



REVISÃO SISTEMÁTICA: UMA ASSOCIAÇÃO DO SISTEMA HLA À SUA TIPIFICAÇÃO PARA TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

Carolina Fabiana da Silva¹, Susan Webber de Souza² e Camila Nunes de Moraes Ribeiro³

Resumo

O transplante de órgãos e tecidos é considerado forma terapêutica eficaz em tratamentos de muitas doenças. Atualmente no Brasil, o REDOME é um banco de dados que reúne informações genéticas de pessoas cadastradas para doações, sendo redirecionado pelo SUS, o órgão responsável por todas as formas de transplantes, e desta forma ambos são acionados quando há compatibilidade de transplante. O transplante de medula óssea é utilizado no intuito de substituir a medula óssea comprometida do receptor, e por ser um transplante alogênico, envolve a necessidade de que o doador seja genotipicamente idêntico ou o mais semelhante possível ao receptor. O que determina a alogenicidade nos transplantes, e conseqüentemente as rejeições nos mesmos são as moléculas de HLA ou MHC, os genes que codificam estes antígenos estão localizados no cromossomo 6p21.3, e se dividem em classes I, II e III. Sabe-se que os *loci* do sistema HLA são os mais polimórficos no genoma humano, e esta diversidade alélica nos genes tem sido revelada ao longo das últimas três décadas devido aos avanços dos conhecimentos em genética molecular, análises genotípicas e alélicas. A tipificação para o transplante de medula óssea é realizada por PCR, sendo a técnica de Sanger a mais utilizada atualmente no Brasil, embora exista o sequenciamento de nova geração, NGS, que fornece maior quantidade de informações genéticas em apenas um instrumento. Devido ao avanço nas pesquisas e desenvolvimento de novas técnicas atualmente permite-se maior sobrevivência dos indivíduos que passaram por um transplante de medula óssea, uma vez que as moléculas HLA são fundamentais alvos das respostas de rejeição no transplante alogênico.

Palavras-chave: HLA. Histocompatibilidade. Transplante de medula óssea.

Abstract

Transplantation of organs and tissues is considered an effective therapeutic form in treatments of many diseases. Currently in Brazil, REDOME is a database that gathers genetic information of people registered for donations, being redirected by SUS, the body responsible for all forms of transplants, and in this way both are triggered when there is transplant compatibility. Bone marrow transplantation is used to replace the compromised bone marrow of the recipient, and because it is an allogeneic transplant, it involves the need for the donor to be genotypically identical or as similar as possible to the recipient. What determines allogeneicity in transplants, and consequently the rejections in them are HLA or MHC molecules, the genes encoding these antigens are located on chromosome 6p21.3, and are divided into classes I, II and III. It is known that HLA system loci are the most polymorphic in the human genome, and this allelic diversity in genes has been revealed over the last three decades due to advances in molecular genetics, genotypic and allelic analyzes. The classification for bone marrow transplantation is performed by PCR, and the Sanger technique is the most commonly used in Brazil, although there is the new generation sequencing, NGS, which provides the largest amount of genetic information in just one instrument. Due to advances in the research and development of new techniques, it is now possible to increase the survival of individuals who have undergone a bone marrow transplant since HLA molecules are fundamental targets of rejection responses in allogeneic transplantation.

Keywords: HLA. Histocompatibility. Bone marrow transplantation.

1 Acadêmica do Curso de Bacharelado em Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR).

2 Biotecnologista, Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (Curitiba, PR).

3 Biomédica, Doutora em Patologia Experimental e Comparada pela Universidade de São Paulo; Coordenadora do Curso de Biomedicina na Universidade Positivo (Curitiba, PR).



1 Introdução

Atualmente o transplante ou enxerto de órgãos e tecidos é considerado alternativa terapêutica segura e eficaz no tratamento de diversas doenças, o que acarreta em melhoria na qualidade e na perspectiva de vida. Com inovações e aperfeiçoamento de técnicas cirúrgicas, desenvolvimento de imunossuppressores e compreensão imunológica da compatibilidade e rejeição, os transplantes deixaram de ser tratamentos experimentais e se figuram como procedimentos muito eficazes no controle das insuficiências terminais de alguns órgãos e falência de alguns tecidos (ABTO, 2009; ITNS, 2011).

Com estas inovações e com a maior segurança no procedimento, o número de transplantes realizados mundialmente continua crescente. No Brasil, desde 1964, quando foi efetuado o primeiro transplante de rim, já ocorreram até 2012, mais de 75.600 transplantes de órgãos sólidos. Trata-se de um sistema de lista única de espera, que garante a equidade no acesso a esta modalidade de tratamento. De acordo com o Registro Brasileiro de Transplantes, cerca de 30.547 pessoas aguardavam por transplante de órgãos em 2012, sendo que no primeiro semestre foram realizados somente 3.703 transplantes (ABTO, 2012).

Embora o Sistema Nacional de Transplantes direcione esforços para aumentar os índices de cirurgias para transplantes na população brasileira, a desproporção crescente do número de pacientes em lista *versus* o número de transplantes é um fato inquestionável, em que, dentre os fatores limitantes, estão a não notificação de pacientes com diagnóstico de morte encefálica às Centrais de Notificação, Captação e Distribuição de Órgãos, apesar de sua obrigatoriedade prevista em lei, a falta de política de educação continuada aos profissionais da saúde quanto ao processo de doação-transplante e todos os desdobramentos decorrentes do não conhecimento desse processo, além da recusa familiar (ABTO, 2009; MENDES *et al.*, 2012).

