040	02 51 01
0,002506	01 15 13	0,0020705	01 15 13
0,003768	02 15 01	0,0020555	02 15 01
0,001534	02 51 14	0,0020465	02 51 14
0,001922	02 49 04	0,0020445	02 49 04
0,001810	02 15 07	0,0020055	02 15 07
0,001957	68 15 03	0,0019980	68 15 03
0,002734	31 51 04	0,0019260	31 51 04
0,001457	03 07 04	0,0018750	03 07 04
0,002030	24 51 11	0,0018290	24 51 11

0,001753	11 35 11	0,0017665	11 35 11
0,001886	26 38 11	0,0017585	26 38 11
0,002705	24 35 07	0,0017470	24 35 07
0,001245	02 15 14	0,0017425	02 15 14
0,002057	02 35 08	0,0017420	02 35 08
0,001787	02 27 01	0,0017305	02 27 01
0,000705	03 35 13	0,0017115	03 35 13
0,001836	03 08 03	0,0016865	03 08 03
0,001820	31 15 08	0,0016825	31 15 08
0,001203	02 39 04	0,0016760	02 39 04
0,001210	02 15 08	0,0016635	02 15 08
0,001946	68 15 04	0,0016595	68 15 04
0,001639	11 35 14	0,0016570	11 35 14
0,001770	01 37 10	0,0016535	01 37 10
0,001959	68 15 15	0,0016380	68 15 15
0,001760	02 40 11	0,0016330	02 40 11
0,000866	02 52 15	0,0016325	02 52 15
0,001661	24 15 11	0,0016145	24 15 11
0,002596	02 51 15	0,0016010	02 51 15
0,001203	23 07 15	0,0016005	23 07 15
0,001667	24 35 13	0,0015990	24 35 13
0,001810	32 35 11	0,0015915	32 35 11
0,000789	03 14 04	0,0015815	03 14 04
0,002795	30 14 15	0,0015725	30 14 15
0,002130	26 38 04	0,0015525	26 38 04
0,000695	31 35 16	0,0015525	31 35 16
0,001322	03 35 15	0,0015445	03 35 15
0,001669	03 51 11	0,0015405	03 51 11
0,002468	11 49 04	0,0015335	11 49 04
0,001392	11 08 03	0,0015265	11 08 03
0,001253	32 14 07	0,0015185	32 14 07
0,001517	31 35 04	0,0015155	31 35 04
0,001684	24 40 16	0,0014975	24 40 16
0,001956	24 15 08	0,0014925	24 15 08
0,001560	01 52 15	0,0014895	01 52 15
0,001654	29 44 13	0,0014830	29 44 13
0,001355	24 44 13	0,0014795	24 44 13
0,001151	02 38 13	0,0014675	02 38 13
0,000760	02 44 16	0,0014590	02 44 16
0,001473	24 38 13	0,0014525	24 38 13
0,000423	03 07 13	0,0014520	03 07 13
0,000451	02 51 03	0,0014305	02 51 03
0,000742	31 15 04	0,0014210	31 15 04
0,001567	01 57 04	0,0013920	01 57 04
0,000341	24 52 15	0,0013845	24 52 15
0,001280	03 15 11	0,0013790	03 15 11
0,002526	24 40 04	0,0013765	24 40 04
0,001337	30 42 08	0,0013620	30 42 08
0,001736	31 35 14	0,0013605	31 35 14
0,001808	11 14 01	0,0013440	11 14 01
0,000674	02 51 16	0,0013435	02 51 16

0,000945	02 39 14	0,0013275	02 39 14
0,000938	68 07 15	0,0013210	68 07 15
0,000887	23 49 13	0,0013210	23 49 13
0,001140	24 44 07	0,0013065	24 44 07
0,001031	01 08 13	0,0013030	01 08 13
0,001666	02 49 11	0,0013025	02 49 11
0,001167	02 35 16	0,0013025	02 35 16
0,001252	24 45 10	0,0013015	24 45 10
0,000682	29 44 11	0,0013000	29 44 11
0,002024	02 45 13	0,0012915	02 45 13
0,000190	01 18 07	0,0012840	01 18 07
0,000913	03 44 07	0,0012790	03 44 07
0,001636	74 15 13	0,0012780	74 15 13
0,001600	23 44 13	0,0012765	23 44 13
0,001818	32 40 13	0,0012725	32 40 13
0,000489	11 35 04	0,0012700	11 35 04
0,001800	34 44 15	0,0012695	34 44 15
0,000754	68 51 13	0,0012685	68 51 13
0,000841	02 44 12	0,0012550	02 44 12
0,001236	03 35 04	0,0012520	03 35 04
0,000963	24 39 08	0,0012490	24 39 08
0,001035	03 15 13	0,0012460	03 15 13
0,001448	02 58 13	0,0012385	02 58 13
0,001314	03 18 13	0,0012385	03 18 13
0,001224	11 44 07	0,0012320	11 44 07
0,001521	01 08 07	0,0012280	01 08 07
0,000834	33 14 03	0,0011975	33 14 03
0,001822	23 15 11	0,0011875	23 15 11
0,001141	01 44 04	0,0011815	01 44 04
0,001338	30 57 13	0,0011765	30 57 13
0,000952	03 35 07	0,0011700	03 35 07
0,001273	11 27 01	0,0011650	11 27 01
0,001569	03 27 01	0,0011630	03 27 01
0,000679	01 35 13	0,0011575	01 35 13
0,000379	68 14 01	0,0011565	68 14 01
0,001676	01 07 15	0,0011545	01 07 15
0,001065	33 14 07	0,0011495	33 14 07
0,000916	03 07 07	0,0011425	03 07 07
0,001511	02 14 07	0,0011405	02 14 07
0,001588	23 49 11	0,0011290	23 49 11
0,001093	11 07 15	0,0011285	11 07 15
0,000914	11 51 13	0,0011275	11 51 13
0,001398	11 35 13	0,0011255	11 35 13
0,001373	66 58 13	0,0011255	66 58 13
0,000907	01 58 13	0,0011205	01 58 13
0,001768	02 50 13	0,0011170	02 50 13
0,001466	30 08 03	0,0011155	30 08 03
0,001160	32 44 11	0,0011125	32 44 11
0,001098	24 44 01	0,0011095	24 44 01
0,001270	33 58 13	0,0011065	33 58 13
0,001532	02 50 04	0,0011035	02 50 04

0,000574	02 41 13	0,0011035	02 41 13
0,000540	24 39 16	0,0011000	24 39 16
0,000887	11 35 07	0,0010975	11 35 07
0,000797	02 49 13	0,0010875	02 49 13
		0,0010860	02 58 11
0,001107	24 35 01	0,0010855	24 35 01
0,001830	01 35 04	0,0010850	01 35 04
0,001382	01 08 15	0,0010795	01 08 15
0,001010	23 41 07	0,0010780	23 41 07
0,000850	02 50 03	0,0010760	02 50 03
0,000774	03 51 04	0,0010710	03 51 04
0,000916	11 52 15	0,0010665	11 52 15
0,001647	01 44 07	0,0010645	01 44 07
0,000873	02 18 04	0,0010600	02 18 04
0,000771	31 51 13	0,0010580	31 51 13
0,002052	36 53 11	0,0010535	36 53 11
0,000532	31 15 16	0,0010500	31 15 16
0,000911	02 53 13	0,0010475	02 53 13
0,000923	68 44 11	0,0010440	68 44 11
0,001572	02 15 15	0,0010375	02 15 15
0,000622	24 18 03	0,0010295	24 18 03
0,000797	24 35 16	0,0010260	24 35 16
0,000296	01 08 11	0,0010250	01 08 11
0,000960	34 08 03	0,0010215	34 08 03
0,000493	68 14 13	0,0010175	68 14 13
0,001545	24 39 04	0,0010160	24 39 04
0,000882	24 13 07	0,0010100	24 13 07
0,000996	30 15 11	0,0010090	30 15 11

Tabela 17 - Haplótipos identificados no RENACORD (n=231) com frequência superior a 0,001 em comparação com o REREME.

