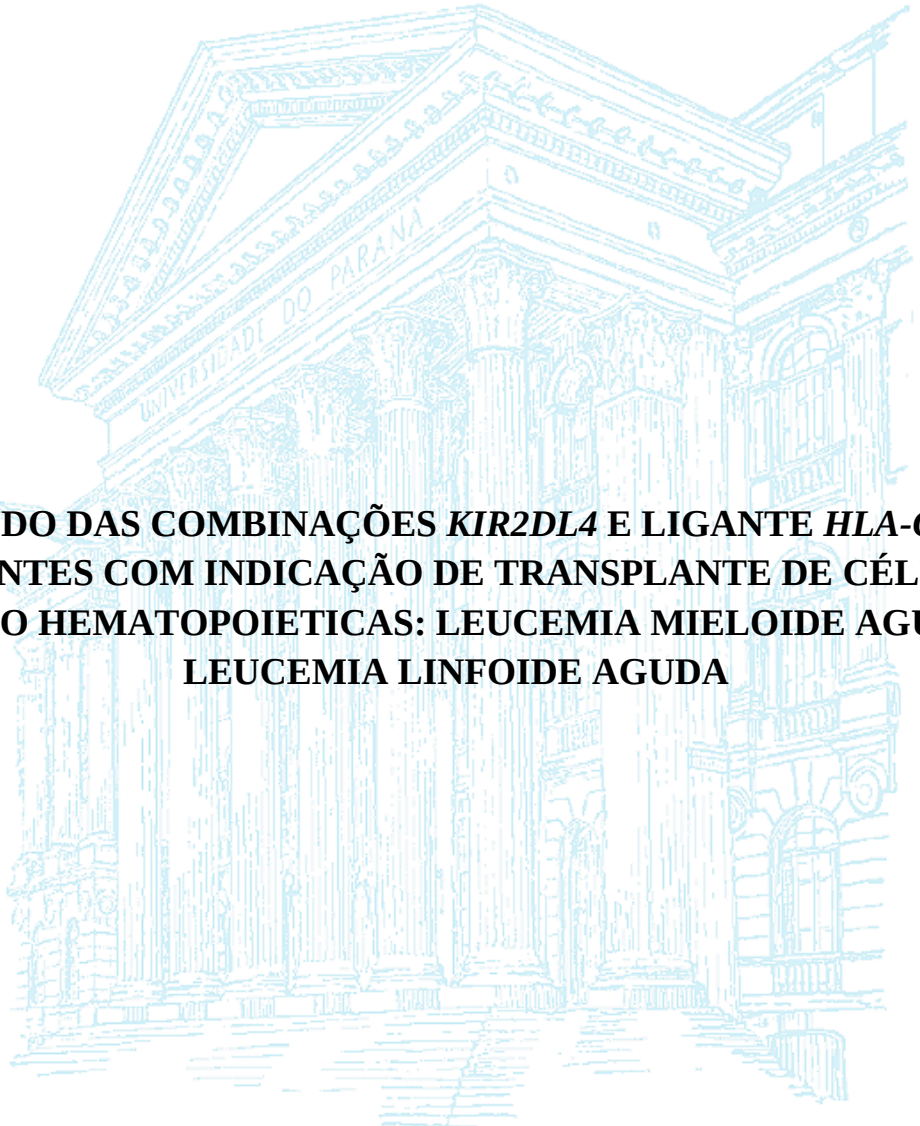
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CARLOS EDUARDO IBALDO GONÇALVES



ESTUDO DAS COMBINAÇÕES *KIR2DL4* E LIGANTE *HLA-G* EM PACIENTES COM INDICAÇÃO DE TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIETICAS: LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA *VS* LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA

CURITIBA

2013

CARLOS EDUARDO IBALDO GONÇALVES

ESTUDO DAS COMBINAÇÕES *KIR2DL4* E LIGANTE *HLA-G* EM PACIENTES COM INDICAÇÃO DE TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIETICAS: LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA *VS* LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, na área de concentração de Genética, do Curso de Pós-Graduação em Genética do Departamento de Genética, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profª Drª Maria da Graça Bicalho

CURITIBA

2013

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

PARECER

Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado, a qual se submeteu **CARLOS EDUARDO IBALDO GONÇAVES,** para obtenção do título de Mestre em Genética pela Universidade Federal do Paraná, no Programa de Pós-Graduação em Genética, são de parecer que se confira ao candidato o conceito "A".
Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Curitiba, 28 de junho de 2013

Doutor Iglenir João Cavalli
Dep. Genética/UFPR – Membro Titular

Doutora Valéria Maria Munhoz Sperandio Roxo
Dep. Genética/UFPR – Membro Titular

Doutora Maria da Graça Bicalho
Dep. Genética/UFPR – Orientadora e Presidente da Banca

Visto

Profª Dr. Ricardo Lehtonen R. de Souza
Coordenador do PPG - GEN - UFPR
Matricula 176702

Professor Doutor Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Genética

Centro Politécnico - Jardim das Américas - Caixa Postal 19071 - CEP 81531-980 - Curitiba, Brasil
Tel (+41) 33611587 / 33611684 – *Fax* (+41) 33611793 – *e-mail* ppg-gen@ufpr.br

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, à professora Maria da Graça Bicalho, pelo aceite de orientação, apoio, incentivo, aprendizado e confiança.

Aos professores Iglenir João Cavalli e Valéria Maria Sperandio Roxo pela oportunidade de aprimorar a minha dissertação com os seus conhecimentos e conselhos.

À toda equipe LIGH que me promoveu aprendizado, boas risadas e acompanhou o desenvolver deste projeto.

Ao Pablo Carvalho Santos pela ajuda no delineamento do trabalho e nas estatísticas.

Ao convênio FUNPAR-LIGH que possibilitou a realização do trabalho através da estrutura disponibilizada e da compra de reagentes.

À CAPES pela bolsa concedida nestes dois anos de trabalho.

Ao programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos em um ensino de alto nível.

A todos os professores e colegas, seriam muitos a citar, que contribuíram na minha formação.

Ao André Gotfrid e Samuel Alves Bezerra Neto pela amizade e atenção.

À minha família, principamente aos meus pais Assis Gonçalves e Marta Regina Ibaldo Gonçalves, sem eles eu não estaria aqui.

À Deus, por estar sempre presente.

RESUMO

A leucemia mieloide aguda (LMA) é um grupo heterogéneo de doenças clonais do tecido hematopoietico, que é caracterizada pela proliferação anormal de células progenitoras da linhagem mieloide, resultando na produção insuficiente de células sanguíneas maduras normais, com a consequente substituição de tecido normal. A leucemia linfoide aguda (LLA), um outro grupo heterogêneo de doenças clonais de tecido hematopoietico, é um câncer das células brancas do sangue, caracterizada pela proliferação anormal de células progenitoras linfoides. Observações clínicas após o transplante de células-tronco hematopoéticas (CTH) em pacientes com LMA sugerem que a alorreatividae das células Natural Killer (NK) do doador, cujos principais alvos são as células hematopoieticas do paciente, resulta em um efeito enxerto versus leucemia (GvL) e uma menor incidência da doença do enxerto versus hospedeiro (DECH). A alorreatividae das células NK foi definida pela ausência no paciente do ligante do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) de classe I para inibir o Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor (KIR) presente nas células NK do doador. O antígeno leucocitário humano "G" (HLA-G) foi avaliado como um importante modulador da tolerância imunológica, como um resultado da interação com o receptor KIR2DL4. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil KIR2DL4 e seu ligante HLA-G em pacientes com LMA, LLA e suas famílias nucleares para analisar possíveis diferenças na variação alélica ou genotípica entre esses três grupos e contribuir para a compreensão dos mecanismos de alorreatividae mediada pelas células NK associadas ao efeito GvL. Os genes HLA-G e KIR2DL4 foram genotipados por sequenciamento direto do DNA. Alelos HLA-G foram definidos por variações na sequência de nucleotídeos nos exons 2, 3 e 4. Alelos KIR2DL4 foram definidos por variações na sequência de nucleotídeos nos exons 3, 5, 7, 8 e 9. Os resultados sugerem que a frequência da associação alélica *HLA-G*01:01:02 KIR2DL4*00102* pode ser maior no grupo de pacientes com LMA em relação ao grupo de pacientes com LLA e do grupo de não- pacientes.

Palavras-chave: HLA-G, KIR2DL4, leucemia, leucemia mieloide aguda, leucemia linfoide aguda, efeito GvL.

ABSTRACT

The acute myeloid leukemia (AML) is an heterogeneous group of clonal diseases of hematopoietic tissue, which is characterized by abnormal proliferation of myeloid lineage progenitor cells, resulting in insufficient production of normal mature blood cells, with consequent replacement of normal tissue. Acute lymphoblastic leukemia (ALL), another heterogeneous group of clonal diseases of hematopoietic tissue, is a cancer of white blood cells characterized by abnormal proliferation of lymphoblastic progenitor cells. Clinical observations after transplantation of Hematopoietic Stem Cells (HSC) in patients with AML suggest that the alloreactivity of donor Natural Killer cells (NK), whose primary targets are the patient's hematopoietic cells, results in a Graft versus Leukemia effect (GvL) and a lower incidence of Graft versus Host Disease (GvHD). The alloreactivity of NK cells has been defined by the absence of the Class I Major Histocompatibility Complex (MHC) ligand in the patient for inhibitory Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor (KIR) present in the donor NK cells. The Human Leukocyte Antigen “G” (HLA-G) has been reported as an important modulator of immune tolerance as a result of interactions with KIR2DL4 receptor. The objective of this work was to evaluate the KIR2DL4 profile and its ligand HLA-G in patients with AML, ALL and their nuclear families to analyze possible differences in allelic or genotypic variation between these three groups and contribute to the understanding of mechanisms of alloreactivity mediated by NK cells associated to the GvL effect. The HLA-G and KIR2DL4 genes were genotyped by direct DNA sequencing. HLA-G alleles were defined by nucleotide sequence variations at exons 2, 3 and 4. KIR2DL4 alleles were defined by nucleotide sequence variations at exons 3, 5, 7, 8 and 9. The results suggest that the frequency of the allelic association *HLAG*01:01:02 KIR2DL4*00102* is increased in the group of patients with AML in relation to the group of patients with ALL and the non-patients group.

Keywords: HLA-G, KIR2DL4, leukemia, acute myeloid leukemia, acute lymphoblastic leukemia, GvL effect.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 10
1.1 HIPÓTESE..... 11
1.2 OBJETIVO..... 11
1.2.1 Objetivo Geral..... 11
1.2.2 Objetivos Específicos..... 11
1.3 JUSTIFICATIVA..... 12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 12
2.1 LEUCEMIA..... 12
2.1.1 Epidemiologia..... 12
2.1.2 Leucemia – Conceitos e Classificações..... 15
2.1.2.1 Leucemia Mieloide Aguda - Classificação..... 17
2.1.2.1.1 Leucemia Mieloide Aguda - Diagnóstico Laboratorial..... 20
2.1.2.2 Leucemia Linfoide Aguda – Classificação e Diagnóstico Laboratorial..... 24
2.1.2.3 Efeito Anti-leucemia (*GvL*)..... 27
2.2 COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE..... 29
2.2.1 *HLA-G*..... 31
2.2.1.1 Estrutura do Gene *HLA-G*..... 32
2.2.1.2 Polimorfismos do Gene *HLA-G*..... 34
2.2.1.2.1 Polimorfismos da Região Codificadora..... 34
2.2.1.2.2 Polimorfismos da Região Reguladora..... 35
2.2.1.2.2.1 Polimorfismos da Região Reguladora 5' URR..... 35
2.2.1.2.2.2 Polimorfismos da Região Reguladora 3' UTR..... 36
2.3 CÉLULAS NATURAL KILLER..... 37
2.3.1 Genes *KIR*..... 40
2.3.1.1 Gene *KIR2DL4*..... 43
2.3.1.1.1 Polimorfismos do Gene *KIR2DL4*..... 44
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 46
4. CONCLUSÃO..... 62
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 63
7. ANEXOS..... 77
ANEXO 1. Materiais e Métodos..... 78

ANEXO 2. Tabelas Integrais de Resultados 88
ANEXO 3. Parecer do Comitê de Ética..... 154

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Representação espacial das taxas brutas de incidência de leucemias por 100 mil homens, estimadas para o ano de 2012, segundo unidade da federação..... 14

FIGURA 2: Representação espacial das taxas brutas de incidência de leucemias por 100 mil mulheres, estimadas para o ano de 2012, segundo unidade da federação..... 14

FIGURA 3: Hematopoese normal humana..... 16

FIGURA 4: Células sanguíneas imaturas..... 17

FIGURA 5: Mapa do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) humano..... 29

FIGURA 6: Organização genômica dos genes receptores de células *NK*, em humanos e ratos..... 38

FIGURA 7: Relevância clínica de células *NK* derivadas do doador em pacientes após o transplante de células-tronco hematopoiéticas..... 39

FIGURA 8: Representação da estrutura da proteína *KIR* em cada gene..... 40

FIGURA 9: Nomenclatura dos alelos *KIR*, adotado pelo *HUGO*..... 41

FIGURA 10: Representação dos dois grupos de haplótipos dos genes *KIR*..... 42

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Estimativas para o ano de 2012 das taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes e de número de casos novos por câncer, segundo sexo e localização primária..... 13

TABELA 2: Sistemas de classificação de leucemias agudas..... 18

TABELA 3: Características clínicas das LMA..... 20

TABELA 4: Colorações citoquímicas..... 21

TABELA 5: Classificação da imunofenotipagem da LMA..... 22

TABELA 6: Análise citogenética: cromossomos anormais na LMA..... 24

TABELA 7: Classificação morfológica (FAB) da LLA..... 25

TABELA 8: Perfil imunofenotípico das leucemias linfoides..... 26

TABELA 9: Anormalidades cromossômicas estruturais na LLA..... 27

TABELA 10: Polimorfismos de DNA definindo os alelos de *HLA-G*..... 35

TABELA 11: Alelos *KIR2DL4*..... 45

LISTA DE ABREVIATURAS

LA – Leucemia Aguda

LMA – Leucemia Mielóide Aguda

LLA – Leucemia Linfóide Aguda

GvL – Graft versus Leukemia

GvHD – Graft versus Host Disease

HSC – Hematopoietic Stem Cell

NK – Natural Killer

KIR – Killer Cell Immunoglobulin Like Receptor

MHC – Major Histocompatibility Complex

HLA – Human Leukocyte Antigen

IARC – International Agency for Research on Cancer

OMS – Organização Mundial da Saúde

HTLV-I – Human T-Lymphotropic Virus Type I

BAL – Leucemia Bifenotípica Aguda

DNA – Desoxirribonucleic Acid

PCR – Polymerase Chain Reaction

RNA – Ribonucleic Acid

APC – Antigen Presenting Cels

LTA – Linfotoxina Alfa

LTB – Linfotoxina Beta

TNF – Tumor Necrosis Factor

LIR – Leukocyte Inibitory Receptor

HIV – Human Immunodeficiency Virus

ATF – Ativador de Fator Transcricional

Enh – Enhancer

AMPc – Adenosina Monofosfato cíclica

uNK – Uterine Natural Killer

ISRE – Interferon Specific Regulation Element

IRF – Interferon Regulator Factor

IL – Interleucina

CREB – Proteína Ligante ao Elemento da proteína ligante ao elemento AMPc

IFN-γ – Interferon Gama

GM-CSF – Fator Estimulador de Crescimento de Granulócitos

LRC – Leukocyte Receptor Complex

HSE – Heat Shock Element

HSF – Heat Shock Factor

SNP – Single Nucleotide Polymorphism

ITAM – Immunoreceptor Tyrosine-based Activation motif

ITIM – Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif

1 INTRODUÇÃO

A Leucemia Mieloide Aguda (LMA) é um grupo heterogêneo de doenças clonais do tecido hematopoético, que se caracteriza pela proliferação anormal de células progenitoras da linhagem mieloide (mieloblastos), ocasionando produção insuficiente de células sanguíneas maduras normais, com conseqüente substituição do tecido normal (LÖWENBERG, 2001; MARTINS & FALCÃO, 2000). A LMA é uma doença predominante em adultos (IOVINO & CAMACHO, 2003) com pior prognóstico, especialmente em pacientes idosos (BENE, 1999).

Observações clínicas após transplante de células tronco hematopoéticas (CTH) em pacientes com LMA, tem sido sugestivas de que a alorreatividade de células Natural Killer do doador (*NK*), cujo principal alvo seriam as células hematopoiéticas do paciente, resultam num efeito anti-leucemia (*GvL, Graft versus Leukemia*) e menor incidência da doença do enxerto versus hospedeiro (*GvHD, Graft versus Host Disease*). (RUGGERI *et al*., 2002; BENJAMIN *et al*., 2010).

A alorreatividade das células *NK* tem sido definida, pela ausência no paciente dos ligantes do Complexo Principal de Histocompatibilidade (*MHC*) de Classe I para receptores *KIR* inibidores presentes nas células *NK* do doador. Os benefícios clínicos dessa alorreatividade ainda não são conclusivos e mais estudos são necessários para a sua compreensão.

Estudos genéticos e clínicos sobre o perfil de alorreatividade da dupla doador-paciente poderão contribuir para o entendimento dos mecanismos associados ao efeito *GvL* e serão úteis também na definição de estratégias de condicionamento e tratamento imunossupressor do paciente no pós-transplante.

As moléculas *MHC* de Classe I são fundamentais para determinar a atividade funcional das células *NK*. O gene *HLA-G* tem sido referido como um importante modulador da tolerância imunológica como resultado de interações entre receptores *KIR* e motivos alotípicos ou epítopos ligantes presentes na alfa-hélice da proteína *HLA-G*, que inibem a atividade citotóxica natural mediada por células *NK* (ROUAS-FREISS *et al*., 2005). Vários modelos e direções (*KIR*/doador-Ligante/paciente) ou (*KIR*/paciente-Ligante/doador) tem sido investigados para entendimento dos mecanismos e impacto da interação *KIR*-ligante no contexto dos transplante de CTH.

Variações genéticas que impactam na diversidade e/ou intensidade das interações *KIR*-ligante poderiam influenciar no processo de transplante. Variantes alélicas de *HLA-G* (exon 2, exon 3 e exon 4) têm sido associadas a expressão diferenciada da proteína *HLA-G*. Além

disso, a expressão das variantes alélicas dos receptores *KIR2DL4* das células *NK* também poderiam influenciar nessas interações.

Assim, espera-se que variações nucleotídicas em regiões codificadoras de *HLA-G* que alterem sua expressão, somados a variantes alélicos de *KIR2DL4* que alterem a afinidade do receptor com seu ligante específico, resultem em diferenças nos níveis de citocinas produzidas e conseqüentemente no processo de aceitação do alo-enxerto.

1.1 HIPÓTESE

O perfil *KIR2DL4* e ligante *HLA-G* de pacientes com LMA, e portanto com indicação de transplante de CTH, seria diferente daquele apresentado por pacientes com outro tipo de leucemia, o que justificaria o reportado efeito benéfico *GvL* para essa categoria de pacientes.

1.2 OBJETIVO

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o perfil *KIR2DL4* e seu ligante *HLA-G* em pacientes com LMA em comparação com pacientes com LLA.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar e estimar a variação alélica e genotípica dos genes *KIR2DL4* e *HLA-G* em pacientes com LMA e na família nuclear.
- Caracterizar a variação alélica e genotípica dos genes *KIR2DL4* e *HLA-G* em pacientes com LLA e na família nuclear.
- Comparar freqüências alélicas e genotípicas entre grupos LMA e LLA.
- Análise da segregação da variação alélica *KIR2DL4* e *HLA-G* nas famílias LMA e LLA.
- Sugerir na família nuclear, qual seria o melhor doador para o paciente LMA, considerando-se as combinações *KIR*-ligante.

1.3 JUSTIFICATIVA

Estudos genéticos e clínicos sobre o perfil de alorreatividade doador-paciente poderão contribuir para o entendimento dos mecanismos associados ao efeito *GvL* e serão úteis também na definição de estratégias de condicionamento e tratamento imunosupressor do paciente no pós-transplante. Os benefícios clínicos dessa alorreatividade ainda não são conclusivos e mais estudos sobre esse tema são necessários e desejáveis.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LEUCEMIA

2.1.1 Epidemiologia

No Brasil, as estimativas para o biênio 2012/2013 apontam a ocorrência de aproximadamente 518.510 casos novos de câncer, incluindo os casos de pele não melanoma, reforçando a magnitude do problema do câncer no país. Sem os casos de câncer da pele não melanoma, estima-se um total de 385 mil casos novos. Desse total, 8.510 constituem-se em leucemias e estimam-se 4.570 casos novos de leucemia em homens e 3.940 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 5 casos novos a cada 100 mil homens e 4 a cada 100 mil mulheres (**Tabela 1**). (INCA, Ministério da Saúde, 2012)

TABELA 1: ESTIMATIVAS PARA O ANO DE 2012 DAS TAXAS BRUTAS DE INCIDÊNCIA POR 100 MIL HABITANTES E DE NÚMERO DE CASOS NOVOS POR CÂNCER, SEGUNDO SEXO E LOCALIZAÇÃO PRIMÁRIA*

Localização Primária Neoplasia Maligna	Estimativa dos Casos Novos							
	Homens				Mulheres			
	Estados		Capitais		Estados		Capitais	
	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta
Próstata	60.180	62,54	15.660	75,26	-	-	-	-
Mama Feminina	-	-	-	-	52.680	52,50	18.160	78,02
Colo do Útero	-	-	-	-	17.540	17,49	5.050	21,72
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.210	17,90	4.520	21,85	10.110	10,08	3.060	13,31
Cólon e Reto	14.180	14,75	4.860	23,24	15.960	15,94	5.850	25,27
Estômago	12.670	13,20	3.200	15,34	7.420	7,42	2.170	9,47
Cavidade Oral	9.990	10,41	2.760	13,34	4.180	4,18	1.130	4,92
Laringe	6.110	6,31	1.540	7,56	-	-	-	-
Bexiga	6.210	6,49	1.900	9,28	2.690	2,71	880	3,72
Esôfago	7.770	8,10	1.500	7,26	2.650	2,67	520	2,27
Ovário	-	-	-	-	6.190	6,17	2.220	9,53
Linfoma não Hodgkin	5.190	5,40	1.560	7,66	4.450	4,44	1.560	6,85
Glândula Tireoide	-	-	-	-	10.590	10,59	3.490	14,97
Sistema Nervoso Central	4.820	5,02	1.190	5,82	4.450	4,46	1.200	5,23
Leucemias	4.570	4,76	1.180	5,81	3.940	3,94	1.180	5,02
Corpo do Útero	-	-	-	-	4.520	4,53	1.700	7,39
Pele Melanoma	3.170	3,29	810	4,05	3.060	3,09	790	3,46
Outras Localizações	43.120	44,80	11.100	53,33	38.720	38,61	10.320	44,50
Subtotal	**195.190**	**202,85**	**51.780**	**248,60**	**189.150**	**188,58**	**59.280**	**254,86**
Pele não Melanoma	62.680	65,17	14.620	70,39	71.490	71,30	15.900	68,36
Todas as Neoplasias	**257.870**	**267,99**	**66.400**	**318,79**	**260.640**	**259,86**	**75.180**	**323,22**

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10

FONTE: INCA, Ministério da Saúde (2012)

Sem considerar os tumores da pele não melanoma, a leucemia em homens é a quinta neoplasia mais frequente na região Norte (3/100 mil). Na região Nordeste (4/100 mil), ocupa a oitava posição, na região Centro-Oeste (5/100 mil), a décima e, nas regiões Sul (6/100 mil) e Sudeste (5/100 mil), a 11ª. Para as mulheres, é a sétima mais frequente na região Norte (3/100 mil) e a décima nas regiões Centro-Oeste (4/100 mil) e Nordeste (3/100 mil), enquanto, nas regiões Sudeste (4/100 mil) e Sul (5/100 mil), é a 12ª e a 13ª mais incidente, respectivamente (**Figuras 1 e 2**). (INCA, Ministério da Saúde, 2012)

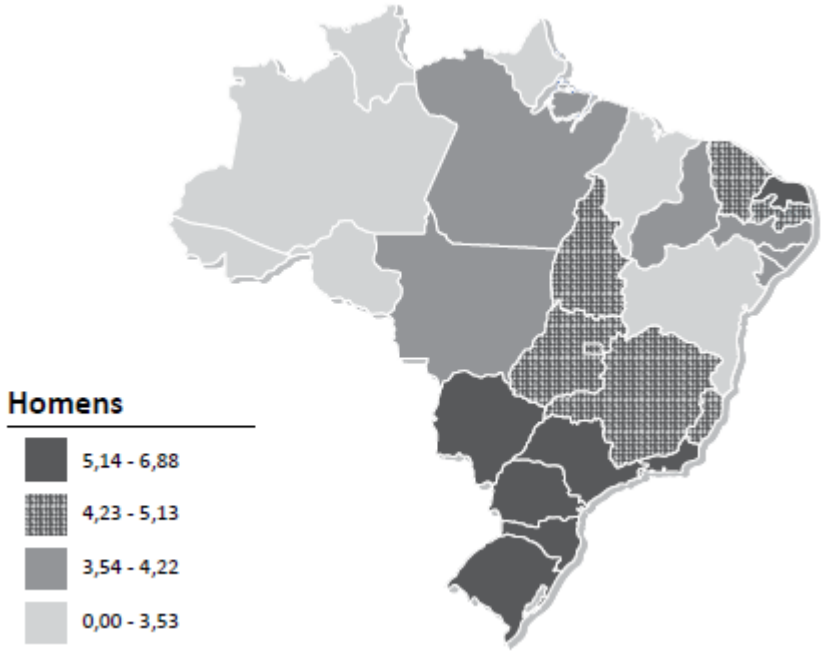


FIGURA 1: REPRESENTAÇÃO ESPACIAL DAS TAXAS BRUTAS DE INCIDÊNCIA DE LEUCEMIAS POR 100 MIL HOMENS, ESTIMADAS PARA O ANO DE 2012, SEGUNDO UNIDADE DA FEDERAÇÃO

FONTE: INCA, Ministério da Saúde (2012)

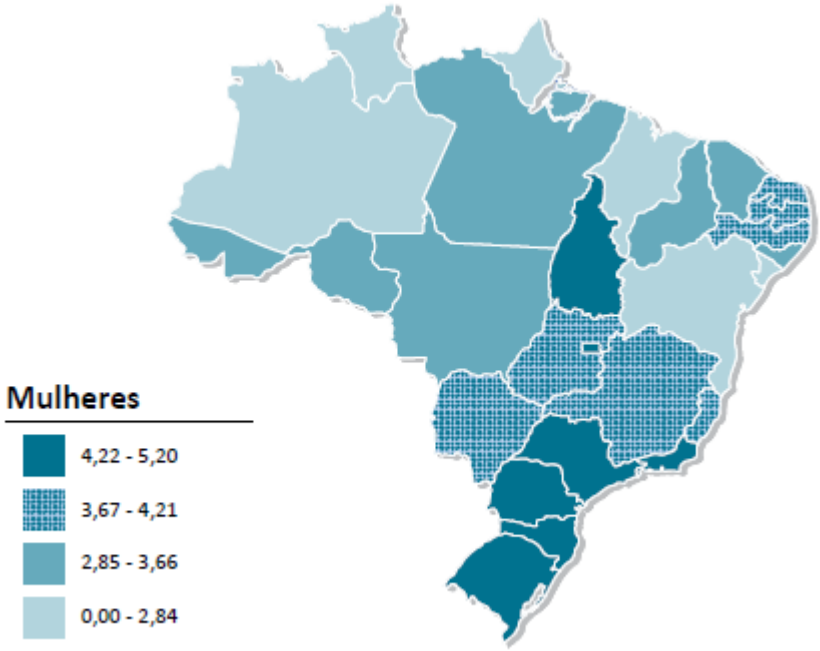


FIGURA 2: REPRESENTAÇÃO ESPACIAL DAS TAXAS BRUTAS DE INCIDÊNCIA DE LEUCEMIAS POR 100 MIL MULHERES, ESTIMADAS PARA O ANO DE 2012, SEGUNDO UNIDADE DA FEDERAÇÃO

FONTE: INCA, Ministério da Saúde (2012)

O estado do Paraná tem uma incidência prevista para 2012 de 550 casos de Leucemias, ou seja, 5,51 para cada 100 mil homens (300 indivíduos) e 4,43 para cada 100 mil mulheres (250 indivíduos), enquanto a incidência para Curitiba é de 100 casos de Leucemias (50 do sexo masculino e 50 do sexo feminino), ou seja, 6,10 a cada 100 mil homens e 5,56 a cada 100 mil mulheres. (INCA, Ministério da Saúde, 2012)

2.1.2 Leucemia - Conceitos e Classificações

A leucemia é uma proliferação neoplásica generalizada ou acúmulo de células hematopoéticas, com ou sem envolvimento do sangue periférico. Na maioria dos casos, as células leucêmicas invadem a corrente sanguínea, onde podem ser observadas em grande número. Essas células também podem infiltrar o fígado, baço, linfonodos e outros tecidos (ROBBINS, 1996).

As leucemias são classificadas de acordo com o grau de maturação e o tipo celular das células. A primeira divisão está em suas formas agudas e crônicas. As leucemias agudas (LA) caracterizam-se pela proliferação clonal com bloqueio maturativo (anaplasia) variável, o que possibilita a existência de diferentes subtipos de leucemias. Já a forma crônica da leucemia se caracteriza pelo aumento excessivo no número de células maduras anormais da série branca do sangue, levando meses ou até anos para progredir. A segunda divisão diz respeito ao tipo de célula afetado pelas desordens, sendo assim caracterizada como do tipo mieloide ou linfoide (INCA, 2012; ANJOS *et al*., 2000).

A LMA é um grupo heterogêneo de doenças clonais do tecido hematopoético, que se caracteriza pela proliferação anormal de células progenitoras da linhagem mieloide (mieloblastos), ocasionando produção insuficiente de células sanguíneas maduras normais, com conseqüente substituição do tecido normal. Desse modo, a infiltração da medula é freqüentemente acompanhada de neutropenia, anemia e plaquetopenia (LÖWENBERG, 2001; MARTINS & FALCÃO, 2000). O processo neoplásico que dá origem ao clone leucêmico pode surgir em qualquer estágio do desenvolvimento celular, ou seja, em qualquer fase da hematopoese (**Figura 3**) (LUSIS, 2000).

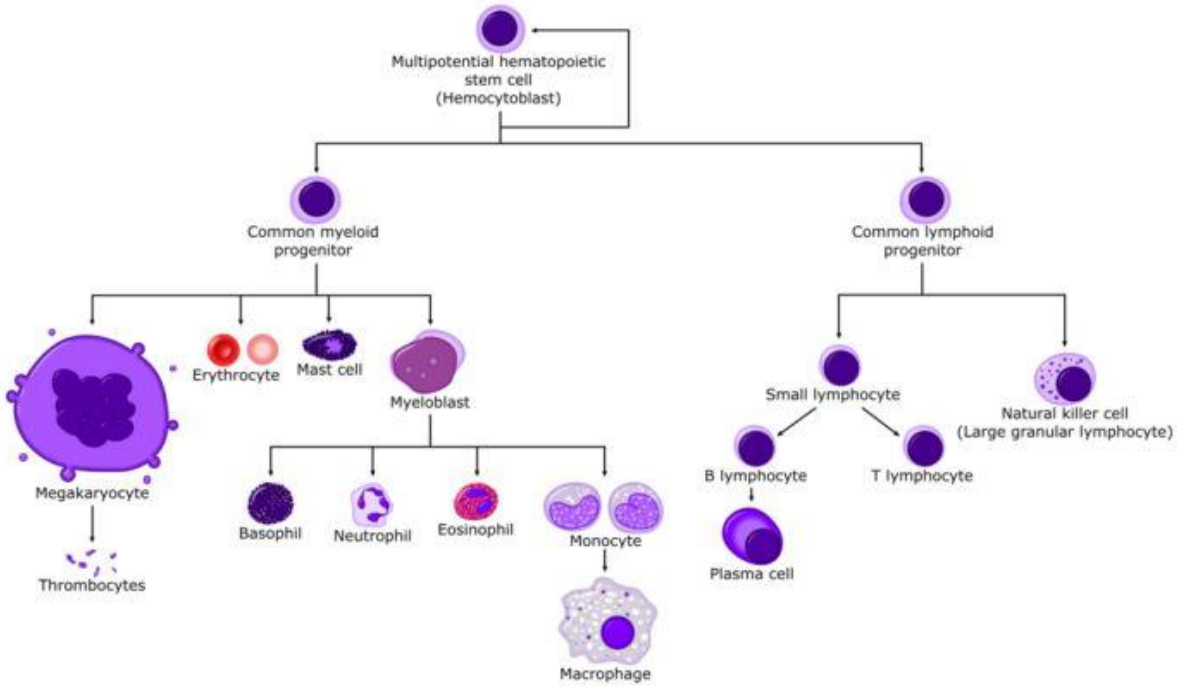


FIGURA 3: HEMATOPOESE NORMAL HUMANA

FONTE: http://www.dicts.info/picture-dictionary.php?group=&language=spanish&w=hematopoiesis&search=Search

A LMA é uma doença predominante em adultos. Representa 80% das LA em adultos e cerca de 15-20% das LA na infância (IOVINO & CAMACHO, 2003; LÖWENBERG, 2001; RODRIGUES, 2003; HALL, 2001; MARTINS & FALCÃO, 2000). É mais comum no sexo masculino do que no feminino (DOUER, 2003) e apresenta um prognóstico pobre, especialmente em pacientes idosos (BENE, 1999).

A LLA é uma doença maligna derivada de células linfoides indiferenciadas (linfoblastos) presentes na medula óssea, no timo e nos gânglios linfáticos, em vários estágios de maturação, porém sem chegar às formas maduras normais. A incidência é maior em crianças (principalmente brancas e do sexo masculino), numa porcentagem de 70% e entre os adultos, de 20%. (FARIAS & CASTRO, 2004).

Os eventos moleculares precisos e responsáveis pela transformação leucêmica ainda não são conhecidos, entretanto o resultado final consiste na proliferação das células hematopoéticas imaturas que perderam a sua capacidade de diferenciação normal. No entanto, a ativação de protoncogenes e as mutações, em genes supressores de tumor que regulam o ciclo celular, estão envolvidas na patogênese das leucemias, pois determinam a perda dos mecanismos normais controladores da proliferação (divisão celular), diferenciação-maturação e/ou da morte celular programada (apoptose) (BAIN, 2003; MARTINS & FALCÃO, 2000).

Na maioria dos casos, a etiologia da LA é desconhecida, embora algumas vezes possam se identificar possíveis causas, como: radiação ionizante; vírus oncogênicos (human T-lymphotropic virus type I [HTLV-I] causando leucemia das células T do adulto); fatores genéticos e congênitos; algumas substâncias químicas e fármacos (como benzeno e agentes alquilantes) e predisposição a doenças hematológicas (DOUER, 2003; LIESNER & GOLDSTONE, 1997).

Muitas introspecções novas para o diagnóstico, patogênese, manifestação clínica, tratamento e prognóstico dos pacientes com LA refletem a heterogeneidade da doença, uma vez que o prognóstico entre subgrupos de pacientes pode variar consideravelmente (LÖWENBERG, 2001; TALLMAN, 2004). Com base nesses dados, tornam-se de grande importância clínica os avanços laboratoriais ocorridos no diagnóstico das leucemias nos últimos anos.

2.1.2.1 Leucemia Mieloide Aguda – Classificação

As leucemias são classificadas com base no tipo celular envolvido e no estado de maturidade das células leucêmicas. Assim, as LA caracterizam-se pela presença de células imaturas, denominadas blastos, e por evolução rapidamente fatal em pacientes não-tratados (LIESNER & GOLDSTONE, 1997).

Os primeiros sistemas de classificação das LA eram baseados somente em investigações citomorfológicas (**Figura 4**) e citoquímicas.

