

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOSELITO GETZ

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES *C4A* E *C4B* (SISTEMA
COMPLEMENTO) DA REGIÃO DE CLASSE III DO MHC NOS TRANSPLANTES
DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS COM DOADOR NÃO
APARENTADO**

CURITIBA

2016

JOSELITO GETZ

**INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES *C4A* E *C4B* (SISTEMA
COMPLEMENTO) DA REGIÃO DE CLASSE III DO MHC NOS TRANSPLANTES
DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS COM DOADOR NÃO
APARENTADO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina Interna, Departamento de Clínica Médica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Medicina Interna.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pasquini
Coorientadora: Dra. Noemi Farah Pereira

CURITIBA

2016

G394 Getz, Joselito

Investigação de polimorfismos nos genes C4A e C4B (Sistema complemento) – região de classe III do MHC – nos transplantes de células-tronco hematopoiéticas com doador não aparentado / Joselito Getz. – Curitiba, 2016.

101 f. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pasquini

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Noemi Farah Pereira

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

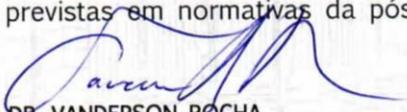
1. Células-tronco hematopoiéticas 2. Polimorfismo genético
3. Transplante de células-tronco hematopoiéticas. I. Pasquini, Ricardo.
II. Pereira, Noemi Farah. III. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.
IV. Título.

NLMC: WH 140



PARECER

Aos dezesseis dias do mês de dezembro do ano de dois mil e dezesseis, a banca examinadora constituída pelos Professores: Dr. VANDERSON ROCHA, Titular FMUSP, Dr. DANILLO GARDENAL AUGUSTO, Colaborador do Programa de Pós-Graduação em Genética da UFPR, Orientador Dr. RICARDO PASQUINI, Titular do DEPTO. DE CM/UFPR e Suplente Dra. MARCIA REGINA PINCERATI, Universidade Positivo - Pr, lavrou o presente parecer sobre a dissertação elaborada por JOSELITO GETZ, pós-graduando concluinte do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna - Mestrado e Doutorado da Universidade Federal do Paraná, intitulada: "INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES C4A E C4B (SISTEMA COMPLEMENTO) - REGIÃO DE CLASSE III DO MHC - NOS TRANSPLANTES DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS COM DOADOR NÃO APARENTADO". A Banca examinadora considerou que o aluno apresentou trabalho adequado para dissertação e o defendeu com segurança e propriedade nas argüições que lhe foram feitas, de modo a merecer a sua **aprovação**, sendo recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Mestre em Medicina Interna**, após publicação de artigo em revista técnico-científica com corpo editorial, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das argüições, cumpridas outras exigências previstas em normativas da pós-graduação.


PROF. DR. VANDERSON ROCHA


PROF. DR. DANILLO GARDENAL AUGUSTO


PROF. DR. RICARDO PASQUINI

Dedico esta dissertação à minha mãe Carmen, que sempre foi a minha maior incentivadora, nem todas as palavras do mundo são suficientes para agradecer os valores transmitidos e o esforço sem limites para criar seus filhos.

Também dedico à minha esposa amada Maria Fernanda, que desde o início deste trabalho me apoiou e foi companheira, você é um grande tesouro.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Ricardo Pasquini pela confiança e por compartilhar seus conhecimentos e críticas nesta pesquisa.

À Dra. Noemi F. Pereira, pela sua orientação e paciência na construção desta dissertação, pelo incentivo ao meu aprimoramento científico e pela constante motivação tão fundamental para a conclusão deste trabalho. Serei sempre muito grato!

À “Associação Alírio Pfiffer” (Instituto TMO) pelo apoio financeiro que viabilizou meu treinamento técnico-científico na Conexio Genomics localizada em Perth, Austrália.

Ao Dr. David Sayer, Hayley Hogan e Lauren Glasson, por terem me recebido tão bem no período em que estive em Perth (Austrália), pelo treinamento técnico durante este estudo e pela doação de parte dos reagentes utilizados nesta pesquisa.

Ao “Programa Nacional de Apoio à Atenção Oncológica” do Ministério da Saúde pelos recursos destinados à aquisição de reagentes e equipamentos necessários à realização desta pesquisa.

À Dra. Carmem Bonfim, à Dra. Vaneuza Funke e à equipe multidisciplinar do STMO do HC-UFPR, pelo cuidado na coleta dos dados dos pacientes envolvidos neste projeto.

Ao Dr. Vergílio Colturato e à Dra. Maria Elisa Moraes, que contribuíram com dados clínicos e parte das amostras de DNA provenientes do Hospital Amaral Carvalho (Jaú/SP).

Ao Dr. Nelson Hamerschlak e à Dra. Margareth A. Torres que contribuíram com os dados clínicos e parte das amostras de DNA provenientes do Hospital Israelita Albert Einstein (São Paulo/SP).

À prof. Dra. Angélica B. W. Boldt, por sua contribuição na análise *in silico* dos polimorfismos dos genes *C4A* e *C4B* investigados nesta pesquisa.

Ao Alberto C. M. Lima, pelas sugestões e discussões que não só contribuíram para a minha organização prática, como também trouxeram clareza e tranquilidade em diversos momentos.

Aos companheiros e amigos do Laboratório de Imunogenética (HC-UFPR), pela ajuda em algumas etapas deste projeto assim como o constante apoio, estímulo e compreensão. Especialmente à Alexandra Senegaglia, Bruno Zagonel, Carmen Rebelatto, Daniela Pilonetto, Divandrea Matioski, Luciana Dornelles, Márcia Regina Quiroga, Margareth Kleina Feitosa, Monica Goldenstein, Nilza C. dos Santos e Roseli Silva.

À Prof. Dra. Iara J. T. Messias-Reason, coordenadora da Pós-Graduação em Medicina Interna, pelo apoio e incentivo na realização deste estudo.

Aos professores membros da banca, pelo tempo dispensado para comentar e avaliar criticamente este trabalho.

À Deus, pela iluminação e fonte inesgotável de perseverança.

RESUMO

Introdução: A compatibilidade HLA entre receptor e doador é insuficiente para evitar complicações como a doença do enxerto-contrá-hospedeiro (DECH) após o transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH), e isto sugere que a variabilidade não HLA pode influenciar desfechos deste procedimento terapêutico. A região de classe III do MHC abriga genes relacionados à resposta imune e aos processos inflamatórios cujas variantes alélicas têm sido associadas a doenças autoimunes e a algumas complicações pós-TCTH como a DECH. **Objetivo:** Este estudo retrospectivo investigou se incompatibilidades em 23 polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs) nos genes *C4A* e *C4B* do MHC classe III estariam associados à maior incidência da DECH aguda (DECHa), crônica (DECHc) e mortalidade pós-TCTH não-aparentado. **Casuística:** 238 receptores(R), com idade entre 4 meses e 74 anos, 59% do sexo masculino, 52% com doenças malignas, transplantados entre 1996 e 2015, com células-tronco de medula óssea (83%) ou de sangue periférico (17%) obtidas de doadores(D) *HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1* compatíveis, 61% com condicionamento mieloablativo, 90% receberam imunoprofilaxia com ciclosporina e metotrexato. **Métodos:** A tipagem dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* foi realizada por amplificação alelo-específica (PCR-SSP) em 129 pares R-D e por sequenciamento de segunda geração em 109 pares R-D. Também avaliou-se o polimorfismo de *HLA-DPB1* por sequenciamento de Sanger, uma vez que poderia haver associação de incompatibilidades não permissíveis deste gene com a DECH e ou mortalidade. **Resultados:** Dentre os pares R-D, 42,9% apresentaram 1-7 SNPs incompatíveis, cuja presença não foi associada com DECHa (RRS 0,99; $p=0,948$), DECHc (RRS 1,36; $p=0,250$) e mortalidade (RR 0,92; $p=0,714$). Somente 12 SNPs foram incompatíveis em 10 ou mais pares e puderam ter seu efeito isolado investigado, mas nenhum deles mostrou-se associado com DECH ou mortalidade. Na amostra total, 85,3% dos pares R-D apresentaram incompatibilidades *DPB1*, 41,6% permissíveis e 43,7% não permissíveis, mas sem associação com DECHa, DECHc ou mortalidade. Mesmo assim, estratificou-se os pares R-D conforme a compatibilidade *DPB1*: o grupo I incluiu pares R-D compatíveis e aqueles com incompatibilidades permissíveis, e o grupo II foi constituído somente de pares com incompatibilidades não permissíveis. Não houve associações entre incompatibilidades *C4* e DECHa (RRS 1,03; $p=0,922$), DECHc (RRS 1,59; $p=0,168$) ou mortalidade (RR 1,21; $p=0,544$) no grupo I, e tampouco com respeito à DECHa (RRS 0,94; $p=0,860$), DECHc (RRS 1,08; $p=0,855$) ou mortalidade (RR 0,68; $p=0,260$) no grupo II. **Conclusão:** Apesar da identificação de incompatibilidades nos SNPs *C4A* e *C4B* entre R-D, esta característica não se mostrou fator de risco das formas aguda ou crônica da DECH e nem do aumento da mortalidade nos pacientes desta casuística. A ausência de associação pode ser devido ao pequeno tamanho amostral. Por outro lado, a diversidade nos genes *C4A* e *C4B* pode não influir na resposta imunológica da DECH.

Palavras-chave: Polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs). Genes *C4* e *C4B*. MHC Classe III. Doador não aparentado. Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas.

ABSTRACT

Introduction: Patient and donor HLA matching is not enough to avoid post-hematopoietic stem cell transplant (HSCT) complications such as graft-versus-host disease (GVHD), and this suggests that non-HLA diversity can also impact transplant outcomes. MHC class III region hosts genes related to immune/inflammatory responses whose allelic variants have been associated to autoimmune diseases and some post-HSCT complications such as GVHD.

Objective: This retrospective study investigated whether incompatibilities in one or more of 23 single-nucleotide-polymorphisms (SNPs) in the *C4A* and *C4B* genes (MHC class III) would be associated with higher incidence of GVHD and mortality post-unrelated HSCT.

Casuistic: 238 recipients (R), age ranging from 4m to 74y, 59% male, 52% with malignant diseases, transplanted between 1996 and 2015 with hematopoietic stem cells from bone marrow (83%) or peripheral blood (17%) collected from *HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1* matched donors (D), 61% underwent myeloablative conditioning and 90% received cyclosporine plus methotrexate as immunoprophylaxis.

Methods: Typing of the 23 SNPs was done by allele-specific amplification (PCR-SSP) in 129 R-D pairs, and by next-generation sequencing in the remaining 109 R-D pairs. *HLA-DPB1* polymorphism was also investigated by Sanger sequencing, once there could be associations between non-permissive mismatches on this gene and GVHD or mortality.

Results: 42.9% R-D pairs had 1 to 7 *C4* SNPs mismatched, but the presence of these mismatches was not associated with aGVHD (SHR 0.99; $p = 0.948$), cGVHD (SHR 1.36; $P = 0.250$) or mortality (HR 0.92; $p = 0.714$). Only 12 SNPs were mismatched in 10 or more R-D pairs and could have their isolated impact investigated, but none of them showed an association with GVHD or mortality. In the total sample, 85.3% R-D pairs showed *DPB1* mismatches, 41.6% were permissible and 43.7% non-permissible, but no association with aGVHD, cGVHD and mortality was found. Despite of the lack of association, R-D pairs were stratified according to *DPB1* compatibility status: group I included matched pairs as well as those with permissible mismatches; and group II hosted only non-permissible mismatches. No association between *C4A* and *C4B* SNPs mismatches and aGVHD (SHR 1.03; $p=0.922$), cGVHD (SHR 1.59; $p=0.168$) or mortality (HR 1.21; $p=0.544$) was found in group I, and neither with aGVHD (SHR 0.94; $p=0.860$), cGVHD (SHR 1.08; $p=0.855$) or mortality (HR 0.68; $p=0.260$) in group II.

Conclusion: Despite of the identification of *C4* mismatches between R/D, this characteristic was not shown to be a risk factor for acute or chronic GVHD nor for the increase in mortality in this series of patients. The absence of associations may be due to the small sample size. On the other hand, the *C4A* and *C4B* genes diversity may not influence the immune response of the GVHD.

Key words: Single nucleotide polymorphisms (SNPs). *C4A* and *C4B* genes. MHC Class III. Unrelated donor. Hematopoietic stem cell transplantation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – ORGANIZAÇÃO DO MHC HUMANO NO CROMOSSOMO 6.	15
FIGURA 2 – BLOCOS GÊNICOS DO MHC LOCALIZADOS EM 6P21.3.	16
FIGURA 3 – SEGREGAÇÃO DOS GENES HLA.	17
FIGURA 4 – VIAS DE APRESENTAÇÃO DE ALOANTÍGENOS NO VETOR REJEIÇÃO.	21
FIGURA 5 – PERFIL DE SNPS (GAMMA-TYPE™) DE UM PAR RECEPTOR/DOADOR COMPATÍVEL.	35
FIGURA 6 – PERFIL DE SNPS (GAMMA-TYPE™) DE UM PAR PACIENTE/DOADOR COM 7 INCOMPATIBILIDADES.	35
FIGURA 7 – ANÁLISE MULTIVARIADA DO EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B NA MORTALIDADE.	54
FIGURA 8 – ANÁLISE MULTIVARIADA DO EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B SOBRE A DECH AGUDA.	56

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DOENÇAS APRESENTADAS PELOS PACIENTES INCLUÍDOS NESTE ESTUDO	29
TABELA 2 – SNPS INVESTIGADOS NOS GENES C4A e C4B, ALTERAÇÕES DE AMINOÁCIDOS E LOCALIZAÇÃO	32
TABELA 3 – TAMANHO DOS PRODUTOS DA PCR DE CADA SNPS DOS GENES C4A E C4B CONTEMPLADOS NO KIT GAMMA TYPE™	34
TABELA 4 – MORTALIDADE PÓS-TCTH NAS SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME O ESTADO DE COMPATIBILIDADE DPB1 ENTRE RECEPTOR E DOADOR	39
TABELA 5 – DECH AGUDA PÓS-TCTH NAS SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME O ESTADO DE COMPATIBILIDADE DPB1 ENTRE RECEPTOR E DOADOR	40
TABELA 6 – DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NAS SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME O ESTADO DE COMPATIBILIDADE DPB1 ENTRE RECEPTOR E DOADOR	40
TABELA 7 – NÚMERO DE INCOMPATIBILIDADES NOS SNPS DOS GENES C4A EC4B NOS 238 PARES RECEPTOR/DOADOR	41
TABELA 8 – FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS DE SNPS DOS GENES C4A E C4B NOS DOADORES NÃO APARENTADOS.....	42
TABELA 9 – FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DE SNPS DOS GENES C4A E C4B NOS DOADORES NÃO APARENTADOS	44
TABELA 10 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E MORTALIDADE PÓS-TCTH NA AMOSTRA TOTAL	45
TABELA 11 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E MORTALIDADE PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS MALIGNAS.....	46
TABELA 12 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E MORTALIDADE PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS NÃO MALIGNAS	46
TABELA 13 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E MORTALIDADE PÓS-TCTH EM SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME COMPATIBILIDADE DPB1	46

TABELA 14 – SNPS DOS GENES C4A E C4B E MORTALIDADE PÓS-TCTH NA AMOSTRA ESTRATIFICADA CONFORME NÚMERO DE INCOMPATIBILIDADES ENTRE RECEPTOR E DOADOR	47
TABELA 15 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH AGUDA PÓS-TCTH NA AMOSTRA TOTAL	48
TABELA 16 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH AGUDA PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS MALIGNAS.....	49
TABELA 17 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH AGUDA PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS NÃO MALIGNAS	49
TABELA 18 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH AGUDA PÓS-TCTH EM SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME COMPATIBILIDADE DPB1	49
TABELA 19 – SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH AGUDA PÓS-TCTH NA AMOSTRA ESTRATIFICADA CONFORME NÚMERO DE INCOMPATIBILIDADES ENTRE RECEPTOR E DOADOR	50
TABELA 20 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NA AMOSTRA TOTAL	51
TABELA 21 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS MALIGNAS.....	51
TABELA 22 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS NÃO MALIGNAS	51
TABELA 23 – INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH EM SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME COMPATIBILIDADE DPB1	52
TABELA 24 – SNPS DOS GENES C4A E C4B E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NA AMOSTRA ESTRATIFICADA CONFORME NÚMERO DE INCOMPATIBILIDADES ENTRE RECEPTOR E DOADOR	52
TABELA 25 – ESTADO DA COMPATIBILIDADE NOS 23 SNPS DOS GENES C4A E C4B NOS 238 PARES RECEPTOR/DOADOR	53

TABELA 26 – AVALIAÇÃO DO IMPACTO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B SOBRE A MORTALIDADE	55
TABELA 27 – AVALIAÇÃO DO IMPACTO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B SOBRE A DECH AGUDA	57
TABELA 28 – AVALIAÇÃO DO IMPACTO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B SOBRE A DECH CRÔNICA.....	58
TABELA 29 – ANÁLISE IN SILICO DOS SNPS DOS GENES C4A e C4B CUJAS MUTAÇÕES RESULTAM EM SUBSTITUIÇÕES DE AMINOÁCIDOS	59
TABELA 30 – ANÁLISE UNIVARIADA DO IMPACTO DOS DADOS DEMOGRÁFICAS, DIAGNÓSTICO E CARACTERÍSTICAS DO TRANSPLANTE SOBRE A MORTALIDADE	93
TABELA 31 – ANÁLISE UNIVARIADA DO IMPACTO DOS DADOS DEMOGRÁFICAS, DIAGNÓSTICO E CARACTERÍSTICAS DO TRANSPLANTE SOBRE A DECH AGUDA	94
TABELA 32 – ANÁLISE UNIVARIADA DO IMPACTO DOS DADOS DEMOGRÁFICAS, DIAGNÓSTICO E CARACTERÍSTICAS DO TRANSPLANTE SOBRE A DECH CRÔNICA	95

LISTA DE ABREVIATURAS

APCs	- <i>Antigen Presenting Cells</i>
BTNL2	- <i>Butyrophilin like 2</i>
CFB	- <i>Complement Factor B</i>
DECH	- Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro
DECHa	- Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro aguda
DECHc	- Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro crônica
HLA	- <i>Human Leucocyte Antigens</i>
IFN- γ	- <i>Interferon gamma</i>
IL-1	- <i>Interleukin 1</i>
LTA	- <i>Lymphotoxin Alpha</i>
LTB	- <i>Lymphotoxin Beta</i>
mHAs	- <i>minor Histocompatibility Antigens</i>
MHC	- <i>Major Histocompatibility Complex</i>
NGS	- <i>Next Generation Sequencing</i>
PCR	- <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PCR-SSO	- <i>Polymerase Chain Reaction-Sequence Specific Oligonucleotide</i>
PCR-SSP	- <i>Polymerase Chain Reaction-Sequence Specific Primers</i>
PPIAP9	- <i>Peptidylprolyl isomerase A pseudogene 9</i>
REDOME	- Registro Nacional de Doadores Voluntários de Medula Óssea
RFLP	- <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
SNPs	- <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>
TCR	- <i>T-Cell Receptors</i>
TCTH	- Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas
TNF- α	- <i>Tumor Necrosis Factor alfa</i>

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	11
2.	OBJETIVOS	27
3.	PACIENTES	28
4.	MÉTODOS.....	30
4.1.	ISOLAMENTO DE DNA	30
4.2.	TIPAGEM HLA-DPB1.....	30
4.3.	TIPAGEM DE SNPS DOS GENES C4A E C4B POR PCR-SSP.....	31
4.4.	TIPAGEM DE SNPS DOS GENES C4A E C4B POR SEQUENCIAMENTO DE PRÓXIMA GERAÇÃO (NEXT GENERATION SEQUENCING - NGS).....	36
4.5.	ANÁLISE IN SILICO DOS SNPS DOS GENES C4A E C4B	37
4.6.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
5.	RESULTADOS	39
5.1.	TIPAGEM HLA-DPB1 DE ALTA RESOLUÇÃO	39
5.2.	TIPAGEM DOS 23 SNPS DOS GENES C4A E C4B	40
5.2.1.	EFEITO DA INCOMPATIBILIDADE DOS GENES C4A E C4B ENTRE PACIENTE E DOADOR SOBRE A MORTALIDADE PÓS-TCTH	45
5.2.2.	EFEITO DE INCOMPATIBILIDADES DOS GENES C4A E C4B ENTRE PACIENTE E DOADOR SOBRE A DECH AGUDA	47
5.2.3.	EFEITO DE INCOMPATIBILIDADES DOS GENES C4A E C4B ENTRE PACIENTE E DOADOR SOBRE A DECH CRÔNICA.....	50
5.3.	EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B NA EVOLUÇÃO DO TCTH .	52
5.3.1.	EFEITO INDIVIDUAL DE INCOMPATIBILIDADES DOS SNPS DOS GENES C4A E C4B SOBRE A MORTALIDADE.....	53
5.3.2.	EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B NA DECH AGUDA.....	54
5.3.3.	EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B NA DECH CRÔNICA	56
6.	DISCUSSÃO.....	60
7.	CONCLUSÕES.....	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
	APÊNDICE 1 – TIPAGENS HLA EM ALTA RESOLUÇÃO DOS 238 PACIENTES E SEUS DOADORES NÃO APARENTADOS.....	76
	APÊNDICE 2 – AVALIAÇÃO DO ESTADO DA COMPATIBILIDADE NOS 23 SNPs DOS GENES C4 ENTRE PACIENTES E RESPECTIVOS DOADORES NÃO APARENTADOS	88
	APÊNDICE 3 – TABELAS DA ANÁLISE UNIVARIADA DE CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS ANALISADAS EM RELAÇÃO À MORTALIDADE, A DECH AGUDA E A CRÔNICA.....	93
	ANEXO.....	96

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

O transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) está estabelecido como uma terapia para o tratamento de doenças hematológicas malignas e não malignas, além de determinadas doenças genéticas e imunológicas. Apenas 30% dos pacientes com indicação de TCTH encontram o doador ideal que é um irmão com genótipo HLA idêntico. Os demais devem buscar um doador não aparentado no Registro Nacional de Doadores Voluntários de Medula Óssea (REDOME) ou em registros internacionais, havendo também a possibilidade de identificar células progenitoras hematopoiéticas em unidades de sangue de cordão umbilical armazenadas em bancos específicos.

A seleção de doadores para o TCTH inclui diversos critérios sendo um dos principais o grau de compatibilidade para variantes alélicas dos genes dos antígenos leucocitários humanos (HLA, do inglês *Human Leucocyte Antigens*) entre o paciente e o doador (HOLOSHITZ, 2013).

A utilização de células-tronco hematopoiéticas de um irmão idêntico para os alelos dos genes clássicos *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DR*, *-DQ* e *-DP* é considerada a situação ideal e primeira escolha de fonte de células para o transplante alogênico (HOWARD et al., 2015). Porém, nos transplantes com doadores não aparentados HLA compatíveis pode haver variabilidade genética não detectada em outras regiões do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC, do inglês *Major Histocompatibility Complex*). Esta diferença genética não relacionada aos genes *HLA* deve-se ao fato do haplótipo MHC não ser necessariamente compartilhado como um todo entre o par receptor/doador não aparentado, e pode implicar em maior risco de complicações pós-transplante como o desenvolvimento da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) e o aumento da mortalidade relacionada ao transplante (PETERSDORF et al., 2007).

DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO

A DECH continua sendo uma complicação importante nos transplantes alogênicos e manifesta-se de forma aguda e/ou crônica. Mesmo sob condições rigorosas de compatibilidade HLA a incidência de ambas as formas da DECH permanecem altas, cerca de 50% dos pacientes desenvolvem DECH aguda graus II-

IV, até 35% evoluem para graus III-IV e 40% a 50% apresentam a forma crônica (ANASETTI et al., 2012; GOOLEY et al., 2010). Embora as células T provenientes do doador, responsáveis pela reconstituição do repertório imunológico do receptor, contribuam para a manutenção da remissão após o transplante elas também podem desencadear a DECH (ZHANG; CHEN; CHAO, 2011). Isto ocorre devido ao reconhecimento de moléculas HLA incompatíveis expressas nos tecidos do receptor pelas células T alorreativas do doador (LEE et al., 2007; ZEISER; SOCIÉ; BLAZAR, 2016).

A DECH aguda (DECHa) foi por muito tempo definida como o aparecimento de manifestações clínicas até 100 dias após o transplante. Esta definição não era satisfatória e foram acrescentadas à classificação desta doença a DECHa de início tardio, com aparecimento depois de 100 dias pós-transplante, além da síndrome de sobreposição cujas manifestações apresentam concomitantemente certas características das formas aguda e crônica (FERRARA et al., 2009). A forma aguda é estratificada em graus de acordo com a sua gravidade e comprometimento de órgãos (PRZEPIORKA et al., 1995). A de grau I envolve manifestações leves de pele, grau II apresenta comprometimento do trato gastrointestinal e do fígado além das manifestações de pele. A de grau III é caracterizada por manifestações mais intensas de pele, de trato gastrointestinal e do fígado que levam ao agravamento do estado clínico do paciente. E a de grau IV geralmente apresenta todas estas manifestações associadas à extrema piora do estado clínico do paciente.

A disparidade HLA entre paciente e doador é reconhecida como um dos mais importantes iniciadores da DECH, inclusive alguns tipos de incompatibilidades HLA estão associados com as formas mais graves da manifestação aguda desta doença (LEE et al., 2007; MORISHIMA et al., 2002, MORISHIMA et al., 2015; SASAZUKI et al., 1998). Apesar da compatibilidade HLA ser um fator importante na prevenção da DECH, o desenvolvimento desta doença pode ocorrer mesmo em pares HLA compatíveis devido aos polimorfismos nos genes que codificam antígenos secundários de histocompatibilidade ou em regiões reguladoras da expressão gênica (DICKINSON; NORDEN, 2015; KAWASE et al., 2007). Um dos exemplos bem conhecidos do impacto dos antígenos secundários nos TCTH é a alorreatividade contra antígenos codificados por genes do cromossomo Y, quando pacientes do sexo masculino recebem o aloenxerto de doadores do sexo feminino (HAMBACH et al. 2007; SPIERINGS et al., 2013).

A fisiopatologia da DECH aguda é dividida em três etapas sendo a primeira resultante da ativação de células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês *antigen presenting cells*) em resposta aos sinais expressos em tecidos lesados pelo condicionamento. Dentre estes sinais estão os componentes da matriz extracelular que são reconhecidos como padrões moleculares associados a dano tecidual e/ou lipopolissacarídeos identificados como padrões moleculares associados aos patógenos. A seguir ocorre elevação de níveis de IL-1, TNF- α , IL-6 e IFN- γ os quais induzem o aumento da expressão de moléculas de adesão e de moléculas HLA de classe II. Na segunda fase, as APCs ativadas migram até tecido linfóide secundário onde acontece a interação com linfócitos T do doador, iniciando assim as etapas de ativação, proliferação, diferenciação e migração de células T alorreativas do doador. Na terceira fase os danos aos órgãos são mediados por citocinas pró-inflamatórias, particularmente IFN- γ , IL-1 e TNF- α . Estas citocinas atuam sinergicamente aumentando a expressão de Fas em tecidos do receptor e os tornam mais susceptíveis a ação de células T citotóxicas e células *Natural Killer* (SUN et al. 2007; DICKINSON; NORDEN 2015; BLAZAR et al. 2012).

A DECH crônica (DECHc) compartilha certas características com as imunodeficiências e as doenças autoimunes, sendo a principal causa de morbidade e mortalidade tardia não relacionada a recaída da doença primária. Embora as células do sistema imune do doador sejam consideradas as responsáveis pela manifestação desta doença, a sua fisiopatologia ainda não é bem compreendida (APPERLEY; MASSZI, 2012). Ao contrário da DECH aguda, a qual é induzida praticamente pela ativação de células T do doador e pela liberação de citocinas pró-inflamatórias, a imunofisiopatologia da forma crônica é mais complexa. Envolve várias interações entre as células T e B alorreativas com populações celulares da imunidade inata como macrófagos, células dendríticas e neutrófilos que resultam na iniciação e propagação de vias pró-fibróticas características da DECHc (COOKE et al., 2016).

A falha das células T do doador em desenvolver tolerância aos tecidos do receptor após o transplante parece ser o centro da patogênese da DECHc. Vários fatores contribuem para a inabilidade do desenvolvimento desta tolerância, incluindo falhas na deleção tímica de células T auto e alorreativas como resultado do dano tímico causado pelo condicionamento e/ou pela DECHa (NISHIMORI et al., 2013). O estabelecimento tardio ou inadequado das células T reguladoras também tem sido

relacionado com a forma crônica. Embora estudos sobre células T reguladoras nos TCTH apresentem resultados contraditórios, em alguns foram observadas contagens altas de células T reguladoras (CD4⁺ CD25⁺) em pacientes que apresentavam melhora da DECHc (MAHADEO et al., 2014; JACOBSON; Ritz, 2013).

A DECHc é classificada de acordo com a extensão e em sua forma leve envolve um ou dois órgãos, exceto pulmões, sem diminuição clinicamente significativa da capacidade funcional. A moderada compromete pelo menos um órgão ou local com inabilidade clinicamente significativa, mas sem afetar completamente o órgão, ou três ou mais órgãos ou locais sem diminuição significativa da capacidade funcional. O comprometimento leve do pulmão caracteriza DECHc moderada. E a manifestação grave é reconhecida por grande incapacidade funcional de órgãos alvo (FILIPOVICH, 2008; JAGASIA et al., 2015).

Diversos fatores de risco já foram descritos e correlacionados com o desenvolvimento da DECHc por vários grupos de pesquisadores. Entre eles estão o desenvolvimento prévio da DECHa, a utilização de enxerto de células hematopoiéticas de sangue periférico, o transplante com enxerto de doadoras do sexo feminino para receptores do sexo masculino, o transplante em pacientes mais velhos, o uso de doadores não aparentados e o transplante com incompatibilidade HLA (LEE et al., 2003; PAVLETIC et al., 2005; FLOWERS et al., 2011; KANDA et al., 2014; GRUBE et al., 2016).

ORGANIZAÇÃO GENÔMICA DO MHC

As proteínas HLA que são aloantígenos potentes, e um dos fatores importantes no desencadeamento da DECH, são codificadas por genes do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) humano. Este complexo está localizado na região cromossômica 6p21.3 e contém cerca de 220 genes distribuídos numa extensão de 3,4 Mb de DNA. Além dos genes *HLA*, esta região também abriga outros genes relacionados à resposta imunológica e aos processos inflamatórios (MUNGALL et al. 2003).

O MHC é dividido em três grandes regiões (Figura 1), sendo a de classe I constituída pelos genes clássicos de transplantação *HLA-A*, *-B* e *-C* e os não clássicos *HLA-E*, *-F*, *-G*. A região de classe II inclui os genes clássicos *HLA-DP*, *-DQ* e *-DR* e os não clássicos *HLA-DM* e *-DO*, enquanto a de classe III abriga genes

como fator de necrose tumoral (*TNF*), proteínas de choque térmico (*HSP*) e os genes do sistema complemento *CFB*, *C2* e *C4* (HORTON et al., 2004).

Estas regiões do MHC abrigam cinco blocos de várias centenas de kilobases cada (Figura 2) cujas fronteiras ainda não estão bem delimitadas. O bloco alfa corresponde ao agrupamento de genes ao redor de *HLA-A*, o beta aos genes em torno de *HLA-B* e *-C*, o gama abriga genes nas cercanias de *CFB* e *C4*, o delta inclui genes nas proximidades de *HLA-DR* e *-DQ* e o bloco épsilon corresponde aos genes nos arredores da sub-região *HLA-DP* (LLOYD et al., 2016; KETHEESAN et al., 1999).

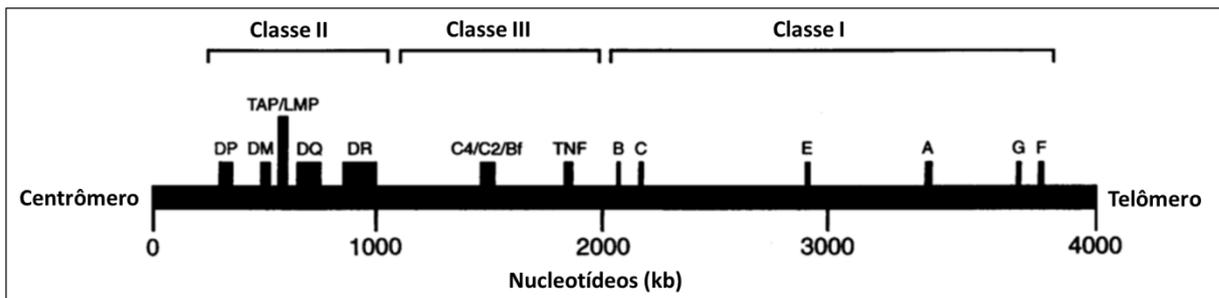


FIGURA 1 - ORGANIZAÇÃO DO MHC HUMANO NO CROMOSSOMO 6.
 FONTE: Adaptado de Parham; Ohta, (1996).

Estes agrupamentos gênicos do MHC também são reconhecidos como blocos de polimorfismos congelados, termo descrito por Dawkins et al. (1999), para se referir ao fato de haplótipos conservados população-específicos serem herdados de um ancestral com pouca ou nenhuma alteração ao longo dos tempos.

Os genes do MHC, por estarem proximamente ligados, são em geral transmitidos como um único grande bloco para a descendência. As variantes alélicas de cada um dos genes do MHC constituem haplótipos que são segregados em múltiplas gerações de famílias (LLOYD et al., 2016). Por convenção, os dois haplótipos paternos são designados *a* e *b*, e os maternos *c* e *d*. Os descendentes podem herdar uma dentre as quatro combinações parentais possíveis: *ac*, *ad*, *bc* e *bd* (Figura 3). Quando dois irmãos herdam os mesmos haplótipos paterno e materno diz-se que são idênticos para os genes *HLA* e demais genes localizados dentro do complexo MHC, e quando compartilham um haplótipo e diferem quanto ao outro são considerados haploidênticos.

