



**CATÓLICA**  
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | PORTO  
Instituto de Ciências da Saúde

**ESTUDO DOS REPERTÓRIOS DE RECEPTORES *KILLER*  
NAS CÉLULAS *NATURAL KILLER* E NOS LINFÓCITOS T  
DO SANGUE PERIFÉRICO DE INDIVÍDUOS ADULTOS NORMAIS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências da Saúde  
da Universidade Católica Portuguesa para obtenção do grau de mestre em  
Análises Clínicas e Saúde Pública, especialidade – Hematologia e Imunohemoterapia.

Trabalho realizado no Laboratório de Citometria do Serviço de  
Hematologia Clínica do Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto,  
sob orientação de Professora Doutora Margarida Lima.



**MARLENE ARAÚJO DOS SANTOS**

Porto, Dezembro de 2011



## **AGRADECIMENTOS**



As minhas primeiras palavra de agradecimento vão para a Professora Doutora Margarida Lima, pela confiança que depositou em mim desde o primeiro momento, pela dedicação que teve em todo o processo de elaboração deste trabalho, pela preciosa e infindável ajuda, pela amabilidade que teve em partilhar o seu tempo comigo permitindo-me esclarecer as (inúmeras) dúvidas e alargar os meus conhecimentos nesta área, pela sinceridade com que sempre se dirigiu a mim em todos os assuntos. Foi para mim uma honra tê-la como minha orientadora. Cresci muito neste processo e por isso as palavras serão sempre poucas para lhe agradecer tudo quanto fez por mim.

Agradeço também a todo o Laboratório de Citometria (LC) do Serviço de Hematologia Clínica (SHC) do Hospital Santo António (HSA) do Centro Hospitalar do Porto (CHP):

- À Dra. Ana Helena Santos, pela alegria e força que me transmitiu; por tantas vezes ter dito que “tudo se resolve” e que “vai correr bem” acabei por acreditar e seguir em frente;
- À Dra. Catarina Lau, pelas palavras meigas de incentivo e coragem;
- À Dra. Maria dos Anjos Teixeira, pelo sorriso que me dirigiu no pior dia da elaboração desta tarefa e que nunca esquecerei; foi um alento num dia muito difícil. Provavelmente ela nem se apercebeu, mas foi fundamental;
- À Mestre Maria Luís Queirós, pela calma e serenidade que sempre me transmitiu;
- À Dra. Marta Gonçalves, pelo carinho e amizade com que sempre me incentivou a continuar;
- À Dra. Sónia Fonseca, pela alegre energia com que envolve tudo e todos e que se torna contagiante.

Todas, sem excepção, foram extraordinárias! Desde a cedência de material, espaço e tempo, à partilha de conhecimentos, foram incasáveis. Não poderia estar mais grata pela vossa amizade e companheirismo reflectida nesta jornada e principalmente em todos estes anos de convivência.

Agradeço ainda a todos os colegas do Serviço de Hematologia Clínica do Hospital Santo António do Centro Hospitalar do Porto, que me permitiram conciliar a “vida profissional” com a “vida de estudante”, neste retorno à faculdade que nem sempre se mostrou fácil, mas que no final foi muito enriquecedor.

Um “obrigada” especial à Dra. Lurdes Moreira por ter sido uma óptima “colega de carteira”. Não poderia ter tido parceira melhor para este regresso à faculdade.

Ao Serviço de Hematologia do Hospital de Santo António do Centro Hospitalar do Porto, por ter facultado a utilização das instalações e equipamentos para a realização do trabalho.

Ao Hospital de Santo António do Centro Hospitalar do Porto, e ao Fórum Hematológico do Norte (FHN), pela concessão de bolsas destinadas ao pagamento das propinas do Curso de Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública.

À Unidade Multidisciplinar de Investigação Biomédica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade do Porto (UMIB/ICBAS/UP), pelo financiamento concedido para a realização do trabalho.

A todos os meus familiares por todo o carinho e compreensão, apesar da escassez do meu tempo nestes últimos dois anos.

A todos os meus amigos, por serem simplesmente isso: amigos! Sinto-me abençoada por vos ter na minha vida.

Em especial gostaria de agradecer aos meus pais e à minha irmã, pela certeza que tenho do vosso amor, pela vossa compreensão e paciência, e ao meu marido por ter aguentado este período estoicamente ao meu lado, sem nunca vacilar no seu amor e apoio a “201%” que sempre me transmitiu. A vós, os meus “quatro fantásticos”, dedico esta tese por serem o meu pilar.

## **FINANCIAMENTO**



O projecto que conduziu a esta dissertação de mestrado foi financiado pela Unidade Multidisciplinar de Investigação Biomédica (UMIB), uma unidade de investigação filiada na Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), com sede no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) da Universidade do Porto (UP), com recurso às verbas do grupo de investigação "Blood, lymphopoietic and hematopoietic disorders" (BLHD).



**RESUMO**



A citotoxicidade mediada por células tem um papel fundamental na resposta imune inata e adaptativa do nosso organismo, nomeadamente no que respeita à eliminação de células tumorais e de células infectadas por vírus. Para além das células *natural killer* (NK), também os linfócitos T (LT) citotóxicos estão implicados neste processo.

As células NK caracterizam-se do ponto de vista fenotípico pela ausência de expressão do complexo CD3/TCR (*T cell receptor*, receptor da célula T) e pela expressão de CD16 e/ou CD56 na membrana. Podem ser distinguidas duas subpopulações de células NK no sangue periférico de adultos normais: as células NK CD56<sup>+</sup>, que têm intensidade fraca de expressão de CD56 e que expressam CD16; e as células NK CD56<sup>++</sup>, que têm intensidade forte de expressão de CD56, que não expressam ou expressam parcialmente CD16 com uma intensidade fraca. Enquanto as primeiras, que representam 90-95% das células NK circulantes, têm maior actividade citotóxica, as segundas constituem apenas 5-10% das células NK circulantes e têm fundamentalmente funções imunorreguladoras. No seu citoplasma, as células NK possuem, de forma constitutiva, grânulos que armazenam proteínas, como granzimas e perforinas, que têm um papel determinante na morte das células alvo.

As células T citotóxicas são, como o próprio nome indica, LT efectores com actividade citotóxica. Distinguem-se das células NK pelo facto de expressarem o complexo CD3/TCR na membrana, mas partilham com estas últimas muitas características, nomeadamente a presença de grânulos citotóxicos no citoplasma e expressão de numerosos receptores na membrana. Representam uma população heterogénea do ponto de vista fenotípico e parte delas expressa CD56.

A actividade citotóxica das células NK e dos LT resulta de um equilíbrio entre sinais positivos e negativos transmitidos por receptores com funções activadoras e inibidoras, genericamente conhecidos como receptores *killer*.

Neste trabalho estudou-se, por citometria de fluxo, a expressão de diversos tipos de KR nas células NK e nos LT do sangue periférico de 30 indivíduos adultos normais, e caracterizou-se a sua expressão em diferentes subpopulações destes mesmos linfócitos: as células NK CD56<sup>+</sup> e CD56<sup>++</sup> e os LT CD56<sup>-</sup> e CD56<sup>+</sup>.

O estudo dos perfis de expressão dos receptores *killer* nas células NK e nos LT normais será útil para o estudo imunofenotípico de doenças hemato-oncológicas, na medida em que estabelecerá as bases para identificar de perfis aberrantes expressos pelas células NK e pelos LT neoplásicos. Por outro lado, a obtenção de valores normais de referência será fundamental para a realização de estudos com vista a uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes a doenças do foro imunológico, nomeadamente na área das doenças autoimunes, e à rejeição de transplantes, bem como da resposta imune a infecções víricas e tumores.

**Palavras-chave:** células NK; linfócitos T; células citotóxicas; receptores *killer*; *KIR*; *KLR*; *LILR*; *NCR*.



**ABSTRACT**



Cell mediated cytotoxicity has a key role in both adaptive and innate immune responses, especially in the elimination of tumour cells, as well as virus infected cells. Not only Natural Killer (NK) cells are implicated in this complex process, but also cytotoxic T lymphocytes (CTL).

NK-cells are phenotypically characterized by the absence of the CD3/TCR (*T Cell Receptor*) complex, and by the expression of CD16 and/or CD56 on the cell membrane. Two NK-cell populations can be distinguished in the peripheral blood of a normal individual: CD56<sup>+</sup> NK-cells, expressing lower levels of CD56 and being CD16<sup>+</sup>, that represent 90-95% of circulating NK-cells and have a more powerful cytotoxic activity; and CD56<sup>++</sup> NK-cells, having higher levels of CD56 and expressing partially or not expressing at all CD16, that are mainly involved in immune regulatory functions. NK-cells have a crucial role in eliminating target cells. In this process, proteins such as granzymes and perforins, that are constitutively stored in their cytoplasmatic granules, are released.

As NK-cells, a small portion of peripheral blood T-cells express the CD56 adhesion molecule, and these cells are mainly CTL. CTL are phenotypically a heterogeneous population with some common characteristics. Unlike NK-cells, CTL express the CD3/TCR complex. However the CTL and NK-cells are in many ways similar. For instance, they share a number of cell surface receptors and both have cytoplasmatic cytotoxic granules.

The cytotoxic activity displayed by NK-cells and CTL results from a balance between positive and negative signals transmitted by activator and inhibitor receptors, generally known as killer receptors.

In this study the expression of several types of killer receptors on NK-cells and T-cells in peripheral blood of 30 healthy adults was analyzed and the expression of these receptors in different subpopulations was characterized: CD56<sup>+</sup> and CD56<sup>++</sup> NK-cells, and CD56<sup>-</sup> and CD56<sup>+</sup> T-cells.

The evaluation of the expression of killer receptors on normal NK-cells and T-cells is important when we consider the immunophenotypic study of hemato-oncological diseases, once we set out the base line for identification of aberrant phenotypes expressed by neoplastic NK-cells and T-cells. In addition, the establishment of normal values is crucial to better understand the mechanisms underlying autoimmune disorders, transplant rejection, as well as the immune responses to viruses and tumours.

**Key-words:** NK cells; T cells; cytotoxic cells; killer receptors; *KIR*; *KLR*; *LILR*; *NCR*.



## **GLOSSÁRIO DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS**

ABO, Antibodies On-line

ADCC, Actividade citotóxica dependente de anticorpo (*Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity*)

AF-647, Alexa Fluor 647

APC, Alofococianina (*Allophycocyanin*)

APC, Células apresentadoras de antígenos (*Antigen Presenting Cells*)

BC, Beckman Coulter

BD, "Band-pass"

BD, Becton Dickinson

BP, Band pass

CD, Grupo de Diferenciação (*Cluster of differentiation*)

CD3 $\xi$ , Cadeia zeta do CD3

CF, Citómetro de Fluxo

CHP, Centro Hospitalar do Porto

CNK, Células Assassinas Naturais, Celulas *Natural Killer* (*Natural Killer Cells*)

CTL, Linfócitos T citotóxicos (*Cytotoxic T Cells*)

CV, Coeficiente de variação

DAP10, DNAX activation protein of 10KD

DAP12, DNAX activation protein of 12KD

DNAM, DNAX accessory molecule-1

DP, Desvio padrão

E, Gene estrutural

e-BIO, e-Bioscience

EDTA-K3, Sal tripotássico de ácido etileno-diamino-tetracético

Fc $\epsilon$ RI, Receptor para o fragmento FC da IgE

FITC, Isotiocianato de fluoresceína (*Fluorescein isothiocyanate*)

FNH, Fórum Hematológico do Norte

FSC, Luz dispersa no plano frontal (*Forward Scatter*)

HLA, Antígenos leucocitários humanos (*Human Leucocyte Antigen*)

HSA, Hospital Santo António

HUGO, Organização de Genoma Humano (*Human Genome Organisation*)

IFN- $\gamma$ , Interferão gama (*Interferon-gamma*)

Ig, Imunoglobulinas

ILT, Transcriptos semelhantes às imunoglobulinas (*Immunoglobulin like Transcripts*)

IMF, Intensidade média de fluorescência

IOT, Immunotech

ITAM, Sequência activadora dos imunoreceptores baseadas em resíduos de tirosina, (*Immunoreceptor Tyrosine based Activatory Motif*)

ITIM, Sequência inibidora dos imunoreceptores baseadas em resíduos de tirosina, (*Immunoreceptor Tyrosine based Inhibitory Motif*)

KIR, Receptores “assassinos” semelhantes às imunoglobulinas, Receptores *killer* semelhantes às imunoglobulinas (*Killer cell Immunoglobulin-like Receptors*)

KLR, Receptores “assassinos” do tipo lectina, Receptores *killer* do tipo lectina (*Killer cell Lectine type Receptors*)

KR, Receptores “assassinos”, Receptores *killer* (*Killer Receptors*)

L, Longo (*Long*)

LB, Linfócito B

LC, Laboratório de Citometria

LGL, Linfócitos grandes granulares (*Large Granular Lymphocytes*)

LILR, Receptores leucocitários semelhantes às imunoglobulinas (*Leucocyte Immunoglobulin-Like Receptors*)

LIR, Receptores inibitórios dos leucócitos (*Leucocyte Inhibitory Receptors*)

LP, *Long-pass*

LRC, Complexo génico dos receptores leucocitários (*Leucocyte Receptor Complex*)

LT, Linfócitos T

MHC, Complexo Maior de Histocompatibilidade (*Major Histocompatibility Complex*)

MIC, Relacionados com as moléculas da classe I do MHC (*MHC classe I chain related*)

NAIL, Ligando induzido pela activação das células NK (*NK cell Activation-Inducing Ligand*)

NCAM, Molécula de adesão das células neuronais (*Neuronal Cell Adhesion Molecule*)

NCR, Receptores de citotoxicidade natural (*Natural Cytotoxicity Receptors*)

NK, Assassinas naturais (*Natural Killer*)

NKC, Complexo génico natural *killer* (*Natural Killer Complex*)

P, Pseudogene

PBS, Tampão fosfato salino (*Phosphate Buffered Saline*)

PC5, Ficoeritrina cianina 5 (*Phycoerythrin Cyanin 5*)

PE, Ficoeritrina (*PhycoErythrin*)

PTA1, Antígeno 1 das plaquetas e dos linfócitos T activados (*Platelet and T cell activation antigen1*)

PVR, Receptor do vírus da poliomielite (*Poliovirus Receptor*)

Rpm, Rotações por minuto

S, Curto (*Short*)

SHC, Serviço de Hematologia Clínica

SLAM, Moléculas de sinalização da activação dos linfócitos (*Signaling Lymphocyte activation Molecules*)

SPSS, *Statistical Package for Social Sciences*

SSC, Luz dispersa no plano lateral (*Side Scatter*)

TCR, Receptor da célula T (*T Cell Receptor*)

TNF- $\alpha$ , Factor de necrose tumoral -alfa (*Tumor Necrosis Factor -alfa*)

u.a.f., Unidades arbitrárias de fluorescência

ULBP, Proteínas de ligação à UL16 (*UL16 Binding Proteins*)

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**



## DIAGRAMAS

Diagrama 1: Representação esquemática da estrutura génica do MHC humano. (adaptado de (SILVA, [et al.], 2008)).....	6
Diagrama 2: Relações entre as CNK e as células alvo, de acordo com a presença ou ausência de ligandos HLA. (adaptado de (JOBIM, [et al.], 2008)). .....	12

## FIGURAS

Figura 1. Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão dos diferentes NCR nas CNK (Painel A) CD56 <sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56 <sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>+</sup> (cor preta). .....	38
Figura 2. Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão dos diferentes KIR nas CNK (Painel A) CD56 <sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56 <sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>+</sup> (cor preta). .....	41
Figura 3. Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão dos diferentes KLR nas CNK (Painel A) CD56 <sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56 <sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>+</sup> (cor preta). .....	51
Figura 4. Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão de CD85j nas CNK (Painel A) CD56 <sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56 <sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>+</sup> (cor preta). .....	60
Figura 5. Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão dos diferentes CD85j em diferentes tipos de leucócitos. ....	62
Figura 6. Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão de CD226 e de CD244 nas CNK (Painel A) CD56 <sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56 <sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56 <sup>+</sup> (cor preta). .....	63

## GRÁFICOS

Gráfico 1. Relação entre a expressão de C158a/h nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD158a/h <sup>+</sup> . .....	43
Gráfico 2. Relação entre a expressão de CD158b1b2/j nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD158b1b2/j <sup>+</sup> . .....	45

Gráfico 3. Relação entre a expressão de CD158e1/e2 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD158e1/e2 <sup>+</sup> .....	48
Gráfico 4. Relação entre a expressão de CD158i nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD158i <sup>+</sup> . * .....	50
Gráfico 5. Relação entre a expressão de CD94 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD94 <sup>+</sup> .....	53
Gráfico 6. Relação entre a expressão de CD94 e a expressão de CD159a nas CNK, avaliada pela % de células <sup>+</sup> .....	54
Gráfico 7. Relação entre a expressão de CD159a nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD159a <sup>+</sup> .....	55
Gráfico 8. Relação entre a expressão de CD94 e a expressão de CD159a nos LT, avaliada pela % de células <sup>+</sup> .....	55
Gráfico 9. Relação entre a expressão de CD161 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD161 <sup>+</sup> .....	57
Gráfico 10. Relação entre a expressão de CD314 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD314 <sup>+</sup> .....	59
Gráfico 11. Relação entre a expressão de CD85j nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD85j <sup>+</sup> .....	62
Gráfico 12. Relação entre a expressão de CD160 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD160 <sup>+</sup> .....	65
Gráfico 13. Relação entre a expressão de CD226 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD226 <sup>+</sup> .....	67
Gráfico 14. Relação entre a expressão de CD244 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD244 <sup>+</sup> .....	69