REREME		RENACORD	
FREQUÊNCIA	HAPLÓTIPO	FREQUÊNCIA	HAPLÓTIPO
0.021095	01 08 03	0.021063	01 08 03
0.015833	29 44 07	0.012628	29 44 07
0.011679	03 07 15	0.010479	03 07 15
0.005456	24 35 11	0.009858	24 35 11
0.007536	33 14 01	0.009794	33 14 01
0.005320	02 51 08	0.008573	02 51 08
0.005237	02 18 11	0.008256	02 18 11
0.005802	03 35 01	0.008122	03 35 01
0.007751	02 07 15	0.008025	02 07 15
0.006346	11 35 01	0.007988	11 35 01
0.007983	02 44 04	0.007847	02 44 04
0.007868	02 44 07	0.007754	02 44 07
0.003950	02 44 11	0.006700	02 44 11
0.007977	02 44 13	0.006645	02 44 13
0.001756	03 35 11	0.006623	03 35 11
0.004365	30 13 07	0.006423	30 13 07

0.003469	30 18 03	0.005925	30 18 03
0.004862	02 51 11	0.005552	02 51 11
0.004986	02 50 07	0.005312	02 50 07
0.004043	02 51 04	0.005178	02 51 04
0.006425	02 51 13	0.005097	02 51 13
0.003046	01 35 11	0.004736	01 35 11
0.006001	23 44 07	0.004694	23 44 07
0.005802	02 15 04	0.004676	02 15 04
0.004205	02 18 03	0.004384	02 18 03
0.005091	01 57 07	0.004356	01 57 07
0.002839	03 07 11	0.004274	03 07 11
0.003646	02 08 03	0.004064	02 08 03
0.002749	02 15 13	0.004007	02 15 13
0.003247	02 35 01	0.003979	02 35 01
0.004422	24 07 15	0.003979	24 07 15
0.002143	02 35 11	0.003942	02 35 11
0.001365	24 08 03	0.003853	24 08 03
0.002130	26 38 04	0.003773	26 38 04
0.002348	31 40 04	0.003764	31 40 04
0.002699	68 53 13	0.003701	68 53 13
0.004528	02 40 04	0.003641	02 40 04
0.003209	02 40 13	0.003560	02 40 13
0.000341	24 52 15	0.003522	24 52 15
0.002596	02 51 15	0.003451	02 51 15
0.001667	24 14 01	0.003451	24 14 01
0.000916	11 52 15	0.003448	11 52 15
0.002660	01 51 04	0.003313	01 51 04
0.002506	01 15 13	0.003172	01 15 13
0.001163	24 07 01	0.003162	24 07 01
0.004088	02 14 01	0.003135	02 14 01
0.003768	02 15 01	0.003119	02 15 01
0.001270	33 58 13	0.003090	33 58 13
0.002049	02 57 07	0.003011	02 57 07
0.001922	02 49 04	0.002982	02 49 04
0.003493	02 13 07	0.002948	02 13 07
0.004559	30 42 03	0.002946	30 42 03
0.003354	24 15 13	0.002942	24 15 13
		0.002829	02 58 11
0.002828	02 35 14	0.002796	02 35 14
0.001654	29 44 13	0.002778	29 44 13
0.001473	24 38 13	0.002747	24 38 13
0.001667	24 35 13	0.002744	24 35 13
0.001086	02 07 13	0.002742	02 07 13
0.001253	32 14 07	0.002697	32 14 07
0.001450	03 14 01	0.002686	03 14 01
0.002001	02 44 15	0.002660	02 44 15
0.001647	01 44 07	0.002602	01 44 07
0.002403	02 39 08	0.002579	02 39 08
0.000679	01 35 13	0.002485	01 35 13
0.000598	68 44 13	0.002432	68 44 13
0.002097	02 39 16	0.002423	02 39 16

0.002654	68 40 04	0.002396	68 40 04
0.001532	02 50 04	0.002333	02 50 04
0.001510	02 51 01	0.002326	02 51 01
0.001167	02 35 16	0.002302	02 35 16
0.002734	31 51 04	0.002288	31 51 04
0.004019	31 39 08	0.002255	31 39 08
		0.002254	02 39 13
0.002872	25 18 15	0.002253	25 18 15
0.001588	23 49 11	0.002229	23 49 11
0.003234	02 35 03	0.002168	02 35 03
0.002602	24 18 11	0.002158	24 18 11
0.003573	02 51 07	0.002155	02 51 07
0.001600	23 44 13	0.002145	23 44 13
0.001787	02 27 01	0.002135	02 27 01
0.002705	24 35 07	0.002123	24 35 07
0.001835	02 35 12	0.002119	02 35 12
0.002497	26 38 13	0.002113	26 38 13
0.000662	02 40 08	0.002111	02 40 08
0.001140	24 44 07	0.002102	24 44 07
0.001151	02 38 13	0.002094	02 38 13
0.001322	03 35 15	0.002077	03 35 15
0.003639	02 35 04	0.002054	02 35 04
0.000749	23 41 11	0.002047	23 41 11
0.003069	24 35 04	0.002041	24 35 04
0.000163	30 44 07	0.002030	30 44 07
0.000518	11 38 13	0.002027	11 38 13
0.000379	68 14 01	0.002022	68 14 01
0.001425	02 44 01	0.002003	02 44 01
0.000766	02 49 01	0.001994	02 49 01
0.001301	03 51 13	0.001979	03 51 13
0.000866	02 52 15	0.001967	02 52 15
0.001666	02 49 11	0.001960	02 49 11
0.001669	03 51 11	0.001942	03 51 11
0.000308	30 35 13	0.001940	30 35 13
0.001569	03 27 01	0.001931	03 27 01
0.000263	02 07 08	0.001929	02 07 08
0.001639	11 35 14	0.001919	11 35 14
0.001224	11 44 07	0.001916	11 44 07
0.000440	02 35 13	0.001912	02 35 13
0.001448	02 58 13	0.001912	02 58 13
0.001684	24 40 16	0.001896	24 40 16
0.000399	68 15 13	0.001894	68 15 13
0.000884	26 14 01	0.001887	26 14 01
0.001141	01 44 04	0.001879	01 44 04
0.002030	24 51 11	0.001854	24 51 11
0.001818	32 40 13	0.001842	32 40 13
0.001388	24 51 04	0.001838	24 51 04
0.000797	24 35 16	0.001815	24 35 16
0.000268	02 15 03	0.001809	02 15 03
0.001123	23 14 01	0.001805	23 14 01
0.001373	66 58 13	0.001797	66 58 13

0.000856	01 57 13	0.001793	01 57 13
0.001031	24 40 08	0.001792	24 40 08
0.000050	03 15 03	0.001781	03 15 03
0.000604	11 51 07	0.001781	11 51 07
0.000407	68 15 01	0.001763	68 15 01
0.000938	68 07 15	0.001751	68 07 15
0.001336	29 15 13	0.001711	29 15 13
0.001359	02 40 15	0.001691	02 40 15
0.000423	03 07 13	0.001683	03 07 13
0.001399	68 35 04	0.001683	68 35 04
0.001203	02 39 04	0.001674	02 39 04
0.000031	02 27 15	0.001652	02 27 15
0.001093	11 07 15	0.001646	11 07 15
		0.001626	31 51 11
0.000250	23 45 07	0.001613	23 45 07
0.000489	11 35 04	0.001611	11 35 04
0.001753	11 35 11	0.001599	11 35 11
0.000602	26 44 11	0.001598	26 44 11
0.003015	02 48 09	0.001591	02 48 09
0.001661	24 15 11	0.001572	24 15 11
0.001398	11 35 13	0.001569	11 35 13
0.001457	03 07 04	0.001550	03 07 04
0.001160	32 44 11	0.001535	32 44 11
		0.001533	02 27 07
0.000774	03 51 04	0.001528	03 51 04
0.000682	29 44 11	0.001523	29 44 11
0.002104	31 35 08	0.001485	31 35 08
0.000735	24 44 11	0.001457	24 44 11
0.000393	29 14 07	0.001455	29 14 07
0.001517	31 35 04	0.001448	31 35 04
0.000850	02 50 03	0.001447	02 50 03
0.000715	29 45 11	0.001446	29 45 11
0.000045	11 51 14	0.001432	11 51 14
0.000558	68 51 11	0.001432	68 51 11
0.001836	03 08 03	0.001421	03 08 03
0.000754	68 51 13	0.001412	68 51 13
		0.001409	33 44 13
0.000709	01 35 15	0.001401	01 35 15
		0.001396	23 18 11
0.001800	34 44 15	0.001394	34 44 15
0.001567	01 57 04	0.001390	01 57 04
0.000574	02 41 13	0.001384	02 41 13
0.002024	02 45 13	0.001380	02 45 13
0.001534	02 51 14	0.001364	02 51 14
0.000521	03 49 04	0.001360	03 49 04
0.000499	68 35 08	0.001356	68 35 08
0.000487	02 38 11	0.001317	02 38 11
0.000437	02 41 03	0.001307	02 41 03
0.001263	26 07 15	0.001305	26 07 15
0.001560	01 52 15	0.001304	01 52 15
		0.001292	68 15 11

0.000882	68 35 13	0.001292	68 35 13
0.001035	26 44 04	0.001290	26 44 04
		0.001286	24 07 04
0.001189	02 51 09	0.001271	02 51 09
0.000911	02 53 13	0.001256	02 53 13
0.000771	24 07 13	0.001251	24 07 13
0.001959	68 15 15	0.001246	68 15 15
0.001010	23 41 07	0.001245	23 41 07
0.001562	68 51 07	0.001244	68 51 07
0.000508	29 07 15	0.001232	29 07 15
0.000372	30 13 01	0.001232	30 13 01
0.000607	02 58 03	0.001216	02 58 03
0.000916	03 07 07	0.001214	03 07 07
0.001627	33 14 15	0.001208	33 14 15
		0.001206	03 35 12
0.000882	24 13 07	0.001202	24 13 07
0.000383	23 08 11	0.001196	23 08 11
0.000669	01 13 07	0.001188	01 13 07
0.000369	29 44 03	0.001188	29 44 03
		0.001188	33 58 03
0.000495	24 40 11	0.001187	24 40 11
0.001008	02 40 07	0.001184	02 40 07
0.002795	30 14 15	0.001181	30 14 15
0.000292	03 27 11	0.001175	03 27 11
0.000945	02 39 14	0.001166	02 39 14
0.001389	02 44 03	0.001165	02 44 03
0.000069	26 55 14	0.001160	26 55 14
0.000359	01 07 04	0.001151	01 07 04
		0.001151	03 15 04
		0.001151	31 51 01
0.000197	32 14 01	0.001147	32 14 01
0.001946	68 15 04	0.001140	68 15 04
0.000400	02 45 11	0.001136	02 45 11
0.001183	30 58 15	0.001136	30 58 15
0.000099	03 38 07	0.001127	03 38 07
0.000742	31 15 04	0.001113	31 15 04
0.000195	33 14 13	0.001113	33 14 13
		0.001099	66 15 07
0.001338	30 57 13	0.001097	30 57 13
0.000306	01 07 13	0.001086	01 07 13
0.000443	68 15 16	0.001084	68 15 16
0.000211	03 15 10	0.001083	03 15 10
0.001273	11 27 01	0.001082	11 27 01
		0.001080	26 35 14
0.000103	02 41 01	0.001070	02 41 01
0.001382	01 08 15	0.001068	01 08 15
0.001031	01 08 13	0.001065	01 08 13
0.000354	11 44 12	0.001062	11 44 12
0.000983	29 13 01	0.001060	29 13 01
		0.001057	68 53 11
0.000065	32 51 13	0.001041	32 51 13