Além destas limitações, ainda existe o problema de rejeição ao tecido transplantado pelo receptor, sendo esta ocasionada por complexos protéicos existentes nas células dos tecidos doados. Desta forma, descoberto há mais de 50 anos (BECK; TROWSDALE, 2000), o MHC (*Major Histocompatibility Complex*) humano ou Antígeno Leucocitário Humano (HLA - *Human Leukocyte Antigen*), possuem seus *loci* genéticos envolvidos na rejeição de transplantes, doenças autoimunes e situações clínicas diversas envolvendo o sistema imune (KLEIN; SATO, 2000). Esse sistema ficou conhecido devido à rejeição das moléculas, reconhecidas como antígenos nos tecidos recebidos em transplantes. Entretanto, apesar das rejeições entre indivíduos não totalmente compatíveis, estas estruturas são primordiais no Sistema Imunológico (SI), e estão presentes em todas as células nucleadas, já que seu papel biológico primário está na regulação da Resposta Imune Adaptativa (CHOO, 2007).

Tendo em vista a importância destas moléculas, seu mau funcionamento acarreta em problemas importantes no SI, e quando são expressos adequadamente na superfície celular, podem ocasionar rejeição nos transplantes entre indivíduos geneticamente diferentes (KLEIN;



SATO, 2000^b). Neste contexto, a elucidação da associação entre transplantes e o HLA foi uma das descobertas mais significativas para a prática de transplante, uma vez que ficou essencialmente definido a importância da histocompatibilidade entre doador-receptor (TERASAKI *et al.*, 2014).

Atualmente, há mais de 6 milhões de doadores voluntários de medula óssea cadastrados no registro norte-americano do *National Marrow Donor Program*® (NMDP), (BMTBASICS, 2017) e segundo o relatório anual de (2010) da *World Marrow Donor Association* havia mais de 14,6 milhões de doadores registrados, sendo o Brasil ocupante do terceiro lugar no *ranking* (REDOME, 2017).

Devido à importância do sistema HLA para a terapia de transplante, optamos pela revisão sistemática para selecionar artigos que associassem o sistema HLA à tipificação através das técnicas para histocompatibilidade de transplante de medula óssea, uma vez que a revisão sistemática (RS) é um método de síntese de evidências que avalia criticamente e interpreta todas as pesquisas relevantes disponíveis para uma questão particular, área do conhecimento ou fenômeno de interesse, através da qual também são classificadas tipos de estudos produzidos por uma metodologia confiável, rigorosa e auditável (BRASIL, 2012).

2 Metodologia

Esta pesquisa foi realizada entre os meses de julho e novembro de 2017, sendo estipulado data dos artigos publicados nos bancos de dados que variaram entre os anos 1997 e 2017. As palavras-chaves utilizadas nas bases de dados *Scielo*, *Pubmed* e *Scopus* foram: *Immune response AND HLA OR Human Leukocyte Antigen AND bone marrow transplantation, Histocompatibility AND Bone Marrow Transplantation, typing AND HLA AND bone marrow transplantation*, sendo que todos os artigos selecionados foram armazenados no programa Endnote®.

Para critérios de inclusão foram considerados artigos somente em inglês, contendo informações que associassem o HLA ao transplante de medula óssea e que fizessem correlação da tipificação do HLA para histocompatibilidade.

Como critérios de exclusão foram livros, artigos com data de publicação anterior à 1997, revisões sistemáticas, artigos que associassem o HLA a doenças autoimunes ou qualquer outro tipo de patologia, inclusive pós-transplante, artigos que mencionassem o TMO sem relacionar ao HLA, estudos de casos, estudos *in vitro* ou com animais, estudos com etnias ou populações específicas, com exceção da população brasileira, e artigos envolvendo tratamento ou interações medicamentosas. Os critérios de exclusão selecionados foram utilizados, uma vez que o objetivo principal do trabalho foi relacionar o sistema HLA à tipificação de histocompatibilidade ao transplante de medula óssea. Os artigos que não estavam dentro dos objetivos propostos e os duplicados foram excluídos pelo programa Endnote® e também manualmente.

A pesquisa nas bases de dados revelou 5705 artigos, nos mais diversos idiomas, conforme ilustrado na figura 1. Destes, 1845 artigos encontravam-se duplicados e foram excluídos tanto pelo

programa Endnote® quanto manualmente, além da exclusão de 2896 artigos por não estarem dentro dos objetivos. Foram selecionados 964 artigos para leitura do resumo, dos quais 115 foram lidos na íntegra, sendo 49 artigos utilizados na produção dessa revisão.

Os artigos incluídos neste estudo foram avaliados de acordo com os seguintes aspectos: relacionar a resposta imune do sistema HLA ao transplante de medula óssea alogênico, sem alguma patologia específica relacionada ao transplante ou doenças pós-transplante (doença do enxerto contra o hospedeiro – GVHD), além da tipificação HLA para histocompatibilidade entre doadores e receptores de medula óssea.