## **LISTA DE QUADROS E TABELAS**



## QUADROS

Quadro 1. Localização dos genes que codificam para os KR. ....	13
Quadro 2. Genes KIR. ....	15
Quadro 3. Correspondência entre as nomenclaturas HUGO e CD dos genes KIR. ....	15
Quadro 4. Especificidade dos anticorpos monoclonais anti-KIR. ....	15
Quadro 5. Características dos KIR estudados neste trabalho. ....	16
Quadro 6. Características do haplótipo A. ....	17
Quadro 7. Características dos KLR estudados neste trabalho. ....	18
Quadro 8. Características do sistema óptico do citómetro de fluxo FACScalibur (BD). ....	26
Quadro 9. Características dos anticorpos monoclonais usados neste estudo. ....	27
Quadro 10. Características dos fluorocromos usados neste estudo. ....	28
Quadro 11. Combinações de anticorpos monoclonais usadas neste estudo. ....	29

## TABELAS

Tabela 1. Valor dos leucócitos, da hemoglobina e das plaquetas. ....	35
Tabela 2. Contagem diferencial dos leucócitos do sangue periférico. ....	35
Tabela 3. Percentagem de LT e de CNK dentro dos linfócitos. ....	35
Tabela 4. Valor médio do FSC e do SSC e IMF de expressão de CD56 nos LT e nas CNK. ....	36
Tabela 5. Percentagem de CNK CD56 <sup>+</sup> e de CNK CD56 <sup>++</sup> dentro das CNK. ....	36
Tabela 6. Valor médio do FSC e do SSC e IMF de expressão de CD56 nas CNK CD56 <sup>+</sup> e nas CNK CD56 <sup>++</sup> . ....	36
Tabela 7. Percentagem de LT CD56 <sup>-</sup> e de LT CD56 <sup>+</sup> dentro dos LT. ....	37
Tabela 8. Valor médio do FSC e do SSC e IMF de expressão de CD3 e de CD56 nos LT CD56 <sup>-</sup> e nos LT CD56 <sup>+</sup> . ....	37
Tabela 9. Expressão de CD335 nas CNK avaliada pela % de CNK CD335 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD335 nas CNK CD335 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	38

Tabela 10. Expressão de CD335 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD335<sup>+</sup> e pela IMF de expressão de CD335 nas CNK CD335<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 39

Tabela 11. Expressão de CD336 nas CNK avaliada pela % de CNK CD336<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD336 nas CNK CD336<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 39

Tabela 12. Expressão de CD337 nas CNK avaliada pela % de CNK CD337<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD337 nas CNK CD337<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 40

Tabela 13. Expressão de CD337 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD337<sup>+</sup> e pela IMF de expressão de CD337 nas CNK CD337<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 40

Tabela 14. Expressão de CD158a/h nas CNK avaliada pela % de CNK CD158a/h<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158a/h nas CNK CD158a/h<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 42

Tabela 15. Expressão de CD158a/h nas CNK CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de CNK CD158a/h<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158a/h nas CNK CD158a/h<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 42

Tabela 16. Expressão de CD158a/h nos LT avaliada pela % de LT CD158a/h<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158a/h nos LT CD158a/h<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 43

Tabela 17. Expressão de CD158a/h nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD158a/h<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158a/h nos LT CD158a/h<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 43

Tabela 18. Expressão de CD158b1b2/j nas CNK avaliada pela % de CNK CD158b1b2/j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158b1b2/j nas CNK CD158b1b2/j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 44

Tabela 19. Expressão de CD158b1b2/j nas CNK CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de CNK CD158b1b2/j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158b1b2/j nas CNK CD158b1b2/j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 44

Tabela 20. Expressão de CD158b1b2/j nos LT avaliada pela % de LT CD158b1b2/j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158b1b2/j nos LT CD158b1b2/j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 45

Tabela 21. Expressão de CD158b1b2/j nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD158b1b2/j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158b1b2/j nos LT CD158b1b2/j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 45

Tabela 22. Expressão de CD158e1/e2 nas CNK avaliada pela % de CNK CD158e1/e2<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158e1/e2 nas CNK CD158e1/e2<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \* ..... 46

Tabela 23. Expressão de CD158e1/e2 nas CNK CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de CNK CD158e1/e2<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158e1/e2 nas CNK CD158e1/e2<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \* ..... 47

Tabela 24. Expressão de CD158e1/e2 nos LT avaliada pela % de LT CD158e1/e2 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD158e1/e2 nos LT CD158e1/e2 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. * .....	47
Tabela 25. Expressão de CD158e1/e2 nos LT CD56 <sup>-</sup> e nos LT CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de LT CD158e1/e2 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD158e1/e2 nos LT CD158e1/e2 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. * .....	48
Tabela 26. Expressão de CD158i nas CNK avaliada pela % de CNK CD158i <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD158i nas CNK CD158i <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. * .....	49
Tabela 27. Expressão de CD158i nas CNK CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de CNK CD158i <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD158i nas CNK CD158i <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. * .....	49
Tabela 28. Expressão de CD158i nos LT avaliada pela % de LT CD158i <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD158i nos LT CD158i <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. * .....	50
Tabela 29. Expressão de CD158i nos LT CD56 <sup>-</sup> e nos LT CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de LT CD158i <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD158i nos LT CD158i <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. * .....	50
Tabela 30. Expressão de CD94 nas CNK avaliada pela % de CNK CD94 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD94 nas CNK CD94 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	51
Tabela 31. Expressão de CD94 nas CNK CD56 <sup>+</sup> e nas CNK CD56 <sup>++</sup> , avaliada pela % de CNK CD94 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD94 nas CNK CD94 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	52
Tabela 32. Expressão de CD94 nos LT avaliada pela % de LT CD94 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de expressão de CD94 nos LT CD94 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	52
Tabela 33. Expressão de CD94 nos LT CD56 <sup>-</sup> e nos LT CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de LT CD94 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD94 nos LT CD94 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	52
Tabela 34. Expressão de CD159a nas CNK avaliada pela % de CNK CD159a <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD159a nas CNK CD159a <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	53
Tabela 35. Expressão de CD159a nas CNK CD56 <sup>+</sup> e nas CNK CD56 <sup>++</sup> , avaliada pela % de CNK CD159a <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD159a nas CNK CD159a <sup>+</sup> e pelo respectivo CV..	54
Tabela 36. Expressão de CD159a nos LT avaliada pela % de LT CD159a <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD159a nos LT CD159a <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	54
Tabela 37. Expressão de CD159a nos LT CD56 <sup>-</sup> e nos LT CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de LT CD159a <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD159a nos LT CD159a <sup>+</sup> e pelo respectivo CV.....	55

Tabela 38. Expressão de CD161 nas CNK avaliada pela % de CNK CD161 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD161 nas CNK CD161 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	56
Tabela 39. Expressão de CD161 nas CNK CD56 <sup>+</sup> e nas CNK CD56 <sup>++</sup> , avaliada pela % de CNK CD161 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD161 nas CNK CD161 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	56
Tabela 40. Expressão de CD161 nos LT avaliada pela % de LT CD161 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD161 nos LT CD161 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	57
Tabela 41. Expressão de CD161 nos LT CD56 <sup>-</sup> e nos LT CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de LT CD161 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD161 nos LT e pelo respectivo CV. ....	57
Tabela 42. Expressão de CD314 nas CNK avaliada pela % de CNK CD314 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD314 nas CNK CD314 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	58
Tabela 43. Expressão de CD314 nas CNK CD56 <sup>+</sup> e nas CNK CD56 <sup>++</sup> , avaliada pela % de CNK CD314 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD314 nas CNK CD314 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	58
Tabela 44. Expressão de CD314 nos LT avaliada pela % de LT CD314 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD314 nos LT CD314 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	59
Tabela 45. Expressão de CD314 nos LT CD56 <sup>-</sup> e nos LT CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de LT CD314 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD314 nos LT CD314 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	59
Tabela 46. Expressão de CD85j nas CNK avaliada pela % de CNK CD85j <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD85j nas CNK CD85j <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	60
Tabela 47. Expressão de CD85j nas CNK CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de CNK CD85j <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD158j nas CNK CD158j <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	61
Tabela 48. Expressão de CD85j nos LT avaliada pela % de LT CD85j <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD85j nos LT CD85j <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	61
Tabela 49. Expressão de CD85J nos LT CD56 <sup>-</sup> e nos LT CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de LT CD85J <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD85J nos LT CD85j <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	61
Tabela 50. Expressão de CD160 nas CNK avaliada pela % de CNK CD160 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD160 nas CNK CD160 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	63
Tabela 51. Expressão de CD160 nas CNK CD56 <sup>+</sup> , avaliada pela % de CNK CD160 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD160 nas CNK CD160 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	64
Tabela 52. Expressão de CD160 nos LT avaliada pela % de LT CD160 <sup>+</sup> , pela IMF de expressão de CD160 nos LT CD160 <sup>+</sup> e pelo respectivo CV. ....	64

---

Tabela 53. Expressão de CD160 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD160<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD160 nos LT CD160<sup>+</sup> e pelo respectivo CV..... 64

Tabela 54. Expressão de CD226 nas CNK avaliada pela % de CNK CD226<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD226 nas CNK CD226<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 65

Tabela 55. Expressão de CD226 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD226<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD226 nas CNK CD226<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 66

Tabela 56. Expressão de CD226 nos LT avaliada pela % de LT CD226<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD226 nos LT CD226<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 66

Tabela 57. Expressão de CD226 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD226<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD226 nos LT CD226<sup>+</sup> e pelo respectivo CV..... 66

Tabela 58. Expressão de CD244 nas CNK avaliada pela % de CNK CD244<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD244 nas CNK CD244<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 67

Tabela 59. Expressão de CD244 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD244<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD244 nas CNK CD244<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 68

Tabela 60. Expressão de CD244 nos LT avaliada pela % de LT CD244<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD244 nos LT CD244<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. .... 68

Tabela 61. Expressão de CD244 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD244<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD244 nos LT CD244<sup>+</sup> e pelo respectivo CV..... 68



## **ÍNDICE**



<b>PARTE 1: INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Células citotóxicas .....</b>	<b>3</b>
1.1.1 Células NK.....	4
1.1.2 Linfócitos T citotóxicos .....	5
<b>1.2 Complexo maior de histocompatibilidade (MHC) .....</b>	<b>6</b>
<b>PARTE 2: OS RECEPTORES <i>KILLER</i>.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Transmissão de sinal dos Receptores <i>Killer</i>.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 Genes que codificam para os Receptores <i>Killer</i>.....</b>	<b>13</b>
<b>2.3 Receptores de Citotoxicidade Natural (NCR) .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4 Receptores <i>Killer</i> semelhantes às Imunoglobulinas (KIR) .....</b>	<b>14</b>
<b>2.5 Haplótipos KIR.....</b>	<b>16</b>
<b>2.6 Receptores <i>Killer</i> tipo Lectina (KLR).....</b>	<b>17</b>
<b>2.7 Receptores Leucocitários semelhantes às Imunoglobulinas (LILR).....</b>	<b>18</b>
<b>2.8 Outros Receptores <i>Killer</i>.....</b>	<b>19</b>
<b>2.9 Relevância do estudo da expressão dos KR nas CNK e nos LT.....</b>	<b>20</b>
<b>PARTE 3: MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
<b>3.1. Desenho do estudo .....</b>	<b>25</b>
<b>3.2. População e amostra .....</b>	<b>25</b>
<b>3.3. Material .....</b>	<b>25</b>
3.3.1. Equipamento .....	25
3.3.2. Reagentes .....	26
3.3.3. Outro material consumível .....	28
<b>3.4. Procedimento técnico.....</b>	<b>28</b>
3.4.1 Realização do hemograma .....	28
3.4.2. Imunofenotipagem dos linfócitos.....	28
3.4.3 Leitura das amostras .....	30
3.4.4. Análise dos resultados .....	30
<b>3.5 Tratamento estatístico dos dados.....</b>	<b>31</b>
3.5.1 Estatística descritiva.....	31
3.5.2 Estatística correlacional .....	31
3.5.3 Estatística indutiva .....	31

<b>PARTE 4: RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 Hemograma.....</b>	<b>35</b>
4.1.1 Leucócitos, hemoglobina e plaquetas.....	35
4.1.2 Contagem diferencial dos leucócitos .....	35
<b>4.2. Populações linfocitárias .....</b>	<b>35</b>
4.2.1. Linfócitos T (LT) e células NK (CNK) .....	35
4.2.2. CNK CD56 <sup>+</sup> e CD56 <sup>++</sup> .....	36
4.2.3 LT CD56 <sup>-</sup> e CD56 <sup>+</sup> .....	37
<b>4.3. Expressão de receptores killer (KR) nos linfócitos T (LT) e nas células NK (CNK) 38</b>	
4.3.1 Receptores de citotoxicidade natural (NCR).....	38
4.3.2 Receptores killer semelhantes às imunoglobulinas (KIR).....	41
4.3.3 Receptores killer do tipo das lectinas (KLR) .....	51
4.3.4 Receptores leucocitários semelhantes às imunoglobulinas (LILR) .....	60
4.3.5 Outros receptores killer (KR).....	63
<b>PARTE 5: DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....</b>	<b>71</b>
<b>5.1. Expressão de KR nas CNK e nos LT.....</b>	<b>73</b>
5.1.1. NCR.....	73
5.1.2. KIR.....	73
5.1.3. KLR.....	75
5.1.4. LILR.....	76
5.1.5. Outros KR.....	76
<b>5.2. Vantagens e limitações do estudo imunofenotípico dos KR .....</b>	<b>76</b>
<b>5.3. Problemas de natureza técnica .....</b>	<b>77</b>
<b>5.4. Perspectivas futuras .....</b>	<b>78</b>
<b>PARTE 6: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>79</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>I</b>

## **PARTE 1: INTRODUÇÃO**



O sistema imune é um sistema complexo que assegura a defesa do organismo contra agentes infecciosos e/ou estranhos. De uma forma simplista, pode dizer-se que este sistema engloba dois grandes tipos de respostas: a resposta imune inata e a resposta imune adaptativa.

A resposta imune inata é uma resposta simples e repetitiva, em que bactérias, vírus e fungos são impedidos, por barreiras anatómicas (por exemplo, a pele) ou químicas (por exemplo, a saliva e as lágrimas, que contêm lisozima) de infectar o organismo; envolve também a acção de proteínas plasmáticas (por exemplo, o sistema de complemento), assim como respostas mediadas por células com capacidade fagocítica, como os granulócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos), as células da linha monocítica – macrófágica (monócitos e macrófagos) e outras com actividade citotóxica, como é o caso das células *natural killer* (CNK).

A resposta imune adaptativa é uma resposta específica e complexa, mediada por células com receptores específicos para os antígenos: os linfócitos T (LT) e os linfócitos B (LB).

### **1.1 CÉLULAS CITOTÓXICAS**

As CNK e os LT citotóxicos (CTL, *Cytotoxic T Cells*), são células com propriedades citotóxicas, que intervêm em diferentes fases da resposta imune, inata e adaptativa, respectivamente. A sua acção consiste na eliminação de células estranhas ao organismo, nomeadamente células tumorais ou células infectadas por vírus, através da acção da perforina e das granzimas existentes nos grânulos, que levam à lesão da membrana e induzem a apoptose (morte celular programada). (AROSA, [et al.], 2007, MOTAES, 2007)

Estas células citotóxicas são reconhecidas, do ponto de vista morfológico, como “linfócitos grandes granulares” (LGL, *Large Granular Lymphocytes*), pois são ligeiramente maiores do que os restantes linfócitos e apresentam no seu citoplasma grânulos citotóxicos. (CHAPLIN, 2010)

Do ponto de vista fenotípico, caracterizam-se, entre outros aspectos, por apresentarem nas suas membranas receptores que permitem, de uma forma controlada, a activação ou inibição da função citotóxica. Estes receptores são designados genericamente por receptores “assassinos” ou receptores *killer* (KR, *Killer Receptors*). (CHAPLIN, 2010)

Alguns trabalhos já relacionaram a expressão dos KR com diversas doenças imunológicas e hematológicas, bem como com a resposta imune a infecções víricas, tumores e células transplantadas. (ALMEIDA-OLIVEIRA, [et al.], 2008) O conhecimento da diversidade dos KR expressos à superfície das CNK e dos CTL permitirá compreender melhor a função destas células na resposta imune a tumores e a infecções, bem como o seu papel em várias patologias do foro imunológico e hematológico. Para isso, é necessário caracterizar os perfis fenotípicos normais de expressão dos KR, de forma a estabelecer valores de referência.

### 1.1.1 CÉLULAS NK

As CNK têm origem na medula óssea e derivam de precursores linfóides comuns aos LT e às células dendríticas. No entanto, diferenciam-se e desenvolvem-se no timo, baço, amígdalas e gânglios linfáticos, o que lhes confere uma heterogeneidade nas suas características fenotípicas e funcionais. (SALIM, [et al.], 2011)

Foram identificadas há algumas décadas pela sua capacidade de matar células tumorais e células infectadas por vírus e, apesar de apresentarem algumas semelhanças com os CTL, diferem destes últimos em alguns aspectos. Do ponto de vista fenotípico, e ao contrário dos LT, as CNK não expressam na sua membrana o complexo CD3/TCR (*T Cell Receptor*; receptor das células T) capaz de reconhecer os antígenos apresentados por moléculas do Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC, *Major Histocompatibility Complex*) do próprio à superfície das células apresentadoras de antígenos (APC, *Antigen Presenting Cells*), como as células dendríticas, monócitos, LB e LT activados. Contrariamente aos LT, as CNK não precisam de sensibilização prévia. Assim sendo, o mecanismo de reconhecimento de células alvo pelas CNK é complexo e depende, em larga medida, da acção dos KR. (LIANG, [et al.], 2008)

Uma das primeiras características fenotípicas das CNK a ser conhecida foi a expressão de CD16, um dos receptores para o fragmento Fc da IgG. Posteriormente, verificou-se que as CNK humanas também expressavam CD56, uma molécula de adesão inicialmente descrita nas células neuronais (NCAM, *Neuronal Cell Adhesion Molecule*). Hoje, as CNK humanas definem-se pela ausência de expressão do complexo CD3/TCR, e pela expressão de CD16 e/ou CD56 na membrana.