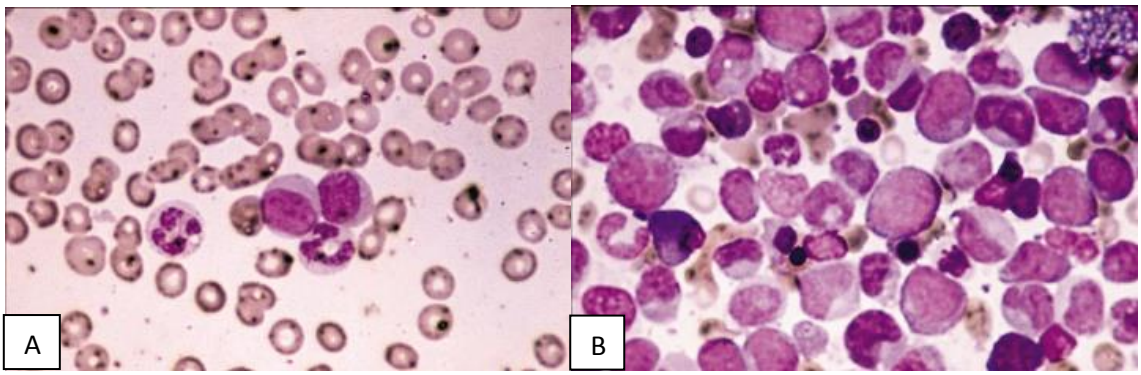


FIGURA 4: CÉLULAS SANGUÍNEAS IMATURAS. 4.A. HEMATOXILINA-EOSINA DE SANGUE PERIFÉRICO; OBSERVA-SE CÉLULAS BLÁSTICAS. 4.B. MIELOGRAMA; OBSERVA-SE MEDULA ÓSSEA HIPERCELULAR COM INÚMEROS BLASTOS MIELOIDES. FONTE: KOMAGOME *et al.*, 2000

A morfologia ainda representa um modelo central, mas foi incorporada em sistemas de classificações atuais, como imunofenotipagem para um delineamento mais preciso da linhagem hematopoética, e estágio de diferenciação de leucemias em particular (DOUER, 2003; SZCZEPANSKI *et al*., 2003). Na **Tabela 2** são abordadas as principais classificações das leucemias agudas (BAIN, 1998; BENE, 1995; BENE, 1999; BRUNNING, 2003; HARRIS *et al*., 1999; LUSIS, 2000; SZCZEPANSKI *et al*., 2003).

TABELA 2: SISTEMAS DE CLASSIFICAÇÃO DE LEUCEMIAS AGUDAS

Sistemas de Classificação de Leucemias Agudas	
Grupo	**Classificação**
FAB* (1976)	• Primeira classificação mundialmente aceita • Critérios: morfológicos e citoquímicos • Blastos na LA > 30% na medula óssea • LMA (M1 a M6) • Em 1985, essa classificação foi revisada e adotaram-se critérios imunofenotípicos, incluindo o subtipo LMA M7, através da confirmação de blastos plaquetários, e o subtipo M0, através de marcadores monoclonais
MIC**	• Critérios: morfológicos, imunológicos e citogenéticos
EGIL*** (1995)	• Critérios: imunológicos (expressão de antígenos na superfície celular a partir de painéis de anticorpos monoclonais) • Definição de leucemias bifenotípicas agudas (BAL)
WHO**** (1997)	• Foi proposta a classificação que separa e define os subtipos de leucemias agudas (mieloide, linfoide ou bifenotípica) • Blastos na LA > 20% na medula óssea • LMA passa a ser valorizada através de seus dados de recorrência citogenética e da história clínica e/ou aspectos displásicos na medula óssea

NOTA: **French-American-British.**Morphological-Immunological-Cytogenetic.***European Group for the Immunological Characterization of Leukemias. ****World Health Organization.*

FONTE: Adaptado de SZCZEPANSKI *et al.*, 2003.

De acordo com o sistema de classificação French-American-British (FAB), as LMA são ainda morfologicamente subclassificadas em oito tipos:

- M0 – LMA sem diferenciação morfológica
- M1 – LMA com mínima diferenciação morfológica
- M2 – LMA com diferenciação (componente monocítico < 20%)

- M3 – LMA promielocítica hipergranular; M3 variante hipogranular
- M4 – LMA mielomonocítica (células monocíticas ≥ 20%); M4 variante
- M5 – LMA monocítica (com células monocíticas ≥ 20% das células leucêmicas)
- M5a – LMA monoblástica (sem diferenciação, blastos ≥ 80%)
- M5b – LMA monocítica (com diferenciação, blastos < 80%)
- M6 – eritroleucemia e variante;
- M7 – LMA megacarioblástica

Existe também uma minoria de LA que apresenta características de ambas as linhagens (mieloide e linfoide) e, por essa razão, são designadas leucemias de linhagem mista, híbrida ou leucemia bifenotípica aguda (BAL) (BRUNNING, 2003). As BAL são doenças raras, responsáveis por mais de 5% das LA (BAIN, 2002; BENE, 1999; LEE *et al*., 2003).

Contudo, a classificação FAB está em desuso e está sendo substituída pela classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS). A classificação da OMS apresenta recomendações atualizadas e modificadas dos critérios diagnósticos utilizados pela FAB, valorizando critérios citogenéticos (BRUCE *et al.*, 2003)

- **LMA com características de anormalidades genéticas**, que inclui LMA com translocação entre o cromossoma 8 e 21, com inversão no cromossoma 16, ou translocações entre os cromossomas 15 e 17. Doentes com LMA nesta categoria geralmente têm uma alta taxa de remissão e um melhor prognóstico, em comparação com outros tipos.
- **LMA com displasia multilinear**. Esta categoria inclui os doentes que tiveram uma prévia *síndrome mielodisplásica* (MDS) ou doença mieloproliferativa, que evoluiu para a LMA. Esta categoria é mais freqüente em pacientes idosos e muitas vezes tem um pior prognóstico.
- **Relacionado à terapia da LMA e MDS**. Esta categoria inclui os doentes que realizaram quimioterapia e/ou radioterapia e posteriormente desenvolveram a LMA ou MDS (síndrome mielodisplásica). Esta leucemia pode ser caracterizada por anormalidades cromossômicas específicas e, muitas vezes, leva a um pior prognóstico.
- **LMA não categorizadas**. Inclui subtipos da LMA que não se inserem nas categorias acima.

- **Leucemias agudas de origem ambígua**. Leucemias agudas de origem ambígua (também conhecida como fenótipo misto ou leucemia aguda bifenotípica) ocorrem quando as células leucêmicas podem ser classificadas como células mieloides ou linfoides, ou se ambos os tipos de células estão presentes.

2.1.2.1.1 Leucemia Mieloide Aguda – Diagnóstico Laboratorial

Geralmente, o diagnóstico de LMA inicia-se a partir de uma suspeita clínica (**Tabela 3**) e se baseia na avaliação do sangue periférico e da medula óssea (BAIN, 2003; LIESNER & GOLDSTONE, 1997). Embora a morfologia continue sendo o fundamento para o diagnóstico, técnicas adicionais, incluindo imunofenotipagem, avaliação citogenética e estudos de genética molecular, tornaram-se essenciais e, em alguns casos específicos, são ferramentas complementares obrigatórias (SWIRSKY & RICHARDS, 2001; TALLMAN, 2004). O uso de procedimentos diagnósticos permite a identificação do tipo celular envolvido na leucemogênese, o que é fundamental para orientar a terapêutica e determinar, até certo ponto, o prognóstico das leucemias (HAFERLACH *et al*., 2004).

TABELA 3: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS LMA.

Características Clínicas das LMA	
Suspeita Clínica	• Palidez • hepatomegalia • esplenomegalia • linfadenopatia • febre em conseqüência de infecções • faringite • petéquias e outras manifestações hemorrágicas • dor óssea • hipertrofia gengival • infiltrações cutâneas
Hemograma	• contagem de plaquetas e hemoglobinas baixas • contagem de células brancas pode variar de < 1.000/µl a 200.000/µl • contagem diferencial de células brancas anormais com neutropenia e presença de blastos; geralmente, detecção pelos *flags* em aparelho • anemias normocrômica e normocítica; trombocitopenia pode ser severa

FONTE: Adaptado de BAIN, 2003.

As colorações citoquímicas (**Tabela 4**) usadas no diagnóstico e na classificação das leucemias podem ser aplicadas tanto à medula óssea quanto ao sangue periférico, auxiliando na confirmação da origem mieloide e/ou monocítica. Apesar dos progressos da imunofenotipagem, as reações citoquímicas ainda são úteis no diagnóstico das LMA. As principais colorações em uso são fosfatase alcalina; mieloperoxidase (MPO); sudão negro B (sudan black B [SBB]); naftol AS-D; cloroacetato esterase (CAE); esterases inespecíficas, como alfa-naftil acetato esterase (ANAE); reação do ácido para-aminossalicílico (ácido periódico de Schiff [PAS]) e fosfatase ácida. A mieloperoxidase ou SBB positiva confirma a natureza mieloide dos blastos e revela os bastonetes de Auer em aproximadamente 65% dos casos. Ela é específica para as linhagens de granulócitos, eosinófilos e monócitos (BAIN, 2003; LIESNER & GOLDSTONE, 1997; LUSIS, 2000; MARTINS & FALCÃO, 2000; SWIRSKY & RICHARDS, 2001).

TABELA 4: COLORAÇÕES CITOQUÍMICAS

	Colorações Citoquímicas
M0	MPO-, SBB-, esterases-
M1	MPO/SBB+ em ≥ 3% das células
M2	MPO+, SBB+
M3	MPO++, SBB++
M4	MPO+, SBB+, esterase inespecífica+ com inibição pelo NaF, ANAE+
M5	MPO-, esterase++
M6	MPO-, SBB-, ANAE++
M7	MPO-, SBB-, ANAE+ na zona de Golgi

NOTA: *MPO: mieloperoxidase; SBB: sudão negro B (*Sudan black B*); ANAE: alfa-naftil acetatoesterase; NaF: fluoreto de sódio; (+): positivo; (-): negativo.*

FONTE: Adaptado de YAMAMOTO, 2000.

A imunofenotipagem é realizada por meio de anticorpos monoclonais marcados, que reconhecem epítopos específicos de antígenos celulares. As técnicas empregadas na imunofenotipagem podem ser a citometria de fluxo ou a imunocitoquímica. A importância da imunofenotipagem reside, principalmente, no diagnóstico das LMA M0 e M7, mas também em alguns casos de M5a, além de auxiliar no diagnóstico das LMA M3, LMA M2 e LMA M1/M2, bem como ser essencial para a identificação da BAL (BAIN *et al*., 2002; MARTINS & FALCÃO, 2000).

A citometria de fluxo é realizada com maior freqüência para distinção entre as leucemias mieloide e linfoide, o que é de crucial importância, e na monitorização pós-tratamento da LMA para detecção de doença residual mínima (SAN-MIGUEL *et al*., 2002; SWIRSKY & RICHARDS, 2001; WANG *et al*., 2005, YAMAMOTO, 2000). Também é útil na correta identificação dos subtipos de LMA, como a LMA M0, e na diferenciação da leucemia promielocítica aguda (M3) da LMA M1/M2 (BROWN, 2000; KALEEM *et al*., 2003). Geralmente, a imunofenotipagem é realizada em suspensões de células do sangue periférico e da medula óssea, mas, quando necessário, pode ser feita em cortes histológicos (BAIN, 2003). A **Tabela 5** resume os principais marcadores imunofenotípicos relacionados aos subtipos de LMA (LEFTEROVA & SHIMIDT-WOLF, 1996; SWIRSKY & RICHARDS, 2001; SZCZEPANSKI *et al*., 2003).

TABELA 5: CLASSIFICAÇÃO DA IMUNOFENOTIPAGEM DA LMA.

Classificação da Imunofenotipagem da LMA					
Marcadores	**LMA-M0/M1/M2**	**LMA-M3**	**LMA-M4/M5a/M5b**	**LMA-M6**	**LMA-M7**
CD13/CD33	++	++	++	+	++
CD65	±/+/++	+	++	±	±
MPO	-/+/++	++	++	+	-
CD11c	**- ou ±**	-	++	-	-
CD14	-	-	+/+/++	-	-
CD15	±/±/++	±	-	-	-
CD36	-	-	+	++	+
H-antígeno	-	-	-	++	+
CD235a (Glicoforina A)	-	-	-	+	-
CD41/CD61	-	-	-	-	++
CD42	-	-	-	-	+
CD34	++/++/+	±	±/+/±	+	++
CD117	++	+	+	+	+
HLA-DR	++/++/+	-	++	+	++
TdT	+	±	+	+	±

NOTA: *-: < 10% das leucemias são positivas; ±: 10%-25% das leucemias são positivas; +: 25%-75% das leucemias são positivas; ++: > 75% das leucemias são positivas.*

FONTE: Adaptado de SZCZEPANSKI *et al.*, 2003.

A citogenética e os estudos moleculares frequentemente detectam anormalidades dentro do clone leucêmico, podendo sugerir o diagnóstico e/ou o prognóstico (HALL, 2001; SWIRSKY & RICHARDS, 2001). As aberrações citogenéticas adquiridas são detectadas em 55%-75% de pacientes recentemente diagnosticados com LMA (GRIMWADE, 2001; LINDVALL *et al*., 2004; LÖWENBERG, 2001; WEIR & BOROWITZ, 2001). A análise citogenética é convencionalmente feita pela análise microscópica dos cromossomos das células da medula óssea durante a metáfase (HAFERLACH *et al*., 2004, SWIRSKY & RICHARDS, 2001). Pode ser complementada por técnicas de hibridização *in situ*, particularmente a hibridização fluorescente *in situ* (FISH), sendo importante para confirmar a presença de rearranjos recorrentes (KANG *et al*., 2005, KEARNEY, 2001). Atualmente, a análise citogenética tem sido considerada um instrumento diagnóstico de grande importância para determinação do fator prognóstico da LMA (HAFERLACH *et al*., 2004, LÖWENBERG, 2001; SCHOCH & HAFERLACH, 2002; YANADA *et al*., 2005).

A análise de genética molecular pode se fundamentar na análise do ácido desoxirribonucléico (DNA) por meio de técnicas, como análise de Southern *blot* ou reação em cadeia da polimerase (PCR), ou na análise do ácido ribonucleico (RNA) por PCR da transcriptase reversa (RT-PCR) e também por PCR em tempo real (RQ-PCR). A finalidade da análise de genética molecular pode ser tanto o estabelecimento da clonalidade, pela detecção da recombinação de genes que expressam imunoglobulinas, quanto pela identificação de uma recombinação molecular característica de um determinado tipo de LMA. Além de auxiliar na classificação das LA, é útil no monitoramento da doença residual mínima após a remissão induzida pela terapia (LEROY *et al*., 2005, MRÓZEK *et al*., 2001; YIN, 2002).

A importância da citogenética e da genética molecular na LMA para classificação e para compreensão de mecanismos patogênicos é apreciada cada vez mais no contexto clínico (HAFERLACH *et al*., 2004). As alterações citogenéticas mais comuns observadas na LMA, e suas freqüências, estão listadas na **Tabela 6** (BENCH *et al*., 2005; CHAUFFAILLE *et al*., 2004; DASH & GILLILAND, 2001; GRIMWADE, 2001; LANGMUIR *et al*., 2001; SCHOCH & HAFERLACH, 2002; SCHOCH *et al*., 2005).

TABELA 6: ANÁLISE CITOGENÉTICA: CROMOSSOMOS ANORMAIS NA LMA

Análise Citogenética: cromossomos anormais na LMA				
Anormalidades	**Fusão de genes**	**Subtipo**	**Frequência**	
			Crianças (%)	**Adultos (%)**
t(8;21)(q22;q22)	AMLI-ETO	M2/M1	10-15	8-12
inv(16)(p13q22)	CBFβ-MYHII	M4eo	6-12	8-12
t(15;17)(q22;q21)	PML-RARα	M3/M3v	8-15	8-10
t(9;11)(p22;q23)	MLL-AF9	M5a	8-10	1-2
t(3;21)(q26;q22)	AMLI-EAP/EVII	-	1	< 1
t(6;9)(p23;q34)	DEK-CAN	M1/M2	1-2	Rara
inv(3)(q21;q26)	EVII	-	< 1	1-2
t(1;22)(p13q13)	OTT-MAL	M7	2	< 1
Trissomia do 8		-	1-4	3-5
Trissomia do 11		M1/M2	-	< 1
Complexo		-	6	10-20

FONTE: Adaptado de SCHOCH & HAFERLACH, 2002.

2.1.2.2. Leucemia Linfoide Aguda – Classificação e Diagnóstico Molecular

O diagnóstico e a classificação das leucemias agudas baseiam-se em grande parte na análise morfológica e citoquímica das células neoplásicas. Porém, a dificuldade para classificar alguns pacientes têm levado à busca de outros parâmetros, como os estudos imunofenotípicos por citometria de fluxo, os citogenéticos e os moleculares.

O hemograma pode revelar anemias normocítica e normocrômica e trombocitopenia. A contagem de leucócitos está ocasionalmente muito alta, mas frequentemente normal ou diminuída. Os blastos são raros ou ausentes em pacientes leucopênicos, mas em casos de leucocitose podem ser numerosos, chegando a constituir maioria (RIZZATTI & ZAGO, 2002).

O mielograma demonstra mais de 25% de linfoblastos na medula óssea. A medula encontra-se hipercelular com substituição dos espaços adiposos e elementos medulares normais por células leucêmicas, com precursores mieloides e eritroides residuais de aspecto normal e megacariócitos diminuídos ou ausentes (FALCÃO *et al*., 2002).

O grupo French American British (FAB) classificou as LLAs em três subtipos morfológicos (L1, L2 e L3), com base no diâmetro celular, na forma do núcleo, no número e

na protuberância dos nucléolos e na quantidade e no aspecto relativos do citoplasma, conforma a Tabela 7.

TABELA 7: CLASSIFICAÇÃO MORFOLÓGICA (FAB) DA LLA

Aspecto morfológico	**L1**	**L2**	**L3**
Diâmetro celular	Predominância de células pequenas, homogêneas	Grandes, heterogêneas	Grandes, homogêneas
Cromatina nuclear	Fina ou aglomerada	Fina	Fina
Forma do núcleo	Regular, pode apresentar fenda ou indentação	Irregular, podendo apresentar fenda ou indentação	Regular, redondo ou oval
Nucléolos	Indistintos ou não visíveis	Um ou mais por célula, grandes, proeminentes	Um ou mais por célula, grandes, proeminentes
Quantidade de citoplasma	Escassa	Moderadamente abundante	Moderadamente abundante
Basofilia citoplasmática	Ligeira	Ligeira	Evidente
Vacúolos citoplasmáticos	Variáveis	Variáveis	Evidentes

FONTE: Lee et al, 1998.

As reações citoquímicas podem auxiliar na diferenciação entre LLA e LMA. As reações mieloperoxidase e *sudan black* são úteis para estabelecer e confirmar o diagnóstico de LMA, uma vez que os linfoblastos são uniformemente negativos. Os linfoblastos T revelam atividade paranuclear na esterase inespecífica logo que realizada em pH ácido (6), tendo uma atividade maior de 75% na fosfatase ácida. Na periódica ácida de Schiff (PAS), os linfoblastos da LLA frequentemente demonstram uma evidente coloração e forma de anéis concêntricos de grânulos grosseiros ou blocos maciços. Uma reação PAS negativa é mais frequente na LLA de linhagem T que na linhagem B. Os mieloblastos podem ser positivos ou negativos para o PAS; quando positivos, não apresentam o aspecto granular observado nos linfoblastos (LEE *et al*., 1998; LORENZI, 1999; SCHNEIDER *et al*., 2000).

A classificação imunofenotípica pode determinar, além das linhagens celulares T e B, o nível de diferenciação em que se encontra o processo leucêmico, conforme Tabela 8 (CAVALCANTI *et al*., 1997).

TABELA 8: PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DAS LEUCEMIAS LINFOIDES

	Linhagem B				Linhagem T		
Marcador	**Pró-B**	**Comum**	**Pré-B**	**B**	**Pré-T**	**Intermediário**	**T**
HLA-DR	+	+	+	+	+/-	-	-
TdT	+	+	+	+/-	+	+	+
CD19	+	+	+	+	-	-	-
CD22(c)	-/+	+	+	+	-	-	-
CD10	-	+	+	-/+	-/+	-/+	+/-
CD20	-	-/+	+	+	-	-	-
cμ	-	-	+	-	-	-	-
SmIg	-	-	-	+	-	-	-
CD7	-	-	-	-	+	+	+
CD2	-	-	-	-	-	+	+
CD3(c)	-	-	-	-	+/-	+	+
CD1a	-	-	-	-	-	+/-	-
CD3	-	-	-	-	-	-	+
CD4/CD8	-	-	-	-	-	+/-	+

TdT=Terminal desoxinucleotidil transferase; CD22(c)=CD22 intracitoplasmático; cμ = cadeia μ citoplasmática; SmIg = Imunoglobulina de superfície; +: expressão do antígeno; +/-: expressão variável, frequentemente positiva: -: ausência de expressão do antígeno; -/+: expressão variável, frequentemente negativa.

O estudo das alterações cromossômicas das células neoplásicas é de grande utilidade para diagnóstico, classificação, orientação terapêutica e prognóstico das leucemias. As anormalidades cariotípicas estão confinadas aos clones malignos, desaparecem durante a remissão hematológica e reaparecem com a recidiva, algumas vezes demonstrando evidência de novas alterações supostas ao clone anormal original (LEE *et al*., 1998). Algumas alterações cromossômicas podem ser visualizadas na Tabela 9.

TABELA 9: ANORMALIDADES CROMOSSÔMICAS ESTRUTURAIS NA LLA

Anormalidades cromossômicas	**Genes envolvidos**	**Proteína**	**Função**	**Imunofenótipo**	**FAB**
t(9;22)(q34;q11)	BCR/ABL	p190, p210, p230	Atividade tirosinaquinase ciclina-dependente	LLA pré-B	L1/L2
t(4;11)(q21;q23)	AF4/MLL	Fusão de proteínas MLL com conservação da sequência 5'-N-terminal incluindo AT-Hoox e DNA metiltransferase	Regulação da transcrição	LLA pré-B e expressão simultânea de marcadores mieloides	L1/L2
t(1;19)(q23;p13)	E2A/PBX1	Fusão de proteínas com preservação do domínio de ativação E2A	Fator de transcrição	LLA pré-B	L1/L2
t(12;21)(p12;q22)	TEL/AML1	Tirosinaquinase	Regulação da transcrição e fosforilação	LLA pré-B	L1/L2
t(8;14)(q24;q32)	MYC/IgH	Proteína HLH	Fator de transcrição	LLA B	L3
t(1;14)(p32;q11)	TCR/TAL1		Fator de transcrição	LLA T	
Del 9p(21-22)	$p16^{INK4A}/p15^{INK4B}$	p16 e p15	Inibidor quinase-dependente	LLA B ou T	L1/L2

Adaptado de Faderl *et al*., 1998

2.1.3 Efeito Anti-Leucemia (*GvL*)

O regime de condicionamento é o tratamento ao qual o receptor deve ser submetido antes de receber o transplante, para que seu sistema imunológico não rejeite as células do doador, e para que eventuais células malignas ainda presentes sejam destruídas. Para isso, usam-se geralmente altas doses de quimioterapia, às vezes associadas à radioterapia de corpo inteiro (total body irradiation; TBI). Os regimes de condicionamento apresentam grande variação, podendo durar de apenas dois a até oito dias. Alguns utilizam apenas uma droga,

outros utilizam até quatro. Os regimes de condicionamento clássicos são projetados para destruir o sistema imunológico e a medula óssea do receptor completa e irreversivelmente, para que tudo seja reconstituído com as células normais do doador após o transplante. Estes regimes são portanto chamados mieloablativos (mielo = medula, ablação = eliminação), e baseiam-se no conceito de que cabe inteiramente ao condicionamento a responsabilidade de destruir as células cancerosas (KIMBY *et al*., 2001). Neste modelo teórico, a doença seria curada exclusivamente pela quimioterapia, e as células transplantadas seriam usadas apenas por reparar o dano causado à medula original e ao sistema imunológico do receptor. Hoje, sabemos que o condicionamento não é capaz de destruir todas as células cancerosas. Este modelo, portanto, não é adequado para explicar completamente a cura pelo transplante alogênico. Sabe-se hoje que o sistema imunológico reconstituído a partir de células do doador tem um papel importantíssimo na erradicação das células cancerosas que sobrevivem ao condicionamento. O sistema imunológico novo, representado ultimamente pelos linfócitos e células *NK* do doador, passa a funcionar como vigilante, reconhecendo como estranhas e destruindo as células tumorais residuais do receptor. A esse fenômeno dá-se o nome de efeito enxerto-contra-a-leucemia ou, como é mais conhecido em língua inglesa, efeito *GvL* (graft-versus-leukemia) (PALMER *et al*., 2013). Para melhor explorar o efeito *GvL*, desenvolveu-se um tipo de condicionamento com doses mais baixas de quimioterapia e/ou radioterapia, que não destrói de forma irreversível a medula óssea do receptor, mas apenas seu sistema imunológico. O objetivo é permitir que a medula nova "pegue" e que os linfócitos do doador ajudem a erradicar, gradativamente, as células cancerosas residuais. Esses condicionamentos são conhecidos como não-mieloablativos ou de intensidade reduzida, e são ainda uma técnica em desenvolvimento (TAURO *et al*., 2005). Foi observado também, que em muitos casos de transplantes alogênicos de indivíduos idênticos, havia uma maior incidência de retorno da leucemia e que em caso de pequenos mismatches havia uma redução na recidiva da doença (TANAKA et al., 2013). Uma alternativa em estudo, mas já em utilização em alguns casos, é o uso da alorreatividade das células NK no transplante com mismatch, como uma estratégia para otimizar o transplante de células-tronco hematopoiéticas e aumentar o efeito *GvL* de pacientes com LMA, principalmente, e também LLA.

2.2 COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE

No braço curto do cromossomo 6 (6p21.3) existem genes polimórficos e outros monomórficos na região denominada *MHC*, do inglês, *Major Histocompatibiliy Complex* (LAMM e OLAISEN, 1985). Em humanos, o *MHC* é denominado *HLA*, ou Sistema Gênico *HLA* (Antígeno Leucocitário Humano). (**Figura 5**)

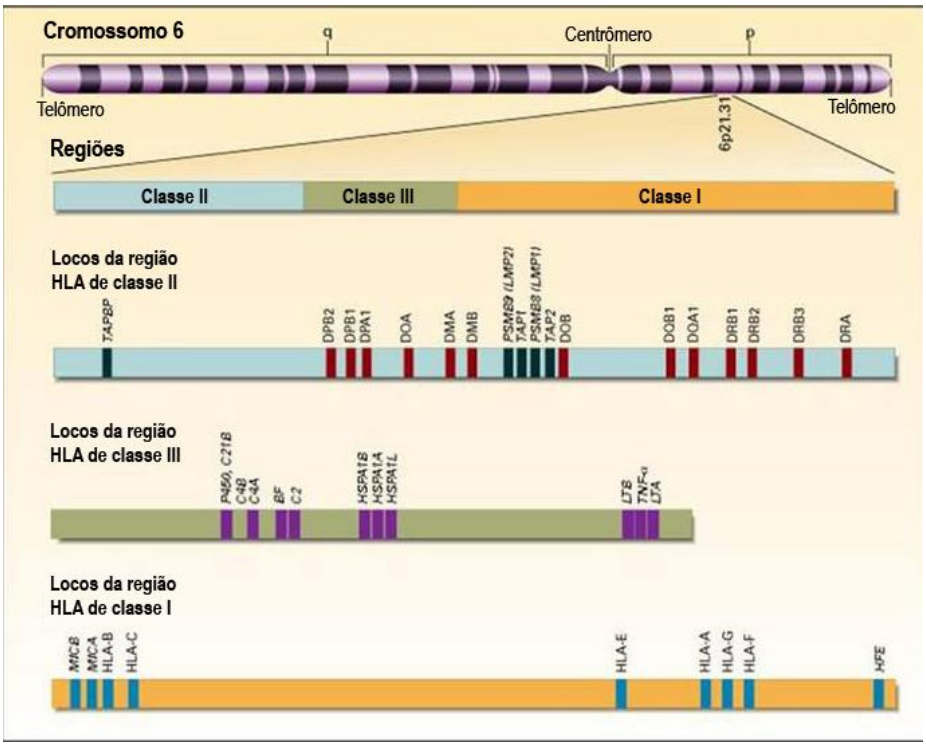


FIGURA 5: MAPA DO COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE (*MHC*) HUMANO. FONTE: http://e-gastroped.com.br/jun05/cel02.jpg

Os genes *HLA* são responsáveis pela síntese de produtos proteicos que apresentam um papel importante no reconhecimento de moléculas próprias e não próprias, seja durante a educação tímica dos linfócitos T e/ou no curso de infecções e transplantes de tecidos sólidos. Sua função apresentadora de peptídeos durante o reconhecimento imune frequentemente resulta em ativação de linfócitos T desencadeando uma reação de resposta imune positiva contra o agente patogênico ou a rejeição de tecidos órgãos transplantados (VAN DER VEN *et al.*, 2000).

Atualmente se considera que as proteínas *HLA* de Classe I participem de outros mecanismos de imunovigilância por meio da interação de epítopos presentes nas proteínas *HLA-G*, *HLA-C* e epítopos Bw4 com receptores específicos expressos na membrana das células *NK*.

O Sistema Gênico *HLA* codifica proteínas com propriedades imunológicas semelhantes, porém com estruturas distintas. Subdividem-se em:

- Genes *HLA* de Classe I: codificam proteínas de classe I, presentes em todas as células nucleadas, como, *HLA-A*, *HLA-B* e *HLA-C* referidas como moléculas clássicas ou Ia. Os genes *HLA-E*, *HLA-F* e *HLA-G* codificam produtos referidos como não-clássicos ou Ib. Esses produtos moleculares, constituídos por um polipeptídeo α, que contem três domínios (α1, α2 e α3), compõem uma estrutura tridimensional associando-se com um outro polipeptídeo, beta-2 microglobulina (β_2m), codificado por gene de mesmo nome situado no cromossomo 15. As proteínas *HLA* de Classe I interagem com linfócitos T citotóxicos ou $TCD8^+$ (TROWSDALE, 1987).

- Genes *HLA* de Classe II: *HLA-DR*, *HLA-DQ*, e *HLA-DP* codificam proteínas de classe II de mesmo nome, presentes na superfície de linfócitos T, linfócitos B e células apresentadoras de antígenos (APC), como macrófagos e células dendríticas. Esses produtos proteicos são heterodímeros constituídos por um polipeptídeo α, com dois domínios (α1 e α2), e um peptídeo β, também com dois domínios (β1 e β2) (TROWSDALE, 1987). As proteínas *HLA* de Classe II interagem com linfócitos T auxiliares ou $TCD4^+$, apresentando peptídeos exógenos de origem extracelular. Os produtos moleculares codificados pelos genes *HLA-DM*, *HLA-DZ/DO* não se expressam na membrana das células, mas participam de etapas importantes no carregamento e processamento dos peptídeos.
- Genes *HLA* de classe III, que contém vários genes, em sua maioria relacionados com funções imunes, dentre os quais os que codificam citocinas como a linfotoxina α (*LTA*), fator de necrose tumoral (*TNF*) e linfotoxina β (*LTB*), bem como genes que codificam proteínas do sistema complemento das vias clássicas, que interagem com o complexo antígeno-anticorpo para promover a lise celular na resposta humoral, e genes que codificam proteínas da via alternativa do complemento (*C2*, *BF* e *C4B*) (CARROLL *et al*., 1985), entre outros.

2.2.1 *HLA-G*

No final da década de 80 três novos genes *HLA* de Classe I foram descobertos e designados como genes *HLA* de Classe I não clássicos (Ib), compreendendo os seguintes genes: *HLA-E* (KOLLER *et al*., 1988), *HLA-F* (GERAGHTY *et al*., 1990) e *HLA-G* (GERAGHTY *et al*., 1987). Muitas características distinguem os genes não clássicos de classe Ib do sistema *HLA*, *HLA-G*, *-E* e *-F*, dos genes clássicos de classe Ia. Com exceção de *HLA-E* esses genes possuem diferentes mecanismos na sua regulação, que resulta numa distribuição restrita em determinados tecidos (GERAGHTY *et al*., 1987; MÉGRET *et al*., 2007), e todos eles possuem características que favorecem a tolerância imunológica (SULLIVAN *et al*., 2006)

Em 1987, Daniel Geraghthy e colaboradores realizaram a primeira clonagem do gene *HLA-G*. Charlie Loke, juntamente com Shirley Ellis e Susan Kovats, e seus respectivos colaboradores foram os primeiros a identificar a molécula de *HLA-G* em citotrofoblastos extravilosos (ELLIS *et al*., 1990; GRABOWSKA *et al*., 1990; KOVATS *et al*., 1990). Mais tarde, Phillippe Le Bouteiller confirmou que *HLA-G* é expresso em toda a interface materno fetal como: células trofoblásticas invasivas, células do endotélio vascular fetal, células do âmnion e do líquido amniótico (LE BOUTEILLER *et al*., 1999), sendo que sua ausência pode estar relacionada a abortos espontâneos (XEU *et al*., 2007). No mesmo ano, descreveram um mecanismo de ligação aos receptores inibidores das células *NK*, do tipo *Killer cell immunoglobulin like receptor* (*KIR*), especificamente ao receptor *KIR2DL4*, receptores inibidores leucocitários semelhantes às imunoglobulinas *LIR-1* e *LIR-2*, ou interagindo com a molécula *HLA-E,* que se liga ao receptor *CD94/NKG2* (NAVARRO *et al*., 1999).

A molécula de *HLA-G* é também observada em indivíduos saudáveis com expressão basal da proteína em sítios imunoprivilegiados, como por exemplo, no timo (CRISAL *et al*., 1997), na córnea (LE DISCORDE *et al*., 2003), em precursores eritróides e endoteliais (MENIER *et al*., 2004) e no pâncreas (CIRULLI *et al*., 2006).

Alguns tecidos tumorais expressam *HLA-G* na tentativa de evitar a resposta imune e inibir o ataque das células tumorais pelas células *NK* e linfócitos T citotóxicos, porém o grau de expressão da molécula varia de acordo com o tecido (ROUAS-FREISS *et al*., 2005).

De modo semelhante aos tumores, os vírus desenvolvem estratégias para não serem identificados pelo sistema imune. A indução da expressão da molécula de *HLA-G* por células infectadas por vírus pode ser um mecanismo adicional e induzido que o ajude a evitar as defesas do hospedeiro, como demonstrou Donaghy e colaboradores que verificaram que os

níveis de *HLA-G* solúvel são maiores em indivíduos portadores do *HIV* (DONAGHY *et al*., 2007).

Em algumas doenças auto-imunes e inflamatórias foi observada a presença de *HLA-G*, mostrando que a molécula pode contribuir para a diminuição da antigenicidade das células envolvidas nestas patologias (WIENDL *et al*., 2005; DIEPSTRA *et al*., 2008).

Devido às características imunológicas apresentadas pela molécula *HLA-G*, estudos indicam que a expressão de *HLA-G* por tecidos transplantados pode favorecer a sobrevida do enxerto e ainda pode indicar que a molécula pode ser usada para monitorar pacientes transplantados que aceitam os enxertos, podendo se beneficiar com a redução do tratamento imunossupressor (LEMAOULT *et al*., 2003; QIU *et al*., 2006).

2.2.1.1 Estrutura do Gene HLA-G

O estudo da estrutura gênica de *HLA-G* revelou sua similaridade com genes *HLA* de classe I (8 exons, 7 introns e 1 região 3'UTR) (GERAGHTY *et al.*, 1987). No entanto, uma discrepância observada entre os genes clássicos e o *HLA-G* foi a presença de um códon de término de tradução no sexto exon, o que resulta em uma proteína com uma cauda citoplasmática mais curta, com apenas 6 aminoácidos, logo após a sequência codificadora do domínio transmembrana, ao invés dos 30 apresentado pelas moléculas clássicas.