0.000540	24 39 16	0.001030	24 39 16
0.001820	31 15 08	0.001030	31 15 08
0.000773	31 07 15	0.001028	31 07 15
		0.001023	03 38 04
0.001521	01 08 07	0.001014	01 08 07
0.001171	33 14 11	0.001014	33 14 11
0.000408	02 55 14	0.001012	02 55 14
0.000473	02 40 14	0.001008	02 40 14
0.001511	02 14 07	0.001006	02 14 07
0.001760	02 40 11	0.001006	02 40 11
0.000923	68 44 11	0.001003	68 44 11
0.000918	02 07 04	0.001001	02 07 04

Se aumentarmos o ponto de corte para as comparações entre as frequências dos grupos alélicos do REREME/REDOME e REREME/RENACORD respectivamente para 0,5% de frequência, identificamos maior coerência ainda entre os registros (tabelas 18 e 19).

Tabela 18 - Haplótipos com frequência superior a 0,005 no REDOME em comparação com o REREME (n=19).

REREME		REDOME	
FREQUÊNCIA	HAPLÓTIPO	FREQUÊNCIA	HAPLÓTIPO
0.021095	01 08 03	0.0224295	01 08 03
0.015833	29 44 07	0.0149775	29 44 07
0.011679	03 07 15	0.0103755	03 07 15
0.007983	02 44 04	0.0083225	02 44 04
0.007536	33 14 01	0.0080750	33 14 01
0.007751	02 07 15	0.0074715	02 07 15
0.005802	03 35 01	0.0072635	03 35 01
0.007868	02 44 07	0.0072245	02 44 07
0.006346	11 35 01	0.0071575	11 35 01
0.006001	23 44 07	0.0062960	23 44 07
0.007977	02 44 13	0.0060350	02 44 13
0.004862	02 51 11	0.0060245	02 51 11
0.004986	02 50 07	0.0057970	02 50 07
0.005802	02 15 04	0.0057655	02 15 04
0.005456	24 35 11	0.0056185	24 35 11
0.006425	02 51 13	0.0055230	02 51 13
0.005320	02 51 08	0.0054775	02 51 08
0.005237	02 18 11	0.0053140	02 18 11
0.005091	01 57 07	0.0051995	01 57 07

Tabela 19 - Haplótipos com frequência superior a 0,005 no RENACORD (n=21) em comparação com o REREME.

REREME		RENACORD	
FREQUÊNCIA	HAPLÓTIPO	FREQUÊNCIA	HAPLÓTIPO
0.021095	01 08 03	0.021063	01 08 03
0.015833	29 44 07	0.012628	29 44 07
0.011679	03 07 15	0.010479	03 07 15
0.005456	24 35 11	0.009858	24 35 11
0.007536	33 14 01	0.009794	33 14 01
0.005320	02 51 08	0.008573	02 51 08
0.005237	02 18 11	0.008256	02 18 11
0.005802	03 35 01	0.008122	03 35 01
0.007751	02 07 15	0.008025	02 07 15
0.006346	11 35 01	0.007988	11 35 01
0.007983	02 44 04	0.007847	02 44 04
0.007868	02 44 07	0.007754	02 44 07
0.007977	02 44 13	0.006645	02 44 13
0.001756	03 35 11	0.006623	03 35 11
0.004365	30 13 07	0.006423	30 13 07
0.003469	30 18 03	0.005925	30 18 03
0.004862	02 51 11	0.005552	02 51 11
0.004986	02 50 07	0.005312	02 50 07
0.004043	02 51 04	0.005178	02 51 04
0.006425	02 51 13	0.005097	02 51 13
0.003950	02 44 11	0.006700	02 44 11

É interessante notar que os haplótipos mais frequentes (>1%) não são formados pelos alelos mais frequentes, sendo os haplótipos A*02B*35DRB1*11 e A*02B*35DRB1*13 - que supostamente seriam alguns dos haplótipos mais frequentes – encontrados em uma frequência de 0,003.

IV.4. Identificação de haplótipos presentes somente no REREME.

Foi também realizada uma análise comparativa entre as frequências mais baixas encontradas nos Registros. Na comparação entre REREME e REDOME é possível observar que nos haplótipos com frequências abaixo de 0,271% presentes no REREME, muitos não encontram doadores no REDOME nem no RENACORD. No total dos haplótipos listados no REREME, 123 não foram identificados em nenhum dos dois Registros de doadores.

Com estes haplótipos foi realizada uma busca em novembro de 2010 e destes 123, 48 indivíduos apresentaram haplótipos que não foram encontrados mesmo em uma amostragem de mais de 1.800.000 doadores. Os outros foram encontrados em 1 a 3 indivíduos, constituindo-se então em haplótipos raros em nossa população.

Foi realizada uma nova verificação no cadastro do REREME a fim de obter maiores informações dos pacientes que mostraram estes haplótipos. Na tabela 20 apresentamos os dados dos 48 pacientes relativos a etnia, unidade da federação onde foi realizado o cadastro, naturalidade e tipificação HLA. Estas informações são de fundamental importância na identificação desta população não representada no REDOME, tornando-se, assim, alvos de investigação específica para a complementação da diversidade étnica do Registro.

Tabela 20 - Haplótipos existentes no banco de dados do REREME e inexistentes no cadastro do REDOME (n = 48 de 123).

RMR	COR DE PELE	RESIDÊNCIA	NATURALIDADE	HAPLÓTIPO 1	HAPLÓTIPO 2
2805	PARDA			01 07 07	23 82 10
9677	BRANCA	SP	SP	01 08 17	34 37 01
7225	PARDA	RO	RO	01 08 17	34 39 12
6323	BRANCA	MA		01 61 13	31 49 14
2251	BRANCA	SP		02 07 15	34 37 09
3338	BRANCA	RS		02 14 07	32 37 10
1576	PRETA	BA		02 15 04	33 49 09
3000	BRANCA	RJ		02 18 03	30 37 16
3339	BRANCA			02 27 01	29 56 11
202	PARDA	SP	PI	02 27 01	69 35 10
9523	PARDA	SP	SP	02 35 01	31 49 16
1716	BRANCA	MG		02 35 03	30 67 07
1343	BRANCA			02 35 03	33 42 04
2253	BRANCA	SP		02 35 14	24 46 14
1027	PARDA	RS		02 48 07	23 41 09
896	BRANCA		RS	02 48 07	23 41 09
2869	AMARELA	PE		02 62 04	11 46 09
6949	BRANCA	SP	SP	02 65 01	29 56 08
8163	BRANCA	SP	SP	02 75 01	31 49 16
989	BRANCA	SP	SP	03 35 01	69 57 04
1229	BRANCA			03 44 07	25 51 12
8707	BRANCA	RJ	RJ	11 13 01	24 35 07
7456	BRANCA	SP	SP	11 13 01	30 27 07
7761	PARDA	BA	BA	11 13 01	30 62 18
8042	PARDA	PE	PE	11 35 01	66 57 16
384	BRANCA	SP		11 51 15	69 53 13
6318	AMARELA			11 58 12	33 62 17
9161	PRETA	RJ	RJ	23 40 03	31 41 04
6640	PARDA	SP	SP	23 40 03	68 45 13
866		RJ		24 07 11	80 52 16
9667	BRANCA	SP	SP	24 13 13	30 37 16
1621	BRANCA			24 35 18	33 42 04
9762	BRANCA	RS	RS	24 39 04	31 50 14
7469	BRANCA	RS	RS	25 18 11	66 81 14
2946	BRANCA	PR		25 57 04	02 51 08
6479	BRANCA	MG	MG	26 38 11	30 41 12
7385	BRANCA	RS	RS	26 38 11	31 50 11
1465	BRANCA	RS	RS	26 48 01	31 15 11
8623	BRANCA	SP	SP	26 65 01	74 81 08
6497	BRANCA	RS	RS	29 38 08	29 51 13
9189	PARDA	MA	MA	30 27 03	32 42 11
8428	BRANCA	MA	MA	30 48 11	31 49 16
7789	BRANCA	PA	ES	30 62 07	74 51 09
6939	PARDA	RJ	RJ	33 44 04	34 49 14
9672	PRETA	SP	SP	36 07 01	68 45 15
596	PRETA	GO		36 58 15	69 35 10
6827	BRANCA	RS	RS	68 35 04	69 53 13

RMR – código de cadastro do REREME.

Os haplótipos nas caixas amarelas são os inexistentes no cadastro do REDOME.