Com base na expressão de CD56 e CD16, identificam-se duas populações de CNK no sangue periférico:

- as **CNK CD56<sup>+</sup>** (também designadas de CNK CD56<sup>+fraco</sup>, CD56<sup>+fraco</sup>CD16<sup>+</sup> ou CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>), que têm intensidade fraca de expressão de CD56 e que expressam CD16;
- e as **CNK CD56<sup>++</sup>** (também designadas de CNK CD56<sup>+forte</sup>, CD56<sup>+forte</sup>CD16<sup>-/+fraco</sup> ou CD56<sup>++</sup>CD16<sup>-/+</sup>), que têm intensidade forte de expressão de CD56 e que não expressam ou expressam parcialmente CD16 com uma intensidade fraca. (LIMA, [et al.], 2010)

As CNK CD56<sup>+</sup> predominam no sangue periférico, onde representam cerca de 90-95% das CNK, e caracterizam-se por ter uma citotoxicidade elevada. Pelo contrário, as CNK CD56<sup>++</sup>, que representam apenas cerca de 5-10% das CNK do sangue, predominam nos gânglios linfáticos, têm pouca actividade citotóxica e são particularmente eficazes na produção de citocinas como, por exemplo, o factor de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ , *Tumor Necrosis Factor - alfa*) e o interferão gama (IFN- $\gamma$ , *Interferon-gamma*).

Para evitar a auto-agressão, o potencial de destruição celular das CNK, a actividade citotóxica destas células necessita de ser altamente regulada. Graças a anos de investigação, pode hoje afirmar-se que a citotoxicidade das CNK resulta de um equilíbrio entre sinais positivos e negativos transmitidos por receptores presentes nas suas membranas, activadores e inibidores, respectivamente.

As CNK podem exercer actividade citotóxica dependente de anticorpos (ADCC, *Antibody Dependent Cell Cytotoxicity*), resultante da interacção entre a molécula CD16, expressa na membrana das CNK, que actua como receptor para os fragmentos Fc das IgG, que cobrem a superfície das células alvo. No entanto, o principal mecanismo é desencadeado pela interacção entre KR activadores presentes na membrana das CNK e moléculas expressas pelas células do próprio lesadas, infectadas por vírus ou transformadas. Esta activação é modulada por outros receptores com funções activadoras ou inibidoras que têm afinidade para as moléculas MHC de classe I expressas nas células alvo. Sofre ainda a influência de citocinas produzidas por outras células presentes no microambiente envolvente. Por outro lado, as CNK são, elas próprias, e uma vez activadas, capazes de produzir citocinas que activam outras células do sistema imune, como os monócitos e os macrófagos. Podem igualmente produzir IFN $\gamma$ , que aumenta a expressão de moléculas de MHC classe I e classe II nas APC, o que, conseqüentemente, leva a um aumento da apresentação de antígenios aos LT e, portanto, à sua activação.

### 1.1.2 LINFÓCITOS T CITOTÓXICOS

A característica mais específica dos LT maduros é a expressão, na membrana, do complexo CD3/TCR, responsável pelo reconhecimento dos antígenios. Existem dois tipos de LT, conforme as cadeias do TCR: **LT alfa/beta**, que expressam as cadeias alfa e beta do TCR, e **LT gama/delta**, que expressam as cadeias gama e delta deste receptor.

Os LT subdividem-se ainda em diferentes subpopulações, conforme a expressão dos co-receptores **CD4** e/ou **CD8**. A diferença entre estes dois tipos de LT baseia-se no facto dos LT CD8 reconhecerem antígenios apresentados pelas moléculas de classe I do MHC, expressos à superfície de praticamente todas as células nucleadas do organismo, enquanto os LT CD4, reconhecem antígenios em associação com moléculas de classe II do MHC, expressas à superfície das APC.

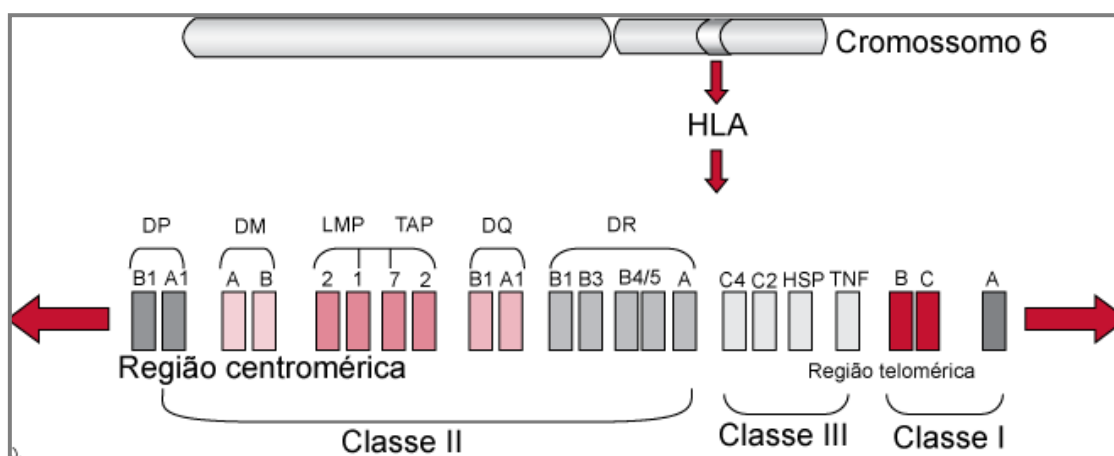
Tal como os restantes LT, as CLT expressam na sua superfície o complexo CD3/TCR. No que respeita ao tipo de TCR e de co-receptor, são fundamentalmente de tipo TCR-alfa/beta+ CD8+ ou de tipo TCR-gama/delta.

Para além disso, tal como as CNK, as CTL expressam também na membrana moléculas associadas a funções de citotoxicidade, entre as quais se salienta o CD56, bem como vários KR, e no seu citoplasma têm grânulos citotóxicos que contêm perforinas e granzimas. A activação das CTL ocorre por reconhecimento, pelo complexo CD3/TCR, dos antigénios para os quais são específicas, expressos à superfície das células alvo em associação com as moléculas apropriadas do MHC do próprio. Tal como acontece com as CNK, a actividade citotóxica das CTL é modulada pela interacção entre os KR expressos na sua membrana e os respectivos ligandos expressos na membrana das células alvo.

## **1.2 COMPLEXO MAJOR DE HISTOCOMPATIBILIDADE (MHC)**

Nos humanos, as moléculas do MHC são designados por antigénios leucocitários humanos (HLA, *Human Leucocyte Antigens*) e os respectivos genes localizam-se no braço curto do cromossoma 6, numa região genómica com cerca de 420 *loci*. (AROSA, [et al.], 2007, MOTAES, 2007).

As moléculas do MHC podem ser de classe I, de classe II ou de classe III e classificam-se em clássicas e não clássicas (Diagrama 1).



**Diagrama 1:** Representação esquemática da estrutura génica do MHC humano. (adaptado de (SILVA, [et al.], 2008))

As moléculas MHC das classes I e II clássicas têm um polimorfismo acentuado. Nos humanos, as de classe I incluem o HLA-A, -B e -C e as de classe II inclui o HLA-D (DR, DP e DQ).

As moléculas HLA da classe I clássicas têm uma distribuição ubiqüitária, sendo expressas em praticamente todas as células nucleadas. A sua função principal é apresentarem, à superfície das células alvo, péptidos resultantes da degradação de proteínas intracelulares, permitindo

aos LT CD8 (citotóxicos) o seu reconhecimento. Algumas moléculas do HLA de classe I clássicas também podem ser reconhecidas pelos KR expressos nas CNK e nos LT citotóxicos. (AROSA, *et al.*, 2007), (CHAPLIN, 2010).

Por seu lado, as moléculas HLA da classe II clássicas têm uma distribuição mais limitada, estando presentes na membrana de APC tais como células dendríticas, LB e monócitos. Os LT também podem, após activação, expressar moléculas HLA da classe II e funcionar como APC. A principal função das moléculas HLA classe II clássicas é apresentarem, à superfície das APC, péptidos resultantes da degradação de proteínas extracelulares, permitindo aos LT CD4 o seu reconhecimento. (AROSA, *et al.*, 2007), (CHAPLIN, 2010).

As moléculas MHC das classes I e II não clássicas têm um polimorfismo limitado. As de classe I (HLA-E, -F, -G e -H) têm uma distribuição tecidual mais restrita e desempenham um papel específico na imunidade (ex. moléculas HLA-G expressas no citotrofoblasto placentário e envolvidas no fenómeno de tolerância ao feto; moléculas de HLA-E, que têm a particularidade de ligar péptidos resultantes da degradação de moléculas de MHC classe I). A molécula MHC da classe II melhor estudada é a HLA-DM, envolvida na apresentação de antígenos aos LT.

As moléculas HLA da classe III são proteínas com função imune, incluindo componentes do sistema do complemento e outras proteínas envolvidas nas reacções inflamatórias como o TNF. (CHAPLIN, 2010)

Pode-se dizer que a função principal das moléculas de MHC é apresentar péptidos à superfície das células, de forma a permitir o seu reconhecimento pelo TCR. No entanto algumas destas moléculas também interagem com alguns tipos de KR, o que lhes permite ter um papel relevante na regulação da actividade citotóxica das CNK e dos CTL.



## **PARTE 2: OS RECEPTORES *KILLER***



O reconhecimento de células alvo acontece pela interação de sinais provenientes de vários receptores activadores, presentes na membrana das CNK e dos CTL, com os respectivos ligandos, expressos nas membranas das células alvo. Assim, as CNK e os CTL exercem a sua função citotóxica sobre as células estranhas ao organismo, sejam elas células do próprio modificadas (no caso de células tumorais ou infectadas por vírus) ou células estranhas (ex. aloenxertos), mas não sobre células normais. Esta função, sabe-se hoje, é uma função controlada por KR expressos à superfície das células citotóxicas que reconhecem moléculas do MHC e que têm funções activadoras ou inibidoras. (LIMA, [et al.], 2001)

Consideram-se actualmente vários tipos de KR que se podem classificar tendo em conta a estrutura do receptor, o tipo de ligando e a função.

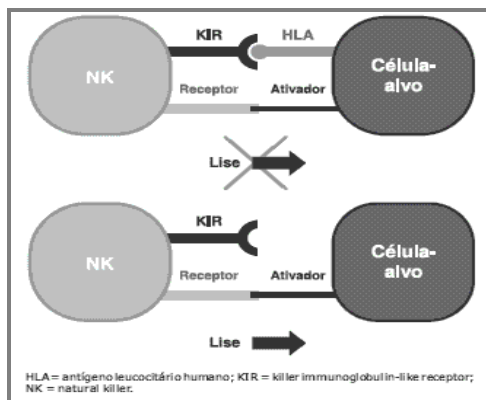
Com base na estrutura destes receptores, consideram-se as famílias de KR:

- a) Receptores de citotoxicidade natural (NCR, *Natural Cytotoxicity Receptors*);
- b) Receptores *killer* semelhantes às imunoglobulinas (KIR, *Killer cell Immunoglobulin-like Receptors*);
- c) Receptores *killer* tipo lectina (KLR, *Killer cell Lectin-like Receptors*);
- d) Receptores leucocitários semelhantes às imunoglobulinas (LILR, *Leucocyte Ig-like Receptors*).

Existem ainda outros receptores não integrados nestas famílias, com funções activadoras, inibidoras ou co-estimuladoras.

De uma forma geral, os ligandos dos KR podem ser moléculas do MHC (como acontece com os KIR, os KLR e os LIRL) ou moléculas não MHC (como é o caso dos NCR).

Inicialmente sugeriu-se que as CNK teriam a capacidade de reconhecer moléculas do complexo MHC de classe I através de KR, que activariam ou inibiriam a sua função. Pensou-se que estes receptores seriam fundamentais, uma vez que fariam a distinção entre as células do próprio organismo (células normais/não modificadas) e as células “estranhas” (células modificadas) com base na expressão de moléculas MHC de classe I. Por outras palavras, células que apresentassem diminuição ou ausência de expressão de moléculas MHC de classe I (o que acontece frequentemente em células tumorais ou células infectadas por vírus), seriam alvo da actividade citotóxica das CNK – teoria do *missing self*. (Diagrama 2). No entanto, a expressão de moléculas MHC de classe I do próprio nem sempre confere protecção contra a citotoxicidade mediada pelas CNK e a inibição da expressão de moléculas MHC da classe I nem sempre induz a citotoxicidade mediada pelas CNK, o que sugere que existam outros receptores envolvidos na função destas células. (POLI, [et al.], 2009)



**Diagrama 2:** Relações entre as CNK e as células alvo, de acordo com a presença ou ausência de ligandos HLA. (adaptado de (JOBIM, [et al.], 2008)).

Sabe-se que as CNK têm funções de imunovigilância, isto é, vigiam o organismo procurando células com ausência ou diminuição de expressão de moléculas MHC de classe I do próprio, bem como de células com aumento de ligandos para receptores activadores (moléculas estruturalmente relacionadas com as do MHC da classe I). Assim, os KR que estas células possuem permitem que a citotoxicidade aconteça num ambiente adequado e controlado, evitando a destruição inadvertida de células normais. (LIMA, [et al.], 2001) (MARAGON, [et al.], 2008).

## **2.1 TRANSMISSÃO DE SINAL DOS RECEPTORES *KILLER***

As propriedades inibidoras ou activadoras dos KR são atribuídas a domínios existentes na sua porção citoplasmática e à sua interacção com outras moléculas, respectivamente.

Enquanto os KR com funções inibidoras têm na sua porção citoplasmática domínios **ITIM** (*Immunoreceptor tyrosine based inhibitory motif*), os KR com funções activadores devem a sua função à sua associação com proteínas que contêm domínios designados de **ITAM** (*Immunoreceptor tyrosine based activatory motif*). (JOBIM, [et al.], 2008)

Os ITIM não são mais que sequências de aminoácidos que, ao interagirem com o seu ligando, fosforilam, por acção de tirosina cinases, conduzindo ao recrutamento de outras enzimas como a fosfo-tirosina-fosfatase. Estas ultimas enzimas, ao desfosforilarem, transmitem sinais inibitórios ao interior das células.

Os ITAM, presentes em proteínas como a DAP10 (*DNAX activation protein of 10KD*), a DAP12 (*DNAX activation protein of 12KD*), o FcεRI (receptor para o fragmento Fc da IgE) e a CD3ζ (cadeia zeta do CD3), são responsáveis por activarem as CNK por mecanismos de fosforilação e desfosforilação.

## **2.2 GENES QUE CODIFICAM PARA OS RECEPTORES *KILLER***

Os genes que codificam os KR estão agrupados em dois clusters distintos: o complexo génico dos receptores leucocitários (LRC, *Leucocyte Receptor Complex*), localizado no cromossoma 19 e que codifica moléculas da família das imunoglobulinas; e o complexo génico natural *killer* (NKC, *Natural Killer Complex*), localizado no cromossoma 12, que codifica receptores do tipo das lectinas (Quadro 1).

**Quadro 1.** Localização dos genes que codificam para os KR.

COMPLEXOS GÉNICOS	RECEPTORES	FAMÍLIA DE KR
<b>LRC (cromossoma 19)</b>	Receptores pertencentes à família das imunoglobulinas	KIR
		LILR
		NCR (NCR1) *
		Outros
<b>NKC (cromossoma 12)</b>	Receptores pertencentes à família das lectinas	KLR

\* Os genes que codificam para o NCR2 e para o NCR3 localizam-se no cromossoma 6.

No LRC estão incluídos genes que codificam para os KIR, para os LILR e para os NCR.

No NKC encontram-se os genes que codificam para os KLR.

Alguns KR ainda permanecem desconhecidos. No entanto, dentro dos inúmeros KR já descobertos entende-se que KIR e os KLR são os que desempenham um papel mais relevante no que se refere à regulação da função das células citotóxicas, através da interacção com moléculas MHC de classe I. (CHEENT, [et al.], 2009)

## **2.3 RECEPTORES DE CITOTOXICIDADE NATURAL (NCR)**

Os NCR são específicos das CNK, pertencem à família das imunoglobulinas e têm função activadora.

Os ligandos destes receptores são ainda em pouco conhecidos, mas alguns deles parecem ter um papel importante no reconhecimento de células tumorais e das células infectadas por vírus, como é o caso de proteoglicanos heparinóides sulfatados da membrana das células tumorais e de hemaglutininas víricas (ex. vírus influenza). (ALMEIDA-OLIVEIRA, [et al.], 2008) (FOSTER, [et al.], 2003)

A nomenclatura dos NCR baseia-se no seu peso molecular. Assim, pertencem a este grupo o CD335 (NCR1 ou NKp46), o CD336 (NCR2 ou NKp30) e o CD337 (NCR3 ou NKp44).

Enquanto o CD335 (NCR1 ou NK46) é codificado por um gene que se localiza no cromossoma 9, no complexo LCR, os genes que codificam para os outros CD336 e para o CD337 localizam-se no cromossoma 6.