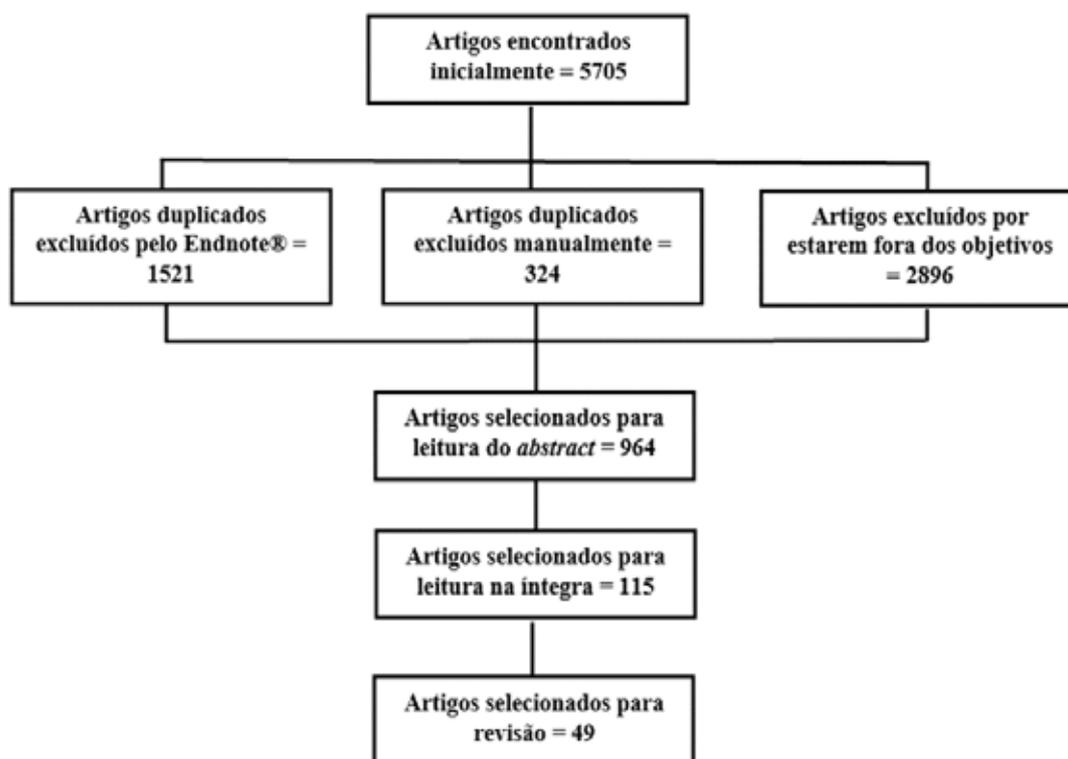


Figura 1: Fluxograma. Diagrama demonstrativo relacionado à busca nos bancos de dados e seleção de estudos incluídos.
 Fonte: o autor, 2017.

3 Discussão

O Brasil possui hoje um dos maiores programas públicos de transplantes de órgãos e tecidos do mundo. Com 548 estabelecimentos de saúde e 1.376 equipes médicas autorizadas a realizar transplantes, o SNT (Sistema Nacional de Transplantes) está presente em 25



estados do país, por meio das Centrais Estaduais de Transplantes. A Política Nacional de Transplantes de Órgãos e Tecidos está fundamentada na legislação (Leis nos 9.434/1997 e 10.211/2001), tendo como diretrizes a gratuidade da doação, a beneficência em relação aos receptores e não maleficência em relação aos doadores vivos. Estabelece, também, garantias e direitos aos pacientes que necessitam desses procedimentos, e regula toda a rede assistencial por meio de autorizações e reautorizações de funcionamento de equipes e instituições. Toda a política de transplante está em sintonia com as Leis nºs 8.080/1990 e 8.142/1990, que regem o funcionamento do Sistema Único de Saúde (SUS) (MARINHO; CARDOSO; ALMEIDA, 2011).

Partindo deste pressuposto, entre 1955 e 2008, mais de 240 mil transplantes de medula óssea foram realizados em todo o mundo em 450 centros de transplante em 47 países, para o tratamento de mais de 50 tipos diferentes de doenças (HOROWITZ, 2008). Até 2010, eram realizados por ano entre 25.000 e 35.000 transplantes autólogos de medula e aproximadamente 15.000 transplantes alogênicos (CHINEN; BUCKLEY, 2010).

No Brasil, o Registro Nacional de Doadores Voluntários de Medula Óssea (REDOME) foi criado em 1993, para reunir informações de doadores voluntários de medula óssea. Atualmente possui mais de 4 milhões de doadores cadastrados, sendo o terceiro maior banco de doadores de medula óssea do mundo, ficando atrás do banco de medula norte-americano, que conta com aproximadamente 7,9 milhões e do alemão que possui cerca de 6,2 milhões de doadores (REDOME, 2017).

Quando não há um doador aparentado para o paciente que necessita de um transplante de medula óssea, o REDOME busca doadores voluntários, não-aparentados. Para selecionar o doador não-aparentado mais compatível com o receptor, é realizada a tipificação HLA dos indivíduos usando as mais diversas técnicas de biologia molecular disponíveis.

3.1 O sistema HLA e o transplante de medula óssea

O Complexo de Histocompatibilidade Principal (*MHC-Major Histocompatibility Complex*) ou Antígeno Leucocitário Humano (*HLA - Human Leukocyte Antigen*), foi descrito, com suas funções, apenas nos últimos 20 anos (BECK; TROWSDALE, 2000). Estes são antígenos de superfície celular e de tecidos capazes de induzir uma resposta imunológica diante de um receptor geneticamente alogênico, podendo resultar em rejeição de órgão ou de tecidos dos portadores desses antígenos (CHINEN; BUCKLEY, 2010).

Os genes HLA estão localizados no braço curto do cromossomo 6, mais especificamente na região 6p21.31, diferenciados em três classes, I, II e III, sendo estas estrutural e funcionalmente diferentes (KLEIN; SATO, 2000^a), conforme ilustra figura 2 (próxima página).