A análise dos haplótipos presentes nestes pacientes mostra que vários grupos alélicos estão envolvidos (16 HLA-A*, 18 HLA-B* e todos os HLA-DBR1*). No entanto, somente 4 HLA-A* e 5 HLA-B* (A*69, A*34, A*66, A*80; B*46, B*56, B*67, B*81, B*82) correspondem aos alelos menos frequentes de nossa população descritos na tabela 15. Isto sugere que possivelmente um desequilíbrio de ligação ocorre nestes casos.

É interessante notar que as frequências preditas para estes haplótipos estão de acordo com a presença de um haplótipo de um indivíduo cadastrado no REREME (+/-0,01%), o que foi verdadeiro na maioria dos casos. No entanto alguns haplótipos foram encontrados em mais de um paciente, como destacado na tabela 21, a seguir.

Tabela 21 – Haplótipos raros encontrados em mais de um paciente no REREME.

RMR	COR DE PELE	RESIDENCIA	NATURALIDADE	HAPLÓTIPO 1	HAPLÓTIPO 2
3000	BRANCA	RJ		02 18 03	30 37 16
9667	BRANCA	SP	SP	24 13 13	30 37 16
8163	BRANCA	SP	SP	02 75 01	31 49 16
9523	PARDA	SP	SP	02 35 01	31 49 16
1027	PARDA	RS		02 48 07	23 41 09
896	BRANCA		RS	02 48 07	23 41 09
8707	BRANCA	RJ	RJ	11 13 01	24 35 07
7456	BRANCA	SP	SP	11 13 01	30 27 07
7761	PARDA	BA	BA	11 13 01	30 62 18
384	BRANCA	SP		11 51 15	69 53 13
6827	BRANCA	RS	RS	68 35 04	69 53 13
9161	PRETA	RJ	RJ	23 40 03	31 41 04
6640	PARDA	SP	SP	23 40 03	68 45 13

RMR – código de cadastro do REREME.

Os haplótipos raros estão indicados em negrito.

Estes dados indicam uma provável ligação destes haplótipos com doença que necessita ser mais bem investigada.

Uma análise preliminar no Banco de Dados do REREME verificou que os pacientes RMR 3000 e RMR 9667 compartilham o diagnóstico de Leucemia Linfóide Aguda enquanto os pacientes RMR 1027 e RMR 896 apresentaram como doença de base a Anemia Aplástica. O significado destas concordâncias deverá ser melhor avaliado numa coorte de pacientes com estas doenças para verificarmos se existe correlação com combinações de alelos ou alelos em separado.

Apesar da naturalidade e possível etnia destes pacientes, a identificação da origem do alelo pode representar um importante achado para se obter um

número razoável de doadores que permitam a compatibilidade desejada para o transplante.

IV.5. Avaliação da origem geográfica dos haplótipos só encontrados no REREME.

Inicialmente investigamos a origem geográfica dos haplótipos só encontrados no REREME (em mais de um paciente). Para isto foi consultado o site www.allelefrequencies.net, que mantém a compilação atualizada (última atualização em 01/01/2011) de todas as frequências de alelos e haplótipos já descritos na literatura.

Na tabela 22 estão descritas as origens de cada grupo alélico já que estes haplótipos nunca foram encontrados antes.

Tabela 22 – Origem geográfica dos alelos raros identificados em mais de um paciente cadastrado no REREME.

ALELO	FREQUÊNCIA		ORIGEM
	REDOME/REREME (%)		
A*11	5,3 / 5,4		Ásia / Oceania
A*23	4,9 / 5,2		África
A*30	5,1 / 5,9		Norte da África / Europa Mediterrânea
A*31	4,5 / 4,3		Japão e tríplice fronteira
A*69	0,2 / 0,3		Disseminado com baixa frequência
B*13	2,1 / 1,6		Ásia / Oceania
B*37	1,0 / 0,9		Disseminado com baixa frequência
B*40	4,4 / 4,6		Ásia/Oceania(Costa Pacífico) /Américas (Costa do Pacífico)
B*41	2,0 / 1,2		República Checa / Norte da África
B*49	3,3 / 3,0		Europa Ocidental / América do Sul
B*53	2,3 / 2,6		África / afro-americanos
DRB1*01	10,2 / 9,6		Europa Ocidental
DRB1*03	9,2 / 9,9		Europa Ocidental / Irã
DRB1*09	1,5 / 1,9		Ásia / Oceania
DRB1*13	14,0 / 12,8		Europa / Ásia
DRB1*16	3,7 / 3,3		Brasil (índios guaranis)

Estes dados sugerem que os pacientes RMR3000 e RMR9667 tenham uma ancestralidade ou do Norte da África ou da Europa Mediterrânea. Assim sendo, e levando-se em conta a colonização brasileira rica em imigrantes destas regiões e alta frequência em nossa população dos alelos presentes em seus haplótipos é provável um desequilíbrio de ligação entre os alelos A*30 e B*37. Isto parece ser confirmado pela ausência do haplótipo A*30B*37DRB1*16 no mundo. Cabe lembrar que o alelo DRB1*16 é mais freqüente em índios guaranis.

Os pacientes RMR8163 e RMR9523, por outro lado, parecem ser descendentes de uma miscigenação entre asiáticos (japoneses), europeus e guaranis.

Os pacientes RMR1027 e RMR896 mostram uma miscigenação entre africanos (negróides) e possivelmente ciganos ou muçulmanos do norte da África.

Os pacientes RMR8707, RMR7456 e RMR7761 são originários de uma miscigenação de asiáticos com europeus, enquanto os pacientes RMR384 e RMR6872 descendem de uma miscigenação entre africanos (negróides) e eurásianos.

Finalmente os pacientes RMR9161 e RMR6640 descendem de africanos (negróides), asiáticos e europeus.

Com estas misturas não é difícil entender a falta de doadores em nossos registros. No entanto, estes dados e outros obtidos das análises de todos os pacientes que não encontram doadores podem ajudar a definir estratégias de captação de doadores.

Fica claro que nosso registro, que hoje é composto de 73% de indivíduos que se classificam como brancos e somente 12% de negros e 10% de pardos ou mulatos precisa crescer, incluindo populações negróides e asiáticas, e principalmente com coletas em regiões onde miscigenações destas populações ocorreram, não somente entre eles, mas também com caucasianos. Uma outra população que deve ser atraída para os registros é a de indígenas ou seus mestiços, no entanto devem ser respeitados os aspectos éticos e a legislação que envolvem este grupo étnico.

V. DISCUSSÃO

Um dos pré-requisitos básicos para a realização de um transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH), é a seleção de uma fonte HLA compatível de células progenitoras com o paciente, a fim de reduzir os riscos de reconhecimento alogênico. Este reconhecimento pode levar à rejeição do enxerto, ao aumento da incidência de doença do enxerto contra o hospedeiro, ao comprometimento da recuperação imunológica e ao aumento da toxicidade relacionada ao transplante. Todos os genes do sistema HLA estão localizados no braço curto do cromossomo 6 em uma região restrita de 4 milhões de pares de bases. A sua relevância prática está principalmente relacionada àqueles *loci* cujos produtos gênicos são proteínas heterodiméricas, expressas na superfície celular, exercendo um papel importante no reconhecimento e na resposta imune. O polimorfismo desses genes HLA (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ) difere significativamente entre populações, tanto nas frequências quanto na presença de alelos e haplótipos particulares à determinados grupos populacionais, tornando estes genes poderosas ferramentas para o estudo da origem da população e do seu grau de miscigenação^{35,51}.

Os Registros de doadores voluntários e os Bancos de SCUP são fontes potenciais de células progenitoras hematopoéticas para os pacientes que não possuem um doador familiar compatível. De acordo com a *WMDA* – World Marrow Donor Association existem 95 Registros formais distribuídos em diferentes países e mais de 500.000 unidades de SCUP armazenadas em Bancos em todo o mundo (www.worldmarrow.org). De acordo com os dados mais recentes, o BMDW – Bone Marrow Donor Worldwide, instituição que congrega 64 Registros em 44 países, possui 14 980 204 doadores cadastrados e 455 364 unidades de SCUP em 44 Bancos de 24 países (www.bmdw.org).

Muitos desses Registros tem recrutado doadores de uma população razoavelmente homogênea enquanto outros, como o REDOME, compreendem contribuições de diferentes origens étnicas. Em qualquer caso, o conhecimento das frequências dos haplótipos e dos parâmetros genéticos relacionados da população em estudo, é relevante para o planejamento estratégico dos Registros de doadores bem como nas decisões tomadas no processo de busca para pacientes individuais com potencial impacto no seu tratamento⁵². Uma vez disponíveis estes parâmetros

podem ser usados para outros propósitos científicos e práticos, variando desde a pesquisa antropológica até testes de paternidade e aplicações forenses similares.

Nosso interesse neste estudo foi investigar a diversidade genética através do sistema HLA dentro de uma população brasileira e entre seguimentos da população. Sob o ponto de vista antropológico, o termo “população” está mais frequentemente baseado em critérios culturais e geográficos. Contudo, para propósitos médicos, por exemplo, podemos considerar uma “população de pacientes” em contraste com “uma população de indivíduos saudáveis” dentro de uma mesma população geral. Alguns métodos estatísticos usados na comparação de populações de diferentes localizações geográficas e origem cultural são aplicáveis, principalmente, se considerarmos estudos que visam à associação com enfermidades⁵³. Frequentemente, os termos população e amostra populacional são usados indistintamente, porém são entidades completamente diferentes.