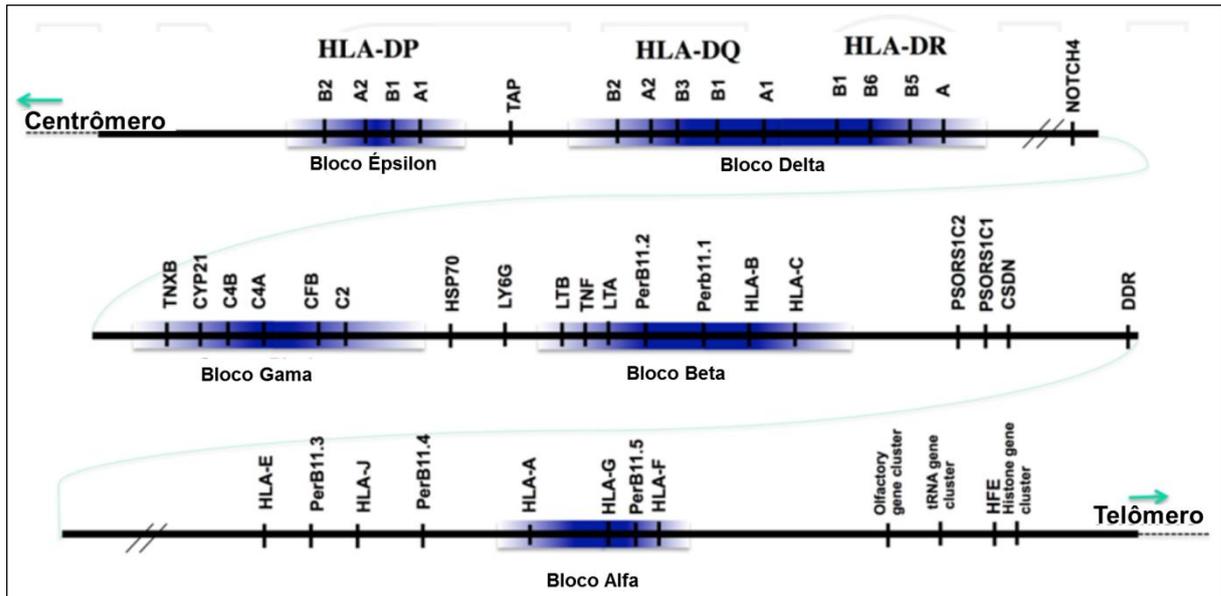


FIGURA 2 - BLOCOS GÊNICOS DO MHC LOCALIZADOS EM 6P21.3.

Dentro dos blocos alfa, beta, gama, delta e épsilon a recombinação parece estar inibida enquanto nas regiões inter-blocos parecem existir pontos de recombinação. As fronteiras exatas entre os blocos ainda não estão bem definidas.

FONTE: Adaptado de Loyd et al. (2016).

Apesar da proximidade dos genes do MHC, a ligação genética não é absoluta, podendo haver permuta genética (*crossing over*) entre os diferentes genes deste complexo durante a prófase I da meiose. A probabilidade de permuta genética é dependente da distância física entre os locos e de certas características do DNA e pode ocorrer com ou sem recombinação.

O fenômeno de permuta genética com recombinação resulta na quebra de haplótipos e conseqüentemente na geração de haplótipos com novas combinações alélicas conforme o haplótipo *c/d* na figura 3. Este fenômeno contribui para a alta diversidade haplotípica dentro do MHC (KAUPPI et al., 2004; LAM et al., 2013).

Uma das características marcantes do sistema HLA é o alto grau de polimorfismo de seus genes, sendo até novembro de 2016 já descritos 11.553 alelos dos genes de classe I e 4.082 alelos dos genes de classe II (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>). Outra de suas características é o desequilíbrio de ligação entre as variantes alélicas de seus genes. Este fenômeno é definido como a diferença entre a frequência observada de uma determinada combinação de alelos em locos ligados e a frequência esperada com base no produto das frequências individuais destes alelos (SLATKIN, 2008).

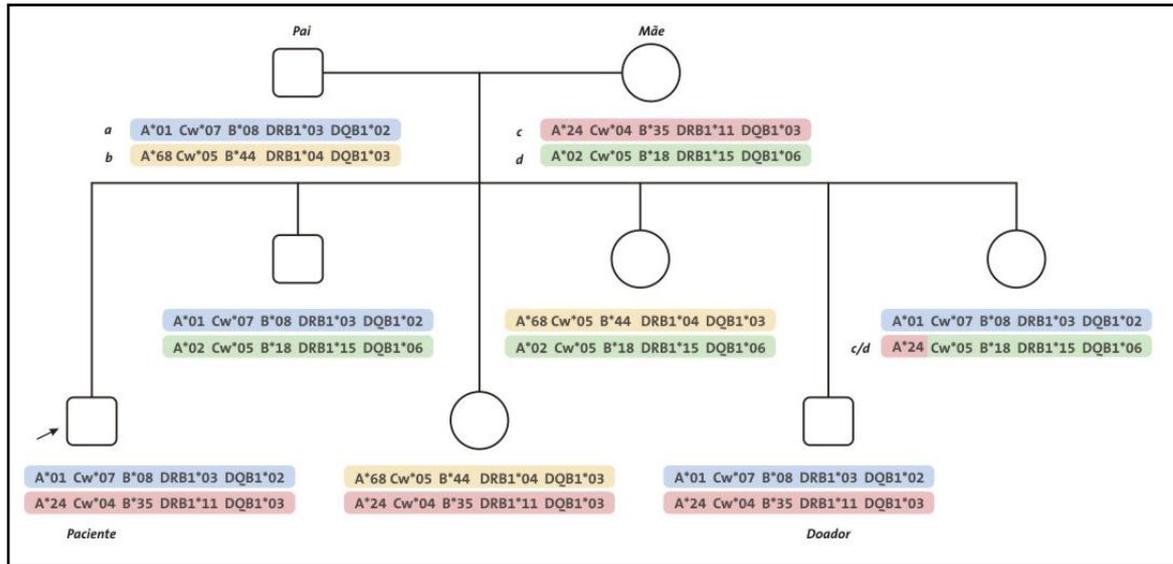


FIGURA 3 - SEGREGAÇÃO DOS GENES *HLA*.

Os haplótipos paternos (*a* e *b*) e maternos (*c* e *d*) são transmitidos aos filhos como uma unidade, exceto quando ocorre permuta genética com recombinação durante a prófase I da meiose, o que resulta em gameta portador de um haplótipo recombinante, que, neste exemplo, está representado pelo haplótipo materno *c/d*.

FONTE: Adaptado de Pereira et al. (2009).

O desequilíbrio de ligação pode ser positivo ou negativo conforme a frequência observada seja maior ou menor do que a esperada, respectivamente. Entre os fatores responsáveis por este fenômeno incluem-se a migração e a miscigenação de populações com frequências alélicas e haplotípicas distintas, a deriva genética e a seleção natural. Deve-se considerar também que em alguns casos pode não ter havido tempo evolutivo suficiente para que um alelo surgido mais recentemente tenha atingido o equilíbrio.

O extenso polimorfismo dos genes *HLA* e o desequilíbrio de ligação nas populações podem ser resultantes de pressões seletivas impostas pela morbidade e mortalidade das doenças infecciosas, garantindo que o ser humano, como espécie, seja capaz de resistir a uma grande variedade de patógenos tais como bactérias, vírus e parasitas (CARRINGTON; O'BRIEN, 2003).

No contexto dos transplantes alogênicos de células-tronco hematopoiéticas, além do extenso polimorfismo alélico dos genes do MHC, a diversidade haplotípica resultante de permuta genética com recombinação também pode dificultar a identificação de um doador não aparentado com compatibilidade para os genes *HLA* e demais genes localizados dentro deste complexo. Por outro lado, o desequilíbrio de ligação leva a uma diminuição dos haplótipos teóricos possíveis e daqueles que são de fato encontrados nas diversas populações humanas. Isto favorece a

identificação de um doador não aparentado ideal que é aquele que compartilha os dois haplótipos do MHC com o paciente, deste modo, apresentando as mesmas variantes alélicas dos genes *HLA* e não-*HLA* residentes dentro do complexo MHC.

RESPOSTA ALOGÊNICA

Os genes *HLA* são importantes tanto por participarem na resposta imune como por constituírem marcadores essenciais para o estudo da diversidade genética e da suscetibilidade às doenças. Por outro lado, os produtos alélicos destes genes constituem a principal barreira aos transplantes de órgãos e tecidos, uma vez que moléculas *HLA* incompatíveis entre paciente e doador atuam como aloantígenos potentes desencadeadores de resposta imune intensa, denominada resposta alogênica. Esta alorreatividade é responsável pelas principais complicações imunológicas que ocorrem após TCTH, como falha a primária de pega, a rejeição e a DECH (SASAZUKI et al., 1998; PETERSDORF et al., 1999; TIERCY, 2002; SHAW et al., 2007).

Grande parte do polimorfismo das moléculas *HLA*-A, B e C estão localizados nos domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$ que formam uma estrutura com função de sítio de ligação para peptídeos, podendo acomodar fragmentos peptídicos constituídos por oito a dez resíduos de aminoácidos (NEEFJES et al., 2011; RENÉ et al., 2016). Os genes *HLA-DRA1*, *-DQA1* e *-DPA1* codificam as cadeias α das moléculas DR, DQ e DP e os genes *HLA-DRB1*, *-DQB1* e *-DPB1* codificam as suas respectivas cadeias β . O polimorfismo nas moléculas de classe II ocorre principalmente no domínio $\beta 1$. Os domínios $\alpha 1$ e $\beta 1$ formam a fenda de ligação para peptídeos constituídos por 14 a 25 resíduos de aminoácidos (NEEFJES et al., 2011; AFRIDI et al., 2016).

A ligação de peptídeos na fenda das moléculas *HLA* está em acordo com a função primordial destes produtos alélicos do complexo gênico *HLA*. As moléculas de classes I e II se ligam a peptídeos originados do processamento de proteínas estranhas e apresentam este complexo *HLA*/peptídeo aos receptores específicos dos linfócitos T (TCR, *T-Cell Receptors*). As moléculas de classe I apresentam peptídeos de antígenos endógenos às células T-CD8⁺, e as de classe II peptídeos de antígenos exógenos às células T-CD4⁺ (NEEFJES et al., 2011; AFRIDI et al., 2016; RENÉ et al., 2016). As células T detectam antígenos estranhos via seus receptores (TCR) cujos genes sofrem rearranjos aleatórios e deste modo constituem

um vasto repertório que confere ao organismo proteção contra agentes infecciosos, e também responde aos antígenos não microbianos (aloantígenos) complexados ao HLA próprio (LAKKIS; LECHLER, 2013). Nesta última situação, alopeptídeos derivados de antígenos secundários de histocompatibilidade ou moléculas HLA não próprias podem desencadear a resposta alogênica.

A alorreatividade é uma consequência inevitável do processo pelo qual os TCRs que constituem o repertório imunológico de um indivíduo são construídos. Estima-se que cerca de 10% do *pool* de células T ativadas e clonalmente distintas podem reconhecer moléculas HLA alogênicas. A presença desses clones alorreativos é intrigante por não mostrarem função biológica óbvia, uma vez que transplantes não são previstos durante o processo evolutivo. Atualmente considera-se que esta sobreposição entre o repertório de células T alorreativas e o de células T específicas para agentes infecciosos seja decorrente da capacidade de células T de memória vírus-específica apresentar reação cruzada com moléculas HLA (ROWNTREE; NGUYEN; GRAS, 2016). Alguns estudos identificaram clones de linfócitos T cujos receptores são específicos para peptídeos virais ou bacterianos associados a moléculas HLA próprias (KJER-NIELSEN et al., 2003). Macdonald et al. (2009) identificaram que clones específicos para o peptídeo FLRGRAYGL do vírus Epstein-Barr associado ao HLA-B8 também reconheciam a molécula HLA-B44 alogênica ligada ao peptídeo EEYQAFTY. Isto reforça o impacto potencialmente negativo da presença de células T vírus-específicas no transplante alogênico (STYCZYNSKI et al., 2016). A capacidade destas células T de apresentar reatividade cruzada com moléculas HLA alogênicas pode explicar a frequência elevada de células T de memória que são alorreativas em indivíduos não sensibilizados aos antígenos HLA por meio de gravidez, transfusão de hemocomponente ou transplante prévio. Estas células respondem rapidamente aos estímulos antigênicos o que torna a resposta alogênica mais rápida, mais forte e mais eficiente, características estas que amplificam o potencial de dano aos tecidos e órgão alvo desta resposta (ROWNTREE; NGUYEN; GRAS, 2016).

O repertório de células T alorreativas humanas é constituído de subpopulações que podem reconhecer direta ou indiretamente complexos HLA/peptídeo estranhos. O reconhecimento direto de moléculas HLA pelo receptor específico do linfócito T (TCR) é uma característica especial da resposta alogênica porque os demais antígenos codificados por genes secundários de

histocompatibilidade bem como antígenos de agentes infecciosos são reconhecidos somente por apresentação indireta ao receptor dos linfócitos T específicos aos respectivos complexos HLA/peptídeo.

Nos TCTH, a alorreatividade pode ocorrer no vetor rejeição do enxerto (Figura 4) ou, mais comumente, no vetor doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH). A DECH é desencadeada por células T do doador que reconhecem diretamente complexos HLA/peptídeo incompatíveis expressos nas células do receptor. Podendo também reconhecer via indireta os peptídeos originados da molécula HLA ou de outras moléculas polimórficas do receptor que tenham sido processados e apresentados pelas APCs do doador (BAXTER-LOWE; HURLEY, 2009). E ainda a via semidireta segundo a qual os complexos HLA/peptídeo incompatíveis do receptor são internalizados e apresentados pelas APCs do doador (HERRERA et al., 2004).

A resposta alogênica pode também ser consequência do reconhecimento de antígenos secundários de histocompatibilidade (mHAs, do inglês *minor Histocompatibility Antigens*). Estes mHAs são peptídeos derivados de proteínas polimórficas codificadas distintamente entre receptores e os doadores e que são reconhecidos pelos linfócitos T alorreativos somente por via indireta, ou seja, ligados à fenda das moléculas HLA próprias. Isto os difere dos antígenos principais de histocompatibilidade (Antígeno HLA) que são os únicos cujas moléculas alogênicas podem ser reconhecidos diretamente pelo receptor dos linfócitos T específicos.

Os mHAs podem ser gerados por diversos mecanismos que incluem inserções e deleções nos genes, diferenças entre cromossomos homólogos Y e X, alterações na codificação de aminoácidos resultantes de polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs), variações pós-transcrição nas moléculas de RNA mensageiro e modificações de aminoácidos após a tradução.

As proteínas que dão origem aos mHAs devem ser processadas em peptídeos os quais se ligam na fenda das moléculas HLA. O reconhecimento de um mHA por células T é determinado tanto pelo peptídeo polimórfico como pela molécula HLA à qual está ligado, e pela disponibilidade de clones de células T alorreativas cujo receptor é capaz de se ligar à combinação HLA/peptídeo.

Polimorfismos que determinam a substituição de um único aminoácido em um peptídeo apresentado por moléculas HLA podem ser suficientes para gerar uma resposta alogênica. Poucos mHAs foram definidos bioquimicamente, cada um tendo

tipicamente dois alelos conhecidos. O genoma humano contém pode conter entre 10.000 a 11.000 SNPs que alteram proteínas (1000 GENOMES PROJECT CONSORTIUM et al., 2010). Uma vez que estes polimorfismos estão distribuídos por todo o genoma, irmãos que não são gêmeos idênticos apresentam uma disparidade considerável para mHAs, mesmo quando são HLA compatíveis, mas o sistema imune responde apenas a um pequeno número de incompatibilidades de antígenos "imunodominantes" entre o doador e o receptor (MARTIN; SHLOMCHIK, 2016).

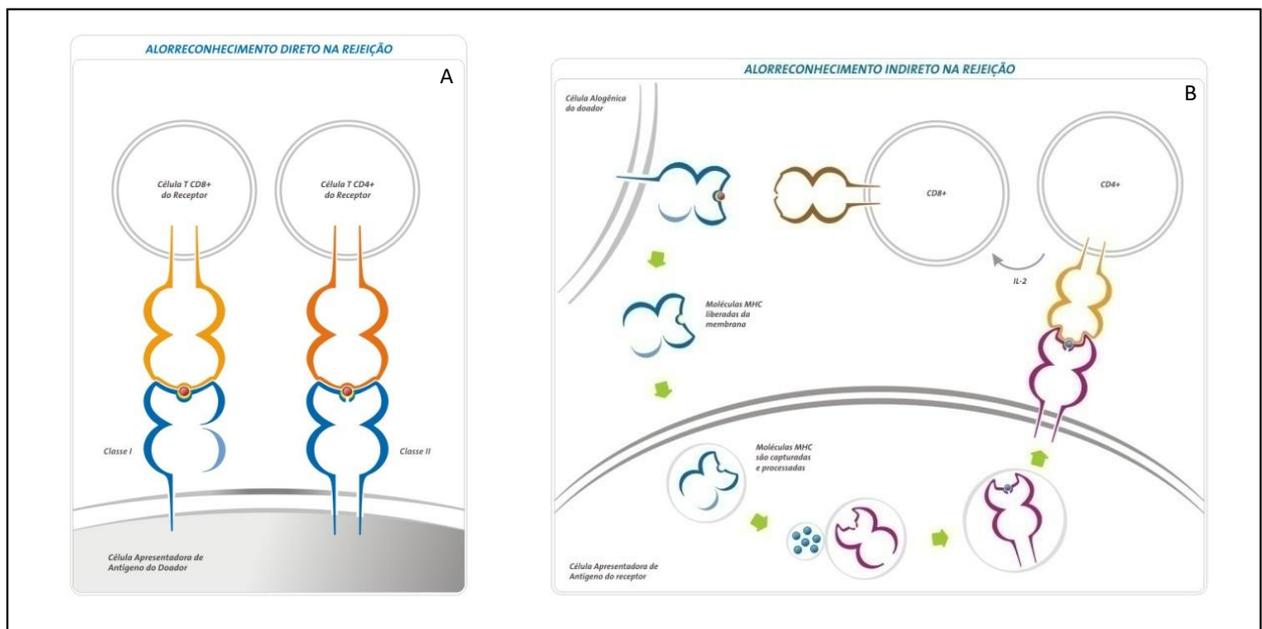


FIGURA 4 - VIAS DE APRESENTAÇÃO DE ALOANTÍGENOS NO VETOR REJEIÇÃO.

A) Alorreconhecimento direto no vetor rejeição: células TCD4+ e TCD8+ do receptor reconhecem, por meio de seus receptores específicos (TCR), aloantígenos HLA de classes II e I, respectivamente, expressos nas células de órgãos ou tecidos do doador. No vetor DECH as células T do doador reconhecem moléculas HLA alógenas expressas nas células do receptor; B) Alorreconhecimento indireto no vetor rejeição: moléculas HLA liberadas das células do doador são capturadas e processadas por células apresentadoras de antígeno do receptor, e peptídeos alógenos resultantes desse processamento se ligam às moléculas HLA do receptor e são reconhecidos por suas próprias células T. No vetor DECH as células T do doador reconhecem moléculas HLA do receptor, após estas terem sido processadas e seus peptídeos associados às moléculas HLA do doador.

FONTE: Adaptado de Pereira et al. (2009)

GENES C4 NA REGIÃO DE CLASSE III DO MHC

A região de classe III abrange um segmento genômico de aproximadamente 0,9 Mb entre os genes *PPIAP9* ao *BTNL2*. Abriga 61 genes codificadores de proteínas, 11 RNA não codificadores, 5 RNA nucleares pequenos e 8 pseudogenes (SASAZUKI et al., 2016). Muitos dos produtos dos genes expressos na região de classe III têm papel fundamental em processos celulares como a regulação de

transcrição, manutenção das funções celulares, biossíntese de subunidades de complexos protéicos com atividade enzimática, interações inter e intracelulares, síntese de citocinas (*TNF*, *LTA* e *LTB*) e de proteínas do sistema complemento (*C2*, *CFB* e *C4*) (SHIINA et al., 2009).

Dentro do MHC de classe III está o bloco RCCX, assim denominado por ser constituído pelos genes *STK19* (inicialmente *RP1*) que codifica serina/treonina quinase, *C4A* e *C4B* das proteínas do complemento, *CYP21A2* da enzima 21-hidroxilase e *TNXB* da proteína de matriz celular Tenascina *XB*. O RCCX é um dos mais longos locos multialélicos de variação em números de cópias do genoma humano (BÁNLAKEI et al., 2012). Este bloco comporta-se como uma unidade sendo os seus genes deletados ou duplicados conjuntamente ao longo do processo evolutivo, fato este que resultou na existência de conformações mono, bi, tri ou quadrimodulares. Independente destas mutações, a estrutura monomodular é constituída de quatro genes funcionais RCCX, mas em qualquer duplicação desta estrutura apenas o(s) gene(s) *C4* codifica(m) uma proteína porque os demais são pseudogenes. Em teoria duas a oito cópias dos genes *C4A* ou *C4B* podem estar presentes no genoma humano, cada cromossomo 6 compreendendo de uma a quatro cópias (SHEN et al., 1994; YANG et al., 1999; CHUNG et al., 2002).

Dentro dessa região central do MHC os genes do sistema complemento são os que apresentam maior diversidade (STEWART et al., 2004). Existem duas formas do gene *C4*, denominados *C4A* e *C4B*, ambos constituídos por 41 exons. Cada um apresenta uma forma longa (*C4L*) de 21kb e uma curta (*C4S*) com 14,6kb, as quais são determinadas pela presença ou ausência de uma inserção de 6,4kb do retrovírus endógeno humano HERV-K no íntron 9 (DANGEL et al. 1994; YU et al. 1986).

Os dois isotipos *C4A* e *C4B* apresentam 99% de homologia, porém são caracterizados por diferenças no exon 26 que resultam na codificação de sequências de aminoácidos isotipo específicas entre as posições 1120 e 1125, sendo PCPVLD característica de *C4A* e LSPVIH de *C4B* (YU et al. 1986). Estas proteínas atuam como um componente não enzimático da C3 e C5 convertase que é essencial para a propagação da via clássica e da via das lectinas do sistema complemento (BLANCHONG et al., 2001, RICKLIN et al. 2016). Embora *C4A* e *C4B* apresentem pequena variabilidade de aminoácidos, existe uma diferença quanto à interação com seus respectivos substratos, sendo a afinidade de *C4A* por grupos

amino e de C4B por grupos hidroxila (LAW et al., 1984; ISENMAN; YOUNG, 1984). As variantes de C4B apresentam maior atividade hemolítica do que as de C4A, uma vez que a sua ponte tioéster liga-se preferencialmente a grupos hidroxila presentes em abundância nas hemácias. Outra diferença é que a maioria das variantes de C4A codifica o antígeno de grupo sanguíneo Rodgers enquanto as de C4B codificam o antígeno Chido (MOULDS, 2001).

A ausência de proteínas C4 no soro ou plasma levou à identificação de alelos nulos como *C4A*Q0* e *C4B*Q0*, os quais são característicos de determinados haplótipos HLA (AWDEH et al. 1983; CARROLL et al. 1985). Por exemplo, *HLA-B*08_DRB1*03:01* (haplótipo ancestral 8.1) contém um gene *C4B* curto e um gene *C4A* nulo (DAWKINS et al. 1999). Alelos nulos de *C4A* ou *C4B* ocorrem em aproximadamente 45-56% de europeus, embora a deficiência total de C4 seja extremamente rara (SEPPANEN et al. 2006; YANG et al. 2007 e WU et al. 2009). A inabilidade completa de expressar as proteínas C4 foi documentada em apenas 28 indivíduos, pertencentes a 19 famílias, caracterizados por 16 diferentes haplótipos HLA de ancestralidade europeia, africana e asiática. A maioria dos pacientes com deficiência completa de C4 eram homozigotos para os genes HLA de classes I e II como consequência de casamentos consanguíneos. As bases moleculares para a explicação da deficiência de C4 incluem a presença de haplótipos RCCX monomodulares ou bimodulares contendo minideleções, mini-inserções e mutações de ponto conduzindo a formação de códons de terminação prematuros (YANG et al., 2004). Entre os casos de deficiência total de C4, 22 (78,6%) foram diagnosticados com Lúpus Eritematoso Sistêmico ou uma doença tipo Lúpus, e os outros doenças renais incluindo glomerulonefrite. A frequência de sépsis ou infecções graves recorrentes entre todos os casos foi de 29% (ATKINSON; YU, 2016).

Os SNPs são as variações mais frequentes no genoma humano e têm sido muito utilizados como marcadores em análises genéticas (HUANG et al., 2011). Puschendorf (2003) ao investigar a diversidade de *C4A* e *C4B* em um painel de linhagens celulares homozigotas para os locos do MHC identificou vários SNPs ao longo dos exons e introns destes genes. O fato de vários destes SNPs estarem associados à haplótipos ancestrais conservados os torna marcadores de uma determinada extensão da região central do MHC.

ASSOCIAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DA REGIÃO DE CLASSE III DO MHC COM DOENÇAS

A diversidade da região central do MHC, que apresenta inúmeros genes envolvidos na resposta imune inata e nos processos inflamatórios, tem sido associada com doenças autoimunes, infecções e também às complicações imunológicas pós-TCTH como as formas aguda e crônica da DECH (SASAZUKI et al., 2016; HANIFI et al., 1998; MALKKI et al. 2007a).

Duzentos e noventa e cinco locos de microssatélites, os quais são sequências de um a dez nucleotídeos repetidos em tandem, já foram descritos na região de classe III (SHIINA et al., 2009; GEMAYEL et al., 2012). Estes marcadores têm sido utilizados para avaliação de desfechos no TCTH. Nos transplantes com doadores não aparentados os microssatélites *TNFd*, D6S2787 e D6S273 foram associados com maior risco de mortalidade (BETTENS et al., 2006; MALKKI et al., 2007b), e o D6S0035i com DECHa II-IV (HARKENSEE et al., 2013).

Em relação ao impacto de SNPs nos TCTH, pacientes homozigotos para o genótipo AA do gene *HSP70* foram associados ao maior risco de DECHa (BOGUNIA-KUBIK; LANGE, 2005), e incompatibilidade no SNP da posição -1031 (rs1799964) do gene *TNF- α* ao risco de DECHa graus III-IV (GOYAL et al., 2010; HARKENSEE et al., 2012).

Os locos das proteínas do complemento *C2*, *CFB* e *C4* apresentam alto desequilíbrio de ligação entre suas variantes alélicas e constituem uma unidade conservada denominada complótipo, o qual é transmitido de geração em geração sem recombinação (ALPER et al. 1983). Doxiadis et al. (1989) demonstraram que a identificação dos produtos alélicos dos genes *HLA*, *C4* e *CFB* possibilitava a definição de haplótipos estendidos que favorecia a seleção de doadores de células-tronco hematopoiéticas. Estudo realizado por Dorak et al. (1993) mostrou que pacientes e doadores não aparentados que apresentavam os mesmos fenótipos HLA (*HLA-A*, *-B* e *-DRB1*) não eram necessariamente idênticos para a região de classe III. Estes autores encontraram diferenças entre os receptores e doadores nos genes *C4*, *CFB*, *TNF* e *HSP70* ao investigarem polimorfismos pelo método de *RFLP* (Polimorfismo de Comprimento dos Fragmentos de Restrição).

Tay et al. (1995a) desenvolveram um método de avaliação de compatibilidade de haplótipos entre receptor e doador não aparentado de medula

óssea que foi denominado “Tipagem de Blocos do MHC”. Este método utiliza polimorfismos não-HLA como marcadores do bloco gênico *HLA-B* e *-C* e do bloco que inclui *HLA-DR* e *-DQ*. Posteriormente, os estudos de Tay et al. (1995b) e Witt et al. (2000), utilizando estes mesmos marcadores, mostraram melhor sobrevida e significativa diminuição de DECH graus III e IV quando os pacientes e seus doadores de células-tronco hematopoiéticas eram compatíveis para ambos os haplótipos do MHC.

Alguns anos mais tarde Guo et al. (2006) desenvolveram um método para captura de haplótipos HLA em fase sólida utilizando sondas específicas para o loco *HLA-B*. Esta abordagem foi utilizada por Petersdorf et al. (2007) para avaliar o impacto da compatibilidade haplotípica na incidência das manifestações graves da DECH em 246 pacientes submetidos ao transplante com doador não aparentado. Os resultados mostraram que pares idênticos para os locos *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1* e *-DQB1*, mas com haplótipos MHC diferentes, apresentavam maior risco de manifestações da DECH III-IV e menor risco de recaída da doença quando comparados aos que tinham compatibilidade HLA e haplotípica. Esta estratégia, apesar de muito informativa, é laboriosa, complexa e não é de fácil aplicação em laboratório clínico de histocompatibilidade. Por esta razão, outros pesquisadores propuseram estratégias mais simples para a avaliação da compatibilidade na região dos genes *C4* do sistema complemento utilizando métodos moleculares distintos.

Park et al. (2016) utilizaram um método de PCR-SSP para a caracterização das variantes dos genes *C4A* e *C4B*, e verificaram que incompatibilidades nos isotipos de *C4* estavam associadas com maior incidência da DECHa em pacientes transplantados com doador não aparentado HLA 8/8 (*A*, *B*, *C* e *DRB1* idênticos), embora o estado da compatibilidade *DQB1* e *DPB1* não tenha sido considerado neste estudo.

Alguns anos antes, Candy et al. (2012) também propuseram uma avaliação rápida e com melhor custo-benefício para utilização em laboratório clínico. Esta estratégia baseada no método de PCR-SSP possibilita a identificação de SNPs na região dos genes *C4* (PUSCHENDORF, 2003) e permite inferir a compatibilidade haplotípica entre o receptor e o doador.

A investigação destes polimorfismos dos genes *C4*, descobertos por Puschendorf (2003), nos pacientes e seus respectivos doadores poderia fornecer informações sobre o impacto da diversidade desta região nos resultados dos

transplantes de células-tronco hematopoiéticas. Pode-se especular que variantes alélicas dos genes *C4* *per se* poderiam ser fatores de risco de ocorrência da DECH e de mortalidade pós-TCTH, ou que sejam apenas marcadores em desequilíbrio de ligação com variantes de outros genes do MHC envolvidos nas respostas imune e inflamatória. Estas variantes polimórficas da região central do MHC quando compartilhadas por pacientes e doadores HLA de classe I (região telomérica) e classe II (região centromérica) idênticos podem indicar compatibilidade haplotípica entre ambos. Estes marcadores podem ser úteis na seleção de doadores não aparentados de células-tronco hematopoiéticas uma vez que dados da literatura já mostram que a compatibilidade de haplótipos MHC é um fator de melhor prognóstico pós-TCTH. Consideramos que tais hipóteses justificam a realização do presente estudo.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o impacto de incompatibilidades nos genes *C4A* e *C4B* do Sistema Complemento, localizados na região de classe III do MHC, na evolução clínica do paciente após o transplante de células-tronco hematopoiéticas com doador não aparentado *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1* e *-DQB1* idêntico (HLA 10/10).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o grau e o tipo de compatibilidade de 23 polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), localizados nos exons e introns dos genes *C4A* e *C4B* da região de classe III do MHC, entre os 238 pares receptor/doador por meio da PCR-SSP e do sequenciamento de segunda geração (NGS);
- Determinar o grau e o tipo de compatibilidade do gene *HLA-DPB1* entre os 238 pares receptor/doador por meio da tipagem de alta resolução utilizando sequenciamento direto do DNA (Sanger) por ser um potencial fator de interferência na análise dos SNPs *C4A* e *C4B*;
- Investigar se a presença de incompatibilidades nos genes *C4A* e *C4B* e/ou *DPB1* entre os receptores e doadores está associada à maior incidência de DECH aguda, de DECH crônica e ou aumento da mortalidade após o TCTH.

3. PACIENTES

A casuística deste estudo envolveu inicialmente 158 pacientes e seus respectivos doadores não aparentados de células-tronco hematopoéticas. Estes pares receptor/doador foram selecionados com base na identidade dos locos *HLA-A* e *-B* em média resolução e *HLA-DRB1* em alta resolução. Após a tipagem HLA de alta resolução, com a inclusão de *HLA-C* e *-DQB1* foram reveladas uma ou mais incompatibilidades nos locos HLA de classe I em 29 dos 158 pares. Estes pares com incompatibilidades de classe I foram excluídos do estudo e aos 129 pares restantes foram acrescentados 109 novos pares. A amostra total ficou constituída de 238 pares receptor/doador HLA 10/10 atendendo o critério de inclusão que é compatibilidade em alta resolução nos locos *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1* e *-DQB1*.

Todos os pacientes incluídos neste estudo foram submetidos ao primeiro transplante. A fonte de células-tronco hematopoiéticas foi medula óssea para 199 pacientes (83,6%) e sangue periférico para 39 (16,4%).

Cento e sessenta e dois pacientes desta casuística foram transplantados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Curitiba, PR) entre setembro de 1996 e junho de 2015, 48 no Hospital Amaral Carvalho (Jaú, SP) entre julho de 2009 e julho 2015, 20 no Hospital Israelita Albert Einstein (São Paulo, SP) entre janeiro de 2012 e agosto de 2015 e 8 no Hospital Nossa Senhora das Graças (Curitiba, PR) entre novembro de 2011 e julho de 2013.

Com respeito aos tipos de doenças 124 (52,1%) pacientes tinham leucemias agudas, leucemias crônicas, linfomas ou mielodisplasias, enquanto 114 (47,9%) apresentavam outras doenças hematológicas (Tabela 1).

Regimes de condicionamento mieloablativos foram utilizados em 145 (61%) dos pacientes, de intensidade reduzida em 81 (34%) e não mieloablativo nos demais 12 (5%). A imunoprofilaxia de escolha para 214 (90%) pacientes incluiu a combinação de ciclosporina e metotrexato enquanto outros regimes imunossupressores foram utilizados nos demais 28 (12%) indivíduos.

Quanto ao gênero, 141 (59%) pacientes são do sexo masculino e 97 (41%) do feminino e dentre os doadores, 147 (62%) são do sexo masculino e 91 (38%) do feminino. A idade dos pacientes na época do transplante variou entre 4 meses e 74 anos (Mediana = 15 anos) e a de seus doadores entre 18 anos e 54 anos (Mediana = 30 anos).

TABELA 1 – DOENÇAS APRESENTADAS PELOS PACIENTES INCLUÍDOS NESTE ESTUDO

DIAGNÓSTICO	N=238	%
Anemia aplástica severa	39	16,4
Aplasia pura de série vermelha	1	0,4
Fanconi	40	16,8
Púrpura amegacariocítica	1	0,4
Adrenoleucodistrofia	2	0,8
Adrenoleucodistrofia ligada ao X	1	0,4
Blackfan Diamond	4	1,7
Disceratose congênita	9	3,8
Imunodeficiências	5	2,1
Síndrome Chediak Higashi	2	0,8
Síndrome hiper IGE tipo autossômico	1	0,4
Síndrome de Wiskott Aldrich	3	1,3
Histiocitose	1	0,4
Doença granulomatosa crônica	2	0,8
Mielofibrose	2	0,8
Síndrome mielodisplásica	13	5,5
Leucemia aguda de tipo celular não especificado	1	0,4
Leucemia bifenotípica	3	1,3
Leucemia linfoide aguda	45	18,9
Leucemia linfoide crônica	1	0,4
Leucemia mielóide aguda	35	14,7
Leucemia mielóide crônica	17	7,1
Leucemia mielomonocítica juvenil	2	0,8
Linfoma anaplásico de grandes células T	1	0,4
Linfoma cutâneo	1	0,4
Linfoma de Hodgkin	2	0,8
Linfoma não Hodgkin	2	0,8
Neoplasia de células dendríticas plasmocitóides	2	0,8

4. MÉTODOS

4.1. ISOLAMENTO DE DNA

As amostras de DNA genômico de pacientes e doadores foram isoladas a partir de células nucleadas de sangue periférico coletado em EDTA. A extração do DNA foi realizada pelo método de *Salting Out* modificado, descrito por Miller et al. (1988). As concentrações das amostras de DNA foram determinadas pelo espectrofotômetro NanoDrop® 2000 (Thermo Scientific, USA) por meio da leitura da densidade ótica a 260nm e a pureza definida pela razão 260nm/280nm.