Os exons 2, 3 e 4 do gene *HLA-G* codificam os domínios α1, α2 e α3 da cadeia α da molécula *HLA-G*, sendo que os 2 primeiros domínios definem a fenda para ligação do peptídeo, enquanto no domínio α3 situam-se os epítopos ligantes para receptores *LIR-1* e *LIR-2*. Tais receptores são funcionalmente relacionados aos receptores inibidores *KIR* de células *NK*. A ligação de *LIR*s ou *KIR*s com moléculas de classe I resulta em sinais inibidores da ativação de células *NK*. Esta possível função é distinta daquela exercida pela região α3 nas moléculas de classe I clássicas, que é interagir com a β_2m (LEE *et al*., 1995; DIEHL *et al*., 1996). À semelhança dos antígenos *MHC* de Classe I clássicos nos quais certos resíduos estão em posições conservadas e situam-se em posições estratégicas para interação com linfócitos T $CD8^+$, essas regiões conservadas também são observadas na proteína *HLA-G* e *HLA-E* (GAO *et al*., 1997).

Em 1987, foram definidos 15 aminoácidos que poderiam interagir diretamente com o receptor de células T $CD8^+$, por estarem expostos no domínio de ligação do antígeno. Destes, 2 são altamente variáveis, 6 moderadamente variáveis e 7 conservados. Dentre esses últimos,

6 são idênticos entre *HLA-A2* e *HLA-G*, o que sugere que *HLA-G* possa participar de mecanismos efetores da resposta imune adaptativa, interagindo com linfócitos T citotóxicos (BJORKMAN *et al*., 1987).

A ausência da molécula *HLA-A*, para interagir com os receptores de células T no trofoblasto e a presença de moléculas *HLA-G*, são a base da hipótese de a proteína HLA-G participar de outra via de imunovigilância mediada por células *NK*, através da interação com receptores *KIR2DL4* expressos na membrana das células *NK* (KOVATS *et al.*, 1990), o que resultaria na tolerância fetal pelo organismo materno.

Além do mecanismo de prevenção da lise por células *NK* $CD56^+$, sugere-se que a proteína *HLA-G* possa induzir células Tγδ a suprimir a rejeição do feto via células T $CD8^+$ citotóxicas ou, ainda, por efeito supressor da proteína solúvel de *HLA-G* nas células T (DIEHL *et al*., 1996).

O transcrito do mRNA de *HLA-G* pode resultar em diferentes isoformas através de processamento alternativo. Algumas dessas isoformas são ligadas a membrana (*HLA-G1, G2, G3 e G4*) enquanto outras são isoformas solúveis (*HLA-G5, G6 e G7*) (LE BOUTEILLER e BLASCHITZ, 1999). As formas solúveis resultam da manutenção do íntron 2 ou 4 durante o processamento do mRNA. O transcrito maduro resultante possui um códon de término de tradução prematuro (UGA), que codifica uma proteína sem a região responsável pela ligação da molécula à membrana (BLASCHITZ *et al.*, 2005).

Moléculas *sHLA-G* (solúveis) são encontradas no sangue periférico de homens e mulheres saudáveis, no sangue do cordão umbilical e no fluido amniótico, sendo consideradas como mediadoras da tolerância imunológica e principalmente da tolerância materno-fetal (REBMANN *et al.*, 2001).

2.2.1.2 Polimorfismos do Gene *HLA-G*

2.2.1.2.1 Polimorfismos da Região Codificadora

Em consulta aos dados registrados no *IMGT/HLA*, em Maio de 2013, haviam sido descritos 50 alelos, 16 proteínas e 2 alelos nulos de *HLA-G*. Da mesma forma, o *Genbank*, banco de dados *online*, apresenta 29 variações nucleotídicas na região codificadora do gene *HLA-G*, sendo 17 sinônimas, 10 não sinônimas e 2 com a troca da matriz de leitura. Variações nucleotídicas não sinônimas estão distribuídas da seguinte maneira: 5 no exon 2, 3 no exon 3, 2 no exon 4; já os com troca de matriz de leitura estão: no exon 1 e no exon 3.

Algumas das variações na região codificadora do gene *HLA-G*, estão apresentadas na **Tabela 10**, o exon 1 não está representado, apesar de haver 2 polimorfismos descritos, pois estas variações ocorrem mais a 5' (*upstream*) do códon de início da tradução, na terceira base do codon -20 (G por A) e na terceira base do códon -13 (G por A).

Um dos alelos já descritos de *HLA-G* é *HLA-G**01:05N que apresenta uma deleção de citosina no exon 3, resultando em alteração na matriz de leitura (VAN DER VEN *et al*, 1994), e na produção de uma molécula *HLA-G1* truncada. Homozigotos para este alelo apresentam reprodução normal evidenciando que esta molécula não é essencial para a sobrevivência (OBER *et al*., 1998); no exon 3 ocorre também uma substituição não sinônima (alteração de aminoácido) que resulta no alelo *G**01:04 (revisado por HVIID, 2006), enquanto no exon 2 o alelo *G**01:03 apresenta uma substituição silenciosa de base, quando comparado a *G**01:01 e *G**01:02, porém não se afasta um possível códon de parada *upstrem* a esta variação nucleotídica (REBMANN *et al.*, 2001). Outra substituição de aminoácido ocorre no exon 4 formando o alelo *G**01:06 (revisado por HVIID, 2006).

TABELA 10: POLIMORFISMOS DE DNA DEFININDO OS ALELOS DE *HLA-G*

HLA-G alleles	5'URR/ promotor*		Exon 2					Exon 3					Exon 4				3'UTR* (nt 3741)
	–725	–201	31	35	54	57	69	93	100	107	110	130	188	236	241	258	
*G*010101*	C or G	G	ACG	CGG	CAG	CCG	GCC	CAC	GGC	GGA	CTC	CTG	CAC	GCA	TTC	ACG	–
*G*010102*	C	A	---	---	---	--A	---	--T	---	---	---	---	---	---	---	---	+14 bp
*G*010103*	C	A	---	---	---	--A	---	---	---	--T	---	---	---	---	-C-	---	+14 bp
*G*010104*	C	G	---	---	---	---	--T	---	---	---	---	---	nd	nd	nd	nd	nd
*G*010105*	nd	nd	---	---	---	---	---	---	---	--T	---	---	---	---	---	---	–
*G*010106*	nd	nd	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--T	---	---	---	nd
*G*010107*	nd	nd	---	---	---	--A	---	--T	---	--T	---	---	---	---	---	---	nd
*G*010108*	C	G	---	---	---	--A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	–
*G*0102*	nd	nd	---	---	-G-	---	---	---	---	---	---	---	---	--C	---	---	nd
*G*0103*	C (or T)	G	T--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--T	nd	nd	---	+14 bp
*G*010401*	C	A	---	---	---	--A	---	---	---	---	A--	---	---	---	---	---	–
*G*010402*	nd	nd	---	---	---	--C	---	---	---	---	A--	---	--T	---	---	---	nd
*G*010403*	nd	nd	---	---	---	---	---	---	---	---	A--	---	---	---	---	---	–
*G*0105N*	C	A	---	---	---	--A	---	--T	---	---	---	•TG	---	nd	nd	---	+14 bp
*G*0106*	C	A	---	---	---	--A	---	--T	---	---	---	---	---	---	---	-T-	+14 bp
*G*0101g*†	nd	nd	---	--A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	nd	nd	---	+14 bp
*G*G3d5*†	nd	nd	---	---	---	--A	---	--T	--T	---	---	---	---	nd	nd	---	+14 bp

FONTE: HVIID *et al.*, 2006.

2.2.1.2.2 Polimorfismos da Região Reguladora

Polimorfismos importantes também estão presentes nas regiões reguladora 5' e na região 3' não traduzida (5'*URR* e 3'*UTR*, respectivamente) sendo associados com a regulação gênica e níveis de expressão de *HLA-G* (HVIID *et al.*, 2006). As variações mais estudadas nestas regiões situam-se:

2.2.1.2.2.1 Polimorfismos da Região 5'*URR*

A região promotora de gene *HLA*-G apresenta 27 *SNPs*, descritos por HVIID *et al*,1999 e OBER *et al* 2003. Estes *SNPs* são encontrados na região reguladora de lócus e tecido específica (*LCR/TSRE*), bem como numa região *HSE*, e também em sítios de ligação com determinados fatores transcricionais (OBER *et al.*, 2003).

Na posição -725 observa-se a troca de bases, C por G ou por T (OBER *et al*., 2003). A troca por G já foi relacionada à regulação da expressão de *HLA-G*, uma vez que existe na posição -726 uma Citosina. Quando da ocorrência do citado polimorfismo (-725G) observa-se uma alteração no perfil de metilação dos dinucleotídeos CpG. Reportou-se que a maioria das células com o alelo -725G apresentavam -726C metilado, o que poderia influenciar a ligação de *IRF-1* no elemento regulatório específico de interferon, localizado a aproximadamente 10 pares de bases 3' dessa posição polimórfica (LEFEBVRE *et al.*, 1999; OBER *et al*., 2003).

Na posição -201, observa-se a troca de G por A nos alelos *HLA-G**01:01:02, *G**01:01:03, *G**01:04 e *G**01:05N. Nesta região localiza-se o *enh A*, onde se liga o fator transcricional NF-κB2, especificamente no sítio κB2 (HVIID *et al.*, 1999).

2.2.1.2.2.2 Polimorfismos da Região 3'*UTR*

Nesta região ocorre um polimorfismo de inserção/deleção de 14 pares de bases, no exon 8 (HARRISON *et al.*, 1993), que pode influenciar na estabilidade do mRNA (BOHJANEN *et al*., 1991). Hviid *et al*., 2003, observaram que há uma relação entre a deleção dessas bases e diferenças no *splicing* alternativo das isoformas de *HLA-G* e nos seus níveis de expressão.

As posições +3003 T/C, +3010 C/G, +3027 C/A, +3035 C/T (CASTELLI *et al.*, 2009), +3142 C/G (TAN *et al.*, 2007), +3187 A/G (YIE *et al.*, 2008) e +3196 C/G (CASTELLI *et al.*, 2009) estão associadas com atividade de regulação de expressão de *HLA-G* pela interação com microRNAs, envolvidos na regulação da expressão gênica pós-transcrição (CHUA *et al*., 2009). O alelo +3142G aumenta a afinidade com os microRNA *hsa-miR-148a*, *hsa-miR-148b* e *hsa-miR-152* fazendo uma regulação inibitória da expressão de *HLA-G* (TAN *et al.*, 2009), além de apresentar afinidade pelos microRNA *hsa-miR-19** e *hsa-miR-218-2* (CASTELLI, 2009) estando em desequilíbrio de ligação com o alelo -964G, do polimorfismo -964G/A; (TAN *et al.*, 2009); a adenina na posição +3187 *in vitro* foi associada a diminuição da estabilidade do mRNA, diminuindo a expressão de *HLA-G* (YIE *et al.*, 2008).

2.3 CÉLULAS NATURAL KILLER

Células Natural Killer (*NK*) são componentes da resposta imune inata, não reconhecendo um antígeno específico nos receptores expressos na membrana das células infectadas, e são classificadas como linfócitos, pela morfologia, expressão de marcadores linfoides e origem a partir de um progenitor de células linfoides na medula óssea. (revisado por VIVIER *et al*., 2011).

As *NK* são responsáveis pela síntese de citocinas e quimiocinas, como *IFN-γ, TNF-α* e fator estimulador de crescimento de granulócitos (*GM-CSF*) (PERUSSIA, 1996) necessárias para diferenciação, ativação e recrutamento de outras células do sistema imune. A ativação destas células ocorre na presença do processo de *missing self* (perda do próprio), descrito na década de 1980 (KARRE *et al*., 1986), no qual há perda da expressão de moléculas *MHC* classe I, onde estão os epítopos ligantes dos receptores inibidores das células *NK* (*KIR*). Quando os ligantes não estão presentes e dependendo do balanço entre receptores de inibição e ativação, a célula alvo será interpretada como em situação anormal o que resultará em atividade citotóxica da célula *NK* (SHIMIZU e DEMARS, 1989; LJUNGGREN e KARRE, 1990), sendo a ligação do receptor com a molécula *MHC* classe I vital para o reconhecimento e tolerância (revisado por PURDY e CAMPBELL, 2009).

Os principais receptores de células *NK* pertencem a três grandes famílias distintas: Família Lectina tipo C (*CD94/NKG2*); Receptores tipo imunoglobulinas (Ig) ligados a leucócitos (*Leukocyte Ig-like receptors*) (*LIR*); Receptores tipo imunoglobulinas ligados a *killer* (*killer Ig-like receptors*) (*KIR*) (ASHWORTH *et al.*, 1995). Estudos mostram que receptores ativadores como *NKG2* podem apresentar como ligantes moléculas *MHC* classe I, comprovando que células expressando determinadas moléculas *HLA* classe I em excesso podem se tornar alvo de uma ativação das células *NK* da mesma forma que no processo de *missing self* (DIEFENBACH *et al*., 2000; CERWENKA *et al*., 2002) (**figura 6**).

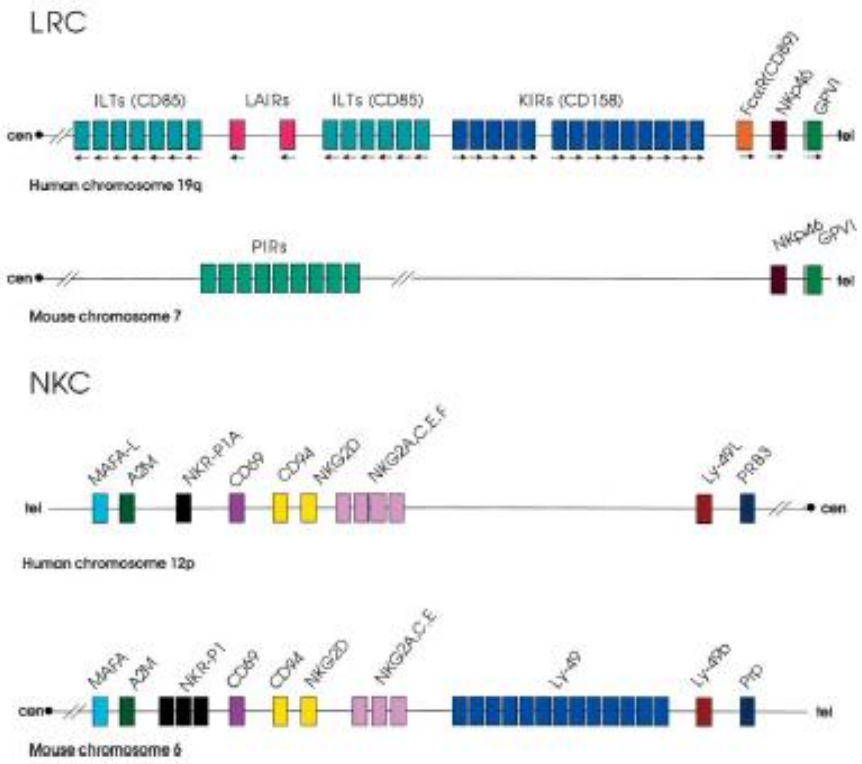


FIGURA 6: ORGANIZAÇÃO GENÔMICA DOS GENES RECEPTORES DAS CÉLULAS *NK*, EM HUMANOS E RATOS. FONTE: adaptado por WILSON *et al*., 2000

As células *NK* estão presentes em vários tecidos, no entanto, nem sempre apresentam os mesmos padrões de receptores expressos o que pode alterar sua funcionalidade. A diferença entre células *NK* do sangue periférico e as presente na decídua (tecido uterino invadido pela placenta) (*uNK*) são muito bem descritas (revisado por MALE *et al*., 2010) sendo que a principal discrepância refere-se ao receptor CD56, que em *NK* do sangue periférico é pouco expresso enquanto que nas *uNK* apresenta uma super-expressão, juntamente com grânulos citotóxicos e receptores *KIR* (KING *et al*., 1993; VERMA *et al*., 1997; SHARKEY *et al*., 2008). Os receptores ativadores *NKG2C-E, NKp30, NKp44* e *NKp46* são mais expressos nas *NK* do sangue periférico do que nas *uNK*, o que resulta em menor eficiência no monitoramento de células com baixa ou expressão deficiente de *MHC* de classe I, pela inabilidade de polarizar grânulos citotóxicos (KING *et al*., 1989; KOOPMAN *et al*., 2003; KOPCOW *et al*., 2005). A célula *uNK* é o mais numeroso componente celular do sistema imune presente na decídua (70%), seguida por macrófagos (20%) e linfócitos T (10%) (KING *et al*., 1991), principalmente durante a implantação e estabilização da placenta na decídua, sendo sugerido um papel de mediadora da invasão trofoblática (revisado por MALE *et al*., 2010).

A medula óssea derivada do doador contém células-tronco, células imunitárias, incluindo as células *NK* imaturas e maduras. As células *NK* maduras reconhecem e matam células tumorais, medeiam respostas imunitárias inatas para evitar infecções virais e bacterianas, e ajudam células T e B para coordenar as respostas imunes adaptativas anti-tumor. Além disso, as células-tronco derivadas do doador podem adquirir um fenótipo *NK* distinto pelo amadurecimento no ambiente *HLA* do hospedeiro (paciente). Células *NK*, também podem participar na regeneração de tecidos, incluindo as camadas de células epiteliais (**Figura 7**) (PALMER *et al*., 2013).

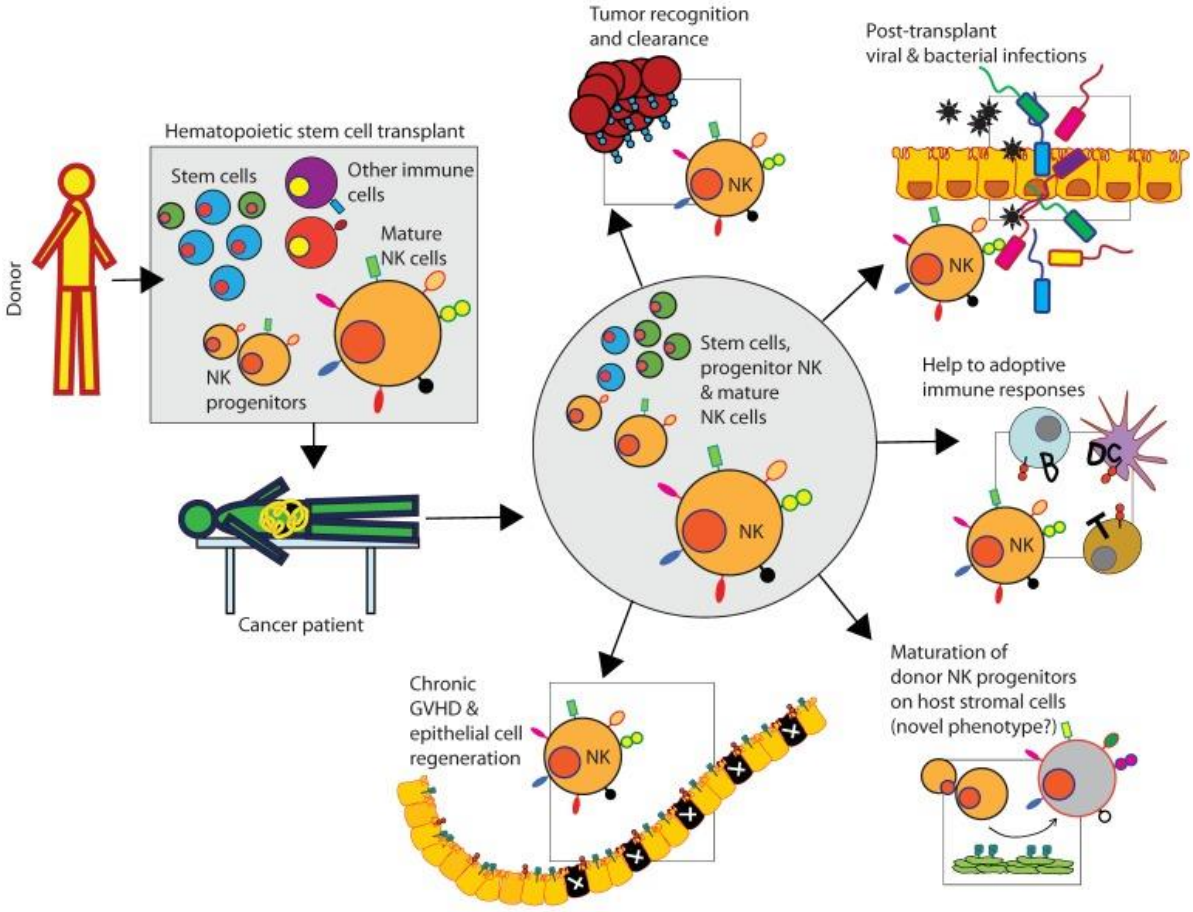


FIGURA 7: RELEVÂNCIA CLÍNICA DE CÉLULAS NK DERIVADAS DO DOADOR EM PACIENTES APÓS O TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS. FONTE: PALMER *et al*., 2013.

2.3.1 Genes KIR

O grupo de genes, que codificam para os receptores *KIR*, está localizado no braço longo do cromossomo 19 (19q13.4), no complexo de receptores de leucócitos (*leukocyte receptor complex*) (*LRC*) (SUTO *et al.*, 1996), onde estão também presentes outros genes que codificam receptores membros da super família das imunoglobulinas (Ig), como os transcritos como Ig (ILT), os receptores inibidores associados a leucócitos (*LAIR), FcαR* (CD89) e o receptor de citotoxicidade natural *NKp46* (WILSON *et al*., 2000).

As proteínas *KIR*, assim como as pertencentes à superfamília das Ig, contem dois ou três domínios extracelulares tipo Ig, e que podem apresentar uma região ou cauda citoplasmática curta (*short*) (S), que apresenta motivos ativadores baseados em imunoreceptores de tirosina (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs*) (*ITAM*), ou longa (*long*) (L), que apresenta motivos inibidores (*ITIM*) (OLCESE *et al.*, 1997; RAJAGOPALAN e LONG, 1999) (**Figura 8**).

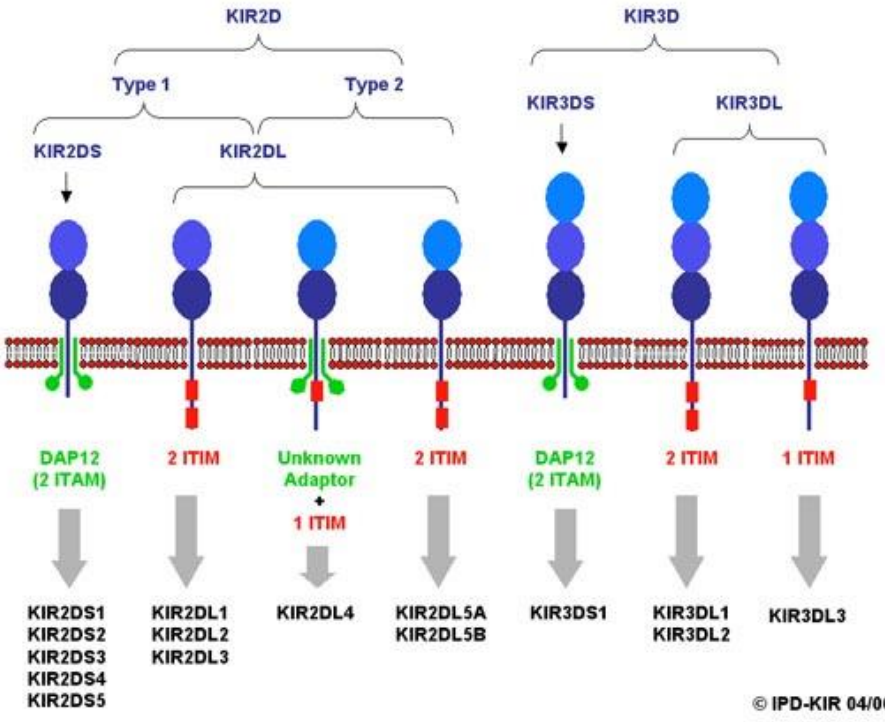


FIGURA 8: REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA DA PROTEÍNA KIR EM CADA GENE. FONTE: EBMT

As características de domínios e extensão da cauda citoplasmática são determinantes na nomenclatura destes genes, os quais são referidos pelo acrônimo *KIR* seguido pelos números 2 ou 3 , que identificam respectivamente -se o número de domínios extracelulares (2 ou 3) seguido pela letra D, que se refere a palavra do inglês *domain*,(domínio). Logo após faz-

se referência ao tamanho ou extensão da cauda citoplasmática que pode ser curta ou longa e identificada pelas letras (S : *Short*; ou L: *Long*). A informação seguinte é a do número do gene e informa a série cronológica nas quais essas sequências foram descritas (1-5). Em caso de grande similaridade entre as seqüências gênicas coloca-se uma letra posterior ao número (A ou B), resultando assim em uma nomenclatura autoexplicativa (GOMEZ-LOZANO *et al*, 2002) . Quando se tratar de um pseudogene após o D coloca-se a letra P, do inglês *pseudogene* (pseudogene),

No entanto, como exceção a essas normas da nomeclatura, o gene *KIR2DL4* apresenta motivos de inibição (*ITIM*) e ativação (*ITAM*) em sua cauda citoplasmática, o que lhe confere funções simultâneas de inibição e ativação .

Os alelos *KIR* tem denominação semelhante aos alelos *HLA*, com o nome do gene sendo separado do número do alelo por um (*), os 3 primeiros dígitos referentes a variações em regiões de exon (mudanças não sinônimas), os 2 dígitos seguintes variante sinônima dentro da seqüência do exon e os 2 últimos identificam polimorfismos encontrados nas regiões intrônicas, promotora ou não codificadora, ou seja, sem alteração na seqüência codificadora da proteína (MARSH *et al*., 2002) (**Figura 9**).

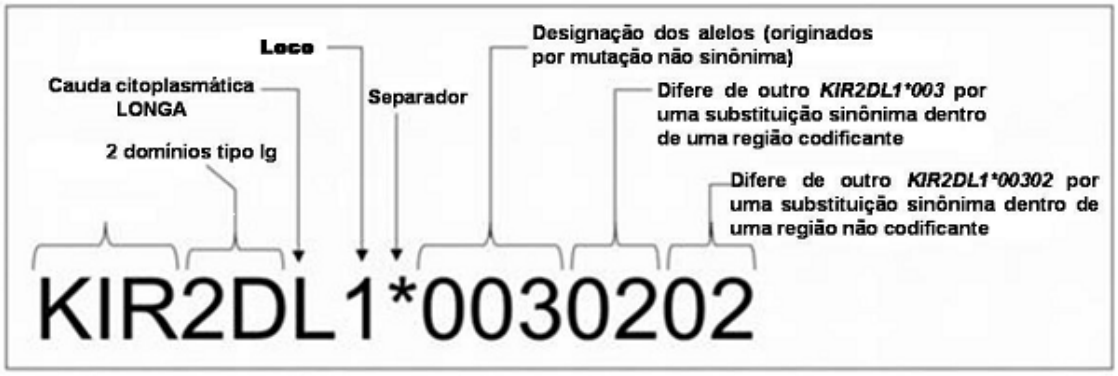


FIGURA 9: NOMENCLATURA DOS ALELOS *KIR*, ADOTADO PELO HUGO (*Human Genome Organization*). FONTE: EBMT.

Os genes *KIR* podem ser classificados em dois grupos de haplótipos: A e B.

O haplótipo do grupo A se caracteriza pela presença de apenas um gene ativador *KIR2DS4* e cinco genes inibidores *KIR2DL1, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3*. *KIR2DL4,* também presente nesse haplótipo pode expressar função ativadora ou inibidora (HSU *et al.*, 2002; MARTIN *et al.*, 2004) e dois pseudogenes (*KIR2DP1* e *KIR3DP1*) (UHRBERG *et al.,* 1997). No entanto, como em cada linhagem clonal pode ocorrer a

expressão diferencial dos genes do Haplótipo A, combinações e expressões distintas estão presentes em alguns clones onde inclusive poderá não haver expressão do ativador *KIR2DS4*.. O haplótipo A ainda pode ser subdividido em A-1D, com a presença o gene *KIR1D*, originado por uma deleção no gene *KIR2DS4* após sua fixação na população, que codifica para uma proteína solúvel com domínio de Ig intacto; ou A-2DS4, onde o gene *KIR2DS4* é observado. O subgrupo A-1D é mais freqüente em caucasóides (54%) quando comparado ao A-2DS4 (20%) (revisado por HSU *et al.*, 2002) (**Figura 10**).

O haplótipo B, contém sete genes juntamente com o *KIR2DL4*, considerados como ativadores (revisado por KHAKOO e CARRINGTON, 2006), os genes *KIR3DL2*, *KIR3DL3*, *KIR3DP1* e *KIR2DL4* são genes de moldura na organização gênica do grupo *KIR*, estando sempre presente nos Haplótipos A e B.(MARTIN *et al.*, 2000; VILCHES *et al.*, 2002) (**Figura 10**).

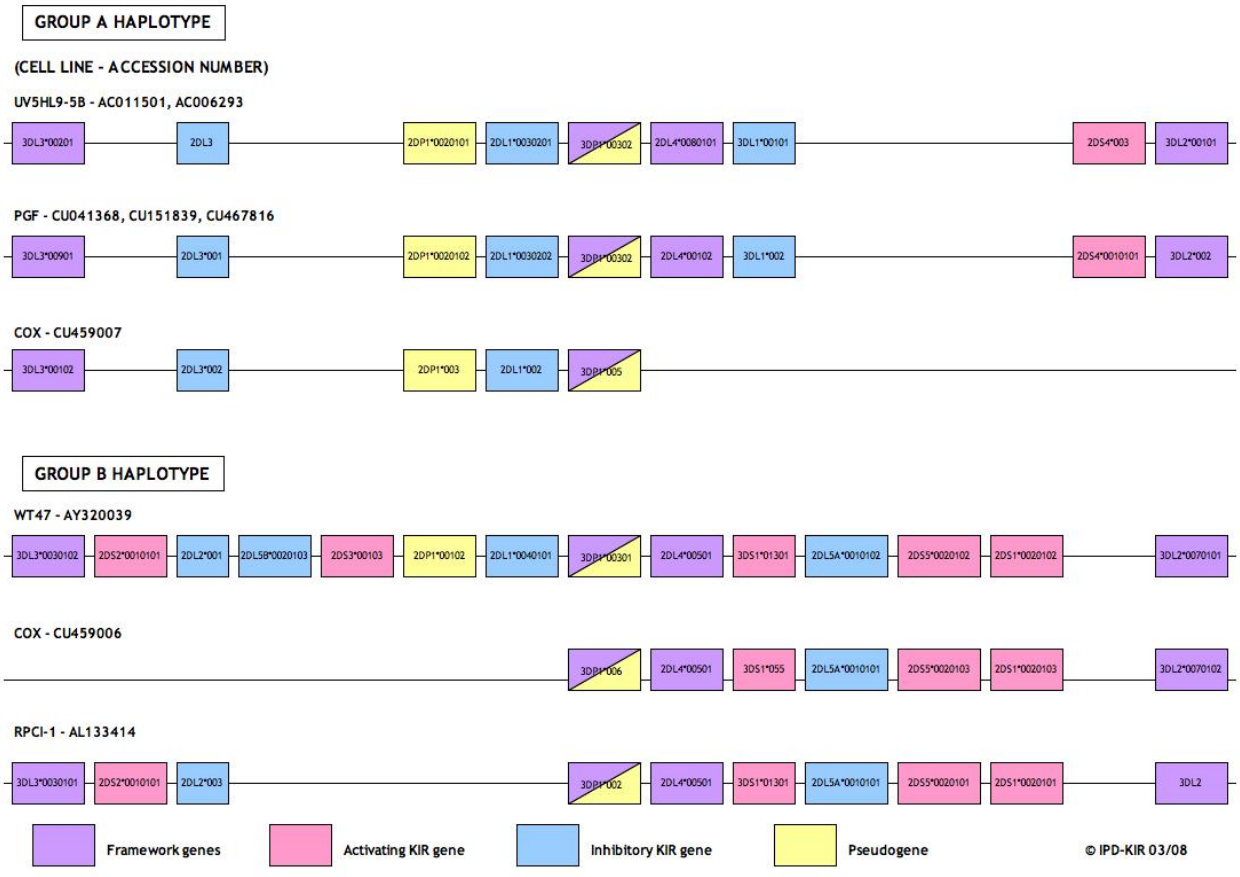


FIGURA 10: REPRESENTAÇÃO DOS DOIS GRUPOS DE HAPLÓTIPOS DOS GENES *KIR*.
FONTE: EBMT

2.3.1.1 Gene *KIR2DL4*

O gene *KIR2DL4* é composto por oito exons, sendo que o exon 4, responsável pela codificação do terceiro domínio da moléculas encontra-se deletado neste gene. Dessa forma o produto proteico resultante, apresenta 2 domínios (SELVAKUMAR *et al.,* 1996). Essa mesma deleção do exon 4 também é observada no gene *KIR2DL5* (VILCHES *et al.,* 2000). Os dois primeiros exons codificam o peptídeo sinal e os exons 3 e 5 codificam os dois domínios semelhantes à Ig. O domíno de união é codificado pelo exon 6, e o transmembrana pelo exon 7 enquanto os domínios citoplasmáticos são codificados pelos exons 8 e 9 (WILSON *et al.*, 1997). Por outro lado, a região promotora do gene *KIR2DL4,* apresenta elementos reguladores que lhe conferem uma regulação diferenciada dos outros genes *KIR* com os quais apresenta 69% de identidade (TROWSDALE *et al.*, 2001).

O receptor *KIR2DL4* apresenta função inibitória conferida motivos *ITIMs* presentes em sua porção citoplasmática. No entanto, um resíduo de asparagina em seu domínio transmembrana lhe confere uma característica de atividade ativadora (RAJAGOPALAN *et al.*, 2001; KIKUCHI-MAKI *et al.*, 2003), uma vez que ocorre uma sinalização dependente do contexto onde se liga à epítopos presentes no antígeno leucocitário humano-G (*Human Leukocyte Antigen*) (*HLA-G*), ligante específico deste receptor (PONTE *et al.*, 1999). Este gene somente é expresso em células *NK* com alta expressão do receptor CD56 (uNK), tendo uma função mais ativadoras de produção de citocinas do que citotoxicidade, porém ao invés da interação com a proteína adaptadora *DAP12* como ocorre nos receptores ativadores com cauda citoplasmática curta, no receptor *KIR2DL4* a interação é com a proteína adaptadora *FcεRI-γ* (RAJAGOPALAN *et al*., 2001).

O gene *KIR2DL4* tem sido associado a patologias relacionadas à reprodução (Li *et al*., 2008), o que poderia ser atribuído ao papel desempenhado por seu ligante, HLA-G, durante o curso gestacional.

A relação com patologias relacionadas ao sistema imunológico fundamenta-se, provavelmente, na função de inibição e ativação da atividade das células NK, células com função de controle das infecções virais e alterações neoplásicas.

2.3.1.1.1 Polimorfismos do Gene *KIR2DL4*

KIR2DL4 apresenta 46 variações alélicas, que codificam para 22 proteínas diferentes. Até o presente momento nenhum alelo nulo foi descrito, segundo consulta ao banco de dados EMBL.

Na **Tabela 11**, pode-se observar algumas das variações descritas na região codificadora do gene *KIR2DL4*. Os éxons com polimorfismos são o exon 3, o 5 e o 9. No exon 7 a primeira base do códon 248 (A) apresenta-se deletada em alguns alelos, o que resulta em uma troca de matriz a partir do éxon 8, produzindo uma proteína com a cauda citoplasmática truncada e com perda da região transmembrana, sem expressão do receptor na superfície da membrana da célula *NK*, devido a esta variação há uma influência direta deste polimorfismo na expressão dos receptores *KIR2DL4*, sendo o alelo 9A (com a base deletada) associado a baixos níveis de receptores na membrana das *NK* e o alelo 10A (base presente) associado a níveis normais de receptores na membrana das *NK* (GOODRIGGE *et al*., 2003).