Uma amostra significa um grupo de indivíduos de uma população definida. Esta amostra pode ser usada para estimar parâmetros desconhecidos da população, como as frequências gênicas. Por outro lado, dependendo do tamanho da amostra e de como ela foi obtida podemos comprometer a acurácia da estimativa. A questão do tamanho da amostra é de suma importância em um estudo de HLA, pois o número de alelos identificados por técnicas de tipificação de alta resolução, cresceu consideravelmente. A maioria das populações, nos *loci* HLA, exibe um alto número de alelos de baixa frequência e a acurácia da estimativa fica comprometida em amostras pequenas. Dependendo do teste estatístico usado, pode ser obtido um resultado falso significativo ou falso não-significativo, ou seja erro tipo I e tipo II, respectivamente. Mesmo com técnicas de tipificação por DNA de alta resolução, os genótipos HLA não podem ser definidos com certeza para um dado locus, devido ao fato de existirem alelos ocultos ou geralmente denominados *blanks* por esta razão deve-se falar em fenótipo e não genótipo de HLA.

As frequências dos grupos alélicos são obtidas por contagem direta e as frequências haplotípicas estimadas pelo algoritmo EM (*Expectation Maximization*), que é usado quando não se sabe a fase gamética e é considerada a metodologia mais eficiente para estas estimativas.

Neste estudo, em função do grande volume de dados analisados em cada um dos cadastros, podemos considerar o tamanho amostral seguro para estimar com mais acurácia as frequências de alelos e haplótipos de HLA na

população brasileira. Como existem amostras separadas de pacientes e indivíduos saudáveis (doadores e unidades de SCUP), esta análise também poderá ser usada no futuro para comparações referentes a enfermidades nos diferentes segmentos da população.

A integração dos Registros Nacionais de Doadores (REDOME), de Receptores (REREME) e de unidades de SCUP armazenadas na rede BRASILCORD (RENACORD), proporcionou a progressiva melhoria, da atividade de busca de doadores não aparentados para os pacientes candidatos a transplante alogênico, sem um doador familiar compatível. A diminuição progressiva da dependência de doadores obtidos nos registros internacionais vem contribuindo para a agilidade do processo bem como para a redução dos custos relativos ao procedimento de busca internacional. Desta forma, é possível o direcionamento destes recursos tanto para a utilização no cenário nacional na infra-estrutura dos Registros como em pesquisa e desenvolvimento tecnológico avançado.

A qualidade dos resultados da tipificação HLA dentro de um Registro é crítica não só para garantir a rapidez na identificação de um doador compatível como também para permitir a análise genética da população do Registro. Esta informação auxilia no desenvolvimento de algoritmos, recrutamento direcionado de doadores e subsequente tipificação HLA, no sentido de orientar o tamanho e a composição do Registro. Enquanto, as metas de muitos registros tem sido o recrutamento de tantos doadores quanto permitam os recursos disponíveis, outros vêm realizando cálculos do tamanho ideal e composição no sentido de otimizar as pesquisas de doadores compatíveis, mantendo-se a relação custo-efetividade. Os padrões mínimos de compatibilidade e a diversidade étnica da população de pacientes para o qual o Registro está direcionado influenciarão diretamente nestes cálculos²⁷.

A possibilidade de encontrarmos um doador compatível em um determinado Registro é proporcional ao número de doadores cadastrados na mesma população de onde se origina o paciente. Muller e colaboradores⁵² demonstraram, em estudo recente, que um Registro necessita apenas 1000 novos doadores para elevar a chance de se encontrar um doador compatível, de 30 para 31%. Quando o Registro atingir 150.000 doadores, 10.000 novos doadores devem ser recrutados para aumentar a chance de 66 para 67% e ao atingir 1.000.000 necessita 100.000 novos doadores para aumentar de 85 para 86%. Estes dados são baseados em níveis de compatibilidade determinados. Para níveis mais complexos e com maior

miscigenação da população, serão necessários Registros maiores para atender à demanda de doadores compatíveis^{23,24,27,52}. Uma tarefa frequente e inerente à atividade dos Registros, inclui a verificação de diferenças e semelhanças genéticas entre duas ou mais populações. Como mencionado na introdução, estas populações podem ser de diferentes origens ou podem representar pacientes e controles para uma determinada enfermidade.

Atualmente, a maioria dos pacientes pode encontrar um doador compatível em nível antigênico para HLA-A, HLA-B e HLA-DR, embora a probabilidade de realmente ter um doador compatível, esteja na dependência da frequência dos haplótipos. Por exemplo, em estudo publicado pelo NMDP (National Marrow Donor Program) e para um determinado período, aproximadamente 83% de pacientes caucasianos e 59% de pacientes Afro-americanos encontraram um doador compatível em nível antigênico para HLA-A e HLA-B e um compatível em nível alélico, em potencial, para HLA-DR neste Registro do NMDP. Se aumentarmos a exigência para o nível alélico nos dois primeiros *loci* e incluirmos o *locus* HLA-C, a probabilidade cai de forma significativa. O impacto da diversidade HLA na probabilidade de um doador compatível é fortemente verificada no caso da população de Afro-americanos e de Hispânicos^{51,60}.

Da mesma forma, apesar de no momento, a probabilidade de se encontrar um doador compatível A B DRB1 (6x6), para um brasileiro no REDOME ser de 70,53%, na primeira fase e em baixa ou intermediária resolução, ainda que representando uma grande melhoria, é insuficiente. Como os requisitos mínimos para a seleção do doador ideal vêm aumentando progressivamente, e hoje requerem compatibilidade superior a 8x8 (HLA-A,-B, -C e -DRB1) em nível de alta resolução, há uma redução desta chance para cerca de 30% apenas. No presente estudo, identificamos ainda um crescimento da participação de doadores de diferentes regiões do país que passa a ter 26,7% oriundos das regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste. Até novembro de 2006, este percentual era de 2,13% apenas, havendo concentração dos doadores nas regiões Sul e Sudeste⁵⁶. O significativo acréscimo de doadores destas regiões onde a miscigenação se mostra mais rica e com a participação mais intensa de indivíduos de etnia indígena, negra, oriental e caucasiana, contribuiu para o aumento da frequência de genótipos específicos e raros em outras populações mundiais. Por outro lado, acontece uma aproximação das características de outras populações de países latino-americanos

que passam a ser beneficiados também pelo crescimento do número e diversidade de doadores do REDOME.

Rodriguez e col⁵⁹, analisando as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas de HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 de 926 doadores colombianos falecidos, observaram que os alelos mais comuns foram A*02, A*24, A*03 A*23, B*35, B*44, DRB1*04, DRB1*13, DRB1*07, DRB1*15, DRB1*01, DRB1*17, DRB1*11, DRB1*08 que são os predominantes na população hispânica e latino-americana dos Estados Unidos. Estes dados correspondem a estudos anteriores em venezuelanos, uruguaios, brasileiros e latino-americanos. As diferenças existentes entre as frequências nos diversos estudos são esperadas devido ao tamanho amostral, técnicas de detecção dos alelos e variações possíveis entre as populações. Ao comparar os distintos haplótipos observados nesta população colombiana, segundo os grupos étnicos, verifica-se que os mais freqüentes correspondem aos grupos étnicos hispânico, latino-americano e caucasiano. Os haplótipos mais frequentes entre os latinos foram A*01B*08, A*02B*35, A*24B*35, A*02B*44, A*03B*07, A*29B*44, dentre outros e que estão entre os 15 mais frequentes da população caucasiana. Na população caucasiana os mais frequentes foram o A*01B*08 e A*02B*44. Entre os haplótipos mais representados em latinos encontramos ainda o B*35DRB1*04 e B*44DRB1*07 e entre os caucasianos o B*08DRB1*03. Este estudo corrobora a miscigenação racial existente na população analisada que é típica de população latino-americana, porém com alto grau de influência caucásica⁵⁹.

Em estudo realizado pelo Registro do Uruguai (SINDOME)³¹, em 2003, foram identificados, em uma amostra de 298 receptores, como os alelos mais prevalentes o A*02 (28,97%), B*35 (12,49%) e DRB1*04 (15,24%). Somente para o *locus* HLA-DRB1 o desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg foi altamente significativo. Os haplótipos mais comuns foram o A*02-B*51, A*02B*07, A*02DR1*01, A*02DR*04, B*08DR*03. Dos haplótipos HLA-A, -B e -DRB1 os mais frequentes foram A*01B*08DR*03 e A*02B*51DR*13. A avaliação pode estar limitada pela amostra e pela técnica utilizada para determinar o maior número de especificidades antigênicas. A análise das combinações alélicas observadas nos receptores de transplante de medula óssea permite examinar alguns dos aspectos substanciais da estimativa das frequências haplotípicas e de sua distribuição amostral. Se considerarmos que o número de haplótipos possíveis está dado pelo produto das frequências alélicas em cada *locus*, o número de haplótipos

teoricamente esperados neste estudo seria de 1034 para HLA-A-B, 330 para HLA-A-DR, de 705 para HLA-B-DR e de 15510 para HLA-A-B-DR. Devido ao tamanho da amostra estudada somente uma fração destes haplótipos pode ser identificada, respectivamente, 210, 137 e 201. Dois fatores são responsáveis por este resultado: o tamanho amostral e o fato de que na população nem sempre estão presentes determinadas combinações haplotípicas³¹.