O CD335 (NCR1 ou NKp46) e o CD337 (NCR3 ou NKp44) são expressos constitutivamente nas CNK circulantes (CD56<sup>+</sup> e CD56<sup>++</sup>), enquanto o CD336 (NCR2 ou NKp30) se expressa apenas nas CNK activadas. (FOSTER, *et al.*, 2003)

O CD335 (NCR1 ou NKp46) e o CD337 (NCR3 ou NKp44) exercem a sua função através dos motivos ITAM de outras moléculas, como a cadeia zeta do CD3 (CD3 $\zeta$ ) e as cadeias gama do receptor de alta afinidade para o fragmento Fc da IgE (cadeia Fc $\epsilon$ R1 $\gamma$ ). (FOSTER, *et al.*, 2003)

Já o CD336 (NCR2 ou NKp30) se associa, através do seu domínio citoplasmático, à DAP12/KARAP, uma molécula adaptadora usada para a transmissão do sinal de activação. (MORETTA, *et al.*, 2000)

## **2.4 RECEPTORES KILLER SEMELHANTES ÀS IMUNOGLOBULINAS (KIR)**

Como referido anteriormente, os KIR são receptores da família das imunoglobulinas, que reconhecem moléculas do MHC/HLA da classe I (HLA-A, B e C) e podem ter função inibidora ou activadora. Estes receptores podem estar presentes em CNK, bem como em LT citotóxicos.

A Organização de Genoma Humano (HUGO, *Human Genome Organisation*) propôs uma nomenclatura baseada na estrutura da proteína, tendo em conta o número de domínios extracelulares semelhantes às imunoglobulinas – designado pela letra D – e o comprimento da cadeia citoplasmática – designado pela letra L para longo (*Long*) e S para curto (*Short*), tudo isto antecedido pelo acrónimo KIR. Assim, por exemplo, o gene KIR2DS1 codifica proteínas com dois domínios extracelulares do tipo das Imunoglobulinas e com uma cadeia citoplasmática curta. (MARAGON, *et al.*, 2008)

Actualmente conhecem-se 14 genes KIR: 10 genes que codificam receptores com 2 domínios extracelulares do tipo das Imunoglobulinas (KIR2D), 4 genes que codificam para receptores que possuem 3 domínios (KIR3D) e 2 pseudogenes, isto é que não codificam para nenhum receptor (KIR2DP1, KIR3DP1) (Quadro 2). (MARAGON, *et al.*, 2008)

**Quadro 2.** Genes KIR.

TIPO DE GENES KIR	INIBIDORES	ACTIVADORES
Genes que codificam para receptores com 2 domínios extracelulares do tipo das imunoglobulinas	2DL1	2DS1
	2DL2	2DS2
	2DL3	2DS3
	2DL4	2DS4
	2DL5A	2DS5
	2DL5B	
Genes que codificam para receptores com 3 domínios extracelulares do tipo das imunoglobulinas	3DL1	3DS1
	3DL2	
	3DL3	
Pseudogenes	2DP1, 3DP1	

Os KIR foram também, nomeados pela nomenclatura CD, como CD158, seguido de letra atribuída de acordo com a localização dos genes no cromossoma (ordem centromérica-telomérica): CD158a, CD158b1/b2, CD158d, CD158e1, CD158e2, CD158f, CD158g, CD158h, CD158i, CD158j, CD158k, CD158z. (Quadro 3).

**Quadro 3.** Correspondência entre as nomenclaturas HUGO e CD dos genes KIR.

KIR	2D										3D			
	L1	L2	L3	L4	L5	S1	S2	S3	S4	S5	L1	L2	L3	S1
CD158	a	b1	b2	d	F	H	j	-	i	g	E1	k	z	e2

As formas inibidora e activadora do mesmo KIR são geralmente reconhecidas pelos mesmos anticorpos monoclonais, uma vez que estes reagem com epítopes antigénicos localizados na porção extracelular do receptor e a diferença entre as formas inibidoras e activadoras depende da presença de domínios ITIM na sua porção citoplasmática. (Quadro 4)

**Quadro 4.** Especificidade dos anticorpos monoclonais anti-KIR.

ESPECIFICIDADE	KIR INIBIDOR	KIR ACTIVADOR
CD158a; CD158h	CD158a (2DL1)	CD158h (2DS1)
CD158b1/b2; CD158j	CD158b1 (2DL2)	CD158j (2DS2)
	CD158b2 (2DL3)	Sem CD (2DS3)
CD158d; CD158i	CD158d (2DL4)	CD158i (2DS4)
CD158f; CD158g	CD158f (2DL5A/2DL5B)	CD158g (2DS5)
CD158 e1; CD158e2	CD158e1 (3DL1)	CD158e2 (3DS1)
CD158k	CD158k (3DL2)	-
CD158z	CD158z (3DL3)	-

O quadro 5 evidencia as principais características dos KIR estudados neste trabalho.

**Quadro 5.** Características dos KIR estudados neste trabalho

KIR	CD ATRIBUÍDO	CÉLULAS	LIGANDOS	FUNÇÃO
KIR2DL1	CD158a	CNK; LT	HLA-Cw; SHP-1	Inibidora
KIR2DL2	CD158b1	CNK; LT	HLA-Cw	Inibidora
KIR2DL3	CD158b2	CNK; LT	HLA-Cw	Inibidora
KIR3DL1	CD158e1	CNK; LT	HLA-B	Inibidora
KIR3DS1	CD158e2	CNK; LT	HLA-B	Activadora
KIR2DL5	CD158f	CNK; LT	HLA-B	Inibidora
KIR2DS1	CD158h	CNK; LT	HLA-C	Activadora
KIR2DS2	CD158j	CNK; LT	HLA-C	Activadora
KIR2DS4	CD158i	CNK; LT	HLA-C	Activadora
KIR2DS5	CD158g	CNK; LT		Activadora

## **2.5 HAPLÓTIPOS KIR**

Tal como os genes HLA, os genes KIR são herdados em bloco, formando haplótipos. Embora exista um grande número de haplótipos KIR, os haplótipos dos grupos A e B são mais prevalentes. O número de genes presente em cada haplótipo varia entre 7 e 12, dependendo fundamentalmente da presença ou ausência de genes que codificam para receptores activadores. Quatro genes KIR estão presentes em quase todos os haplótipos (nomeadamente nos haplótipos A e B) e são, por isso, denominados genes estruturais ou “de moldura” (“*framework*”): KIR3DL3 (CD158b2), KIR3DP1, KIR2DL4 (CD158d) e KIR3DL2 (CD158k). Em alguns haplótipos faltam alguns destes genes. (SALIM, *et al.*, 2011)

Os haplótipos do grupo A não variam em conteúdo de genes, mas têm grande variação a nível alélico, enquanto os do grupo B têm alta variação no conteúdo de genes, mas possuem polimorfismo alélico moderado.

O haplótipo A apresenta sete locus e tem como característica uma maior expressão de genes que codificam para receptores inibidores (Quadro 6). Define-se pela presença dos genes KIR 2DL1, 2DL3, 2DL4, 2DS4, 3DL1, 3DL2 e 3DL3, sendo que o único gene deste haplótipo que codifica para um receptor activador é o KIR2DS4. Possui ainda dois pseudogenes, o KIR2DP1 e o KIR3DP1. Em relação ao KIR2DS4 há ainda a salientar que este gene tem um alelo nulo

com uma grande frequência na população, o que faz com que os indivíduos homozigóticos para o haplótipo A que possuam este alelo nulo não expressem nenhum KIR activador.

**Quadro 6.** Características do haplótipo A

	GENE KIR								
	3DL3	2DL3	2DP1	2DL1	3DP1	2DL4	3DL1	2DS4	3DL2
FUNÇÃO	Inibidor	Inibidor	P	Inibidor	P	Inibidor	Inibidor	Activador	Inibidor
PROTEÍNA CD158	z	b2	-	a	-	d	e1	i	k
OUTROS	E				E	E			E

P, pseudogene; E, gene estrutural

Os haplótipos do grupo B apresentam mais genes que os do grupo A, têm um número variável de genes e possuem um maior número de genes activadores. Neste grupo existem diferentes combinações de KIR2DL5, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS5 e KIR3DS1, sendo o grupo definido pela presença do KIR2DL2 e ausência do KIR3DL1 e KIR2DL3. Os haplótipos do grupo B podem ter 1 a 5 genes KIR activadores (ex. KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS5 e KIR3DS1) e podem incorporar genes inibidores que se sabe que estão ausentes nos haplótipos do grupo A (ex. KIR2DL2 e KIR2DL5).

Algumas observações persistentes na análise dos haplótipos indicam que:

- (a) os genes 3DL3, 3DP1, 2DL4 e 3DL2 estão presentes em todos os haplótipos;
- (b) se o gene 2DS1 está presente, o gene 2DS4 está ausente e vice versa;
- (c) se o gene 2DL1 está presente, o gene 2DP1 está presente;
- (d) se o gene 3DS1 está ausente, o gene 3DL1 está presente.

## **2.6 RECEPTORES KILLER TIPO LECTINA (KLR)**

Os KLR, tal como o nome indica, pertencem à família das lectinas tipo C e incluem, entre outros, as proteínas CD94, CD159a (NKG2A/B), CD161 (NKR-P1A) e CD314 (NKG2D). (Quadro 7)

O CD94 apresenta pouca variedade alélica e talvez por isso, com a excepção da proteína NKG2D, todas as outras pertencentes a esta família se ligam a este gene. Assim, e como CD94 tem no seu domínio citoplasmático motivos ITIM, os receptores adquirem função inibidora.

Alguns destes receptores têm como ligandos proteínas com semelhanças estruturais com moléculas MHC da classe I, designadas por proteínas MIC (*MHC class I Chain related*), tipos A e B, e proteínas ULBP (*UL16 Binding Proteins*). Estas proteínas são expressas nos epitélios em condições de stress, nas células tumorais e em células infectadas por vírus.

**Quadro 7.** Características dos KLR estudados neste trabalho

CD ATRIBUÍDO	KLR	OUTRAS DESIGNAÇÕES	CÉLULAS	LIGANDOS	FUNÇÃO
CD94	KLRD1	Kp43	CNK; LT	HLA-B, -A, -C	Inibidora
CD159a	HLRC1	NKG2A/B	CNK; LT	HLA-E	
CD161	KLRB1	NKR-P1A	CNK; LT	MHC-I	Desconhecida
CD314	KLRK1	NKG2D	CNK; LT	MICA; MICB	Inibidora

## **2.7 RECEPTORES LEUCOCITÁRIOS SEMELHANTES ÀS IMUNOGLOBULINAS (LILR)**

Os LILR, também designados de ILT (*Immunoglobulin like Transcripts*; Transcriptos semelhantes às imunoglobulinas), LIR (*Leucocyte Inhibitory Receptors*; Receptores inibitórios dos leucócitos) ou CD85 são considerados os precedentes ancestrais dos KIR e apresentam várias características semelhantes a estes últimos no que diz respeito à estrutura, genética e função. Podem ser encontrados nas APC, como os monócitos e macrófagos, as células dendríticas e os LB, mas também se encontram nas CNK e nos LT.

Os LILR reconhecem moléculas MHC da classe I e podem regular a resposta imune activando ou inibindo a citotoxicidade das células. Esta dualidade de funções tem a ver, tal como nos KIR, com o comprimento da porção citoplasmática das moléculas: cadeias citoplasmáticas longas possuem domínios ITIM e as curtas têm domínios ITAM, que conferem aos LILR propriedades inibidoras e activadoras, respectivamente.

Podem ser divididos em duas famílias – a família A com 6 receptores e a família B com 5 – e em dois pseudogenes. Tal como nos KIR, a nomenclatura segue as normas de HUGO e assim sendo, ao acrónimo LILR precede a letra correspondente à família a que o receptor pertence (A ou B) e um número indicando o número de membro. Por exemplo, o LILRA1 é o membro 1 da família A dos LILR.

Neste trabalho estudou-se o CD85j que pode ser expresso em vários tipos de leucócitos, como monócitos, células dendríticas, linfócitos B, LT e CNK. Funciona como receptor inibidor para a actividade citotóxica das CNK e dos CTL. A sua ligação a moléculas HLA-A, -B, -G1 e -E induz o recrutamento de fosfatases SHP-1.

## **2.8 OUTROS RECEPTORES *KILLER***

Neste trabalho foram analisados outros KR não incluídos nas famílias anteriormente mencionadas: o CD160, o CD244 e o CD226.

O **CD160** é uma glicoproteína que se expressa na membrana ligada às âncoras de glicosil-fosfatidil-inositol e que tem um domínio semelhante às imunoglobulinas que apresenta homologia estrutural com o KIR2DL4. A sua expressão foi descrita nas CNK e nos CTL do sangue periférico (em particular nas CNK CD56<sup>fraco</sup>, nos LT gama/delta e nos CTL CD8<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CD28-CD27-) e em alguns linfócitos dos órgãos e tecidos, como por exemplo, os linfócitos T intra-epiteliais intestinais. Tem funções activadoras e os seus ligandos são, entre outros, moléculas do MHC da classe I, como o HLA-C. (ABECASSIS, [et al.], 2007)

O **CD226**, também denominado DNAM-1 (DNAX Accessory Molecule-1) ou PTA1 (Platelet and T cell Activation Antigen 1), é uma glicoproteína da superfamília das imunoglobulinas, codificada por um gene localizado no cromossoma 18 humano (18q22.3), que se expressa em CNK, alguns LT, alguns LB, monócitos e plaquetas. Nas CNK e nos LT activados o CD226 está fisicamente associado ao CD11a e está envolvido na transmissão de sinal mediado por este último. O seu domínio extracelular tem 2 domínios semelhantes às imunoglobulinas. A fosforilação de resíduos de serina no seu domínio citoplasmático parece ser importante quer para a associação ao CD11a, quer para a transmissão intracelular do sinal. Os seus ligandos são o CD112 (também conhecido por Receptor do Vírus da Poliomielite, PVR) e o CD155 (também chamado de Nectina-2), amplamente expressos em células endoteliais, células epiteliais e células neuronais e que têm uma expressão aumentada em algumas células tumorais. A interacção do CD226 com os seus ligandos conduz a um aumento a actividade citotóxica das CNK e a um aumento da produção de citocinas. Além disso, a migração de monócitos, através de junções intracelulares de células endoteliais, envolve o DNAM-1 (expresso nos monócitos) e o CD155 (expresso nas células endoteliais vasculares), sugerindo a possibilidade de um papel similar para estes receptores na migração das CNK. (SETH, [et al.], 2009)

O **CD244**, também conhecido por 2B4, NAIL (*NK cell activation-inducing ligand*) ou SLAMF4, é uma glicoproteína de membrana pertencente à família SLAM (Signaling Lymphocyte Activation Molecules), uma família de moléculas sinalizadoras da activação linfocitária muito próxima à família CD2, da superfamília das imunoglobulinas. Expressa-se, para além de outras células, nas CNK e em subpopulações de LT gama/delta e de LT alfa/beta CD8<sup>+</sup> com características de células de memória/efectoras. Actua como receptor de alta afinidade para o CD48, também ele um membro da família SLAM (SLAMF2), que se expressa nos LT e nos LB. O CD244 tem dois domínios extracelulares do tipo das Imunoglobulinas e o seu domínio citoplasmático contém sequências de aminoácidos que lhe permite recrutar a SAP, uma proteina adaptadora com

resíduos SH2. Nas CNK humanas, o CD244 comporta-se como receptor de co-activação, aumentando a actividade citotóxica, a produção de IFN- $\gamma$  e a proliferação, actuando em conjunto com receptores NCR e com receptores activadores da família KLR. (MOONEY, *[et al.]*, 2004)

## **2.9 RELEVÂNCIA DO ESTUDO DA EXPRESSÃO DOS KR NAS CNK E NOS LT**

O estudo dos KR nas CNK e nos LT permite ter a percepção de como as CNK exercem a sua função na resposta imune, pois é graças à acção destes receptores que as CNK e os CTL exercem a sua função citotóxica de forma controlada, de modo a proteger eficazmente o nosso organismo de agentes estranhos sem auto-agressão, ou seja, aconteça num contexto apropriado.

Inicialmente descritos exclusivamente nas CNK, alguns tipos particulares de KR, como os LIRL, foram posteriormente descritos noutros leucócitos tais como monócitos, células dendríticas e, como já foi referido, em linfócitos, assim como foram descritos novos mecanismos de regulação, proliferação e sobrevivência destas células. (MORETTA, *[et al.]*, 2004) (MORETTA, *[et al.]*, 2000)

Hoje em dia a caracterização do repertório de expressão dos KR tem sido vista com algum interesse em várias áreas, nomeadamente no estudo da resposta às infecções e dos mecanismos de defesa anti-tumoral, mas também no que diz respeito à biologia da implantação embrionária e da transplantação. Parece também ter relevância para a compreensão da fisiopatologia de doenças autoimunes e inflamatórias, de que são exemplo a Artrite Reumatóide, a Sarcoidose e a Esclerose Múltipla. (HECHT, *[et al.]*, 2009) (MORETTA, *[et al.]*, 2000)

Toda esta relevância advém do facto das CNK, tal como os LT, apresentarem na sua superfície celular receptores que intervêm na identificação de agentes infecciosos e de células “estranhas” ao organismo nomeadamente moléculas do sistema HLA. A diminuição ou até mesmo ausência de expressão de moléculas HLA em células infectadas, tumorais ou transplantadas pode levar uma activação das CNK e conseqüentemente à destruição das referidas células. Por outro lado, também se sabe que as CNK podem mediar a resposta imune pelo equilíbrio existente entre os sinais activadores e inibidores dos KR existentes nestas células. (ALMEIDA-OLIVEIRA, *[et al.]*, 2008) (GARCIA, *[et al.]*, 2003)

Alguns artigos descrevem as CNK como um “aliado”, uma vez que combate com grande eficácia muitas doenças infecciosas, accionando a resposta imune inata, ou seja, enquanto o sistema imune adaptativo ainda não está apto a responder. (GARCIA, *[et al.]*, 2003) Neste

caso, a ausência da expressão HLA na superfície celular leva a uma falta de sinal inibidor nos KR, originando assim a activação das CNK.