4.2. TIPAGEM *HLA-DPB1*

A tipagem do gene *HLA-DPB1* dos pacientes e seus doadores foi realizada com o conjunto de reagentes SeCore *DPB1* Locus Sequencing (One Lambda, Canoga Park, EUA) seguindo as instruções do fabricante. Este procedimento consistiu da amplificação do segundo, terceiro e quarto exons do gene *DPB1* pela reação da PCR. Na etapa seguinte, o DNA amplificado foi submetido a purificação com o reagente ExoSAP-IT®, que é uma combinação de enzimas (exonuclease I e fosfatase alcalina), e tem por finalidade remover primers e dNTPs não incorporados na fase da amplificação. Aos produtos da PCR purificados foram adicionadas misturas de reação de sequenciamento contendo nucleotídeos marcados com fluoróforos específicos para cada uma das bases nitrogenadas, as reações de sequenciamento foram realizadas nas direções *forward* e reversa. Os fragmentos sequenciados foram precipitados com etanol absoluto e tampão de precipitação. A seguir, os produtos das reações de sequenciamento foram desnaturados com formamida altamente deionizada e submetidos a eletroforese capilar no analisador genético de DNA ABI 3500XL (Life Technologies, Carlsbad, EUA). A designação dos alelos foi realizada com o software uTYPE™ (One Lambda, Canoga Park, EUA), que utilizou as sequências geradas pelo analisador genético de DNA e as comparou a um banco de dados de sequências conhecidas do gene *HLA-DPB1*.

Ambiguidades nos resultados da tipagem *HLA-DPB1* de pacientes ou doadores foram esclarecidas com uma segunda tipagem *HLA-DPB1* utilizando o método de PCR-SSO (*Polymerase Chain Reaction – Sequence Specific*

Oligonucleotide) e o conjunto de reagentes LABType SSO Class II *DPA1* and *DPB1* Typing Test (One Lambda, Canoga Park, EUA) conforme instruções do fabricante. O método de PCR-SSO reverso emprega, na primeira fase, a reação em cadeia da polimerase para amplificar o segundo e terceiro exons do gene *HLA-DPB1* e o segundo exon do gene *HLA-DPA1* utilizando primers marcados com biotina. Na segunda fase, o DNA amplificado é desnaturado e submetido à hibridização com um conjunto de sondas de oligonucleotídeos sequências específicas que estão imobilizadas em microesferas de poliestireno codificadas por coloração fluorescente. As microesferas de uma determinada tonalidade estão conjugadas a um único tipo de sonda. Após a hibridização, as microesferas são submetidas a um processo de lavagem e posterior reação com um conjugado de estreptoavidina-ficoeritrina, que se liga ao DNA amplificado biotinilado. Na última fase, um analisador de fluxo (LABScan™ 100) identifica a intensidade da fluorescência da ficoeritrina em cada microesfera. O resultado da tipagem HLA é obtido com o uso do software HLA Fusion (One Lambda, Canoga Park, EUA) que se baseia no padrão de reações positivas, reveladas pela intensidade de fluorescência da ficoeritrina, de cada amostra de DNA com o conjunto de sondas utilizado.

4.3. TIPAGEM DE SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* POR PCR-SSP

A tipagem de SNPs dos genes *C4A* e *C4B* dos pacientes e seus doadores foi realizada pelo método de PCR-SSP (*Polymerase Chain Reaction – Sequence Specific Primers*) utilizando o kit Gamma-Type™ (Conexio Genomics, Freemantle, Austrália). Este conjunto de reagentes consiste de misturas de reações PCR para 23 diferentes SNPs e uma deleção neste segmento do bloco gama do MHC, detalhes da localização dos SNPs estão descritos na tabela 2. Cada mistura de PCR contém tampão, dNTPs, MgCl₂, conjunto de *primers* de controle interno e conjunto de *primers* sequência específicos para os SNPs contemplados no kit Gamma-Type™ e DNA polimerase.

TABELA 2 - SNPS INVESTIGADOS NOS GENES *C4A* e *C4B*, ALTERAÇÕES DE AMINOÁCIDOS E LOCALIZAÇÃO

Identificação do SNP no kit SSP	Exon/ Intron	Substituição de nucleotídeo	Alteração de aminoácido	Localização oficial ^a	Identificação do SNP ^b
T9763	E12	C>T	Arginina > Triptofano	6:g.31959596	-
C9796	E12	A>C	Treonina > Prolina	6:g.31959629	-
T9881	I12	C>T	-	6:g.31959714	-
T10289	I13	G>T	-	6:g.31960122	-
T10309	I13	C>T	-	6:g.31960142	-
C10676	I14	T>C	-	6:g.31960509	-
A11437	E17	C>A	Arginina > Serina	6:g.31961270	-
A11483	E17	G>A	Arginina > Glutamina	6:g.31961316	-
G12071	I19	A>G	-	6:g.31961904	rs144749273
A12152	I19	G>A	-	6:g.31961985	rs12524856
G12749	I21	A>G	-	6:g.31962582	rs428963
A12568	E21	G>A	Alanina > Treonina	6:g.31962401	rs429329
A12837	I21	C>T	-	6:g.31962670	rs137902481
A13189	I23	G>A	-	6:g.31963022	-
C13193	I23	T>C	-	6:g.31963026	rs149464899
T14563	I28	C>DEL	-	6:g.31964395	rs564578360
T14757	I28	C>T	-	6:g.31964590	-
A14831	E29	G>A	Prolina > Prolina	6:g.31964664	rs368403366
T14952	E29	T>G	Alanina > Serina	6:g.31964785	rs201016130
G15108	E30	T>G	Ácido aspártico > Ácido glutâmico	6:g.31964941	-
C16954	E33	G>C	Alanina > Prolina	6:g.31966787	-
T17316	E34	C>T	Histidina > Histidina	6:g.31967149	-
T19588	I38	C>T	-	6:g.31969421	rs149763320
A20170	E40	G>A	Leucina > Leucina	6:g.31970003	-

a. Sequência genômica: NC_000006.11 Chromosome 6 Reference GRCh37.p13 Primary Assembly

b. Base de dados de SNPs (DBSNP – Short Genetic Variation (www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP))

Amplificação: cada amostra de DNA na concentração de 50 ng/μl foi submetida às 23 reações de PCR seguindo as instruções do fabricante. A

amplificação foi realizada em termociclador Eppendorf Mastercycler® Pro (Eppendorf, Alemanha) conforme o protocolo: 1 ciclo a 95°C / 10 min, 33 ciclos de 96°C – 20 s / 60°C – 30 s / 72°C – 3 min e 1 ciclo final de 15°C por 15 min.

Eletroforese: Cinco microlitros de cada produto de PCR foram misturados com 5 µL do tampão de carregamento (50 mM TRIS pH 7,6; 45 mM EDTA; 0,5% SDS; 0,1% azul de bromofenol; 40% sacarose) para realização da eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo. A corrida eletroforética foi conduzida em tampão TBE (90 mM TRIS-borato; 2 mM EDTA pH 8.0) e ao término da mesma procedeu-se à fotodocumentação.

Análise e interpretação dos resultados: análise dos resultados foi realizada após confirmação da ausência de bandas na cavidade referente ao controle negativo e presença da banda controle interno em todas as demais cavidades do gel que não apresentem banda específica para um SNP. Resultado positivo foi caracterizado pela presença de uma banda adicional ao controle interno, referente à identificação de um dos SNPs cujos tamanhos de fragmentos esperados estão na tabela 3. A presença ou ausência de banda específica para cada SNP avaliado pelo kit Gamma-Type™ permitiu determinar o perfil do paciente e de seu doador, e mediante a comparação destes perfis pode-se determinar se havia ou não compatibilidade entre os pares. Foram considerados compatíveis os pares receptor/doador que apresentaram reações positivas ou negativas para os mesmos SNPs (figura 5), e incompatíveis os que apresentaram um ou mais resultados distintos entre os 23 SNPs analisados (Figura 6).

TABELA 3 - TAMANHO DOS PRODUTOS DA PCR DE CADA SNPS DOS GENES C4A E C4B CONTEMPLADOS NO KIT GAMMA TYPE™

Identificação dos SNPs	Tamanho do fragmento amplificado	Tamanho do fragmento do controle interno
47.1 AH / C9796	≈ 180 bp	≈ 450 bp
57.1 AH / T9763	≈ 350 bp	≈ 450 bp
65.1 AH / T17316	≈ 350 bp	≈ 450 bp
42.1 AH / C16954	≈ 250 bp	≈ 450 bp
54.1 AH / T9881	≈ 250 bp	≈ 450 bp
44.2 AH / G12071	≈ 250 bp	≈ 450 bp
8.1 AH / A12658-A12837	≈ 300 bp	≈ 450 bp
55.1 AH / A11483	≈ 200 bp	≈ 450 bp
13.1 AH / C10676	≈ 300 bp	≈ 450 bp
A12152	≈ 200 bp	≈ 450 bp
A14831	≈ 250 bp	≈ 450 bp
T19588	≈ 320 bp	≈ 450 bp
C13193	≈ 250 bp	≈ 450 bp
A13189	≈ 250 bp	≈ 450 bp
T10289	≈ 200 bp	≈ 450 bp
7.1 AH / G15108	≈ 450 bp	≈ 300 bp
62.1 AH / A11437	≈ 500 bp	≈ 300 bp
44.4 AH / T10309	≈ 500 bp	≈ 300 bp
T14563	≈ 500 bp	≈ 300 bp
T14952	≈ 360 bp	≈ 300 bp
G12749	≈ 500 bp	≈ 300 bp
A20170	≈ 500 bp	≈ 300 bp
T14757	≈ 350 bp	≈ 300 bp

FONTE: Instruções de uso do kit Gamma-Type™, versão 1.0, 2012.

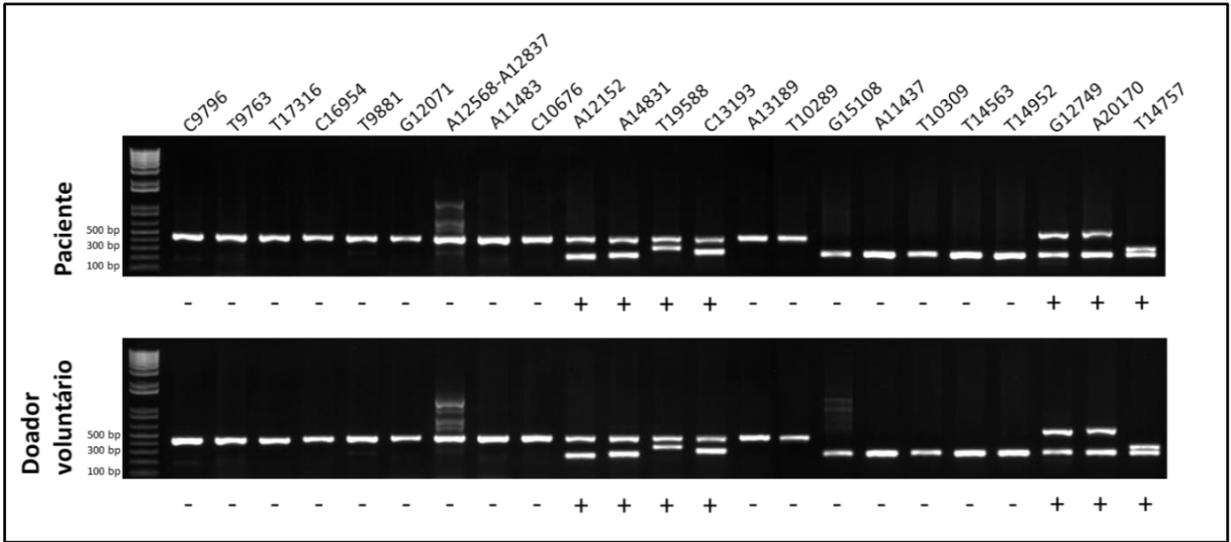


FIGURA 5 - PERFIL DE SNPs (GAMMA-TYPE™) DE UM PAR RECEPTOR/DOADOR COMPATÍVEL.

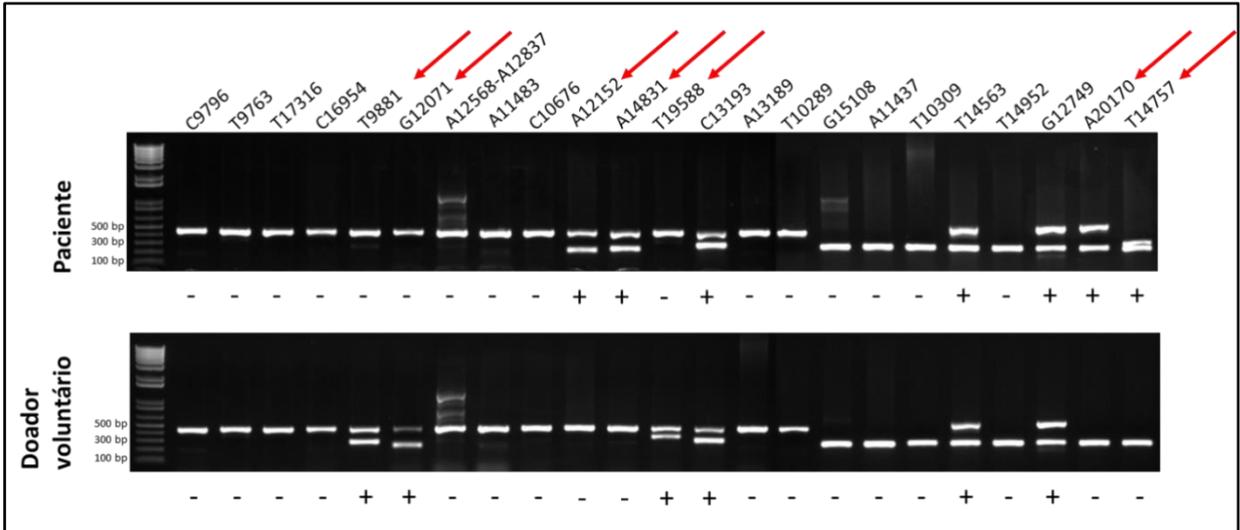


FIGURA 6 - PERFIL DE SNPs (GAMMA-TYPE™) DE UM PAR PACIENTE/DOADOR COM 7 INCOMPATIBILIDADES.

4.4. TIPAGEM DE SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* POR SEQUENCIAMENTO DE PRÓXIMA GERAÇÃO (*NEXT GENERATION SEQUENCING* - *NGS*)

A tipagem dos SNPs dos genes *C4A* e *C4B* por sequenciamento de segunda geração (*NGS*), utilizando reagentes para Gamma Block Specific Polymorphism Typing (Conexio Genomics, Australia), iniciou com PCR multiplex de longa extensão para amplificar as regiões alvo dos genes *C4A* e *C4B*, localizado na região gama do MHC, as quais foram em seguida submetidas ao *NGS*.

PCR de longa extensão: Cada amostra de DNA na concentração de 50 ng/ μ l foi submetida à amplificação para obtenção de fragmentos dos genes *C4A* e *C4B* utilizando mistura para PCR de longa extensão fornecida no kit Gamma Block Specific Polymorphism Typing (Conexio Genomics, Australia). A PCR foi realizada conforme o seguinte programa: 1 ciclo a 95°C / 10 min, 30 ciclos de 96°C – 20 s / 60°C – 30 s / 72°C – 5 min, 72°C – 10 min e 15°C – 15 min. A confirmação da amplificação foi realizada por eletroforese gel de agarose 1% onde os fragmentos com tamanhos de ~1,5 kb, ~2,6 kb, ~2,8 kb e ~5,5 kb foram visualizados.

Purificação dos produtos da PCR de longa extensão: A purificação dos produtos de PCR foi realizada com o reagente Agentcourt® AMPure® XP (Beckman Coulter, USA) conforme instruções do fabricante. Este método utiliza microesferas paramagnéticas como fase sólida para a recuperação de fragmentos de DNA amplificado livres de interferentes, tais como sobras de *primers*, nucleotídeos, sais e enzimas. Após a purificação os produtos de PCR foram quantificados no fluorômetro Qubit™ 3 (Thermo Fischer Scientific, USA) seguindo o protocolo do fabricante. Este procedimento foi realizado para garantir que 1 ng de DNA total fosse utilizado na construção das bibliotecas de DNA.

Preparo das bibliotecas de DNA: A construção das bibliotecas de DNA para o sequenciamento e leitura no equipamento MiSeq® (illumina, USA) foi realizada com o conjunto de reagentes Nextera XT DNA Library Preparation Kit (FC-131-1096, illumina, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Durante a etapa de purificação do protocolo Nextera® XT, foram utilizados os volumes de AMPure® XP recomendados para obter fragmentos de tamanho >500 pares de

bases. A seguir as amostras eram carregadas no cartucho de reagentes MiSeq® Reagent Kit v3 (MS-103-3003, illumina, USA) e seguiam para o sequenciamento.

Análise de dados: Os dados obtidos pelo sequenciador MiSeq® foram analisados com o *software* Assign™ MPS (Conexio Genomics, Austrália) utilizando a sequência genômica NG_011638.1 para identificação dos mesmos polimorfismos específicos dos genes *C4A* e *C4B* do sistema complemento identificados pelo conjunto de reagentes Gamma-Type™ (Conexio Genomics, Freemantle, Austrália) e descritos na tabela 2.

4.5. ANÁLISE *IN SILICO* DOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B*

A análise *in silico* dos 23 SNPs investigados no presente estudo foi realizada com auxílio dos programas Polyphen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) e SIFT (<http://sift.jcvi.org/>). O Polyphen-2 (*Polymorphism Phenotyping v2*) é uma ferramenta que prediz o possível impacto de substituições de aminoácidos sobre a estrutura e função de proteínas humanas com base em considerações diretas obtidas de comparações físicas e evolucionárias. O programa SIFT (*Sort Intolerant from Tolerant*) é uma ferramenta baseada na homologia de sequências que separa substituições de aminoácidos toleráveis das intoleráveis, e prediz se uma substituição de aminoácido terá um efeito fenotípico. Esta ferramenta é baseada na premissa que a evolução de uma proteína está correlacionada com sua função. As posições importantes para a função devem ser conservadas num alinhamento da família da proteína, enquanto posições não importantes devem mostrar diversidade no alinhamento (sequências coletadas por meio do PSI-BLAST).

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de variáveis quantitativas foram descritos por médias, desvios padrões, medianas, valores mínimos e valores máximos. Para variáveis categóricas foram apresentadas frequências e percentuais. Para avaliar a associação de variáveis clínicas e de variáveis relacionadas aos SNPs com o desfecho de óbito, foram ajustados modelos de Regressão de Cox e estimados os valores de razão de riscos (*hazard ratio*) com intervalos de confiança de 95%. Nesses modelos, a

ocorrência de DECH aguda e DECH crônica foram consideradas variáveis tempo-dependentes. Para as análises da associação de variáveis clínicas e de variáveis relativas aos SNPs com os desfechos DECH aguda e DECH crônica, foram ajustados modelos de Fine e Gray. Neste caso, a medida de associação estimada foi a razão de risco da subdistribuição (*subdistribution hazard ratio*). Para a análise de fatores associados aos desfechos de interesse, inicialmente foi realizada a análise univariada considerando-se cada uma das variáveis clínicas: idade e sexo do paciente, CMV, diagnóstico (doenças malignas ou não malignas), fonte de células (medula óssea ou sangue periférico), condicionamento (mieloablativo, intensidade reduzida, ou não mieloablativo), imunoprofilaxia, número de células infundidas e cada uma das variáveis relativas aos SNPs: compatibilidade para todos os SNPs ou incompatibilidade para pelo menos um dos SNPs e compatibilidade (sim ou não) para os SNPs que apresentaram pelo menos 10 pares receptor/doador com incompatibilidade. A seguir foram ajustados modelos multivariados para cada variável relativa aos SNPs incluindo-se como co-variáveis aquelas variáveis clínicas que apresentaram significância na análise univariada. O nível de significância considerado foi $p < 0,05$, exceto nas análises do efeito individual dos SNPs analisados nos genes *C4A* e *C4B* onde foi aplicada a correção de Bonferroni. Para estas, foram considerados com significância estatística os valores de $p < 0,002$. Os dados foram analisados com o programa computacional Stata v.14.1 (StataCorp LP, USA).

5. RESULTADOS

5.1. TIPAGEM *HLA-DPB1* DE ALTA RESOLUÇÃO

Os resultados das tipificações *HLA-DPB1* mostraram que em 35 (14,7%) dos 238 pares receptor/doador *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1* e *-DQB1* idênticos eram também compatíveis para o gene *DPB1* (12/12); 99 (41,6%) apresentavam uma ou duas incompatibilidades *DPB1* permissíveis (11/12 ou 10/12), e 80 (43,7%) mostraram uma ou duas incompatibilidades não-permissíveis (11/12 ou 10/12). Os resultados das tipagens moleculares *HLA* de alta resolução da amostra total estão demonstrados no apêndice 1. A ferramenta *online* “*DPB1* T-Cell Epitope Algorithm” versão 2.0, disponível no site: http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/dpb_v2.html, foi utilizada para identificar quais incompatibilidades *HLA-DPB1* eram permissíveis ou não permissíveis. Os critérios de permissividade das incompatibilidades *DPB1* são baseados nos epítomos das moléculas DP alogênicas reconhecidos pelo receptor dos linfócitos T, conforme algoritmo desenvolvido pelo grupo de Katharina Fleischhauer (FLEISCHHAUER et al. 2012; SHAW et al. 2013; CRIVELLO et al. 2015).

A investigação do impacto de incompatibilidade *DPB1* sobre os resultados dos transplantes de células tronco hematopoiéticas foi realizada comparando-se os desfechos mortalidade, DECHa e DECHc entre dois grupos (tabelas 4, 5, e 6): o primeiro foi constituído de pares receptor/doador DP compatíveis associados aqueles com incompatibilidades *DPB1* permissíveis totalizando 134 pares (56,3%), e o segundo grupo incluiu somente os 104 (43,7%) pares receptor/doador com incompatibilidades *DPB1* não permissíveis.

TABELA 4 - MORTALIDADE PÓS-TCTH NAS SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME O ESTADO DE COMPATIBILIDADE *DPB1* ENTRE RECEPTOR E DOADOR

VARIÁVEL ^a	N (238)	ÓBITOS (%)	P ^b	RR ^b	IC 95% ^b
HLA-DPc+DPp (ref)	134	42 (31,3%)			
HLA-DPnp	104	39 (37,5%)	0,321	1,25	0,81 – 1,93

a. HLA-DPc+DPp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados *HLA* 10/10 com compatibilidade *DPB1* ou com incompatibilidade *DPB1* permissível. HLA-DPnp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados *HLA* 10/10 com incompatibilidade *DPB1* não permissível;

b. Modelo de regressão de Cox, $p < 0,05$; RR = razão de riscos; IC = intervalo de confiança.

TABELA 5 - DECH AGUDA PÓS-TCTH NAS SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME O ESTADO DE COMPATIBILIDADE *DPB1* ENTRE RECEPTOR E DOADOR

VARIÁVEL ^a	N (238)	DECHa (%)	P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
HLA-DPc+DPp (ref)	134	54 (40,3%)			
HLA-DPnp	104	37 (35,6%)	0,494	0,86	0,56 – 1,32

a. HLA-DPc+DPp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados com compatibilidade *DPB1* ou com incompatibilidade *DPB1* permissível. HLA-DPnp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados com incompatibilidade *DPB1* não permissível.

b. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.

TABELA 6 - DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NAS SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME O ESTADO DE COMPATIBILIDADE *DPB1* ENTRE RECEPTOR E DOADOR

VARIÁVEL ^a	N (238)	DECHc (%)	P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
HLA-DPc+DPp (ref)	134	37 (27,6%)			
HLA-DPnp	104	23 (22,1%)	0,250	0,729	0,43 – 1,25

a. HLA-DPc+DPp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados HLA 10/10 com compatibilidade *DPB1* ou com incompatibilidade *DPB1* permissível. HLA-DPnp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados HLA 10/10 com incompatibilidade *DPB1* não permissível.

b. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.

5.2. TIPAGEM DOS 23 SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B*

Os 238 pares de pacientes e seus doadores de medula óssea foram tipados para 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B*, sendo 129 (54,2%) por PCR-SSP e 109 (43,7%) por NGS conforme descrito em métodos (itens 4.3 e 4.4).

Os resultados da tipagem destes SNPs dos pacientes e seus doadores não aparentados HLA 10/10 mostrou que 136 (57,1%) dos pares eram compatíveis para os polimorfismos analisados e 102 (42,9%) apresentavam pelo menos uma incompatibilidade. Os dados detalhados da tipagem dos 238 pares receptor/doador estão descritos no apêndice 2.

Foram considerados compatíveis os pares com nenhuma incompatibilidade nos 23 SNPs (ver tabela 2 em métodos), e incompatíveis aqueles que apresentaram pelo menos uma incompatibilidade sendo que o número de incompatibilidades variou de 1 a 7. A tabela 7 mostra a distribuição das incompatibilidades dos SNPs na amostra total (n= 238).

TABELA 7 - NÚMERO DE INCOMPATIBILIDADES NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* NOS 238 PARES RECEPTOR/DOADOR

Nº SNPS INCOMPATÍVEIS	N	%
0	136	57,1
1	34	14,3
2	22	9,2
3	16	6,7
4	14	5,9
5	10	4,2
6	3	1,3
7	3	1,3
Total	238	100

As frequências genóticas e alélicas dos 23 SNPs *C4A* e *C4B* foram determinadas com base nos resultados dos 109 doadores de células-tronco hematopoiéticas incluídos neste estudo, e que foram tipificados pelo método de NGS (Tabelas 8 e 9).

TABELA 8 – FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS DE SNPS DOS GENES C4A E C4B NOS DOADORES NÃO APARENTADOS

SNP	GENÓTIPO	Nº DOADORES N = 109	FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS %
9763	CC	106	97,2
	TT	0	0,0
	TC	3	2,8
9881	CC	109	100,0
	TT	0	0,0
	CT	0	0,0
9796	AA	109	100,0
	CC	0	0,0
	AC	0	0,0
10289	GG	109	100,0
	TT	0	0,0
	GT	0	0,0
10309	CC	108	99,1
	TT	0	0,0
	TC	1	0,9
10676	TT	109	100,0
	CC	0	0,0
	CT	0	0,0
11437	CC	106	97,2
	AA	0	0,0
	CA	3	2,8
11483	GG	109	100,0
	AA	0	0,0
	GA	0	0,0
12071	AA	88	80,7
	GG	0	0,0
	AG	21	19,3
12152	GG	65	59,6
	AA	0	0,0
	GA	44	40,4
12568	GG	78	71,6
	AA	0	0,0
	GA	31	28,4
12749	GG	7	6,4
	AA	8	7,3
	GA	94	86,2
12837	CC	15	13,8
	TT	7	6,4
	CT	87	79,8
13189	GG	109	100,0
	AA	0	0,0
	GA	0	0,0

SNP	GENÓTIPO	Nº DOADORES N = 109	FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS %
13193	CC	88	80,7
	TT	1	0,9
	TC	20	18,3
14563*	CC	108	100,0
	DEL	0	0,0
	C/DEL	0	0,0
14757	CC	109	100,0
	TT	0	0,0
	CT	0	0,0
14831	GG	60	55,0
	AA	0	0,0
	GA	49	45,0
14952	GG	89	81,7
	TT	0	0,0
	GT	20	18,3
15108	TT	109	100,0
	GG	0	0,0
	TG	0	0,0
16954	GG	109	100,0
	CC	0	0,0
	GG	0	0,0
17316	CC	93	85,3
	TT	0	0,0
	CT	16	14,7
19588	CC	25	22,9
	TT	31	28,4
	CT	53	48,6
20170	AA	9	8,3
	GG	52	47,7
	AG	48	44,0

*O total de indivíduos avaliados para o SNP 14563 foi de 108.

TABELA 9 - FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DE SNPS DOS GENES C4A E C4B NOS DOADORES NÃO APARENTADOS

SNP	ALELO (N=109)	FREQUÊNCIAS ALÉLICAS %
9763	C	98,6
	T	1,4
9881	C	100,0
	T	0,0
9796	A	100,0
	C	0,0
10289	G	100,0
	T	0,0
10309	C	99,5
	T	0,5
10676	T	100,0
	C	0,0
11437	C	98,6
	A	1,4
11483	G	100,0
	A	0,0
12071	A	90,4
	G	9,6
12152	G	79,8
	A	20,2
12568	G	85,8
	A	14,2
12749	G	49,5
	A	50,5
12837	C	53,7
	T	46,3
13189	G	100,0
	A	0,0
13193	C	89,9
	T	10,1
14563*	C	100,0
	DEL	0,0
14757	C	100,0
	T	0,0
14831	G	77,5
	A	22,5
14952	G	90,8
	T	9,2
15108	T	100,0
	G	0,0
16954	G	100,0
	C	0,0

SNP	ALELO (N=109)	FREQUÊNCIAS ALÉLICAS %
17316	C	92,7
	T	7,3
19588	C	47,2
	T	52,8
20170	A	30,3
	G	69,7

*O total de indivíduos avaliados para o SNP 14563 foi de 108.

5.2.1. EFEITO DA INCOMPATIBILIDADE DOS GENES *C4A* E *C4B* ENTRE PACIENTE E DOADOR SOBRE A MORTALIDADE PÓS-TCTH

Os resultados das análises univariadas não mostraram associação entre incompatibilidades dos SNPs dos genes *C4A* e *C4B* e mortalidade pós-transplante na amostra total, nos grupos de pacientes subdivididos de acordo com o diagnóstico de doença maligna ou não maligna ou estratificados conforme a permissividade da incompatibilidade DPB1 (Tabelas 10, 11, 12 e 13).

A influência de um possível efeito aditivo das incompatibilidades dos SNPs *C4A/C4B* sobre a mortalidade após o TCTH foi também avaliada. O número de incompatibilidades entre os pares receptor (R) e doador (D) variou de um a sete (Tabela 10) e análises foram realizadas comparando-se três grupos: pares R/D compatíveis para os 23 SNPs *C4A* e *C4B*, pares R/D com 1 a 3 incompatibilidades e pares R/D com mais de 3 incompatibilidades. Não houve associação entre número de SNPs incompatíveis e mortalidade na amostra total (Tabela 14) e tampouco nas subamostras de doenças malignas e não malignas (dados não demonstrados).

TABELA 10 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E MORTALIDADE PÓS-TCTH NA AMOSTRA TOTAL^a

VARIÁVEL ^b	N (238)	ÓBITOS (%)	VALOR DE P ^c	RR ^c	IC 95% ^c
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	136	49 (36,0%)			
Incompatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	102	32 (31,4%)	0,714	0,92	0,59 – 1,44

a. n=238 pares receptor/doador *HLA-A, B, C, DRB1* e *DQB1* idênticos;

b. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes

c. Modelo de regressão de Cox, p<0,05; RR = razão de riscos; IC = intervalo de confiança.

TABELA 11 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E MORTALIDADE PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS MALIGNAS

VARIÁVEL ^a	N (124)	ÓBITOS (%)	VALOR DE P ^b	RR ^b	IC 95% ^b
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	70	30 (42,9%)			
Incompatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	54	22 (40,7%)	0,879	1,04	0,60 – 1,81

a. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* E *C4B* diferentes

b. Modelo de regressão de Cox, $p < 0,05$; RR = razão de riscos; IC = intervalo de confiança

TABELA 12 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E MORTALIDADE PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS NÃO MALIGNAS

VARIÁVEL ^a	N (114)	ÓBITOS (%)	VALOR DE P ^b	RR ^b	IC 95% ^b
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	66	19 (28,8%)			
Incompatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	48	10 (20,8%)	0,431	0,73	0,34 – 1,58

a. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* E *C4B* diferentes

b. Modelo de regressão de Cox, $p < 0,05$; RR = razão de riscos; IC = intervalo de confiança

TABELA 13 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E MORTALIDADE PÓS-TCTH EM SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME COMPATIBILIDADE *DPB1*

Compatibilidade <i>DPB1</i>	Compatibilidade nos SNPs dos genes <i>C4A</i> ^a	N (238)	ÓBITOS (%)	VALOR DE P ^b	RR ^b	IC 95% ^b
HLA-DPc+DPp ^c	Compatíveis	77	23 (29,9%)			
	Incompatíveis	57	19 (33,3%)	0,544	1,21	0,66 – 2,22
HLA-DPnp ^c	Compatíveis	59	26 (44,1%)			
	Incompatíveis	45	13 (28,9%)	0,260	0,68	0,35 – 1,33

a. Compatibilidade significa que os 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* são idênticos; incompatibilidade significa que 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* são diferentes.

b. Modelo de regressão de Cox, $p < 0,05$; RR = razão de riscos; IC = intervalo de confiança.

c. HLA-DPc+DPp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados apresentando compatibilidade *DPB1* ou incompatibilidade *DPB1* permissível. HLA-DPnp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados apresentando incompatibilidade *DPB1* não permissível.

TABELA 14 - SNPs DOS GENES *C4A* E *C4B* E MORTALIDADE PÓS-TCTH NA AMOSTRA ESTRATIFICADA CONFORME NÚMERO DE INCOMPATIBILIDADES ENTRE RECEPTOR E DOADOR

VARIÁVEL ^a	N (238)	ÓBITOS (%)	VALOR DE P ^b	RR ^b	IC 95% ^b
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	136	49 (36,0%)			
1-3 Incompatibilidades de SNPs <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	72	21 (29,2%)	0,506	0,84	0,50 – 1,40
>3 Incompatibilidades de SNPs <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	30	11 (36,7%)	0,728	1,12	0,58 – 2,16

a. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes

b. Modelo de regressão de Cox, $p < 0,05$; RR = razão de riscos; IC = intervalo de confiança

A análise multivariada na amostra total ($n = 238$) também não mostrou associação com mortalidade (RR 0,95; $p = 0,812$), e foi realizada por um modelo de Regressão de Cox que incluiu como variáveis de controle a idade na época do transplante e o diagnóstico de doença maligna ou não maligna. As análises univariadas que investigaram a possível influência dos dados clínicos e dos demográficos sobre a mortalidade estão descritas no apêndice 3.

5.2.2. EFEITO DE INCOMPATIBILIDADES DOS GENES *C4A* E *C4B* ENTRE PACIENTE E DOADOR SOBRE A DECH AGUDA

A investigação da influência de incompatibilidades nos SNPs dos genes *C4A* e *C4B* no desenvolvimento da DECH aguda pela análise univariada não mostrou associação com a manifestação desta doença quando avaliadas na amostra total (Tabela 15). Também não foi observada associação nas análises dos grupos constituídos apenas de doenças malignas ou de não malignas, e nas subamostras estratificadas conforme as incompatibilidades *DPB1* fossem compatíveis ou permissíveis versus as não permissíveis (Tabelas 16, 17 e 18).