Em outro artigo publicado, em 2006, foram confirmados os dados anteriores e demonstrada a superposição de informações com as frequências gênicas obtidas de outras populações Latino-Americanas, em especial da Venezuela⁵⁸, do Brasil³⁵ e da Argentina³². Os haplótipos mais frequentes, resultantes da combinação de dois *loci*, demonstraram a origem da população da região Norte e Ocidental da Europa, todos com um significativo desequilíbrio de ligação. Alguns haplótipos de origem africana foram identificados em baixa frequência como A30-B35 e A2-B70, indicando algum grau de miscigenação.

Portanto, nas estimativas de frequências haplotípicas em grandes amostras, fica evidente que é muito pouco provável que todos os haplótipos possíveis possam estar representados em uma população particular. Isto se deve em grande parte à característica da constituição e da estrutura genética própria de cada população.

Na análise dos dados dos Registros Brasileiros, os alelos observados HLA-A*02, A*24, HLA-B*44, B*35, HLA-DRB1*01, DRB1*04, DRB1*07, DRB1*11, DRB1*13 e DRB1*15 estão representados em todos os cadastros, com as maiores frequências (variação de 0,096 a 0,254). As variações nas frequências como já citado, são explicadas por diferença no tamanho da amostra principalmente devido ao número de doadores do REDOME incluídos.

Comparando estes alelos mais frequentes na população brasileira com os encontrados na população colombiana por Rodriguez e col⁵⁹ em 2007, assim como outros estudos realizados na América Latina, vemos que nossa população apresenta em geral os mesmos alelos prioritários, mostrando o mesmo grau de miscigenação com predominância caucasiana. Alguns alelos, principalmente de DRB1, por outro lado, parecem ter origem nos indígenas de cada país como é o caso do DRB1*16 no Brasil.

Nesta análise os haplótipos mais frequentes tanto no REDOME quanto no REREME foram: A*01B*08DRB1*03, A*29B*44DRB1*07, A*03B*07DRB1*15,

A*02B*44DRB1*04 e A*33 B*14 DRB1*01. Sob este aspecto e sem levar em conta as frequências dos haplótipos, que são variáveis com o número de indivíduos nas amostras, podemos afirmar que existe coerência entre os dados apresentados anteriormente na literatura.

Na análise do REREME, REDOME e RENACORD, foram encontrados 21 grupos alélicos de HLA-A, 36 de HLA-B e 13 de HLA-DRB1. Uma grande parte dos alelos foi identificada nos três bancos de dados com frequências aproximadamente semelhantes conforme observado nas tabelas 5,6 e 7. Alcançaram significância estatística, na comparação entre o REREME e o REDOME, ou seja, pacientes em busca de um doador e doadores cadastrados, as frequências obtidas dos alelos HLA-A*03, -A*30, -A*43, -A*69, B*42, B*58, -DRB1*09, -DRB1*15 e -DRB1*16. Na tabela 23 (Anexo I) foram identificadas, através da frequência obtida em amostras de outras populações específicas, a origem destes grupos alélicos e a diversidade étnica relacionada à imigração para diferentes regiões do país. Estas diferenças entre os Registros, no que concerne às frequências dos alelos, podem dificultar a busca de um doador compatível visto que influenciam diretamente a frequência de haplótipos que por combinações específicas podem ser considerados raros. Trata-se de uma das amostras dentro das populações estudadas, que deverá sofrer análise mais aprofundada no sentido de identificar a origem e a possibilidade de recrutamento específico.

Considerando que a frequência teórica dos haplótipos de HLA é produto da frequência dos alelos de cada *locus*, seria possível obter 9828 haplótipos distintos nesta análise. No entanto, foram obtidos 5062 haplótipos HLA-A-B-DRB1 no REDOME, 1985 no REREME e 1322 no RENACORD.

Destes haplótipos que foram identificados no REDOME e REREME, apresentaram frequências superiores a 0,001, 208 haplótipos e apenas 19 com frequência superior a 0,005.

Quanto aos haplótipos identificados no RENACORD, 231 apresentaram-se com frequência superior a 0,001 e 21 com frequência superior a 0,005.

Dos haplótipos listados no REREME, 123 não foram identificados no cadastro do REDOME como demonstrado na Tabela 20. Estas informações são de fundamental importância na identificação desta população não representada no REDOME, tornando-se, assim, alvos de investigação específica para a complementação da diversidade étnica do Registro. Por outro lado podem significar,

como em outros estudos já publicados, dificuldades inerentes à constituição e característica genética da população específica. Muitos destes pacientes terão dificuldades em obter um doador compatível visto que nem mesmo nas populações de origem apresentam frequências elevadas dos alelos o que ocasionarão menor probabilidade da prevalência dos haplótipos.

Os haplótipos não identificados inicialmente no REDOME (887.616 doadores) e presentes no REREME como o HLA-A*01 B*07 DRB1*08 (0,000117), HLA-A* 02 B*07 DRB1*07 (0,001044) e HLA-A* 01B*07 DRB1*15 (0,001676) são descritos, nos portais especializados, em amostras limitadas de populações, respectivamente, EUA – Asiático (f=0,01 / n= 2160), EUA – Asiático (f=0,01 / n=2160) e China (f=0,002 / n= 10000). Apesar de numa busca atualizada (1.900.000 doadores) este haplótipo ter sido encontrado fica claro que também teremos que procurar crescer o número de doadores com estes haplótipos raros. Outros exemplos são haplótipos que não estão sequer listados nos portais e existem no REREME, como: HLA-A*74B*18DRB1*03 (f= 0,001036), HLA-A*68B*35DRB1*09 (f= 0,001588), HLA-A*30B*14DRB1*01(f=0,001141), HLA-A*23B*08DRB1*07 ou ainda os haplótipos descritos na tabela 20 que não foram descritos em nenhuma população já estudada e são necessários para nossos pacientes (www.allelesfrequencies.net).

Neste sentido, a criação dos Bancos de Sangue de Cordão Umbilical - BSCUPs e a sua estruturação em Redes (ex. BrasilCord) será de grande auxílio no atendimento aos pacientes em busca de um doador não aparentado, não só pela agilidade do processo de utilização das unidades bem como pela possibilidade de atender àqueles pacientes com características genéticas (HLA) ausentes ou pouco frequentes no cadastro do REDOME^{7,49-51}.

A análise das frequências de alelos e haplótipos de HLA das unidades de SCUP armazenadas no BrasilCord e no REDOME, fornecerá dados para a continuidade e desenvolvimento destes programas. Estas informações permitirão o direcionamento do processo de captação e coleta de unidades de SCUP a fim de constituir um inventário adequado que atenda às necessidades dos pacientes candidatos a um transplante de células tronco hematopoéticas - TCTH não-relacionado. Contribuirá para o processo de implantação da rede BrasilCord, proporcionando informações estratégicas no estabelecimento de novos bancos em diferentes regiões do país^{7,16,17,18,19,23,24}.

O atual estudo já demonstrou que sem este direcionamento, pelas frequências alélicas e haplotípicas, o crescimento do inventário de unidades de SCUP acompanha as mesmas características e proporções do REDOME. No entanto, as unidades atualmente armazenadas ainda estão limitadas aos Bancos do INCA, do Hosp. Albert Einstein e do Hemocentro de Campinas o que pode ser amplamente modificado com a entrada do funcionamento dos demais bancos. Além disso, nossas análises já indicaram a necessidade de expansão desta rede para regiões do interior do país aonde as miscigenações desejadas são mais frequentes. Já estão previstos, na segunda fase de expansão do BrasilCord, BSCUPs localizados em Mato Grosso do Sul e no Amazonas. Devido às necessidades de infraestrutura, estes bancos serão estabelecidos nas capitais aonde possivelmente ainda existe bastante influência caucasiana. No entanto acoplado a um programa de campanhas para doadores de medula nas regiões da fronteira poderemos obter a representatividade necessária.

Desta forma um abrangente Registro de Doadores Voluntários (REDOME) atuando integrado com a rede BRASILCORD, proporcionará doadores para a maioria dos pacientes candidatos ao transplante, desde de que seus cadastros sejam orientados para uma composição representativa da população brasileira. Além disso, as unidades armazenadas nos bancos de SCUP, por suas propriedades que permitem a flexibilização nos critérios de compatibilidade, podem suprir as deficiências existentes nos registros de doadores voluntários^{9,10,54,55}.

Atualmente um clínico que considere um TCTH não aparentado deve também considerar, em sua escolha, a fonte de células tronco, ou seja, um doador adulto ou uma unidade de sangue de cordão umbilical. No contexto das unidades de SCUP, há que selecionar a mais adequada, não somente pela compatibilidade como pela dose celular. Há menos informação disponível para esclarecer o real papel do HLA prática dos transplantes de SCUP e muitas vezes os resultados são mascarados pelos efeitos da dose celular e seleção de pacientes. A maior parte dos relatos avalia os efeitos de transplantes com unidades de SCUP parcialmente compatíveis em resolução intermediária com nível antigênico para HLA-A e HLA-B e alélico para HLA-DRB1. Mesmo assim, é consenso que para resolução intermediária citada é recomendável uma compatibilidade 5x6 ou 6x6. As unidades 4x6 só devem ser selecionadas na ausência de outras opções e com doses celulares elevadas (>5,0 x10⁷ CNT/kg)⁴⁹.