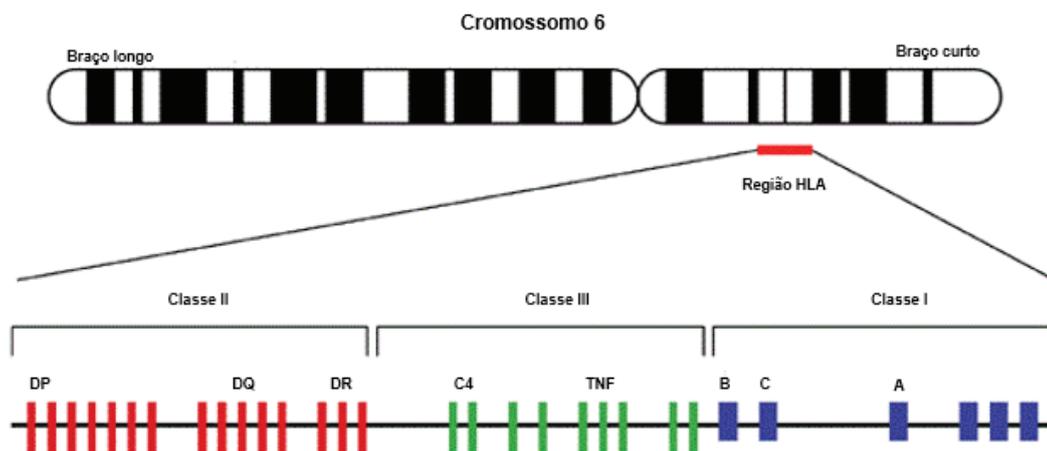


Figura 2: Mapa da região HLA. A região HLA está localizada no cromossomo 6, possui três classes: I, II e III, com função de mediar respostas imunitárias, sendo apresentados os principais *loci* de cada classe.

Fonte: Adaptado de (MEHRA; KAUR, 2003).

Existem pelo menos 17 loci de classe I da região HLA, sendo que apenas a combinação de três desses loci (HLA-A, -B, -C) representam aloantígenos importantes para transplantes. As moléculas HLA-A, -B, -C são altamente polimórficas, sendo o *locus* B, o mais polimórfico entre eles (FORMAN *et al.*, 2016). A classe I consiste em uma cadeia de glicoproteína codificada-HLA e é associada de forma não covalente a uma molécula de b2-microglobulina, codificada no cromossomo 15 e é encontrada em células nucleadas, em sua maioria. Esta se liga a peptídeos derivados de proteínas sintetizadas endogenamente, e apresentam estes peptídeos principalmente para as células T CD8 + (ERLICH; OPELZ; HANSEN, 2001). Essa classe possui ainda uma cadeia pesada com três domínios extracelulares α (α_1 , α_2 e α_3) e um domínio β (β_2 microglobulina) (CHOO, 2007), conforme ilustra figura 3.

Antígenos de HLA de classe II são compostos por moléculas HLA-DR, -DQ e -DP, tendo uma distribuição mais limitada nos tecidos, sendo expressos apenas em linfócitos B, linfócitos T ativados, monócitos, macrófagos, células de Langerhans, células dendríticas, no endotélio e células epiteliais. Cada molécula de HLA de classe II é um heterodímero composto por 2 cadeias α e 2 cadeias β , associados a cerca de aproximadamente 230 aminoácidos (KLEIN; SATO, 2000; MCCULLOUGH, 2016), sendo os loci DR, DQ e DP, os genes que codificam os principais produtos expressos dessa região (MCCULLOUGH, 2016).

A classe III da região HLA, está localizada entre os alelos HLA-B e HLA-DR (FIGURA 3) (KLEIN; SATO, 2000), e compreende cerca de 60 genes com aproximadamente 700kb de DNA, tornando-se a região mais densa do genoma humano (FORMAN *et al.*, 2016) e determina a estrutura de três componentes do sistema do complemento, C2, C4 e o fator B (KLEIN; SATO,



2000). Essa classe está relacionada às funções dos antígenos HLA e possui mecanismos de controle para os genes dessa região (SHANKARKUMAR, 2004). Diferentes da classe III, as classes I e II compartilham propriedades funcionais e estruturais que as classificam dentro da família das imunoglobulinas, embora as sequências e estruturas sejam diferentes entre si, essas duas classes codificam polipeptídios que controlam o reconhecimento de células T, o que determina sua compatibilidade no transplante (FORMAN *et al.*, 2016).