TABELA 11: ALELOS *KIR2DL4*

AA Codon	16	22	27	30	32	45	64	66	72	78	109	115	137	146	153	161	174	182	186	206	231	234	4	48	257	273	316	317	318	321	344	347	348
	GCT	GGA	CGG	TAT	CGT	GTC	GTG	CCA	TAC	CAC	CCG	ACA	GAA	CCT	GAC	CTG	GGC	GAA	GCG	ACT	TTT	CTT	A	AT	GCG	CAG	AGA	GCG	TTG	GCC	CTT	TCT	AAT
2DL4*00101	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	--A	---	---	---	---
2DL4*0010201	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	--A	---	---	---	---
2DL4*0010202	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	--A	---	---	---	---
2DL4*0010301	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0010302	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0010303	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0010304	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0010305	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0010306	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0010307	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0010308	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*00104	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*00105	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	---	--C	---	-	-	--A	---	---	---	--A	---	---	---	---
2DL4*00201	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--	---	---	---	---	---	--G	C--	---	---	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*00202	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	---	---	---	-	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*003	---	---	---	---	---	---	C-	-T	---	---	---	---	--G	---	---	---	---	--G	---	-A	--C	--C	G	---	---	---	---	---	--A	--G	---	--C	C-
2DL4*004	---	---	---	---	---	---	C-	---	---	---	---	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	-A	--C	---	-	---	---	---	---	---	---	--G	---	--C	C-
2DL4*00501	---	---	---	-G-	---	---	---	---	---	---	---	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	---	--C	---	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*00601	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	-A	--C	---	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*00602	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	---	--C	---	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*007	---	---	---	---	---	---	---	---	A--	-G-	---	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	---	---	---	-	---	---	---	-T	---	---	---	***	***	***
2DL4*0080101	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	---	---	---	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0080102	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	---	---	---	-	---	---	---	---	C-	---	---	---	---	---
2DL4*0080103	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	---	---	---	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0080104	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	---	---	---	-	---	---	---	---	---	---	---	T--	---	---
2DL4*0080105	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--	--G	---	---	---	---	--G	C--	---	---	---	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2DL4*0080201	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--	---	---	---	---	---	--G	C--	---	---	---	-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

FONTE: EMBL

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão serão apresentados na forma de um artigo científico a ser submetido ao periódico *Tissue Antigens*.

Study of KIR2DL4 and HLA-G binding profile in patients with indication of hematopoietic stem cell transplantation: acute myeloid leukemia *vs* acute lymphoblastic leukemia

Carlos Eduardo Ibaldo Gonçalves[1], Pablo Carvalho Santos[1], Maria da Graça Bicalho[1]

[1] Laboratory of Immunogenetics and Histocompatibility, Genetics Department, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil

Correspondence to Prof. Maria da Graça Bicalho
Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade,
Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná
R. Cel. Francisco H. dos Santos S/N
Centro Politécnico – Jardim das Américas
CP 19071, CEP 81.530.990, Curitiba –PR, Brazil
Tel: +55 41 3361 1729, Fax: +55 41 3266 2042
e-mail: ligh@ufpr.br

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the KIR2DL4 profile and its ligand HLA-G in patients with Acute Myeloid Leukemia, Acute Lymphoblastic Leukemia and their nuclear families in a south Brazilian population to analyze possible differences in allelic or genotypic variation between these three groups and contribute to the understanding of mechanisms of alloreactivity mediated by NK cells associated to the GvL effect. The HLA-G and KIR2DL4 genes were genotyped by direct DNA sequencing. HLA-G alleles were defined by nucleotide sequence variations at exons 2, 3 and 4. KIR2DL4 alleles were defined by nucleotide sequence variations at exons 3, 5, 7, 8 and 9.

There is a suggestion that the frequency of the allelic association *HLAG*01:01:02 KIR2DL4*00102* is increased in the group of patients with Acute Myeloid Leukemia in relation to the group of patients with Acute Lymphoblastic Leukemia and the non-patients group.

Keywords: HLA-G, KIR2DL4, leukemia, acute myeloid leukemia, acute lymphoblastic leukemia, GvL effect.

INTRODUCTION

The acute myeloid leukemia (AML) is an heterogeneous group of clonal diseases of hematopoietic tissue, which is characterized by abnormal proliferation of myeloid lineage progenitor cells (myeloblasts), resulting in insufficient production of normal mature blood cells, with consequent replacement of normal tissue.[1,2] AML is a disease primarily of adults [3,4,5], with a worse prognosis, especially in elderly patients.[6] Acute lymphoblastic leukemia (ALL), another heterogeneous group of clonal diseases of hematopoietic tissue, is a cancer of white blood cells characterized by abnormal proliferation of lymphoblastic progenitor cells (lymphoblasts) and affects both children and adults, with peak prevalence between the ages of 2 and 5 years.[7]

Clinical observations after transplantation of Hematopoietic Stem Cells (HSC) in patients with AML suggest that the alloreactivity of donor Natural Killer cells (NK), whose primary targets are the patient's hematopoietic cells, results in a Graft versus Leukemia effect (GvL) and a lower incidence of Graft versus Host Disease (GvHD).[8,9,10]

The alloreactivity of NK cells has been defined by the absence of the Class I Major Histocompatibility Complex (MHC) ligand in the patient for inhibitory Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor (KIR) present in the donor NK cells. The clinical benefits of this alloreactivity are not conclusive and more studies focusing on this topic are needed.[9,11,12]

Studies on the genetic and clinical donor-patient alloreactivity profile may contribute to the understanding of mechanisms associated to the GvL and will also be useful in defining strategies for conditioning and immunosuppressive treatment of the patient post-transplant.

The Class I MHC molecules are critical in determining the functional activity of NK cells. The Human Leukocyte Antigen “G” (HLA-G) has been reported as an important modulator of immune tolerance as a result of interactions between KIR and allotypic motifs or epitope bindings present in the alpha helix of HLA-G protein, which inhibit the natural cytotoxicity mediated by NK cells.[13] Several models and directions KIR/Ligand-donor/patient or KIR/Ligand-patient/donor have been investigated to understand the mechanisms and impact of KIR-ligand interaction in the context of HSC transplantation.[8,14,15,16,17]

Genetic variations that impact on diversity and/or intensity of KIR-ligand interactions could influence the transplant process. Allelic variants of HLA-G have been associated with increased or decreased expression of HLA-G protein.[18,19,20] In addition, the expression of allelic variants of NK cell KIR2DL4 receptors might also affect such interactions.

Thus, it is expected that variations in nucleotide coding regions of HLA-G that alter their expression, plus allelic variants of KIR2DL4 that alter the affinity of the receptor with its specific ligand, result in differences in the levels of produced cytokines and consequently the acceptance process of the allograft.

The objective of this work was to evaluate the KIR2DL4 profile and its ligand HLA-G in patients with AML, ALL and their nuclear families to analyze possible differences in allelic or genotypic variation between these three groups and contribute to the understanding of mechanisms of alloreactivity mediated by NK cells associated to the GvL effect.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

The subject consists of 24 patients (9 underwent transplantation) of the Erasto Gaertner Hospital (Curitiba, Paraná State, southern Brazil), diagnosed with AML and 28 ALL patients (5 underwent transplantation) who have indication of bone marrow transplantation and the nuclear family (non-patients), totaling 216 individuals.

Extraction of DNA

The extraction of genomic DNA samples was performed by salting out technique, described by Lahiri and Nurnberger.[21] Thereafter, optical density reading and the verify of the purity was performed to dilute the samples to a use concentration of 50 ng /µl of DNA. The storage of the samples was performed at -80°C.

Genotyping of HLA-G

PCR was carried out containing a final volume of 50µl, composed of 10X Taq buffer, 0.45 pmol of each dNTP (Invitrogen), 2 mM MgCl, 2U Taq (Invitrogen), 20 pmol of each primer specific for each fragment and 50 ng of DNA. HLA-G exons 2, 3 and 4 were amplified using three pairs of primers (*Forward:* GGGTCGGGCGGGTCTCAA and *Reverse:* TCCGTGGGGCATGGAGGT, for exon 2, *Forward:* CTCTCCTTGTGCTAGGCCAGGCTG e *Reverse:* CCCAGACCCTCTACCTGGGAGA, for exon 3, *Forward:* CCATGAGAGATGCAAAGTGCT e *Reverse:* TGCTTTCCCTAACAGACATGAT, for exon 4) and size of the fragments 588, 456 and 364bp, respectively, as described by CASTELLI and collaborators.[22] The PCR followed the conditions of an initial denaturation at 94°C for 5', 35 cycles of denaturation at 94°C for 30", annealing at 66°C (exon2), 70ºC (exon 3) and 62ºC (exon 4) for 30", elongation at 72°C for 2' and a final elongation at 72°C

for 5'. Confirmation of the amplification was displayed on 1% agarose gel. Then, ten microliters of PCR product were purified using 20 units of Exonuclease (EXOI) (United States Biochemical - USB, Staufen, Germany), 4 units of Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) (USB Corporation, Staufen, Germany) and 1X SAP Buffer (USB Corporation, Staufen, Germany) at 37°C for 60' for enzyme activation and at 80°C for 15' for enzyme deactivation. The sequencing of HLA-G used the same primers of the amplification. The reaction used the kit *Big Dye* v.3.1 ABI PRISM ® (Applied Biosystems, CA, USA) and conditions were an initial denaturation at 96°C for 1', 35 cycles of denaturation at 96°C for 15", annealing at 54°C for 15" and elongation at 60°C for 2'. The amplification product were purified with ethanol and analysis occured in the ABI3130 sequencer (Applied Biosystems, CA, USA), the electropherograms were analyzed by the program *SeqAnalyses* (Applied Biosystems, CA, USA).

Genotyping of KIR2DL4

PCR was carried out containing a final volume of 50µl, composed of 10X Taq buffer, 0.45 pmol of each dNTP (Invitrogen), 2 mM MgCl, 2U Taq (Invitrogen), 10 pmol of primer specific for fragment 3-5 and 20 pmol of primer for fragment 7-9 and 50 ng of DNA. KIR2DL4 gene was amplified in two fragments (exons 3-5 and 7-9) using two pairs of primers (*Forward*: TGGTCAGGACAAGCCCTTCTGC and *Reverse*: TCCTCACCTGTGACAGAAACAG, to exon 3-5; *Forward*: CCTGCATGCTGTGATTAGGTA and *Reverse*: TCAGATTCCAGCTGCTGGTAC, to exon 7-9), with annealing temperature of 63°C, and size of the fragments 1464bp and 982bp, respectively, as described by Zhu and collaborators.[23] The PCR followed the conditions of an initial denaturation at 95°C for 5', 35 cycles of denaturation at 95°C for 30", annealing at 63°C for 30", elongation at 72°C for 2'40" and a final elongation at 72°C for 5'. Confirmation of the amplification was displayed on 1% agarose gel. Then, ten microliters of PCR product were purified using 20 units of Exonuclease (EXOI) (United States Biochemical - USB, Staufen, Germany), 4 units of Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) (USB Corporation, Staufen, Germany) and 1X SAP Buffer (USB Corporation, Staufen, Germany) at 37°C for 60' for enzyme activation and at 80°C for 15' for enzyme deactivation. Since the amplification product of the exons of the gene KIR2DL4 were large, even containing introns, internal primer pairs were used in the sequencing (Forward: TGGTCAGGACAAGCCCTTCTGC and Reverse: CTGTGACCATGATCACCAGGG, to exon 3; Forward: TATATGAGAAACCTTCGCTTA and Reverse: TCCTCACCTGTGACAGAAACAG, to

exon 5; Forward: CCTGCATGCTGTGATTAGGTA and Reverse: TCTGTGAGCTGAAGGCAGGGG, to exon 7; and Forward: TCAGGATTTCCCTCTCTCCAG and Reverse: TCAGATTCCAGCTGCTGGTAC, to exon 9). The reaction used the kit *Big Dye* v.3.1 ABI PRISM ® (Applied Biosystems, CA, USA) and conditions were an initial denaturation at 96°C for 1', 35 cycles of denaturation at 96°C for 15", annealing at 54°C for 15", elongation at 60°C for 4' and a final elongation at 72°C for 5'. The amplification product were purified with ethanol and analysis occured in the ABI3130 sequencer (Applied Biosystems, CA, USA), the electropherograms were analyzed by the *SeqAnalyses* program (Applied Biosystems, CA, USA).

Statistical analysis

The allele and genotypic frequencies were obtained by direct counting through the ARLEQUIN version 3.1 program (EXCOFFIER et al., 2006). The same program were used for the values of linkage disequilibrium and confirmation of Hardy-Weinberg equilibrium.

The comparison of allele frequencies and genotypes between the groups was performed using Fisher's exact test, using the InStat 3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). The differences were statistically significant (indicating association) when $p \leq 0.05$. For the comparisons statistically significant, the OR was calculated, with confidence interval of 95%.

The corresponding p-values were corrected (pc) for the number of HLA-G and KIR2DL4 alleles and genotypes tested in this study population.

RESULTS

Allelic frequencies

Ten different HLA-G alleles were observed in our study. The distributions of the alleles are shown and compared between groups in Table 1. No significant differences were observed in the comparisons of allelic frequencies between groups of patients with AML and ALL and non-patients.

Table 1. *Distribution of HLA-G allelic frequencies in patients with acute myeloid leukemia (AML, n=24), in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL, n=28), in total patients (P, n=52) and in non-patients (NP, n=164).*

HLA-G	AML	ALL	P	NP
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
G*01:01:01	17 (35.4)	26 (46.4)	43 (41.3)	148 (45.1)
G*01:01:02	10 (20.8)	6 (10.7)	16 (15.4)	45 (13.7)
G*01:01:03	3(6,3)	1 (1.8)	4 (3.8)	15 (4.6)
G*01:01:14	1 (2.1)	1 (1.8)	2 (1.9)	5 (1.5)
G*01:01:17	0 (0)	1 (1.8)	1 (0.9)	1 (0.3)
G*01:03:01	3 (6,3)	6 (10.7)	9 (8.6)	30 (9.1)
G*01:04:01	8 (16.7)	6 (10.7)	14 (13.5)	38 (11.6)
G*01:04:04	2 (4.2)	3 (5.4)	5 (4.8)	18 (5.5)
G*01:05N	1 (2.1)	2 (3.6)	3 (2.9)	9 (2.7)
G*01:06	3 (6.3)	4 (7.1)	7 (6.7)	19 (5.8)
All alleles	48 (100)	56 (100)	104 (100)	328 (100)

Statistical significance between groups was assessed using Fisher's exact test.

Eight different KIR2DL4 alleles were observed in our study. The distributions of the alleles are shown and compared between groups in Table 2. No significant differences were observed in the comparisons of allelic frequencies between groups of patients with AML and ALL and non-patients after p-value correction.

Table 2. *Distribution of KIR2DL4 allelic frequencies in patients with acute myeloid leukemia (AML, n=24), in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL, n=28), in total patients (P, n=52) and in non-patients (NP, n=164).*

KIR2DL4	AML	ALL	P	NP
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
K*00102	15 (31.3)[b]	7 (12.5)[ab]	22 (21.2)	80 (24.4)[a]
K*00103	2 (4.2)	5 (9.0)	7 (6.7)	29 (9.0)
K*00501	11 (23.0)	14 (25.0)	25 (24.0)	68 (20.7)
K*00601/00602	1 (2.0)	2 (3.6)	3 (2.9)	11 (3.4)
K*00801	7 (14.6)	12 (21.4)	19 (18.3)	56 (17.1)
K*00802	6 (12.5)	9 (16.0)	15 (14.4)	51 (15.5)
K*011	6 (12.5)	5 (9.0)	11 (10.6)	31 (9.5)
K*022	0 (0)	2 (3.6)	2 (1.9)	2 (0.6)
All alleles	48 (100)	56 (100)	104 (100)	328 (100)

Fisher's exact test; p_a = 0.0570, corrected for number of alleles: pc_a = 0.4560; p_b = 0.0292, corrected for number of alleles pc_b = 0.2336

Genotypic Frequencies

It were found thirty six different genotypes for HLA-G and thirty diverse genotypes for KIR2DL4. The distributions of the genotypes are shown and compared between groups in Table 3 (HLA-G) and Table 4 (KIR2DL4). Genotypes were found in very low frequencies in all groups and all of them were in Hardy-Weinberg equilibrium. There were no significant differences after p-value correction for any HLA-G and KIR2DL4 genotype.

Table 3. *Distribution of HLA-G genotypic frequencies in patients with acute myeloid leukemia (AML, n=24), in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL, n=28), in total patients (P, n=52) and in non-patients (NP, n=164).*

HLA-G	LMA	LLA	P	NP
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
G*01:01:01 G*01:01:01	4 (16.7)	5(17.9)	9 (17.3)	29 (17.7)
G*01:01:01 G*01:01:02	3 (12.5)	5 (17.9)	8 (15.4)	24 (14.6)
G*01:01:01 G*01:01:03	1 (4.2)	1 (3.6)	2 (3.8)	8 (4.9)
G*01:01:01 G*01:01:14	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.8)
G*01:01:01 G*01:01:17	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	1 (0.6)
G*01:01:01 G*01:03:01	0 (0)	3 (10.7)	3 (5.8)	13 (7.9)
G*01:01:01 G*01:04:01	2 (8.3)	2 (7.1)	4 (7.7)	21 (12.8)
G*01:01:01 G*01:04:04	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	6 (3.7)
G*01:01:01 G*01:05N	1 (4.2)	1 (3.6)	2 (3.8)	4 (2.4)
G*01:01:01 G*01:06	2 (8.3)	2 (7.1)	4 (7.7)	10 (6.1)
G*01:01:02 G*01:01:02	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.8)
G*01:01:02 G*01:01:03	1 (4.2)	0 (0)	1 (1.9)	2 (1.2)
G*01:01:02 G*01:01:14	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
G*01:01:02 G*01:03:01	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.8)
G*01:01:02 G*01:04:01	**4 (16.7)^{ab}**	**0 (0)^{b}**	**4 (7.7)^{c}**	**2 (1.2)^{ac}**
G*01:01:02 G*01:04:04	1 (4.2)	0 (0)	1 (1.9)	2 (1.2)
G*01:01:02 G*01:05N	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
G*01:01:02 G*01:06	1 (4.2)	1 (3.6)	2 (3.8)	4 (2.4)
G*01:01:03 G*01:03:01	1 (4.2)	0 (0)	1 (1.9)	2 (1.2)
G*01:01:03 G*01:04:04	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
G*01:01:03 G*01:05N	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
G*01:01:03 G*01:06	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
G*01:01:14 G*01:03:01	1 (4.2)	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)
G*01:01:14 G*01:04:01	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	1 (0.6)
G*01:03:01 G*01:03:01	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.2)
G*01:03:01 G*01:04:01	1 (4.2)	1 (3.6)	2 (3.8)	5 (3.0)
G*01:03:01 G*01:04:04	0 (0)	2 (7.1)	2 (3.8)	2 (1.2)
G*01:03:01 G*01:05N	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
G*01:04:01 G*01:04:01	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.2)
G*01:04:01 G*01:04:04	1 (4.2)	0 (0)	1 (1.9)	3 (1.8)
G*01:04:01 G*01:05N	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	0 (0)
G*01:04:01 G*01:06	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	2 (1.2)
G*01:04:04 G*01:04:04	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
G*01:04:04 G*01:05N	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
G*01:04:04 G*01:06	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
G*01:05N G*01:06	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
All Genotypes	24 (100)	28 (100)	52 (100)	164 (100)

Fisher's exact test; p_a = 0.0026, corrected for number of alleles: pc_a = 0.0949; p_b = 0.0393, pc_b = 1.4148; p_c = 0.0309, pc_c = 1.1124

Table 4. *Distribution of KIR2DL4 genotypic frequencies in patients with acute myeloid leukemia (AML, n=24), in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL, n=28), in total patients (P, n=52) and in non-patients (NP, n=164).*

KIR2DL4	LMA	LLA	P	NP
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
K*00102 K*00102	1 (4.2)	0 (0)	1 (1.9)	9 (5.5)
K*00102 K*00103	1 (4.2)	1 (3.6)	2 (3.8)	6 (3.6)
K*00102 K*00501	6 (25.0)	2 (7.1)	8 (15.4)	17 (10.4)
K*00102 K*00601/00602	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	4 (2.4)
K*00102 K*00801	2 (8.3)	1 (3.6)	3 (5.8)	16 (9.8)
K*00102 K*00802	1 (4.2)	1 (3.6)	2 (3.8)	8 (4.9)
K*00102 K*011	3 (12.5)	0 (0)	3 (5.8)	10 (6.1)
K*00102 K*022	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	1 (0.6)
K*00103 K*00103	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.2)
K*00103 K*00501	1 (4.2)	1 (3.6)	2 (3.8)	8 (4.9)
K*00103 K*00601/00602	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
K*00103 K*00801	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	4 (2.4)
K*00103 K*00802	0 (0)	2 (7.1)	2 (3.8)	4 (2.4)
K*00103 K*011	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.2)
K*00501 K*00501	1 (4.2)	3 (10.7)	4 (7.7)	7 (4.3)
K*00501 K*00601/00602	1 (4.2)	0 (0)	1 (1.9)	1 (0.6)
K*00501 K*00801	1 (4.2)	4 (14.3)	5 (9.6)	14 (8.5)
K*00501 K*00802	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (6.1)
K*00501 K*011	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	4 (2.4)
K*00601/00602 K*00801	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
K*00601/00602 K*00802	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.2)
K*00601/00602 K*011	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	2 (1.2)
K*00801 K*00801	2 (8.3)	1 (3.6)	3 (5.8)	5 (3.0)
K*00801 K*00802	0 (0)	2 (7.1)	2 (3.8)	5 (3.0)
K*00801 K*011	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	6 (3.6)
K*00801 K*022	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	0 (0)
K*00802 K*00802	1 (4.2)	2 (7.1)	3 (5.8)	9 (5.5)
K*00802 K*011	3 (12.5)	0 (0)	3 (5.8)	4 (2.4)
K*011 K*011	0 (0)	1 (3.6)	1 (1.9)	1 (0.6)
K*011 K*022	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.6)
All Genotypes	24 (100)	28 (100)	52 (100)	164 (100)

Statistical significance between groups was assessed using Fisher's exact test.

HLA-G and KIR2DL4 allelic profile

It were found sixty two different allelic associations between HLA-G e KIR2DL4 in this population. The distribution of some allelic associations are shown and compared between groups in Table 5. After p-value correction, only one data was significant, the association *G*01:01:02 K*00102* was increased in the group of patients with AML and their families (p_a = 0.00015; pc_a = 0.0093; OR = 6.1702, 2.0909 ≤ 95% CI ≤ 18.2078).

Table 5. *HLA-G and KIR2DL4 allelic frequencies association in patients with acute myeloid leukemia (AML, n=24), in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL, n=28), and in non-patients (NP, n=164).*

HLA-G/KIR2DL4	Presence of combination			AML x NP	ALL x NP	AML x ALL	GAML x GALL
	AML	ALL	NP	p-value	p-value	p-value	p-value
G*01:01:02 K*011	5	1	8	0,0139	0,6135	0,0743	0,0473
G*01:01:01 K*00103	0	6	25	0,0309	0,2839	0,0229	0,0017
G*01:01:02 K*00102	7	0	17	0,0176	0,0665	0,0039	0,00015[a]
G*01:04:01 K*011	4	1	9	0,0547	0,5589	0,1401	0,0024

Allelic frequencies associations with p-value ≤ 0.05 between groups, before p-value correction.

p_a = 0.00015; pc_a = 0.0093; OR = 6.1702, 2.0909 ≤ 95% CI ≤ 18.2078

GAML = Group of AML patients and their families; GALL = Group of ALL patients and their families.

HLA-G and KIR2DL4 genotypic profile

HLA-G and KIR2DL4 genotypic associations were found in 143 diverse combinations and in very low frequencies. None of the genotypic associations were found with significant different frequencies. However, we can see in Table 6 that the genotype showed an interesting imbalance of heritage of HLA-G, always equal between patient and donor (or other related with the same HLA haplotype) in the population of 14 patients (from total 52) that underwent transplantation, and KIR2DL4, variable.

Table 6. *HLA-G and KIR2DL4 genotypic profile in patients with AML (9) and ALL (5) that underwent transplantation and their donors*

	Patient HLA-G	Patient KIR2DL4	Donor HLA-G	Donor KIR2DL4
AML	G*01:01:01 G*01:01:01	K*00102 K*00501	G*01:01:01 G*01:01:01	K*00102 K*00802
	G*01:01:01 G*01:04:01	K*00501 K*00501	G*01:01:01 G*01:04:01	K*00501 K*00501
	G*01:01:02 G*01:01:01	K*00102 K*00501	G*01:01:02 G*01:01:01	K*00102 K*00802
	G*01:01:02 G*01:06	K*00102 K*00103	G*01:01:02 G*01:06	K*00501 K*00103
	G*01:01:01 G*01:01:02	K*00802 K*011	G*01:01:01 G*01:01:02	K*00601/00602 K*011
	G*01:01:02 G*01:04:01	K*00102 K*011	G*01:01:02 G*01:04:01	K*00102 K*011
	G*01:01:01 G*01:05N	K*00102 K*00501	G*01:01:01 G*01:05N	K*00102 K*00501
	G*01:01:01 G*01:06	K*00501 K*00801	G*01:01:01 G*01:06	K*00501 K*00102
	G*01:01:01 G*01:06	K*00801 K*00801	G*01:01:01 G*01:06	K*00102 K*00801
ALL	G*01:03:01 G*01:04:04	K*00501 K*00102	G*01:03:01 G*01:04:04	K*00801 K*011
	G*01:01:03 G*01:01:01	K*00801 K*022	G*01:01:03 G*01:01:01	K*00102 K*011
	G*01:0101 G*01:03:01	K*00102 K*022	G*01:0101 G*01:03:01	K*00102 K*011
	G*01:01:14 G*01:04:01	K*011 K*00801	G*01:01:14 G*01:04:01	K*00501 K*00801
	G*01:01:01 G*01:04:01	K*00103 K*00501	G*01:01:01 G*01:04:01	K*00103 K*00102

DISCUSSION

The Class I MHC molecules are critical in determining the functional activity of NK cells. The HLA-G has been reported as an important modulator of immune tolerance as a result of interactions with KIR2DL4 receptors, which inhibit the natural cytotoxicity mediated by NK cells.[13]

NK cells are one of the first cells to recover following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and are believed to play an important role in facilitating engraftment or preventing post-transplant infection and tumor recurrence. Recent studies have provided novel insights into the mechanisms by which NK cells mediate these highly clinically relevant immunological functions. In particular, the ability of NK cells to reduce the risk of GVHD and increase the GvL effect in the setting of HLA-haploidentical HSCT highlights their clinical potentials.[10]

The classical conditioning regime (myeloablative), treatment to which receptors undergo before receiving the transplant, using high-dose chemotherapy with or without radiotherapy, are designed to destroy complete and irreversibly the immune system and the bone marrow of the receptor to all that be reconstituted with normal donor cells after transplantation.[24] However, this model is not capable of destroying all cancer cells and

therefore is not suitable to fully explain the cure for allogeneic transplantation. It is now known that the immune system reconstituted using donor cells plays an important role in eradicating cancer cells that survive the conditioning. The new immune system, represented by lymphocytes and NK cells from the donor act as a vigilant, recognizing as foreign and destroying residual tumor cells of the recipient.[10]

To further explore this GvL effect, it was developed a type of conditioning with lower doses of chemotherapy and/or radiotherapy, which does not destroys irreversibly the bone marrow of the recipient, but only his immune system. The goal is to allow the new bone marrow be positioned and that the immune cells of the donor help eradicate gradually residual cancer cells. These regimes are known as non-myeloablative or with reduced intensity, and are still a developing technique.[25] It was also observed that in many cases of allogeneic transplants in identical individuals, there was a higher incidence of recurrence of leukemia and that in some cases of small mismatches there was a reduction in disease recurrence.[26] An alternative being studied, but already in use in some cases, the use of the alloreactivity of NK cells in the transplant with mismatch as a strategy for optimizing transplantation of hematopoietic stem cells and increase GvL effect of AML patients, especially, and also ALL.

The purpose of this study was to investigate the association between HLA-G and KIR2DL4 gene polymorphisms in cases of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia to contribute to the understanding of mechanisms of alloreactivity mediated by NK cells, analyzing patients and their nuclear families, which constitutes the first search for related donors for transplantation process.

Regarding total allelic frequencies, our data didn't show a significant difference of frequency in the alleles from HLA-G and KIR2DL4 separately, after p-value correction. Also, none significant difference of genotypic frequency of HLA-G and KIR2DL4 was found, after p-value correction.

The allelic association *G*01:01:02 K*00102* was increased in the group of patients with AML and their families (p_a = 0.00015; pc_a = 0.0093), with an OR value (6.1702), suggesting that this association is present in large number in this group than in the group of patients with ALL and their families and may be associated to occurrence of AML. Other associations were interesting, showing that this association would be more present in patients with AML in relation to ALL and also to non-patients, although no significance was found after p-value correction. This association *G*01:01:02 K*00102* was increased in AML patients in relation to non-patients group (p = 0.017), decreased in ALL patients (none ALL pacient with this combination) in relation to group of non-patients (p = 0.066) and increased

in AML patients in relation to ALL patients (p = 0.0039). Also, the allele K*00102 alone was decreased in ALL patients in relation to non-patients (p_a = 0.057) and increased in the group of AML in relation to ALL patients (p_b = 0.029), before p-value correction. The HLA-G genotype *G*01:01:02 G*01:04:01* was increased in AML patients in relation to non-patients (p_a = 0.0026), increased in AML patients in relation to ALL patients (p_b = 0.0393) and increased in total patients in relation to non-pacients (p_c = 0.0309), also before p-value correction. These data, although not significant after p-value correction could suddenly become significant with the increase in the number of families analyzed, corroborating the results found. Our literature search found no similar data in the literature, considering these alleles and genotypes and cases of acute myeloid and lymphoid leukemia.

Genotypic associations of HLA-G and KIR2DL4 were found in very low frequencies and none of them were found with significant different frequencies.

No significant differences in HLA-A/B/DR/G haplotype frequencies were found.

The differences in age, gender, survival time after transplantation (generally a short time), occurrence of GvHD, and the little number of patients with AML and ALL that underwent transplantation led us to obtain no significant result in the transplant outcome, but we visualized an imbalance between patients and donors in inheritance of HLA-G and KIR2DL4 genotype, genes located in different chromosomes. This difference in KIR2DL4 expressed in NK cells and its HLA-G ligand could generate a beneficial effect on GvL.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by research funding from FUNPAR-LIGH and CAPES. We are very grateful to the volunteer bone marrow donors for generously accorded to provide samples for this study. We also thank LIGH staff for technical support.

REFERENCES

1. LÖWENBERG, B. Prognostic factors in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14(1): 65-75, 2001.
2. MARTINS, S.L.R.; FALCÃO, R.T. A importância da imunofenotipagem na leucemia mielóide aguda. *Rev Assoc Med Bras*, v. 46(1): 57-62, 2000.
3. IOVINO, C.S.; CAMACHO, L.H. Acute myeloid leukemia: a classification and treatment update. *Clin J Oncol Nurs*, v. 7(5): 535-40, 2003.
4. RODRIGUES, C.A. *et al*. Acute myeloid leukemia in elderly patients: experience of a single center. *Braz J Med Biol Res*, v. 36, n. 6, p. 703-8, 2003.
5. HALL, G.W. Childhood myeloid leukaemias. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14, n. 3, p. 573-91, 2001.
6. BENE, M.C. et al. Impact of immunophenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica*, v. 84, n. 11, p. 1024-34, 1999.
7. PUI, C.H., ROBINSON, L.L., LOOK, A.T. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet*, v. 371: 1030-1043, 2008.
8. RUGGERI, L.; CAPANNI, M.; URBANI, E; PERRUCCIO, K.; SHLOMCHIK, W.D.; TOSTI, A.; POSATI, S.; ROGAIA, D.; FRASSONI, F.; AVERSA, F.; MARTELLI, M.F.; VELARDI, A. Effectiveness of donor natural killer alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. Science, v. 295: 2097-2100, 2002.
9. BENJAMIN, J.E.; GILL, S.; NEGRIN, R.S. Biology and clinical effects of natural killer cells in allogeneic transplantation. *Curr Opin Oncol*, v. 22(2): 130-137, 2010.
10. PALMER, J.M., RAJASEKARAN, K., THAKAR, M.S., MALARKANNAN, S. Clinical relevance of natural killer cells following hematopoietic stem cell transplantation. *J Cancer*, v 4(1), p. 25-35, 2013.
11. SHIMIZU, Y.; DEMARS, R. Demonstration by class I gene transfer that reduced susceptibility of human cells to natural killer cell-mediated lysis is inversely correlated with HLA class I antigen expression. *Eur J of Immunol*, v.19, pp. 447-451, 1989.
12. LJUNGGREN, H. G.; KARRE, K. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunology Today*, v.11, p. 237-244, 1990.
13. ROUAS-FREISS, N.; BRUEL, S.; MENIER, C.; MARCOU, C.; MOREAU, P.; CAROSELLA, E.D. Switch of HLA-G alternative splicing in a melanoma cell line causes loss of HLA-G1 expression and sensitivity to NK lysis. *Int. J. Cancer*, v. 117: 114-122, 2005.
14. LEUNG, W.; IYENGAR, R.; TURNER, V.; LANG, P.; BADER, P.; CONN, P. et al. Determinants of antileukemia effects of allogeneic NK cell. *J J Immunol*, v 172, n 1, p. 644-50, 2004.
15. DAVIES, S.M.; RUGGIERI, L.; DEFOR, T.; WAGNER, J.E.; WEISDORF, D.J.; MILLER J.S. *et al*. Evaluation of KIR ligand incompatibility in mismatched unrelated donor hematopoietic transplants. Killer immunoglobulin-like receptors. *Blood*. V 100, n 10, p. 3825-7, 2002.
16. BISHARA, A.; DE SANTIS, D.; WITT, C.C.; BRAUTBAR, C.; CHRISTIANSEN, F.T., OR, R. *et al*. The benficial role of inhibitory KIR genes of HLA class I NK epitopes in haploidentically mismatched stem cell allografts may be masked by residual donor-alloreactive T cells causing GCHD. *Tissue Antigens*. V 63, n 3, p.204-11, 2004.
17. GIEBEL, S.; LOCATELLI, F.; LAMPARELLI, T.; VELARDI, A.; DAVIES, S.; FRUMENTO, G. *et al.* Survival advantage with KIR ligand incompatibility in hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donos. *Blood*. V 102, n 3, p. 814-9, 2003.

18. CAROSELLA, E.D., FAVIER, B., ROUAS-FREISS, N., MOREAU, P., LEMAOULT, J. Beyond the increasing complexity of the immunomodulatory HLA-G molecule. *Blood*, v. 111: 4862-4870, 2008.
19. CASTELLI, E.C., MENDES-JUNIOR, C.T., VEIGA-CASTELLI, L.C., ROGER, M., MOREAU, P., DONADI, E.A. A Comprehensive Study of Polymorphic Sites along the HLA-G Gene: Implication for Gene Regulation and Evolution. *Mol. Biol. Evol*., v. 28(11): 3069–3086, 2011.
20. LARSEN, M.H., HVIID, T.V.F. Human leukocyte antigen-G polymorphism in relation to expression, function, and disease. *Human Immunology*, v. 70: 1026-1034, 2009.
21. LAHIRI, D.K., NURNBERGER JR, J.I. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Research*, v. 19(19), 1991.
22. CASTELLI; E.C.; MENDES-JÚNIOR, C.T.; DONADI, E.A. HLA-G alleles and HLA-G 14bp polymorphisms in a Brazilian population. *Tissue Antigens*, v. 70, p. 62-8, 2007.
23. ZHU, F.-M., Jiang, K., LV, Q.-F., HE, J., YAN, L.-X. Investigation of killer cell immunoglobulin-like receptor KIR2DL4 diversity by sequence-based typing in Chinese population. *Journal compilation*, v. 67: 214–221, 2006.
24. KIMBY, E., NYGREN, P., GLIMELIUS, B., SBU-GROUP, SWEDISH COUNCIL OF TECHNOLOGY ASSESSMENT IN HEALTH CARE. A systematic overview of chemotherapy effects in acute myeloid leukaemia. *Acta Oncol*., v 40(2-3), p. 231-52, 2001.
25. TAURO, S.; CRADDOCK, C.; PEGGS, K.; BEGUM, G.; MAHENDRA, P.; COOK, G.; MARSH, J.; MILLIGAN, D.; GOLDSTONE, A.; HUNTER, A.; KHWAJA, A.; CHOPRA, R.; LITTLEWOOD, T.; PENIKET, A.; PARKER, A.; JACKSON, G.; HALE, G.; COOK, M.; RUSSELL, N.; MACKINNON, S. Allogeneic stem-cell transplantation using a reduced-intensity conditioning regimen has the capacity to produce durable remissions and long-term disease-free survival in patients with high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *J Clin Oncol*.; v 23(36), p. 9387-93, 2005.
26. TANAKA, J.; KANAMORI, H.; NISHIWAKI, S.; OHASHI, K.; TANIGUSHI, S.; ETO, T.; NAKAMAE, H.; MINAGAWA, K.; MIYAMURA, K.; SAKAMAKI, H.; MORISHIMA, Y.; KATO, K.; SUZUKI, R.; NISHIMOTO, N.; OBA, K.; MASAUZI, N. Reduced-intensity vs myeloablative conditioning allogeneic hematopoietic SCT for patients aged over 45 years with ALL in remission: a study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). *Bone Marrow Transplant*. 2013.