Finalmente, voltando à questão do tamanho ideal de um Registro ou de como este deve crescer com a otimização dos resultados, afirmamos que com o aumento do Registro, a chance de se obter um doador compatível, para um determinado paciente, sempre aumenta continuamente sem, contudo atingir 100%, para um tamanho realístico, e ao mesmo tempo o custo de um doador fornecido também aumenta. O primeiro fato é uma consequência do polimorfismo extremo do HLA e o segundo da redundância existente nos grandes registros. Desta forma, nenhum tamanho de Registro pode ser considerado apenas pelo lado estritamente matemático mas também pelos limites econômicos impostos. Por outro lado, é uma estratégia interessante otimizar a inclusão e seleção de doadores tipificados HLA-A , -B e -DRB1 mantendo a informação disponível no sistema além de desenvolver ou utilizar aplicativos já existentes para o cálculo das estimativas das frequências de haplótipos. Estes aplicativos auxiliam médicos e pacientes a definir, com agilidade e conhecimento de causa, o melhor tratamento a oferecer para seu paciente, no tempo e com a segurança adequada a fim de obter o melhor resultado.

Como os Registros são dinâmicos e sempre acrescentarão e suprimirão doadores e pacientes participantes, por distintos motivos, entendemos que o cálculo das estimativas das frequências de alelos e haplótipos de HLA, é parte inerente da atividade permanente dos mesmos. Os estudos obtidos sempre contribuirão com dados para o planejamento, estabelecimento, desenvolvimento e manutenção dos Registros de Doadores voluntários, independente de seu tamanho ou constituição populacional.

VI. CONCLUSÕES

- Em 2010 a representatividade do REDOME por regiões do Brasil não difere da origem geográfica dos pacientes inscritos no REREME.
- De 2005 a 2010, o REDOME cresceu de +/- 1000.000 doadores para quase 2.000.000, e com isto a probabilidade de um paciente encontrar um doador compatível (6x6) subiu de 30% para 70%.
- A constituição genética da população brasileira de doadores de medula óssea, calculada em janeiro de 2009 (887.616 doadores) é composta de 21 grupos alélicos HLA-A*, 36 grupos alélicos HLA-B* e 13 grupos alélicos HLA-DRB1*. Esta constituição é a mesma encontrada nos registros do REREME e RENACORD.
- Os grupos alélicos mais frequentes nos três registros são A*02, A*24, A*03, A*01, B*44, B*35, DRB1*01, DRB1*04, DRB1*07, DRB1*11, DRB1*13 E DRB1*15, todos com frequências entre 9% e 26%.
- Seis grupos alélicos HLA-A* e doze grupos alélicos HLA-B* estão representados nos três bancos de dados com frequências menores do que 1%.
- A análise das frequências de haplótipos HLA no REDOME, REREME e RENACORD, identificou 5062 haplótipos com frequências variando de 2,2% a 0,001% no REDOME, 1304 haplótipos distintos no RENACORD com frequências entre 2,2% e 0,01% e 18 com frequências menores. No REREME foram identificados 1985 haplótipos sendo 493 com frequências menores que 0,01%.
- A comparação entre os haplótipos dos três registros identificou no REREME 123 haplótipos que em janeiro de 2009 não estavam representados nos dois registros. Uma busca nos registros atuais (novembro de 2010) verificou que 48 ainda não estavam representados sendo os outros raros.
- Uma análise da origem geográfica destes haplótipos mostrou que eles não foram ainda descritos em nenhuma outra população. A análise dos alelos que compõem estes haplótipos mostra uma miscigenação entre asiáticos, negróides, caucasianos e indígenas.
- Os dados do presente estudo indicam a necessidade de implantação de novos participantes do BRASILCORD em regiões de maior miscigenação como a região Centro-Oeste e Norte. Além disso, campanhas em locais específicos de

nossas fronteiras com os outros países da América do Sul devem ser planejadas.

- Sendo os Registros dinâmicos, uma avaliação periódica das frequências haplotípicas dos três Registros deve ser efetuada, fornecendo subsídios para o contínuo desenvolvimento destes.

VII. REFERÊNCIAS

1. Thomas ED. A History of Bone Marrow Transplantation. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR, eds. Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. 3rded. Malden: Blackwell Publishing 2004: 3-8.
2. Horowitz MM. Uses and Growth of Hematopoietic Cell Transplantation. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR, eds. Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. 3rded. Malden: Blackwell Publishing 2004: 9-15.
3. O'Reilly RJ & Papadoulos EB. Allogeneic Transplantation. In: Holland JF, Frei III E, Bast Jr. RC, Kufe DW, Morton DL, Weichselbaum RR eds. Cancer Medicine. 4thed. Baltimore: Williams & Wilkins 1997: 1295-1324.
4. Martin PJ. Overview of Hematopoietic Cell Transplantation. In Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR eds. Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. 3rded. Malden: Blackwell Publishing 2004: 16-30.
5. Middleton D, Williams F, Meenagh A, Daar AS, Gorodezky C, Hammor M, Nascimento E, Briceno I Perez MP. Analysis of the distribution of HLA-A alleles in populations from five continents. *Hum Immunol* 2000; 61 (10): 1048-1052.
6. Marsh SGE, Ekkehard AD, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA et al. Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens* 2002;60:407-64.
7. Bouzas LFS. Transplante de Medula Óssea em Pediatria e Transplante de Cordão Umbilical. *Medicina Ribeirão Preto* 2000; 33: 241-263.
8. Pimenta JR, Zuccherato LW, Debes AA, Maselli L, Soares RP, Moura-Neto RS, Rocha J, Bydlowski SP, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with Forensic microsatellites. *Hum Hered* 2006; 62(4): 190-5.
9. Pena SD. Reasons for banishing the concept of race from Brazilian medicine. *Hist Cienc Saude Manguinhos* 2005; 12(2): 321-46.
10. Parra C, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SDJ. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:177-82.
11. Mickelson E & Petersdorf EW. Histocompatibility. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR eds. Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. 3rded. Malden: Blackwell Publishing 2004: 31-42.
12. Bicalho MG, Ruiz TM, Costa SMC, Zacarias FR. Haplótipos HLA mais freqüentes em doadores voluntários de medula óssea de Curitiba, Paraná. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2002; 24 (4): 306-309.

13. Mackay I, Rosen FS. The HLA system: First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343:702-9.
14. Ferreira AP & Teixeira HC. Complexo de histocompatibilidade principal. In: Ferreira AP & Teixeira HC eds. *Tópicos de Imunologia Básica*. 1ªed. Juiz de Fora: Central Formulários 2005: 41-50.
15. Moraes ME, Fernandez-Viña M, Salatiel I, Tsai S, Moraes JR, Stastny P. HLA class II DNA Typing in two Brazilian populations. *Tissue Antigens* 1993; 41: 238-242.
16. Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Geraghty DE, Hansen JA, Hurley CK, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI, Townsdalet J. Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. *Tissue Antigens* 2005; 65(4): 301-69.
17. Beatty PG, Mori M, Milford E. Impact of racial genetic polymorphism on the probability of finding an HLA-matched donor. *Transplantation* 1995; 60 (8): 778-783.
18. Mullally & Ritz J. Beyond HLA: the significance of genomic variation for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2007; 109:1355-62.
19. D'Alfonso S, Borelli I, Dall'Omo A, Bolognesi E, Partanen J, Levo A, Pociot F, Fan L, Juji T, Hammond M, Tosi R, Richiardi PM. The natural history of an HLA haplotype and its recombinants. *Immunogenetics* 1998; 48: 8-15.
20. Petersdorf EW, Hansen JA, Martin PJ, Woolfrey A, Malkki M, Gooley T, Storer B, Mickelson E, Smith A, Anasetti C. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic cell transplantation. *N Engl J Med* 2001; 345(25): 1794-800.
21. Hurley CK, Wade JA, Oudshoorn M, Middleton D, Kukuruga D, Navarrete C, Christiansen F, Hegland J, Ren EC, Andersen I, Cleaver SA, Brautbar C, Raffoux C. Histocompatibility testing guidelines for hematopoietic stem cell transplantation using volunteer donors: report from the World Marrow Donor Association. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 119-121.
22. Petersdorf EW, Gooley TA, Anasetti C, Martin PJ, Smith AG, Mickelson EM, Woolfrey AE, Hansen JA. Optimizing outcome after unrelated marrow transplantation by comprehensive matching of HLA class I and II alleles in the donor and recipient. *Blood* 1998; 92(10): 3515-20.