No caso da biologia da transplantação, os KIR expressos pelas CNK revelam-se particularmente importantes, uma vez que promovem o efeito “enxerto contra leucemia” por lise de células leucémicas residuais do doente e previnem a doença “enxerto contra hospedeiro” através da lise das APC do doente. (ALMEIDA-OLIVEIRA, *[et al.]*, 2008)



### **PARTE 3: MATERIAL E MÉTODOS**



### **3.1. DESENHO DO ESTUDO**

Este estudo, de natureza laboratorial, é um estudo observacional, descritivo e transversal.

### **3.2. POPULAÇÃO E AMOSTRA**

O estudo foi realizado em amostras de sangue periférico de 30 indivíduos adultos saudáveis, 15 do sexo masculino e 15 do sexo feminino, com idade mediana de 41,5 anos.

Os referidos indivíduos eram dadores benévolos de sangue do Serviço de Hematologia Clínica do Centro Hospitalar do Porto – Hospital Santo António. A selecção da amostra foi não aleatória, por conveniência. Foram incluídos dadores de sangue considerados aptos para a dádiva pelo médico de serviço e que, após terem sido informados sobre o estudo, concordaram em participar, autorizando a colheita de uma amostra de sangue. As amostras de sangue foram anonimizadas, tendo-se procedido exclusivamente ao registo do sexo e idade. O estudo foi aprovado pelo Conselho de Administração do Centro Hospitalar do Porto, com parecer favorável da Comissão de Ética para a Saúde e do Departamento de Ensino, Formação e Investigação do Hospital.

As amostras de sangue foram colhidas em tubo com anticoagulante EDTA-K3 (sal tripotássico de ácido etileno-diamino-tetracético).

### **3.3. MATERIAL**

#### **3.3.1. EQUIPAMENTO**

Para a realização deste estudo foram utilizados alguns dos equipamentos existentes no Laboratório de Citometria do Serviço de Hematologia Clínica do Centro Hospitalar do Porto – Hospital Santo António.

1. Contador hematológico automático GEN'S (Beckman Coulter, BC);
2. Citómetro de Fluxo (CF) FACScalibur (Becton Dickinson, BD) equipado com 2 lasers (Árgon, 488nm; Hélio - Néon, 635nm), com 4 detectores de fluorescência (FL1, FL2, FL3 e FL4), com 3 filtros “*Band-Pass*” (BD) e 1 filtro “*Long-Pass*” (LP), um detector de “*Foward Scatter*” (FSC) e um detector de “*Side Scatter*” (SSC) (Quadro 8);
3. Centrífuga refrigerada;
4. Vórtex;
5. Sistema de aspiração por vácuo;
6. Pipetas automáticas de 5µL, 50µL, 100µL e 1000µL.

**Quadro 8.** Características do sistema óptico do citómetro de fluxo FACScalibur (BD)

<b>LASERS</b>	TIPO	Árgon			Hélio-Néon
	COR	Azul			Vermelho
	ESTADO	Sólido			Sólido
	ARREFECIMENTO	Ar			Ar
	COMPRIMENTO DE ONDA	488nm			635nm
	VOLTAGEM	15mW			15mW
<b>DETECTORES DE FLUORESCÊNCIA</b>	DESIGNAÇÃO	FL1	FL2	FL3	FL4
	COR	Verde	Amarelo Laranja	Vermelho	Vermelho
<b>FILTROS</b>	TIPO	BP	BP	LP	BP
	COMPRIMENTO DE ONDA	530/30nm (515-545)	585/42nm (564-606)	670nm (670)	661/12nm (656-667)
BP, Band Pass; LP, Long Pass					

### 3.3.2. REAGENTES

Os reagentes utilizados neste trabalho foram os seguintes:

1. Anticorpos monoclonais com diferentes especificidades, conjugados com diferentes fluorocromos (Quadro 9);
2. FACS Lysing®: solução concentrada para lise de eritrócitos e fixação de leucócitos (BD);
3. PBS (*Phosphate Buffered Saline*): solução salina tamponada de fosfato de sódio (BD);
4. Água destilada.

**Quadro 9.** Características dos anticorpos monoclonais usados neste estudo.

ESPECIFICIDADE (CD)	OUTRAS DESIGNAÇÕES	FABRICANTE <sup>(1)</sup>	FLUOROCROMO <sup>(2)</sup>	CLONE	REFERÊNCIA
CD3		IOT	FITC	UCHT1	082A07746
CD56	NCAM	BC	PC5	N901 (NKH-1)	082A07789
CD85j	LILRB1; ILT2; LIR-1; MIR-7	ABO	PE	GHI/75	ABIN312911
CD94	KLRD1	ABO	APC	DX22	ABIN158197
CD158a/h	KIR2DL1/KIR2DS1	ABO	PE	HP-MA4	ABIN312806
CD158b1;b2/,j	KIR2DL2; 2DL3 / KIR2DS2	BC	APC	GL183	082A22333
CD158e1/e2	KIR3DL1/KIR3DS1	IOT	PE	Z27.3.7	082IM3292
CD158i	P50.3; KIR2DS4	IOT	PE	FES172	082IM3337
CD158f	KIR2DL5	eBIO	APC	UP-R1	17-1588-41
CD159a	KLRC1; NKG2-A e NKG2-B	IOT	PE	Z199	082IM3291U
CD160	-	ABO	AF 647	BY55	ABIN311820
CD161	KLRB1; NKR-P1A	ABO	PE	HP-3G10	ABIN312810
CD226	DNAM1	ABO	PE	DX11	ABIN320107
CD244	SLAMF4; 2B4	ABO	APC	C1.7	ABIN312046
CD314	KLRK1; NKG2-D	ABO	APC	1D11	ABIN159191
CD335	NCR1; NKp46	ABO	AF 647	9E2	ABIN311852
CD336	NCR2; NKp44	ABO	PE	P44-8	ABIN159506
CD337	NCR3; NKp30	ABO	APC	P30-15	ABIN159520

(1) ABO, Antibodies On-line; IOT, Immunotech, Marseille, France; BC, Beckman Coulter, Hialeah, Florida, USA; e-BIO, e-Bioscience.

(2) AF 647, Alexa Fluor 647; APC, Allophycocyanin (Alofococianina); FITC, Fluorescein isothiocyanate (Isotiocianato de fluoresceína); PC5, Phycoerythrin Cyanin 5 (ficoeritrina cianina 5); PE, Phycoerythrin (Ficoeritrina).

### 3.3.3. OUTRO MATERIAL CONSUMÍVEL

1. Tubos de vácuo com anticoagulante – sal tripotássico de ácido etileno-diamino-tetra-acético (EDTA-K3), para colheita de 4,5mL de sangue;
2. Tubos tipo FALCON (12x75 mm), para imunofenotipagem de células e leitura em CF;
3. Pontas para pipetas automáticas de 5µL, de 50µL, de 100µL e de 1000µL
4. Pipetas Pasteur de 1 e 3 mL;
5. Microtubos tipo “*ependorf*”.

### 3.4. PROCEDIMENTO TÉCNICO

Após colheita de sangue periférico aos doadores benévolos de sangue, todas as amostras de sangue sofreram o mesmo procedimento

#### 3.4.1 REALIZAÇÃO DO HEMOGRAMA

O hemograma, com doseamento de hemoglobina bem como contagem de eritrócitos, plaquetas, leucócito e contagem diferencial dos últimos, foi efectuado no contador hematológico automático GenS (BC).

#### 3.4.2. IMUNOFENOTIPAGEM DOS LINFÓCITOS

Para a imunofenotipagem foi usada uma técnica de imunofluorescência directa em sangue total sem lavagem prévia das células, com fixação dos leucócitos e lise dos eritrócitos, utilizando anticorpos monoclonais de diferentes especificidades conjugados com distintos fluorocromos (Quadro 10).

**Quadro 10.** Características dos fluorocromos usados neste estudo.

	FITC	PE	PC5	APC	AF-647
<b>COMPRIMENTO DE ONDA DE EXCITAÇÃO MÁXIMO</b>	~494nm	~496nm	~496nm	~650nm	~650nm
<b>COMPRIMENTO DE ONDA DE EMISSÃO MÁXIMO</b>	~521nm	~578nm	~667nm	~660nm	~668nm
<b>LASER (COMPRIMENTO DE ONDA)</b>	Árgon (488nm)			Hélio – Néon (635nm)	
<b>DETECTOR DE FLUORESCÊNCIA (COR)</b>	FL1 (Verde)	FL2 (Amarelo)	FL3 (Vermelho)	FL4 (Vermelho)	
AF-647, Alexa Fluor 647; APC, Allophycocyanin (Aloficocianina); FITC, Fluorescein isothiocyanate (Isotiocianato de fluoresceína); PC5, Phycoerythrin Cyanin 5 (Ficoeritrina cianina 5); PE, Phycoerythrin (Ficoeritrina).					

Nas oito combinações de anticorpos monoclonais utilizadas (Quadro 11) foram mantidos fixos os anticorpos anti-CD3 conjugado com Isotiocianato de Fluoresceína (FITC, *Fluorescein isothiocyanate*) e anti-CD56, conjugado com Ficoeritrina Cianina 5 (PC5, *Phycoerythrin cyanin 5*) e a expressão destes antigénios (ou a sua ausência) foi usada para identificar e seleccionar as CNK e os LT e as suas subpopulações. Variaram os anticorpos conjugados com ficoeritrina (PE, *Phycoerythrin*) e Alexa Flúor 647 (AF 647) ou Alociocianina (APC, *Allophycocyanin*), específicos para diferentes tipos de KR.

**Quadro 11.** Combinações de anticorpos monoclonais usadas neste estudo.

TUBOS	FLUOROCROMOS			
	FITC	PE	PC5	APC ou AF-647
T0 (CONTROLO NEGATIVO)	CD3 <sup>(1)</sup>	*	CD56 <sup>(2)</sup>	*
T1	CD3 <sup>(1)</sup>	CD336 <sup>(1)</sup>	CD56 <sup>(2)</sup>	CD335 <sup>(3)</sup>
T2	CD3 <sup>(1)</sup>	CD85j <sup>(1)</sup>	CD56 <sup>(2)</sup>	CD337 <sup>(1)</sup>
T3	CD3 <sup>(1)</sup>	CD226 <sup>(2)</sup>	CD56 <sup>(2)</sup>	CD244 <sup>(1)</sup>
T4	CD3 <sup>(1)</sup>	CD158a/h <sup>(1)</sup>	CD56 <sup>(2)</sup>	CD158b1b2/j <sup>(2)</sup>
T5	CD3 <sup>(1)</sup>	CD158e1e2 <sup>(1)</sup>	CD56 <sup>(2)</sup>	CD158f <sup>(1)</sup>
T6	CD3 <sup>(1)</sup>	CD158i <sup>(1)</sup>	CD56 <sup>(2)</sup>	CD160 <sup>(3)</sup>
T7	CD3 <sup>(1)</sup>	CD161 <sup>(1)</sup>	CD56 <sup>(2)</sup>	CD94 <sup>(1)</sup>
T8	CD3 <sup>(1)</sup>	CD159a <sup>(1)</sup>	CD56 <sup>(2)</sup>	CD314 <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> 5 µL de anticorpo monoclonal puro, <sup>(2)</sup> 5 µL de anticorpo monoclonal diluído 1/2, <sup>(3)</sup> 5 µL de anticorpo monoclonal diluído 1/4 para 50 µL de sangue total com 1 – 2 x 10<sup>6</sup> células.

#### **Procedimento para a imunofenotipagem dos linfócitos:**

- 1º. Identificar os tubos com as diferentes combinações de anticorpos monoclonais;
- 2º. Pipetar os respectivos anticorpos monoclonais na quantidade adequada;
- 3º. Adicionar 50 µL de sangue total;
- 4º. Deixar incubar no escuro e à temperatura ambiente durante 15 minutos;
- 5º. Adicionar 2 mL de solução FACS Lysing® diluída 1/10 em água destilada;
- 6º. Incubar no escuro e à temperatura ambiente durante 10 minutos;

- 7º. Centrifugar os tubos a 2000 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos;
- 8º. Retirar o sobrenadante;
- 9º. Suspender a *pellet* celular por agitação;
- 10º. Adicionar 2 ml de PBS;
- 11º. Centrifugar os tubos a 2000 rpm durante 5 minutos;
- 12º. Retirar o sobrenadante;
- 13º. Suspender a *pellet* celular por agitação;
- 14º. Adicionar 0,5 ml de PBS;
- 15º. Colocar no frigorífico durante 5 minutos (mínimo);
- 16º. Efectuar a leitura no citómetro de fluxo.

### 3.4.3 LEITURA DAS AMOSTRAS

A leitura das amostras foi efectuada no citómetro de fluxo FACScalibur (BD), utilizando a aplicação informática “Cell Quest” (BD).

Foram adquiridos 200.000 eventos em cada tubo.

### 3.4.4. ANÁLISE DOS RESULTADOS

A análise dos resultados foi efectuada no programa “*Paint-a-Gate PRO*” (BD).

Numa primeira fase, foram identificados e quantificados os LT e as CNK totais dentro dos linfócitos.

Numa segunda fase, foram identificadas e quantificadas as subpopulações de LT (CD56<sup>-</sup> e CD56<sup>+</sup>) e de CNK (CD56<sup>+</sup> e CD56<sup>++</sup>).

Finalmente, e para cada uma das populações e subpopulações linfocitárias, foi calculada a percentagem de células positivas para cada um dos KR, bem com a sua intensidade e heterogeneidade de expressão.

A intensidade de expressão dos antigénios foi avaliada pela sua intensidade média de fluorescência (IMF), medida em unidades arbitrárias de fluorescência (u.a.f.), e heterogeneidade de expressão foi avaliada pelo respectivo coeficiente de variação (CV).

Os resultados foram exportados para um ficheiro Excel e posteriormente transferidos para a aplicação informática SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*), onde foi realizado o tratamento estatístico dos dados.

### **3.5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS**

O tratamento estatístico dos dados foi feito com a aplicação informática SPSS, versão 19.0.

#### **3.5.1 ESTATÍSTICA DESCRITIVA**

Para as variáveis quantitativas contínuas (idade; parâmetros hematológicos, incluindo hemoglobina, contagem de plaquetas e de leucócitos e contagem diferencial de leucócitos; % de LT e de CNK dentro dos linfócitos; % de LT CD56<sup>-</sup> e CD56<sup>+</sup> dentro dos LT; % de CNK CD56<sup>+</sup> e CD56<sup>++</sup> dentro das CNK; % de LT e de CNK que expressavam cada um dos antígenos, IMF de expressão e respectivo CV), foi calculada a mediana, a média, o desvio padrão e os valores mínimo e máximo.

Para as variáveis qualitativas (sexo) foram calculadas as frequências relativas.

#### **3.5.2 ESTATÍSTICA CORRELACIONAL**

A correlação entre variáveis quantitativas contínuas foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman. Foi considerado existir uma correlação forte quando  $\rho$  entre 0.70 e 1.00, uma correlação moderada quando  $\rho$  entre 0.30 e 0.7 e uma correlação fraca quando  $\rho$  entre 0.00 e 0.30.

#### **3.5.3 ESTATÍSTICA INDUTIVA**

Na análise estatística indutiva foram usados os testes não paramétricos de Mann-Whitney e de Wilcoxon. A diferença foi considerada estatisticamente significativa quando  $p < 0.05$ .



## **PARTE 4: RESULTADOS**



## **4.1 HEMOGRAMA**

### **4.1.1 LEUCÓCITOS, HEMOGLOBINA E PLAQUETAS**

**Tabela 1.** Valor dos leucócitos, da hemoglobina e das plaquetas.

	<b>HEMOGLOBINA (g/dl)</b>	<b>LEUCÓCITOS (x10<sup>9</sup>/L)</b>	<b>PLAQUETAS (x10<sup>9</sup>/L)</b>
<b>MEDIANA</b>	14,3	6,0	208,5
<b>MÉDIA ± DP</b>	14,1 ± 1,4	6,5 ± 1,9	222,6 ± 45,7
<b>MÍNIMO</b>	11,3	3,5	159,0
<b>MÁXIMO</b>	16,3	11,9	345,0

### **4.1.2 CONTAGEM DIFERENCIAL DOS LEUCÓCITOS**

**Tabela 2.** Contagem diferencial dos leucócitos do sangue periférico.

	<b>NEUTRÓFILOS (%)</b>	<b>NEUTRÓFILOS (x10<sup>9</sup>/L)</b>	<b>LINFÓCITOS (%)</b>	<b>LINFÓCITOS (x10<sup>9</sup>/L)</b>	<b>MONÓCITOS (%)</b>	<b>MONÓCITOS (x10<sup>9</sup>/L)</b>
<b>Mediana</b>	54,4	3,6	32,7	2,1	7,7	0,5
<b>Média ± DP</b>	55,9 ± 7,1	3,6 ± 1,0	33,0 ± 6,6	2,2 ± 0,9	7,6 ± 1,8	0,5 ± 0,1
<b>Mínimo</b>	43,2	1,9	18,1	1,0	4,4	0,3
<b>Máximo</b>	73,9	7,1	45,0	4,0	11,9	0,9

## **4.2. POPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS**

### **4.2.1. LINFÓCITOS T (LT) E CÉLULAS NK (CNK)**

A percentagem de LT e de CNK dentro dos linfócitos foi de  $70,7 \pm 8,6\%$  e de  $14,3 \pm 8,7\%$ , respectivamente, valores estes concordantes com o que seria de esperar no sangue periférico de indivíduos adultos saudáveis (Tabela 3).