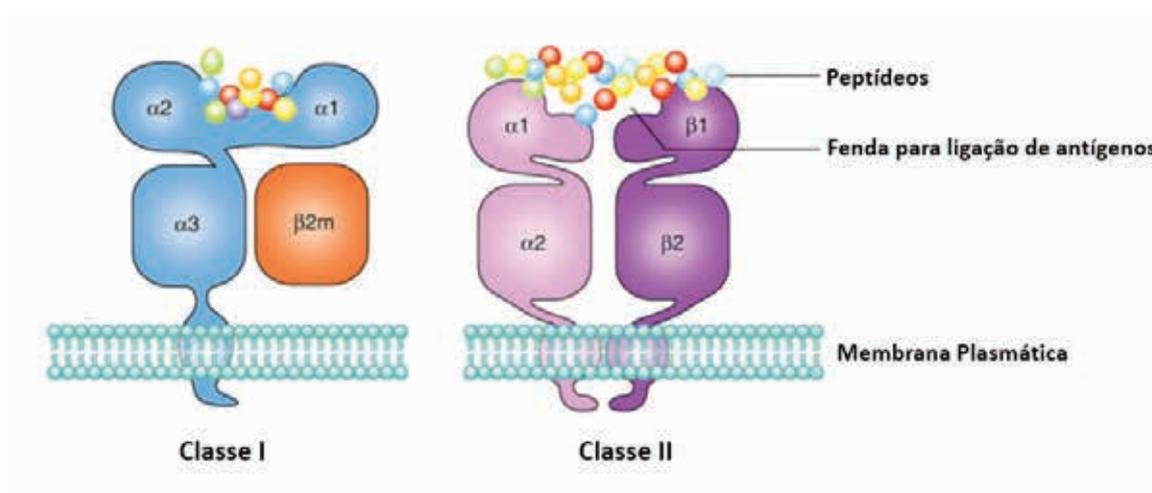


Figura 3: Estrutura das moléculas HLA classes I e II. A molécula classe I é formada por cadeias α ($\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$) e uma cadeia $\beta 2$ -microglobulina. A molécula de classe II é formada por cadeias α ($\alpha 1$ e $\alpha 2$) e β ($\beta 1$ e $\beta 2$); a fenda para ligação de antígenos é formada pelos domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$ nas moléculas de classe I e $\alpha 1$ e $\beta 1$ nas moléculas de classe II. Fonte: adaptado de (BASICMEDICALKEY, 2017).

O transplante de medula óssea tem evoluído ao longo de um período de 50 anos, sendo que as primeiras tentativas para transfundir células entre pacientes apresentaram pouco sucesso (THOMAS, 1999), entretanto somente em 1968, ficou estabelecido o primeiro transplante, de rim, com maior sobrevivência do enxerto entre gêmeos com HLA idêntico (SINGAL; MICKEY; TERASAKI, 1969). Após a definição do sistema HLA possível selecionar doadores consistentes entre indivíduos HLA não-idênticos, demonstrando melhores resultados no transplante de células hematopoiéticas (THOMAS, 1999).

O transplante de células estaminais hematopoiéticas alogênicas é utilizado para tratar malignidades hematológicas, anemias graves, imunodeficiências congênitas graves, e doenças metabólicas hereditárias (THOMAS, 1999). O resultado de transplante de um doador não-aparentado é influenciado pela medula óssea de um receptor HLA correspondente (FLOMENBERG *et al.*, 2004).

Neste contexto, o sistema HLA representa a principal barreira de histocompatibilidade em transplante de células estaminais, e o nível de HLA correspondente é preditivo na evolução clínica do transplante, em que as moléculas HLA-A, HLA-B e HLA-DR são consideradas como os principais antígenos de transplante. As células-tronco hematopoiéticas são melhor suportadas a partir de um



gêmeo idêntico e/ou um irmão com HLA idêntico genotipicamente. Para aqueles que não têm um irmão compatível, um indivíduo com HLA parcialmente idêntico pode ser considerado um doador aceitável, mas nestas condições há uma maior possibilidade de riscos para como GVHD aguda, falência do enxerto, e mortalidade (CHOO, 2007).

O sistema HLA é altamente complexo tanto genética, quanto bioquímica e funcionalmente, sendo que compreendê-lo ainda é um grande desafio. Isto porque embora esse sistema já tenha sido traduzido e aplicado clinicamente (KLEIN; SATO, 2000^b), ainda há lacunas à serem preenchidas, o que instiga os pesquisadores buscarem novas explicações e entender a respeito desse sistema e como ele funciona nas mais adversas situações.

3.2 Histocompatibilidade e transplante de medula óssea

Os antígenos HLA alogênicos podem provocar fortes respostas imunes, quando há enxerto de órgãos ou tecidos (THOMAS, 2000) entre indivíduos não genotipicamente idênticos, sendo estas respostas responsáveis por tornar os antígenos HLA uma grande barreira para o transplante entre os indivíduos (RAJALINGAM, 2016).

A histocompatibilidade entre doador-receptor é um pré-requisito para o sucesso de qualquer transplante, em especial o de medula óssea (BONTADINI, 2012). A rejeição aos transplantes foi associada ao desenvolvimento de anticorpos no receptor, uma vez que os *loci* genéticos envolvidos nesse processo localizam-se na região HLA (MCCULLOUGH, 2016). Os genes desse sistema codificam uma série complexa de moléculas relacionadas à histocompatibilidade, desempenhando um papel central na resposta imune e determinando o sucesso do transplante (THOMAS, 2000).

Segundo Elsner e Blasczyk, até 2002 existiam doadores suficientes para receptores portadores de antígenos HLA comuns, embora seja praticamente impossível de se encontrar um doador HLA compatível para portadores de antígenos raros (ELSNER; BLASCZYK, 2002), uma vez que a probabilidade de se encontrar um doador compatível em três *loci* altamente polimórficos, como A, B e DRB1, é remota, permitindo certas incompatibilidades entre doador-receptor não aparentados (ERLICH; OPELZ; HANSEN, 2001).

Neste contexto, existe um nível de tolerância de incompatibilidade entre doador-receptor, que dependerá do tipo de transplante a ser realizado, assim como a chance de haver portadores de alelos raros, o que dificulta encontrar um doador altamente compatível. Quando não há um irmão genotipicamente idêntico, mas há doadores potenciais ou alternativos com algum tipo de incompatibilidade (ELSNER; BLASCZYK, 2002), existem protocolos a serem seguidos dependendo do nível de alogenicidade, para que não haja rejeição (HOWARD *et al.*, 2015).