O possível efeito aditivo das incompatibilidades dos SNPs *C4A/C4B* sobre o desenvolvimento da DECH aguda também foi investigado. Porém, a análise univariada não mostrou associação nos pares R/D compatíveis para os 23 SNPs, nos pares com 1 à 3 incompatibilidades e naqueles com mais de 3 incompatibilidades sobre o desenvolvimento da DECH aguda (Tabela 19). Esta ausência de associação também foi verificada nas amostras de pacientes com diagnóstico de doenças malignas e não malignas quando analisadas isoladamente (dados não mostrados).

A análise multivariada também mostrou a ausência de associação (RRS = 0,97; $p = 0,901$) de incompatibilidades nos SNPs *C4A* e *C4B* entre paciente e doador sobre a ocorrência de DECH aguda na amostra total.

Todos os tipos de análise utilizaram um modelo de Fine e Gray. A idade na época do transplante e o tipo de diagnóstico (doença maligna ou não maligna) foram utilizados como variáveis de controle e o óbito foi considerado risco competitivo. No apêndice 3 está a tabela contendo os resultados das análises univariadas que investigaram o possível efeito dos dados clínicos e demográficos sobre a ocorrência da DECH aguda.

Os pacientes que desenvolveram a forma aguda da DECH foram também investigados quanto ao impacto de incompatibilidades dos SNPs dos genes *C4A* e *C4B* na intensidade de manifestação desta doença. Os resultados não mostraram associações estatisticamente significantes entre a presença de uma ou mais incompatibilidades nos 23 SNPs estudados e a manifestação da DECH dos graus II, III e IV ($p = 0,806$). Quando o grupo de pacientes com DECH graus I e II foi comparado ao grupo com DECH graus III e IV ($p = 0,126$) também não houve associação. Não foram identificadas associações entre incompatibilidades em SNPs dos genes *C4A* e *C4B* e DECH graus II-IV ($p = 0,455$) e III-IV ($p = 0,822$) em pacientes com doenças malignas ou DECH graus II-IV ($p = 1$) e III-IV ($p = 0,198$) em pacientes com diagnóstico de doenças não malignas.

TABELA 15 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH AGUDA PÓS-TCTH NA AMOSTRA TOTAL^a

VARIÁVEL ^b	N (238)	DECHa (%)	VALOR DE P ^c	RRS ^c	IC 95% ^c
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	136	54 (39,7%)			
Incompatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	102	37 (36,3%)	0,948	0,99	0,64 – 1,52

a. $n=238$ pares receptor/doador *HLA-A, B, C, DRB1* e *DQB1* idênticos

b. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes.

c. Modelo de Fine e Gray, $p<0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC=intervalo de confiança

TABELA 16 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH AGUDA PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS MALIGNAS

VARIÁVEL ^a	N (124)	DECHa (%)	VALOR DE P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	70	33 (47,1%)			
Incompatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	54	23 (42,6%)	0,96	0,98	0,56 – 1,72

a. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes

b. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança

TABELA 17 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH AGUDA PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS NÃO MALIGNAS

VARIÁVEL ^a	N (114)	DECHa (%)	VALOR DE P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	66	21 (31,8%)			
Incompatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	48	14 (29,2%)	0,95	0,98	0,50 – 1,93

a. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes

b. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança

TABELA 18 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH AGUDA PÓS-TCTH EM SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME COMPATIBILIDADE *DPB1*

Compatibilidade <i>DPB1</i>	Compatibilidade nos SNPs dos genes <i>C4</i> ^a	N (238)	DECHa (%)	VALOR DE P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
HLA-DPc+DPp ^c	Compatíveis	77	32 (41,6%)	0,922	1,03	0,59 – 1,80
	Incompatíveis	57	22 (38,6%)			
HLA-DPnp ^c	Compatíveis	59	22 (37,3%)	0,860	0,94	0,48 – 1,86
	Incompatíveis	45	15 (33,3%)			

a. Compatibilidade significa que os 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* são idênticos; incompatibilidade significa que 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* são diferentes.

b. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.

c. HLA-DPc+DPp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados apresentando compatibilidade *DPB1* ou incompatibilidade *DPB1* permissível. HLA-DPnp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados apresentando incompatibilidade *DPB1* não permissível.

TABELA 19 - SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH AGUDA PÓS-TCTH NA AMOSTRA ESTRATIFICADA CONFORME NÚMERO DE INCOMPATIBILIDADES ENTRE RECEPTOR E DOADOR

VARIÁVEL ^a	N (238)	DECHa (%)	VALOR DE P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	136	54 (39,7%)			
1-3 Incompatibilidades de SNPs <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	72	24 (33,3%)	0,80	0,939	0,57 – 1,54
>3 Incompatibilidades de SNPs <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	30	13 (43,3%)	0,74	1,118	0,58 – 2,14

a. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes

b. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.

5.2.3. EFEITO DE INCOMPATIBILIDADES DOS GENES *C4A* E *C4B* ENTRE PACIENTE E DOADOR SOBRE A DECH CRÔNICA

Os resultados da análise da amostra total não mostraram associação entre incompatibilidades nos SNPs dos genes *C4A* e *C4B* e o desenvolvimento da DECH crônica após o transplante (Tabela 20). Também não foi evidenciada associação destes SNPs com DECH crônica nos grupos de pacientes subdivididos de acordo com o diagnóstico de doença maligna ou não maligna, e nos grupos estratificados conforme a permissividade das incompatibilidades *DPB1* (Tabelas 21, 22 e 23). Esta análise levou em consideração o óbito como risco competitivo.

A ausência de associação com DECH crônica também foi observada nas análises isoladas dos pares R/D compatíveis para os 23 SNPs, nos pares com 1 a 3 incompatibilidades e naqueles com mais de 3 incompatibilidades (Tabela 24). Esta mesma avaliação foi realizada no grupos de pacientes com diagnóstico de doenças malignas e não malignas separadamente e não foi verificada associação estatisticamente significativa com a manifestação da DECH crônica (dados não mostrados).

Não foi realizada análise multivariada porque as variáveis dos períodos pré- e pós-transplante, que poderiam ser fatores de interferência, não se mostraram associadas a forma crônica da DECH. As análises univariadas que investigaram a possível influência dos dados clínicos e dos demográficos sobre a ocorrência da DECH crônica estão descritas no apêndice 3.

TABELA 20 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NA AMOSTRA TOTAL^a

VARIÁVEL ^b	N (238)	DECH ^c (%)	VALOR DE P ^c	RRS ^c	IC 95% ^c
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	136	30 (22,1%)			
Incompatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	102	30 (29,4%)	0,250	1,36	0,81 – 2,30

a. n=238 pares receptor/doador *HLA-A, B, C, DRB1* e *DQB1* idênticos

b. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes.

c. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.

TABELA 21 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS MALIGNAS

VARIÁVEL ^a	N (124)	DECH ^c (%)	VALOR DE P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	70	14 (20,0%)			
Incompatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	54	16 (29,6%)	0,45	1,34	0,62 – 2,90

a. Compatibilidade significa 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes

b. Modelo de regressão de Cox, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.

TABELA 22 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NA AMOSTRA DE PACIENTES COM DOENÇAS NÃO MALIGNAS

VARIÁVEL ^a	N (114)	DECH ^c (%)	VALOR DE P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	66	16 (24,2%)			
Incompatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	48	14 (29,2%)	0,44	1,33	0,65 – 2,71

a. Compatibilidade significa 23 snps dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes

b. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.

TABELA 23 - INCOMPATIBILIDADES ENTRE PACIENTE E DOADOR NOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH EM SUBAMOSTRAS ESTRATIFICADAS CONFORME COMPATIBILIDADE *DPB1*

Compatibilidade <i>DPB1</i>	Compatibilidade nos SNPs dos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i> ^a	N (238)	DECH ^c (%)	VALOR DE P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
HLA-DPc+DPp ^c	Compatíveis	77	18 (23,4%)	0,168	1,59	0,82 – 3,09
	Incompatíveis	57	19 (33,3%)			
HLA-DPnp ^c	Compatíveis	59	12 (20,3%)	0,855	1,08	0,46 – 2,54
	Incompatíveis	45	11 (24,4%)			

- a. Compatibilidade significa que os 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* são idênticos; incompatibilidade significa que 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* são diferentes.
- b. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.
- c. HLA-DPc+DPp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados com compatibilidade *DPB1* ou com incompatibilidade *DPB1* permissível. HLA-DPnp = Pacientes transplantados com doadores não aparentados com incompatibilidade *DPB1* não permissível.

TABELA 24 - SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* E DECH CRÔNICA PÓS-TCTH NA AMOSTRA ESTRATIFICADA CONFORME NÚMERO DE INCOMPATIBILIDADES ENTRE RECEPTOR E DOADOR

VARIÁVEL ^a	N (238)	DECH ^c (%)	VALOR DE P ^b	RRS ^b	IC 95% ^b
Compatibilidade de SNPs nos genes <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	136	30 (22,1%)	0,48	1,24	0,69 – 2,24
1-3 Incompatibilidades de SNPs <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	72	20 (27,8%)			
>3 Incompatibilidades de SNPs <i>C4A</i> e <i>C4B</i>	30	10 (33,3%)			

- a. Compatibilidade significa 23 snps dos genes *C4A* e *C4B* idênticos; incompatibilidade significa 1 ou mais dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B* diferentes.
- b. Modelo de Fine e Gray, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança .

5.3. EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* NA EVOLUÇÃO DO TCTH

A investigação do impacto isolado dos polimorfismos dos genes *C4A* e *C4B* sobre os desfechos clínicos pós-TCTH foi conduzida em 12 dos 23 SNPs. Foram selecionados os que eram incompatíveis em pelo menos 10 pares receptor/doador (Tabela 25) a fim de permitir a aplicação de teste estatístico para a verificação de seus efeitos sobre a mortalidade e a DECH.

TABELA 25 - ESTADO DA COMPATIBILIDADE NOS 23 SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* NOS 238 PARES RECEPTOR/DOADOR

IDENTIFICAÇÃO DO SNP	COMPATÍVEIS		INCOMPATÍVEIS	
	N	%	N	%
A20170*	199	83,6	39	16,4
A14831*	208	87,4	30	12,6
A12152*	211	88,7	27	11,3
T9881*	215	90,3	23	9,7
T14952*	217	91,2	21	8,8
T14757*	219	92	19	8
G12071*	220	92,4	18	7,6
T14563*	220	92,4	18	7,6
T19588*	220	92,4	18	7,6
G12749*	224	94,1	14	5,9
G15108*	227	95,4	11	4,6
C13193*	228	95,8	10	4,2
T10289	233	97,9	5	2,1
T17316	233	97,9	5	2,1
A11437	234	98,3	4	1,7
A12568-A12837	235	98,7	3	1,3
T9763	236	99,2	2	0,8
C10676	236	99,2	2	0,8
T10309	237	99,6	1	0,4
A11483	237	99,6	1	0,4
C9796	238	100	0	0
A13189	238	100	0	0
C16954	238	100	0	0

*SNPs selecionados por apresentarem no mínimo 10 pares receptor/doador incompatíveis.

5.3.1. EFEITO INDIVIDUAL DE INCOMPATIBILIDADES DOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* SOBRE A MORTALIDADE

Os resultados da análise individual dos SNPs *C4A* e *C4B* por um modelo de regressão de Cox não mostraram associações entre incompatibilidades em qualquer

destes 12 SNPs e mortalidade pós-TCTH (Tabela 26). As análises multivariadas também mostraram ausência de associações estatisticamente significantes e consideraram como variáveis de controle a idade na época do transplante e o tipo de diagnóstico (Figura 7).

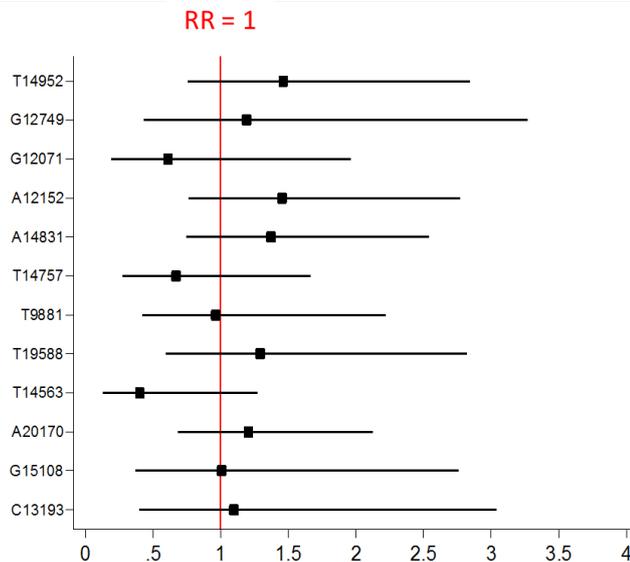


FIGURA 7 – ANÁLISE MULTIVARIADA DO EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* NA MORTALIDADE.

Modelo de Regressão de Cox ajustado para idade na época do transplante e tipo de diagnóstico (doença maligna ou não maligna); RR = razão de risco.

5.3.2. EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* NA DECH AGUDA

O resultado da investigação de incompatibilidades dos SNPS dos genes *C4A* e *C4B* entre receptores e doadores, usando um modelo de Fine e Gray, mostrou que 11/12 SNPs não constituem fator de risco individual para o desenvolvimento da DECH aguda. Apenas o alelo T14952 mostrou-se associado à forma aguda desta doença (RRS=1,96; IC 95% 1,03 – 3,74; p=0,04), porém esta associação fraca não se manteve após a correção de Bonferroni (Tabela 27). A análise multivariada para cada um destes SNPs também não mostrou associação significativa com desenvolvimento da DECHa (figura 8). A idade na época do transplante e o tipo de diagnóstico (doença maligna ou não maligna) foram utilizados como variáveis de controle e o óbito considerado como risco competitivo.

TABELA 26 - AVALIAÇÃO DO IMPACTO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B SOBRE A MORTALIDADE

IDENTIFICAÇÃO DO SNP	ESTADO DA COMPATIBILIDADE	Nº DE PARES R/D	ÓBITOS (%)	VALOR DE P*	RR*	IC 95%*
T14952	Compatíveis	217	71 (32,7%)	0,164	1,60	0,83 – 3,10
	Incompatíveis	21	10 (47,6%)			
G12749	Compatíveis	224	77 (34,4%)	0,909	1,06	0,39 – 2,90
	Incompatíveis	14	4 (28,6%)			
G12071	Compatíveis	220	78 (35,4%)	0,192	0,46	0,15 – 1,47
	Incompatíveis	18	3 (16,7%)			
A12152	Compatíveis	211	70 (33,2%)	0,430	1,29	0,68 – 2,44
	Incompatíveis	27	11 (40,7%)			
A14831	Compatíveis	208	69 (33,2%)	0,408	1,30	0,70 – 2,39
	Incompatíveis	30	12 (40,0%)			
T14757	Compatíveis	219	76 (34,7%)	0,315	0,63	0,25 – 1,56
	Incompatíveis	19	5 (26,3%)			
T9881	Compatíveis	215	75 (34,9%)	0,681	0,84	0,37 – 1,93
	Incompatíveis	23	6 (26,1%)			
T19588	Compatíveis	220	74 (33,6%)	0,366	1,43	0,66 – 3,11
	Incompatíveis	18	7 (38,9%)			
T14563	Compatíveis	220	78 (35,4%)	0,173	0,45	0,14 – 1,42
	Incompatíveis	18	3 (16,7%)			
A20170	Compatíveis	199	66 (33,2%)	0,366	1,29	0,74 – 2,27
	Incompatíveis	39	15 (38,5%)			
G15108	Compatíveis	227	77 (33,9%)	0,865	0,92	0,33 – 2,51
	Incompatíveis	11	4 (36,4%)			
C13193	Compatíveis	228	77 (33,8%)	0,506	1,41	0,51 – 3,85
	Incompatíveis	10	4 (40,0%)			

*Modelo de regressão de Cox, $p < 0,002$ (corrigido por Bonferroni, $\alpha/23$); RR = razão de riscos; IC = intervalo de confiança.

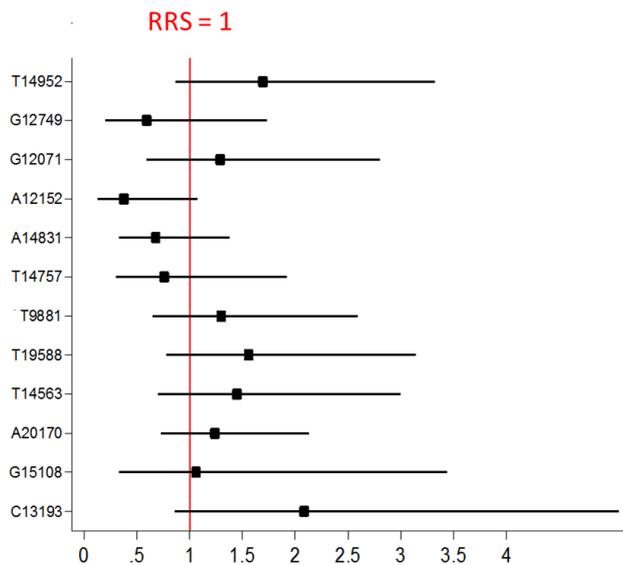


FIGURA 8 - ANÁLISE MULTIVARIADA DO EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* SOBRE A DECH AGUDA.

Modelo de Fine e Gray ajustado para a idade na época do transplante e tipo de diagnóstico (doença maligna ou não maligna); RRS = razão de risco da subdistribuição.

5.3.3. EFEITO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B* NA DECH CRÔNICA

Para verificar se incompatibilidades entre receptor/doador para cada um dos 12 SNPs apresentavam associação com o desenvolvimento da DECH crônica foi aplicado um modelo de Fine e Gray. Somente incompatibilidade no SNP T14757 mostrou-se associada ao desenvolvimento da forma crônica da DECH (RRS=2,58; IC 95% 1,20 – 5,55; $p = 0,015$), mas após correção de Bonferroni o resultado não se manteve significativo (Tabela 28). A análise multivariada não foi realizada porque as variáveis pré- e pós-transplante avaliadas previamente como potenciais fatores de risco não apresentaram associação com DECH crônica.

TABELA 27 - AVALIAÇÃO DO IMPACTO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B SOBRE A DECH AGUDA

IDENTIFICAÇÃO DO SNP	ESTADO DE COMPATIBILIDADE	Nº DE PARES R/D	DECH A (%)	VALOR DE P*	RRS*	IC 95%*
T14952	Compatíveis	217	79 (36,4%)	0,040	1,96	1,03 – 3,74
	Incompatíveis	21	12 (57,1%)			
G12749	Compatíveis	224	87 (38,8%)	0,363	0,59	0,19 – 1,85
	Incompatíveis	14	4 (28,6%)			
G12071	Compatíveis	220	83 (37,7%)	0,656	1,19	0,56 – 2,54
	Incompatíveis	18	8 (44,4%)			
A12152	Compatíveis	211	86 (40,8%)	0,057	0,36	0,13 – 1,03
	Incompatíveis	27	5 (18,5%)			
A14831	Compatíveis	208	82 (39,4%)	0,317	0,69	0,34 – 1,42
	Incompatíveis	30	9 (30,0%)			
T14757	Compatíveis	219	85 (38,8%)	0,503	0,73	0,29 – 1,84
	Incompatíveis	19	6 (31,6%)			
T9881	Compatíveis	215	81 (37,7%)	0,479	1,30	0,63 – 2,67
	Incompatíveis	23	10 (43,5%)			
T19588	Compatíveis	220	82 (37,3%)	0,149	1,68	0,83 – 3,40
	Incompatíveis	18	9 (50,0%)			
T14563	Compatíveis	220	82 (37,3%)	0,264	1,53	0,73 – 3,23
	Incompatíveis	18	9 (50,0%)			
A20170	Compatíveis	199	74 (37,2%)	0,352	1,30	0,75 – 2,24
	Incompatíveis	39	17 (43,6%)			
G15108	Compatíveis	227	86 (37,9%)	0,687	1,25	0,42 – 3,67
	Incompatíveis	11	5 (45,5%)			
C13193	Compatíveis	228	85 (37,3%)	0,062	2,32	0,96 – 5,60
	Incompatíveis	10	6 (60,0%)			

*Modelo de Fine e Gray, $p < 0,002$ (corrigido por Bonferroni, $\alpha/23$); RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.

TABELA 28 - AVALIAÇÃO DO IMPACTO INDIVIDUAL DE SNPS DOS GENES C4A E C4B SOBRE A DECH CRÔNICA

IDENTIFICAÇÃO DO SNP	ESTADO DE COMPATIBILIDADE	Nº DE PARES R/D	DECH C (%)	VALOR DE P*	RRS*	IC 95%*
T14952	Compatíveis	217	52 (24,0%)			
	Incompatíveis	21	8 (38,1%)	0,135	1,84	0,83 – 4,11
G12749	Compatíveis	224	59 (26,3%)			
	Incompatíveis	14	1 (7,1%)	0,280	0,33	0,04 – 2,49
G12071	Compatíveis	220	55 (25,0%)			
	Incompatíveis	18	5 (27,8%)	0,649	1,23	0,50 – 3,05
A12152	Compatíveis	211	52 (24,6%)			
	Incompatíveis	27	8 (29,6%)	0,703	1,17	0,53 – 2,58
A14831	Compatíveis	208	49 (23,6%)			
	Incompatíveis	30	11 (36,7%)	0,050	1,92	1,00 – 3,68
T14757	Compatíveis	219	51 (23,3%)			
	Incompatíveis	19	9 (47,4%)	0,015	2,58	1,20 – 5,55
T9881	Compatíveis	215	54 (25,1%)			
	Incompatíveis	23	6 (26,1%)	0,551	1,30	0,55 – 3,03
T19588	Compatíveis	220	55 (25,0%)			
	Incompatíveis	18	5 (27,8%)	0,987	1,01	0,38 – 2,67
T14563	Compatíveis	220	54 (24,6%)			
	Incompatíveis	18	6 (33,3%)	0,554	1,34	0,51 – 3,56
A20170	Compatíveis	199	46 (23,1%)			
	Incompatíveis	39	14 (35,9%)	0,187	1,55	0,81 – 2,99
G15108	Compatíveis	227	55 (24,2%)			
	Incompatíveis	11	5 (45,5%)	0,102	2,32	0,85 – 6,35
C13193	Compatíveis	228	57 (25,0%)			
	Incompatíveis	10	3 (30,0%)	0,899	1,09	0,31 – 3,82

*Modelo de Fine e Gray, $p < 0,002$ (corrigido por Bonferroni, $\alpha/23$); RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança.

5.4. ANÁLISE *IN SILICO* DOS SNPS DOS GENES *C4A* E *C4B*

Dentre as mutações dos SNPs investigados neste estudo 3 são substituições sinônimas, 8 resultam na substituição de aminoácidos (Tabela 29) e 12 estão localizadas nos introns dos genes *C4A* e *C4B*. A análise *in silico* sugere que somente uma das oito mutações com troca de aminoácidos pode comprometer a função protéica segundo o programa Polyphen-2, porém esta mesma mutação **A11437** é considerada tolerável pelo programa SIFT. As outras sete mutações são consideradas benignas por ambos os programas.

TABELA 29 - ANÁLISE *IN SILICO* DOS SNPS DOS GENES *C4A* e *C4B* CUJAS MUTAÇÕES RESULTAM EM SUBSTITUIÇÕES DE AMINOÁCIDOS

SNP	DBSNP	SUBSTITUIÇÃO DE AMINOÁCIDO ^a	SIFT	POLYPHEN-2
T9763	-	R477W	Tolerável	Tolerável
C9796	-	T488P	Tolerável	Tolerável
A11437	-	R714S	Tolerável	Provavelmente danoso
A11483	-	R729Q	Tolerável	Tolerável
A12568	rs429329	A907T	Tolerável	Tolerável
T14952	rs201016130	A1286S	Tolerável	Tolerável
G15108	-	D1310E	Tolerável	Tolerável
C16954	-	A1413P	Tolerável	Tolerável
A14831	rs368403366	P1245P	NA ^b	NA ^b
A20170	-	L1688L	NA ^b	NA ^b
T17316	-	H1495H	NA ^b	NA ^b

a. A pré-proteína *C4B* do complemento (NP_001229752.1) foi utilizada como referência para investigação das mudanças de aminoácidos.

b. NA: não se aplica pelo fato das substituições serem sinônimas.

6. DISCUSSÃO

Neste estudo foram caracterizados vários SNPs distribuídos nos exons e introns dos genes *C4A* e *C4B* do sistema complemento, residentes da região de classe III do MHC, num grupo de pacientes e em seus respectivos doadores não aparentados de células-tronco hematopoiéticas. Embora o objetivo principal tenha sido investigar se incompatibilidades nestes SNPs exerceriam algum efeito sobre os resultados do transplante de células-tronco hematopoiéticas, procedeu-se inicialmente à tipagem em alta resolução de *HLA-DPB1*. A seguir os alótipos DP foram classificados em permissíveis e não permissíveis segundo o algoritmo de grupos de epítomos de células T alorreativas (versão 2.0).

A razão para obter as informações sobre *DPB1* nos pares receptor/doador (R/D) é que investigações realizadas por Fleischhauer et al. (2012) e Pidala et al. (2014) demonstraram claramente que incompatibilidades neste gene impactam desfechos como a DECH e a mortalidade, constituindo assim um fator de interferência que poderia impedir a identificação de outros fatores genéticos que também pudessem influenciar os resultados dos transplantes de células-tronco hematopoiéticas (TCTH).

Os resultados mostraram que 35 (14,7%) dos pares receptor/doador (n = 238) apresentavam compatibilidade alélica em *DPB1*, e foram similares aos de Crocchiolo et al. (2009), Bettens et al. (2012), Pidala et al. (2014) e Gagne et al. (2015) que relataram compatibilidade deste gene em 16,9%, 12,2%, 17,1% e 14,5% dos pares investigados, respectivamente. Enquanto Touzeau et al. (2012) encontraram apenas 7% de pares compatíveis e Fleischhauer et al. (2012) ao avaliar 5.428 pacientes com doadores HLA 10/10 observaram uma porcentagem mais elevada de pares *DPB1* compatíveis (22%). Este dado de Fleischhauer et al. pode ser explicado pela composição étnica da amostra que incluiu 47% de pacientes japoneses, população esta onde há menor diversidade haplotípica. De fato, Morishima et al. (2010) descreveram a existência de três haplótipos estendidos do MHC, conservados na região entre *HLA-A* e *-DPB1*, que se mostraram predominantes na população japonesa.

No presente estudo 85,3% dos pacientes foram transplantados com doadores *DPB1* incompatíveis, e destes 51,2% apresentaram incompatibilidades não permissíveis e os demais permissíveis. Outros pesquisadores avaliando

populações de localizações geográficas e etnias distintas encontraram 39,5% (FLEISCHHAUER et al., 2012), 43,5% (TOUZEAU et al., 2012), 24,2% (PIDALA et al., 2014) e 44% (GAGNE et al., 2015) de pares R/D com incompatibilidades *DPB1* não permissíveis, respectivamente.

A análise dos resultados não revelou associação entre incompatibilidades *DPB1* não permissíveis e mortalidade ($p = 0,321$) segundo análise de regressão de Cox. Esta ausência de associação ocorreu também nos estudos de Loiseau et al. (2007), Askar et al. (2011), Touzeau et al. (2012) e Bettens et al. (2012). Porém, contrastam com os de Fleischhauer et al. (2012) e Pidala et al. (2014) que mostraram associações significantes (RR = 1,15; IC 95% 1,05 – 1,25; $p = 0,002$ e RR = 1,2; IC 95% 1,1 – 1,4; $p = 0,004$, respectivamente) entre incompatibilidades *DPB1* não permissíveis e menor sobrevida. Uma possível explicação para os achados contraditórios entre estes estudos seria o tamanho amostral, uma vez que Fleischhauer et al. (2012) e Pidala et al. (2014) investigaram 5.428 e 2.995 transplantes, respectivamente. O presente trabalho bem como os de Loiseau et al. (2007), Askar et al. (2011), Touzeau et al. (2012) e Bettens et al. (2012) avaliaram um número bem menor de transplantes ($n=238$, $n=334$, $n=144$, $n=141$ e $n=246$, respectivamente).

O impacto das incompatibilidades *DPB1* não permissíveis sobre a manifestação da forma aguda da DECH não foi observado em nosso estudo e está em acordo com os resultados de Crocchiolo et al. (2009), Pidala et al. (2014) e Moyer et al. (2015) e Gagne et al. (2015). Por outro lado, Fleischhauer et al. (2012) avaliando a série de 5.428 pacientes submetidos ao TCTH alogênico não aparentado encontraram associação entre incompatibilidades *DPB1* não permissíveis e o desenvolvimento de DECH graus III-IV (RR = 1,31; IC 95% 1,11–1,54; $p = 0,001$). Pode ser que em nosso estudo e no de outros pesquisadores não tenha sido revelado um impacto das incompatibilidades *DPB1* não permissíveis sobre a DECH devido ao pequeno tamanho amostral. Exceto o de Pidala et al. (2014), que embora tenha encontrado associação entre incompatibilidade *DPB1* e DECHa, não corroborou o resultado de Fleischhauer et al. ao analisar a amostra estratificada com base na permissividade de *DPB1*.

Ainda com respeito à DECH, não foi identificada associação entre incompatibilidades *DPB1* não permissíveis e a manifestação da forma crônica ($p = 0,250$). Esta ausência de associação também foi observada nos estudos de Askar et

al. (2011), Pidala et al. (2014), Moyer et al. (2015) e Gagne et al. (2015). Contudo, Shaw et al. (2010) encontraram menor incidência de DECH crônica (23%) nos pacientes que receberam TCTH de doadores *DPB1* compatíveis comparados aos transplantados com doadores incompatíveis (39%). Neste estudo, além da associação ter sido fraca ($p = 0,04$) as incompatibilidades *DPB1* permissíveis e não permissíveis não foram avaliadas separadamente.

A identificação dos SNPs dos genes *C4A* e *C4B* analisados no presente estudo foi realizada por PCR-SSP nos primeiros 129 pares receptor/doador, e por NGS nos 109 pares adicionais. Com o intuito de trabalhar com uma amostra maior, constituída pelos 238 pacientes, analisamos somente as informações dos 23 SNPs que eram disponibilizadas por ambos os métodos. Nos estudos de Hogan et al. (2013), Askar et al. (2015) e Jimenez et al. (2016), que também avaliaram os SNPs *C4*, foi utilizado o mesmo método PCR-SSP. Enquanto Gendzekhadze et al. (2016) investigaram a diversidade dos genes *C4* em 494 pares receptor/doador pelo mesmo método de NGS empregado nos 109 pares que são parte da casuística do presente estudo.

Dentre os 238 pares receptor/doador analisados, 57,1% eram compatíveis para os SNPs *C4* e 42,9% apresentavam pelo menos uma incompatibilidade entre os 23 polimorfismos investigados. Estas proporções são semelhantes às de Jimenez et al. (2016) que identificaram 56,6% de pares compatíveis, enquanto Hogan et al. (2013) e Gendzekhadze et al. (2016) encontraram 80% e 40% pares compatíveis para estes mesmos SNPs, respectivamente.

O número de incompatibilidades em cada par receptor/doador variou de 1 a 7 considerando os 23 SNPs analisados. Hogan et al. (2013), Askar et al. (2015), Jimenez et al. (2016) e Gendzekhadze et al. (2016) classificaram os pares somente como compatíveis ou incompatíveis, sem detalhar os tipos e as quantidades de SNPs que diferiam em cada par. No presente estudo os SNPs observados em situação de incompatibilidade com maior frequência, ou seja, presentes em mais de 20 pares receptor/doador foram 20.170, 14.831, 12.152, 9.881 e 14.952. Gendzekhadze et al. (2016) também observaram que os SNPs 20.170, 14.831 e 9.881 estavam entre aqueles mais frequentes nos pares incompatíveis.

As análises univariada e multivariada, realizadas por um modelo de regressão de Cox, não mostraram associação entre incompatibilidades nos SNPs *C4* e mortalidade pós-transplante na amostra total de 238 pacientes. Tampouco foi

observado um impacto de incompatibilidades nestes SNPs quando a amostra foi estratificada em função do estado de compatibilidade *DPB1*. O primeiro grupo (n = 134) foi formado de pares R/D *DPB1* compatíveis (HLA 12/12) e daqueles com incompatibilidades permissíveis (HLA 10/12 – 11/12), e o segundo grupo (n = 104) por pares HLA 10/10 com incompatibilidades *DPB1* não permissíveis (HLA 10/12 – 11/12). Mortalidade pós TCTH também não foi associada com incompatibilidades em SNPs dos genes *C4A* e *C4B* quando as subamostras constituídas de doenças malignas ou não malignas foram avaliadas isoladamente. Esta ausência de associação também nas análises das subamostras estratificadas conforme o grau de compatibilidade destes SNPs *C4A/C4B* (compatíveis, 1 a 3 e mais que 3 SNPs incompatíveis).

A investigação do impacto individual dos 12 SNPs, utilizando a mesma metodologia estatística, não revelou associação com o aumento do risco de mortalidade pós-transplante. Apesar de Petersdorf et al. (2007) e Park et al. (2016) terem utilizado métodos diferentes para avaliação da compatibilidade de haplótipos do MHC, eles não encontraram associação entre incompatibilidades e sobrevida pós-TCTH.

Em relação à DECH aguda, as análise univariada e multivariada feitas segundo modelo de Fine e Gray não mostraram associação (p = 0,948) com incompatibilidades dos SNPs *C4A* e *C4B* na amostra total. Esta ausência de associação foi confirmada na análise das subamostras estratificadas pela permissividade das incompatibilidades *DPB1*, pelo tipo de doença (malignas e não malignas), e pelo número de incompatibilidades dos SNPs *C4A/C4B* (compatíveis, 1 a 3 incompatibilidades e mais que 3 incompatibilidades). Jimenez et al. (2016) identificaram associação fraca entre pares incompatíveis para os SNPs *C4* e maior incidência de DECH aguda (p = 0,044), a qual não foi confirmada pela análise multivariada (p = 0,06). É possível que a fonte de células-tronco utilizadas nos pacientes avaliados por Jimenez et al., onde todos receberam sangue periférico, tenha contribuído para uma tendência de associação com DECH aguda graus II-IV, ao contrário do presente estudo onde 83,6% dos pacientes receberam o enxerto de medula óssea (STEM CELL TRIALISTS' COLLABORATIVE GROUP, 2005; ZHANG; CHEN; QUE, 2012).