4. CONCLUSÃO

- Os resultados não mostraram uma diferença significativa da frequência dos alelos de HLA-G e de KIR2DL4 separadamente;
- Os resultados não mostraram uma diferença significativa da frequência dos genótipos HLA-G e KIR2DL4 separadamente;
- Os resultados deste estudo apresentam a possibilidade da frequência da associação alélica *G*01:01:02 K*00102* estar aumentada no grupo de pacientes com AML em relação aos pacientes com ALL e aos não pacientes;
- Embora não significante após a correção estatística, os resultados deste estudo apresentam a possibilidade da frequência do genótipo *HLA-G*01:01:02 G*01:04:01* e do alelo *K*00102*, separadamente, estar aumentada no grupo de pacientes com AML em relação aos outros grupos, o que poderia corroborar o resultado anterior encontrado, se fosse aumentado número de famílias analisadas.
- Os resultados não mostraram uma diferença significativa da frequência das associações de genótipos de HLA-G e de KIR2DL4.
- Não houve diferença significativa na frequência haplotípica HLA-A/B/DR/G.
- Ocorrência de uma diferença de herança dos genótipos paternos e maternos de HLA-G, que verifica-se como sempre igual, e de KIR2DL4, que pode variar.
- Este trabalho destaca a necessidade e a perspectiva de estudos futuros com o intuito de complementar e corroborar os resultados apresentados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANJOS, A.R.; SILVA, M.A.; BORELLI, P. Matriz extracelular e leucemia. *Rev Bras Hematol Hemoter*, v. 22, n. 3, p. 404-12, 2000.

ASHWORTH, L.K.; BATZER, M.A.; BRANDRIFF, B.; BRANSCOMB, E.; DE JONG, P.; GARCIA, E.; GARNES, J.A.; LAMERDIN, J.E.; LENNON, G.; An integrated metric physical map of human chromosome 19. *Nat Genet*, v. 11, p. 422-427, 1995.

BAIN, B.J. Classification of acute leukaemia: the need to incorporate cytogenetic and molecular genetic information. *J Clin Pathol*, v. 51, n. 6, p. 420-3, 1998.

BAIN, B.J. et al. Revised guideline on immunophenotyping in acute leukaemias and chronic lymphoproliferative disorders. *Clin Lab Haem*, v. 24, p. 1-13, 2002.

BAIN, J.B. *Diagnóstico em Leucemias*. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2003.

BENCH, A.J.; ERBER, W.N.; SCOTT, M.A. Molecular genetic analysis of haematological malignancies: I. Acute leukaemias and myeloproliferative disorders. *Clin Lab Haem*, v. 27, p. 148-71, 2005.

BENE, M.C. et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias: European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia*, v. 9, p. 1783-6, 1995.

BENE, M.C. et al. Impact of immunophenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica*, v. 84, n. 11, p. 1024-34, 1999.

BENJAMIN, J.E.; GILL, S.; NEGRIN, R.S. Biology and clinical effects of natural killer cells in allogeneic transplantation. *Curr Opin Oncol*, v. 22(2), p. 130-137, 2010.

BENSUSSAN, A.; MANSUR, I.G.; MALLET, V.; RODRIGUES, A.M.; GURR, M.; WEISS, E.H.; BREM, G.; BPUMSELL, L.; GLUCKMAN, E.; DAUSSET, J.; CAROSELLA, E.D.; LEBOUTEILLER, P.; Detection og membrane-bound HLA-G translated products wuith a specific monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 92, pp. 10292, 1995.

BJORKMAN, P.J.; SAPER, M.A.; SAMRAOUI, B.; BENNETT, W.S.; STROMINGER, J.L.; WILEY, D.C.; The foreign antigen binding site and T-cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature*, v. 329, pp. 512, 1987.

BLANCHET, O.; BOURGE, J.F.; ZINSZER, H.; ISRAEL, A.; KOURILSKY, P.; DAUSSET, J.; DEGOS, L.; PAUL, P.; Altered binding of regulatory factors to HLA class I enhancer sequence in human tumor cell lines lacking class I antigen expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 89, pp. 3488, 1992.

BLASCHITZ, A.; JUCH, H.; VOLZ, A.; HUTTER, H.; DAXBOECK, C.; DESOYE, G.; DOHR, G.; The soluble pool of HLA-G produced by human trophoblasts does not include detectable levels of the intron 4-containing HLA-G5 and HLA-G6 isoforms. *Mol Hum Reprod*, v. 11, pp. 699, 2005.

BOHJANEN, P.R.; PETRYNIAK, B.; JUNE, C.H.; THOMPSON, C.B.; LINDSTEN, T.; An inducible cytoplasmic factor (AU-B) binds selectively to AUUUA multimers in the 3'utr of lymphokine mRNA. *Mol Cell Biol*, v. 11, pp. 3288, 1991.
BOSS, JM.; Regulation of transcription of MHC class II genes. *Curr Opin Immunol*, v. 9, pp. 107, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Estimativas 2012/2013: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2011.

BROWN, M.; WITTEWER, C. Flow cytomety: principles and clinical applications in hematology. *Clin Chem*, v. 46, n. 8(B), p. 1221-9, 2000.

BRUCE, D.C. et al. Revised Recommendations of the Internacional Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*, v. 21, n. 24, p. 4642-9, 2003.

BRUNNING, R.D. Classification of acute leukemias. *Semin Diagn Pathol*, v. 20, n. 3, p. 142-53, 2003.

CARROLL, M.C.; CAMPBELL, R.D.; PORTER, R.R. Mapping of steroid 21-hydroxylase genes adjacent to complement component C4 genes in HLA, the major histocompatibility complex in man. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.82, p. 521, 1985.

CASTELLI; E.C.; MENDES-JÚNIOR, C.T.; DONADI, E.A. HLA-G alleles and HLA-G 14bp polymorphisms in a Brazilian population. *Tissue Antigens*, v. 70, p. 62-8, 2007.

CASTELLI, E.C.; MOREAU, P.; OYA E CHIROMATZO, A.; MENDES-JÚNIOR, C.T.; VEIGA-CASTELLI, L.C.; YAGHI, L.; GIULIATTI, S.; CAROSELLA, E.D.; DONADI,

E.A. In silico analysis of microRNAs targeting the HLA-G 3' untranslated region alleles and haplotypes. Hum Immunol, 2009.

CAVALCANTI, J.R. *et al*. Importância da aplicação de anticorpos monoclonais no diagnóstico laboratorial das leucemias linfoides agudas. Ver Bras Anal Clin, v.29, n.3, p. 159-67, 1997.

CERWENKA, A.; O'CALLAGHAN, C.A.; AJYI, W. ROOPENIAN, D.C.; JOYCE, S.; LANIER, L.L. Cutting edge: the minor histocompatibility antigen H60 peptide interacts with both H-2Kb and NKG2D. *J Immunol*, v. 168, p. 3131-34, 2002.

11. CHAUFFAILLE, M.L.L.F.; BORRI, D. MARTINS, S.L.R. Leucemia mielóide aguda t(8;21): freqüência em pacientes brasileiros. *Rev Bras Hematol Hemoter*, v. 26, n. 2, p. 99-103, 2004.

CHUA, J.H.; ARGUGAM, A.; JEYASEELAN, K.; MicroRNAs: biogenesis, function and applications. *Curr Opin Mol Ther*, v. 11, n. 2, p. 189, 2009.

DASH, A.; GILLILAND, D.G. Molecular genetics of acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14, n. 1, p. 49-64, 2001.
DIEFENBACH, A.; JAMIESON, A.M.; LIU, S.D.; SHASTRI, N.; RAULET, D.H.; Ligands for the murine NKG2D receptor: expression by tumor cells and activation of NK cells and macrophages. *Nat Immunol*, vol. 1, p. 119-126, 2000.

DIEHL, M.; MÜNZ, C.; KEILHOLZ, W.; STEVANOVIC, S.; HOLMES, N.; LOKE, Y.W.; RAMMENSEE, H.G.; Nonclassical HLA-G molecules are classical peptide presenters. *Curr Biol*, vol. 6, p. 305, 1996.

DOUER, D. The epidemiology of acute promyelocytic leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 16, n. 3, p. 357-67, 2003.

EBMT disponível em http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir, acesso em: setembro de 2011.

ELLIS, S.A.; PALMER, M.S.; MCMICHAEL, A.J.; Human trophoblast and the choriocarcinoma cell line BeWo express a truncated HLA class I molecule. *J Immunol*, v. 144, p. 731, 1990.

FALCÃO,R.P. *et al*. Leucemia linfoide aguda em adultos e crianças: características morfológicas e imunofenotípicas. *Ser Monogr Esc Bras Hemat*, v.9, p. 25-35, 2002.

FARIAS, M.G.; CASTRO, S.M. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfoides agudas. *J Bras Patol Med Lab*, v.40, n. 2, p. 91-98, 2004.

GAO, G.F.; TORMO, J.; GERTH, U.C.; WYER, J.R.; MCMICHAEL, A.J.; STUART, D.I.; BELL, J.I.; JONES, Y.E.; JAKOBSEN, B.K.; Crystal structure of the complex between human CD8 α-α and HLA-A2. *Nature*, v. 387, p. 630, 1997.

GERAGHTY, D.E.; KOLLER, B.H.; ORR, H.T. A human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. *Proc Nat Acad Sci USA*, v. 84, pp. 9145, 1987.

GOBIN, S.J.P.; PEIJNENBURG, A.; KEIJSERS, V.; VAN DER ELSEN, P.; Site a is crucial for two routes of IFNg-induced MHC class I transactivation: The ISRE-mediate route and a novel pathway involving CIITA. *Immunity*, v. 6, pp. 601, 1997a.

GOBIN, S.J.P.; KEIJSERS, V.; WOLTMAN, A,M.; PEIJNENBURG, A.; WILSON, L.; VAN DEN ELSEN, P.J.; Locus-specific regulation of HLA class I gene expression. In.: D. Charron (ed): Genetic diversity of HLA. *Func Med Implic* v. 2, pp. 295, 1997b.

GOBIN, S.J.P.; PEIJNENBURG, A.; VAN EGGERMOND, M.; VAN ZUTPLHEN, M.; VAN DEN BERG, R.; VAN DEN ELSEN, P.J.; The RFX complex is crucial for the constitutive and CIITA mediated transactivation of MHC class I and β_2m genes. *Immunity*, v. 9, pp. 531, 1998.

GOES, N.; SIMS, T.; URMSON, J.; VINCENT, D.; RAMASSAR, V.; HALLORAN, P.F.; Disturbed MHC regulation in de INF-γ knouckout mouse. Evidence for three states of MHC expression with distinct roles for INF-γ. J *Immunol*, v. 155, pp. 4559, 1995.

GOMEZ-LOZANO N, Gardiner CM, Parham P, Vilches C. Some human KIR haplotypes contain two KIR2DL5 genes: KIR2DL5A and KIR2DL5B. *Immunogenetics*, v. 54, p. 314-9, 2002.

GOODRIGGE, J.P.; WITT, C.S.; CHRISTIANSEN, F.T.; WARREN, H.S.; KIR2DL4 (CD158d) genotype influences expression and function in NK cell. *J Immunol*, v. 171, p. 1768-74, 2003.

GRIMWADE, D. The clinical significance of cytogenetic abnormalities in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14, n. 3, p. 497-529, 2001.

HAFERLACH, T. et al. Genetic classification of acute myeloid leukemia (AML). *Ann Hematol*, v. 83, n. 1, p. 97-100, 2004.

HALL, G.W. Childhood myeloid leukaemias. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14, n. 3, p. 573-91, 2001.

HARRIS, N.L. et al. World Health Organization Classification of Neoplasic Diseases of The Hematopoietic and Lymphoid Tissues: report of the clinical advisory committee meeting. *J Clin Pathol*, v. 17, p. 3835-49, 1999.

HARRISON, G.A.; HUMPHREY, K.E.; JAKOBSEN, I.B.; COOPER, D.W.; A 14bp deletion polymorphism in the HLA-G gene. *Hum Mol Genet*, v. 2, pp. 2200, 1993.

HOBART, M.; RAMASSAR, V.; GOES, N.; URMSON, J.; HALLORAN, P.F.; INF regulatory factor-1 plays a central role in the regulation of the expression of class I and II MHC genes *in vivo*. *J Immunol*, v. 158, pp. 4260, 1997.

HSU, K.C.; CHIDA, S.; GERAGHTY, D.E.; DUPONT, B.; The killer immunoglobulin-like receptor (KIR) genomic region: gene-order, haplotypes and allelic polymorphism. *Immunol Rev*, v. 190, p. 40–52, 2002.

HVIID, T.V.F.; HLA-G in human reproduction: aspects of genetics, function and pregnancy complications. *Hum Reprod Up*, v. 12, pp. 209, 2006.

HVIID, T.V.; SORENSEN, S.; MORLING, N.; Polymorphism in the regulatory region located more than 1.1 kilobases 5' to the start site of transcription, the promoter region, and exon 1 of the HLA-G gene. *Hum Immunol*, v. 60, pp. 1237, 1999.

IMBRAIM, E.C.; MORANGE, M.; DAUSSET, J.; CAROSELLA, E.D.; PAUL, P.; Heat shock and arsenite induce expression of the nonclassical class I histocompatibility HLA-G gene in tumor cell lines. *Cell Stress & Chaperones*, v. 5, p. 207-218, 2000.

IMGT/HLA *Database*, disponível em http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html, acessado em agosto de 2011.

IOVINO, C.S.; CAMACHO, L.H. Acute myeloid leukemia: a classification and treatment update. *Clin J Oncol Nurs*, v. 7, n. 5, p. 535-40, 2003.

KALEEM, Z. et al. Flow cytometric analysis of acute leukemias: diagnostic utility and critical analysis of data. *Arch Pathol Lab Med*, v. 127, p. 42-8, 2003.

KANG, L.C. *et al*. Two cases of acute myeloid leukemia with t(11;17) associated with varying morphology and immunophenotype: rearrangement of the MLL gene and
a region proximal to the RARalpha gene. *Cancer Genet Cytogenet*, v. 159, n. 2, p. 168-73, 2005.

KARRE, K.; LJUNGGREN, H.G.; PIONTEK, G.; KIESSLING, R.; Selective rejection of H-2-deficiente lymphoma variants suggests alternative immune defence strategy. *Nature*, v. 319, p. 675-8, 1986.

KEARNEY, L. Molecular cytogenetics. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14, n. 3, p. 645-68, 2001.

KHAKOO, S. I.; CARRINGTON, M.. KIR and disease: a model system or system of models? *Immunol Rev*, v. 214, p. 186-201, 2006.

KIKUCHI-MAKI, A.; YUSA, S.; CAINA, T.L.; CAMPBEL,L, K.S.. KIR2DL4 is an IL-2-regulated NK cell receptor that exhibits limited expression in humans but triggers strong IFN-gamma production. *J Immunol*, v. 171, p. 3415-3425, 2003.

KIMBY, E., NYGREN, P., GLIMELIUS, B., SBU-GROUP, SWEDISH COUNCIL OF TECHNOLOGY ASSESSMENT IN HEALTH CARE. A systematic overview of chemotherapy effects in acute myeloid leukaemia. *Acta Oncol*., v 40(2-3), p. 231-52, 2001.

KING, A.; BIRKBY, C.; LOKE, Y.W.; Early human decidual cells exhibit NK activity against the K562 cell line but not against first trimester trophoblast. Cell Immunol, vol. 118, pp. 337-4415, 1989.

KING, A.; BALENDRAN, N.; WOODING, P.; CARTER, N.P.; LOKE, Y.W. CD3-leukocytes present in the human uterus during early placentation: phenotypic and morphologic characterization of the $CD56^{++}$ population. *Dev Immunol*, v. 1, p. 169-90, 1991.

KING, A.; WOODING, P.; GARDNER, L.; LOKE, Y.W. Expression of perforin, granzyme A and TIA-1 by human uterine $CD56^{+}$ NK cells implies they are activated and capable of effector functions. *Hum Reprod*, v. 8, p. 979-83, 1993.

KOOPMAN, L.A.; KOPCOW, H.D.; RYBALOW, B.; BOYSON, J.E.; ORANGE, J.S.; SCHATZ, F.; MASCH, R.; LOCKWOOD, C.J.; SCHACHTER, A.D.; PARK, P.J.; STROIMINGER, J.L. Human decidual natural killer cells are a unique NK subset with immunomodulatory potential. *J Exp Med*, v. 198, p. 1201-12, 2003.

KOPCOW, H.D.; ALLAN, D.S.; CHEN, X.; RYBALOV, B.; ANDZELM, M.M.; GE, B.; STROMINGER, J.L. Human decidual NK cells form immature activating synapses and are not cytotoxic. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 102, p. 15563-8, 2005.

KOVATS, S.; MAIN, E.K.; LIBRACH, C.; STUBBLEBINE, M.; FISHER, S.J.; DEMARS, R. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblast. *Science*, v. 248, pp. 220, 1990.

LANGMUIR, P.B.; APLENC, R.; LANGE, B.J. Acute myeloid leukaemia in children. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14, n. 1, p. 77-93, 2001.

LE BOUTEILLER, P.; LENFANT, F. Antigen-presenting functions of the non-classical HLA-E,-F and –G class I molecules: the beginning fof a story. *Rev Immunol*, v. 147, pp.301, 1996.

LE BOUTEILLER, P.; BLASCHITZ, A. The functionality of HLA-G is emerging. *Immunol Rev*, v. 167, pp. 233, 1999.

LEE, N.; MALACKO, A.R.; ISCHITANI, A.; CHEN, M.C.; BAJORATH, J.; MARQUARDT, H.; GERAGHTY, D.E. The membrane-bound and soluble forms of HLA-G bind identical sets of endogenous peptides but differ with respect to TAP association. *Immunity*, v. 3, pp. 591, 1995.

LEE, R.G. et al. Wintrobe Hematologia Clínica. I ed. São Paulo: Manole, 1998.

LEE, P.S. et al. Acute leukemia with myeloid, B-, and natural killer cell differentiation. *Arch Pathol Lab Med*, v. 127, n. 2, p. 93-5, 2003.

LEFEBVRE, S.; MOREAU, P.; GUIARD, V.; IBRAHIM, E.C.; ADRIAN-CABESTRE, F.; MENIER, C.; DAUSSET, J.; CAROSELLA, E.D.; PAUL, P. Molecular mechanisms controlling constitutive and IFN-gamma-inducible HLA-G expression in various cell types. *J Reprod Immunol*, v. 43, pp. 213, 1999.

LEFTEROVA, P; SHIMIDT-WOLF, I.G.H. Coexpression of lymphoid and myeloid markers on cell surfaces. *Leuk Lymphoma*, v. 26, p. 27-33, 1996.

LEROY, H. *et al*. Prognostic value of real-time quantitative PCR (RQ-PCR) in AML with t(8;21). *Leukemia*, v. 19, n. 3, p. 367-72, 2005.

LI, Y.; ZHAO, Y.H.; ZHANG, W.Y.; CUI, M.H.; Correlation between killer cell immunoglobulin-like receptors genes and pre-eclampsia. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, v. 43, p. 909-912, 2008.

LIESNER, R.J.; GOLDSTONE, A. H. ABC of clinical haematology: the acute leukemias. *Br J Haematol*, n. 314, p. 733, 1997.

LINDVALL, C. et al. Combined genetic and transcriptional profiling of acute myeloid leukemia with normal and complex karyotypes. *Haematologica*, v. 89, p. 1072-81, 2004.

LJUNGGREN, H. G.; KARRE, K. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunology Today*, v.11, p. 237-244, 1990.

LORENZI, T. *Manual de Hematologia*. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999.

LÖWENBERG, B. Prognostic factors in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14, n. 1, p. 65-75, 2001.

LUSIS, M.K.P. Classificação FAB das leucemias mielóides agudas. *Rev Bras Hematol Hemoter*, v. 22, n. 2, p. 1175-8, 2000.

MALE, V.; TRUNDLEY, A.; GARDNER, L.; NORTHFIELD, J.; CHANG, C.; APPS, R.; MOFFETT, A. Natural killer cells in human pregnancy. Natural killes cells protocols, methods in molecular biology, chapter 30, 2010.

MARSH S.G.E.; Parham P.; Dupont, B.; Geraghty D.E.; Trowsdale, J.; Middleton, D. *et al*. Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) nomenclature report, 2002. *Hum Immunol*, v.64, p. 648–54, 2003.

MARTIN, A.M.; FREITAS, E.M.; WITT, C.S.; CHRISTIANSEN, F.T. The genomic organization and evolution of the natural killer immunoglobulin-like receptor (KIR) gene cluster. *Immunogenetics*, v. 51, p. 268-280, 2000.

MARTIN, A.M.; KULSKI, J.K.; GAUDIERI, S.; WITT, C.S.; FREITAS, E.M.; TROWSDALE, J.; CHRISTIANSEN, F.T. Comparative genomic analysis, diversity and evolution of two KIR haplotypes A and B. *Gene*, v. 335, p. 121–131, 2004.

MARTINS, S.L.R.; FALCÃO, R.T. A importância da imunofenotipagem na leucemia mielóide aguda. *Rev Assoc Med Bras*, v. 46, n. 1, p. 57-62, 2000.

MORENO, C.; EMERY, P.; WEST, J.E., DURAND,B., REITH,W., MACH,B., AND BOSS,M. Purified X2 binding protein (X2BP) cooperatively binds the class II MHC X box region in the presence of purified RFX, the X box factor deficient in the Bare Lymphocyte Syndrom. *J. Immunol*., v. **155**, pp. 4313, 1995.

MOREAU, P.; ADRIAN-CABESTRE, F.; MENIER, C.; GUIARD, V.; GOURAND, L.; DAUSSET, J.; CAROSELLA, E.D.; PAUL, P. IL-10 selectively induces HLA-G expression in human trophoblasts and monocytes. *Int Immunol*, vol. 11, pp. 803, 1999.

MRÓZEK, K.; HEINONEN, K.; BLOOMFIELD, C.D. Clinical importance of cytogenetics in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14, n. 1, p. 19-47, 2001.

NAVARRO, F.; LLANO, M.; BELLON, T.; COLONNA, M.; GERAGHTY, D.E.; LOPEZ-BOTET, M. The ILT-2 (LIR1) and CD94/NKG2A NK cell receptors respectively recognize HLA-G1 e HLA-E molecules co-expressed on target cells. *Eur J Immunol*, v. 29, pp. 277, 1999.

NELSON, N.; MARKS, M.S.; DRIGGERS, P.H.; OZATO, K. Interferon consensus sequence-binding protein, a member of the interferon regulatory factor family, suppresses interferon-induced gene transcription. *Mol Cell Biol*, v. 13, pp. 588, 1993.

OBER, C.; ALDRICH, C.; ROSINSKY, B.; ROBERTSON, A.; WALTER, M.A.; WILLADSEN, S.; VERP, M.S.; GERAGHTY, D.E. HLA-G1 protein expression is not essential for fetal survival. *Placenta*, v. 19, pp. 127, 1998.

OBER, C.; ALDRICH, C.L.; CHERVONEVA, I.; BILLSTRAND, C.; RAHIMOV, F.; GRAY, H.L.; HYSLOP, T. Variation in the HLA-G promoter region influences miscarriage rates. *Am J Hum Genet*, v. 72, pp. 1425, 2003.

OLCESE, L.; CAMBIAGGI, A.; SEMENZATO, G.; BOTTINO, C.; MORETTA, A.; VIVIER, E. Human killer cell activatory receptors for MHC class I molecules are included in a multimeric complex expressed by natural killer cells. *Journal of Immunology*, v. 158, p. 5083-5086, 1997.

PALMER, J.M., RAJASEKARAN, K., THAKAR, M.S., MALARKANNAN, S. Clinical relevance of natural killer cells following hematopoietic stem cell transplantation. *J Cancer*, v 4(1), p. 25-35, 2013.

PERUSSIA, B. The cytokine profile of resting and activated NK cells. *Methods*, v. 9, p. 370-8, 1996.

PURDY, A.K.; CAMPBELL, K.S. Natural killer cells and cancer: regulation by the killer cell Ig-like receptors (KIR). *Cancer Biol Ther*, v. 8, p. 13-22, 2009.

PONTE, M.; CANTONI, C.; BIASSONI, R.; TRADORI-CAPPAI, A.; BENTIVOGLIO, G.; VITALE, C.; BERTONE, S.; MORETTA, A.; MORETTA, L.; MINGARI, M.C. Inhibitory receptors sensing HLA-G1 molecules in pregnancy: decidua-associated natural killer cells express LIR-1 and CD94/NKG2A and acquire p49, an HLA-G1-specific receptor. *Proc Nat Acad Sci USA*, v. 96, p. 5674-5679, 1999.

RAJAGOPALAN, S.; LONG, E.O. A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 189, p. 1093-1100, 1999.

RAJAGOPALAN, S.; FU, J.; LONG, E.O. Cutting edge: induction of INF-gamma production but not cytotoxicity by the killer cell Ih-like receptor KIR2DL4 (CD158d) in resting NK cells. *J Immunol*, v.168, p. 6208-6214, 2001.

REBMANN, V.; VAN DER VEN, K.; PÄBLER, M.; PFEIFFER, K.; KREBS, D.; GROSSE-WILDE, H. Association of soluble HLA-G plasma levels with HLA-G alleles. *Tissue Antigens*, v. 57, pp. 15, 2001.

RIZZATTI, E.G.; ZAGO, M.A. Aplicações da biologia molecular às leucemias agudas. *Ser Monog Esc Bras Hemat*, n.9, p. 1-14, 2002.

RIZZO, R.; STIGNANI, M.; MELCHIORRI, L.; BARICORDI, O.R. Possible role of human leukocute antigen-G molecules in human oocyte/embryo scretome. *Hum Immunol*, v. 70, p. 970-975, 2009.

ROBBINS, S.L. *et al*. Patologia Estrutural e Funcional. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

RODRIGUES, C.A. *et al*. Acute myeloid leukemia in elderly patients: experience of a single center. *Braz J Med Biol Res*, v. 36, n. 6, p. 703-8, 2003.

ROUAS-FREISS, N.; BRUEL, S.; MENIER, C.; MARCOU, C.; MOREAU, P.; CAROSELLA, E.D. Switch of HLA-G alternative splicing in a melanoma cell line causes loss of HLA-G1 expression and sensitivity to NK lysis. *Int. J. Cancer*, v. 117, p. 114–122, 2005.

RUGGERI, L.; CAPANNI, M.; URBANI, E; PERRUCCIO, K.; SHLOMCHIK, W.D.; TOSTI, A.; POSATI, S.; ROGAIA, D.; FRASSONI, F.; AVERSA, F.; MARTELLI, M.F.; VELARDI, A. Effectiveness of donor natural killer alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*, v. 295; p. 2097-2100, 2002.

SABATIER, C.; GIMENEZ, C.; CALIN-LAURENS, V.; RABOURDIN-COMBE, C.; TOURAINE, J-L. Type III lymphocyte syndrome: lack of HLA class II gene expression and reduction in HLA class I gene expression. *Curr Res Acad Sci*, v. 319, pp. 789, 1996.

SAN-MIGUEL, J.F.; VIDRIALES, M.B.; ORFÃO, A. Immunological evaluation of minimal residual disease (MRD) in acute myeloid leukaemia (AML). *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 15, n. 1, p. 105-18, 2002.

SCHMIDT, C.M.; EHLENFELDT, R.G.; ATHANASIOU, M.C.; DUVICK, L.A.; HEINRICHS, H.; DAVID, C.S.; ORR, H.T. Extraembryonic expression of the human MHC class I gene HLA-G in transgenic mice – evidence for a appositive region located 1kb 5' to the start site of transcription. *J Immuno*l, v. 151, pp. 2633, 1993.

SCHNEIDER, N.R. *et al*. New recorring cytogenetic abnormalities and association of blast cell karyotypes with prognosis in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: a pediatric oncology group report of 343 cases.

SCHOCH, C.; HAFERLACH, T. Cytogenetics in acute myeloid leukemia. *Curr Oncol Rep*, v. 4, p. 390-7, 2002.

SCHOCH, C. *et al*. Acute myeloid leukemia with a complex aberrant karyotype is a distinct biological entity characterized by genomic imbalances and a specific gene expression profile. *Genes Chromosomes Cancer*, v. 43, n. 3, p. 227-38, 2005.

SELVAKUMAR, A.; STEFFENS, U.; DUPONT, B. NK cell receptor gene of the KIR family with two IG domains but highest homology to KIR receptors with three IG domains. *Tissue Antigens*, v. 48, p. 285-294, 1996.

SHARKEY, A.M.; GARDNER, L.; HIBY, S.; FARREL, L.; APPS, R.; ,MASTERS, L.; GOODRIDGE, J.; LATHBURY, L.; STEWART, C.A.; VERMA, S.; MOFFETT, A. Killer Ig-like receptors expression in uterine NK cells is biased toward recognition of HLA-C and alters with festational age. *J Immunol*, v. 181, p. 39-46, 2008.

SHIMIZU, Y.; DEMARS, R. Demonstration by class I gene transfer that reduced susceptibility of human cells to natural killer cell-mediated lysis is inversely correlated with HLA class I antigen expression. *Eur J of Immunol*, v.19, pp. 447-451, 1989.

SOUZA, J.M.; COELHO, C.J. Leucemias e leucoses. In: XXV Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, 1998, Porto Alegre.

SWIRSKY, D.M.; RICHARDS, S.J. Laboratory diagnosis of acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 14, n. 1, p. 1-17, 2001.

SUTO, Y.; MAENAKA, K.; YABE, T.; HIRAI, M.; TOKUNAGA, K.; TADOK, K.; JUJI, T. Chromosomal localization of the human natural killer cell class I receptor family genes to 19q13.4 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics*, v. 35, p. 270-272, 1996.

SZCZEPANSKI, T.; van VELDEN, V.H.J.; van DONGEN, J.J.M. Classification systems for acute and chronic leukemias. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 16, n. 4, p. 561-82, 2003.

TALLMAN, M.S. Relevance of pathologic classifications and diagnosis of acute myeloid leukemia to clinical trials and clinical practice. *Cancer Treat Res*, n. 121, p. 45-67, 2004.

TAN, C.Y.; CHONG, Y.S.; LOGANATH, A.; CHAN, Y.H.; RAVICHANDRAN, J.; LEE, C.G.; CHONG, S.S.; **Possible gene-gene interaction of KIR2DL4 with its cognate ligand HLA-G in modulating risk for preeclampsia**. Reprod Sci, vol. 16, pp. 1135-1143, 2009.

TANAKA, J.; KANAMORI, H.; NISHIWAKI, S.; OHASHI, K.; TANIGUSHI, S.; ETO, T.; NAKAMAE, H.; MINAGAWA, K.; MIYAMURA, K.; SAKAMAKI, H.; MORISHIMA, Y.; KATO, K.; SUZUKI, R.; NISHIMOTO, N.; OBA, K.; MASAUZI, N. Reduced-intensity vs myeloablative conditioning allogeneic hematopoietic SCT for patients aged over 45 years with ALL in remission: a study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). *Bone Marrow Transplant*. 2013.

TAURO, S.; CRADDOCK, C.; PEGGS, K.; BEGUM, G.; MAHENDRA, P.; COOK, G.; MARSH, J.; MILLIGAN, D.; GOLDSTONE, A.; HUNTER, A.; KHWAJA, A.; CHOPRA, R.; LITTLEWOOD, T.; PENIKET, A.; PARKER, A.; JACKSON, G.; HALE, G.; COOK, M.; RUSSELL, N.; MACKINNON, S. Allogeneic stem-cell transplantation using a reduced-intensity conditioning regimen has the capacity to produce durable remissions and long-term disease-free survival in patients with high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *J Clin Oncol*.; v 23(36), p. 9387-93, 2005.

THANOS, D.; MANIATIS, T.; **NF-κB: a lesson in family values.** Cell, vol 80, pp. 529, 1995.

TROWSDALE, J.; **Genetics and polymorphism: class II antigens.** Br Med Bull, vol. 43, pp 15, 1987.

TROWSDALE, J.; BARTEN, R.; HAUDE, A.; STEWART, C.A.; BECK, S.; WILSON, M.J.; The genomic context of natural killer receptor extended gene families. Immunol Rev, vol. 181, pp. 20-38, 2001.

UHRBERG, M.; VALIANTE, N.M.; SHUM, B.P.; SHILLING, H.G.; LIENERT-WEIDENBACH, K.; CORLISS, B.; TYAN, D.; LANIER, L.L.; PARHAM, P. Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes. *Immunity*, v.7, p. 753-763. 1997.

VAN DEN ELSEN, P.J.; PEIJNENBURG, A.; VAN EGGERMOND, M.C.J.A.; GOBIN, S.J.P. Shared regulatory elements in the promoters of MHC class I and class II genes. *Immunology Today*, v. 19, n. 7, pp. 308, 1998a.

VAN DEN ELSEN, P.J.; GOBIN, S.J.P.; VAN EGGERMOND, M.C.J.A.; PEIJNENBURG, A. Regulation of MHC class I and class II genes transcription: differences and similarities. *Immunogenetics*, v. 48, pp 208, 1998b.

VAN DER VEN, K.; OBER, C.; HLA-G polymorphisms in African Americans. *J Immunol*, v. 153, pp. 5628, 1994.

VAN DER VEN, K.; PFEIFFER, K.; SKRABLIN, S. HLA-G polymorphisms and molecule function – questions and more questions – a review. *Placenta*, v. 21, pp. 86, 2000.

VERMA, S.; LING, A.; LOKE, Y.W. Expression of killer cell inhibitory receptors on human uterine natural killer cells. *Eur J Immunol*, v. 27, p. 979-83, 1997.

VILCHES, C.; RAJALINGAM, R.; UHRBERG, M.; GARDINER, C.M.; YOUNG, N.T.; PARHAM, P. KIR2DL5, a novel killer-cell receptor with a D0-D2 configuration of Ig-like domains. *Journal Immunological*, v. 164, p. 5797-5804, 2000.

VILCHES, C.; PARHAM, P. KIR: diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity. *Annual Reviews Immunological*, v.. 20, p. 217-251, 2002.

VIVIER, E.; RAULET, D.H.; MORETTA, A.; CALIGIURI, M.A.; ZITVOGEL, L.; LANIER, L.L.; YOKOYAMA, W.M.; UGOLINI, S. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science*, v. 331, p. 44-49, 2011.

WANG, X.B. et al. Correlation of immunophenotype to cytogenetics and clinical features of adult acute myeloid leukemia. *Ai Zheng*, v. 24, n. 6, p. 667-71, 2005.

WEIR, E.G.; BOROWITZ, M.J. Flow cytometry in the diagnosis of acute leukemia. *Semin Hematol*, v. 38, n. 2, p. 124-38, 2001.

WILSON, M.J.; TORKAR, M.; TROWSDALE, J. Genomic organization of a human killer cell inhibitory receptor gene. *Tissue Antigens*, v. 49, p. 574-579, 1997.