**Tabela 3.** Percentagem de LT e de CNK dentro dos linfócitos.

	<b>LINFÓCITOS</b>	
	<b>%LT</b>	<b>% CNK</b>
<b>MEDIANA</b>	72,0	11,2
<b>MÉDIA ± DP</b>	70,7 ± 8,6	14,3 ± 8,7
<b>MÍNIMO</b>	49,9	5,5
<b>MÁXIMO</b>	83,2	37,2

Em conformidade com os critérios usados para a selecção destas células, não foi observada expressão de CD3 nas CNK. Pelo contrário, as CNK expressavam CD56, tendo sido também observada alguma expressão de CD56 nos LT em virtude da presença de LT CD56<sup>+</sup> (Tabela 4).

As CNK apresentavam um FSC e um SSC superiores aos dos LT, dado o seu maior tamanho e complexidade, devida à presença de grânulos no citoplasma (Tabela 4).

**Tabela 4.** Valor médio do FSC e do SSC e IMF de expressão de CD56 nos LT e nas CNK.

	LT				CNK			
	FSC (u.a.f.)	SSC (u.a.f.)	CD3 APC (u.a.f.)	CD56 (u.a.f.)	FSC (u.a.f.)	SSC (u.a.f.)	CD3 (u.a.f.)	CD56 (u.a.f.)
<b>MEDIANA</b>	309,0	150,9	337,1	20,2	347,9	197,3	3,7	652,7
<b>MÉDIA ± DP</b>	304,1 ± 27,1	149,2 ± 14,5	336,4 ± 65,1	32,3 ± 32,4	342,0 ± 29,6	194,2 ± 15,6	3,8 ± 0,5	653,5 ± 174,5
<b>MÍNIMO</b>	226,6	105,8	211,3	6,2	263,6	147,6	2,8	334,0
<b>MÁXIMO</b>	351,3	169,9	492,7	126,1	396,1	217,5	5,1	1151,5

#### 4.2.2. CNK CD56<sup>+</sup> E CD56<sup>++</sup>

Havia um claro predomínio de CNK CD56<sup>+</sup> (94,8 ± 3,0% das CNK) em relação às CNK CD56<sup>++</sup> (5,2 ± 3,0% das CNK), de acordo com o descrito no sangue periférico de indivíduos adultos saudáveis (Tabela 5).

**Tabela 5.** Percentagem de CNK CD56<sup>+</sup> e de CNK CD56<sup>++</sup> dentro das CNK.

	CNK TOTAIS	
	%CNK CD56 <sup>+</sup>	%CNK CD56 <sup>++</sup>
<b>MEDIANA</b>	95,0	5,0
<b>MÉDIA ± DP</b>	94,8 ± 3,0	5,2 ± 3,0
<b>MÍNIMO</b>	85,8	0,3
<b>MÁXIMO</b>	99,7	4,2

As CNK CD56<sup>++</sup> tinham uma intensidade de expressão de CD56 superior à das CNK CD56<sup>+</sup>, não havendo diferenças entre o FSC e o SSC destas populações (Tabela 6).

**Tabela 6.** Valor médio do FSC e do SSC e IMF de expressão de CD56 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>.

	CNK CD56 <sup>+</sup>			CNK CD56 <sup>++</sup>		
	FSC	SSC	CD56	FSC	SSC	CD56
<b>MEDIANA</b>	346,6	196,9	531,0	364,6	205,8	3088,9
<b>MÉDIA ± DP</b>	341,1 ± 29,7	194,0 ± 15,9	526,5 ± 145,4	358,2 ± 27,7	203,8 ± 14,2	3065,0 ± 653,0
<b>MÍNIMO</b>	263,6	147,8	277,0	278,7	164,7	1863,8
<b>MÁXIMO</b>	396,0	218,5	993,7	394,7	225,0	4944,1

#### 4.2.3 LT CD56<sup>-</sup> E CD56<sup>+</sup>

Uma fracção variável de LT ( $10,3 \pm 7,8\%$ ) expressava CD56, com intensidade mais fraca e de forma mais heterogénea do que o observado nas CNK (Tabela 7).

**Tabela 7.** Percentagem de LT CD56<sup>-</sup> e de LT CD56<sup>+</sup> dentro dos LT.

	LT TOTAIS	
	%LT CD56 <sup>-</sup>	%LT CD56 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	92,3	7,7
<b>MÉDIA</b> <b>±</b> <b>DP</b>	89,7 ± 7,8	10,3 ± 7,8
<b>MÍNIMO</b>	63,5	2,4
<b>MÁXIMO</b>	97,6	36,5

Os LT CD56<sup>+</sup> apresentavam FSC e SSC superiores aos dos LT CD56<sup>-</sup>, tal como seria de esperar, pelo facto de serem LT citotóxicos, com maior tamanho e maior complexidade, devido à presença de grânulos citoplasmáticos. Da mesma forma, a intensidade de expressão de CD3 nos LT CD56<sup>+</sup> foi superior à observada nos LT CD56<sup>-</sup> (Tabela 8).

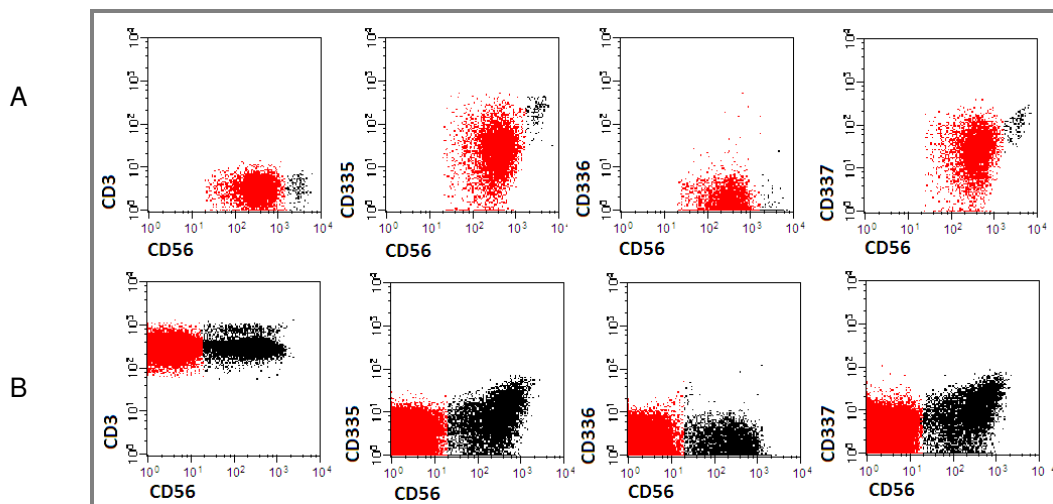
**Tabela 8.** Valor médio do FSC e do SSC e IMF de expressão de CD3 e de CD56 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>.

	LT CD56 <sup>-</sup>				LT CD56 <sup>+</sup>			
	FSC	SSC	CD3	CD56	FSC	SSC	CD3	CD56
<b>MEDIANA</b>	306,4	147,5	330,5	2,9	344,0	190,6	366,7	237,8
<b>MÉDIA</b> <b>±</b> <b>DP</b>	299,8 ± 25,6	145,0 ± 13,0	327,6 ± 57,3	2,9 ± 0,4	342,0 ± 31,1	188,6 ± 16,8	397,3 ± 113,2	243,6 ± 102,3
<b>MÍNIMO</b>	225,8	104,2	209,2	1,8	259,9	139,1	234,3	113,4
<b>MÁXIMO</b>	348,0	161,3	462,2	3,6	400,3	207,8	723,0	627,4

### 4.3. EXPRESSÃO DE RECEPTORES KILLER (KR) NOS LINFÓCITOS T (LT) E NAS CÉLULAS NK (CNK)

#### 4.3.1 RECEPTORES DE CITOTOXICIDADE NATURAL (NCR)

A Figura 1 ilustra o perfil de expressão dos NCR (CD335, CD336 e CD337) nas CNK (CD56<sup>+</sup> e CD56<sup>++</sup>) e nos LT (CD56<sup>-</sup> e CD56<sup>+</sup>).



**Figura 1.** Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão dos diferentes NCR nas CNK (Painel A) CD56<sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56<sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>+</sup> (cor preta).

#### 4.3.1.1 CD335 (NCR1)

##### **A. CD335 nas CNK**

Observou-se expressão de CD335 numa fracção variável de CNK ( $69,2 \pm 18,5\%$ ) de todos os indivíduos estudados, sendo a expressão de CD335 relativamente fraca (IMF =  $60,9 \pm 14,5$ ) e bastante heterogénea (CV =  $109,8 \pm 14,8$ ) (Figura 1 e Tabela 9).

**Tabela 9.** Expressão de CD335 nas CNK avaliada pela % de CNK CD335<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD335 nas CNK CD335<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK TOTAIS		
	% CNK CD335 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD335 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD335 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	74,2	60,0	107,8
<b>MÉDIA</b>	69,2	60,9	109,8
<b>± DP</b>	± 18,5	± 14,5	± 14,8
<b>MÍNIMO</b>	23,4	31,6	86,5
<b>MÁXIMO</b>	96,0	91,5	153,9

Quer as CNK CD56<sup>+</sup> quer as CD56<sup>++</sup> expressavam CD335, sendo a % de CNK CD335<sup>+</sup> superior e a expressão de CD335 mais forte e mais homogênea nas CNK CD56<sup>++</sup> (MW: p <0,001 nos três casos) (Figura 1 e Tabela 10).

**Tabela 10.** Expressão de CD335 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD335<sup>+</sup> e pela IMF de expressão de CD335 nas CNK CD335<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>			CNK CD56 <sup>++</sup>		
	% CNK CD335 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD335 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD335 <sup>+</sup>	% CNK CD335 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD335 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD335 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	75,3	53,6	104,1	96,0	135,8	71,3
<b>MÉDIA ± DP</b>	70,5 ± 18,8	52,7 ± 12,4	106,8 ± 15,8	91,7 ± 13,7	147,1 ± 55,0	67,5 ± 19,4
<b>MÍNIMO</b>	27,3	24,7	58,4	43,9	56,4	35,7
<b>MÁXIMO</b>	97,3	75,0	146,7	100,0	256,4	118,2

### B. CD335 nos LT

Não se observou expressão de CD335 nos LT (Figura 1)

### C. CD336 nas CNK

Observou-se expressão de CD336 numa percentagem muito pequena das CNK ( $0,5 \pm 0,3\%$ ) de todos os indivíduos estudados (Figura 1 e Tabela 11).

**Tabela 11.** Expressão de CD336 nas CNK avaliada pela % de CNK CD336<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD336 nas CNK CD336<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	% CNK CD336 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD336 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD336 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	0,4	46,4	103,7
<b>MÉDIA ± DP</b>	0,5 ± 0,3	49,2 ± 20,0	102,1 ± 39,3
<b>MÍNIMO</b>	0,1	15,6	46,7
<b>MÁXIMO</b>	1,5	91,5	207,5

### D. CD336 nos LT

Não se observou expressão de CD336 nos LT (Figura 1).

#### 4.3.1.2 CD337 (NCR3)

##### A. CD337 nas CNK

Observou-se expressão de CD337 numa fracção variável de CNK ( $66,2 \pm 16,0\%$ ) de todos os indivíduos estudados, sendo a intensidade de expressão de CD337 relativamente fraca (IMF =  $66,2 \pm 16,0$ ) e heterogénea (CV =  $70,4 \pm 15,5$ ) (Figura 1 e Tabela 12).

**Tabela 12.** Expressão de CD337 nas CNK avaliada pela % de CNK CD337<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD337 nas CNK CD337<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK TOTAIS		
	% CNK CD337 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD337 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD337 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	69,6	40,6	73,0
<b>MÉDIA</b>	66,2	41,8	74,2
<b>± DP</b>	± 16,0	± 9,8	± 5,5
<b>MÍNIMO</b>	19,3	19,7	64,9
<b>MÁXIMO</b>	92,6	70,7	87,4

Quer as CNK CD56<sup>+</sup> quer as CD56<sup>++</sup> expressavam CD337, sendo a % de células CD337<sup>+</sup> superior e a expressão de CD337 mais forte e mais homogénea nas CNK CD56<sup>++</sup> (p <0,001 nos três casos) (Figura 1 e Tabela 13).

**Tabela 13.** Expressão de CD337 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD337<sup>+</sup> e pela IMF de expressão de CD337 nas CNK CD337<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

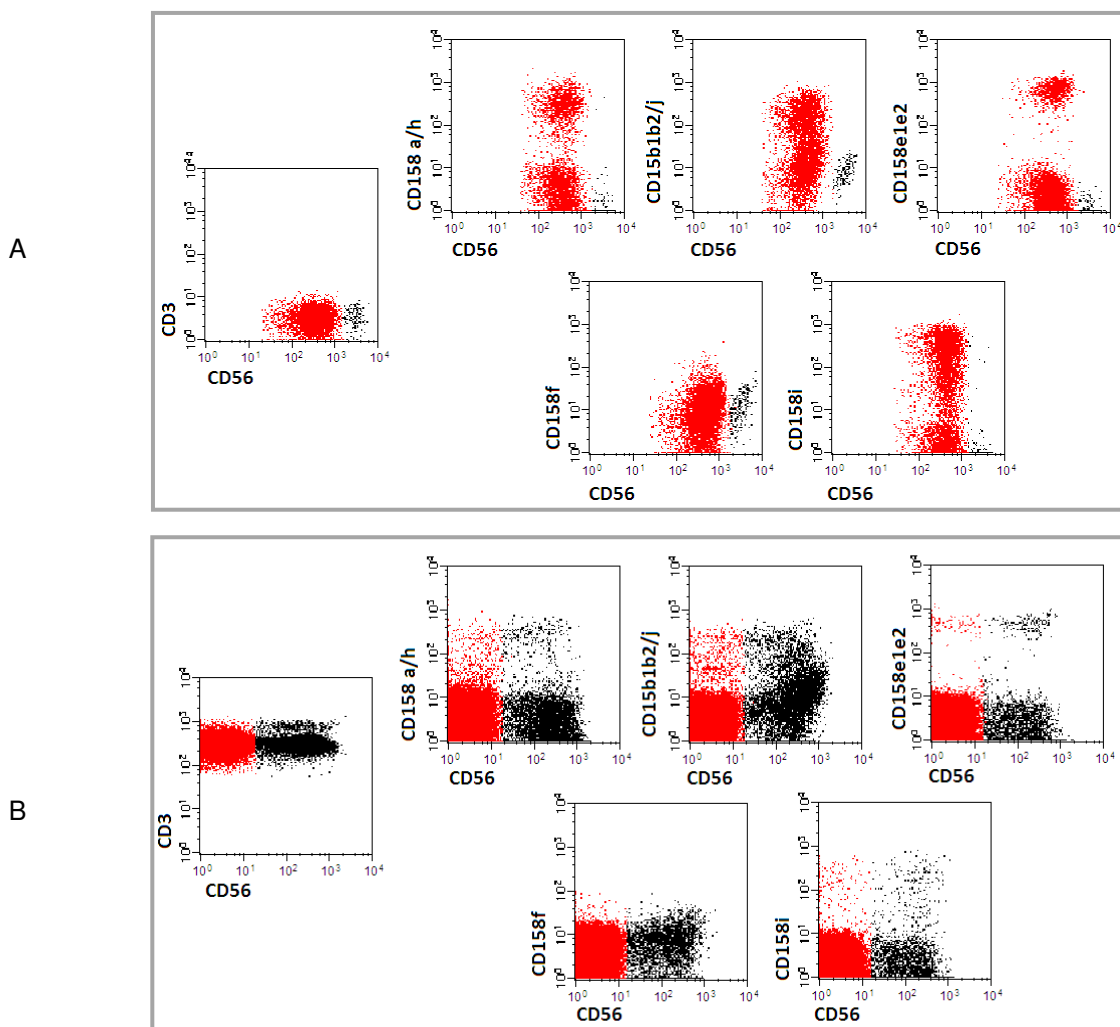
	CNK CD56 <sup>+</sup>			CNK CD56 <sup>++</sup>		
	% CNK CD337 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD337 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD337 <sup>+</sup>	% CNK CD337 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD337 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD337 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	73,6	36,8	76,4	96,2	48,1	66,2
<b>MÉDIA</b>	70,4	38,8	77,1	86,5	58,1	64,9
<b>± DP</b>	± 17,8	± 9,4	± 7,5	± 19,0	± 26,5	± 16,3
<b>MÍNIMO</b>	5,4	27,9	59,3	12,8	22,1	24,4
<b>MÁXIMO</b>	94,5	68,6	96,0	100,0	130,3	102,0

##### B. CD337 nos LT

Não se observou expressão de CD337 nos LT (Figura 1).

### 4.3.2 RECEPTORES KILLER SEMELHANTES ÀS IMUNOGLOBULINAS (KIR)

Procedemos ao estudo da maioria dos KIR (CD158a/h, CD158b1b2/j, CD158e1/e2, CD158f, CD158i, CD160) nas CNK e nos LT, tal como ilustrado com um exemplo típico na Figura 2.



**Figura 2.** Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão dos diferentes KIR nas CNK (Painel A) CD56<sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56<sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>+</sup> (cor preta).