A avaliação do efeito individual dos SNPs sobre a manifestação da DECH mostrou que os pares com incompatibilidade no SNP 14952 (rs201016130)

apresentaram maior incidência de DECH aguda (57,1%) comparados aos compatíveis (36,4%) para este polimorfismo ($p = 0,04$), embora esta diferença não tenha permanecido significativa após a correção de Bonferroni ($p < 0,002$). Askar et al. (2015) também avaliaram a associação de SNPs C4 com a DECH aguda em pares R/D com tipagem HLA de alta resolução para os seis locos clássicos de transplantação (HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 e -DPB1). Eles agruparam os SNPs 12749, 16986 e o isotipo C4A cujos valores de p foram $< 0,2$ na primeira investigação e refizeram a análise com esta variável composta. Esta se mostrou associada ao risco aumentado de DECH aguda III-IV, quando incompatível entre receptor e doador, pelas análises univariada (RR 2,43, $p = 0,004$) e multivariada (RR 2,54, $p = 0,002$). Estes resultados diferem dos obtidos em nosso estudo possivelmente pela estratégia de análise e também pelo fato de dois (16986 e isotipo C4) dos três SNPs que constituíram a variável composta não terem sido por nós avaliados.

Com respeito às manifestações da DECH crônica, não foi observada na amostra total ($n = 238$) diferença significativa entre os grupos compatíveis e incompatíveis para os SNPs C4 ($p = 0,250$), e tampouco nas subamostras estratificadas com base na compatibilidade DPB1. Análises realizadas em subamostras classificadas de acordo com o diagnóstico (doenças malignas e não malignas) e com o número de incompatibilidades em SNPs C4 também não evidenciaram influência sobre o desenvolvimento da DECH crônica. A análise do efeito individual destes SNPs sobre a manifestação da DECH crônica mostrou que nos pacientes com doadores incompatíveis para o SNP 14757 houve maior incidência desta doença (47,4%) se comparado aqueles com doadores compatíveis (23,3%) ($p = 0,015$). No entanto, este resultado não manteve significância após a correção de Bonferroni ($p < 0,002$). Jimenez et al. (2016) também encontraram uma associação no limite da significância entre incompatibilidades nestes SNPs C4 e maior incidência de DECH crônica ($p = 0,048$), enquanto Askar et al. (2015) não avaliaram este desfecho.

A análise *in silico* pelo programa Polyphen sugere que dentre os 23 SNPs investigados apenas o SNP 11437 (exon 17), cuja alteração leva à troca de arginina por serina, tenha um efeito deletério, enquanto o programa SIFT considera esta mutação tolerável. O impacto individual deste SNP no TCTH não pode ser avaliado quanto à incompatibilidade entre R/D devido a presença de incompatibilidade ter ocorrido em apenas 4 dos 238 pares R/D.

Incompatibilidades nos SNPs 14952/rs201016130 (exon 29) e 14757 (intron 28) mostraram uma tendência de associação com DECH aguda e crônica, respectivamente. A mutação do 14952 (substituição de alanina por serina) não afeta funcionalmente seu produto alélico segundo a análise *in silico* pelos programas Polyphen-2 e SIFT. E a frequência alélica de sua variante 14952T foi 10,3%, sendo inferior aos valores observados nas populações investigadas durante o projeto *1000 genomes*, nas quais as frequências variaram entre 22% e 39% (http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;v=rs201016130;vdb=variation). A manutenção das duas variantes 14952T e 14952G em várias populações sugere existir alguma vantagem biológica para esta diversidade. Com respeito ao SNP 14757, embora presente no intron 28, não se encontra em região de *splicing*. E a frequência de portadores de sua variante 14757T foi de 62,8% nos indivíduos (pacientes e doadores) avaliados neste estudo.

Apesar da alta proporção de pacientes e doadores não aparentados com diversidade nos SNPs dos genes *C4A* e *C4B*, este estudo não revelou que estas incompatibilidades constituam fator de risco de manifestações da DECH aguda, da DECH crônica e do aumento na mortalidade após o TCTH. A ausência de associações com os desfechos clínicos investigados pode ser decorrente de algumas limitações deste estudo. É interessante prosseguir esta investigação em amostra maior e mais homogênea com respeito à idade dos pacientes (adultos ou pediátricos), ao regime de condicionamento e à imunoprofilaxia da DECH a fim de elucidar se a diversidade dos genes *C4A* e *C4B* está ou não associada com os resultados dos transplantes não aparentados. Outra limitação é referente ao método PCR-SSP usado para identificar os SNPs dos genes *C4A* e *C4B* nos primeiros 129 pares receptor/doador, o qual permitia somente determinar a presença ou ausência de uma determinada variante alélica de cada SNP. Por esta, razão a identificação dos genótipos dos SNPs *C4* só foi possível nos 109 pares investigados por NGS.

Apesar de considerarmos importante avaliar o impacto dos genótipos homocigotos e heterocigotos destes SNPs sobre a evolução clínica dos transplantes não aparentados, mas isto não foi possível neste pequeno tamanho amostral. Outro aspecto a ser investigado é a possível influência dos haplótipos constituídos pelos SNPs dos genes *C4A* e *C4B* sobre os desfechos do TCTH, porém este tipo de análise também requer um tamanho amostral bem maior. Estas investigações são pertinentes pelo fato desta região de classe III ser povoada por genes participantes

da resposta inflamatória e imunológica, cujos produtos alélicos também podem constituir fatores de risco no desenvolvimento das formas aguda e crônica da DECH e nas taxas de mortalidade.

Os polimorfismos do MHC podem estar implicados no aspecto funcional do produto gênico ou constituírem simplesmente marcadores genéticos em desequilíbrio de ligação com variantes alélicas de outros genes envolvidos diretamente na predisposição às complicações pós-TCTH. De qualquer modo, a identificação de polimorfismos que possam ser preditivos de riscos após o TCTH é importante para otimizar a seleção de doadores de células-tronco hematopoiéticas entre aqueles que já apresentem compatibilidade HLA.

7. CONCLUSÕES

A investigação da influência de incompatibilidades nos genes *C4A* e *C4B* do Sistema Complemento, localizados na região de classe III do MHC, na evolução clínica após o transplante de células-tronco hematopoiéticas com doador não aparentado *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1* e *-DQB1* idêntico (HLA 10/10) levou às seguintes conclusões:

- A maioria dos pares receptor-doador mostrou incompatibilidades *DPB1* (85,3%), e destes, 51,2% apresentaram incompatibilidades não permissíveis.
- A análise das incompatibilidades *DPB1*, classificadas com base nos epítomos reconhecidos pelos linfócitos T alorreativos (TCE), não revelou associação com as formas aguda e crônica da DECH e nem com mortalidade. Este resultado mostra que estas incompatibilidades *DPB1* não constituem fator de interferência na análise das incompatibilidades dos genes *C4A* e *C4B* do MHC neste estudo;
- A identificação de SNPs dos genes *C4A* e *C4B* nos pacientes e seus doadores mostrou que 42,9% apresentaram de uma a sete incompatibilidades dentre os 23 polimorfismos analisados;
- Não foram encontradas associações entre incompatibilidades destes SNPs e manifestações da DECHa, da DECHc e nem impacto sobre a mortalidade. Esta ausência de associação foi corroborada pela análise das subamostras estratificadas conforme o estado de compatibilidade de *HLA-DPB1*.
- A análise do efeito individual de 12 dos 23 SNPs dos genes *C4A* e *C4B*, presentes em estado de incompatibilidade em 10 ou mais pares R/D, não mostrou associação com o desenvolvimento das formas aguda ou crônica da DECH, assim como não mostrou influência na mortalidade dos pacientes submetidos ao transplante de células-tronco hematopoiéticas com doadores não aparentados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1000 GENOMES PROJECT CONSORTIUM et al. A map of human genome variation from population-scale sequencing. **Nature**, v. 467, n. 7319, p. 1061–73, 28 out. 2010.
- AFRIDI, S.; HOESSLI, D. C.; HAMEED, M. W. Mechanistic understanding and significance of small peptides interaction with MHC class II molecules for therapeutic applications. **Immunological Reviews**, v. 272, n. 1, p. 151–168, 2016.
- ALPER, C. A et al. Serum complement “supergenes” of the major histocompatibility complex in man (complotypes). **Vox sanguinis**, v. 45, n. 1, p. 62–7, 1983.
- ANASETTI, C. et al. Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. **The New England journal of medicine**, v. 367, n. 16, p. 1487–96, 2012.
- APPERLEY, J.; MASSZI, T. Graft-versus-host disease. In: APPERLEY, J. et al. (Eds.). . **EBMT-ESH Handbook on Haematopoietic Stem Cell Transplantation**. [s.l.: s.n.]. p. 216–233.
- ASKAR, M. et al. The T-Cell Epitope (TCE) Algorithm for Classifying HLA-DPB1 Mismatches Does Not Predict Clinical Outcomes in HSCT. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 17, n. 2, p. S224–S225, fev. 2011.
- ASKAR, M. et al. Single Nucleotide Gene Polymorphisms (SNP) in the Gamma Block of the Major Histocompatibility Complex (MHC) Are Independent Risk Factors for Severe Acute Graft Versus Host Disease (GVHD) in Unrelated Donor Hematopoietic Cell Transplantation (HCT). **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 21, n. 2, p. S326–S327, 2015.
- ATKINSON, J. P.; YU, C. Y. The Complement System in Systemic Lupus Erythematosus. In: **Systemic Lupus Erythematosus**. [s.l.] Elsevier, 2016. v. 73p. 81–112.
- AWDEH, Z. L. et al. Extended HLA/complement allele haplotypes: evidence for T/t-like complex in man. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 80, n. 1, p. 259–63, jan. 1983.
- BÁNLAZI, Z. et al. Fine-tuned characterization of RCCX copy number variants and their relationship with extended MHC haplotypes. **Genes Immun**, v. 13, n. 7, p. 530–5, 2012.
- BAXTER-LOWE, L. A.; HURLEY, C. K. Advancement and Clinical Implications of HLA Typing in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. In: BISHOP, M. R. (Ed.). . **Hematopoietic Stem Cell Transplantation**. [s.l.] Springer, 2009. p. 71–94.
- BETTENS, F. et al. Association of TNF α and IL-10 polymorphisms with mortality in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. **Transplantation**, v. 81, n. 9, p. 1261–7, 15 maio 2006.
- BETTENS, F. et al. Impact of HLA-DPB1 haplotypes on outcome of 10/10 matched unrelated hematopoietic stem cell donor transplants depends on MHC-linked microsatellite polymorphisms. **Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 18, n. 4, p. 608–16, 16 abr. 2012.
- BLANCHONG, C. A. et al. Genetic, structural and functional diversities of human complement components C4A and C4B and their mouse homologues, Slp and C4. **International Immunopharmacology**, v. 1, n. 3, p. 365–392, 2001.
- BLAZAR, B. R.; MURPHY, W. J.; ABEDI, M. Advances in graft-versus-host disease biology and therapy. **Nature Reviews Immunology**, v. 12, n. 6, p. 443–458, 2012.

BOGUNIA-KUBIK, K.; LANGE, A. HSP70-hom Gene Polymorphism in Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplant Recipients Correlates with the Development of Acute Graft-. v. 79, n. 7, p. 815–820, 2005.

CANDY, L.; HOGAN, H. M.; SAYER, D. C. GAMMA-TYPE™: Simple PCR-SSP's to enable the assessment of haplotype matching between unrelated stem cell donors and patients. **Human Immunology**, v. 73, n. 2012, p. 45, out. 2012.

CARRINGTON, M.; O'BRIEN, S. J. The influence of HLA genotype on AIDS. **Annual review of medicine**, v. 54, p. 535–551, 2003.

CARROLL, M. C. et al. Deletion of complement C4 and steroid 21-hydroxylase genes in the HLA class III region. **The EMBO journal**, v. 4, n. 10, p. 2547–52, out. 1985.

CHUNG, E. K. et al. Genetic sophistication of human complement components C4A and C4B and RP-C4-CYP21-TNX (RCCX) modules in the major histocompatibility complex. **American journal of human genetics**, v. 71, n. 4, p. 823–37, out. 2002.

COOKE, K. R. et al. The Biology of Chronic Graft-versus-Host Disease: A Task Force Report from the National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, 3 out. 2016.

CRIVELLO, P. et al. The Impact of Amino Acid Variability on Alloreactivity Defines a Functional Distance Predictive of Permissive HLA-DPB1 Mismatches in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 21, n. 2, p. 233–241, 2015.

CROCCHIOLO, R. et al. Nonpermissive HLA-DPB1 disparity is a significant independent risk factor for mortality after unrelated hematopoietic stem cell transplantation. **Blood**, v. 114, n. 7, p. 1437–44, 13 ago. 2009.

DANGEL, A. W. et al. The dichotomous size variation of human complement C4 genes is mediated by a novel family of endogenous retroviruses, which also establishes species-specific genomic patterns among Old World primates. **Immunogenetics**, v. 40, n. 6, p. 425–36, 1994.

DAWKINS, R. et al. Genomics of the major histocompatibility complex: haplotypes, duplication, retroviruses and disease. **Immunological reviews**, v. 167, p. 275–304, fev. 1999.

DICKINSON, A. M.; NORDEN, J. Non-HLA genomics: does it have a role in predicting haematopoietic stem cell transplantation outcome? **International Journal of Immunogenetics**, v. 42, n. 4, p. 229–238, 2015.

DORAK, M. T. et al. MHC class III polymorphisms in selection of donors for BMT. **Bone marrow transplantation**, v. 11, n. 1, p. 37–41, jan. 1993.

DOXIADIS, G. et al. Relevance of complotyping and subtyping of MHC class I gene products in haplotype definition for allogeneic bone marrow transplantation. **Bone marrow transplantation**, v. 4, n. 1, p. 17–22, jan. 1989.

FERRARA, J. L. M. et al. Graft-versus-host disease. **Lancet**, v. 373, n. 9674, p. 1550–61, 2 maio 2009.

FILIPOVICH, A. H. Diagnosis and manifestations of chronic graft-versus-host disease. **Best Practice and Research: Clinical Haematology**, v. 21, n. 2, p. 251–257, 2008.

FLEISCHHAUER, K. et al. Effect of T-cell-epitope matching at HLA-DPB1 in recipients of unrelated-donor haemopoietic-cell transplantation: A retrospective study. **The Lancet Oncology**, v. 13, n. 4, p. 366–374, abr. 2012.

FLOWERS, M. E. D. et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. **Blood**, v. 117, n. 11, p. 3214–3219, 17 mar. 2011.

GAGNE, K. et al. Is there any impact of HLA-DPB1 disparity in 10/10 HLA-matched unrelated hematopoietic SCT? Results of a French multicentric retrospective study. **Bone marrow transplantation**, v. 50, n. 2, p. 232–6, fev. 2015.

GEMAYEL, R. et al. Beyond junk-variable tandem repeats as facilitators of rapid evolution of regulatory and coding sequences. **Genes**, v. 3, n. 3, p. 461–480, 2012.

GENDZEKHADZE, K. et al. P067 How different is gamma block in HLA matched (10/10) unrelated pairs detected by next generation sequencing (NGS)? **Human Immunology**, v. 77, n. 2016, p. 86, 2016.

GOOLEY, T. A. et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. **The New England journal of medicine**, v. 363, n. 22, p. 2091–101, 25 nov. 2010.

GOYAL, R. K. et al. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms are associated with severity of acute graft-versus-host disease following matched unrelated donor bone marrow transplantation in children: a Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium study. **Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 16, n. 7, p. 927–936.e1, 2010.

GRUBE, M. et al. Risk Factors and Outcome of Chronic Graft-Versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation – Results From a Single-Center Observational Study. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 22, n. 10, p. 1781–1791, 2016.

GUO, Z. et al. Long-range multilocus haplotype phasing of the MHC. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 18, p. 6964–9, 2 maio 2006.

HAMBACH, L.; SPIERINGS, E.; GOULMY, E. Risk assessment in haematopoietic stem cell transplantation: minor histocompatibility antigens. **Best practice & research. Clinical haematology**, v. 20, n. 2, p. 171–187, 2007.

HANIFI MOGHADDAM, P. et al. D6STNFA microsatellite locus correlates with CTLp frequency in unrelated bone marrow donor-recipient pairs. **Human immunology**, v. 59, n. 5, p. 295–301, maio 1998.

HARKENSEE, C. et al. Single nucleotide polymorphisms and outcome risk in unrelated mismatched hematopoietic stem cell transplantation: an exploration study. **Blood**, v. 119, n. 26, p. 6365–72, 28 jun. 2012.

HARKENSEE, C. et al. Microsatellite scanning of the immunogenome associates MAPK14 and ELTD1 with graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplantation. **Immunogenetics**, v. 65, n. 6, p. 417–27, jun. 2013.

HERRERA, O. B. et al. A Novel Pathway of Alloantigen Presentation by Dendritic Cells. **The Journal of Immunology**, v. 173, p. 4828–4837, 2004.

HOGAN, H. M. et al. Gamma-type identifies MHC haplotype mismatched donors that are HLA matched at HLA-A -B -C -DRB1 and DQB1. **Tissue Antigens**, v. 81, n. 5, p. 291–292, maio 2013.

- HOLOSHITZ, J. The quest for better understanding of HLA-disease association: scenes from a road less travelled by. **Discovery medicine**, v. 16, n. 87, p. 93–101, 2013.
- HORTON, R. et al. Gene map of the extended human MHC. **Nature reviews. Genetics**, v. 5, n. 12, p. 889–99, dez. 2004.
- HOWARD, C. A. et al. Recommendations for donor human leukocyte antigen assessment and matching for allogeneic stem cell transplantation: Consensus opinion of the blood and marrow transplant clinical trials network (BMT CTN). **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 21, n. 1, p. 4–7, 2015.
- HUANG, Y.-T.; CHANG, C.-J.; CHAO, K.-M. The extent of linkage disequilibrium and computational challenges of single nucleotide polymorphisms in genome-wide association studies. **Current drug metabolism**, v. 12, n. 5, p. 498–506, 2011.
- ISENMAN, D. E.; YOUNG, J. R. The molecular basis for the difference in immune hemolysis activity of the Chido and Rodgers isotypes of human complement component C4. **The Journal of Immunology**, v. 132, n. 6, p. 3019–3027, 1984.
- JACOBSON, C. A.; RITZ, J. B and T cells in chronic graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia. In: **Immune Biology of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation**. [s.l.] Elsevier, 2013. p. 299–326.
- JAGASIA, M. H. et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. **Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 21, n. 3, p. 389–401.e1, mar. 2015.
- JIMENEZ, A. et al. Major histocompatibility complex (MHC) gamma-block (GB) mismatch is associated with graft-versus-host disease (GVHD) in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). **Bone Marrow Transplantation**, v. 51, n. September, p. S379–S380, mar. 2016.
- KANDA, J. et al. Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan. **Bone marrow transplantation**, v. 49, n. 2, p. 228–35, 2014.
- KAUPPI, L.; JEFFREYS, A. J.; KEENEY, S. Where the crossovers are: recombination distributions in mammals. **Nature reviews. Genetics**, v. 5, n. 6, p. 413–424, 2004.
- KAWASE, T. et al. High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism. **Blood**, v. 110, n. 7, p. 2235–2241, 2007.
- KETHEESAN, N. et al. Reconstruction of the block matching profiles. **Human immunology**, v. 60, n. 2, p. 171–6, mar. 1999.
- KJER-NIELSEN, L. et al. A structural basis for the selection of dominant alphabeta T cell receptors in antiviral immunity. **Immunity**, v. 18, n. 1, p. 53–64, jan. 2003.
- LAKKIS, F. G.; LECHLER, R. I. Origin and biology of the allogeneic response. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 3, n. 8, p. 1–11, 2013.
- LAM, T. H. et al. Population-specific recombination sites within the human MHC region. **Heredity**, v. 111, n. 2, p. 131–8, 2013.
- LAW, S. K.; DODDS, A. W.; PORTER, R. R. A comparison of the properties of two classes, C4A and C4B, of the human complement component C4. **The EMBO journal**, v. 3, n. 8, p.

1819–23, ago. 1984.

LEE, S. J. et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. **Blood**, v. 110, n. 13, p. 4576–4583, 15 dez. 2007.

LEE, S. J.; VOGELSANG, G.; FLOWERS, M. E. D. Chronic graft-versus-host disease. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 9, n. 4, p. 215–233, 2003.

LLOYD, S. S.; STEELE, E. J.; DAWKINS, R. L. Analysis of Haplotype Sequences. In: **Next Generation Sequencing - Advances, Applications and Challenges**. [s.l.] InTech, 2016. p. 345–368.

LOISEAU, P. et al. HLA Association with hematopoietic stem cell transplantation outcome: the number of mismatches at HLA-A, -B, -C, -DRB1, or -DQB1 is strongly associated with overall survival. **Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 13, n. 8, p. 965–74, ago. 2007.

MACDONALD, W. A. et al. T Cell Allorecognition via Molecular Mimicry. **Immunity**, v. 31, n. 6, p. 897–908, 2009.

MAHADEO, K. M. et al. Immunologic resolution of human chronic graft-versus-host disease. **Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 20, n. 10, p. 1508–15, out. 2014.

MALKKI, M. et al. Mapping MHC-Resident Transplantation Determinants. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 13, n. 8, p. 986–995, 2007a.

MALKKI, M. et al. MHC class I, II, and III microsatellite marker matching and survival in unrelated donor hematopoietic cell transplantation. **Tissue antigens**, v. 69 Suppl 1, p. 46–9, abr. 2007b.

MARTIN, P. J.; SHLOMCHIK, W. D. Overview of Hematopoietic Cell Transplantation Immunology. In: FORMAN, S. J. et al. (Eds.). **Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation**. 5. ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2016. p. 96–114.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic acids research**, v. 16, n. 3, p. 1215, 11 fev. 1988.

MORISHIMA, S. et al. Impact of highly conserved HLA haplotype on acute graft-versus-host disease. **Blood**, v. 115, n. 23, p. 4664–70, 10 jun. 2010.

MORISHIMA, Y. et al. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow. **Blood**, v. 99, n. 11, p. 4200–4206, 2002.

MORISHIMA, Y. et al. Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation. **Blood**, v. 125, n. 7, p. 1189–1198, 2015.

MOULDS, J. M. Ethnic diversity of class III genes in autoimmune disease. **Frontiers in bioscience : a journal and virtual library**, v. 6, n. 1, p. D986-91, 1 ago. 2001.

MOYER, A. M. et al. Clinical Outcomes of HLA-DPB1 Mismatches in 10/10 HLA-Matched Donor-Recipient Pairs Undergoing Allogeneic Stem Cell Transplant. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 21, n. 2, p. S300, 2015.

MUNGALL, A. J. et al. The DNA sequence and analysis of human chromosome 6. **Nature**, v. 425, n. 6960, p. 805–11, 23 out. 2003.

NEEFJES, J. et al. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. **Nat Rev Immunol**, v. 11, n. 12, p. 823–36, 2011.

NISHIMORI, H.; MAEDA, Y.; TANIMOTO, M. Chronic graft-versus-host disease: disease biology and novel therapeutic strategies. **Acta medica Okayama**, v. 67, n. 1, p. 1–8, jan. 2013.

PARHAM, P.; OHTA, T. Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules. **Science (New York, N.Y.)**, v. 272, n. 5258, p. 67–74, 5 abr. 1996.

PARK, Y. et al. Effect of major histocompatibility complex haplotype matching by C4 and MICA genotyping on acute graft versus host disease in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. **Human immunology**, v. 77, n. 2, p. 176–83, fev. 2016.

PAVLETIC, S. Z. et al. Influence of T-cell depletion on chronic graft-versus-host disease: Results of a multicenter randomized trial in unrelated marrow donor transplantation. **Blood**, v. 106, n. 9, p. 3308–3313, 2005.

PEREIRA, N. F.; MORAES, M. E.; DE LIMA, M. G. Imunogenética no Transplanta de Células-Tronco Hematopoiéticas. In: VOLTARELLI, J. C.; PASQUINI, R.; ORTEGA, E. T. T. (Eds.). **Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas**. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 93–113.

PETERSDORF, E. W. et al. Effect of HLA mismatches on the outcome of hematopoietic transplants. **Current opinion in immunology**, v. 11, n. 5, p. 521–6, out. 1999.

PETERSDORF, E. W. et al. MHC haplotype matching for unrelated hematopoietic cell transplantation. **PLoS medicine**, v. 4, n. 1, p. e8, jan. 2007.

PIDALA, J. et al. Non-permissive -DPB1 mismatch among otherwise HLA-matched donor-recipient pairs results in increased overall mortality after myeloablative unrelated allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancies. **Blood**, p. 2596–2606, 26 ago. 2014.

PRZEPIORKA, D. et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. **Bone marrow transplantation**, v. 15, n. 6, p. 825–8, jun. 1995.

PUSCHENDORF, M. **The molecular genetics of human complement C4: implications for mapping MHC disease susceptibility genes**. [s.l.] Curtin University of Technology, 2003.

RENÉ, C.; LOZANO, C.; ELIAOU, J.-F. Expression of classical HLA class I molecules: regulation and clinical impacts. **Hla**, p. 1–12, 2016.

RICKLIN, D.; REIS, E. S.; LAMBRIS, J. D. Complement in disease: a defence system turning offensive. **Nature Reviews Nephrology**, v. 12, n. 7, p. 383–401, 2016.

ROWNTREE, L. C.; NGUYEN, T. H. O.; GRAS, S. Deciphering the clinical relevance of allo-human leukocyte antigen cross-reactivity in mediating alloimmunity following transplantation. **Current Opinion in Organ Transplantation**, p. 29–39, 2016.

SASAZUKI, T. et al. Effect of Matching of Class I HLA Alleles on Clinical Outcome after Transplantation of Hematopoietic Stem Cells from an Unrelated Donor. **New England Journal of Medicine**, v. 339, n. 17, p. 1177–1185, 1998.

SASAZUKI, T. et al. Gene Map of the HLA Region, Graves' Disease and Hashimoto Thyroiditis, and Hematopoietic Stem Cell Transplantation. In: **Advances in immunology**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2016. v. 129p. 175–249.

- SEPPANEN, M. et al. Subtly impaired humoral immunity predisposes to frequently recurring genital herpes simplex virus type 2 infection and herpetic neuralgia. **The Journal of infectious diseases**, v. 194, n. 5, p. 571–8, 1 set. 2006.
- SHAW, B. E. et al. The importance of HLA-DPB1 in unrelated donor hematopoietic cell transplantation. **Blood**, v. 110, n. 13, p. 4560–6, 15 dez. 2007.
- SHAW, B. E. et al. Diverging effects of HLA-DPB1 matching status on outcome following unrelated donor transplantation depending on disease stage and the degree of matching for other HLA alleles. **Leukemia**, v. 24, n. 1, p. 58–65, jan. 2010.
- SHAW, B. E. et al. Translating the HLA-DPB1 T-cell epitope-matching algorithm into clinical practice. **Bone marrow transplantation**, v. 48, n. February, p. 1–3, 2013.
- SHEN, L. et al. Structure and genetics of the partially duplicated gene RP located immediately upstream of the complement C4A and the C4B genes in the HLA class III region. Molecular cloning, exon-intron structure, composite retroposon, and breakpoint of gene duplication. **The Journal of biological chemistry**, v. 269, n. 11, p. 8466–76, 18 mar. 1994.
- SHIINA, T. et al. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. **Journal of human genetics**, v. 54, n. 1, p. 15–39, 2009.
- SLATKIN, M. Linkage disequilibrium--understanding the evolutionary past and mapping the medical future. **Nature reviews. Genetics**, v. 9, n. 6, p. 477–85, jun. 2008.
- SPIERINGS, E. et al. Multicenter analyses demonstrate significant clinical effects of minor Histocompatibility Antigens on GvHD and GvL after HLA-matched related and unrelated Hematopoietic stem cell transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 19, n. 8, p. 1244–1253, 2013.
- STEM CELL TRIALISTS' COLLABORATIVE GROUP. Allogeneic peripheral blood stem-cell compared with bone marrow transplantation in the management of hematologic malignancies: an individual patient data meta-analysis of nine randomized trials. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 23, n. 22, p. 5074–87, 1 ago. 2005.
- STEWART, C. A. et al. Complete MHC Haplotype Sequencing for Common Disease Gene Mapping Complete MHC Haplotype Sequencing for Common Disease Gene Mapping. **Genome Research**, v. 14, p. 1176–1187, 2004.
- STYCZYNSKI, J. et al. Impact of Donor Epstein-Barr Virus Serostatus on the Incidence of Graft-Versus-Host Disease in Patients With Acute Leukemia After Hematopoietic Stem-Cell Transplantation: A Study From the Acute Leukemia and Infectious Diseases Working Parties of the Europ. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 34, n. 19, p. 2212–20, 2016.
- SUN, Y. et al. Pathophysiology of acute graft-versus-host disease: recent advances. **Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine**, v. 150, n. 4, p. 197–214, out. 2007.
- TAY, G. K. et al. Matching for MHC haplotypes results in improved survival following unrelated bone marrow transplantation. **Bone marrow transplantation**, v. 15, n. 3, p. 381–5, mar. 1995a.
- TAY, G. K. et al. The identification of MHC identical siblings without HLA typing. **Experimental hematology**, v. 23, n. 14, p. 1655–60, dez. 1995b.

- TIERCY, J. M. Molecular basis of HLA polymorphism: implications in clinical transplantation. **Transplant immunology**, v. 9, n. 2–4, p. 173–80, maio 2002.
- TOUZEAU, C. et al. Investigation of the impact of HLA-DPB1 matching status in 10/10 HLA matched unrelated hematopoietic stem cell transplantation: Results of a French single center study. **Human Immunology**, v. 73, n. 7, p. 711–714, 2012.
- WITT, C. et al. Unrelated donors selected prospectively by block-matching have superior bone marrow transplant outcome. **Human immunology**, v. 61, n. 2, p. 85–91, fev. 2000.
- WU, Y. L. et al. Molecular basis of complete complement C4 deficiency in two North-African families with systemic lupus erythematosus. **Genes and immunity**, v. 10, n. 5, p. 433–45, jul. 2009.
- YANG, Y. et al. Complete complement components C4A and C4B deficiencies in human kidney diseases and systemic lupus erythematosus. **Journal of immunology**, v. 173, n. 4, p. 2803–14, 15 ago. 2004.
- YANG, Y. et al. Gene copy-number variation and associated polymorphisms of complement component C4 in human systemic lupus erythematosus (SLE): low copy number is a risk factor for and high copy number is a protective factor against SLE susceptibility in European America. **American journal of human genetics**, v. 80, n. 6, p. 1037–54, jun. 2007.
- YANG, Z. et al. Modular variations of the human major histocompatibility complex class III genes for serine/threonine kinase RP, complement component C4, steroid 21-hydroxylase CYP21, and tenascin TNX (the RCCX module). A mechanism for gene deletions and disease associat. **The Journal of biological chemistry**, v. 274, n. 17, p. 12147–56, 23 abr. 1999.
- YU, C. Y. et al. Structural basis of the polymorphism of human complement components C4A and C4B: gene size, reactivity and antigenicity. **The EMBO journal**, v. 5, n. 11, p. 2873–81, nov. 1986.
- ZEISER, R.; SOCIÉ, G.; BLAZAR, B. R. Pathogenesis of acute graft-versus-host disease: from intestinal microbiota alterations to donor T cell activation. **British Journal of Haematology**, p. 1–17, 2016.
- ZHANG, H.; CHEN, J.; QUE, W. Allogeneic peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation for hematologic malignancies: Meta-analysis of randomized controlled trials. **Leukemia Research**, v. 36, n. 4, p. 431–437, 2012.
- ZHANG, P.; CHEN, B. J.; CHAO, N. J. Prevention of GVHD without losing GVL effect: Windows of opportunity. **Immunologic Research**, v. 49, n. 1–3, p. 49–55, 2011.