Portanto, o principal objetivo da histocompatibilidade é identificar um doador HLA compatível ou adequado geneticamente ao receptor, para reduzir riscos de complicações pós-transplante, resultantes de transplante entre indivíduos HLA incompatíveis (THOMAS, 2000), que podem levar o receptor a óbito.



3.3 Tipificação de HLA para transplante de medula óssea

Historicamente, a tipificação de HLA era usualmente realizada por tipagem sorológica de antígenos HLA, sendo substituída posteriormente por técnicas utilizando DNA, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) desenvolvida por Saiki e colaboradores em 1985, que trouxe um avanço na genotipagem HLA, e assim, estas metodologias que utilizam DNA amplificado têm sido amplamente utilizadas em todo o mundo (TRAJANOSKI; FIDLER, 2012).

O surgimento de tecnologias baseadas em DNA e seus avanços, incluindo sequenciamento baseado na tipificação genética do indivíduo (MEHRA, 1998) revelou através do Projeto Genoma Humano (VENTER *et al.*, 2001) a enorme diversidade genética do DNA humano, inclusive do sistema HLA (MEHRA, 1998).

Ao longo das últimas décadas, as técnicas e metodologias utilizadas na tipagem do HLA apresentaram avanços tecnológicos com melhora na resolução, redução de custos e tempo (TRAJANOSKI; FIDLER, 2012), sendo os polimorfismos dos genes HLA responsáveis por impulsionar o desenvolvimento de novas tecnologias (DUNN, 2011).

Em relação ao TMO (Transplante de Medula Óssea), é exigida a tipificação em nível alélico para avaliar a compatibilidade do HLA de classe I -A, -B e C, e para o de classe II os *loci* DR e DQB1, já que se sabe que certas incompatibilidades estão intimamente ligadas à chamada DECH (doença do enxerto contra o hospedeiro) (BONTADINI, 2012) e a sobrevida entre receptores não aparentados com os doadores está associada a compatibilidade entre indivíduos (HANSEN *et al.*, 1998).

Assim, a tipificação do HLA pode ser realizada usando uma variedade de métodos que podem ser classificados como de alta ou baixa resolução. Neste contexto, as metodologias de alta resolução, como o sequenciamento, são utilizadas para determinar diferenças únicas de aminoácidos entre as moléculas de HLA, que podem não ser identificadas nas técnicas de baixa resolução, sendo obrigatória a tipificação HLA do indivíduo para fins de transplante de medula óssea, através do sequenciamento (HALE, 2006).

Entre doadores-receptores *não-aparentados para tipificação HLA*, os *peptídeos derivados do doador podem ser diferentes do receptor devido a mutações ou polimorfismos nos genes* (KLEIN; SATO, 2000). Essas pequenas diferenças podem ser reconhecidas pelas células T do receptor (SIMPSON; ROOPENIAN, 1997), desencadeando uma cascata imunológica levando à rejeição do enxerto. Portanto, a tipificação HLA para verificar a histocompatibilidade entre doador-receptor, é uma das maiores preocupações dos centros de transplante, levando ao maior investimento em pesquisas para melhoria das técnicas e metodologias, tanto em especificidade quanto sensibilidade dos métodos, para evitar possíveis rejeições, que podem ser fatais para o receptor.

Nos últimos anos várias técnicas essencialmente utilizadas para TMO foram desenvolvidas e modificadas, incluindo a PCR-SSP (PCR-*sequence-specific-primer*), PCR-SSOP (PCR-*sequence-*



specific-oligonucleotide probe), SBT (PCR-sequencing-based-typing) e, mais recentemente, o sequenciamento de nova geração (NGS – *Next Generation Sequencing*) (DUNN, 2011).

A grande vantagem do SBT é a sua precisão (BONTADINI, 2012), além de ser a única técnica que detecta diretamente as sequências nucleotídicas de um alelo (ROZEMULLER; TILANUS, 2000). É uma técnica de abordagem atual, bastante utilizada no Brasil, fundamental no campo dos transplantes, pois alcança maior resolução, inclusive para alelos HLA, sendo a técnica de Sanger, que consiste em quatro reações com *terminator* fluorescentes, onde cada reação termina em múltiplos pontos ao longo da cadeia de DNA, assim as bases nitrogenadas são definidas, através do método de terminação de cadeia que simplificou o sequenciamento do genoma (ZHAO; GRANT, 2011).

O NGS se refere a uma classe de tecnologias de sequenciamento de alto rendimento, pois permite que milhões de moldes de DNA sejam sequenciados em paralelo, gerando assim uma quantidade sem precedentes de informação genética num único instrumento de execução, incluindo dentre os benefícios práticos da NGS uma maior capacidade de sequenciamento, multiplexagem de amostras, maior sensibilidade no diagnóstico, a miniaturização do fluxo de trabalho, além de custos mais baixos (LAN; ZHANG, 2015).

Tipificações baseadas em amostras de DNA apresentam vantagens significativas, pois são mais específicas, possuem reagentes específicos de tipificação como *primers* e sondas baseadas em sequência de nucleotídeos específicos; além da flexibilidade, uma vez que os reagentes são desenvolvidos para novos alelos descritos (ERLICH; OPELZ; HANSEN, 2001; CANO *et al.*, 2007).