WILSON, M.J.; TORKAR, M.; HAUDE, A.; MILNE, S.; JONES, T.; SHEER, D.; BECK, S.; TROWSDALE, J. Plasticity in the organization and sequences of human KIR/ILT gene families. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 97, p. 4778-89, 2000.

XUE, S.; YANG, J.; YAO, F.; XU, L.; FAN, L. Recurrent spontaneous abortions patients have more -14 bp/114 bp heterozygotes in the 3'UT region of the HLA-G gene in a Chinese Han population. *Tissue Antigens*, v. 69, pp. 153, 2007.

YAMAMOTO, M. Imunofenotipagem em leucemias mielóides agudas. *Rev Bras Hematol Hemoter*, v. 22, n. 2, p. 169-74, 2000.

YAMAMOTO, A.; MIZUKAMI, Y.; SAKURAI, H. Identification of a novel class of target genes and a novel type of binding sequence of heat shock transcription factor in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, v. 280, p. 11911-19, 2005.

YANADA, M. et al. Efficacy of allogenic hematopoietic stem cell transplantation depends on cytogenetic risk for acute myeloid leukemia in first disease remission: a metaanalysis. *Cancer*, v. 103, n. 8, p. 1652-8, 2005.

YIE, S.M; LI, L.H.; XIAO, R.; LIBRACH, C.L. A single base-pair mutation in the 3'-untranslated region of HLA-G mRNA is associated with pré-eclampsia. *Mol Hum Reprod*, v. 14, pp. 649, 2008.

YIN, J.A.L. Minimal residual disease in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, v. 15, n. 1, p. 119-35, 2002.

ZHU, F.M.; JIANG, K.; LV, Q.F.; HE, J.; YAN, L.X. Investigation of killer cell immunoglobulin-like receptor KIR2DL4 diversity by sequence-based typing in Chinese population. *Tissue Antigens*, v. 67, p. 214-221, 2006.

6. ANEXOS

ANEXO 1. MATERIAIS E MÉTODOS

ANEXO 2. TABELAS INTEGRAIS DE RESULTADOS

ANEXO 3. PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

ANEXO 1. MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra

A amostra foi constituída de 24 pacientes do Hospital Erasto Gaertner (Curitiba, Estado do Paraná, Sul do Brasil), diagnosticados com LMA e 28 pacientes LLA, com indicação de transplante de medula óssea e a família nuclear, totalizando 216 indivíduos.

Processamento da amostra

O processamento, genotipagem e análise das amostras e resultados foram realizados no LIGH, Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná – BR.

Extração de DNA

Cinco mililitros (5 mL) de sangue periférico foram coletados de cada indivíduo, através de punção venosa, em tubos estéreis tipo vacutainer com EDTA, seguindo normas de biossegurança. Essas amostras foram centrifugadas para obtenção da camada de leucócitos da qual foi extraído o DNA pela técnica de "salting-out", que possibilita a obtenção de DNA de alto peso molecular e consiste, basicamente, no rompimento mecânico e/ou enzimático dos tecidos, extração das proteínas e ácidos graxos pela ação de solventes orgânicos e precipitação do DNA com etanol (LAHIRI & NURNBERGER, 1991). Esse método desenvolve-se essencialmente em cinco etapas:

- Obtenção da camada de leucócitos por centrifugação do sangue total coletado com anticoagulante EDTA (Invitrogen).
- Lise de eritrócitos através do uso de tampão de lise de células vermelhas (RCLB 1X) pH 7,6.
- Quebra da membrana nuclear com SDS (Dodecil Sulfato de Sódio)- da empresa Acros, a 20% e remoção de enzimas como DNases e RNases por meio de proteinase K e tampão da proteinase K (Invitrogen).
- Precipitação de proteínas com NaCl 6M (J. T. Backer).
- Precipitação do DNA com etanol absoluto (Merck).

Determinação da Concentração de DNA

Após extração, as amostras de DNA foram quantificadas pela leitura da densidade ótica (D.O.), utilizando-se o espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Wilmington, USA). Para a tipificação do gene *HLA-G* foi utilizada uma concentração de DNA de 50ng/µl, sendo a diluição das amostras realizada utilizando-se água ultrapura.

Tipagem do gene *HLA-G* e *KIR2DL4* pela técnica de sequenciamento automatizado

A reação de sequenciamento requer a etapa prévia de amplificação dos éxons 2, 3 e 4 do gene *HLA-G* e dos éxons 3, 5, 7, 8 e 9 de *KIR2DL4*. As sequências de oligonucleotídeos iniciadores para amplificação e sequenciamento dos fragmentos alvo foram desenhadas para estudos anteriores, no próprio laboratório, com a ajuda do programa DNAStar (http://www.dnastar.com). Para conferir a especificidade das mesmas foi utilizado o programa PrimerBlast (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHomeAd).

Amplificação dos éxons 2, 3 e 4 de *HLA-G*

A partir de oligonucleotídeos iniciadores específicos para os exons 2, 3 e 4 do gene *HLA-G* foi feita a amplificação por PCR no aparelho termociclador GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems®), obtendo-se amplicons de 588, 456 e 364 pb, respectivamente, usando primers (Tabela 1) já descritos na literatura por CASTELLI et al.,2007.

TABELA 1: PRIMERS DE *HLA-G*

Éxon 2	588pb	Forward	GGGTCGGGCGGGTCTCAA
		Reverse	TCCGTGGGGCATGGAGGT
Éxon 3	456pb	Forward	CTCTCCTTGTGCTAGGCCAGGCTG
		Reverse	CCCAGACCCTCTACCTGGGAGA
Éxon 4	364pb	Forward	CCATGAGAGATGCAAAGTGCT
		Reverse	TGCTTTCCCTAACAGACATGAT

A PCR foi realizada de acordo com as seguintes condições (Tabelas 2 e 3) para cada amostra:

TABELA 2: REAGENTES UTILIZADOS PARA PCR DE *HLA-G* (ÉXONS 2, 3 E 4)

Tampão (10x)	5,0 µl (1x)
Primer Forward (100 pmol)	0,2 µl (20 pmol)
Primer Reverse (100 pmol)	0,2 µl (20 pmol)
$MgCl_2$ (50 mM)	1,5 µl
Taq (5 U/µl)	0,45 µl
dNTP (1,8 mM)	6,0 µl
DNA (50 ng/µl)	1,2 µl
H_20	35,45 µl
TOTAL	50 µl

TABELA 3: CONDIÇÕES DE CICLAGEM PARA PCR DE *HLA-G*

	Éxon 2		Éxon 3		Éxon 4		Ciclos
Denaturação Inicial	94°C	5’	94°C	5’	94°C	5’	1
Denaturação	94°C	30”	94°C	30”	94°C	30”	35
Anelamento	66°C	30”	70°C	30”	62°C	30”	
Extensão	72°C	2’	72°C	2’	72°C	2’	
Extensão Final	72°C	5’	72°C	5’	72°C	5’	1
Resfriamento	4°C	∞	4°C	∞	4°C	∞	∞

Amplificação dos exons 3, 5, 7, 8 e 9 de *KIR2DL4*

O gene *KIR2DL4* foi amplificado no aparelho termociclador GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems®), em dois fragmentos (exon 3 e 5 e exon 7 ao 9) utilizando 2 pares de *primers* (Tabela 4) e tamanho dos fragmentos 1458pb e 974pb, respectivamente, conforme descrito por ZHU *et al.*, 2006.

TABELA 4: PRIMERS DE *KIR2DL4*

Éxon K3-5	1464 pb	Forward	TGGTCAGGACAAGCCCTTCTGC
		Reverse	TCCTCACCTGTGACAGAAACAG
Éxon K5-9	982 pb	Forward	CCTGCATGCTGTGATTAGGTA
		Reverse	TCAGATTCCAGCTGCTGGTAC

A PCR foi realizada de acordo com as seguintes condições (Tabelas 5 e 6) para cada amostra:

TABELA 5: REAGENTES UTILIZADOS PARA PCR DE *KIR2DL4* (ÉXONS K3-5 E K7-9)

	Éxon K3-5	Éxon K7-9
Tampão (10x)	5,0 µl (1x)	5,0 µl (1x)
Primer Forward (100 pmol)	0,1 µl (10pmol)	0,2 µl (20 pmol)
Primer Reverse (100 pmol)	0,1 µl (10pmol)	0,2 µl (20 pmol)
$MgCl_2$ (50 mM)	1,0 µl	1,5 µl
Taq (5 U/µl)	0,45 µl	0,45 µl
dNTP (1,8 mM)	6,0 µl	6,0 µl
DNA (50 ng/µl)	1,2 µl	1,2 µl
H_20	36,15 µl	35,45 µl
TOTAL	50 µl	50 µl

TABELA 6: CONDIÇÕES DE CICLAGEM PARA PCR DE *KIR2DL4*

	Éxons K3-5 e K7-9		Ciclos
Denaturação Inicial	95°C	5’	1
Denaturação	95°C	30”	35
Anelamento	63°C	30”	
Extensão	72°C	2’40”	
Extensão Final	72°C	5’	1
Resfriamento	4°C	∞	∞

Controle da amplificação

Para confirmação da presença de produto de amplificação específico foram realizadas eletroforeses em gel de agarose 1% durante 15 minutos, 125 Volts, 75 mAmperes, 100 Watts.

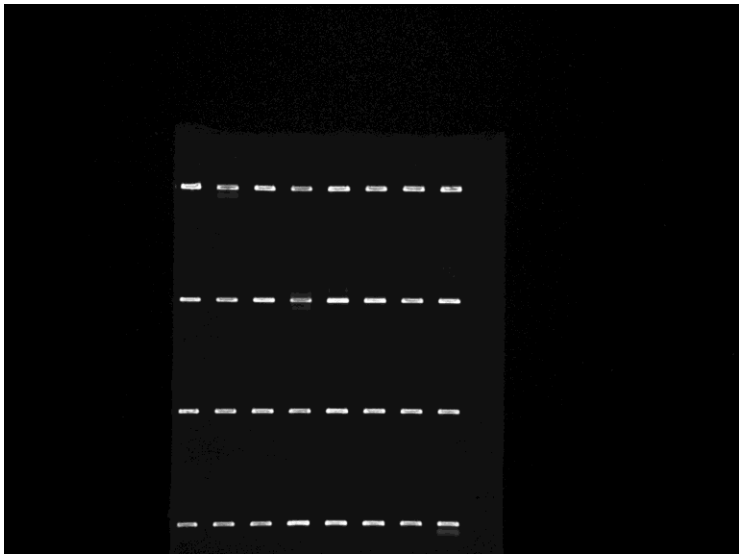


FIGURA 1. Eletroforese em gel de agarose 1%. Exemplo da verificação da amplificação do exon 4 de *HLA-G* em gel de agarose 1%, possuindo 364 pb, nas condições de 15 minutos, 125 Volts, 75 mAmperes e 100 Watts.

Purificação do produto amplificado

Os produtos de PCR obtidos foram purificados através do método enzimático utilizando Exonuclease I (EXO I) e Fosfatase Alcalina de Camarão (SAP; do inglês: Shrimp Alkaline Phosphatase) da empresa USB Corporation®, com o objetivo de eliminar oligonucleotídeos iniciadores não hibridizados, desoxi-nucleotídeos (dNTPs) não utilizados e resíduos de DNA de fita simples que possam ter sobrado ou se originado na reação de amplificação anterior, dado que a presença destes elementos residuais comprometem a análise do sequenciamento. As concentrações dos reagentes utilizados encontram-se na Tabela 7 e as condições de ciclagem estão presentes na Tabela 8. O termociclador utilizado para esta etapa foi o GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems®).

TABELA 7: REAGENTES UTILIZADOS PARA PURIFICAÇÃO DE PRODUTO AMPLIFICADO

Tampão SAP 2X	1,0 µl
EXO 1(10U/µl)	1,0 µl
SAP (1U/µl)	2,0 µl
Amplicon	6,0 µl
Volume	10,0 µl
H_20 add	15 µl

TABELA 8: CONDIÇÕES DE CICLAGEM PARA PURIFICAÇÃO DE PRODUTO AMPLIFICADO - 1 Ciclo

Ativação da Enzima	37°C	30’
Desativação da Enzima	80°C	20’
Resfriamento	4°C	∞

Reação de Sequenciamento para *HLA-G*

A reação de sequenciamento foi realizada através do Kit ABI PRISM® BigDye® (Life TechnologiesTM, Carlsbad, USA) e o termociclador utilizado para essa reação foi o GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems®). O protocolo de sequenciamento está descrito na Tabela 9 e as condições de ciclagem para o gene *HLA-G* são mostradas na Tabela 10. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados em cada reação de sequenciamento do gene *HLA-G* foram os mesmos utilizados na amplificação.

TABELA 9: REAGENTES UTILIZADOS PARA SEQUENCIAMENTO DE *HLA-G*

H_20	4,5 µl
Tampão 10x (Save)	1,5 µl
BigDye	1,0 µl
Primer (1,6 pmol)	1,0 µl
DNA Purificado	2,0 µl
Volume Total	10 µl

TABELA 10: CONDIÇÕES DE CICLAGEM PARA SEQUENCIAMENTO DE *HLA-G*

Denaturação Inicial	96°C	1’	1
Denaturação	96° C	15”	35
Anelamento	54°C	15”	
Extensão	60°C	2’	
Resfriamento	4°C	∞	∞

Reação de Sequenciamento para *KIR2DL4*

A reação de sequenciamento foi realizada através do Kit ABI PRISM® BigDye® (Life TechnologiesTM, Carlsbad, USA) e o termociclador utilizado para essa reação foi o GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems®). O protocolo de sequenciamento está descrito na Tabela 11 e as condições de ciclagem para o gene *KIR2DL4* são mostradas na Tabela 12. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados em cada reação de sequenciamento do gene *KIR2DL4* estão na listados na Tabela 13. Uma vez que o produto de amplificação para os éxons do gene *KIR2DL4* foram amplos, inclusive contendo íntrons, no sequenciamento foram utilizados pares de primers internos.

TABELA 11: REAGENTES UTILIZADOS PARA SEQUENCIAMENTO DE *KIR2DL4*

H_20	2,5 µl
Save	1,5 µl
BigDye	2,0 µl
Primer (1,6 pmol)	2,0 µl
DNA Purificado	2,0 µl
Volume Total	10 µl

TABELA 12: CONDIÇÕES DE CICLAGEM PARA SEQUENCIAMENTO DE *KIR2DL4*

Denaturação Inicial	96ºC	1’	1
Denaturação	96º C	15”	35
Anelamento	54ºC	15”	
Extensão	60ºC	4’	
Extensão Final	72ºC	5’	
Resfriamento	4ºC	∞	∞

TABELA 13: PRIMERS PARA SEQUENCIAMENTO DE KIR2DL4

Éxon 3	Forward	TGGTCAGGACAAGCCCTTCTGC
	Reverse	CTGTGACCATGATCACCAGGG
Éxon 5	Forward	TATATGAGAAACCTTCGCTTA
	Reverse	TCCTCACCTGTGACAGAAACAG
Éxon 7	Forward	CCTGCATGCTGTGATTAGGTA
	Reverse	TCTGTGAGCTGAAGGCAGGGG
Éxon 9	Forward	TCAGGATTTCCCTCTCTCCAG
	Reverse	TCAGATTCCAGCTGCTGGTAC

Precipitação do DNA sequenciado

Solução salina NaOAc/EDTA da USB Corporation® foi utilizada para a precipitação, onde foram realizados sucessivos passos de centrifugação em diferentes concentrações de etanol. O produto precipitado foi ressuspendido em 12µl de formamida Hi-Di e desnaturado a 95ºC por 2,5 minutos no termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler (Life Technologies™, Carlsbad, USA), seguido por choque térmico (-80ºC) durante 40 segundos.

Eletroforese Capilar

O produto da reação de sequenciamento precipitado e ressuspendido em formamida foi submetido à corrida eletroforética em capilar de 36 cm, utilizando polímero POP 7 (Life

TechnologiesTM, Carlsbad, USA) e sequenciador automático ABI Prism 3130 da empresa Applied Biosystems.

Tipagem de *HLA-G* e *KIR2DL4*

Os dados de sequenciamento obtidos foram visualizados através do programa Sequencing Analysis v.5.2 (Applied Biosystems) e analisados com o auxílio do programa SeqScape v.2.7 (Applied Biosystems). A identificação alélica ocorreu por pareamento com as sequências genômicas de alelos oficiais (Sistema de Informação Internacional de Imunogenética – IMGT) e cada SNP detectado foi individualmente anotado. Após esta etapa os dados foram analisados estatisticamente.

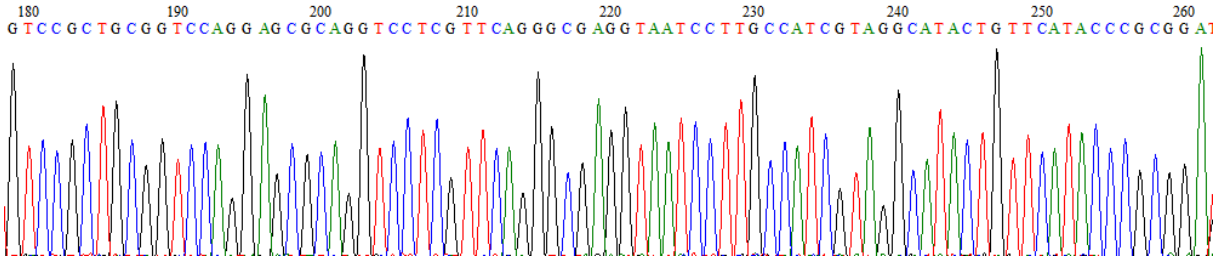


FIGURA 2: Exemplo de eletroferograma realizado (*HLA-G*)

Análise estatística

Análises comparativas de freqüências gênicas

Os resultados da tipagem de cada um dos indivíduos, obtidos por contagem direta, foram inseridos no programa estatístico ARLEQUIN v.3.1 (EXCOFFIER et al., 2006) com a finalidade de avaliar a condição de equilíbrio de Hardy-Weinberg. As frequências alélicas foram obtidas através da fórmula:

Fal = n/2N

Onde:

Fal: freqüência alélica (ou de determinado grupo alélico)

n: freqüência absoluta de um alelo ou grupo alélico na amostra

N: número de indivíduos na amostra. O N é multiplicado por 2, pois cada indivíduo é portador de duas cópias de cada gene.

Uma vez obtidas as frequências dos genes estudados, foram realizadas as análises comparativas ou de associação entre as diferentes amostras e os diferentes grupos (LMA,

LLA, Não pacientes) para avaliar a existência de associação entre a distribuição dos genes *HLA-G* e *KIR2DL4*.

Todas as comparações foram realizadas através do uso do Teste Exato de Fisher, em tabelas de contingência 2x2, mediante o uso do programa BioEstat – Aplicações Estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas (AYRES et al., 2005). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas (indicando associação) nos casos em que $p \leq 0,05$. Como fator de correção os valores de p foram multiplicados pelo número de alelos ou de genótipos testados (pc) (TANNER MS et al., 1997). Nos casos em que a diferença entre as frequências gênicas de pacientes e controles apresentaram significância estatística, foi calculado "Odds Ratio" ("OR" ou razão de probabilidades), com intervalo de confiança de 95%. Quando um dos dados da tabela apresentou valor zero foi utilizado a Correção de Haldane, que consiste de acrescentar o valor de 0,5 a todas as células da tabela de contingência com o objetivo de prevenir erro de cálculo do OR quando da divisão de um valor por zero.

ANEXO 2. TABELAS INTEGRAIS DE RESULTADOS

Tabela 1: Pacientes com seus respectivos alelos para HLA-A, HLA-B, HLA-DR, HLA-G e KIR2DL4.

Legenda:

	LMA
	LLA
	Transplantados
	Não se pode confirmar o haplótipo

Tabela 1: Pacientes com seus respectivos alelos para HLA-A, HLA-B, HLA-DR, HLA-G e KIR2DL4

AMOSTRA			HLA-A		HLA-B		HLA-DRB1		HLA-G		KIR2DL4	
LMA		REC1307	*02	*02	*07	*35	*10	*03	*01:0101	*01:01:01	*00102	*00501
	M	DRMA1307	*23	*02	*52	*35	*13	*03	*01:01:01	*01:04:04	*00802	*00501
	P	DRMB1307	*02	*23	*07	*15	*10	*07	*01:01:01	*01:04:04	*00102	*00102
		DRMC1307	*02	*02	*07	*35	*10	*03	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00802
		REC5408	*02	*24	*51	*15	*14	*11	*01:01:02	*01:04:01	*00802	*00102
	M	DRMA5408	*23	*24	*50	*15	*03	*11	*01:04:01	*01:04:04	*00801	*00102
	P	DRMB5408	*02	*02	*51	*15	*14	*16	*01:01:02	*01:01:01	*00802	*00102
		DRMC5408	*02	*24	*15	*15	*16	*11	*01:01:01	*01:04:01	*00102	*00102
		DRMD5408	*02	*23	*15	*50	*16	*03	*01:01:01	*01:04:04	*00102	*00801
		REC2309	*31	*02	*35	*14	*16	*01	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00102
		DRMA2309	*31	*02	*35	*14	*16	*01	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00102
		DRMB2309	*24	*02	*08	*14	*03	*01	*01:01:02	*01:01:01	*00802	*00102
		DRME2309	*31	*11	*35	*49	*16	*04	*01:01:01	*01:01:03	*00102	*00601/00602
		REC1207	*11	*32	*35	*57	*04	*07	*01:01:03	*01:01:01	*00501	*00602/00601
	M	DRMA1207	*32	*32	*27	*57	*01	*07	*01:01:01	*01:01:01	*00801	*00602/00601
	P	DRMB1207	*11	*33	*35	*14	*04	*01	*01:01:03	*01:03:01	*00501	*00501
		DRMC1207	*33	*32	*14	*57	*01	*07	*01:03:01	*01:01:01	*00501	*00801
		DRMH1207	*11	*32	*35	*27	*04	*01	*01:01:03	*01:01:01	*00501	*00801
		REC5608	*31	*31	*51	*39	*11	*04	*01:01:14	*01:03:01	*00102	*00501
	P	DRMA5608	*31	*03	*51	*07	*11	*14	*01:01:14	*01:01:01	*00102	*00801
		DRMC5608	*03	*31	*07	*39	*14	*04	*01:01:01	*01:03:01	*00801	*00501
	M	DRME5608	*03	*31	*15	*39	*16	*04	*01:01:01	*01:03:01	*00102	*00501
		REC3309	*02	*29	*15	*45	*13	*04	*01:01:01	*01:01:01	*00501	*00102
	M	DRMA3309	*02	*29	*44	*45	*04	*04	*01:01:01	*01:01:01	*00103	*00102
	P	DRMB3309	*02	*02	*15	*51	*13	*15	*01:01:01	*01:01:01	*00501	*00102

		DRMC3309	*02	*02	*51	*44	*15	*04	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00103
		REC1608	*29	*24	*44	*50	*07	*03	*01:01:01	*01:04:01	*00802	*011
	M	DRMA1608	*02	*24	*18	*50	*03	*03	*01:01:01	*01:04:01	*00801	*011
	P	DRMB1608	*29	*24	*44	*51	*07	*08	*01:01:01	*01:01:01	*00802	*00801
		DRME1608	*29	*02	*44	*18	*07	*03	*01:01:01	*01:01:01	*00802	*00801
		DRMG1608	*24	*02	*51	*18	*08	*03	*01:01:01	*01:01:01	*00802	*011
		REC1908	*23	*24	*49	*13	*11	*07	*01:04:04	*01:04:01	*00802	*00802
		DRMA1908	*23	*23	*49	*44	*11	*03	*01:04:04	*01:04:04	*00802	*00802
	M	DRMB1908	*23	*24	*44	*13	*03	*07	*01:04:04	*01:04:01	*00802	*00802
	P	DRMC1908	*23	*03	*49	*38	*11	*11	*01:04:04	*01:01:01	*00802	*00802
		DRMD1908	*23	*24	*49	*13	*11	*07	*01:04:04	*01:04:01	*00802	*00802
		DRME1908	*03	*24	*38	*13	*11	*07	*01:01:01	*01:04:01	*00802	*00802
		REC0608	*33	*02	*53	*44	*08	*11	*01:01:01	*01:04:01	*00501	*00501
		DRMB0608	*33	*02	*53	*44	*08	*11	*01:01:01	*01:04:01	*00501	*00501
		DRMC0608	*33	*32	*53	*50	*08	*15	*01:01:01	*01:04:01	*011	*011
		DRMD0608	*33	*02	*53	*44	*08	*11	*01:01:01	*01:04:01	*00501	*011
		REC4908	*02	*03	*41	*07	*01	*16	*01:01:01	*01:01:01	*00801	*00801
	P	DRMA4908	*02	*01	*41	*08	*01	*03	*01:01:01	*01:01:02	*00801	*00103
		DRMB4908	*01	*03	*08	*51	*03	*11	*01:01:02	*01:01:01	*00801	*00801
	M	DRMC4908	*03	*03	*51	*07	*11	*16	*01:01:01	*01:01:01	*00501	*00801
		REC2410	*24	*32	*82	*40	*15	*14	*01:04:01	*01:01:02	*011	*00102
	M	DRMA2410	*01	*32	*35	*40	*14	*14	*01:06	*01:01:02	*00501	*00102
	P	DRMB2410	*24	*02	*82	*14	*15	*15	*01:04:01	*01:03:01	*011	*00103
		REC2509	*26	*02	*55	*18	*11	*11	*01:01:02	*01:01:01	*00102	*00501
	M	DRMA2509	*31	*02	*57	*18	*07	*11	*01:01:14	*01:01:01	*00501	*00501
	P	DRMB2509	*26	*02	*55	*49	*11	*11	*01:01:02	*01:01:01	*00102	*00802
		DRMD2509	*26	*31	*55	*57	*11	*07	*01:01:02	*01:01:14	*00102	*00501
		REC0310	*24	*01	*49	*08	*13	*03	*01:04:01	*01:01:02	*011	*00802
	M	DRMA0310	*02	*01	*27	*08	*16	*03	*01:01:01	*01:01:02	*00801	*00802
	P	DRMB0310	*24	*29	*49	*50	*13	*13	*01:04:01	*01:01:01	*011	*00102

		DRMC0310	*24	*02	*49	*27	*13	*16	*01:04:01	*01:01:01	*011	*00802
		REC2510	*11	*31	*18	*39	*11	*08	*01:01:03	*01:03:01	*00501	*00102
	M	DRMA2510	*01	*31	*08	*39	*03	*08	*01:01:02	*01:03:01	*00102	*00102
	P	DRMB2510	*11	*03	*18	*35	*11	*04	*01:01:03	*01:01:01	*00501	*00601/00602
		DRMD2510	*03	*01	*35	*08	*04	*03	*01:01:01	*01:01:02	*00601/00602	*00102
		DRME2510	*03	*31	*35	*39	*04	*08	*01:01:01	*01:03:01	*00601/00602	*00102
		REC3210	*26	*01	*35	*58	*01	*13	*01:01:02	*01:06	*00102	*00103
	M	DRMA3210	*29	*01	*45	*58	*09	*13	*01:01:01	*01:06	*00802	*00103
	P	DRMB3210	*26	*23	*35	*07	*01	*15	*01:01:02	*01:04:04	*00102	*00501
		DRMC3210	*23	*01	*07	*58	*15	*13	*01:04:04	*01:06	*00102	*00802
		DRMD3210	*26	*01	*35	*58	*01	*13	*01:01:02	*01:06	*00501	*00103
		REC2611	*11	*68	*44	*38	*13	*07	*01:01:03	*01:01:02	*00103	*00501
	M	DRMA2611	*02	*68	*15	*38	*08	*07	*01:01:01	*01:01:02	*00102	*00501
	P	DRMB2611	*11	*23	*44	*44	*13	*07	*01:01:03	*01:04:04	*00103	*00501
		DRMD2611	*11	*68	*44	*38	*13	*07	*01:01:03	*01:01:02	*00103	*00501
		DRME2611	*11	*02	*44	*15	*13	*08	*01:01:03	*01:01:01	*00501	*00102
		REC2612	*23	*68	*45	*52	*12	*15	*01:04:04	*01:01:02	*011	*00102
	M	DRMA2612	*30	*68	*15	*52	*12	*15	*01:05N	*01:01:02	*00501	*00102
	P	DRMB2612	*23	*02	*45	*44	*12	*07	*01:04:04	*01:01:01	*011	*00102
		DRMC2612	*23	*30	*45	*15	*12	*12	*01:04:04	*01:05N	*011	*00102
		REC5208	*01	*03	*08	*07	*03	*11	*01:01:02	*01:01:01	*00801	*00102
	M	DRMA5208	*68	*03	*40	*07	*04	*11	*01:01:02	*01:01:01	*011	*00102
	P	DRMB5208	*01	*02	*08	*50	*03	*07	*01:01:02	*01:03:01	*00801	*00801
		DRMD5208	*02	*68	*50	*40	*07	*04	*01:03:01	*01:01:02	*00801	*011
		REC1008	*29	*24	*07	*51	*01	*13	*01:01:01	*01:01:02	*00802	*011
	M	DRMA1008	*01	*24	*08	*51	*03	*13	*01:01:02	*01:01:02	*00601/00602	*00802
		DRMB1008	*29	*24	*07	*51	*01	*13	*01:01:01	*01:01:02	*00601/00602	*011
		DRMF1008	*29	*01	*07	*08	*01	*03	*01:01:01	*01:01:02	*00601/00602	*011
		DRMG1008	*26	*24	*57	*51	*01	*13	*01:01:02	*01:01:02	*00802	*00802
		REC4209	*24	*68	*14	*78	*07	*13	*01:01:02	*01:04:01	*00102	*011

		DRMA4209	*24	*68	*14	*78	*07	*13	*01:01:02	*01:04:01	*00102	*011
		REC0711	*02	*30	*07	*42	*12	*03	*01:01:01	*01:05N	*00102	*00501
		DRMA0711	*02	*30	*07	*42	*12	*03	*01:01:01	*01:05N	*00102	*00501
		DRMB0711	*31	*30	*15	*42	*04	*03	*01:03:01	*01:05N	*00102	*00801
		DRMC0711	*02	*02	*07	*35	*12	*16	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00501
		REC2311	*02	*01	*15	*57	*12	*07	*01:01:01	*01:06	*00501	*00801
		DRMA2311	*03	*01	*07	*57	*15	*07	*01:01:01	*01:06	*00103	*00801
		DRMB2311	*02	*01	*15	*57	*12	*07	*01:01:01	*01:06	*00501	*00102
		DRMC2311	*02	*01	*15	*08	*12	*07	*01:01:01	*01:01:02	*00103	*00801
		REC2811	*01	*03	*35	*57	*07	*07	*01:01:01	*01:06	*00801	*00801
		DRMA2811	*01	*03	*35	*57	*07	*07	*01:01:01	*01:06	*00102	*00801
		REC1607	*24	*02	*15	*41	*09	*04	*01:03:01	*01:04:01	*00102	*00801
	M	DRMA1607	*29	*02	*44	*41	*07	*04	*01:01:01	*01:03:01	*00102	*00801
	P	DRMB1607	*24	*24	*15	*40	*09	*11	*01:04:01	*01:04:01	*00102	*00102
LLA		REC2107	*26	*32	*38	*14	*13	*01	*01:01:02	*01:01:01	*00802	*00801
	M	DRMA2107	*24	*32	*35	*14	*12	*01	*01:04:01	*01:01:01	*00801	*00801
	P	DRMB2107	*26	*02	*38	*35	*13	*04	*01:01:02	*01:01:01	*00802	*00802
		DRMC2107	*02	*24	*35	*35	*04	*12	*01:01:01	*01:04:01	*00802	*00801
		REC2607	*02	*31	*44	*35	*03	*14	*01:04:04	*01:03:01	*011	*00501
	M	DRMA2607	*31	*31	*39	*35	*08	*14	*01:03:01	*01:03:01	*00102	*00501
	P	DRMB2607	*02	*02	*44	*14	*03	*08	*01:04:04	*01:03:01	*011	*00501
		DRMD2607	*02	*31	*14	*39	*08	*08	*01:03:01	*01:03:01	*011	*00501
		REC0808	*03	*33	*35	*14	*11	*01	*01:01:01	*01:03:01	*00802	*00802
	M	DRMA0808	*24	*33	*39	*14	*08	*01	*01:04:01	*01:03:01	*00501	*00802
	P	DRMB0808	*03	*11	*35	*35	*11	*07	*01:01:01	*01:01:03	*00802	*00501
		DRMC0808	*03	*24	*35	*39	*11	*08	*01:01:01	*01:04:01	*00501	*00802
		DRMD0808	*11	*33	*35	*14	*07	*01	*01:01:03	*01:03:01	*00501	*00501
		REC1108	*03	*01	*07	*39	*15	*11	*01:01:01	*01:06	*00801	*00501
	M	DRMA1108	*02	*01	*35	*39	*03	*11	*01:01:01	*01:06	*00501	*00501

P	DRMB1108	*03	*01	*07	*44	*15	*16	*01:01:01	*01:06	*00801	*00501
	REC2208	*02	*02	*46	*35	*09	*09	*01:01:01	*01:01:01	*00802	*00102
M	DRMA2208	*02	*02	*08	*35	*02	*09	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00102
P	DRMB2208	*02	*33	*46	*58	*09	*14	*01:01:01	*01:04:01	*00802	*00102
	DRMC2208	*02	*02	*46	*35	*09	*09	*01:01:01	*01:01:01	*00802	*00102
	REC1009	*02	*32	*45	*40	*13	*14	*01:01:01	*01:01:02	*00601/00602	*011
	DRMA1009	*02	*02	*45	*07	*13	*07	*01:01:01	*01:01:01	*00601/00602	*00102
M	DRMB1009	*02	*32	*07	*40	*07	*14	*01:01:01	*01:01:02	*00102	*011
P	DRMC1009	*02	*02	*45	*44	*13	*16	*01:01:01	*01:01:01	*00601/00602	*00103
	DRME1009	*02	*32	*44	*40	*16	*14	*01:01:01	*01:01:02	*00103	*00102
	REC1409	*29	*23	*38	*35	*13	*04	*01:01:01	*01:04:04	*011	*011
M	DRMA1409	*26	*23	*38	*35	*11	*04	*01:01:02	*01:04:04	*00802	*011
P	DRMB1409	*29	*02	*38	*35	*13	*16	*01:01:01	*01:01:01	*011	*00801
	REC2109	*29	*02	*44	*15	*15	*16	*01:01:01	*01:01:01	*00601/00602	*00102
M	DRMA2109	*02	*02	*07	*15	*12	*16	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00102
P	DRMB2109	*29	*32	*44	*44	*15	*01	*01:01:01	*01:01:01	*00601/00602	*00802
	DRMC2109	*32	*02	*44	*07	*01	*12	*01:01:01	*01:01:01	*00802	*00102
	REC2709	*24	*31	*44	*48	*07	*13	*01:04:01	*01:03:01	*00801	*00801
P	DRMA2709	*24	*02	*44	*18	*07	*11	*01:04:01	*01:01:01	*00801	*00801
	DRMB2709	*24	*31	*44	*48	*07	*13	*01:04:01	*01:03:01	*00801	*00102
	DRMC2709	*24	*24	*44	*52	*07	*08	*01:04:01	*01:04:01	*00801	*00801
M	DRMD2709	*24	*31	*52	*48	*08	*13	*01:04:01	*01:03:01	*00102	*00801
	REC3609	*03	*32	*07	*40	*15	*15	*01:01:01	*01:01:01	*00801	*00501
M	DRMA3609	*02	*32	*44	*40	*04	*15	*01:01:01	*01:01:01	*00103	*00501
P	DRMB3609	*03	*02	*07	*08	*15	*16	*01:01:01	*01:01:01	*00801	*011
	DRMC3609	*02	*02	*08	*44	*16	*04	*01:01:01	*01:01:01	*00801	*00501
	REC4309	*01	*24	*58	*52	*13	*04	*01:06	*01:04:01	*00802	*00802
P	DRMA4309	*01	*26	*58	*27	*13	*01	*01:06	*01:01:02	*00802	*011
M	DRMB4309	*29	*24	*15	*52	*08	*04	*01:01:01	*01:04:01	*00802	*00802
	DRMC4309	*01	*24	*58	*52	*13	*04	*01:06	*01:04:01	*00802	*00802