#### 4.3.2.1 CD158a/h

##### **A. CD158a/h nas CNK**

Observou-se expressão de CD158a/h numa fracção muito variável das CNK ( $25,4 \pm 14,3\%$ ) de todos os indivíduos estudados (Figura 2 e Tabela 14).

A intensidade de expressão de CD158a/h era variável, de moderada a forte (IMF =  $972,9 \pm 343,4$ ), e heterogénea (CV =  $70,4 \pm 15,5$ ).

**Tabela 14.** Expressão de CD158a/h nas CNK avaliada pela % de CNK CD158a/h<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158a/h nas CNK CD158a/h<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	%CNK CD158a/h <sup>+</sup>	CNK TOTAIS	
		IMF DAS CNK CD158a/h <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD158a/h <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	24,5	963,7	69,3
<b>MÉDIA</b>	25,4	972,9	72,2
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	14,3	343,4	25,2
<b>MÍNIMO</b>	2,3	235,7	36,6
<b>MÁXIMO</b>	75,1	1611,8	171,9

Em alguns casos foram observadas duas populações de CNK CD158a/h<sup>+</sup> com intensidades distintas de expressão de CD158a/h (moderada e forte); noutros casos existia apenas uma população (expressão moderada ou expressão forte).

A expressão de CD158a/h estava limitada às CNK CD56<sup>+</sup>, não tendo sido observada expressão deste receptor nas CNK CD56<sup>++</sup> (Figura 2 e Tabela 15).

**Tabela 15.** Expressão de CD158a/h nas CNK CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de CNK CD158a/h<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158a/h nas CNK CD158a/h<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	%CNK CD158a/h <sup>+</sup>	CNK CD56 <sup>+</sup>	
		IMF DAS CNK CD158a/h <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD158a/h <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	26,3	941,1	70,3
<b>MÉDIA</b>	26,8	931,9	75,4
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	14,2	335,5	25,5
<b>MÍNIMO</b>	4,7	249,2	37,6
<b>MÁXIMO</b>	75,4	1584,4	172,2

## B. CD158a/h nos LT

Observou-se expressão de CD158a/h numa fracção muito pequena de LT ( $2,0 \pm 1,7\%$ ) em todos os indivíduos estudados, sendo a % de LT CD158a/h<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 2 e Tabela 16).

**Tabela 16.** Expressão de CD158a/h nos LT avaliada pela % de LT CD158a/h<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158a/h nos LT CD158a/h<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

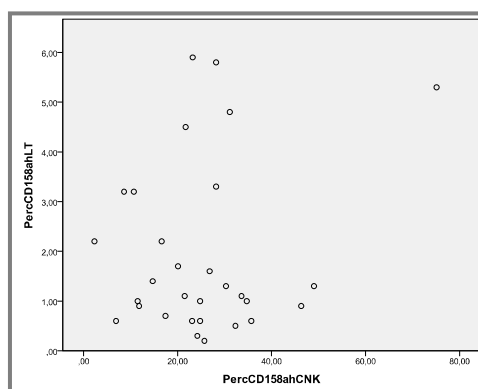
	LT totais		
	%LT CD158a/h <sup>+</sup>	IMF dos LT CD158a/h <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD158a/h <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	1,2	565,0	110,4
<b>MÉDIA</b>	2,0	589,3	121,5
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	1,7	355,5	52,6
<b>MÍNIMO</b>	0,2	102,5	39,6
<b>MÁXIMO</b>	5,9	1351,7	228,9

Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD158a/h, mas a % de células CD158a<sup>+</sup> nos LT CD56<sup>-</sup> era residual e significativamente inferior à observada nos LT CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ) (Tabela 17).

**Tabela 17.** Expressão de CD158a/h nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD158a/h<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158a/h nos LT CD158a/h<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD158a/h <sup>+</sup>	IMF dos LT CD158a/h <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD158a/h <sup>+</sup>	% LT CD158a/h <sup>+</sup>	IMF dos LT CD158a/h <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD158a/h <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	0,0	571,1	98,8	4,4	652,8	73,4
<b>MÉDIA</b>	0,5	651,5	109,4	9,3	696,6	84,8
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	0,9	393,4	52,2	10,0	365,1	42,1
<b>MÍNIMO</b>	0,0	133,7	38,5	1,7	126,1	28,5
<b>MÁXIMO</b>	3,8	1619,5	226,3	39,4	1443,0	184,8

Não foi observada correlação entre a % de CNK CD158a/h<sup>+</sup> e a % de LT CD158a/h<sup>+</sup> ( $r = -0,041$ ;  $p > 0,05$ ) (Gráfico 1).



**Gráfico 1.** Relação entre a expressão de C158a/h nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD158a/h<sup>+</sup>.

#### 4.3.2.2 CD158b1b2/j

##### A. CD158b1b2/j nas CNK

Observou-se expressão de CD158b1b2/j numa fracção variável das CNK ( $36,7 \pm 14,1\%$ ) de todos os indivíduos estudados (Figura 2 e Tabela 18).

A intensidade de expressão de CD158b1b2/j era moderada ( $IMF = 137,6 \pm 44,6$ ) e relativamente heterogénea ( $CV = 69,4 \pm 13,5$ ).

**Tabela 18.** Expressão de CD158b1b2/j nas CNK avaliada pela % de CNK CD158b1b2/j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158b1b2/j nas CNK CD158b1b2/j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK totais		
	%CNK CD158b1b2/j <sup>+</sup>	IMF das CNK CD158b1b2/j <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD158b1b2/j <sup>+</sup>
MEDIANA	34,2	139,7	66,3
MÉDIA	36,7	137,6	69,4
±	±	±	±
DP	14,1	44,6	13,5
MÍNIMO	13,0	53,3	49,7
MÁXIMO	68,5	228,3	98,3

Apenas as CNK CD56<sup>+</sup> expressavam CD158b1b2/j, não tendo sido observada expressão deste receptor nas CNK CD56<sup>++</sup> (Figura 2 e Tabela 19).

**Tabela 19.** Expressão de CD158b1b2/j nas CNK CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de CNK CD158b1b2/j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158b1b2/j nas CNK CD158b1b2/j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>		
	%CNK CD158b1b2/j <sup>+</sup>	IMF das CNK CD158b1b2/j <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD158b1b2/j <sup>+</sup>
MEDIANA	30,9	310,7	196,7
MÉDIA	34,5	298,5	241,3
±	±	±	±
DP	14,6	172,2	148,7
MÍNIMO	15,7	17,1	131,8
MÁXIMO	73,6	140,6	853,4

##### B. CD158b1b2/j nos LT

Observou-se expressão de CD158b1b2/j numa fracção muito pequena de LT (0,5 a 7,1%) de todos os indivíduos estudados, sendo a % de LT CD158b1b2/j<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 2 e Tabela 20).

**Tabela 20.** Expressão de CD158b1b2/j nos LT avaliada pela % de LT CD158b1b2/j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158b1b2/j nos LT CD158b1b2/j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

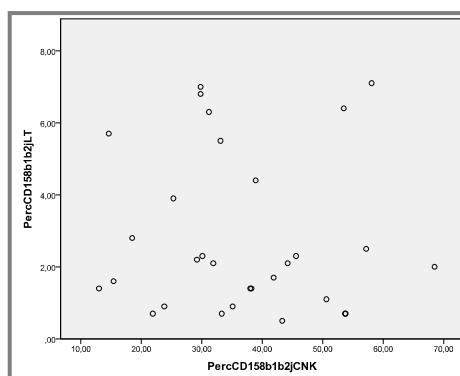
	LT TOTAIS		
	%LT CD158b1b2/j <sup>+</sup>	IMF dos LT CD158b1b2/j <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD158b1b2/j <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	2,1	133,3	61,0
<b>MÉDIA</b>	2,8	133,7	63,4
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	2,2	38,4	14,8
<b>MÍNIMO</b>	0,5	72,8	35,0
<b>MÁXIMO</b>	7,1	223,4	89,0

Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD158b1b2/j, mas nos LT CD56<sup>-</sup> a % de células CD158b1b2/j<sup>+</sup> era residual e significativamente inferior à observada nos LT CD56<sup>+</sup> (p <0,001) (Figura 2 e Tabela 21).

**Tabela 21.** Expressão de CD158b1b2/j nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD158b1b2/j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158b1b2/j nos LT CD158b1b2/j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD158 b1b2/j <sup>+</sup>	IMF dos LT CD158 b1b2/j <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD158 b1b2/j <sup>+</sup>	% LT CD158 b1b2/j <sup>+</sup>	IMF dos LT CD158 b1b2/j <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD158 b1b2/j <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	0,5	112,6	69,9	14,9	138,5	59,5
<b>MÉDIA</b>	1,0	111,0	68,9	16,2	138,5	61,6
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	1,5	27,5	22,0	11,0	43,9	12,7
<b>MÍNIMO</b>	0,0	71,7	33,6	2,5	74,9	36,7
<b>MÁXIMO</b>	5,2	179,0	139,1	59,3	268,5	91,2

Não foi observada correlação entre a % de CNK CD158b1b2/j<sup>+</sup> e a % de LT CD158b1b2/j<sup>+</sup> (r=-0,086; p> 0,05) (Gráfico 2).



**Gráfico 2.** Relação entre a expressão de CD158b1b2/j nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD158b1b2/j<sup>+</sup>.

### 4.3.2.3 CD158e1/e2

#### **A. CD158e1/e2 nas CNK**

Observou-se expressão de CD158e1/e2 nas CNK em 25 dos 30 indivíduos estudados.

Nos restantes 5 casos, as CNK não expressavam CD158e1/e2.

Nos 25 indivíduos que apresentavam expressão de CD158e1/e2, constatamos que esta se observava numa fracção variável das CNK ( $16,2 \pm 8,4\%$ ) (Figura 2 e Tabela 22).

A intensidade de expressão de CD158e1/e2 era muito variável, de fraca a moderada (IMF=  $411,0 \pm 231,0$ ) e relativamente heterogénea (CV =  $45,3 \pm 10,9$ ), devido à presença de diferentes populações com intensidades distintas de expressão de CD158e1/e2 em alguns casos.

**Tabela 22.** Expressão de CD158e1/e2 nas CNK avaliada pela % de CNK CD158e1/e2<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158e1/e2 nas CNK CD158e1/e2<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \*

	%CNK CD158e1/e2 <sup>+</sup>	CNK TOTAIS	
		IMF DAS CNK CD158e1/e2 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD158e1/e2 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	15,1	414,7	40,5
<b>MÉDIA</b>	16,2	420,9	45,3
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	8,4	230,1	10,9
<b>MÍNIMO</b>	3,2	75,4	28,4
<b>MÁXIMO</b>	37,7	874,7	70,3

\* Os resultados apresentados referem-se apenas aos 25 casos com expressão de CD158e1/e2.

Em 21 dos 25 casos em que foi observada expressão de CD158e1/e2 constatou-se a existência de apenas 1 população de CNK CD158e1/e2<sup>+</sup>. Em 9 destes 21 casos as CNK expressavam CD158e1/e2 com intensidade fraca, enquanto que nos outros 12 casos as CNK expressavam CD158e1/e2 com intensidade forte. Nos restantes 4 casos foram observadas duas populações de CNK CD158e1/e2<sup>+</sup> com intensidades distintas de expressão de CD158e1/e2 (fraca e forte).

A expressão de CD158e1/e2 estava limitada às CNK CD56<sup>+</sup>, não tendo sido observada expressão deste receptor nas CNK CD56<sup>++</sup> (Figura 2 e Tabela 23).

**Tabela 23.** Expressão de CD158e1/e2 nas CNK CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de CNK CD158e1/e2<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158e1/e2 nas CNK CD158e1/e2<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \*

	CNK CD56 <sup>+</sup>		
	%CNK CD158e1/e2 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD158e1/e2 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD158e1/e2 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	15,3	411,6	42,1
<b>MÉDIA</b>	16,9	420,9	45,9
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	8,8	229,7	11,1
<b>MÍNIMO</b>	3,4	75,0	27,7
<b>MÁXIMO</b>	39,7	876,7	71,2

\* Os resultados apresentados referem-se apenas aos 25 casos com expressão de CD158e1/e2.

### B. CD158e1/e2 nos LT

De forma semelhante ao referido para as CNK, observou-se expressão de CD158e1/e2 nos LT em 25 dos 30 indivíduos estudados. Nestes 25 casos, constatamos que a expressão de CD158e1/e2 ocorria numa fracção muito pequena dos LT ( $1,4 \pm 2,1\%$ ), sendo a % de LT CD158e1/e2<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 2 e Tabela 24). Nos restantes 5 casos, os LT não expressavam CD158e1/e2. Estes correspondiam aos casos que não apresentavam expressão de CD158e1/e2 nas CNK.

**Tabela 24.** Expressão de CD158e1/e2 nos LT avaliada pela % de LT CD158e1/e2<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158e1/e2 nos LT CD158e1/e2<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \*

	LT TOTAIS		
	%LT CD158e1/e2 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD158e1/e2 <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD158e1/e2 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	0,5	264,1	46,6
<b>MÉDIA</b>	1,4	253,2	54,0
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	2,1	126,7	27,3
<b>MÍNIMO</b>	0,1	62,3	27,3
<b>MÁXIMO</b>	8,5	485,1	161,8

\* Os resultados apresentados referem-se apenas aos 25 casos com expressão de CD158e1/e2.

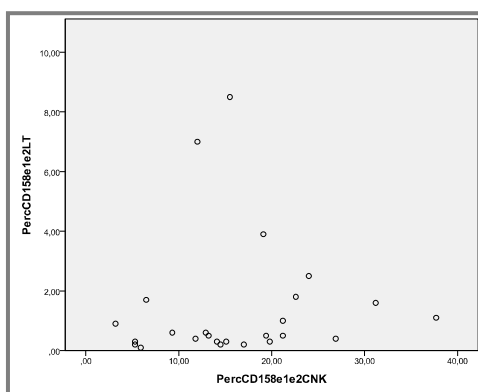
Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD158e1/e2, mas nos LT CD56<sup>-</sup> a % de células CD158e1/e2<sup>+</sup> era residual e significativamente inferior à observada nos LT CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ) (Tabela 25).

**Tabela 25.** Expressão de CD158e1/e2 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD158e1/e2<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158e1/e2 nos LT CD158e1/e2<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \*

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD158 e1/e2 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD158 e1/e2 <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD158 e1/e2 <sup>+</sup>	% LT CD158 e1/e2 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD158 e1/e2 <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD158 e1/e2 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	0,0	268,7	49,8	4,6	263,3	46,5
<b>MÉDIA ± DP</b>	0,3 ± 0,9	256,1 ± 142,5	55,5 ± 26,8	8,3 ± 11,1	279,1 ± 149,8	49,7 ± 17,4
<b>MÍNIMO</b>	0,0	53,4	30,2	0,0	57,3	23,7
<b>MÁXIMO</b>	3,5	638,5	160,3	55,3	571,1	90,5

\* Os resultados apresentados referem-se apenas aos 25 casos com expressão de CD158e1/e2.

Nos casos em que foi detectada expressão de CD158e1/e2, não foi observada correlação entre a % de CNK CD158e1/e2<sup>+</sup> e a % de LT CD158e1/e2<sup>+</sup> ( $r=0,303$ ;  $p> 0,05$ ) (Gráfico 3).



**Gráfico 3.** Relação entre a expressão de CD158e1/e2 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD158e1/e2<sup>+</sup>\*

\* Os resultados apresentados referem-se apenas aos 25 casos com expressão de CD158e1/e2.

#### **4.3.2.4 CD158i**

##### **A. CD158i nas CNK**

Observou-se expressão de CD158i nas CNK em apenas 12 dos 30 indivíduos estudados. Nos restantes 18 casos, as CNK não expressavam CD158i e estes correspondiam aos casos em que também não foi observada expressão de CD158i nos LT.

Nos 12 indivíduos que apresentavam expressão de CD158i, constatamos que esta expressão se observava numa fracção variável das CNK ( $48,5 \pm 13,3\%$ ) (Figura 2 e Tabela 26).

A intensidade de expressão de CD158i era moderada ( $IMF = 281,5 \pm 95,6$ ) e heterogénea ( $CV = 70,5 \pm 12,3$ ), adivinhando-se a presença de pelo menos duas populações com intensidades distintas que eram difíceis de individualizar.

**Tabela 26.** Expressão de CD158i nas CNK avaliada pela % de CNK CD158i<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158i nas CNK CD158i<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \*

	CNK TOTAIS		
	%CNK CD158i <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD158i <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD158i <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	50,8	293,0	68,4
<b>MÉDIA</b>	48,5	281,5	69,1
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	13,3	95,6	11,6
<b>MÍNIMO</b>	24,3	160,9	46,5
<b>MÁXIMO</b>	74,2	459,2	88,7

\* Os resultados referem-se apenas aos 12 casos com expressão de CD158i nas CNK.

A expressão de CD158i estava limitada às CNK CD56<sup>+</sup>, não tendo sido observada expressão deste receptor nas CNK CD56<sup>++</sup> (Figura 2 e Tabela 27).

**Tabela 27.** Expressão de CD158i nas CNK CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de CNK CD158i<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158i nas CNK CD158i<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \*

	CNK CD56 <sup>+</sup>		
	%CNK CD158i <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD158i <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD158i <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	49,9	283,5	68,8
<b>MÉDIA</b>	49,7	257,7	70,7
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	13,4	117,1	11,5
<b>MÍNIMO</b>	25,9	17,4	47,6
<b>MÁXIMO</b>	75,5	448,3	88,0

\* Os resultados referem-se apenas aos 12 casos com expressão de CD158e1/e2 nas CNK

## B. CD158i nos LT

Tal como referido para as CNK, observou-se expressão de CD158i nos LT em apenas 12 dos 30 indivíduos estudados.