APÊNDICE 1 – TIPAGENS HLA EM ALTA RESOLUÇÃO DOS 238 PACIENTES E SEUS DOADORES NÃO APARENTADOS

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
21509248	Paciente	*03:01:01G	*31:01	*35:01P	*35:03	*04:01P	-	*01:01	*16:01	*05:01	*05:02	*10:01	*10:01
NMDP 0309-0832-1	Doador	*03:01:01G	*31:01	*35:01P	*35:03	*04:01P	-	*01:01	*16:01	*05:01	*05:02	*04:01	*05:01
18080443	Paciente	*02:05	*29:02	*49:01	*44:03	*07:01P	*16:01	*04:05	*07:01	*03:02	*02:02	*03:01P	*04:01
NMDP 1314-1557-2	Doador	*02:05	*29:02	*49:01	*44:03	*07:01	*16:01	*04:05	*07:01	*03:02	*02:02	*03:01P	*04:01
17947036	Paciente	*11:01	*29:02	*35:01P	*44:03	*04:01:01G	*16:01	*07:01	*10:01	*02:02	*05:01	*10:01	*17:01
NMDP 018875294	Doador	*11:01	*29:02	*35:01P	*44:03	*04:01:01G	*16:01	*07:01	*10:01	*02:02	*05:01	*02:01	*04:01
19905489	Paciente	*32:01	*03:01	*44:03	*07:02:01G	*04:01:01G	*07:02P	*01:02	*15:01	*05:01	*06:02	*105:01	*04:01
4015-6641-9	Doador	*32:01	*03:01	*44:03	*07:02:01G	*04:01:01G	*07:02P	*01:02	*15:01	*05:01	*06:02	*02:01	*04:01
22701207	Paciente	*02:01P	*24:02P	*07:02P	*08:01P	*07:01P	*07:02P	*15:01P	*03:01P	*02:01:01	*06:02:01	*01:01	*05:01P
DMR 33544	Doador	*02:01	*24:02	*07:02	*08:01	*07:01	*07:02	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*01:01	*04:01
22506587	Paciente	*25:01:01	*23:01P	*18:01:01G	*49:01:01	*07:01P	*12:03P	*13:02:01	*15:01	*06:02:01	*06:04:01	*05:01P	*23:01
DMR 1077709	Doador	*25:01:01	*23:01P	*18:01:01G	*49:01:01	*07:01P	*12:03P	*13:02:01	*15:01P	*06:02:01	*06:04:01	*04:01P	*04:02P
21516287	Paciente	*03:01:01G	*31:01	*35:01P	*35:03	*04:01P	-	*01:01	*16:01	*05:01	*05:02	*10:01	*10:01
NMDP 0309-0832-1	Doador	*03:01:01G	*31:01	*35:01P	*35:03	*04:01P	-	*01:01	*16:01	*05:01	*05:02	*04:01	*05:01
21646571	Paciente	*02:01P	*01:01	*51:01	*38:01	*12:03	*15:13	*04:02	*07:01	*02:02	*03:02	*03:01P	*05:01
DMR 1141547	Doador	*02:01P	*01:01	*51:01	*38:01	*12:03	*15:13	*04:02	*07:01	*02:02	*03:02	*04:01	*13:01P
23092514	Paciente	*23:01P	*30:02	*49:01	*14:02	*07:01P	*08:02	*08:03	*11:03	*03:01	-	*02:01P	*04:02P
DMR 1430393	Doador	*23:01P	*30:02	*14:02:01	*49:01	*07:01P	*08:02	*08:03	*11:03	*03:01:01	*03:01:01	*04:01	*04:02P
14468692	Paciente	*01:01	*11:01	*35:03P	*57:01	*04:01:01G	*06:02P	*07:01	*07:01	*02:02	*03:03	*04:01P	*04:02P
NMDP 0253-72913	Doador	*01:01P	*11:01P	*35:03P	*57:01	*04:01:01G	*06:02P	*07:01	*07:01	*02:02	*03:03	*04:01P	*04:02P
18581566	Paciente	*01:01	*11:01	*08:01	*35:01P	*04:01P	*07:01P	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*02:01P	*04:01
DMR 3.456.766	Doador	*01:01	*11:01	*08:01	*35:01P	*04:01P	*07:01P	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*02:01P	*04:02P
20405279	Paciente	*26:01	*02:01P	*37:01	*56:01	*01:02P	*06:02P	*15:01	*10:01	*05:01	*06:02	*04:01	-
DEDKM 3055936	Doador	*26:01	*02:01P	*37:01	*56:01	*01:02P	*06:02P	*15:01	*10:01	*05:01	*06:02	*03:01P	*04:01
20648465	Paciente	*33:01	-	*14:02	-	*08:02	-	*01:02	-	*05:01	-	*05:01	*05:01
DMR 178226	Doador	*33:01	-	*14:02	-	*08:02	-	*01:02	-	*05:01	-	*13:01P	*14:01
23010763	Paciente	*26:01	*26:01	*27:05P	*44:03	*01:02	*16:01	*01:01P	*11:01P	*03:01	*05:01	*04:01	-
DMR 2062358	Doador	*26:01	-	*27:05P	*44:03	*01:02	*16:01	*01:01P	*11:01P	*03:01	*05:01	*04:01P	-
22251830	Paciente	*68:01	*23:01P	*51:01	*81:01P	*14:02	*18:01P	*07:01	*14:01P	*02:02	*05:03	*11:01	*29:01
DMR 1968296	Doador	*68:01	*23:01P	*51:01	*81:01P	*14:02	*18:01P	*07:01	*14:01P	*02:02	*05:03	*04:02P	*29:01
14346554	Paciente	*25:01	*36:01	*18:01:01G	*53:01	*04:01	*12:03	*09:01	*15:01	*02:02	*06:02	*02:01P	*30:01
DMR 1344291	Doador	*25:01	*36:01	*18:01	*53:01	*04:01	*12:03	*09:01	*15:01	*02:02	*06:02	*04:01	*13:01P
22630865	Paciente	*74:01	*30:01	*42:01	*13:02	*06:02	*17:01P	*07:01	*08:04	*02:02	*03:01	*02:01P	*17:01P
DMR 963747	Doador	*74:01P	*30:01	*42:01	*13:02	*06:02P	*17:01P	*07:01	*08:04	*02:02	*03:01	*02:01P	*09:01
21241962	Paciente	*02:01P	*32:01	*40:02	*18:01:01G	*02:02	*05:01	*13:01:01	*03:01:01	*02:01:01	*06:03:01	*02:01P	*04:01
DMR 403401	Doador	*02:01P	*32:01	*40:02	*18:01:01G	*02:02	*05:01	*13:01:01	*03:01:01	*02:01:01	*06:03:01	*02:01P	*03:01P
19411427	Paciente	*02:01P	*68:01:02G	*50:01	*44:02:01G	*07:04P	*06:02P	*03:01	*11:01	*02:01	*03:01	*01:01	*04:01P
CRIR DE-DKM 209118	Doador	*02:01P	*68:01:02G	*50:01	*44:02:01G	*07:04P	*06:02P	*03:01	*11:01	*02:01	*03:01	*02:01	*02:01

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
22542516	Paciente	*30:02	*34:02	*18:01:01G	*08:01	*05:01	*07:01P	*03:01	-	*02:01	-	*04:01	-
DMR 1.864.651	Doador	*30:02	*34:02	*18:01:01G	*08:01	*05:01	*07:01P	*03:01	-	*02:01	-	*02:02	*11:01
22952811	Paciente	*02:05	-	*50:01	-	*06:02P	-	*07:01	-	*02:02	-	*14:01	-
DMR 2303.198	Doador	*02:05	-	*50:01	-	*06:02P	-	*07:01	-	*02:02	-	*02:01P	-
21440540	Paciente	*01:01:01	*11:01:01	*08:01:01	*51:01:01	*07:01P	*15:02	*03:01:01	*15:01:01	*02:01:01	*06:02:01	*04:01P	*13:01P
DMR 571753	Doador	*01:01:01	*11:01:01	*08:01:01	*51:01:01	*07:01P	*15:02	*03:01:01	*15:01:01	*02:01:01	*06:02:01	*04:01P	*04:02P
16878421	Paciente	*01:01	*02:01P	*07:02:01G	*08:01	*07:01P	*07:02P	*03:01:01	*14:01	*02:01	*05031	*04:01P	*13:01P
NMMDP 0064-2157-2	Doador	*01:01	*02:01P	*07:02:01G	*08:01	*07:01P	*07:02P	*03:01	*14:01	*02:01	*05:03	*04:01	*23:01
20847905	Paciente	*23:01P	*24:02	*38:01	*49:01	*07:01P	*12:03	*11:01P	*13:01P	*03:01	*06:03	*01:01	*04:01
DMR 2239402	Doador	*23:01P	*24:02	*38:01	*49:01	*07:01P	*12:03	*11:01P	*13:01P	*03:01	*06:03	*02:01P	-
22816128	Paciente	*02:01P	-	*35:01:01:01	*39:01P	*04:01P	*12:03P	*01:03	*16:01:01	*05:01P	*05:02:01	*03:01P	*35:01
NMMDP 0741-3903-1	Doador	*02:01P	-	*35:01	*39:01P	*04:01	*12:03	*01:03	*16:01	*05:01	*05:02	*03:01P	*04:01
22739352	Paciente	*02:01P	*02:01P	*27:05P	*27:02:01	*01:02P	*02:02:02	*15:01P	*16:01:01	*05:02:01	*06:02:01	*04:01	-
NMMDP 143437770	Doador	*02:01P	-	*27:02	*27:05	*02:02	*01:02	*15:01	*16:01	*06:02	*05:02	*04:01	-
17180614	Paciente	*01:01	*02:01P	*51:01	*57:01	*06:02	*15:02	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*04:01P	-
NMMDP 1119-8971-1	Doador	*01:01	*02:01P	*51:01	*57:01	*15:02	*06:02	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*02:02	*04:01
22204637	Paciente	*24:02	*02:01P	*35:02	-	*04:01P	-	*11:04	*03:01	*02:01	*03:01	*04:01	-
DMR 511919	Doador	*24:02	*02:01	*35:02	-	*04:01P	-	*11:04	*03:01	*02:01	*03:01	*04:01	-
22128604	Paciente	*33:03	*03:01	*35:08	*35:01P	*04:01P	-	*13:03	*01:01	*03:01	*05:01	*02:01P	*03:01P
DMR 872259	Doador	*33:03	*03:01	*35:08	*35:01P	*04:01P	-	*13:03	*01:01	*03:01	*05:01	*02:01P	*04:02
21956376	Paciente	*03:01	*01:01	*44:02:01G	*08:01	*05:01	*07:01P	*03:01	*04:01	*02:01	*03:01	*03:01P	*04:01
DMR 539893	Doador	*03:01	*01:01	*44:02:01G	*08:01	*05:01	*07:01P	*03:01	*04:01	*02:01	*03:01	*04:01	-
17275429	Paciente	*01:01	*23:01P	*08:01	*40:01	*03:04P	*07:01P	*03:01	*04:04	*02:01	*03:02	*04:01P	*04:02P
CRIR CAI-8566 I-73	Doador	*01:01	*23:01P	*08:01	*40:01	*03:04P	*07:01P	*03:01	*04:04	*02:01	*03:02	*03:01P	*04:01
22084968	Paciente	*24:02	*30:02	*08:01	*14:02	*07:01P	*08:02	*03:01	*11:03	*02:01	*03:01	*04:01	*15:01
DMR 1.617.577	Doador	*24:02	*30:02	*08:01	*14:02	*07:01P	*08:02	*03:01	*11:03	*02:01	*03:01	*01:01	*04:01
2806584	Paciente	*02:01P	*68:01:02G	*49:01	*40:01	*03:04P	*07:01P	*04:04	*13:01	*03:02	*06:03	*02:01	*04:01
CRIR - DESMS 55408	Doador	*02:01P	*68:01:02G	*49:01	*40:01	*03:04P	*07:01P	*04:04	*13:01	*03:02	*06:03	*02:01	*04:01
21749192	Paciente	*01:01	*24:02	*08:01	*44:02:01G	*05:01	*07:01P	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*04:01	-
DMR 1416411	Doador	*01:01	*24:02	*08:01	*44:02:01G	*05:01	*07:01P	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*01:01	*04:01
22730282	Paciente	*23:01P	*30:02	*07:02:01G	*14:02	*07:02P	*08:02	*01:02	*15:03	*05:01	*06:02	*02:01P	*01:01
NMMDP 0695-4091-2	Doador	*23:01	*30:02	*07:02	*14:02	*07:02	*08:02	*01:02	*15:03	*05:01	*06:02	*02:01	-
22192388	Paciente	*31:01	*03:01	*35:04	*07:02P	*04:01P	*07:02P	*08:07	*15:01	*04:02	*06:02	*04:01	*14:01
DMR 377182	Doador	*31:01	*03:01	*35:04	*07:02P	*04:01P	*07:02P	*08:07	*15:01	*04:02	*06:02	*04:01	*04:02
22891987	Paciente	*02:01P	*02:01P	*35:01P	*18:01:01G	*04:01P	*05:01	*03:01	*11:04	*02:01	*03:01	*04:01P	*04:02P
NMMDP 079828356	Doador	*02:01P	-	*35:01	*18:01	*05:01	*04:01	*03:01	*11:04	*02:01	*03:01	*04:01P	*04:02P
12461690	Paciente	*01:01	*24:02	*08:01	*35:03	*07:01P	*12:03P	*13:01	*03:01:01	*02:01	*06:03	*04:01	*13:01P
NMMDP 0132-0876-4	Doador	*01:01	*24:02	*08:01	*35:03	*07:01P	*12:03P	*03:01	*13:01	*02:01	*06:03	*04:01P	*13:01P
21385123	Paciente	*01:01	*03:01P	*08:01	*15:01:01G	*03:03:01G	*07:01P	*03:01P	*13:01	*02:01	*06:03	*03:01P	*04:01
ITVR01 012848	Doador	*01:01	*03:01P	*08:01	*15:01:01G	*03:03:01G	*07:01P	*03:01P	*13:01	*02:01	*06:03	*17:01P	*19:01P

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
22567691	Paciente	*01:01P	*02:01P	*08:01:01	*14:01:01	*07:01P	*08:02:01	*03:01P	-	*02:01:01	-	*04:02	*16:01
DMR 1.818.221	Doador	*01:01P	*02:01P	*08:01:01	*14:01:01	*07:01P	*08:02:01	*03:01P	-	*02:01:01	-	*04:01P	*04:02P
13650438	Paciente	*01:01	*02:01P	*08:01	*57:01	*06:02P	*07:01P	*07:01	*08:01	*03:03	*04:02	*04:01	-
NMDP 0092-8392-0	Doador	*01:01	*02:01P	*08:01	*57:01	*06:02P	*07:01P	*07:01	*08:01	*03032	*04:02	*03:01P	*04:01
21312797	Paciente	*01:01:01G	*03:01:01G	*07:02P	*39:06	*07:02P	-	*11:01	*15:01	*03:01	*06:02	*04:01	-
NMDP 0127-6240-7	Doador	*01:01:01G	*03:01:01G	*07:02P	*39:06	*07:02P	-	*11:01	*15:01	*03:01	*06:02	*04:01P	*04:02P
23215411	Paciente	*02:01P	*68:01	*07:02:01G	*39:02	*03:04	*07:02P	*08:04	*15:01	*06:02	*04:02	*02:02	*04:02P
DMR 3377778	Doador	*02:01P	*68:01	*07:02:01G	*39:02	*03:04	*07:02P	*08:04	*15:01	*06:02	*04:02	*04:01P	*04:02P
19241491	Paciente	*02:01	*26:01	*18:01:01G	*07:02:01G	*05:01	*07:02P	*03:01:01	*15:01	*02:01	*06:02	*04:01	*15:01
DMR47407	Doador	*02:01P	*26:01	*18:01:01G	*07:02:01G	*05:01	*07:02P	*03:01:01	*15:01	*02:01	*06:02	*02:01	*02:02
22786385	Paciente	*25:01:01	*11:01:01	*08:01:01	*35:01P	*04:01P	*07:01P	*03:01P	*11:04P	*02:01:01	*03:01P	*01:01	*04:02
DMR 582351	Doador	*25:01	*11:01	*08:01	*35:01P	*04:01P	*07:01P	*03:01	*11:04	*02:01	*03:01	*01:01	*04:01
18850583	Paciente	*26:01	*32:01	*14:02	*38:01	*08:02	*12:03	*01:02	*11:04	*05:01	*03:01	*02:01	*02:01
NMDP 0248-2709-9	Doador	*26:01	*32:01	*14:02	*38:01	*08:02	*12:03	*01:02	*11:04	*05:01	*03:01	*02:01P	*04:02
22982265	Paciente	*01:01	*03:01	*52:01	*07:02:01G	*07:02P	*12:02	*15:01	*15:02	*06:01	*06:02	*02:01P	*03:01P
DMR 2011011	Doador	*01:01	*03:01	*07:02:01G	*52:01	*07:02P	*12:02	*15:01	*15:02	*06:01	*06:02	*02:01P	*04:01
15263075	Paciente	*02:01P	*68:02	*15:04	*53:01	*03:03:01G	*04:01P	*13:01	*16:02	*03:01	*06:03	*01:01	*04:01
DMR 322977	Doador	*02:01P	*68:02	*15:04	*53:01	*03:03:01G	*04:01	*13:01	*16:02	*03:01	*06:03	*04:02	*10:01
9162682	Paciente	*26:01P	*30:01	*13:02	*40:01	*03:04	*06:02P	*07:01	*11:01	*02:02	*03:01	*02:01	*17:01
NMDP 0083 - 4477-2	Doador	*26:01P	*30:01	*13:02	*40:01	*03:04	*06:02P	*07:01	*11:01	*02:02	*03:01	*02:01P	*17:01
21890251	Paciente	*03:01	*23:01G	*07:02G	*08:01	*07:01:01G	*07:02:01G	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*02:01	*16:01
DMR 373212	Doador	*03:01	*23:01G	*07:02:01G	*08:01	*07:01:01G	*07:02:01G	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*02:01	*04:01
21976547	Paciente	*02:01P	*30:01	*07:02P	*35:01P	*04:01P	*07:02P	*15:01	*04:05	*03:02	*06:02	*01:01	*04:01
DMR 493768	Doador	*02:01P	*30:01	*07:02P	*35:01P	*04:01	*07:02	*15:01	*04:05	*03:02	*06:02	*01:01	*04:01
14431977	Paciente	*02:01P	*23:01P	*07:02:01G	*44:03	*04:01:01G	*07:02P	*15:01	*07:01	*06:02	*02:01	*02:01	*04:01
CRIR DKM-156928-ZKRD	Doador	*02:01P	*23:01P	*07:02:01G	*44:03	*04:01:01G	*07:02P	*07:01	*15:01	*06:02	*02:01P	*04:02P	*11:01
20814276	Paciente	*02:01P	*03:01	*44:02:01G	*58:02	*05:01	*06:02P	*13:01:01	*11:02:01	*03:01	*06:03	*01:01	*04:01
DMR 139610	Doador	*02:01P	*03:01	*44:02:01G	*58:02	*05:01	*06:02P	*13:01:01	*11:02:01	*03:01	*06:03	*03:01P	*29:01
22803190	Paciente	*24:02	*24:02	*07:02P	*07:02P	*07:02P	-	*15:01	-	*06:02	-	*04:01	*10:01
DMR 1418.165	Doador	*24:02	-	*07:02:01G	-	*07:02P	-	*15:01	-	*06:02	-	*02:01P	*10:01
22842072	Paciente	*02:01P	*24:02	*40:01	-	*03:04	-	*04:01	*15:01	*03:01	*06:02	*04:01	*05:01
DEDKM 4348881	Doador	*02:01P	*24:02	*40:01	-	*03:04	-	*04:01	*15:01	*03:01	*06:02	*04:01	-
22285068	Paciente	*02:01	*29:02	*35:01	*44:03	*04:01	*16:01	*01:01	*13:01	*05:01	*06:03	*04:01	*10:01
DMR 1294199	Doador	*02:01	*29:02	*35:01	*44:03	*04:01	*16:01	*01:01	*13:01	*05:01	*06:03	*04:01	*17:01
22408780	Paciente	*03:01	*32:01	*40:02	*49:01	*02:02	*07:01	*04:05	*13:01	*03:02	*06:03	*02:01P	*17:01
DMR 346982	Doador	*03:01	*32:01	*40:02	*49:01	*02:02	*07:01	*04:05	*13:01	*03:02	*06:03	*02:01P	*10:01
19766039	Paciente	*02:01P	*32:01	*40:01	*13:02	*06:02	*03:04	*07:01:01	*01:01	*02:02	*05:01	*04:01	*17:01
NMDP 0421-1379-5	Doador	*02:01P	*32:01	*13:02	*40:01	*06:02	*03:04	*01:01	*07:01	*05:01	*02:02	*02:01P	*04:01
22632566	Paciente	*11:01:01	*03:01P	*35:01P	*58:02	*04:01P	*06:02	*01:01:01	*11:02:01	*05:01P	*03:01P	*04:02	*105:01
DMR 2.565.945	Doador	*11:01:01	*03:01P	*35:01P	*58:02	*04:01P	*06:02P	*01:01:01	*11:02:01	*05:01P	*03:01P	*01:01	*04:01

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
22718240	Paciente	*02:01P	*24:02	*35:01P	*08:01	*04:01P	*07:01P	*13:01P	*14:01P	*05:03	*06:03	*04:01	*10:01
NMDP 114536535	Doador	*02:01P	*24:02	*35:01P	*08:01	*04:01P	*07:01P	*13:01P	*14:01P	*05:03	*06:03	*04:01	*02:01P
22016121	Paciente	*31:01	*11:01	*51:01	*08:01	*07:01P	*15:02	*03:01	*13:01	*02:01	*06:03	*01:01	*10:01
DMR 908137	Doador	*31:01	*11:01	*51:01	*08:01	*07:01P	*15:02	*03:01	*13:01	*02:01	*06:03	*01:01	*02:01P
23123762	Paciente	*02:01P	*24:02	*35:03	*51:01	*04:01P	*05:01	*08:02	*11:01P	*03:01	*04:02	*04:01P	*19:01P
DMR 647179	Doador	*02:01P	*24:02	*35:03	*51:01	*04:01P	*05:01	*08:02	*11:01P	*03:01	*04:02	*04:01P	-
19949478	Paciente	*02:01P	*29:02	*51:04	*44:03	*15:03	*16:01	*08:04	*07:01	*02:02	*04:02	*04:02P	*20:01
DMR 3174018	Doador	*02:01P	*29:02	*51:04	*44:03	*15:03	*16:01	*07:01	*08:04	*02:02	*04:02	*04:02P	*01:01
19241661	Paciente	*03:01	-	*07:02:01G	-	*07:02P	-	*15:01	-	*06:02	-	*04:01	-
DMR-47644	Doador	*03:01	-	*07:02:01G	-	*07:02P	-	*15:01	-	*06:02	-	*04:01	-
17369555	Paciente	*32:01	*33:03	*14:01	*58:01	*03:02	*08:02	*13:02	*07:01	*06:09	*02:02	*03:01	*30:01
NMDP 0209-2676-2	Doador	*32:01	*33:03	*14:01	*58:01	*03:02	*08:02	*13:02	*07:01	*06:09	*02:02	*02:01P	*13:01P
23190362	Paciente	*02:01P	*24:02	*15:01	*57:01	*03:04	*06:02P	*07:01	*16:01	*03:03	*05:02	*04:01P	-
NMDP127627826	Doador	*02:01P	*24:02	*15:01	*57:01	*03:04	*06:02	*07:01	*16:01	*03:03	*05:02	*04:01	-
20494727	Paciente	*02:01:01G	*29:02	*44:02:01G	*53:01	*04:01:01G	*05:01P	*01:02	*13:01	*05:01	*06:03	*04:01	*17:01
NMDP 0238-9098-1	Doador	*02:01:01G	*29:02	*44:02:01G	*53:01	*04:01:01G	*05:01P	*01:02	*13:01	*05:01	*06:03	*02:01P	*10:01
21489000	Paciente	*02:01P	-	*45:01	*53:01:01	*04:01P	*16:01:01	*01:02:01	*15:03P	*05:01P	*06:02:01	*01:01	-
NMDP 097432496	Doador	*02:01P	-	*45:01	*53:01	*16:01	*04:01	*01:02	*15:03	*05:01	*06:02	*02:01	*18:01
13901961	Paciente	*68:01:02G	*26:01	*40:04	*14:01	*03:04	*08:02	*04:11	*07:01	*02:02	*03:02:01	*02:01	*04:02P
DMR 308956	Doador	*68:01:02G	*26:01	*40:04	*14:01	*03:04	*08:02	*04:11	*07:01	*02:02	*03:02:01	*04:02P	*17:01
21903248	Paciente	*02:01P	*23:01P	*15:01:01G	*44:03	*03:03:01G	*04:01P	*13:01	*07:01	*02:02	*06:03	*10:01	*05:01
DEDKM-3414523	Doador	*02:01P	*23:01P	*15:01:01G	*44:03	*03:03	*04:01P	*13:01	*07:01	*02:02	*06:03	*02:01P	*04:02
20661305	Paciente	*24:02	*02:01P	*07:02:01G	*45:01	*07:02P	*16:01	*01:02	*15:01	*05:01	*06:02	*01:01	*02:01
DMR 129809	Doador	*24:02	*02:01P	*07:02:01G	*45:01	*07:02P	*16:01	*01:02	*15:01	*05:01	*06:02	*01:01	*04:02P
23006111	Paciente	*30:01	*02:01P	*13:02	*15:01	*06:02P	*03:03	*07:01	-	*02:02	-	*04:01P	*04:02P
NMDP 113675805	Doador	*02:01	*30:01	*13:02	*15:01	*03:03	*06:02	*07:01	*07:01	*02:02	*02:02	*01:01	*17:01
20995963	Paciente	*25:01	*32:01	*18:01:01G	*14:01	*08:02	*12:03	*07:01	*15:01	*02:02	*06:02	*10:01	*23:01
DMR 315535	Doador	*25:01	*32:01	*18:01:01G	*14:01	*08:02	*12:03	*07:01	*15:01	*02:02	*06:02	*04:01	*10:01
23045788	Paciente	*11:01	*11:01	*27:05P	*35:01P	*02:02	*04:01P	*01:01P	*09:01	*03:03	*05:01	*04:01P	*04:02P
NMDP 0821-7378-2	Doador	*11:01	-	*27:05	*35:01	*02:02	*04:01	*01:01	*09:01	*05:01	*03:03	*04:01	*04:02
18659280	Paciente	*11:01	*02:01P	*35:01P	-	*04:01:01G	-	*01:01	*04:04	*03:02	*05:01	*01:01	*04:02P
DMR 44502	Doador	*11:01	*02:01P	*35:01P	-	*04:01:01G	-	*01:01	*04:04	*03:02	*05:01	*04:02	*14:01
18306980	Paciente	*01:01	*31:01	*08:01	*15:01	*04:01:01G	*07:01P	*01:01	*03:01	*02:01	*05:01	*03:01	*04:01
NMDP 0094-6430-6	Doador	*01:01	*31:01	*08:01	*15:01	*04:01:01G	*07:01P	*01:01	*03:01	*02:01	*05:01	*01:01	*04:01
22658204	Paciente	*01:01:01:01	*03:01P	*08:01	*27:05P	*02:02P	*07:01P	*03:01P	*12:01P	*03:01P	*02:01:01	*04:02	-
NMDP 0738.6621-2	Doador	*01:01:01:01	*03:01P	*08:01	*27:05P	*02:02P	*07:01P	*03:01P	*12:01P	*03:01P	*02:01:01	*04:01	-
22602420	Paciente	*02:01P	*02:11	*56:01	*48:02	*01:02	*04:01P	*07:01	*09:01	*02:02	*03:03	*14:01	*17:01
DMR 3352638	Doador	*02:01P	*02:11	*56:01	*48:02	*01:02	*04:01P	*07:01	*09:01	*02:02	*03:03	*01:01P	*14:01
22871048	Paciente	*03:01	*02:01P	*07:02:01G	*44:03	*07:02P	*16:02	*04:02	*15:01	*03:02	*06:02	*02:01	*04:01
DMR 2522600	Doador	*03:01	*02:01P	*07:02:01G	*44:03	*07:02P	*16:02	*04:02	*15:01	*03:02	*06:02	*02:01	*04:01

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
22741489	Paciente	*26:01	*03:01	*15:01:01G	*35:01P	*03:03:01G	*04:01P	*13:01P	*01:01P	*05:01	*06:03	*105:01	*02:01P
FRFLI 10737	Doador	*26:01	*03:01	*15:01:01G	*35:01P	*03:03:01G	*04:01P	*13:01P	*01:01P	*05:01	*06:03	*10:01	*14:01
22459198	Paciente	*02:01P	*02:05	*44:02:01G	*50:01	*05:01	*06:02	*04:01	*07:01	*02:02	*03:01	*03:01P	*04:01
NMDP 0693-9175-3	Doador	*02:01P	*02:05	*44:02:01G	*50:01	*05:01	*06:02	*04:01	*07:01	*03:01	*02:02	*03:01P	*04:01
21700916	Paciente	*68:02	*29:02	*08:01	*44:03	*07:01:01G	*16:01	*03:01	*07:01	*02:01	*02:02	*01:01	*04:01
DMR 122425	Doador	*68:02	*29:02	*08:01	*44:03	*07:01:01G	*16:01	*03:01	*07:01	*02:01	*02:02	*04:01	-
22387898	Paciente	*02:01P	*31:01	*35:03	*39:03	*04:01P	*07:02P	*04:11	*13:02	*03:02	*06:04	*02:01P	*14:01
DMR 3.535.507	Doador	*02:01P	*31:01	*35:03	*39:03	*04:01P	*07:02P	*04:11	*13:02	*03:02	*06:04	*04:01P	*14:01
22266209	Paciente	*02:05	*02:11	*48:02	*58:01	*04:01:01G	*07:01:01G	*09:01	*16:01	*03:03	*05:02	*02:01P	*04:02
DMR 1513242	Doador	*02:05	*02:11	*48:02	*58:01	*04:01:01G	*07:01:01G	*09:01	*16:01	*03:03	*05:02	*04:01	*14:01
20865016	Paciente	*02:01P	*31:01	*51:01P	*14:02	*08:02	*15:02P	*01:02	*04:08	*03:01	*05:01	*16:01	*17:01
DMR 329510	Doador	*02:01	*31:01	*51:01P	*14:02	*08:02	*15:02P	*01:02	*04:08	*03:01	*05:01	*04:01	-
22009117	Paciente	*30:01	*32:01	*13:02	*35:03	*04:01P	*06:02P	*07:01	*11:01	*02:02	*03:01	*04:01	*09:01
DMR 335340	Doador	*30:01	*32:01	*13:02	*35:03	*04:01P	*06:02P	*07:01	*11:01	*02:02	*03:01	*04:01	*14:01
20397853	Paciente	*11:01	*01:01	*08:01	*51:01P	*07:01P	*15:13	*03:01:01	*04:02	*02:01	*03:02	*10:01	*13:01P
DMR 258852	Doador	*11:01	*01:01	*08:01	*51:01P	*07:01P	*15:13	*03:01:01	*04:02	*02:01	*03:02	*01:01	*02:01
22639447	Paciente	*01:01	*02:01P	*18:01:01G	*44:02:01G	*07:01P	*05:01P	*04:01	*12:01P	*03:01	-	*02:01P	*04:01
NMDP 1051-0651-2	Doador	*01:01	*02:01P	*18:01:01G	*44:02:01G	*05:01	*07:01P	*04:01	*12:01P	*03:01	-	*04:01	*04:02
20995688	Paciente	*02:01P	*24:02	*39:06	*18:01:01G	*05:01:01G	*07:02:01G	*03:01	*04:11	*02:01	*03:02	*04:01	*14:01
DMR 143996	Doador	*02:01P	*24:02	*39:06	*18:01:01G	*05:01:01G	*07:02:01G	*03:01	*04:11	*02:01	*03:02	*04:01	*14:01
22801511	Paciente	*03:01	*30:04	*35:01P	*38:01	*04:01P	*12:03	*01:01	*14:01P	*05:01	*05:03	*04:02	-
ITVI01017516	Doador	*03:01	*30:04	*35:01P	*38:01	*04:01P	*12:03	*01:01	*14:01P	*05:01	*05:03	*04:01	*09:01
21557188	Paciente	*31:01	*02:01P	*35:04	*18:01:01G	*04:01:01G	*07:01:01G	*08:07	*13:01	*04:02	*06:03	*02:01P	*14:01
DMR 692223	Doador	*31:01	*02:01P	*35:04	*18:01:01G	*04:01:01G	*07:01:01G	*08:07	*13:01	*04:02	*06:03	*04:02P	*19:01P
20151471	Paciente	*02:01P	*32:01	*07:02	*40:02	*02:02	*07:02P	*01:01	*15:01	*05:01	*06:02	*04:01	*05:01
DMR 141423	Doador	*02:01P	*32:01:14	*07:02	*40:02	*02:02	*07:02P	*01:01	*15:01	*05:01	*06:02	*02:01	*04:01
21453129	Paciente	*24:02	*32:01	*07:02:01G	*14:01	*07:02:01G	*08:02	*13:02:01	*15:01:01	*06:02:01	*06:04:01	*04:01	*04:02P
DMR 463811	Doador	*24:02	*32:01	*07:02:01G	*14:01	*07:02:01G	*08:02	*13:02:01	*15:01:01	*06:02:01	*06:04:01	*04:02	*11:01
15883154	Paciente	*02:01P	*23:01P	*40:01	*50:01	*06:02	*03:04	*07:01	*13:02	*06:04	*02:02	*03:01	*04:01
CRIR BANT-5501	Doador	*02:01P	*23:01P	*40:01	*50:01	*06:02	*03:04	*13:02	*07:01	*06:04	*02:02	*02:01	*03:01
20598735	Paciente	*26:01:01	*03:01:01	*18:01:01G	*07:02:01G	*07:02:01G	*12:03	*11:04	*15:01	*03:01	*06:02	*04:01	*04:02
DMR 967751	Doador	*26:01:01	*03:01:01	*18:01:01G	*07:02:01G	*07:02:01G	*12:03	*11:04	*15:01	*03:01	*06:02	*04:02P	*19:01P
21975583	Paciente	*32:01	*23:01G	*27:05:02G	*49:01	*01:02	*07:01:01G	*01:01	*13:02	*05:01	*06:04	*04:01	-
DMR 246676	Doador	*32:01	*23:01G	*27:05:02G	*49:01	*01:02	*07:01:01G	*01:01	*13:02	*05:01	*06:04	*04:01P	-
21462152	Paciente	*02:05	*03:01	*50:01	*07:02:01G	*06:02	*07:02:01G	*01:02	*07:01	*05:01	*02:02	*14:01	*104:01
DMR 704782	Doador	*02:05	*03:01	*50:01	*07:02:01G	*06:02	*07:02:01G	*01:02	*07:01	*05:01	*02:02	*104:01	-
22826190	Paciente	*11:01	*03:01	*35:01P	*07:02P	*04:01P	*07:02P	*01:01	*15:01	*05:01	*06:02	*04:01P	*04:02P
DMR 1054115	Doador	*11:01	*03:01	*35:01P	*07:02P	*04:01P	*07:02P	*01:01	*15:01	*05:01	*06:02	*04:02	*04:02
20825790	Paciente	*29:02	*68:01	*18:01:01G	*44:03	*07:01P	*16:01	*04:01	*07:01	*03:01	*02:02	*02:01	*17:01
NMDP 0208-9554-6	Doador	*29:02	*68:01	*18:01:01G	*44:03	*07:01P	*16:01	*04:01	*07:01	*03:01	*02:02	*02:01	-