O uso de técnicas específicas para a tipificação HLA depende dos requisitos laboratoriais, visto que a escolha será influenciada pela urgência e individualidade clínica do paciente, número de amostras, disponibilidade de equipamentos, profissionais hábeis e orçamento disponível, já que alguns laboratórios utilizam combinação de métodos, dependendo de suas necessidades, de acordo com as aplicações clínicas, podendo ser necessária uma tipagem de alta ou baixa resolução, sendo obrigatória a tipificação de alta resolução para transplante de medula óssea entre indivíduos não aparentados (BONTADINI, 2012).

Conclusão

No Brasil, o SUS é o órgão responsável pelos transplantes de medula óssea, inclusive financeiramente, através do REDOME, um banco de dados que reúne as informações dos doadores voluntários cadastrados através de um sistema que cruza as informações genéticas desses doadores com as dos indivíduos na fila do transplante. Havendo compatibilidade entre doador-receptor ambos são convocados para efetivar possível doação. Não apenas o contato com os doadores voluntários e o aval financeiro são as dificuldades para que ocorra efetivamente o transplante, dentre todos os obstáculos que envolvem o sucesso dos transplantes é a rejeição mediada imunologicamente a tecidos estranhos, uma vez que as estruturas do doador não são



reconhecidas como próprio pelo SI do receptor, havendo intensa resposta imune contra estas, levando à destruição do tecido transplantado.

O sucesso do aloenxerto depende da minimização desta resposta imunológica, que pode ser obtido através da escolha de histocompatibilidade entre o par doador-receptor para o HLA. Esta verificação da histocompatibilidade vem sendo mais precisa, em nível molecular, devido ao desenvolvimento e aprimoramento das técnicas de biologia molecular, como as várias modalidades de sequenciamento, cada vez mais avançadas e sensíveis, permitindo selecionar doadores não aparentados, mas geneticamente histocompatíveis, diminuindo os efeitos de perda do enxerto ou remissão da doença, melhorando a sobrevida do indivíduo transplantado. Com o avanço dessas técnicas, a exigência de profissionais especializados nesse ramo da saúde vem aumentando, e com isso, é cada vez mais necessário que os grandes centros de transplantes e os fabricantes dos produtos de biologia molecular, disponibilizem treinamentos para melhor desempenho dos profissionais engajados nesse promissor setor, uma vez que as técnicas desenvolvidas exigem profissionais especialistas nessa área de conhecimento.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS (ABTO). Dados numéricos da doação de órgãos e transplantes realizados por estado e instituição no período: janeiro a junho de 2012. *Registro Brasileiro de Transplantes*. 2012 Jan-Jun; XVIII (2):1-34, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS (ABTO). Diretrizes Básicas para Captação e Retirada de Múltiplos Órgão e Tecidos da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos / [coordenação executiva Roni de Carvalho Fernandes, Wangles de Vasconcelos Soler ; coordenação geral Walter Antonio Pereira]. -- São Paulo: ABTO - Associação Brasileira de Transplante de Órgãos, 2009.

BASICMEDICALKEY. Histocompatibility and Immunogenetics for Solid Organ Transplantation. Disponível em: <<https://basicmedicalkey.com/histocompatibility-and-immunogenetics-for-solid-organ-transplantation/#CR10>>. Acesso em: 26/07/2017.

BECK, S.; TROWSDALE, J. The human major histocompatibility complex: lessons from the DNA sequence. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. v. 1, p. 117-37. 2000.

BMTBASICS. BMT Donors and Recipients. Disponível em: <<https://bmtbasics.wordpress.com/equity/leveling-the-field/bmt-donors-and-recipients/>>. Acesso em: 29/07/2017.

BONTADINI, A. HLA techniques: typing and antibody detection in the laboratory of immunogenetics. *Methods*. v. 56, n.4, p. 471-6. 2012.

BRASIL. Diretrizes metodológicas : elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados. In: MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, T. E. I. E. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

CANO, P.; MACK, S.; HOLLENBACH, J. A.; HURLEY, C. K.; MIDDLETON, D.; MORAES, M. E.; PEREIRA, S. E.; KEMPENICH, J. H.; REED, E. F.; SETTERHOLM, M.; SMITH, A. G.; TILANUS, M. G.; TORRES, M.; VARNEY, M. D. Common and well-documented HLA alleles: report of the Ad-Hoc committee of the american society for histocompatibility and immunogenetics. *Hum Immunol*. v. 68, n.5, p. 392-417. 2007.

CHINEN, J.; BUCKLEY, R. H. Transplantation immunology: Solid organ and bone marrow. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. v. 125, n.2 SUPPL. 2, p. S324-S335. 2010.

CHOO, S. Y. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Med J*. v. 48, n.1, p. 11-23. 2007.

DUNN, P. P. Human leucocyte antigen typing: techniques and technology, a critical appraisal. *Int J Immunogenet*. v. 38, n.6, p. 463-73. 2011.

ELSNER, H. A.; BLASCZYK, R. Sequence similarity matching: Proposal of a structure-based rating system for bone marrow transplantation. *European Journal of Immunogenetics*. v. 29, n.3, p. 229-236. 2002.

ERLICH, H. A.; OPELZ, G.; HANSEN, J. HLA DNA typing and transplantation. *Immunity*. v. 14, n.4, p. 347-356. 2001.