23. Schreuder GM, Hurley CK, Marsh SG, Lau M, fernandez-Vina M, Noreen HJ, Setterholm M, Maiers M, World Marrow Donor Associations Quality Assurance and IT Working Groups, WHO Nomenclature Committee for factors of the HLA system, 13th International Histocompatibility Workshop Serology Components, International Cell Exchange, UCLA, US national Marrow Donor Program. The HLA dictionary 2004: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5 and -DQB1 alleles and their association with serologically-defined HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ antigens. *Tissue Antigens* 2005; 65(1):1-55.
24. Simpson E, Roopenian D. Report of the Second International Symposium on Minor Histocompatibility Antigens: Seattle 2002. In: Hansen JA, Dupont B, eds. *HLA 2002: Immunobiology of the Human MHC (Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop and Conference)*. Seattle, WA: IHWG Press 2002.
25. Pereira NF, Moraes ME, Lima MG. Imunogenética no Transplante de Células-tronco Hematopoéticas. In: Voltarelli JC, Pasquini R, Ortega ETT. *Transplante de Células-tronco Hematopoéticas*. 1^a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2009: 93-113.
26. Murphy K, Travers P, Walport. *Immunobiology*. 7th Ed. Garland: New York, 2008.
27. Lonjou C, Clayton J, Cambon-Thomsen A, Raffoux C. HLA -A, -B, -DR haplotype frequencies in France – Implications for recruitment of potential bone marrow donors. *Transplantation* 1995; 60: 375-383.
28. Ferrara GB, Bacigalupo A, Lamparelli T, Lanino E, Delfino L, Morabito A, Parodi AM, Pera C, Pozzi S, Sormani MP, Bruzzi P, Bordo D, Bolognesi M, Bandini G, Contadini A, Barnbanti M, Frumento G. Bone marrow transplantation from unrelated donors: the impact of mismatches with substitutions at position 116 of the human leucocyte antigen class I heavy chain. *Blood* 2001; 98:3150-5.
29. Schneider S, Kuefer JM, Roeslly D, Excofier L, Arlequin L. A software for population genetics analysis. 2000. University of Geneva.
30. Layrisse Z, Matos M, Montagnani S, Herrera F. The novel HLA-DRB1*0807 allele is present in a Carib Amerindian population: the Yucpa. *Tissue Antigens*. 49(4):427-8, 1997.
31. Bengochea M, Alvarez I, Hidalgo PC, Cabrera A, Senatore O, Toledo R, Carreto E, Sosa M, Abilleira D, Silva E. HLA-A, -B, -DR em receptores de transplante de medula ósea em Uruguay. *Rev Med Uruguay* 2003; 19:149-58.

32. Raimondi E. Argentine Normal. In: HLA 1997. P Terasaki and D W Gjertson, eds.. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory, 327-328.
33. Alvarez I, Bengochea M, Toledo R, Carretto E, Hidalgo PC. HLA Class I Antigen and HLA-A, -B, and -C Haplotype Frequencies in Uruguayans. *Hum Biol* 2006;78(4): 513-25.
34. Grumet FC, Hiraki DD, Brown BWM, Zehnder JL, Zachs ES, Drakshapuru A, Parnes J, Negrin RS. CD31 mismatching affects marrow transplantation outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7: 503-12.
35. Probst CM, Bompeixe EP, Pereira NF, de O'Dalalio MM, Visentainer JI, Tsuneto LT, Petzl-Erler ML. *Hum Biol* 2000; 72 (4): 597-617.
36. Henslee-Downey PJ & Gluckman E. Allogeneic transplantation from donors other than HLA-identical siblings. *Hematology/Oncology Clin N Am* 1999; 13(5): 1017-39.
37. Huang Y, Rezzoug F, Chilton PM, Grimes HL, Cramer DE, Ildstad ST. Matching at the MHC class I K locus is essential for long-term engraftment of purified hematopoietic stem cells: a role for host NK cells in regulating HSC engraftment. *Blood* 2004; 104: 873-80.
38. Dempster AP, Laird NM, Rubin DB. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *J. Royal Statistical Society (Series B – Methodological)* 1977; 39(1): 1-38.
39. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 2005; 1:47-50.
40. Rosales T, Guilherme L, Chiarella J, Marin ML, Rosales C, Melo CP, Goldberg AC, Kalil J. Human leukocyte A and B antigen, gene and haplotype frequencies in the population of the city of São Paulo in Brazil. *Braz J Med Biol Res* 1992; 25 (1): 39-47.
41. Anasetti C, Hansen JA. Effect of HLA incompatibility in marrow transplantation from unrelated and HLA-mismatched related donors. *Transfus Sci* 1994; 15:221-30.
42. Brown J, Poles A, Brown CJ, Contreras M, Navarrete CV. HLA-A, -B, and -DR antigen frequencies of the London Cord Blood Bank units differ from those found in established bone marrow donor registries. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25 (5): 475-481.

43. Sasasaki T, Juj G, Morishima Y et al. Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from unrelated donor. *N Engl J Med* 1998; 339:1177-85.
44. Martin PJ. Applicability of matching for minor histocompatibility antigens in human bone marrow transplantation. In: Roopenian DC, Simpson E, eds. *Minor Histocompatibility Antigens: from the Laboratory to the Clinic*. Georgetown, Washington DC: Landis Bioscience 2000: 97-103.
45. Davey S, Armitage S, Rocha V, Garnier F, Brown J, Brown CJ, Warwick R, Fehily D, Watt S, Gluckman E, Vora A, Contreras M, Navarrete CV. The London Cord Blood Nbank: analysis of banking and transplantation outcome. *Br J Haematol* 2004; 125 (3): 358-365.
46. Rendine S, Curtioni ES, di Celle PF, Berrino M, Bertola L, Barbanti M, Saracco P, Fazio L, Gay E, Dall'Omo AM. Analysis of the Turin umbilical cord blood bank registry. *Transfusion* 2000; 40 (7): 813-816.
47. Cohen Y & Nagler A. Umbilical cord blood transplantation – how, when and for whom. *Blood Rev* 2004; 18 (3): 167-179.
48. Armitage S, Warwick R, Fehily D, Navarrete C, Contreras M. Cord blood banking in London: the first 1000 collections. *Blood Marrow Transplant* 1999; 24: 139-45
49. Hurley CK, Wagner JE, Setterholm MI, Confer DL. Advances in HLA: practical implications for selecting adult donors and cord blood units. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 28-33.
50. Hurley CK, Baxter-Lowe LA, Begovich AB, Fernandez-Vina M, Noreen H, Schmeckpeper B, Awdeh Z, Chopek M, Salazar M, Williams TM, Yunis EJ, Kitajima D, Shipp K, Splett J, Winden T, Kollman C, Johnson D, Ng J, Hartzman RJ, Hegland J. . The extent of HLA class II allele level disparity in unrelated bone marrow transplantation: analysis of 1259 National Marrow Donor Program donor-recipient pairs. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25:385-93.
51. Hurley CK, Fernandez-Vina M, Setterholm M. Maximizing optimal hematopoietic stem cell donor selection from registries of unrelated adult volunteers. *Tissue Antigens* 2003; 61:415-24.
52. Müller CR, Ehninger G, Goldmann SF. Gene and haplotype frequencies for the loci HLA-A, HLA-B, and HLA-DR based on over 13,000 German blood donors. *Human Immunology* 2003; 64: 137-51.

53. Sanchez-Mazas A, Nunes JM. HLA data analysis in anthropology: basic theory and practice. 20th EFI meeting in Oslo. Biostatistics session. Jun 2006. p,1-5.
54. Bastos-Rodrigues L, Pimenta JR, Pena SD. The genetic structure of human populations studied through short insertion-deletion polymorphisms. *Ann Hum Genet* 2006; 70(Pt 5): 658-65.
55. Burke W. Genomics as a probe for disease biology. *N Engl J Med* 2003; 349: 969-74.
56. Bouzas LFS. REDOME-REREME e BrasilCord. In: Hemoterapia Clínica. Pedro Clóvis Junqueira. Nelson Hamerschlag. Jacob Rosenblit. São Paulo:Roca, 2009: p,409-424.
57. Souza CA, Marques Junior JFC, Bouzas LFS. Fontes, Mobilização e Coleta de Células-Tronco Hematopoéticas para Transplante. In: Voltarelli JC, Pasquini R, Ortega ETT. Transplante de Células-tronco Hematopoéticas. 1^a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2009. p, 565-88.
58. Makhatadze NJ, Franco MT, Layrisse Z. HLA Class I and Class II Allele and Haplotype Distribution in Venezuelan Population. *Hum Immunology* 1997;55: 53-8
59. Rodriguez LM, Giraldo MC, Garcia N, Velásquez L, Paris SC, Alvarez CM, Garcia LF. Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 en donantes fallecidos, Medellín, Colombia. *Biomédica* 2007; 27(4): 1-16.
60. Mack SJ, Tu B, Lazaro A, Yang R, Lancaster AK, Cao K, Ng J, Hurley CK. HLA-A, -B, -C, and -DRB1 allele and haplotype frequencies distinguish Eastern European Americans from the general European American population. *Tissue Antigens*. 73(1):17-32, 2009.

VIII. Anexo I

Tabela 23: Diferenças significativas entre REDOME comparado ao REREME (valor de p) e frequências em outras populações.

Origem	A*03	A*30	A*43	A*69	B*42	B*58	DRB1*09	DRB1*15
REDOME	0,094169	0,051623	0,0000	0,001847	0,01347	0,025353	0,016689	0,0976
REREME	0,087408	0,059805	0,00271	0,002977	0,015966	0,029316	0,019664	0,109417
Valor p	0,0050	0,0003	0,03	0,0060	0,020	0,030	0,020	0,010
PR Cauc	0,095							
Euro Cauc	0,09 0,157							
PR Afro		0,110						0,123-0,139
Italia		0,190						
China		0,174				0,115	0,162-0,187	
Col Afro		0,174				0,067		
Afro Sub-Saara			0,049					
Israel				0,048				
Portugal				0,001				
PR Mulato				0,005				
PE Mix				0,005				
Colombia					0,067			
Cuba Mix					0,048	0,071		
Afro					<0,1			
Arg Kolla							0,120	
Índia						0,2-0,330		
Guarani BR							0,100	
PR BR							0,106	
Canadá BC								0,105
Congo								0,196-0,206
Austrália								0,134
Asia								0,290

* www.allelefreqencies.net