	REC2710	*01	*30	*44	*14	*12	*15	*01:06	*01:01:01	*00801	*00501
M	DRMA2710	*25	*30	*18	*14	*01	*15	*01:01:02	*01:01:01	*00103	*00501
P	DRMB2710	*01	*30	*44	*15	*12	*04	*01:06	*01:05N	*00801	*00103
	DRMC2710	*01	*25	*44	*18	*12	*01	*01:06	*01:01:02	*00103	*00103
	DRMD2710	*30	*30	*15	*14	*04	*15	*01:05N	*01:01:01	*00103	*00501
	REC3710	*01	*01	*15	*08	*01	*03	*01:01:02	*01:06	*00501	*00501
M	DRMA3710	*02	*01	*35	*08	*03	*03	*01:01:01	*01:06	*00501	*00501
P	DRMB3710	*01	*11	*15	*51	*01	*01	*01:01:02	*01:01:03	*00501	*00802
	DRMC3710	*11	*02	*51	*35	*01	*03	*01:01:03	*01:01:01	*00802	*00501
	REC0612	*29	*01	*50	*08	*13	*03	*01:01:01	*01:01:02	*00501	*00501
M	DRMA0612	*03	*01	*07	*08	*15	*03	*01:01:01	*01:01:02	*00102	*00501
P	DRMB0612	*29	*31	*50	*39	*13	*08	*01:01:01	*01:03:01	*00501	*00802
	DRMD0612	*29	*01	*50	*08	*13	*03	*01:01:01	*01:01:02	*00802	*00501
	REC1811	*31	*29	*52	*15	*08	*09	*01:01:01	*01:03:01	*00102	*00501
	DRMA1811	*03	*29	*37	*15	*08	*09	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00801
	DRMB1811	*31	*02	*52	*50	*08	*07	*01:01:01	*01:03:01	*00102	*00801
	DRMD1811	*31	*29	*52	*15	*08	*09	*01:01:01	*01:03:01	*00102	*00801
M	DRME1811	*02	*29	*50	*15	*07	*09	*01:01:01	*01:03:01	*00801	*00501
P	DRMF1811	*31	*03	*52	*37	*08	*08	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00102
	REC0607	*29	*03	*57	*14	*07	*03	*01:01:01	*01:01:01	*00103	*00802
M	DRMA0607	*24	*03	*35	*14	*14	*03	*01:04:01	*01:01:01	*00501	*00802
P	DRMB0607	*29	*68	*57	*40	*07	*04	*01:01:01	*01:01:02	*00103	*00103
	DRMC0607	*68	*24	*40	*35	*04	*14	*01:01:02	*01:04:01	*00103	*00802
	DRMD0607	*29	*03	*57	*14	*07	*03	*01:01:01	*01:01:01	*00103	*00501
	REC3808	*31	*23	*15	*41	*04	*13	*01:03:01	*01:04:04	*00501	*00102
M	DRMA3808	*03	*23	*39	*41	*13	*13	*01:01:01	*01:04:04	*011	*00102
P	DRMB3808	*31	*02	*15	*42	*04	*03	*01:03:01	*01:01:01	*00501	*00801
	DRMC3808	*31	*23	*15	*41	*04	*13	*01:03:01	*01:04:04	*00801	*011
	DRME3808	*31	*03	*15	*39	*04	*13	*01:03:01	*01:01:01	*00801	*00102
	REC0610	*02	*30	*18	*08	*16	*03	*01:01:01	*01:01:01	*00802	*00801

M	DRMA0610	*02	*30	*27	*08	*04	*03	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00801
P	DRMB0610	*02	*01	*18	*08	*16	*03	*01:01:01	*01:01:02	*00802	*00501
	DRMC0610	*02	*30	*18	*08	*16	*03	*01:01:01	*01:01:01	*00501	*00102
	REC5808	*11	*02	*35	*07	*15	*07	*01:01:03	*01:01:01	*00801	*022
P	DRMA5808	*11	*01	*35	*52	*15	*07	*01:01:03	*01:06	*00801	*00102
	DRMB5808	*11	*02	*35	*07	*15	*07	*01:01:03	*01:01:01	*00102	*011
	REC1310	*02	*02	*38	*14	*11	*15	*01:01:01	*01:03:01	*00102	*022
M	DRMA1310	*29	*02	*44	*14	*12	*15	*01:01:01	*01:03:01	*011	*022
P	DRMB1310	*02	*01	*38	*57	*11	*04	*01:01:01	*01:06	*00102	*00501
	DRMC1310	*02	*02	*38	*14	*11	*15	*01:01:01	*01:03:01	*00102	*011
	DRMD1310	*01	*29	*57	*44	*04	*12	*01:06	*01:01:01	*00102	*022
	REC1807	*02	*24	*44	*37	*13	*10	*01:01:01	*01:04:01	*00102	*00103
M	DRMA1807	*02	*24	*27	*37	*01	*10	*01:01:01	*01:04:01	*00102	*00103
P	DRMB1807	*02	*02	*44	*41	*13	*03	*01:01:01	*01:01:01	*00102	*00501
	REC0611	*03	*26	*07	*35	*07	*09	*01:01:01	*01:01:02	*00501	*00501
M	DRMA0611	*02	*26	*15	*35	*14	*09	*01:01:01	*01:01:02	*00102	*00501
P	DRMB0611	*03	*24	*07	*44	*07	*13	*01:01:01	*01:01:02	*00501	*00801
	DRMC0611	*24	*26	*44	*35	*13	*09	*01:01:02	*01:01:02	*00801	*00501
	REC4109	*68	*02	*18	*37	*15	*13	*01:01:02	*01:01:01	*00802	*00103
M	DRMA4109	*24	*02	*08	*37	*03	*13	*01:04:01	*01:01:01	*011	*00103
P	DRMB4109	*68	*32	*18	*40	*15	*04	*01:01:02	*01:01:01	*00802	*00801
	DRMC4109	*68	*02	*18	*37	*15	*13	*01:01:02	*01:01:01	*00802	*00103
	REC3108	*31	*24	*27	*39	*13	*04	*01:01:14	*01:04:01	*011	*00801
M	DRMA3108	*02	*24	*15	*39	*16	*04	*01:01:01	*01:04:01	*00501	*00801
P	DRMB3108	*31	*02	*27	*08	*13	*03	*01:01:14	*01:01:01	*011	*00501
	DRMC3108	*31	*24	*27	*39	*13	*04	*01:01:14	*01:04:01	*00501	*00801
	DRMD3108	*02	*24	*08	*39	*03	*04	*01:01:01	*01:04:01	*00501	*00501
	REC5308	*02	*24	*15	*35	*04	*14	*01:01:01	*01:04:01	*00103	*00501
	DRMA5308	*31	*24	*35	*35	*13	*14	*01:03:01	*01:04:01	*00103	*00102
	DRMD5308	*02	*24	*15	*35	*04	*14	*01:01:01	*01:04:01	*00103	*00102

		DRMF5308	*02	*24	*15	*35	*04	*13	*01:01:01	*01:04:01	*00103	*00501
		REC2912	*29	*32	*49	*14	*01	*15	*01:01:01	*01:01:17	*00103	*00801
	M	DRMA2912	*03	*32	*08	*14	*	*15	*01:01:01	*01:01:17	*00501	*00801
	P	DRMB2912	*29	*01	*49	*51	*01	*	*01:01:01	*01:06	*00103	*00802
		REC3012	*24	*30	*35	*42	*03	*03	*01:04:01	*01:05N	*00501	*00801
	M	DRMA3012	*30	*30	*15	*42	*	*03	*01:01:01	*01:05N	*00102	*00801
	P	DRMB3012	*24	*01	*35	*08	*03	*	*01:04:01	*01:06	*00501	*00801
		REC0606	*29	*30	*51	*07	*08	*15	*01:01:01	*01:05N	*00801	*00102
		DRMA0606	*29	*11	*51	*35	*08	*07	*01:01:01	*01:01:03	*00102	*00102
		DRMB0606	*02	*30	*50	*07	*08	*15	*01:01:01	*01:05N	*00801	*011
	P	DRMC0606	*29	*02	*51	*50	*08	*08	*01:01:01	*01:01:01	*00801	*00102
	M	DRMD0606	*11	*30	*35	*07	*07	*15	*01:01:03	*01:05N	*011	*00102

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4

LEGENDA

Combinação +	Indivíduos com combinação do genótipo KIR2DL4 e HLA-G
Combinação -	Indivíduos sem combinação do genótipo KIR2DL4 e HLA-G
LMA	Pacientes com leucemia mieloide aguda com a combinação genotípica
LLA	Pacientes com leucemia linfoide aguda com a combinação genotípica
P-	Pacientes total sem a combinação genotípica
NP	Não pacientes com a combinação genotípica
NP-	Não pacientes sem a combinação genotípica
TOTAL	Total de indivíduos com a combinação genotípica
P[LMA]-	Pacientes com LMA sem a combinação genotípica
P[LLA]-	Pacientes com LLA sem a combinação genotípica
T[LMA]-	Total de indivíduos do grupo LMA (pacientes e família nuclear) sem a combinação genotípica
T[LLA]-	Total de indivíduos do grupo LLA (pacientes e família nuclear) sem a combinação genotípica
G1+, G1-, G2+, G2-	Grupos referentes ao teste de Fischer em tabela de contigência 2x2
LMA+LLA(G1) x NP(G2)	Grupo de pacientes em relação ao grupo dos não pacientes
LMA (G1) x NP (G2)	Grupo de pacientes com LMA em relação ao grupo de não pacientes
LLA (G1) x NP (G2)	Grupo de pacientes com LLA em relação ao grupo de não pacientes
LMA (G1) x LLA (G2)	Grupo de pacientes com LMA em relação ao grupo de pacientes com LLA
TLMA (G1) x TLLA (G2)	Total de indivíduos com a combinação genotípica no grupo dos pacientes de LMA e família nuclear em relação ao grupo formado pelos pacientes com LLA e família nuclear
216	Número de indivíduos total
117	Número de indivíduos no grupo de pacientes LLA e família nuclear
28	Número de pacientes com LLA
99	Número de indivíduos no grupo de pacientes LMA e família nuclear
24	Número de pacientes com LMA

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 1.1)

HLA-G	*01:01:01 *01:01:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	1	0	4	5	51	160	1	51	4	160	0,652529552
*00102 *00103	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00102 *00501	2	0	4	6	50	160	2	50	4	160	0,480229941
*00102 *00601/00602	0	1	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538
*00102 *00801	0	0	3	3	52	161	0	52	3	161	0,435753097
*00102 *00802	0	1	3	4	51	161	1	51	3	161	0,754896211
*00103 *00501	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00103 *00601/00602	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00103 *00802	0	1	0	1	51	164	1	51	1	163	0,424375538
*00501 *00801	0	1	2	3	51	162	1	51	2	162	0,419614094
*00801 *00601/00602	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *00801	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00801 *00802	0	1	2	3	51	162	1	51	2	162	0,419614094
*00801 *011	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00802 *00601/00602	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:01 *01:01:03										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *00601/00602	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *00601/00602	1	0	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538
*00501 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *00802	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00801 *022	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 1.2)

HLA-G	*01:01:01 *01:01:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	23	28	160	1	23	4	160	0,375882094	0	28	4	160	0,529446817
*00102 *00103	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00102 *00501	22	28	160	2	22	4	160	0,141726035	0	28	4	160	0,529446817
*00102 *00601/00602	24	27	163	0	24	1	163	0,872340426	1	27	1	163	0,271051483
*00102 *00801	24	28	161	0	24	3	161	0,662268451	0	28	3	161	0,621524525
*00102 *00802	24	27	161	0	24	3	161	0,662268451	1	27	3	161	0,368310829
*00103 *00501	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00103 *00601/00602	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00103 *00802	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333
*00501 *00801	24	27	162	0	24	2	162	0,760382296	1	27	2	162	0,322271976
*00801 *00601/00602	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00801 *00801	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1
*00801 *00802	24	27	162	0	24	2	162	0,760382296	1	27	2	162	0,322271976
*00801 *011	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00802 *00601/00602	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:01 *01:01:03												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *00601/00602	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00601/00602	23	28	163	1	23	1	163	0,239617704	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00802	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00801 *022	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 1.3)

HLA-G	*01:01:01 *01:01:01													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	23	28	1	23	0	28	0,461538462	97	114	2	97	3	114	0,578490261
*00102 *00103	24	28	0	24	0	28	1	97	117	2	97	0	117	0,208914729
*00102 *00501	22	28	2	22	0	28	0,208144796	95	115	4	95	2	115	0,266388669
*00102 *00601/00602	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00102 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	114	0	99	3	114	0,157049192
*00102 *00802	24	27	0	24	1	27	0,538461538	98	114	1	98	3	114	0,376033277
*00103 *00501	24	28	0	24	0	28	1	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00103 *00601/00602	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00103 *00802	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00501 *00801	24	27	0	24	1	27	0,538461538	98	115	1	98	2	115	0,562645802
*00801 *00601/00602	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00801 *00801	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00801 *00802	24	27	0	24	1	27	0,538461538	97	116	2	97	1	116	0,437354198
*00801 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00802 *00601/00602	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00802 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:01:01 *01:01:03													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00102 *00501	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *00601/00602	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00501 *00601/00602	23	28	1	23	0	28	0,461538462	97	117	2	97	0	117	0,208914729
*00501 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00501 *00802	24	28	0	24	0	28	1	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00801 *022	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 2.1)

HLA-G	*01:01:01 *01:01:02										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00103	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *00501	1	0	3	4	51	161	1	51	3	161	0,754896211
*00102 *00601/00602	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *00801	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00102 *00802	0	0	3	3	52	161	0	52	3	161	0,435753097
*00102 *011	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00103 *00103	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00103 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00103 *00801	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00103 *00802	0	1	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538
*00501 *00501	0	2	0	2	50	164	2	50	0	164	0,057105943
*00501 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *00802	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00601/00602 *011	0	1	2	3	51	162	1	51	2	162	0,419614094
*00801 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *00802	0	1	2	3	51	162	1	51	2	162	0,419614094
*00802 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *011	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741

HLA-G	*01:01:01 *01:01:14										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 2.2)

HLA-G	*01:01:01 *01:01:02												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00103	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *00501	23	28	161	1	23	3	161	0,343663629	0	28	3	161	0,621524525
*00102 *00601/00602	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *00801	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1
*00102 *00802	24	28	161	0	24	3	161	0,662268451	0	28	3	161	0,621524525
*00102 *011	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00103 *00103	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00103 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00103 *00801	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00103 *00802	24	27	163	0	24	1	163	0,872340426	1	27	1	163	0,271051483
*00501 *00501	24	26	164	0	24	0	164	1	2	26	0	164	0,020615183
*00501 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00802	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00601/00602 *011	24	27	162	0	24	2	162	0,760382296	1	27	2	162	0,322271976
*00801 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00801 *00802	24	27	162	0	24	2	162	0,760382296	1	27	2	162	0,322271976
*00802 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *011	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1

HLA-G	*01:01:01 *01:01:14												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 2.3)

HLA-G	*01:01:01 *01:01:02													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00103	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *00501	23	28	1	23	0	28	0,461538462	97	115	2	97	2	115	0,623966723
*00102 *00601/00602	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *00801	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *00802	24	28	0	24	0	28	1	96	117	3	96	0	117	0,094694994
*00102 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	116	1	98	1	116	0,707751938
*00103 *00103	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00103 *00501	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00103 *00801	24	28	0	24	0	28	1	97	117	2	97	0	117	0,208914729
*00103 *00802	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00501 *00501	24	26	0	24	2	26	0,285067873	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00501 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00501 *00802	24	28	0	24	0	28	1	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00601/00602 *011	24	27	0	24	1	27	0,538461538	97	116	2	97	1	116	0,437354198
*00801 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00801 *00802	24	27	0	24	1	27	0,538461538	98	115	1	98	2	115	0,562645802
*00802 *00802	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00802 *011	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:01:01 *01:01:14													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00501 *00501	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00501 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 3.1)

HLA-G	*01:01:01 *01:01:17										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00801	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00501 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:01 *01:03:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	0	1	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538
*00102 *00601/00602	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *00801	0	0	4	4	52	160	0	52	4	160	0,329372059
*00102 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *022	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00501 *00801	0	0	4	4	52	160	0	52	4	160	0,329372059
*00501 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *00802	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*011 *022	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:01 *01:04:04										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *011	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00501 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*011 *011	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 3.2)

HLA-G	*01:01:01 *01:01:17												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00801	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333
*00501 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:01 *01:03:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	27	163	0	24	1	163	0,872340426	1	27	1	163	0,271051483
*00102 *00601/00602	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *00801	24	28	160	0	24	4	160	0,576352544	0	28	4	160	0,529446817
*00102 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *022	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333
*00501 *00801	24	28	160	0	24	4	160	0,576352544	0	28	4	160	0,529446817
*00501 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *00802	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333
*011 *022	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:01 *01:04:04												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *011	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00501 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*011 *011	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 3.3)

HLA-G	*01:01:01 *01:01:17													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00801	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00501 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:01:01 *01:03:01													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	27	0	24	1	27	0,538461538	98	116	1	98	1	116	0,707751938
*00102 *00601/00602	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	114	1	98	3	114	0,376033277
*00102 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00102 *022	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00501 *00801	24	28	0	24	0	28	1	97	115	2	97	2	115	0,623966723
*00501 *00802	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00802 *00802	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*011 *022	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:01:01 *01:04:04													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	116	1	98	1	116	0,707751938
*00501 *00802	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00802 *00802	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*011 *011	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 4.1)

HLA-G	*01:01:01 *01:04:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *00103	0	1	2	3	51	162	1	51	2	162	0,419614094
*00102 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00103 *00501	0	1	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538
*00103 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *00501	1	0	2	3	51	162	1	51	2	162	0,419614094
*00501 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *00802	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00501 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *00801	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00801 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *00802	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00802 *011	1	0	1	2	51	162	1	51	1	163	0,424375538
*011 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:01 *01:06										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00102 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *022	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00103 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00103 *00802	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00501 *00501	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462
*00501 *00801	1	2	1	4	49	163	3	49	1	163	0,044161829
*00801 *00801	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 4.2)

HLA-G	*01:01:01 *01:04:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *00103	24	27	162	0	24	2	162	0,760382296	1	27	2	162	0,322271976
*00102 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00103 *00501	24	27	163	0	24	1	163	0,872340426	1	27	1	163	0,271051483
*00103 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00501	23	28	162	1	23	2	162	0,294341534	0	28	2	162	0,728948517
*00501 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00802	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00501 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00801 *00801	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00801 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00801 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *00802	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00802 *011	23	28	163	1	23	1	163	0,239617704	0	28	1	163	0,854166667
*011 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:01 *01:06												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00102 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *022	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00103 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00103 *00802	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00501 *00501	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517
*00501 *00801	23	26	163	1	23	1	163	0,239617704	2	26	1	163	0,0562035
*00801 *00801	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 4.3)

HLA-G	*01:01:01 *01:04:01												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *00103	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	114	0	99	3	114	0,157049192
*00102 *00802	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00102 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00103 *00501	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00103 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00501 *00501	23	28	1	23	0	28	0,461538462	97	116	2	97	1	116	0,437354198
*00501 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00501 *00802	24	28	0	24	0	28	1	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00501 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00801 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00801 *00802	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00801 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00802 *00802	24	28	0	24	0	28	1	98	116	1	98	1	116	0,707751938
*00802 *011	23	28	1	23	0	28	0,461538462	97	117	2	97	0	117	0,208914729
*011 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:01:01 *01:06												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	0	24	0	28	1	98	116	1	98	1	116	0,707751938
*00102 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *022	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00103 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00103 *00802	24	28	0	24	0	28	1	98	116	1	98	1	116	0,707751938
*00501 *00501	24	28	0	24	0	28	1	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00501 *00801	23	26	1	23	2	26	0,558733032	98	114	1	98	3	114	0,376033277
*00801 *00801	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 5.1)

HLA-G	*01:01:01 *01:05N										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	1	0	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538
*00102 *00801	0	1	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538
*00103 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:02 *01:01:02										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *00601/00602	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:02 *01:01:03										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00501	1	0	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538
*00501 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:02 *01:01:14										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:02 *01:05N										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 5.2)

HLA-G	*01:01:01 *01:05N												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	23	24	163	1	23	1	163	0,239617704	0	24	1	163	0,872340426
*00102 *00801	24	23	163	0	24	1	163	0,872340426	1	23	1	163	0,239617704
*00103 *00501	24	24	163	0	24	1	163	0,872340426	0	24	1	163	0,872340426
*00801 *011	24	24	163	0	24	1	163	0,872340426	0	24	1	163	0,872340426

HLA-G	*01:01:02 *01:01:02												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *00601/00602	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:02 *01:01:03												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00501	23	28	163	1	23	1	163	0,239617704	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:02 *01:01:14												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:02 *01:05N												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 5.3)

HLA-G	*01:01:01 *01:05N												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	23	24	1	23	0	24	0,5	97	117	2	97	0	117	0,208914729
*00102 *00801	24	23	0	24	1	23	0,5	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00103 *00501	24	24	0	24	0	24	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00801 *011	24	24	0	24	0	24	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:01:02 *01:01:02												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00802 *00601/00602	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00802 *00802	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:01:02 *01:01:03												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00501	23	28	1	23	0	28	0,461538462	97	117	2	97	0	117	0,208914729
*00501 *00802	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:01:02 *01:01:14												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	0	24	0	28	1			1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:01:02 *01:05N												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 6.1)

HLA-G	*01:01:02 *01:03:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:02 *01:04:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00802	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00102 *011	2	0	1	3	50	163	2	50	1	163	0,144632809
*00103 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *011	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741

HLA-G	*01:01:02 *01:04:04										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *011	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00802 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:02 *01:06										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00103	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00102 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00103 *00103	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00103 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *00501	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00802 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 6.2)

HLA-G	*01:01:02 *01:03:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00801 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00801 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:02 *01:04:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00802	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1
*00102 *011	22	28	163	2	22	1	163	0,043390015	0	28	1	163	0,854166667
*00103 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *011	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1

HLA-G	*01:01:02 *01:04:04												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *011	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1
*00802 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:02 *01:06												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00103	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1
*00102 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00103 *00103	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00103 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00501	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333
*00802 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 6.3)

HLA-G	*01:01:02 *01:03:01													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00801 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00801 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:01:02 *01:04:01													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00802	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *011	22	28	2	22	0	28	0,208144796	96	117	3	96	0	117	0,094694994
*00103 *00802	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00802 *011	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:01:02 *01:04:04													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *011	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00802 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:01:02 *01:06													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00103	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00102 *00501	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00103 *00103	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00103 *00501	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00501 *00501	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00802 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 7.1)

HLA-G	*01:01:03 *01:03:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00501 *00501	0	0	2	2	52	162	0	52	2	162	0,575624462

HLA-G	*01:01:03 *01:04:04										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:03 *01:05N										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:03 *01:06										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:01:14 *01:03:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	1	0	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741

HLA-G	*01:01:14 *01:04:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *011	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 7.2)

HLA-G	*01:01:03 *01:03:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1
*00501 *00501	24	28	162	0	24	2	162	0,760382296	0	28	2	162	0,728948517

HLA-G	*01:01:03 *01:04:04												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:03 *01:05N												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:03 *01:06												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:01:14 *01:03:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	23	28	164	1	23	0	164	0,127659574	0	28	0	164	1

HLA-G	*01:01:14 *01:04:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	24	24	163	0	24	1	163	0,872340426	0	24	1	163	0,872340426
*00801 *011	24	23	164	0	24	0	164	1	1	23	0	164	0,127659574

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 7.3)

HLA-G	*01:01:03 *01:03:01												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00501 *00501	24	28	0	24	0	28	1	98	116	1	98	1	116	0,707751938

HLA-G	*01:01:03 *01:04:04												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00501	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:01:03 *01:05N												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:01:03 *01:06												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:01:14 *01:03:01												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:01:14 *01:04:01												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	24	24	0	24	0	24	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00801 *011	24	23	0	24	1	23	0,5	99	116	0	99	1	116	0,541666667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 8.1)

HLA-G	*01:03:01 *01:03:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:03:01 *01:04:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00103	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00102 *00801	1	0	2	3	51	162	1	51	2	162	0,419614094
*00103 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00501 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *00801	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741

HLA-G	*01:03:01 *01:04:04										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741
*00501 *011	0	1	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538
*00801 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:03:01 *01:05N										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 8.2)

HLA-G	*01:03:01 *01:03:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:03:01 *01:04:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00103	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00102 *00801	23	28	162	1	23	2	162	0,294341534	0	28	2	162	0,728948517
*00103 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00501 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00801 *00801	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333

HLA-G	*01:03:01 *01:04:04												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333
*00501 *011	24	27	163	0	24	1	163	0,872340426	1	27	1	163	0,271051483
*00801 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:03:01 *01:05N												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 8.3)

HLA-G	*01:03:01 *01:03:01												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00501 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:03:01 *01:04:01												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00103	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00102 *00801	23	28	1	23	0	28	0,461538462	98	115	1	98	2	115	0,562645802
*00103 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00501 *00802	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00801 *00801	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:03:01 *01:04:04												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00501	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00501 *011	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	115	0	99	2	115	0,292248062
*00801 *011	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:03:01 *01:05N												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 9.1)

HLA-G	*01:04:01 *01:04:01										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00801 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:04:01 *01:04:04										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *00802	1	0	2	3	51	162	1	51	2	162	0,419614094

HLA-G	*01:04:01 *01:05N										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	0	1	0	1	51	164	1	51	0	164	0,240740741

HLA-G	*01:04:01 *01:06										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259
*00802 *00802	0	1	1	2	51	163	1	51	1	163	0,424375538

HLA-G	*01:04:04 *01:04:04										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00802 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 9.2)

HLA-G	*01:04:01 *01:04:01												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00801 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:04:01 *01:04:04												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *00802	23	28	162	1	23	2	162	0,294341534	0	28	2	162	0,728948517

HLA-G	*01:04:01 *01:05N												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	24	27	164	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833333

HLA-G	*01:04:01 *01:06												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667
*00802 *00802	24	27	163	0	24	1	163	0,872340426	1	27	1	163	0,271051483

HLA-G	*01:04:04 *01:04:04												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00802 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 9.3)

HLA-G	*01:04:01 *01:04:01												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00102	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00801 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:04:01 *01:04:04												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00801	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333
*00802 *00802	23	28	1	23	0	28	0,461538462	96	117	3	96	0	117	0,094694994

HLA-G	*01:04:01 *01:05N												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	116	0	99	1	116	0,541666667

HLA-G	*01:04:01 *01:06												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00501 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667
*00802 *00802	24	27	0	24	1	27	0,538461538	99	115	0	99	2	115	0,292248062

HLA-G	*01:04:04 *01:04:04												
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00802 *00802	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 10.1)

HLA-G	*01:04:04 *01:05N										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *011	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:04:04 *01:06										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00802	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

HLA-G	*01:05N *01:06										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00801	0	0	1	1	52	163	0	52	1	163	0,759259259

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 10.2)

HLA-G	*01:04:04 *01:05N												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *011	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:04:04 *01:06												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00802	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

HLA-G	*01:05N *01:06												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00801	24	28	163	0	24	1	163	0,872340426	0	28	1	163	0,854166667

Tabelas de Frequência das Combinações Genotípicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 10.3)

HLA-G	*01:04:04 *01:05N													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *011	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:04:04 *01:06													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00102 *00802	24	28	0	24	0	28	1	98	117	1	98	0	117	0,458333333

HLA-G	*01:05N *01:06													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
KIR2DL4	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*00103 *00801	24	28	0	24	0	28	1	99	116	0	99	1	116	0,541666667

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 1.1)

KIR2DL4	*00102										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	11	8	82	101	189	574	19	189	82	574	0,114947459
*01:01:02	7	0	17	24	201	639	7	201	17	639	0,429012787
*01:01:03	1	0	7	8	207	649	1	207	7	649	0,389546191
*01:01:14	1	0	2	3	207	654	1	207	2	654	0,417155453
*01:01:17	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:03:01	3	2	16	21	203	640	5	203	16	640	0,606338073
*01:04:01	4	1	15	20	203	641	5	203	15	641	0,655357114
*01:04:04	1	1	9	11	206	647	2	206	9	647	0,483464526
*01:05N	1	1	6	8	206	650	2	206	6	650	0,701910701
*01:06	1	0	7	8	207	649	1	207	7	649	0,389546191

KIR2DL4	*00103										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	0	6	25	31	202	631	6	202	25	631	0,351448354
*01:01:02	2	1	12	15	205	644	3	205	12	644	0,494235436
*01:01:03	1	0	2	3	207	654	1	207	2	654	0,417155453
*01:01:14	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:01:17	0	1	0	1	207	656	1	207	0	656	0,240740741
*01:03:01	0	0	2	2	208	654	0	208	2	654	0,576262821
*01:04:01	0	2	7	9	206	649	2	206	7	649	0,626738868
*01:04:04	0	0	1	1	208	655	0	208	1	655	0,759259259
*01:05N	0	0	2	2	208	654	0	208	2	654	0,576262821
*01:06	1	0	7	8	207	649	1	207	7	649	0,389546191

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 1.2)

KIR2DL4	*00102												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	85	104	574	11	85	82	574	0,463192389	8	104	82	574	0,065229309
*01:01:02	89	112	639	7	89	17	639	0,017632018	0	112	17	639	0,066509919
*01:01:03	95	112	649	1	95	7	649	0,728164834	0	112	7	649	0,330185771
*01:01:14	95	112	654	1	95	2	654	0,29215854	0	112	2	654	0,729438288
*01:01:17	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:03:01	93	110	640	3	93	16	640	0,508233535	2	110	16	640	0,498339519
*01:04:01	92	111	641	4	92	15	641	0,205501784	1	111	15	641	0,296625421
*01:04:04	95	111	647	1	95	9	647	0,628251713	1	111	9	647	0,558952085
*01:05N	95	111	650	1	95	6	650	0,77863554	1	111	6	650	0,728440608
*01:06	95	112	649	1	95	7	649	0,728164834	0	112	7	649	0,330185771

KIR2DL4	*00103												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	96	106	631	0	96	25	631	0,030987641	6	106	25	631	0,283994104
*01:01:02	94	111	644	2	94	12	644	0,436054343	1	111	12	644	0,412825921
*01:01:03	95	112	654	1	95	2	654	0,29215854	0	112	2	654	0,729438288
*01:01:14	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:01:17	96	111	656	0	96	0	656	1	1	111	0	656	0,145833333
*01:03:01	96	112	654	0	96	2	654	0,760829532	0	112	2	654	0,729438288
*01:04:01	96	110	649	0	96	7	649	0,382838957	2	110	7	649	0,495600643
*01:04:04	96	112	655	0	96	1	655	0,872340426	0	112	1	655	0,854166667
*01:05N	96	112	654	0	96	2	654	0,760829532	0	112	2	654	0,729438288
*01:06	95	112	649	1	95	7	649	0,728164834	0	112	7	649	0,330185771

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 1.3)

KIR2DL4	*00102													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	85	104	11	85	8	104	0,201562511	349	414	47	349	54	414	0,517646061
*01:01:02	89	112	7	89	0	112	0,003949527	376	464	20	376	4	464	0,000150124
*01:01:03	95	112	1	95	0	112	0,461538462	393	463	3	393	5	463	0,457273617
*01:01:14	95	112	1	95	0	112	0,461538462	393	468	3	393	0	468	0,095886331
*01:01:17	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:03:01	93	110	3	93	2	110	0,427470537	388	455	8	388	13	455	0,311111574
*01:04:01	92	111	4	92	1	111	0,140141999	387	457	9	387	11	457	0,56227036
*01:04:04	95	111	1	95	1	111	0,711259755	388	465	8	388	3	465	0,066844403
*01:05N	95	111	1	95	1	111	0,711259755	391	465	5	391	3	465	0,275618923
*01:06	95	112	1	95	0	112	0,461538462	391	465	5	391	3	465	0,275618923

KIR2DL4	*00103													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	96	106	0	96	6	106	0,022876351	390	443	6	390	25	443	0,001724124
*01:01:02	94	111	2	94	1	111	0,442142633	390	459	6	390	9	459	0,425453238
*01:01:03	95	112	1	95	0	112	0,461538462	393	468	3	393	0	468	0,095886331
*01:01:14	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:01:17	96	111	0	96	1	111	0,538461538	396	467	0	396	1	467	0,541666667
*01:03:01	96	112	0	96	0	112	1	395	467	1	395	1	467	0,706884898
*01:04:01	96	110	0	96	2	110	0,288740245	395	460	1	395	8	460	0,033886991
*01:04:04	96	112	0	96	0	112	1	395	468	1	395	0	468	0,458333333
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	396	466	0	396	2	466	0,293115102
*01:06	95	112	1	95	0	112	0,461538462	392	464	4	392	4	464	0,542726383

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 2.1)

KIR2DL4	*00501										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	10	10	57	77	188	599	20	188	57	599	0,38937092
*01:01:02	2	6	16	24	200	640	8	200	16	640	0,233699025
*01:01:03	3	0	12	15	205	644	3	205	12	644	0,494235436
*01:01:14	1	0	5	6	207	651	1	207	5	651	0,555753311
*01:01:17	0	0	1	1	208	655	0	208	1	655	0,759259259
*01:03:01	2	3	16	21	203	640	5	203	16	640	0,606338073
*01:04:01	2	2	12	16	204	644	4	204	12	644	0,664116278
*01:04:04	0	2	4	6	206	652	2	206	4	652	0,480409711
*01:05N	1	1	3	5	206	653	2	206	3	653	0,50561918
*01:06	1	4	10	15	203	646	5	203	10	646	0,245877976

KIR2DL4	*00601/00602										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	1	3	14	18	204	642	4	204	14	642	0,555447883
*01:01:02	0	1	5	6	207	651	1	207	5	651	0,555753311
*01:01:03	1	0	2	3	207	654	1	207	2	654	0,417155453
*01:01:14	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:01:17	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:03:01	0	0	1	1	208	655	0	208	1	655	0,759259259
*01:04:01	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:04:04	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:05N	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:06	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 2.2)

KIR2DL4	*00501												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	86	102	599	10	86	57	599	0,343453673	10	102	57	599	0,474760283
*01:01:02	94	106	640	2	94	16	640	0,590807156	6	106	16	640	0,086252809
*01:01:03	93	112	644	3	93	12	644	0,311532659	0	112	12	644	0,148617332
*01:01:14	95	112	651	1	95	5	651	0,388761357	0	112	5	651	0,45367361
*01:01:17	96	112	655	0	96	1	655	0,872340426	0	112	1	655	0,854166667
*01:03:01	94	109	640	2	94	16	640	0,590807156	3	109	16	640	0,453198502
*01:04:01	94	110	644	2	94	12	644	0,436054343	2	110	12	644	0,665311348
*01:04:04	96	110	652	0	96	4	652	0,578409224	2	110	4	652	0,170060575
*01:05N	95	111	653	1	95	3	653	0,340136512	1	111	3	653	0,364715409
*01:06	95	108	646	1	95	10	646	0,580200015	4	108	10	646	0,093240102

KIR2DL4	*00601/00602												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	95	109	642	1	95	14	642	0,409484295	3	109	14	642	0,499208233
*01:01:02	96	111	651	0	96	5	651	0,504174885	1	111	5	651	0,786645067
*01:01:03	95	112	654	1	95	2	654	0,29215854	0	112	2	654	0,729438288
*01:01:14	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:01:17	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:03:01	96	112	655	0	96	1	655	0,872340426	0	112	1	655	0,854166667
*01:04:01	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:04:04	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:05N	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:06	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 2.3)