FLOMENBERG, N.; LOW, L. A. B.; CONTER, D.; VINA, M. F.; FILIPOVIC, A.; HOROWITZ, M.; HURLEY, C.; KOLLMAN, C.; ANASETTI, C.; NOREEN, H.; BEGOVICH, A.; HILDEBRAND, W.; PETERSDORF, E.; SCHMECKPEPER, B.; SETTERHOLM, M.; TRACHTENBERG, E.; WILLIAMS, T.; YUNIS, E.; WEISDORF, D. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood*. v. 104, n.7, p. 1923-30. 2004.

HALE, D. A. Basic transplantation immunology. *Surg Clin North Am*. v. 86, n.5, p. 1103-25, v. 2006.

HANSEN, J. A.; GOOLEY, T. A.; MARTIN, P. J.; APPELBAUM, F.; CHAUNCEY, T. R.; CLIFT, R. A.; PETERSDORF, E. W.; RADICH, J.; SANDERS, J. E.; STORB, R. F.; SILLIVAN, K. M.; ANASETTI, C. Bone marrow transplants from unrelated donors for patients with chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. v. 338, n.14, p. 962-8. 1998.

HOROWITZ, M. The role of registries in facilitating clinical research in BMT: examples from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Bone Marrow Transplant*. v. 42 Suppl 1, p.155-9. 2008.

HOWARD, C. A.; VINA, F. M. A.; APPELBAUM, F. R.; CONFER, D. L.; DEVINE, S. M.; HOROVITZ, M. M.; MENDIZABAL, A.; LAPORT, G. G.; PASQUINI, M. C.; SPELLMAN, S. R. 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). *Biol Blood Marrow Transplant*. v. 21, n.1, p. 4-7. 2015.

KLEIN, J.; SATO, A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med*. v. 343, n.10, p. 702-9. 2000^a.

KLEIN, J.; SATO, A. The HLA system. Second of two parts. *N Engl J Med*. v. 343, n.11, p. 782-6. 2000^b.

LAN, J. H.; ZHANG, Q. Clinical applications of next-generation sequencing in histocompatibility and transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation*. v. 20, n.4, p. 461-467. 2015.

MCCULLOUGH, J. The HLA System in Transfusion Medicine and Transplantation. In. *Transfusion Medicine: John Wiley & Sons*. p.446-473, 2016.

MARINHO, A.; CARDOSO, S. S.; ALMEIDA, V. V. Desigualdade de transplantes de órgãos no Brasil: análise do perfil dos receptores por sexo e raça ou cor. Textos para discussão 1629. IPEA. Governo Federal Secretaria de Assuntos Estratégicos da Presidência da República. Brasília, junho de 2011. Disponível em: <http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/1491/1/td_1629.pdf. > Acesso em: 21/08/2017.

MEHRA, N. The major histocompatibility complex--progress and perspectives. *Immunol Today*. v. 19, n.10, p. 434-5. 1998.

MEHRA, N. K.; KAUR, G. MHC-based vaccination approaches: progress and perspectives. *Expert Rev Mol Med*. v. 5, n.7, p. 1-17. 2003.

PETERSDORF, E. W. The World Marrow Donor Association: 20 years of international collaboration for the



support of unrelated donor and cord blood hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* v. 45, n.5, p. 807-10. 2010.

PETERSDORF, E. W. Histocompatibility. In. *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation: John Wiley & Sons.* p.112-127, 2016.

REDOME. Transplante de Medula Óssea. Disponível em: <<http://redome.inca.gov.br/>>. Acesso em: 29/07/2017.

ROZEMULLER, E. H.; TILANUS, M. G. Bioinformatics: analysis of HLA sequence data. *Rev Immunogenet.* v. 2, n.4, p. 492-517. 2000.

SHANKARKUMAR, U. The Human Leukocyte Antigen (HLA) System. *Int J Hum Genet.* p. 581-9, 2004.

SIMPSON, E.; ROOPENIAN, D. Minor histocompatibility antigens. *Curr Opin Immunol.* v. 9, n.5, p. 655-61. 1997.

SINGAL, D. P.; MICKEY, M. R.; TERASAKI, P. I. Serotyping for homotransplantation. 23. Analysis of kidney transplants from parental versus sibling donors. *Transplantation.* v. 7, n.4, p. 246-58. 1969.

TERASAKI, P. I.; KNECHTLE, S. J.; LARSEN, C. P.; MADSEN, J. C.; PEARSON, T. C.; WEBBWER, S. A. Textbook of organ transplantation: Transplant Antigens: A Brief History of HLA. *Wiley Blackwell*, 2014.

THOMAS, E. D. Bone marrow transplantation: a review. *Semin Hematol.* v. 36, n.4 Suppl 7, p. 95-103. 1999.

THOMAS, E. D. Bone marrow transplantation: a historical review. *Semin Hematol.* v. 3, p. 209-218. 2000.

TRAJANOSKI, D.; FIDLER, S. J. HLA typing using bead-based methods. *Methods Mol Biol.* v. 882, p. 47-65. 2012.

VENTER, J. C.; ADAMS, M. D.; MYERS, E. W.; LI, P. W.; MURAL, R. J.; SUTTON, G. G.; SMITH, H. O.; YANDELL, M.; EVANS, C. A.; HOLT, R. A.; GOCAYNE, J. D.; AMANATIDES, P.; BALLEW, R. M.; HUSON, D. H.; WORTAMN, J.R.; ZHANG. Q.; KODIRA, C. D. The sequence of the human genome. *Science.* v. 291, n.5507, p. 1304-51. 2001.

ZHAO, J.; GRANT, S. F. Advances in whole genome sequencing technology. *Curr Pharm Biotechnol.* v. 12, n.2, p. 293-305. 2011.