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
19138585	Paciente	*02:01	-	*35:01	-	*04:01:01G	-	*01:01	-	*05:01	-	*01:01	-
DMR 153836	Doador	*02:01P	-	*35:01P	-	*04:01:01G	-	*01:01	-	*05:01	-	*04:01	*04:02
21563730	Paciente	*01:01	*02:01P	*57:01	*44:02:01G	*05:01	*06:02	*04:02	*13:02	*03:02	*06:04	*05:01P	*17:01
DMR 2309165	Doador	*01:01	*02:01	*44:02	*57:01	*05:01	*06:02	*04:02	*13:02	*03:02	*06:04	*04:01	*05:01P
17964526	Paciente	*02:01P	-	*40:01	*44:02:01G	*03:04	*05:01	*13:02	*15:01	*06:02	*06:04	*03:01P	*04:01
DMR 388516	Doador	*02:01P	-	*40:01	*44:02:01G	*03:04	*05:01	*13:02	*15:01	*06:02	*06:04	*03:01P	*04:01
22786652	Paciente	*23:01P	*03:01	*44:03	*07:02P	*04:01P	*07:02P	*07:01	*13:01P	*02:02	*06:03	*04:01	-
DMR 1179214	Doador	*23:01P	*03:01	*44:03	*07:02P	*04:01P	*07:02P	*07:01	*13:01P	*02:02	*06:03	*03:01P	*06:01
22623583	Paciente	*01:01:01:01	*33:01:01	*08:01:01	*44:03:01	*02:02P	*07:01P	*01:02P	*03:01P	*02:01:01	*05:01P	*01:01	*04:01
DMR 1115265	Doador	*01:01:01:01	*33:01:01	*08:01:01	*44:03:01	*02:02P	*07:01P	*01:02P	*03:01P	*02:01:01	*05:01P	*01:01	*04:01
20356162	Paciente	*26:01	*32:01	*37:01	*38:01	*06:02	*12:03	*13:01	*10:01	*05:01	*06:03	*04:01	-
DMR 19233	Doador	*26:01	*32:01	*37:01	*38:01	*06:02P	*12:03P	*13:01	*10:01	*05:01	*06:03	*02:01	*04:01
20529520	Paciente	*01:01:01G	*02:01P	*57:01	*50:01	*06:02	-	*07:01	*04:05	*03:02	*03:03	*02:01	*04:01
NMDP 0316-0618-9	Doador	*01:01P	*02:01P	*50:01	*57:01	*06:02	-	*04:05	*07:01	*03:02	*03:03	*02:01P	*17:01P
22569511	Paciente	*30:01	*01:01	*42:02	*08:01	*07:01P	*17:01P	*08:01	*12:01P	*04:02	*05:01	*04:02	*18:01
DMR 2275018	Doador	*01:01	*30:01	*08:01	*42:02	*07:01:01G	*17:01:01G	*08:01	*12:01:01G	*04:02	*05:01	*04:01	-
22772376	Paciente	*02:01P	*02:01P	*56:01	*56:01	*01:02	-	*01:01	-	*05:01	-	*02:01P	-
DEDKM 4308090	Doador	*02:01P	-	*56:01	-	*01:02	-	*01:01P	-	*05:01	-	*04:02	*06:01
21968277	Paciente	*32:01	*31:01	*44:05	*39:13	*02:02	*07:02P	*11:01P	*08:07	*03:01	*04:02	*03:01P	*14:01
DMR 1176793	Doador	*32:01	*31:01	*44:05	*39:13	*02:02	*07:02P	*11:01P	*08:07	*03:01	*04:02	*04:02	*27:01
21286338	Paciente	*31:01	*24:02	*39:01P	*15:01:01G	*03:03:01G	*12:03	*11:01	*13:01	*03:01	*06:03	*04:02	*10:01
DMR 198082	Doador	*31:01	*24:02	*39:01P	*15:01	*03:03:01G	*12:03	*11:01	*13:01	*03:01	*06:03	*03:01P	*19:01P
22298003	Paciente	*23:01P	*30:02	*44:03	*18:01:01G	*04:01P	*05:01	*03:01	*07:01	*02:01	*02:02	*02:02	*04:01P
DEDKM-3769481	Doador	*23:01P	*30:02	*44:03	*18:01:01G	*04:01P	*05:01	*03:01	*07:01	*02:01	*02:02	*02:02	*04:01P
22734431	Paciente	*02:01P	*32:01	*51:01	*49:01	*07:01P	*16:02	*04:05	*15:01	*03:02	*06:02	*17:01	*23:01
DMR 2562784	Doador	*02:01P	*32:01	*51:01	*49:01	*07:01P	*16:02	*04:05	*15:01	*03:02	*06:02	*06:01	*02:01P
21774324	Paciente	*24:02	*68:01:02G	*45:01	*39:05	*07:02:01G	*16:01	*04:04	*10:01	*05:01	*03:02	*04:01	*04:02
1232672	Doador	*24:02	*68:01	*45:01	*39:05	*07:02:01G	*16:01	*04:04	*10:01	*05:01	*03:02	*02:01P	*03:01P
20506520	Paciente	*01:01	*02:01P	*07:02:01G	*58:01	*07:01P	*07:02P	*07:01	*13:01:01	*02:02	*06:03:01	*14:01	*17:01
DEFFM 95206	Doador	*01:01	*02:01	*07:02	*58:01	*07:01	*07:02	*07:01	*13:01	*02:02	*06:03	*17:01	*04:01
21314315	Paciente	*23:01P	*02:11	*44:03	*48:02	*04:01P	*16:01	*07:01	*09:01	*02:02	*03:03	*14:01	*16:01
DMR 1.598.066	Doador	*23:01P	*02:11	*44:03	*48:02	*04:01P	*16:01	*07:01	*09:01	*02:02	*03:03	*04:01	*14:01
16201286	Paciente	*02:01P	*11:01	*35:01	*35:03	*04:01:01G	*12:03P	*11:01	*12:01	*03:01	*03:01	*04:02P	*04:02P
CRIR DVS 14605	Doador	*02:01P	*11:01	*35:01P	*35:03	*04:01:01G	*12:03P	*11:01	*12:01	*03:01	*03:01	*02:01P	*04:02
14928367	Paciente	*23:01P	*29:02	*44:03	*45:01	*06:02P	*16:01	*07:01	*12:01	*02:02	*05:01	*02:01	*04:01
NMDP 0204-1675	Doador	*23:01P	*29:02	*44:03	*45:01	*06:02P	*16:01	*07:01	*12:01	*02:02	*05:01	*02:01	*11:01
22295616	Paciente	*02:11	*03:01	*48:02	*51:01	*04:01P	*05:01	*09:01	*15:01	*03:03	*06:02	*04:01	*14:01
DMR 1522718	Doador	*02:11	*03:01	*48:02	*51:01	*04:01P	*05:01	*09:01	*15:01	*03:03	*06:02	*04:01	*14:01
22151886	Paciente	*32:01	*68:01	*14:02	*40:04	*03:04	*08:02	*01:02	*04:11	*03:02	*05:01	*04:01P	*04:02P
DMR 398484	Doador	*32:01	*68:01	*14:02	*40:04	*03:04	*08:02	*01:02	*04:11	*03:02	*05:01	*14:01	*17:01

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
23145103	Paciente	*24:02	*68:02	*07:02	*45:01	*15:05	*16:01	*10:01	*15:03	*05:01	*06:02	*02:01P	*17:01
DMR 2299907	Doador	*24:02:01G	*68:02:01G	*07:02	*45:01	*15:05	*16:01	*10:01	*15:03	*05:01	*06:02	*01:01	*17:01
22365142	Paciente	*02:01P	*23:01P	*51:01	*41:01	*02:02	*17:01P	*01:02	*07:01	*02:02	*05:01	*03:01P	*17:01P
DMR 1383616	Doador	*02:01	*23:01	*41:01	*51:01	*02:02	*17:01	*01:02	*07:01	*02:02	*05:01	*04:01	*17:01
18027453	Paciente	*02:01P	*23:01P	*49:01	*51:01P	*07:01P	*14:02	*01:01	*08:01	*05:04	*04:02	*03:01P	*04:01
NMDP 0054-7389-7	Doador	*02:01P	*23:01P	*49:01	*51:01P	*07:01P	*14:02	*01:01	*08:01	*05:04	*04:02	*04:01	*13:01P
23164345	Paciente	*03:01	*02:01P	*13:02	*44:02:01G	*06:02P	*05:01	*07:01	*11:03	*02:02	*03:01	*17:01P	*04:02P
NMDP 529434574	Doador	*02:01P	*03:01	*13:02	*44:02	*06:02	*05:01	*07:01	*11:03	*02:02	*03:01	*04:02	*17:01
22344382	Paciente	*31:01	*30:02	*39:03	*42:02	*07:02P	*17:01P	*08:02	*12:01P	*04:02	*05:01	*01:01	*14:01
DMR 608.724	Doador	*31:01:02	*30:01:01	*39:03	*42:02	*07:02P	*17:01P	*08:02P	*12:01P	*04:02:01	*05:01P	*01:01	*04:02
14824758	Paciente	*02:01	*02:05	*50:01	-	*06:02	-	*07:01	-	*02:02	-	*14:01	*14:01
NMDP 0319-9386-8	Doador	*02:01	*02:05	*50:01	-	*06:02	-	*07:01	-	*02:02	-	*03:01P	*04:01
14861777	Paciente	*01:01	*02:01P	*18:01:01G	*37:01	*06:02P	*07:01P	*07:01	*11:04	*03:01	*03:02	*02:01	*02:01
CRIR SG 17.278	Doador	*01:01	*02:01P	*18:01:01G	*37:01	*06:02P	*07:01P	*07:01	*11:04	*03:01	*03:02	*04:01	*13:01P
21703745	Paciente	*30:01	*32:01	*13:02	*38:01	*06:02	*12:03	*07:01	*14:01:01G	*02:02	*05:03	*02:01	*04:01
GB1073271	Doador	*30:01	*32:01	*13:02	*38:01	*06:02	*12:03	*07:01	*14:01:01G	*02:02	*05:03	*04:01	*13:01P
19008584	Paciente	*03:01	*30:01	*15:01	*13:02	*03:03:01G	*06:02	*07:01	*13:01	*02:02	*06:03	*02:01P	*19:01
DMR 534264	Doador	*03:01	*30:01	*15:01	*13:02	*03:03:01G	*06:02	*07:01	*13:01	*02:02	*06:03	*03:01P	*14:01
13201315	Paciente	*02:01P	*03:01	*27:05P	*58:02	*02:02	*06:02P	*11:02	*13:01P	*03:01	*06:03	*02:01	*105:01
DMR 3253933	Doador	*02:01P	*03:01	*27:05P	*58:02	*02:02	*06:02P	*11:02	*13:01P	*03:01	*06:03	*29:01	*04:02P
22352644	Paciente	*01:01	*66:01	*08:01	*41:02	*07:01P	*17:01P	*03:01	-	*02:01	-	*01:01	*14:01
DMR 740003	Doador	*01:01	*66:01	*08:01	*41:02	*07:01P	*17:01P	*03:01	-	*02:01	-	*02:01P	*04:01
22747630	Paciente	*02:01P	*31:01:02	*13:02:01	*39:05:01	*06:02P	*07:02P	*04:07:03	*07:01P	*02:02	*03:02:01	*05:01	*17:01
NMDP - 0980-8945-1	Doador	*02:01P	*31:01	*13:02	*39:05	*06:02	*07:02	*07:01	*04:07P	*02:02	*03:02	*04:02	-
22599429	Paciente	*33:01	*24:02	*14:01	*14:02	*08:02	-	*01:02	*07:01	*02:02	*05:01	*104:01	*01:01
DMR 256979	Doador	*33:01:01	*24:02P	*14:01:01	*14:02:01	*08:02:01	-	*01:02:01	*07:01P	*02:02	*05:01P	*04:01	*09:01
20430559	Paciente	*01:01:01G	*69:01	*08:01:01G	*55:01	*01:02	*07:01P	*03:01	*14:01P	*02:01	*05:03	*04:01	-
NMDP 0510-3336-3	Doador	*01:01:01G	*69:01	*08:01:01G	*55:01	*01:02	*07:01P	*03:01	*14:01P	*02:01	*05:03	*04:01	-
18878224	Paciente	*25:01	*01:01	*18:01:01G	*37:01	*06:02P	*12:03P	*15:01	*13:01	*06:02	*06:03	*02:01	*02:01
CRIR AN-1293795 CAI-11770	Doador	*25:01	*01:01	*18:01:01G	*37:01	*06:02P	*12:03P	*15:01	*13:01	*06:02	*06:03	*04:01P	-
22726773	Paciente	*02:01P	*68:02P	*44:02:01G	*14:02	*05:01	*08:02	*04:01	*01:02	*03:01	*05:01	*04:01P	*04:02P
DMR 1488.071	Doador	*02:01P	*68:02P	*44:02:01G	*14:02	*05:01	*08:02	*04:01	*01:02	*03:01	*05:01	*13:01P	*17:01P
22788353	Paciente	*02:02	*03:01	*15:03P	*50:01	*02:10	*06:02P	*15:03	*03:01	*06:02	*02:01	*02:01	*04:01
DMR 764040	Doador	*02:02	*03:01:01	*15:03:01G	*50:01:01	*02:10	*06:02:01:01	*15:03:01:01	*03:01:01:01	*02:01:01	*06:02:01	*131:01	*04:01
22460501	Paciente	*24:02	*23:01P	*07:02P	*44:03	*04:01P	*07:02P	*07:01	*08:01	*02:02	*04:02	*04:01	*17:01
NMDP 1145-7505-3	Doador	*23:01	*24:02	*07:02:01G	*44:03	*07:02	*04:01	*07:01	*08:01	*02:02	*04:02	*04:01	-
17809423	Paciente	*33:01	*68:01	*14:02	*35:03	*04:01:01G	*08:02	*13:01	*08:01	*04:02	*06:03	*04:01	*10:01
NMDP 0192-8317-5	Doador	*33:01	*68:01	*14:02	*35:03	*04:01:01G	*08:02	*13:01	*08:01	*04:02	*06:03	*04:01	*19:01
21210021	Paciente	*02:02	*30:01	*53:01	*42:01	*04:01:01G	*17:01:01G	*03:01	*03:02	*02:01	*04:02	*01:01	*02:01
DMR 186375	Doador	*02:02	*30:01	*42:01	*53:01	*04:01:01G	*17:01P	*03:01	*03:02	*02:01	*04:02	*01:01	-

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
21739928	Paciente	*29:02	*01:01	*44:03	*52:01	*12:02	*16:01	*07:01	*15:02	*02:02	*06:01	*02:01P	*03:01P
DMR 330136	Doador	*29:02	*01:01:01G	*44:03	*52:01	*12:02	*16:01	*07:01	*15:02	*02:02	*06:01	*02:01	*11:01
21545821	Paciente	*02:01P	*31:01	*35:05	*52:01	*04:01:01G	*15:02	*04:04	*16:02	*03:01	*03:02	*03:01P	*04:02
DMR 887977	Doador	*02:01P	*31:01	*35:05	*52:01	*04:01:01G	*15:02	*04:04	*16:02	*03:01	*03:02	*04:02P	*05:01
22964283	Paciente	*01:01	*02:01P	*08:01	*44:05	*02:02	*07:01P	*03:01	*16:01	*02:01	*05:02	*01:01	*04:02
DMR 1554281	Doador	*01:01	*02:01P	*08:01	*44:05	*02:02	*07:01P	*03:01	*16:01	*02:01	*05:02	*01:01	*04:02
22684477	Paciente	*30:01	*30:02	*45:01	*42:01	*16:01	*17:01P	*04:05	*07:01	*02:02	*03:02	*01:01	*105:01
DMR 3477680	Doador	*30:01	*30:02	*42:01	*45:01	*16:01	*17:01P	*04:05	*07:01	*02:02	*03:02	*02:01P	*04:02P
21488968	Paciente	*11:01	*03:01:01G	*35:01:01G	*27:05:02G	*01:02	*04:01P	*01:01	*08:01	*04:02	*05:01	*03:01P	*04:01
DMR 968768	Doador	*11:01	*03:01:01G	*35:01:01G	*27:05:02G	*01:02	*04:01P	*01:01	*08:01	*04:02	*05:01	*04:01P	*04:02P
22588427	Paciente	*01:01:01:01	*30:02:01	*08:01P	*07:05P	*07:01P	*07:02P	*03:01P	*01:02P	*02:01:01	*05:01P	*04:01	*13:01P
DMR 2022453	Doador	*01:01:01:01	*30:02:01	*08:01P	*07:05P	*07:01P	*07:02P	*03:01P	*01:02P	*02:01:01	*05:01P	*04:01	*13:01P
22088696	Paciente	*03:01	*25:01	*14:02	*18:01:01G	*08:02	*12:03	*01:01	*07:01	*02:02	*05:01	*04:01	*14:01
NMDP 0424-3808-5	Doador	*03:01	*25:01	*14:02	*18:01:01G	*08:02	*12:03P	*01:01	*07:01	*05:01	*02:02	*03:01P	*04:01
21063266	Paciente	*26:01	*31:01	*49:01	*37:01	*06:02	*07:01P	*10:01	*13:02	*05:01	*06:04	*04:02	*10:01
DMR 2518020	Doador	*26:01	*31:01	*37:01	*49:01	*06:02	*07:01P	*10:01	*13:02	*05:01	*06:04	*02:01P	*04:01
22036068	Paciente	*02:01P	*03:01	*51:01	*57:01	*14:02	*06:02	*08:01	*07:01	*04:02	*03:03	*03:01P	*04:01P
NMDP 1017-0867-5	Doador	*02:01P	*03:01	*51:01	*57:01	*14:02	*06:02	*08:01	*07:01	*04:02	*03:03	*04:01P	*04:02P
22645277	Paciente	*01:01:01:01	*25:01:01	*55:01:01	*18:01:01G	*03:04P	*12:03P	*13:01P	*04:01:01	*03:02P	*06:03P	*04:01	*104:01
NMDP 109703116	Doador	*01:01	*25:01	*18:01	*55:01	*12:03	*03:03	*04:01	*13:01	*03:02	*06:03	*02:01	*03:01P
18467658	Paciente	*24:02	*24:02	*15:01:01G	*18:01:01G	*03:03:01G	*05:01	*04:04	*03:01	*02:01	*03:02	*02:01P	*04:01P
NMDP 162177778	Doador	*24:02	-	*15:01	*18:01	*03:03	*05:01	*03:01	*04:04	*02:01	*03:02	*04:01	*06:01
23041588	Paciente	*29:02	*02:01P	*44:02:01G	*44:03	*05:01	*16:01	*04:01	*07:01	*02:02	*03:01	*01:01	*04:01
NMDP 1463-1761-5	Doador	*02:01P	*29:02	*44:02	*44:03	*05:01	*16:01	*04:01	*07:01	*03:01	*02:02	*04:01	*11:01
21901490	Paciente	*23:01:01	*33:01:01	*15:03P	*14:02:01	*02:10	*08:02:01	*01:02:01	*15:03P	*05:01:01	*06:02:01	*02:01	*04:01
DMR 1620294	Doador	*23:01P	*33:01:01	*15:03P	*14:02:01	*02:10	*08:02:01	*01:02:01	*15:03P	*05:01P	*06:02:01	*01:01	*13:01P
21994189	Paciente	*24:02	*23:01P	*50:01	*52:01	*06:02P	*15:02	*04:04	*07:01P	*02:02	*03:02	*05:01P	*04:01
DMR 256661	Doador	*24:02	*23:01P	*50:01	*52:01	*06:02P	*15:02	*04:04	*07:01P	*02:02	*03:02	*03:01P	*04:01
22054619	Paciente	*02:11	-	*48:02	-	*04:01	-	*09:01	-	*03:03	-	*04:02	-
DMR 126807	Doador	*02:11	-	*48:02	-	*04:01	-	*09:01	-	*03:03	-	*04:02	*14:01
23003180	Paciente	*02:01P	*01:01	*40:01	*14:02	*03:04	*08:02	*01:02	*13:02	*05:01	*06:04	*02:01P	*03:01P
DMR 2296958	Doador	*02:01P	*01:01	*40:01	*14:02	*03:04	*08:02	*01:02	*13:02	*05:01	*06:04	*03:01P	-
22356542	Paciente	*02:01P	*11:01	*15:01:01G	*51:01	*03:03:01G	*15:02	*01:01	*13:01	*05:01	*06:03	*03:01P	*20:01
NMDP 0691-9999-0	Doador	*02:01P	*11:01	*15:01	*51:01	*03:03:01G	*15:02P	*01:01	*13:01	*05:01	*06:03	*04:02	*19:01
22627597	Paciente	*02:01P	*02:01P	*44:02:01G	*44:02:01G	*05:01P	-	*13:01P	*15:02:01	*06:01:01	*06:03:01	*04:02	*05:01P
DMR 1336478	Doador	*02:01P	-	*44:02:01G	-	*05:01P	-	*13:01P	*15:02:01	*06:01:01	*06:03:01	*04:01	*20:01
22371061	Paciente	*01:01	*01:01	*08:01	*15:17	*07:01P	-	*07:01	*13:02	*02:02	*06:04	*04:01	*13:01P
DMR 685794	Doador	*01:01	*01:01	*08:01	*15:17	*07:01	*07:01	*07:01	*13:02	*02:02	*06:04	*04:01	*13:01P
22972804	Paciente	*02:01P	*29:02	*38:01	*44:03	*12:03	*16:01	*15:01	*13:01P	*06:02	*06:03	*02:01P	*04:01
DMR 1768448	Doador	*02:01P	*29:02	*38:01	*44:03	*12:03	*16:01	*15:01	*13:01P	*06:02	*06:03	*02:01P	*04:01

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
15327391	Paciente	*03:01P	*02:01P	*07:02P	*40:01P	*07:02P	*03:04P	*13:02:01	*15:01P	*06:02:01	*06:04:01	*03:01	*04:01
DMR 352704	Doador	*03:01P	*02:01P	*07:02P	*40:01P	*07:02P	*03:04P	*13:02:01	*15:01P	*06:02:01	*06:04:01	*02:01P	*11:01
18540606	Paciente	*03:01	*25:01	*14:02	*18:01:01G	*08:02	*12:03P	*13:02	*15:01	*06:02	*06:09	*04:01	*05:01
NMPD 0055-8090-7	Doador	*03:01	*25:01	*14:02	*18:01:01G	*08:02P	*12:03P	*13:02	*15:01	*06:02	*06:09	*04:01	-
14906703	Paciente	*01:01	*68:01	*57:01	*35:05	*04:01:01G	*06:02	*04:11	*07:01	*03:02	*03:03	*03:01P	*04:01
DMR 229646	Doador	*01:01:01G	*68:01:02G	*57:01	*35:05	*04:01:01G	*06:02	*04:11	*07:01	*03:02	*03:03	*04:01P	*04:02P
HNSG11262	Paciente	*02:01P	-	*39:24	*08:01	*07:01P	-	*13:03	*03:01	*02:01	*03:01	*02:01P	*04:02P
1154-8803-3	Doador	*02:01P	-	*39:24	*08:01	*07:01	-	*03:01	*13:03	*02:01	*03:01	*01:01	*13:01P
HNSG12250	Paciente	*01:01:01:01	*24:02	*13:02:01	*14:02:01	*02:02:02	*06:02P	*01:01:01	*01:02:01	*05:01	-	*02:01P	*10:01
DMR 920.576	Doador	*01:01P	*24:02P	*13:02:01	*14:02:01	*02:02:02	*06:02P	*01:01	*01:02	*05:01P	-	*03:01P	*04:01
HNSG10458	Paciente	*26:01	*02:01	*07:02P	*18:01:01G	*07:01P	*07:02P	*13:02	*14:01P	*06:04	*05:03	*02:01P	*04:01
DMR 1591042	Doador	*02:01	*26:01	*07:02P	*18:01	*07:01P	*07:02P	*13:02	*14:01P	*05:03	*06:04	*04:01P	-
HNSG12072	Paciente	*02:01P	*31:01	*07:02P	*48:02	*04:01P	*07:02P	*04:11	*15:01	*03:02	*06:02	*04:02	*09:01
DMR 1.639.566	Doador	*02:01P	*31:01	*07:02:01G	*48:02	*04:01P	*07:02P	*04:11	*15:01P	*03:02	*06:02	*14:01	*04:01P
HNSG11953	Paciente	*23:01P	*29:02	*14:02	*49:01	*07:01P	*08:02	*01:02	*07:01	*02:02	*05:01	*04:01P	-
DMR 1.640.179	Doador	*23:01:01	*29:02P	*14:02:01	*49:01:01	*07:01P	*08:02:01	*01:02:01	*07:01P	*02:02	*05:01P	*05:01P	*10:01
HNSG12615	Paciente	*11:01	*23:01P	*07:02P	*49:01	*07:01P	*07:02P	*10:01	*15:01	*05:01	*06:02	*04:01	-
DEDKM 6144728	Doador	*11:01	*23:01P	*07:02P	*49:01	*07:01P	*07:02P	*10:01	*15:01	*05:01	*06:02	*02:01P	*04:01P
HNSG759	Paciente	*24:03	*02:01P	*38:01	*13:02	*06:02	*12:03	*13:02	*07:01	*02:02	*06:04	*04:01	*17:01
0445-3554-0	Doador	*02:01P	*24:03	*13:02	*38:01	*06:02	*12:03	*07:01	*13:02	*02:02	*06:04	*04:01	*17:01
HNSG10424	Paciente	*02:01P	*23:01	*07:02P	*45:01	*06:02	*07:02P	*07:01	*15:01	*02:02	*06:02	*03:01P	*04:01
0564-1068-1	Doador	*02:01P	*23:01	*07:02	*45:01	*07:02	*06:02	*07:01	*15:01	*02:02	*06:02	*04:01P	*17:01P
6772777	Paciente	*02:01	-	*39:01P	*44:02:01G	*07:04P	*12:03P	*01:01	*11:01	*03:01:01G	*05:01	*02:01	*05:01
B300113259695	Doador	*02:01	-	*39:01P	*44:02:01G	*07:04P	*12:03	*01:01	*11:01	*03:01	*05:01	*04:01P	-
11401001	Paciente	*01:01:01G	*01:01:01G	*57:01	*58:01	*06:02P	*07:01P	*07:01	*13:05	*02:02	*03:01	*04:01	*04:02
B300114266889	Doador	*01:01	*01:01	*57:01	*58:01	*06:02	*07:18	*07:01	*13:05	*02:02	*03:01	*04:01	-
5448314	Paciente	*11:01	*23:01	*27:05	*49:01	*01:02	*07:01	*01:01	*08:03	*03:01	*05:01	*04:01	-
DMR 815.123	Doador	*11:01	*23:01:01G	*27:05:02G	*49:01	*01:02	*07:01:01G	*01:01	*08:03	*03:01	*05:01	*04:01P	*04:02P
6819171	Paciente	*01:01:01G	*68:01:02G	*08:01	*44:02:01G	*07:01:01G	*07:04:01G	*04:04	*11:01:01G	*03:01	*03:02	*01:01	*04:01P
B300113245022	Doador	*01:01	*68:01	*08:01	*44:02	*07:01	*07:04	*04:04	*11:01	*03:01	*03:02	*04:01P	*20:01
6052330	Paciente	*24:02	*24:02	*13:02	*35:02	*04:01	*06:02	*07:01	*11:04	*02:02	*03:01	*02:01	*17:01
DEDKM 428994	Doador	*24:02	*24:02	*13:02	*35:02	*04:01	*06:02	*07:01	*11:04	*02:02	*03:01	*02:01	*04:01
13655171	Paciente	*03:01:01G	*33:01	*08:01	*14:02	*07:01P	*08:02	*03:01	*07:01	*02:01	*02:02	*02:01	*04:01
DMR875184	Doador	*03:01	*33:01	*08:01	*14:02	*07:01P	*08:02	*03:01	*07:01P	*02:01	*02:02	*02:01	*14:01
13639737	Paciente	*02:05	*03:01:01G	*35:01:01G	*58:01	*04:01:01G	*07:01:01G	*01:01	*11:04	*03:01	*05:01	*04:01	-
B300114272753	Doador	*02:05	*03:01:01G	*35:01:01G	*58:01	*04:01:01G	*07:01:01G	*01:01	*11:04	*03:01	*05:01	*04:01	*104:01
13899045	Paciente	*03:01:01G	*11:01	*07:02:01G	*51:01	*04:01:01G	*07:02P	*11:01P	*15:01	*03:01	*06:02	*02:01	*04:01
B300114275498	Doador	*03:01	*11:01	*07:02	*51:01	*04:01	*07:02	*11:01	*15:01	*03:01	*06:02	*03:01	*04:01
7742693	Paciente	*02:01	*25:01	*51:01	*51:01	*03:03	*14:02	*08:01	*13:01	*04:02	*06:03	*01:01	*02:01
DMR 561408	Doador	*02:01	*25:01	*51:01	*51:01	*03:03	*14:02	*08:01	*13:01	*04:02	*06:03	*02:01	-

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
12925130	Paciente	*02:01P	*31:01	*50:01	*51:01	*06:02P	*12:03	*07:01	*11:04	*02:02	*03:01	*02:01P	*17:01P
DMR 2328071	Doador	*02:01P	*31:01	*50:01	*51:01	*06:02P	*12:03	*07:01	*11:04	*02:02	*03:01	*03:01P	*04:02P
7755118	Paciente	*03:01:01G	*03:01:01G	*07:02:01G	*15:01:01G	*03:04	*07:02P	*01:01	*04:01	*03:02	*05:01	*04:01P	-
DMR3357214	Doador	*03:01:01G	*03:01:01G	*07:02:01G	*15:01:01G	*03:04	*07:02P	*01:01	*04:01	*03:02	*05:01	*04:01P	*04:02P
12987122	Paciente	*03:01	-	*07:02:01G	*45:01	*07:02P	*16:01	*10:01	*15:01	*05:01	*06:02	*04:01	-
DMR1791624	Doador	*03:01:01G	*03:01:01G	*07:02:01G	*45:01	*07:02P	*16:01	*10:01	*15:01	*05:01	*06:02	*03:01P	*17:01
12200430	Paciente	*03:01:01G	*33:01	*14:02	*35:08	*04:01:01G	*08:02	*01:02	*03:01	*05:01	*02:01	*03:01	*11:01
DMR 2264986	Doador	*03:01:01G	*33:01	*14:02	*35:08	*04:01:01G	*08:02	*01:02	*03:01	*02:01	*05:01	*02:01	*04:01
7858833	Paciente	*03:01:01G	*68:01:02G	*07:02P	*39:09	*07:02P	*07:02P	*08:02	*15:01	*04:02	*06:02	*03:01P	*04:02P
DMR 844.340	Doador	*03:01:01G	*68:01:02G	*07:02P	*39:09	*07:02P	*07:02P	*08:02	*15:01	*04:02	*06:02	*04:01P	*04:02P
10939908	Paciente	*02:01P	*24:05	*35:03	*44:02:01G	*04:01:01G	*05:01	*11:01P	*13:01P	*03:01	*06:03	*04:02	*10:01
DMR1762121	Doador	*02:01P	*24:05	*35:03	*44:02:01G	*04:01:01G	*05:01	*11:01P	*13:01P	*03:01	*06:03	*02:01	*19:01
12994157	Paciente	*02:01P	*03:01:01G	*14:02	*40:01	*03:04	*15:05P	*01:01P	*01:02	*05:01	*05:01	*04:01	-
DMR1775397	Doador	*02:01P	*03:01:01G	*14:02	*40:01	*03:04	*15:05P	*01:01P	*01:02	*05:01	*05:01	*04:01P	*13:01P
17296413	Paciente	*03:01	*11:01	*18:01:01G	*35:01P	*04:01:01G	*07:01P	*11:04	*13:01P	*03:01	*06:03	*02:01P	*04:02P
B300115289864	Doador	*03:01	*11:01	*18:01	*35:01	*04:01	*07:01	*11:04	*13:01	*03:01	*06:03	*04:02	*20:01
7591242	Paciente	*26:01	*30:01	*13:02	*38:01	*06:02	*12:03	*07:01	*11:03	*02:02	*03:01	*01:01	*04:02
B300112239095	Doador	*26:01	*30:01	*13:02	*38:01	*06:02	*12:03	*07:01	*11:03	*02:02	*03:01	*02:01P	*04:02P
15900132	Paciente	*31:01	*33:01	*14:02	*51:01	*08:02	*15:02P	*01:02	*04:07P	*03:01	*05:01	*04:01	-
DMR1989172	Doador	*31:01:02	*33:01:01	*14:02:01	*51:01:01	*08:02:01	*15:02:01	*01:02:01	*04:07:01	*03:01:01	*05:01:01	*03:01P	*05:01P
16096945	Paciente	*25:01	*26:01	*18:01:01G	*44:04	*12:03	*16:01	*11:01P	*15:01	*03:01	*06:02	*02:01	*04:02
B300115288487	Doador	*25:01	*26:01	*18:01:01G	*44:04	*12:03	*16:01	*11:01P	*15:01	*03:01	*06:02	*02:01	*04:01
547712	Paciente	*03:01:01G	*11:01	*35:03	*51:01	*04:01:01G	*15:02P	*11:01P	*13:01P	*03:01	*06:03	*02:01	*04:01
DMR 2257850	Doador	*03:01:01G	*11:01	*35:03	*51:01	*04:01:01G	*15:02P	*11:01P	*13:01P	*03:01	*06:03	*02:01	*04:01
533045	Paciente	*02:01P	*23:01P	*35:01P	*44:02P	*04:01P	*05:01	*13:01	*15:03	*06:02	*06:03	*04:01	*105:01
DMR 721033	Doador	*02:01P	*23:01P	*35:01P	*44:02	*04:01P	*05:01	*13:01	*15:03	*06:02	*06:03	*01:01	*02:01
446521	Paciente	*02:01	*29:02	*40:01	*40:04	*03:04	*03:04	*04:11	*13:02	*03:02	*06:04	*03:01P	*04:02P
DMR 832395	Doador	*02:01	*29:02	*40:01	*40:04	*03:04	*03:04	*04:11	*13:02	*03:02	*06:04	*02:01	*27:01
460476	Paciente	*01:01	*03:01	*07:02	*35:02	*04:01	*07:02	*11:04	*15:01	*03:01	*06:02	*02:01	*04:01
DMR 1196822	Doador	*01:01	*03:01	*07:02	*35:02	*04:01	*07:02	*11:04	*15:01	*03:01	*06:02	*04:01	-
405074	Paciente	*24:02	*32:01	*14:01	*15:01	*03:03:01G	*08:02	*07:01	*13:01	*02:02	*06:03	*04:01	*19:01
GCS 01.07.09	Doador	*24:02	*32:01	*14:01	*15:01	*03:03:01G	*08:02	*07:01	*13:01	*02:02	*06:03	*04:01P	-
406709	Paciente	*34:02	-	*08:01	-	*07:01P	-	*03:01	-	*02:01	-	*01:01	-
DMR 605855	Doador	*34:02	*34:02	*08:01	*08:01	*07:01P	-	*03:01	-	*02:01	-	*17:01	*17:01
496539	Paciente	*01:01	*33:01	*14:02	*51:01	*08:02	*15:13	*01:02	*04:02	*03:02	*05:01	*04:01	*13:01P
DMR 657742	Doador	*01:01	*33:01	*14:02	*51:01	*08:02	*15:13	*01:02	*04:02	*03:02	*05:01	*13:01P	*17:01
522978	Paciente	*02:01	*33:01	*14:02	*44:02	*05:01	*08:02	*01:02	*12:01	*03:01	*05:01	*04:01	*131:01
DMR 188217	Doador	*02:01	*33:01	*14:02	*44:02	*05:01	*08:02	*01:02	*12:01	*03:01	*05:01	*01:01	*04:01
540923	Paciente	*11:01	*24:03	*35:08	*51:01	*04:01:01G	*15:02P	*11:01P	*15:01	*03:01	*06:02	*02:01	*04:02
NMDP 1125-4024-0	Doador	*11:01	*24:03	*35:08	*51:01	*04:01	*15:02	*11:01	*15:01	*03:01	*06:02	*01:01	*04:01