KIR2DL4	*00501													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	86	102	10	86	10	102	0,447698049	366	421	30	366	47	421	0,125175337
*01:01:02	94	106	2	94	6	106	0,19601588	387	453	9	387	15	453	0,268157667
*01:01:03	93	112	3	93	0	112	0,096654436	386	463	10	386	5	463	0,085020266
*01:01:14	95	112	1	95	0	112	0,461538462	392	466	4	392	2	466	0,268520676
*01:01:17	96	112	0	96	0	112	1	396	467	0	396	1	467	0,541666667
*01:03:01	94	109	2	94	3	109	0,572529463	389	454	7	389	14	454	0,173398345
*01:04:01	94	110	2	94	2	110	0,629211852	391	457	5	391	11	457	0,177121132
*01:04:04	96	110	0	96	2	110	0,288740245	393	465	3	393	3	465	0,575592931
*01:05N	95	111	1	95	1	111	0,711259755	393	466	3	393	2	466	0,422056803
*01:06	95	108	1	95	4	108	0,236293939	392	457	4	392	11	457	0,105874442

KIR2DL4	*00601/00602													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	95	109	1	95	3	109	0,370788148	387	459	9	387	9	459	0,450114235
*01:01:02	96	111	0	96	1	111	0,538461538	391	467	5	391	1	467	0,074294179
*01:01:03	95	112	1	95	0	112	0,461538462	393	468	3	393	0	468	0,095886331
*01:01:14	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:01:17	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:03:01	96	112	0	96	0	112	1	395	468	1	395	0	468	0,458333333
*01:04:01	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:04:04	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:06	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 3.1)

KIR2DL4	*00801										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	8	10	51	69	190	605	18	190	51	605	0,377102222
*01:01:02	2	1	12	15	205	644	3	205	12	644	0,494235436
*01:01:03	0	1	2	3	207	654	1	207	2	654	0,417155453
*01:01:14	0	1	2	3	207	654	1	207	2	654	0,417155453
*01:01:17	0	1	1	2	207	655	1	207	1	655	0,423737179
*01:03:01	1	2	15	18	205	641	3	205	15	641	0,335889128
*01:04:01	1	4	16	21	203	640	5	203	16	640	0,606338073
*01:04:04	0	0	3	3	208	653	0	208	3	653	0,437211004
*01:05N	0	2	4	6	206	652	2	206	4	652	0,480409711
*01:06	3	2	6	11	203	650	5	203	6	650	0,118402688

KIR2DL4	*00802										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	2	11	40	53	195	616	13	195	40	616	0,606062001
*01:01:02	2	2	20	24	204	636	4	204	20	636	0,277104531
*01:01:03	0	0	3	3	208	653	0	208	3	653	0,437211004
*01:01:14	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:01:17	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:03:01	0	2	2	4	206	654	2	206	2	654	0,245925272
*01:04:01	5	2	17	24	201	639	7	201	17	639	0,429012787
*01:04:04	2	0	13	15	206	643	2	206	13	643	0,259717004
*01:05N	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:06	0	2	6	8	206	650	2	206	6	650	0,701910701

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 3.2)

KIR2DL4	*00801												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	88	102	605	8	88	51	605	0,505064236	10	102	51	605	0,440456833
*01:01:02	94	111	644	2	94	12	644	0,436054343	1	111	12	644	0,412825921
*01:01:03	96	111	654	0	96	2	654	0,760829532	1	111	2	654	0,319962487
*01:01:14	96	111	654	0	96	2	654	0,760829532	1	111	2	654	0,319962487
*01:01:17	96	111	655	0	96	1	655	0,872340426	1	111	1	655	0,270561712
*01:03:01	95	110	641	1	95	15	641	0,37297738	2	110	15	641	0,538489106
*01:04:01	95	108	640	1	95	16	640	0,339010077	4	108	16	640	0,362812468
*01:04:04	96	112	653	0	96	3	653	0,663443352	0	112	3	653	0,622784126
*01:05N	96	110	652	0	96	4	652	0,578409224	2	110	4	652	0,170060575
*01:06	93	110	650	3	93	6	650	0,076520101	2	110	6	650	0,232358933

KIR2DL4	*00802												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	94	101	616	2	94	40	616	0,076659933	11	101	40	616	0,097270533
*01:01:02	94	110	636	2	94	20	636	0,451668618	2	110	20	636	0,354841789
*01:01:03	96	112	653	0	96	3	653	0,663443352	0	112	3	653	0,622784126
*01:01:14	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:01:17	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:03:01	96	110	654	0	96	2	654	0,760829532	2	110	2	654	0,103679317
*01:04:01	91	110	639	5	91	17	639	0,13450493	2	110	17	639	0,459735692
*01:04:04	94	112	643	2	94	13	643	0,702391254	0	112	13	643	0,126599949
*01:05N	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:06	96	110	650	0	96	6	650	0,439381326	2	110	6	650	0,232358933

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 3.3)

KIR2DL4	*00801													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	88	102	8	88	10	102	0,539853819	366	429	30	366	39	429	0,389599532
*01:01:02	94	111	2	94	1	111	0,442142633	386	463	10	386	5	463	0,085020266
*01:01:03	96	111	0	96	1	111	0,538461538	395	466	1	395	2	466	0,562427354
*01:01:14	96	111	0	96	1	111	0,538461538	395	466	1	395	2	466	0,562427354
*01:01:17	96	111	0	96	1	111	0,538461538	396	466	0	396	2	466	0,293115102
*01:03:01	95	110	1	95	2	110	0,557857367	388	458	8	388	10	458	0,549885765
*01:04:01	95	108	1	95	4	108	0,236293939	393	450	3	393	18	450	0,00225828
*01:04:04	96	112	0	96	0	112	1	394	467	2	394	1	467	0,437572646
*01:05N	96	110	0	96	2	110	0,288740245	395	463	1	395	5	463	0,152601361
*01:06	93	110	3	93	2	110	0,427470537	391	462	5	391	6	462	0,612134731

KIR2DL4	*00802													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	94	101	2	94	11	101	0,019084398	375	436	21	375	32	436	0,214002024
*01:01:02	94	110	2	94	2	110	0,629211852	384	456	12	384	12	456	0,415912801
*01:01:03	96	112	0	96	0	112	1	396	465	0	396	3	465	0,158458976
*01:01:14	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:01:17	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:03:01	96	110	0	96	2	110	0,288740245	396	464	0	396	4	464	0,08557889
*01:04:01	91	110	5	91	2	110	0,164253043	384	456	12	384	12	456	0,415912801
*01:04:04	94	112	2	94	0	112	0,211817168	382	467	14	382	1	467	0,000138515
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:06	96	110	0	96	2	110	0,288740245	394	462	2	394	6	462	0,204982806

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 4.1)

KIR2DL4	*011										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	2	3	24	29	203	632	5	203	24	632	0,263667409
*01:01:02	5	1	8	14	202	648	6	202	8	648	0,084390535
*01:01:03	0	0	2	2	208	654	0	208	2	654	0,576262821
*01:01:14	0	1	1	2	207	655	1	207	1	655	0,423737179
*01:01:17	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:03:01	0	1	8	9	207	648	1	207	8	648	0,321776855
*01:04:01	4	1	9	14	203	647	5	203	9	647	0,249147827
*01:04:04	1	3	6	10	204	650	4	204	6	650	0,19779084
*01:05N	0	0	3	3	208	653	0	208	3	653	0,437211004
*01:06	0	0	1	1	208	655	0	208	1	655	0,759259259

KIR2DL4	*022										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	0	2	2	4	206	654	2	206	2	654	0,245925272
*01:01:02	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:01:03	0	1	0	1	207	656	1	207	0	656	0,240740741
*01:01:14	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:01:17	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:03:01	0	1	1	2	207	655	1	207	1	655	0,423737179
*01:04:01	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:04:04	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:05N	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:06	0	0	1	1	208	655	0	208	1	655	0,759259259

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 4.2)

KIR2DL4	*011												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	94	109	632	2	94	24	632	0,333186334	3	109	24	632	0,42796934
*01:01:02	91	111	648	5	91	8	648	0,013997839	1	111	8	648	0,613571436
*01:01:03	96	112	654	0	96	2	654	0,760829532	0	112	2	654	0,729438288
*01:01:14	96	111	655	0	96	1	655	0,872340426	1	111	1	655	0,270561712
*01:01:17	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:03:01	96	111	648	0	96	8	648	0,333506688	1	111	8	648	0,613571436
*01:04:01	92	111	647	4	92	9	647	0,054774151	1	111	9	647	0,558952085
*01:04:04	95	109	650	1	95	6	650	0,77863554	3	109	6	650	0,100892694
*01:05N	96	112	653	0	96	3	653	0,663443352	0	112	3	653	0,622784126
*01:06	96	112	655	0	96	1	655	0,872340426	0	112	1	655	0,854166667

KIR2DL4	*022												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	96	110	654	0	96	2	654	0,760829532	2	110	2	654	0,103679317
*01:01:02	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:01:03	96	111	656	0	96	0	656	1	1	111	0	656	0,145833333
*01:01:14	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:01:17	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:03:01	96	111	655	0	96	1	655	0,872340426	1	111	1	655	0,270561712
*01:04:01	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:04:04	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:05N	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:06	96	112	655	0	96	1	655	0,872340426	0	112	1	655	0,854166667

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de HLA-G e KIR2DL4 (página 4.3)

KIR2DL4	*011													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	94	109	2	94	3	109	0,572529463	382	453	14	382	15	453	0,528320975
*01:01:02	91	111	5	91	1	111	0,074325363	386	464	10	386	4	464	0,047353799
*01:01:03	96	112	0	96	0	112	1	396	466	0	396	2	466	0,293115102
*01:01:14	96	111	0	96	1	111	0,538461538	396	466	0	396	2	466	0,293115102
*01:01:17	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:03:01	96	111	0	96	1	111	0,538461538	394	461	2	394	7	461	0,136752288
*01:04:01	92	111	4	92	1	111	0,140141999	384	466	12	384	2	466	0,002439025
*01:04:04	95	109	1	95	3	109	0,370788148	393	461	3	393	7	461	0,247357548
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	395	466	1	395	2	466	0,562427354
*01:06	96	112	0	96	0	112	1	396	467	0	396	1	467	0,541666667

KIR2DL4	*022													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	96	110	0	96	2	110	0,288740245	396	464	0	396	4	464	0,08557889
*01:01:02	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:01:03	96	111	0	96	1	111	0,538461538	396	467	0	396	1	467	0,541666667
*01:01:14	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:01:17	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:03:01	96	111	0	96	1	111	0,538461538	396	466	0	396	2	466	0,293115102
*01:04:01	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:04:04	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:06	96	112	0	96	0	112	1	396	467	0	396	1	467	0,541666667

Tabela de Frequências alélicas de HLA-G e KIR2 DL4

HLA-G	Presença do alelo				LMA + LLA X NP					LMA X NP					LLA X NP					LMA X LLA				
	LMA	LLA	P	NP	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p
G*01:01:01	17	26	43	148	43	61	148	180	0,2875591	17	31	148	180	0,133228	26	30	148	180	0,51426	17	31	26	30	0,1744238
G*01:01:02	10	6	16	45	16	88	45	283	0,47208358	10	38	45	283	0,124209	6	50	45	283	0,357033	10	38	6	50	0,1245066
G*01:01:03	3	1	4	15	4	100	15	313	0,50168069	3	45	15	313	0,528343	1	55	15	313	0,293557	3	45	1	55	0,2529631
G*01:01:14	1	1	2	5	2	102	5	323	0,45293931	1	47	5	323	0,39061	1	55	5	323	0,787067	1	47	1	55	0,712472
G*01:01:17	0	1	1	1	1	103	1	327	0,42394947	0	48	1	327	0,87234	1	55	1	327	0,270725	0	48	1	55	0,5384615
G*01:03:01	3	6	9	30	9	95	30	298	0,52858775	3	45	30	298	0,367828	6	50	30	298	0,369866	3	45	6	50	0,3271868
G*01:04:01	8	6	14	38	14	90	38	310	0,2995826	8	40	38	310	0,149779	6	50	38	310	0,590008	8	40	6	50	0,2742287
G*01:04:04	2	3	5	18	5	99	18	310	0,50848816	2	46	18	310	0,517521	3	53	18	310	0,633159	2	46	3	53	0,5732541
G*01:05N	1	2	3	9	3	101	9	319	0,67853157	1	47	9	319	0,627869	2	54	9	319	0,459867	1	47	2	54	0,5581426
G*01:06	3	4	7	19	7	97	19	309	0,54195504	3	45	19	309	0,44712	4	52	19	309	0,5266	3	45	4	52	0,5861508

KIR2DL4	Presença do alelo				LMA + LLA X NP					LMA X NP					LLA X NP					LMA X LLA				
	LMA	LLA	P	NP	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p
K*00102	15	7	22	80	22	82	80	248	0,29606573	15	33	80	248	0,256724	7	49	80	248	0,031697	15	33	7	49	0,0179505
K*00103	2	5	7	29	7	97	29	299	0,32613364	2	46	29	299	0,212517	5	51	29	299	0,626019	2	46	5	51	0,287109
K*00501	11	14	25	68	25	79	68	260	0,29859783	11	37	68	260	0,417895	14	42	68	260	0,298616	11	37	14	42	0,4942011
K*00601/00602	1	2	3	11	3	101	11	317	0,55359645	1	47	11	317	0,532866	2	54	11	317	0,709024	1	47	2	54	0,5581426
K*00801	7	12	19	56	19	85	56	272	0,43888039	7	41	56	272	0,424383	12	44	56	272	0,286212	7	41	12	44	0,2603633
K*00802	6	9	15	51	15	89	51	277	0,45907893	6	42	51	277	0,382224	9	47	51	277	0,628491	6	42	9	47	0,4087183
K*011	6	5	11	31	11	93	31	297	0,41483199	6	42	31	297	0,27135	5	51	31	297	0,568064	6	42	5	51	0,3916248
K*022	0	2	2	2	2	102	2	326	0,24565392	0	48	2	326	0,760681	2	54	2	326	0,103205	0	48	2	54	0,287528

Tabela de Frequências Genotípicas de HLA-G (1/2)

HLA-G	Presença do alelo				LMA + LLA X NP					LMA X NP					LLA X NP					LMA X LLA				
	LMA	LLA	P	NP	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p
G*01:01:01 G*01:01:01	4	5	9	29	9	43	29	135	0,56749744	4	20	29	135	0,583374	5	23	29	135	0,628296	4	20	5	23	0,6020919
G*01:01:01 G*01:01:02	3	5	8	24	8	44	24	140	0,64805562	3	21	24	140	0,535918	5	23	24	140	0,547531	3	21	5	23	0,4443948
G*01:01:01 G*01:01:03	1	1	2	8	2	50	8	156	0,55237004	1	23	8	156	0,677663	1	27	8	156	0,612427	1	23	1	27	0,7149321
G*01:01:01 G*01:01:14	0	0	0	3	0	52	3	161	0,4357531	0	24	3	161	0,662268	0	28	3	161	0,621525	0	24	0	28	1
G*01:01:01 G*01:01:17	0	1	1	1	1	51	1	163	0,42437554	0	24	1	163	0,87234	1	27	1	163	0,271051	0	24	1	27	0,5384615
G*01:01:01 G*01:03:01	0	3	3	13	3	49	13	151	0,43342905	0	24	13	151	0,158937	3	25	13	151	0,521043	0	24	3	25	0,1482353
G*01:01:01 G*01:04:01	2	2	4	21	4	48	21	143	0,22988486	2	22	21	143	0,409945	2	26	21	143	0,311444	2	22	2	26	0,6339496
G*01:01:01 G*01:04:04	0	1	1	6	1	51	6	158	0,4656255	0	24	6	158	0,435448	1	27	6	158	0,729173	0	24	1	27	0,5384615
G*01:01:01 G*01:05N	1	1	2	4	2	50	4	160	0,48022994	1	23	4	160	0,375882	1	27	4	160	0,394269	1	23	1	27	0,7149321
G*01:01:01 G*01:06	2	2	4	10	4	48	10	154	0,52146766	2	22	10	154	0,468585	2	26	10	154	0,442271	2	22	2	26	0,6339496
G*01:01:02 G*01:01:02	0	0	0	3	0	52	3	161	0,4357531	0	24	3	161	0,662268	0	28	3	161	0,621525	0	24	0	28	1
G*01:01:02 G*01:01:03	1	0	1	2	1	51	2	162	0,41961409	1	23	2	162	0,294342	0	28	2	162	0,728949	1	23	0	28	0,4615385
G*01:01:02 G*01:01:14	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
G*01:01:02 G*01:03:01	0	0	0	3	0	52	3	161	0,4357531	0	24	3	161	0,662268	0	28	3	161	0,621525	0	24	0	28	1
G*01:01:02 G*01:04:01	4	0	4	2	4	48	2	162	0,03091005	4	20	2	162	0,002636	0	28	2	162	0,728949	4	20	0	28	0,0392502
G*01:01:02 G*01:04:04	1	0	1	2	1	51	2	162	0,41961409	1	23	2	162	0,294342	0	28	2	162	0,728949	1	23	0	28	0,4615385
G*01:01:02 G*01:05N	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
G*01:01:02 G*01:06	1	1	2	4	2	50	4	160	0,48022994	1	23	4	160	0,375882	1	27	4	160	0,394269	1	23	1	27	0,7149321

Tabela de Frequências Genotípicas de HLA-G (2/2)

HLA-G	Presença do alelo				LMA + LLA X NP					LMA X NP					LLA X NP					LMA X LLA				
	LMA	LLA	P	NP	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p
G*01:01:03 G*01:03:01	1	0	1	2	1	51	2	162	0,41961409	1	23	2	162	0,294342	0	28	2	162	0,728949	1	23	0	28	0,4615385
G*01:01:03 G*01:04:04	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
G*01:01:03 G*01:05N	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
G*01:01:03 G*01:06	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
G*01:01:14 G*01:03:01	1	0	1	0	1	51	0	164	0,24074074	1	23	0	164	0,12766	0	28	0	164	1	1	23	0	28	0,4615385
G*01:01:14 G*01:04:01	0	1	1	1	1	51	1	163	0,42437554	0	24	1	163	0,87234	1	27	1	163	0,271051	0	24	1	27	0,5384615
G*01:03:01 G*01:03:01	0	0	0	2	0	52	2	162	0,57562446	0	24	2	162	0,760382	0	28	2	162	0,728949	0	24	0	28	1
G*01:03:01 G*01:04:01	1	1	2	5	2	50	5	159	0,45337308	1	23	5	159	0,394368	1	27	5	159	0,787935	1	23	1	27	0,7149321
G*01:03:01 G*01:04:04	0	2	2	2	2	50	2	162	0,24510379	0	24	2	162	0,760382	2	26	2	162	0,102242	0	24	2	26	0,2850679
G*01:03:01 G*01:05N	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
G*01:04:01 G*01:04:01	0	0	0	2	0	52	2	162	0,57562446	0	24	2	162	0,760382	0	28	2	162	0,728949	0	24	0	28	1
G*01:04:01 G*01:04:04	1	0	1	3	1	51	3	161	0,75489621	1	23	3	161	0,343664	0	28	3	161	0,621525	1	23	0	28	0,4615385
G*01:04:01 G*01:05N	0	1	1	0	1	51	0	164	0,24074074	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833	0	24	1	27	0,5384615
G*01:04:01 G*01:06	0	1	1	2	1	51	2	162	0,41961409	0	24	2	162	0,760382	1	27	2	162	0,322272	0	24	1	27	0,5384615
G*01:04:04 G*01:04:04	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
G*01:04:04 G*01:05N	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
G*01:04:04 G*01:06	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
G*01:05N G*01:06	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1

Tabela de Frequências Genotípicas de KIR2 DL4 (1/2)

HLA-G	Presença do alelo				LMA + LLA X NP					LMA X NP					LLA X NP					LMA X LLA				
	LMA	LLA	P	NP	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p
K*00102 K*00102	1	0	1	9	1	51	9	155	0,25892346	1	23	9	155	0,627104	0	28	9	155	0,234163	1	23	0	28	0,4615385
K*00102 K*00103	1	1	2	6	2	50	6	158	0,70331652	1	23	6	158	0,779978	1	27	6	158	0,729173	1	23	1	27	0,7149321
K*00102 K*00501	6	2	8	17	8	44	17	147	0,21578576	6	18	17	147	0,072305	2	26	17	147	0,45324	6	18	2	26	0,0814625
K*00102 K*00601/00602	0	1	1	4	1	51	4	160	0,65252955	0	24	4	160	0,576353	1	27	4	160	0,394269	0	24	1	27	0,5384615
K*00102 K*00801	2	1	3	16	3	49	16	148	0,28290247	2	22	16	148	0,589043	1	27	16	148	0,254163	2	22	1	27	0,441267
K*00102 K*00802	1	1	2	8	2	50	8	156	0,55237004	1	23	8	156	0,677663	1	27	8	156	0,612427	1	23	1	27	0,7149321
K*00102 K*011	3	0	3	10	3	49	10	154	0,61623287	3	21	10	154	0,154133	0	28	10	154	0,198335	3	21	0	28	0,0915837
K*00102 K*022	0	1	1	1	1	51	1	163	0,42437554	0	24	1	163	0,87234	1	27	1	163	0,271051	0	24	1	27	0,5384615
K*00103 K*00103	0	0	0	2	0	52	2	162	0,57562446	0	24	2	162	0,760382	0	28	2	162	0,728949	0	24	0	28	1
K*00103 K*00501	1	1	2	8	2	50	8	156	0,55237004	1	23	8	156	0,677663	1	27	8	156	0,612427	1	23	1	27	0,7149321
K*00103 K*00601/00602	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
K*00103 K*00801	0	1	1	4	1	51	4	160	0,65252955	0	24	4	160	0,576353	1	27	4	160	0,394269	0	24	1	27	0,5384615
K*00103 K*00802	0	2	2	4	2	50	4	160	0,48022994	0	24	4	160	0,576353	2	26	4	160	0,17078	0	24	2	26	0,2850679
K*00103 K*011	0	0	0	2	0	52	2	162	0,57562446	0	24	2	162	0,760382	0	28	2	162	0,728949	0	24	0	28	1
K*00501 K*00501	1	3	4	7	4	48	7	157	0,20746386	1	23	7	157	0,728902	3	25	7	157	0,123231	1	23	3	25	0,3660504
K*00501 K*00601/00602	1	0	1	1	1	51	1	163	0,42437554	1	23	1	163	0,239618	0	28	1	163	0,854167	1	23	0	28	0,4615385

Tabela de Frequências Genotípicas de KIR2 DL4 (2/2)

HLA-G	Presença do alelo				LMA + LLA X NP					LMA X NP					LLA X NP					LMA X LLA				
	LMA	LLA	P	NP	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p	G1+	G1-	G2+	G2-	p
K*00501 K*00801	1	4	5	14	5	47	14	150	0,49129152	1	23	14	150	0,401961	4	24	14	150	0,207229	1	23	4	24	0,2268908
K*00501 K*00802	0	0	0	10	0	52	10	154	0,0594565	0	24	10	154	0,246079	0	28	10	154	0,198335	0	24	0	28	1
K*00501 K*011	0	1	1	4	1	51	4	160	0,65252955	0	24	4	160	0,576353	1	27	4	160	0,394269	0	24	1	27	0,5384615
K*00601/00602 K*00801	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1
K*00601/00602 K*00802	0	0	0	2	0	52	2	162	0,57562446	0	24	2	162	0,760382	0	28	2	162	0,728949	0	24	0	28	1
K*00601/00602 K*011	0	1	1	2	1	51	2	162	0,41961409	0	24	2	162	0,760382	1	27	2	162	0,322272	0	24	1	27	0,5384615
K*00801 K*00801	2	1	3	5	3	49	5	159	0,30519254	2	22	5	159	0,174432	1	27	5	159	0,787935	2	22	1	27	0,441267
K*00801 K*00802	0	2	2	5	2	50	5	159	0,45337308	0	24	5	159	0,501176	2	26	5	159	0,20567	0	24	2	26	0,2850679
K*00801 K*011	0	1	1	6	1	51	6	158	0,4656255	0	24	6	158	0,435448	1	27	6	158	0,729173	0	24	1	27	0,5384615
K*00801 K*022	0	1	1	0	1	51	0	164	0,24074074	0	24	0	164	1	1	27	0	164	0,145833	0	24	1	27	0,5384615
K*00802 K*00802	1	2	3	9	3	49	9	155	0,67987998	1	23	9	155	0,627104	2	26	9	155	0,460157	1	23	2	26	0,558733
K*00802 K*011	3	0	3	4	3	49	4	160	0,30366386	3	21	4	160	0,039974	0	28	4	160	0,529447	3	21	0	28	0,0915837
K*011 K*011	0	1	1	1	1	51	1	163	0,42437554	0	24	1	163	0,87234	1	27	1	163	0,271051	0	24	1	27	0,5384615
K*011 K*022	0	0	0	1	0	52	1	163	0,75925926	0	24	1	163	0,87234	0	28	1	163	0,854167	0	24	0	28	1

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de FAMÍLIAS de HLA-G e KIR2DL4 (página 1.1)

KIR2DL4	*00102										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	20	8	108	136	180	520	28	180	108	548	0,177532
*01:03	3	2	16	21	203	640	5	203	16	640	0,606338
*01:04	5	2	24	31	201	632	7	201	24	632	0,52025
*01:05N	1	1	6	8	206	650	2	206	6	650	0,701911
*01:06	1	0	7	8	207	649	1	207	7	649	0,389546

KIR2DL4	*00103										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	3	8	39	50	197	617	11	197	39	617	0,43759
*01:03:01	0	0	2	2	208	654	0	208	2	654	0,576263
*01:04:01	0	2	8	10	206	649	2	206	8	648	0,553263
*01:05N	0	0	2	2	208	654	0	208	2	654	0,576263
*01:06	1	0	7	8	207	649	1	207	7	649	0,389546

KIR2DL4	*00501										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	16	16	91	123	176	565	32	176	91	565	0,318241
*01:03	2	3	16	21	203	640	5	203	16	640	0,606338
*01:04	2	4	16	22	202	640	6	202	16	640	0,537198
*01:05N	1	1	3	5	206	653	2	206	3	653	0,505619
*01:06	1	4	10	15	203	646	5	203	10	646	0,245878

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de FAMÍLIAS de HLA-G e KIR2DL4 (página 1.2)

KIR2DL4	*00102												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	76	104	520	20	76	108	520	0,234393	8	104	108	520	0,003197
*01:03	93	110	640	3	93	16	640	0,508234	2	110	16	640	0,49834
*01:04	91	110	632	5	91	24	632	0,249586	2	110	24	632	0,242739
*01:05N	95	111	650	1	95	6	650	0,778636	1	111	6	650	0,728441
*01:06	95	112	649	1	95	7	649	0,728165	0	112	7	649	0,330186

KIR2DL4	*00103												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	93	617	631	3	93	39	617	0,19078	8	104	39	617	0,434144
*01:03	96	112	654	0	96	2	654	0,76083	0	112	2	654	0,729438
*01:04	96	110	648	0	96	8	648	0,333507	2	110	8	648	0,477761
*01:05N	96	112	654	0	96	2	654	0,76083	0	112	2	654	0,729438
*01:06	95	112	649	1	95	7	649	0,728165	0	112	7	649	0,330186

KIR2DL4	*00501												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	80	96	565	16	80	91	565	0,252282	16	96	91	565	0,49637
*01:03	94	109	640	2	94	16	640	0,590807	3	109	16	640	0,453199
*01:04	94	108	640	2	94	16	640	0,590807	4	108	16	640	0,362812
*01:05N	95	111	653	1	95	3	653	0,340137	1	111	3	16	0,009594
*01:06	95	108	646	1	95	10	646	0,5802	4	108	10	646	0,09324

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de FAMÍLIAS de HLA-G e KIR2DL4 (página 1.3)

KIR2DL4														
	*00102													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	76	104	20	76	8	104	0,003527	349	414	73	323	63	405	0,028481
*01:03	93	110	3	93	2	110	0,427471	388	455	8	388	13	455	0,311112
*01:04	91	110	5	91	2	110	0,164253	387	457	17	379	14	454	0,199883
*01:05N	95	111	1	95	1	111	0,71126	391	465	5	391	3	465	0,275619
*01:06	95	112	1	95	0	112	0,461538	391	465	5	391	3	465	0,275619

KIR2DL4														
	*00103													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	93	104	3	93	8	104	0,163946	381	433	15	381	35	433	0,01407
*01:03	96	112	0	96	0	112	1	395	467	1	395	1	467	0,706885
*01:04	96	110	0	96	2	110	0,28874	394	460	2	394	8	460	0,08935
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	396	466	0	396	2	466	0,293115
*01:06	95	112	1	95	0	112	0,461538	392	464	4	392	4	464	0,542726

KIR2DL4														
	*00501													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	80	96	16	80	16	96	0,388055	343	421	53	343	70	398	0,287652
*01:03	94	109	2	94	3	109	0,572529	389	454	7	389	14	454	0,173398
*01:04	94	108	2	94	4	108	0,416834	388	454	8	388	14	454	0,247728
*01:05N	95	111	1	95	1	111	0,71126	393	466	3	393	2	466	0,422057
*01:06	95	108	1	95	4	108	0,236294	392	457	4	392	11	457	0,105874

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de FAMÍLIAS de HLA-G e KIR2DL4 (página 2.1)

KIR2DL4	*00601/00602										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	2	4	21	27	202	635	6	202	21	635	0,515116
*01:03	0	0	1	1	208	655	0	208	1	655	0,759259
*01:04	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:05N	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:06	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1

KIR2DL4	*00801										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	10	14	68	92	184	588	24	184	68	588	0,339881
*01:03	1	2	15	18	205	641	3	205	15	641	0,335889
*01:04	1	4	19	24	203	637	5	203	19	637	0,462577
*01:05N	0	2	4	6	206	652	2	206	4	652	0,48041
*01:06	3	2	6	11	203	650	5	203	6	650	0,118403

KIR2DL4	*00802										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	4	13	63	80	191	593	17	191	63	593	0,320073
*01:03	0	2	2	4	206	654	2	206	2	654	0,245925
*01:04	7	2	30	39	199	626	9	199	30	626	0,529104
*01:05N	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:06	0	2	6	8	206	650	2	206	6	650	0,701911

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de FAMÍLIAS de HLA-G e KIR2DL4 (página 2.2)

KIR2DL4	*00601/00602												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	94	108	635	2	94	21	635	0,419875	4	108	21	635	0,480303
*01:03	96	112	655	0	96	1	655	0,87234	0	112	1	655	0,854167
*01:04	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:05N	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:06	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1

KIR2DL4	*00801												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	86	98	588	10	86	68	588	0,590317	14	98	68	588	0,310602
*01:03	95	110	641	1	95	15	641	0,372977	2	110	15	641	0,538489
*01:04	95	108	637	1	95	19	637	0,251738	4	108	19	637	0,527337
*01:05N	96	110	652	0	96	4	652	0,578409	2	110	4	652	0,170061
*01:06	93	110	650	3	93	6	650	0,07652	2	110	6	650	0,232359

KIR2DL4	*00802												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	92	99	593	4	92	63	593	0,051483	13	99	63	593	0,29429
*01:03	96	110	654	0	96	2	654	0,76083	2	110	2	654	0,103679
*01:04	91	110	626	7	91	30	626	0,217165	2	110	30	626	0,129446
*01:05N	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:06	96	110	650	0	96	6	650	0,439381	2	110	6	650	0,232359

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de FAMÍLIAS de HLA-G e KIR2DL4 (página 2.3)

KIR2DL4														
	*00601/00602													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	94	108	2	94	4	108	0,416834	379	458	17	379	10	458	0,05284
*01:03	96	112	0	96	0	112	1	395	468	1	395	0	468	0,458333
*01:04	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:06	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1

KIR2DL4														
	*00801													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	86	98	10	86	14	98	0,402704	354	418	42	354	50	418	0,530351
*01:03	95	110	1	95	2	110	0,557857	388	458	8	388	10	458	0,549886
*01:04	95	108	1	95	4	108	0,236294	391	449	5	391	19	449	0,009477
*01:05N	96	110	0	96	2	110	0,28874	395	463	1	395	5	463	0,152601
*01:06	93	110	3	93	2	110	0,427471	391	462	5	391	6	462	0,612135

KIR2DL4														
	*00802													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	92	99	4	92	13	99	0,042365	363	421	33	363	47	421	0,228306
*01:03	96	110	0	96	2	110	0,28874	396	464	0	396	4	464	0,085579
*01:04	91	110	5	91	2	110	0,164253	384	456	12	384	12	456	0,415913
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:06	96	110	0	96	2	110	0,28874	394	462	2	394	6	462	0,204983

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de FAMÍLIAS de HLA-G e KIR2DL4 (página 3.1)

KIR2DL4	*011										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	7	5	35	47	196	621	12	196	35	621	0,529955
*01:03:01	0	1	8	9	207	648	1	207	8	648	0,321777
*01:04:01	5	4	15	24	199	641	9	199	15	641	0,102993
*01:05N	0	0	3	3	208	653	0	208	3	653	0,437211
*01:06	0	0	1	1	208	655	0	208	1	655	0,759259

KIR2DL4	*022										
	Combinação +				Combinação -		LMA+LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	LMA	LLA	NP	TOTAL	P-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	0	3	2	5	205	654	3	205	2	654	0,093389
*01:03	0	1	1	2	207	655	1	207	1	655	0,423737
*01:04	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:05N	0	0	0	0	208	656	0	208	0	656	1
*01:06	0	0	1	1	208	655	0	208	1	655	0,759259

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de FAMÍLIAS de HLA-G e KIR2DL4 (página 3.2)

KIR2DL4	*011												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01:01	89	107	621	7	89	35	621	0,318373	5	107	24	621	0,354597
*01:03:01	96	111	648	0	96	8	648	0,333507	1	111	8	648	0,613571
*01:04:01	91	108	647	5	91	15	641	0,129655	4	108	15	641	0,375007
*01:05N	96	112	653	0	96	3	653	0,663443	0	112	3	653	0,622784
*01:06	96	112	655	0	96	1	655	0,87234	0	112	1	655	0,854167

KIR2DL4	*022												
	Combinação -			LMA (G1) x NP (G2)					LLA (G1) x NP (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	NP-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	96	109	654	0	96	2	654	0,76083	3	109	2	654	0,024196
*01:03	96	111	655	0	96	1	655	0,87234	1	111	1	655	0,270562
*01:04	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:05N	96	112	656	0	96	0	656	1	0	112	0	656	1
*01:06	96	112	655	0	96	1	655	0,87234	0	112	1	655	0,854167

Tabela de Frequências das Combinações Alélicas de FAMÍLIAS de HLA-G e KIR2DL4 (página 3.3)

KIR2DL4	*011													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	89	107	7	89	5	107	0,282455	372	445	24	372	23	445	0,277131
*01:03	96	111	0	96	1	111	0,538462	394	461	2	394	7	461	0,136752
*01:04	91	108	5	91	4	108	0,404254	381	459	15	381	9	459	0,073075
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	395	466	1	395	2	466	0,562427
*01:06	96	112	0	96	0	112	1	396	467	0	396	1	467	0,541667

KIR2DL4	*022													
	Combinação -		LMA (G1) x LLA (G2)					Combinação -		TLMA (G1) x TLLA (G2)				
HLA-G	P[LMA]-	P[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value	T[LMA]-	T[LLA]-	G1+	G1-	G2+	G2-	p Value
*01:01	96	109	0	96	3	109	0,154182	396	464	0	396	5	463	0,046173
*01:03	96	111	0	96	1	111	0,538462	396	466	0	396	2	466	0,293115
*01:04	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:05N	96	112	0	96	0	112	1	396	468	0	396	0	468	1
*01:06	96	112	0	96	0	112	1	396	467	0	396	1	467	0,541667

ANEXO 3. PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

HOSPITAL DE CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Curitiba, 02 de agosto de 2.001.

Ilmo (a) (s) Sr. (a)(s)
MARIA DA GRAÇA BICALHO DE LACERDA
Nesta

Prezado(a) Senhor(a):

Comunicamos que o Projeto de pesquisa **"DETECÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES RELEVANTES NO PROGNÓSTICO E ACEITAÇÃO DO ALO-ENXERTO"**, está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela Resolução nº 196/96 do Ministério da Saúde.
Protocolo CEP-HC nº 037ext.019/2001-07

O referido projeto foi apresentado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, em reunião realizada no dia 31 de julho de 2.001.

Sendo o que se apresenta para o momento, subscrevo-me,

Atenciosamente

Prof. Dr. Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clinicas – UFPR