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
434040	Paciente	*02:01	*11:01	*07:05	*35:01	*04:01:01G	*15:05P	*01:01	*10:01	*05:01	*05:01	*02:01P	*10:01
DMR 167442 14.09.10	Doador	*02:01	*11:01	*07:05	*35:01	*04:01:01G	*15:05P	*01:01	*10:01	*05:01	*05:01	*03:01P	*04:02
530603	Paciente	*02:01P	*30:02	*18:01:01G	*73:01	*05:01	*15:05P	*03:01	*04:05	*02:01	*02:02	*03:01P	*17:01P
DMR 2114681	Doador	*02:01P	*30:02	*18:01:01G	*73:01	*05:01	*15:05P	*03:01	*04:05	*02:01	*02:02	*03:01	*04:01
517086	Paciente	*01:01:01G	*30:01	*07:05P	*53:01	*04:01:01G	*15:05P	*03:01	*04:05	*02:01	*03:02	*01:01	*104:01
DMR 1864688	Doador	*01:01:01G	*30:01	*07:05P	*53:01	*04:01:01G	*15:05	*03:01	*04:05	*02:01	*03:02	*03:01P	*85:01
529712	Paciente	*02:01:01	*03:01:01	*07:02:01	*44:03:01	*04:01:01	*07:02:01G	*07:01:01	*15:01:01	*02:02:01	*06:02:01	*02:01	-
DMR 3613653	Doador	*02:01P	*03:01:01G	*07:02:01G	*44:03	*04:01	*07:02P	*07:01	*15:01	*02:02	*06:02	*04:01	*17:01
455376	Paciente	*02:01	*68:01	*07:02	*51:01	*07:02	*15:02	*07:01	*13:01	*02:02	*06:03	*04:01	-
DMR 1985003	Doador	*02:01	*68:01	*07:02	*51:01	*07:02	*15:02	*07:01	*13:01	*02:02	*06:03	*04:01	*17:01
465052	Paciente	*02:01	*03:01	*07:02	*38:01	*07:02	*12:03	*10:01	*15:01	*05:01	*06:02	*02:01P	*19:01P
DMR 1163285	Doador	*02:01	*03:01	*07:02	*38:01	*07:02	*12:03	*10:01	*15:01	*05:01	*06:02	*04:01	-
468791	Paciente	*24:02	*26:01	*15:01	*55:01	*03:03	*03:03	*13:01	*15:01	*06:03	*06:03	*04:01	*19:01
CRIR – DE – FFM 153202	Doador	*24:02	*26:01	*15:01:01G	*55:01	*03:03:01G	*03:03:01G	*13:01	*15:01	*06:03	*06:03	*04:01P	*04:02P
428432	Paciente	*24:02	*24:02	*35:03	*39:06	*07:02:01G	*12:03	*04:11	*11:01:01G	*03:01	*03:02	*10:01	*14:01
DMR 1427663	Doador	*24:02P	*24:02P	*35:03	*39:06	*07:02P	*12:03	*04:11	*11:01P	*03:01	*03:02	*10:01	*14:01
518970	Paciente	*01:01:01G	*02:01:01G	*08:01	*44:02:01G	*05:01	*07:01:01G	*03:01	*13:01	*02:01	*06:03	*04:01	*10:01
DMR 149717	Doador	*01:01:01G	*02:01:01G	*08:01	*44:02:01G	*05:01	*07:01P	*03:01	*13:01	*02:01	*06:03	*04:01	*19:01
512591	Paciente	*02:01:01G	*33:01	*14:02	*57:01	*06:02:01G	*08:02	*01:02	*07:01	*03:03	*05:01	*04:01	-
DMR 711135	Doador	*02:01P	*33:01	*14:02	*57:01	*06:02P	*08:02	*01:02	*07:01	*03:03	*05:01	*04:01	-
456360	Paciente	*24:02	*33:01	*14:02	*51:01	*01:02	*08:02	*01:02	*11:01	*03:01	*05:01	*02:01	*05:01P
CRIR – DE – DKM 5226977	Doador	*24:02	*33:01	*14:02	*51:01	*01:02	*08:02	*01:02	*11:01	*03:01	*05:01	*03:01P	*05:01P
498114	Paciente	*31:01	*68:02	*07:02	*40:01	*03:04	*07:02	*04:04	*15:03	*03:02	*06:02	*02:01	*04:01
DMR 855907	Doador	*31:01	*68:02	*07:02:01G	*40:01	*03:04	*07:02:01G	*04:04	*15:03	*03:02	*06:02	*06:01	*105:01
552771	Paciente	*02:01P	*02:01P	*13:02	*35:01	*04:01:01G	*06:02P	*01:01	*07:01	*02:02	*05:01	*04:01	-
NMDP 1409-9659-6	Doador	*02:01	*02:01	*13:02	*35:01	*04:01	*06:02	*01:01	*07:01	*02:02	*05:01	*02:01P	*04:02P
425879	Paciente	*31:01	*33:01	*14:02	*35:04	*04:01:01G	*08:02	*01:02	*08:07	*04:02	*05:01	*04:01P	*04:02P
DMR 544878	Doador	*31:01	*33:01	*14:02	*35:04	*04:01:01G	*08:02	*01:02	*08:07	*04:02	*05:01	*14:01	*05:01P
524346	Paciente	*02:01P	*23:01P	*07:05P	*14:02	*08:02	*15:05P	*01:02	*10:01	*05:01	*05:01	*02:01	*04:01
DMR 3252511	Doador	*02:01P	*23:01P	*07:05P	*14:02	*08:02	*15:05P	*01:02	*10:01	*05:01	*05:01	*02:01	*05:01
406423	Paciente	*02:01P	*26:01	*15:01:01G	*38:01	*03:03:01G	*12:03P	*04:11	*13:01	*03:02	*06:03	*02:01P	*04:02
LFC 24.07.10	Doador	*02:01P	*26:01	*15:01	*38:01	*03:03:01G	*12:03P	*04:11	*13:01	*03:02	*06:03	*02:01P	*04:02
515892	Paciente	*03:01:01G	*68:01:02G	*14:02	*40:04	*03:04	*08:02	*04:11	*13:02	*03:02	*06:09	*05:01	*14:01
DMR 784462	Doador	*03:01	*68:01:02G	*14:02	*40:04	*03:04	*08:02	*04:11	*13:02	*03:02	*06:09	*04:02	*05:01
528512	Paciente	*02:01P	*23:01P	*07:02	*27:07	*07:02P	*15:02P	*11:04	*15:01	*03:01	*06:02	*04:01	-
DMR 225563	Doador	*02:01	*23:01	*07:02	*27:07	*07:02	*15:02	*11:04	*15:01	*03:01	*06:02	*04:01	*13:01P
564477	Paciente	*23:01P	*33:01	*14:02	*45:01	*06:02P	*08:02	*01:02	*03:01	*02:01	*05:01	*01:01	-
DMR 2089575	Doador	*23:01	*33:01	*14:02	*45:01	*06:02	*08:02	*01:02	*03:01	*02:01	*05:01	*13:01	*104:01
522543	Paciente	*02:01P	*29:02	*40:04	*44:03	*03:04	*16:01	*04:11	*08:01	*03:02	*04:02	*04:01	*27:01
DMR 3070030	Doador	*02:01P	*29:02	*40:04	*44:03	*03:04	*16:01	*04:11	*08:01	*03:02	*04:02	*03:01	*04:01

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	PACIENTE / DOADOR	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DRB1	HLA-DQB1	HLA-DQB1	HLA-DPB1	HLA-DPB1
431960	Paciente	*03:02	*26:01	*18:01	*38:01	*12:03P	-	*11:01	*11:04	*03:01	-	*03:01P	*04:01
DMR 69335	Doador	*03:02	*26:01	*18:01	*38:01	*12:03P	-	*11:01	*11:04	*03:01	-	*02:01	-
526358	Paciente	*11:01	*26:01	*35:01	*51:01	*04:01:01G	*15:02:01G	*09:01	*14:54	*03:03	*05:03	*04:01	*04:02
NMDP 1116-5594-0	Doador	*11:01	*26:01	*35:01	*51:01	*04:01	*15:02	*09:01	*14:54	*03:03	*05:03	*03:01	*04:01
444874	Paciente	*01:01	*03:01	*08:01	*50:01	*06:02P	*07:01P	*03:01	*07:01	*02:01	*02:02	*02:01P	*03:01P
DMR 1630065	Doador	*01:01	*03:01	*08:01	*50:01	*06:02P	*07:01P	*03:01	*07:01	*02:01	*02:02	*02:01	*124:01
554272	Paciente	*02:11	*24:02	*48:02	*50:02	*04:01P	*06:02	*04:06	*09:01P	*03:03	*04:02	*14:01	*04:01
DMR 2462734	Doador	*02:11	*24:02	*48:02	*50:02	*04:01:01G	*06:02	*04:06	*09:01	*03:03	*04:02	*14:01	*104:01
561836	Paciente	*02:01P	*68:01	*35:02	*51:01	*04:01:01G	*15:02P	*03:01	*16:01	*02:01	*05:02	*02:01	*04:01
NMDP 1023-4091-6	Doador	*02:01	*68:01	*35:02	*51:01	*04:01	*15:02	*03:01	*16:01	*02:01	*05:02	*03:01	*04:01
491209	Paciente	*02:01P	*24:02P	*08:01	*15:01:01G	*03:03:01G	*07:01P	*03:01	*04:04	*02:01	*03:02	*04:01	*06:01
DMR 3135133	Doador	*02:01P	*24:02P	*08:01	*15:01:01G	*03:03:01G	*07:01P	*03:01	*04:04	*02:01	*03:02	*02:01	*06:01
428431	Paciente	*24:02	*24:02	*08:01	*39:13	*07:01	*07:02	*03:01	*08:07	*02:01	*04:02	*01:01	*04:02
DMR 830285	Doador	*24:02	*24:02	*08:01	*39:13	*07:01	*07:02	*03:01	*08:07	*02:01	*04:02	*04:01	*27:01
493121	Paciente	*03:01	*32:01	*27:05	*35:01	*02:02	*04:01	*01:01	*07:01	*02:02	*05:01	*03:01	*14:01
CRIR-DE-DKM 4269928/ZKRD	Doador	*03:01	*32:01	*27:05	*35:01P	*02:02	*04:01:01G	*01:01	*07:01	*02:02	*05:01	*05:01	-
522208	Paciente	*02:01P	*68:02	*07:02:01G	*51:01	*07:02P	*14:02	*08:01	*15:03	*04:02	*06:02	*04:01	*105:01
DMR 3755436	Doador	*02:01P	*68:02	*07:02	*51:01	*07:02P	*14:02	*08:01	*15:03	*04:02	*06:02	*02:01	*04:01
472785	Paciente	*24:02	*68:02	*14:02	*53:01	*02:02	*04:01	*01:02	*13:01	*05:01	*06:03	*03:01	*10:01
DMR 1313218	Doador	*24:02	*68:02	*14:02	*53:01	*02:02	*04:01	*01:02	*13:01	*05:01	*06:03	*01:01	*04:01
547102	Paciente	*02:01P	*11:01	*08:01	*44:02:01G	*05:01	*07:01P	*03:01	*08:01	*02:01	*04:02	*01:01	*04:01
DMR 1968882	Doador	*02:01P	*11:01	*08:01	*44:02:01G	*05:01	*07:01P	*03:01	*08:01	*02:01	*04:02	*04:01P	-
450764	Paciente	*29:02	*34:02	*08:01	*45:01	*06:02P	*07:01	*03:01	*11:01	*02:01	*03:01	*01:01	*04:01
PLSF 15.02.11	Doador	*29:02	*34:02	*08:01	*45:01	*06:02P	*07:01	*03:01	*11:01	*02:01	*03:01	*04:01	-
525194	Paciente	*02:01P	*02:01P	*15:04	*45:01	*03:03:01G	*16:01	*01:02	*16:02	*03:01	*05:01	*01:01P	*04:02P
DMR 1895519	Doador	*02:01P	*02:01P	*15:04	*45:01	*03:03:01G	*16:01	*01:02	*16:02	*03:01	*05:01	*01:01	*04:02
413866	Paciente	*03:01	*24:02	*18:01:01G	*27:05P	*01:02P	*12:03P	*01:01	*11:04	*03:01	*05:01	*04:01P	*04:02P
DMR 772089	Doador	*03:01	*24:02	*18:01:01G	*27:05P	*01:02:01G	*12:03P	*01:01	*11:04	*03:01	*05:01	*04:01P	*04:02P
513214	Paciente	*03:01:01G	*30:01	*07:02:01G	*13:02	*06:02P	*07:02P	*04:04	*07:01	*02:02	*03:02	*05:01	*17:01
DMR 3231861	Doador	*03:01:01G	*30:01	*07:02:01G	*13:02	*06:02P	*07:02P	*04:04	*07:01	*02:02	*03:02	*04:01	*13:01P
518985	Paciente	*02:01P	*31:01	*14:02	*51:01	*05:01	*08:02	*01:02	*13:02	*05:01	*06:04	*02:01P	*35:01
DMR 3256027	Doador	*02:01P	*31:01	*14:02	*51:01:01G	*05:01	*08:02	*01:02	*13:02	*05:01	*06:04	*02:01P	*35:01
517571	Paciente	*32:01	*74:01P	*15:03P	*40:01	*02:10	*03:04	*01:01	*13:02	*05:01	*06:09	*01:01	*04:01
NMDP 0436-30623	Doador	*32:01	*74:01	*15:03	*40:01	*02:10	*03:04	*01:01	*13:02	*05:01	*06:09	*02:01	*04:01
502311	Paciente	*03:01	*03:01	*07:02	*08:01	*07:01P	*07:02P	*03:01	*07:01	*02:01	*02:02	*04:01	*01:01P
DMR 3761040	Doador	*03:01	*03:01	*07:02	*08:01	*07:01P	*07:02P	*03:01	*07:01	*02:01	*02:02	*04:01	*13:01P
528523	Paciente	*02:01:01G	*03:01	*15:01:01G	*40:01	*03:04	*03:04	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*04:01	*05:01
NMDP 5181-0795-6	Doador	*02:01	*03:01	*15:01	*40:01	*03:04	*03:04	*03:01	*15:01	*02:01	*06:02	*02:01	-

NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO	Nº SNPs C4 INCOMPATÍVEIS ENTRE RECEPTOR/DOADOR	9763*	9796*	9881*	10289*	10309*	10676*	11437*	11483*	12071*	12152*	12568-12837*	12749*	13189*	13193*	14563*	14757*	14831*	14952*	15108*	16954*	17316*	19588*	20170*
533045	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
446521	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
460476	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
405074	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
406709	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
496539	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
522978	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
540923	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1
434040	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
530603	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
517086	2	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
529712	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
455376	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
465052	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
468791	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
428432	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
518970	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
512591	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
456360	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
498114	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
552771	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
425879	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
524346	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
406423	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
515892	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
528512	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
564477	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
522543	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
431960	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
526358	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
444874	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
554272	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
561836	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
491209	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
428431	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
493121	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
522208	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
472785	3	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
547102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
450764	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
525194	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
413866	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
513214	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1
518985	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
517571	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
502311	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
528523	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0

*0 – Compatibilidade para SNP entre paciente e doador não aparentado. 1 – Incompatibilidade para o SNP entre paciente e doador não aparentado.

APÊNDICE 3 – TABELAS DA ANÁLISE UNIVARIADA DE CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS ANALISADAS EM RELAÇÃO À MORTALIDADE, A DECH AGUDA E A CRÔNICA

TABELA 30 – ANÁLISE UNIVARIADA DO IMPACTO DOS DADOS DEMOGRÁFICAS, DIAGNÓSTICO E CARACTERÍSTICAS DO TRANSPLANTE SOBRE A MORTALIDADE

VARIÁVEL	CLASSIFICAÇÃO	N	MORTALIDADE ^a	VALOR DE P ^b	RR	IC 95%
Gênero dos pacientes	Masculino (ref)	141	42 (29,8%)	0,083	1,47	0,95 – 2,27
	Feminino	97	39 (40,2%)			
Estado CMV dos pacientes	Positivo (ref)	179	53 (29,6%)	0,201	1,46	0,82 – 2,58
	Negativo	35	15 (42,9%)			
Diagnóstico	Não malignas (ref)	113	28 (24,8%)	0,009	1,85	1,17 – 2,92
	Malignas	125	53 (42,4%)			
Fonte de células-tronco	Medula óssea (ref)	199	61 (30,7%)	0,005	2,08	1,25 – 3,45
	Sangue periférico	39	20 (51,3%)			
Condicionamento	Intensidade reduzida (ref)	81	19 (23,5%)	0,047	1,70	1,01 – 2,86
	Mieloablativo	145	56 (38,6%)			
	Não mieloablativo	12	6 (50,0%)			
Imunoprofilaxia	CSA + MTX (ref)	208	65 (31,2%)	0,060	1,71	0,98 – 3,01
	Outros	28	15 (53,6%)			
DECH aguda	0 (ref)	147	50 (34,0%)	0,087	0,58	0,31 – 1,08
	I - II	56	12 (21,4%)			
	III - IV	35	19 (54,3%)			
DECH aguda ^c	Não (ref)	147	50 (34,0%)	0,357	1,25	0,78 – 2,03
	Sim	91	31 (34,1%)			
DECH crônica ^c	Sim (ref)	55	10 (18,2%)	0,351	0,71	0,35 – 1,46
	Não	178	70 (39,3%)			
Idade dos pacientes ao transplante (anos)			17,2 / 27,2	<0,001	1,03	1,02 – 1,04
Idade dos doadores (anos)			33,1 / 31,8	0,449	0,99	0,96 – 1,01
Número de células infundidas (x10 ⁸ /kg)			4,9 / 5,2	0,312	1,03	0,97 – 1,09

a. Variáveis categóricas: frequência (porcentagem); variáveis quantitativas: média para não mortalidade / mortalidade;

b. Modelo de regressão de Cox, teste de Wald, p<0,05;

c. Variáveis analisadas como tempo dependente; RR = razão de riscos; IC = intervalo de confiança; CSA = ciclosporina; MTX = metotrexato;

TABELA 31 - ANÁLISE UNIVARIADA DO IMPACTO DOS DADOS DEMOGRÁFICAS, DIAGNÓSTICO E CARACTERÍSTICAS DO TRANSPLANTE SOBRE A DECH AGUDA

VARIÁVEL	CLASSIFICAÇÃO	N	DECH aguda ^a	VALOR DE P ^b	RRS	IC 95%
Gênero dos pacientes	Masculino (ref)	141	52 (36,9%)			
	Feminino	97	39 (40,2%)	0,248	1,29	0,84 – 1,97
Estado CMV dos pacientes	Positivo (ref)	35	11 (31,3%)			
	Negativo	179	74 (41,3%)	0,333	0,72	0,37 – 1,40
Diagnóstico	Não malignas (ref)	113	35 (31,0%)			
	Malignas	125	56 (44,8%)	0,046	1,55	1,01 – 2,38
Fonte de células-tronco	Medula óssea (ref)	199	69 (34,7%)			
	Sangue periférico	39	22 (56,4%)	0,013	1,85	1,14 – 3,00
Condicionamento	Intensidade reduzida (ref)	81	23 (28,4%)			
	Mieloablativo	145	65 (44,8%)	0,013	1,82	1,13 – 2,93
	Não mieloablativo	12	3 (25,0%)	0,801	0,86	0,28 – 2,68
Imunoprofilaxia	CSA + MTX (ref)	208	72 (34,6%)			
	Outros	28	18 (64,3%)	0,002	2,19	1,34 – 3,56
Idade dos pacientes ao transplante (anos)			18,1 / 24,8	0,004	1,02	1,01 – 1,03
Idade dos doadores (anos)			32,7 / 32,5	0,99	0,99	0,97 – 1,02
Número de células infundidas (x10 ⁸ /kg)			4,9 / 5,2	0,123	1,04	0,99 – 1,10

a. Variáveis categóricas: frequência (porcentagem); variáveis quantitativas: média para ausência de DECH aguda / presença da DECH aguda;

b. Modelo de Fine e Gray incluindo mortalidade como risco competitivo, $p < 0,05$; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança; CSA = ciclosporina; MTX = metotrexato;

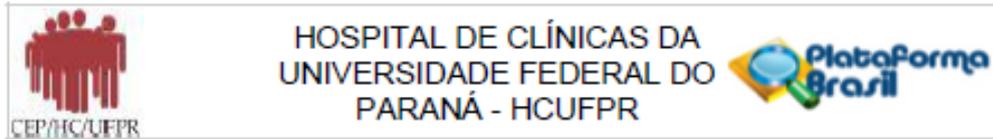
TABELA 32 - ANÁLISE UNIVARIADA DO IMPACTO DOS DADOS DEMOGRÁFICAS, DIAGNÓSTICO E CARACTERÍSTICAS DO TRANSPLANTE SOBRE A DECH CRÔNICA

VARIÁVEL	CLASSIFICAÇÃO	N	DECH crônica ^a	VALOR DE P ^b	RRS	IC 95%
Gênero dos pacientes	Masculino (ref)	137	32 (23,4%)			
	Feminino	96	23 (24,0%)	0,941	1,02	0,60 – 1,73
Estado CMV dos pacientes	Positivo (ref)	175	41 (23,4%)			
	Negativo	34	8 (23,5%)	0,985	0,99	0,47 – 2,11
Diagnóstico	Não malignas (ref)	113	30 (26,5%)			
	Malignas	120	25 (20,8%)	0,182	0,70	0,41 – 1,18
Fonte de células-tronco	Medula óssea (ref)	196	48 (24,5%)			
	Sangue periférico	37	7 (18,9%)	0,521	0,77	0,35 – 1,70
Condicionamento	Intensidade reduzida (ref)	79	21 (26,6%)			
	Mieloablativo	142	30 (21,1%)	0,228	0,71	0,41 – 1,24
	Não mieloablativo	12	4 (33,3%)	0,864	1,10	0,38 – 3,18
Imunoprofilaxia	CSA + MTX (ref)	205	46 (22,4%)			
	Outros	26	8 (30,8%)	0,558	1,23	0,61 – 2,50
Idade dos pacientes ao transplante (anos)			19,5 / 22,4	0,350	1,01	0,99 – 1,02
Idade dos doadores (anos)			32,6 / 33,5	0,6	1,01	0,98 – 1,04
Número de células infundidas (x10 ⁸ /kg)			5,1 / 4,9	0,932	1,00	0,94 – 1,06

a. Variáveis categóricas: frequência (porcentagem); variáveis quantitativas: média para ausência de DECH crônica / presença da DECH crônica;

b. Modelo de Fine e Gray incluindo mortalidade como risco competitivo, p<0,05; RRS = razão de riscos da subdistribuição; IC = intervalo de confiança; CSA = ciclosporina; MTX = metotrexato;

ANEXO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Identificação de Polimorfismos no Bloco Gama do Complexo Principal de Histocompatibilidade e a Influência destas Variantes Alélicas no Transplante de Medula Óssea com Doador Não Consanguíneo.

Pesquisador: Joselito Getz

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 18466113.2.0000.0098

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Patrocinador Principal: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 423.773

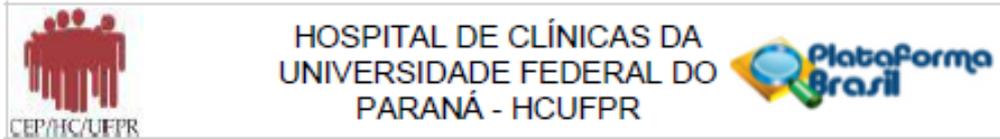
Data da Relatoria: 17/09/2013

Apresentação do Projeto:

Apenas 30% dos pacientes com indicação de transplante de células-tronco hematopoéticas encontram o doador ideal que é um irmão HLA genotipicamente idêntico, e que os demais devem buscar um doador não consanguíneo nos registros ou nos bancos de sangue de cordão umbilical.

A doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) continua sendo uma complicação significativa e com incidência mais elevada nos transplantes alogênicos com doador não consanguíneo se comparada aos transplantes cujo doador é um irmão genotipicamente idêntico. Isto pode ser decorrente de diferenças não detectadas em outras regiões do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH), e dentre elas os polimorfismos do bloco gama localizado na região de classe III deste complexo gênico podem contribuir para a maior ocorrência desta complicação imunológica. O presente estudo propõe identificar polimorfismos dos genes C4A e C4B, localizados no bloco gama, em um grupo de pacientes e seus respectivos doadores e investigar se incompatibilidades nesta região influenciam nos resultados dos transplantes de medula óssea com doador não consanguíneo HLA idêntico. Serão analisadas variantes polimórficas na região dos genes C4A e C4B, ditos de classe III, e que codificam proteínas do sistema complemento. Os genótipos C4 dos pacientes e de seus doadores serão determinados pelo método de PCR-SSP utilizando-se um painel de primers sequência específicos (SSP = Sequence Specific Primers) que

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
Bairro: Alto da Glória **CEP:** 80.060-900
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3360-1041 **Fax:** (41)3360-1041 **E-mail:** cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 423.773

identificam alguns polimorfismos de nucleotídeo único (Single Nucleotide Polymorphisms = SNPs) e uma deleção neste segmento do bloco gama (Candy L et al., 2012). As variantes polimórficas que serão investigadas neste estudo foram identificadas pelo grupo do pesquisador David Sayer (Perth, Austrália). O painel de SSPs também foi desenvolvido pela equipe deste pesquisador. Espera-se que este estudo permita identificar novos fatores genéticos determinantes do aumento de risco de complicações imunológicas após o transplante de células-tronco hematopoéticas.

Hipótese:

Através da tipagem dos genes C4A e C4B investigar se a presença de incompatibilidades nestes genes podem aumentar o risco de complicações imunológicas, como a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH), após o transplante de medula óssea.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar a diversidade genética no bloco gama (genes de classe III) do CPH em pacientes brasileiros e seus doadores de medula óssea (HLA-A, B, C, DR e DQ idênticos) e o impacto da diferença nesta região na evolução clínica pós-transplante de medula óssea.

Objetivo Secundário:

Uma característica marcante do genoma humano é a sua organização em blocos de variantes genéticas localizadas em proximidade física numa determinada extensão de um cromossomo, e que são herdadas como haplótipos (Gabriel S.B. et al., 2001; Reich D.E. et al., 2001). O complexo principal de histocompatibilidade humano (CPH), localizado no cromossomo 6 (banda 6p21.31), é densamente povoado por genes distribuídos ao longo de quatro milhões de pares de bases. Estes genes constituem três blocos principais com várias centenas de kilobases cada e são agrupados em três regiões de acordo com certas características funcionais. A região de classe I alberga o bloco alfa que inclui o gene HLA-A e o bloco beta que inclui os genes HLA-B e HLA-C. A região de classe III ou bloco gama contempla os genes Bf, C2, C4A e C4B responsáveis pelas proteínas do sistema complemento (Ramos S et al., 2004). Na região de classe II estão localizados os genes do bloco delta que codificam as proteínas DR, DQ e DP. A maioria dos genes do CPH mostra variação alélica e os genes HLA são identificados como os mais polimórficos nas populações humanas já investigadas. Os genes do CPH, por estarem ligados, são geralmente transmitidos para a descendência como uma unidade (bloco) ou haplótipo.

Apesar da proximidade dos genes do CPH, a ligação genética não é absoluta, podendo haver permuta genética (crossing over) entre os diferentes genes deste complexo durante a prófase I da

Endereço: Rua Gal. Camello, 181
Bairro: Alto da Glória **CEP:** 80.060-900
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3360-1041 **Fax:** (41)3360-1041 **E-mail:** cep@hc.ufpr.br



HOSPITAL DE CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - HCUFPR



Continuação do Parecer: 423.773

meiose. A probabilidade de permuta genética é, em parte, dependente da distância física entre os locos e pode ocorrer com ou sem recombinação. A permuta com recombinação irá resultar na formação de haplótipos com novas combinações de

alelos. Certos haplótipos do CPH são encontrados com uma frequência significativamente diferente da frequência esperada, a qual corresponde ao produto da frequência gênica dos alelos na população, e isto se deve ao desequilíbrio de ligação (Goldstein DB, 2001). O fenômeno de desequilíbrio de ligação, que é uma característica marcante do CPH, é definido como a diferença entre a frequência observada de uma determinada combinação

de alelos em locos ligados e a frequência esperada, podendo ser positivo ou negativo conforme a frequência observada seja maior ou menor do que a esperada, respectivamente. A migração e a miscigenação de populações com frequências alélicas e haplotípicas distintas, a deriva genética e a seleção natural são fatores que contribuem para a existência do desequilíbrio de ligação. A hipótese de não ter havido tempo evolucionário suficiente

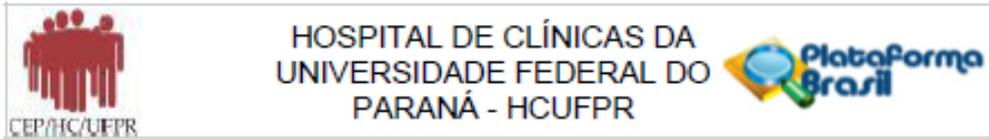
para que um alelo surgido mais recentemente tenha atingido o equilíbrio também deve ser considerada. Vários haplótipos estendidos foram descritos nas populações já estudadas. A preservação de alguns haplótipos levou alguns autores a denominá-los de haplótipos ancestrais. Em transplantes entre irmãos HLA -A, B, C, DR, DQ e DP genotipicamente idênticos, que herdaram os mesmos haplótipos paterno e materno, infere-se a compatibilidade nas demais regiões do cromossomo localizadas entre as extremidades telomérica (HLA-A) e centromérica (HLA-DP) do CPH. Porém, pacientes e doadores voluntários não consanguíneos, mesmo sendo compatíveis para os genes HLA-A, B, C, DRB1 e DQB1

(compatibilidade 10/10), podem apresentar diferentes variantes alélicas em outros genes do CPH. A seleção de doadores para transplante de células-tronco hematopoéticas têm sido baseada na compatibilidade dos genes clássicos de transplantação que estão localizados nas regiões de classes I e II. Enquanto a variabilidade genética existente no bloco gama, localizado entre os blocos delta e beta, ainda não foi suficientemente

investigada e tampouco tem sido incluída na escolha de doadores e deixa uma grande extensão do CPH sem ser avaliada nos transplantes.

Determinadas variantes polimórficas são consideradas funcionalmente relevantes porque levam a desvios de função por meio de diferentes mecanismos. Dentre eles incluem-se as alterações de regulação da transcrição, alterações do splicing alternativo de exons, a substituição de bases que codificam aminoácidos críticos. Os polimorfismos funcionais controlam genes envolvidos na resposta imune, na resposta inflamatória, no metabolismo de drogas e outros genes que podem

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900
UF: PR Município: CURITIBA
Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 423.773

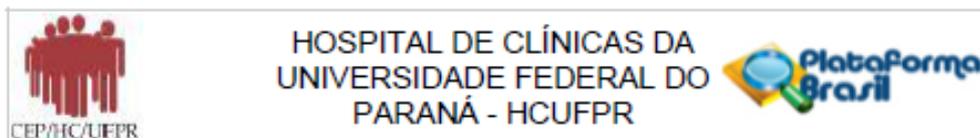
ter impacto nos resultados dos transplantes de células-tronco hematopoéticas. Embora grande parte da variabilidade genética não tenha significado funcional, determinados polimorfismos de único nucleotídeo (Single Nucleotide Polymorphisms = SNPs) e microssatélites podem ser utilizados como marcadores para variantes funcionais devido ao desequilíbrio de ligação que pode abranger extensões de DNA de várias centenas de kilobases do CPH. A investigação da diversidade ainda desconhecida em certas regiões do CPH pode levar à identificação de novos marcadores genéticos que tenham impacto nos resultados dos transplantes, e que possam vir a ser considerados na seleção de doadores não consanguíneos. Estes fatores genéticos podem ser identificados por meio de estudos que associem parâmetros na evolução pós-transplante com polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs), números variáveis de duplicações, microssatélites ou outros marcadores genômicos. Ao longo dos últimos anos foram realizados alguns estudos que analisaram a diversidade genética em regiões do CPH que não os genes HLA propriamente ditos. Alguns resultados indicam que a variabilidade genética dentro do CPH, localizada fora das regiões codificadoras dos genes HLA clássicos (HLA-A, B, C, DRB1, DQA1/DQB1, DPA1/DPB1) pode contribuir para o aumento do risco de complicações após o transplante de medula óssea em transplantes realizados com doadores HLA idênticos ou mesmo com alguma incompatibilidade HLA (WITT C et al., 1999; WITT C et al., 2000; YUNIS EJ et al, 2003 ; LI S et al., 2004; MULLIGHAN C et al., 2004; KITCHAROEN K et al., 2008; MALKKI M et al., 2007; PETERSDORF EW et al., 2007; HARKENSEE C et al., 2012; JÖRIS MM et al., 2012; PETERSDORF EW et al., 2012). Ainda existe muito a ser investigado dentro da vasta extensão do Complexo Principal de Histocompatibilidade humano. O conhecimento do polimorfismo presente em genes não-HLA leva ao desenvolvimento de testes para identificação de suas variantes alélicas, e possibilita a realização de estudos para avaliar o efeito destas incompatibilidades na evolução clínica pós-transplante nos pacientes que recebam medula óssea de doadores não consanguíneos.

Introdução:

Tamanho da Amostra no Brasil: 276

Determinar o genótipo C4 em pacientes e seus respectivos doadores de medula óssea, pelo método de PCR-SSP, utilizando primers específicos para seqüências que incluem SNPs dos genes C4A e C4B; Comparar os genótipos C4A e C4B entre os pacientes e seus doadores para determinar a compatibilidade na região gama; Investigar o impacto destas incompatibilidades na pega do enxerto, na incidência de doença do enxerto contra o hospedeiro, na ocorrência de infecções, recaída da doença, sobrevida global e a sobrevida livre da doença primária após o transplante de

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
 Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900
 UF: PR Município: CURITIBA
 Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 423.773

medula óssea com doador não consanguíneo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Este estudo consistirá da realização de testes *in vitro* no Laboratório de Imunogenética e da coleta de dados clínicos dos pacientes que receberam medula óssea de doadores não consanguíneos. Os dados referentes à evolução pós-transplante serão obtidos do banco de dados do Serviço de Transplante de Medula Óssea (STMO). Com respeito às amostras de DNA isolado de sangue periférico serão utilizadas somente aquelas já armazenadas no laboratório de Imunogenética do HC, e que foram coletadas para realização de exames durante o período em que o paciente estava no processo de busca e identificação de um doador voluntário para a realização do transplante. Portanto, as abordagens deste estudo não expõem os indivíduos envolvidos a qualquer tipo de risco.

Benefícios:

Se os resultados sugerirem que as variantes polimórficas analisadas influenciam a evolução clínica pós-transplante de medula óssea, elas poderão tornar-se marcadores genéticos que auxiliem na determinação de risco de ocorrências após o transplante. Quando houver mais de um doador não consanguíneo HLA idêntico, a avaliação da compatibilidade no bloco gama do par doador/receptor poderá ser incluída nos critérios que levam à escolha de um doador com o intuito de minimizar a incidência de DECH e de outras complicações imunológicas neste tipo de transplante.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está bem desenhado e o tema é relevante. A estrutura do projeto atende aos pré-requisitos exigidos ao tipo de estudo proposto, e a pesquisa pode ser considerada como bem estruturada do ponto de vista teórico metodológico.

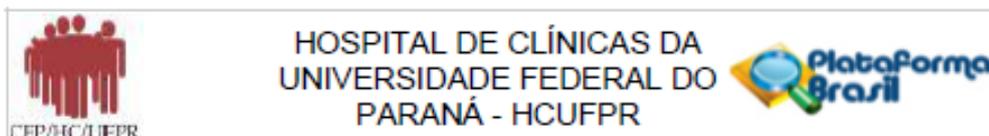
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os Termos foram anexados.

Recomendações:

É obrigatório trazer ao CEP/HC uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado, para assinatura e rubrica. Após, xerocar este TCLE em duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma para o participante da pesquisa.

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
 Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900
 UF: PR Município: CURITIBA
 Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 423.773

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendência atendida adequadamente.

Projeto considerado aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012, manifesta-se pela aprovação do projeto conforme proposto para início da Pesquisa. Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento dos projetos, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa. O pesquisador deve manter os documentos arquivados sob sua responsabilidade, pelo prazo de cinco anos após o término da pesquisa.

CURITIBA, 14 de Outubro de 2013

Assinador por:
Renato Tambara Filho
 (Coordenador)

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181
 Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900
 UF: PR Município: CURITIBA
 Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br