Nestes 12 casos, constatamos que esta se observava numa fracção muito pequena dos LT ( $2,3 \pm 2,2\%$ ) sendo a % de LT CD158i<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 2 e Tabela 28).

Nos restantes 18 casos, os LT não expressavam CD158i. Estes correspondiam aos casos que não apresentavam expressão de CD158i nas CNK.

**Tabela 28.** Expressão de CD158i nos LT avaliada pela % de LT CD158i<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158i nos LT CD158i<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \*

	LT TOTAIS		
	%LT CD158i <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD158i <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD158i <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	1,6	124,2	87,5
<b>MÉDIA</b>	2,3	148,4	85,4
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	2,2	82,5	17,2
<b>MÍNIMO</b>	0,1	42,3	59,0
<b>MÁXIMO</b>	7,8	332,6	116,2

\* Os resultados referem-se apenas aos 12 casos com expressão de CD158i.

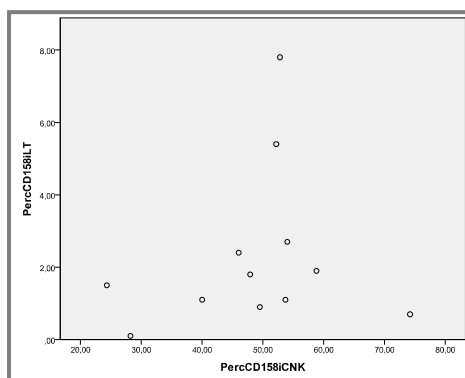
Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD158i, mas nos LT CD56<sup>-</sup> a % de células CD158i<sup>+</sup> era residual e significativamente inferior à observada nos LT CD56<sup>+</sup> (p<0,001) (Tabela29).

**Tabela 29.** Expressão de CD158i nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD158i<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158i nos LT CD158i<sup>+</sup> e pelo respectivo CV. \*

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD158i <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD158i <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD158i <sup>+</sup>	% LT CD158i <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD158i <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD158i <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	0,0	103,2	83,9	13,1	138,2	103,6
<b>MÉDIA</b>	0,5	128,3	82,9	14,4	140,4	136,5
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	0,6	60,8	20,5	7,6	56,3	117,3
<b>MÍNIMO</b>	0,0	60,7	44,2	3,2	73,5	57,5
<b>MÁXIMO</b>	1,4	255,8	124,7	25,6	256,4	495,0

\* Os resultados referem-se apenas aos 12 casos com expressão de CD158i.

Nos casos em que foi detectada expressão de CD158i, não foi observada correlação entre a % de CNK CD158i<sup>+</sup> e a % de LT CD158i<sup>+</sup> (r=0,203; p> 0,05) (Gráfico 4).

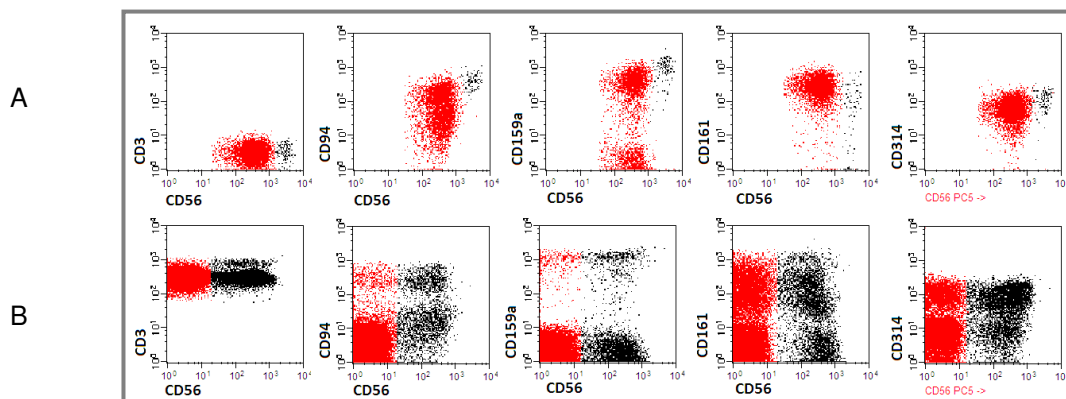


**Gráfico 4.** Relação entre a expressão de CD158i nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD158i<sup>+</sup>. \*

\* Os resultados apresentados referem-se apenas aos 12 casos com expressão de CD158i.

### 4.3.3 RECEPTORES KILLER DO TIPO DAS LECTINAS (KLR)

Procedemos ao estudo dos KLR mais relevantes (CD94/CD159a, CD161 e CD314) nas CNK e nos LT, tal como ilustrado com um exemplo típico na Figura 3.



**Figura 3.** Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão dos diferentes KLR nas CNK (Painel A) CD56<sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56<sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>+</sup> (cor preta).

#### 4.3.3.1 CD94

##### A. CD94 nas CNK

Observou-se expressão de CD94 na maioria das CNK (75,9 ± 13,8%) de todos os indivíduos estudados (Figura 3 e Tabela 30), sendo a intensidade de expressão de CD94 fraca a moderada (IMF = 123,1 ± 29,5) e bastante heterogénea (CV = 99,7 ± 17,4).

**Tabela 30.** Expressão de CD94 nas CNK avaliada pela % de CNK CD94<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD94 nas CNK CD94<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK TOTAIS		
	%CNK CD94 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD94 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD94 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	79,9	128,7	96,8
<b>MÉDIA</b>	75,9	123,1	99,7
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	13,8	29,3	17,4
<b>MÍNIMO</b>	42,5	56,9	67,5
<b>MÁXIMO</b>	89,8	178,7	133,2

Observamos que, quer as CNK CD56<sup>+</sup>, quer as CNK CD56<sup>++</sup> expressavam CD94, mas ao contrário das CNK CD56<sup>+</sup>, em que a % de CNK CD94<sup>+</sup> era variável, praticamente todas as CNK CD56<sup>++</sup> expressavam CD94, com uma intensidade de expressão mais forte e uma expressão mais homogénea (p <0,001 nos três casos) (Figura 3 e Tabela 31).

**Tabela 31.** Expressão de CD94 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD94<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD94 nas CNK CD94<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>			CNK CD56 <sup>++</sup>		
	% CNK CD94 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD94 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD94 <sup>+</sup>	% CNK CD94 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD94 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD94 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	77,6	110,5	89,1	100,0	336,9	53,0
<b>MÉDIA</b>	73,0	111,6	92,3	98,1	336,7	54,6
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	16,1	35,6	18,0	5,7	75,1	8,9
<b>MÍNIMO</b>	29,5	47,7	51,3	74,8	156,9	41,9
<b>MÁXIMO</b>	88,7	221,6	126,1	100,0	485,4	75,9

### B. CD94 nos LT

Tal como aconteceu nas CNK, observou-se expressão de CD94 nos LT de todos os indivíduos estudados, embora numa fracção pequena das células ( $6,3 \pm 7,1\%$ ), sendo a % de LT CD94<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 3 e Tabela 32).

**Tabela 32.** Expressão de CD94 nos LT avaliada pela % de LT CD94<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de expressão de CD94 nos LT CD94<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

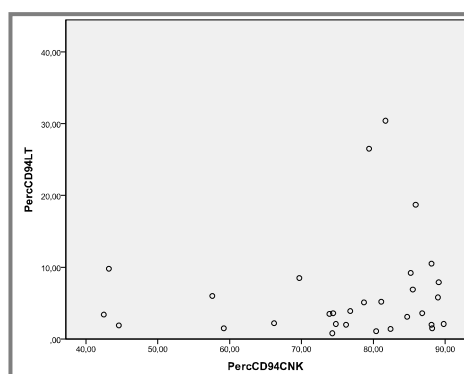
	LT TOTAIS		
	%LT CD94 <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD94 <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD94 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	3,6	270,9	53,7
<b>MÉDIA</b>	6,3	278,8	55,0
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	7,1	67,3	7,8
<b>MÍNIMO</b>	0,8	159,9	36,9
<b>MÁXIMO</b>	30,4	467,7	77,6

Quer os LT CD56<sup>-</sup>, quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD94, mas a % de células CD94<sup>+</sup> era significativamente superior nos LT CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ) (Tabela 33).

**Tabela 33.** Expressão de CD94 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD94<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD94 nos LT CD94<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD94 <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD94 <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD94 <sup>+</sup>	% LT CD94 <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD94 <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD94 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	2,2	261,9	58,8	32,2	224,0	55,5
<b>MÉDIA</b>	3,3	275,1	59,9	35,6	244,0	57,6
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	2,9	68,2	10,8	24,6	63,3	10,6
<b>MÍNIMO</b>	0,0	145,9	34,8	4,0	142,8	37,9
<b>MÁXIMO</b>	11,2	468,8	88,4	91,9	383,6	84,1

Não foi observada correlação entre a % de CNK CD94<sup>+</sup> e a % de LT CD94<sup>+</sup> ( $r=0,145$ ;  $p> 0,05$ ) (Gráfico 5).



**Gráfico 5.** Relação entre a expressão de CD94 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD94<sup>+</sup>.

#### **4.3.3.2 CD159a**

##### **A. CD159a nas CNK**

Observou-se expressão de CD159a numa fracção muito variável ( $43,5 \pm 16,3\%$ ) das CNK de todos os indivíduos estudados), sendo a intensidade de expressão de CD159 moderada a forte (IMF =  $458,5 \pm 112,2$ ), embora heterogénea ( $CV = 86,2 \pm 11,4$ ) (Figura 3 e Tabela 34).

**Tabela 34.** Expressão de CD159a nas CNK avaliada pela % de CNK CD159a<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD159a nas CNK CD159a<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

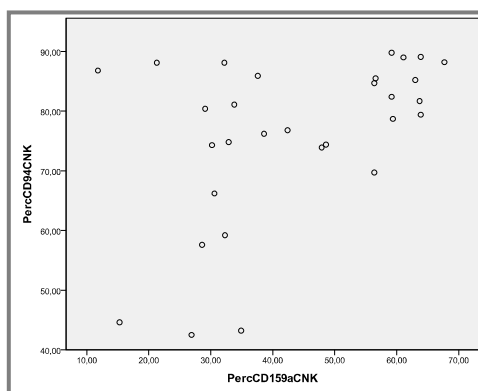
	CNK TOTAIS		
	%CNK CD159a <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD159a <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD159a <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	40,5	433,1	82,9
<b>MÉDIA</b>	43,5	458,5	86,2
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	16,3	112,2	11,4
<b>MÍNIMO</b>	11,8	301,1	62,8
<b>MÁXIMO</b>	67,7	809,5	114,3

Tal como no caso do CD94, quer as CNK CD56<sup>+</sup>, quer as CNK CD56<sup>++</sup> expressavam CD159a, sendo a expressão de CD159a mais forte e homogénea nas CNK CD56<sup>++</sup>, que expressavam esta molécula na quase totalidade das células ( $p < 0,001$ ) (Figura 3 e Tabela 35).

**Tabela 35.** Expressão de CD159a nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD159a<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD159a nas CNK CD159a<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>			CNK CD56 <sup>++</sup>		
	% CNK CD159a <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD159a <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD159a <sup>+</sup>	% CNK CD159a <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD159a <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD159a <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	35,7	390,0	82,4	100,0	956,1	57,4
<b>MÉDIA</b>	40,4	392,1	82,9	98,0	918,5	57,6
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	16,6	88,6	12,5	4,1	215,4	8,1
<b>MÍNIMO</b>	11,4	252,5	56,3	83,0	485,1	40,5
<b>MÁXIMO</b>	67,1	621,8	117,9	100,0	1293,0	72,9

Foi observada correlação positiva moderada entre a % de CNK CD94<sup>+</sup> e a % de CNK CD159a<sup>+</sup> (r=0,449; p <0,05) (Gráfico 6).



**Gráfico 6.** Relação entre a expressão de CD94 e a expressão de CD159a nas CNK, avaliada pela % de células<sup>+</sup>.

### B. CD159a nos LT

Tal como aconteceu para o CD94, observou-se expressão de CD159a nos LT de todos os indivíduos estudados, embora numa fracção pequena das células (5,8 ± 6,8%), sendo a % de LT CD159a<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK (p <0,001) (Figura 3 e Tabela 36).

**Tabela 36.** Expressão de CD159a nos LT avaliada pela % de LT CD159a<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD159a nos LT CD159a<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

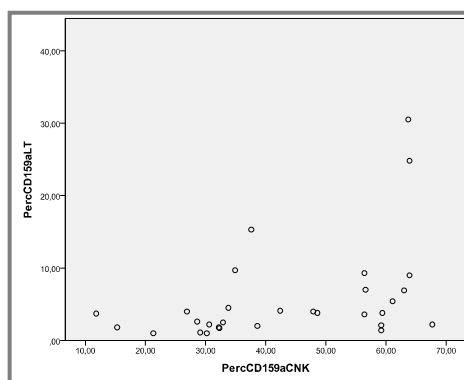
	LT TOTAIS		
	%LT CD159a <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD159a <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD159a <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	3,7	706,3	64,7
<b>MÉDIA</b>	5,8	737,2	64,9
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	6,8	198,0	11,0
<b>MÍNIMO</b>	1,0	435,4	37,9
<b>MÁXIMO</b>	30,5	1255,6	80,2

Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD159a, mas a % de células CD159a<sup>+</sup> era significativamente superior nos LT CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ) (Tabela 37).

**Tabela 37.** Expressão de CD159a nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD159a<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD159a nos LT CD159a<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

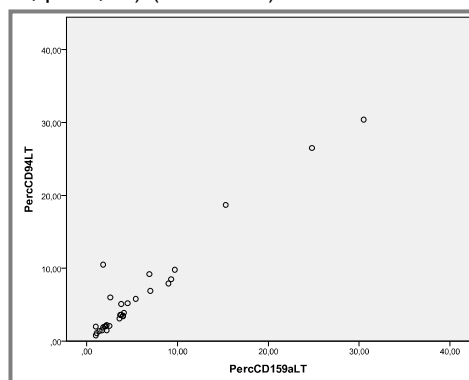
	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD159a <sup>+</sup>	IMF dos LT CD159a <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD159a <sup>+</sup>	% LT CD159a <sup>+</sup>	IMF dos LT CD159a <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD159a <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	2,0	743,7	65,9	22,8	675,3	63,7
<b>MÉDIA</b>	2,9	756,1	66,7	27,6	700,0	66,8
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	2,4	223,2	11,5	21,8	226,2	17,1
<b>MÍNIMO</b>	0,0	439,9	35,2	1,0	367,3	38,6
<b>MÁXIMO</b>	9,2	1468,4	100,3	81,6	1468,4	100,3

Ao contrário do que aconteceu com os outros KR, foi observada correlação positiva entre a % de CNK CD159a<sup>+</sup> e a % de LT CD159a<sup>+</sup> ( $r=0,511$ ;  $p < 0,05$ ) (Gráfico 7).



**Gráfico 7.** Relação entre a expressão de CD159a nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD159a<sup>+</sup>.

Tal como aconteceu nas CNK, foi observada correlação positiva forte entre a % de LT CD94<sup>+</sup> e a % de LT CD159a<sup>+</sup> ( $r=0,853$ ;  $p < 0,01$ ) (Gráfico 8).



**Gráfico 8.** Relação entre a expressão de CD94 e a expressão de CD159a nos LT, avaliada pela % de células<sup>+</sup>.

### 4.3.3.3 CD161

#### **A. CD161 nas CNK**

Observou-se expressão de CD161 na maioria ( $85,4 \pm 11,9\%$ ) das CNK de todos os indivíduos estudados, sendo a intensidade de expressão de CD161 moderada a forte ( $IMF = 203,4 \pm 52,1$ ), embora heterogênea ( $CV = 73,8 \pm 9,2$ ) (Figura 3 e Tabela 38).

**Tabela 38.** Expressão de CD161 nas CNK avaliada pela % de CNK CD161<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD161 nas CNK CD161<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK TOTAIS		
	%CNK CD161 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD161 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD161 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	89,5	195,5	71,9
<b>MÉDIA</b>	85,4	203,4	73,8
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	11,9	52,1	9,2
<b>MÍNIMO</b>	51,7	117,0	55,6
<b>MÁXIMO</b>	98,7	320,8	90,5

Observamos ainda que a % de CNK CD56<sup>+</sup> que expressava CD161 era superior à % de CNK CD56<sup>++</sup> que expressava esta molécula e que a intensidade de expressão de CD161 era superior nas CNK CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$  nos dois casos) (Figura 3 e Tabela 39).

**Tabela 39.** Expressão de CD161 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD161<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD161 nas CNK CD161<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>			CNK CD56 <sup>++</sup>		
	% CNK CD161 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD161 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD161 <sup>+</sup>	% CNK CD161 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD161 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD161 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	91,0	196,7	70,3	62,7	151,5	88,4
<b>MÉDIA</b>	85,5	206,2	74,9	62,1	154,7	89,3
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	13,2	55,5	14,7	13,1	30,4	11,3
<b>MÍNIMO</b>	51,0	114,3	56,9	38,7	96,2	68,0
<b>MÁXIMO</b>	98,4	332,8	125,7	89,2	211,5	117,0

#### **B. CD161 nos LT**

Tal como aconteceu nas CNK, observou-se expressão de CD161 nos LT de todos os indivíduos estudados, embora numa fracção mais pequena das células ( $5,8 \pm 6,8\%$ ), sendo a % de LT CD161<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 3 e Tabela 40).

**Tabela 40.** Expressão de CD161 nos LT avaliada pela % de LT CD161<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD161 nos LT CD161<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

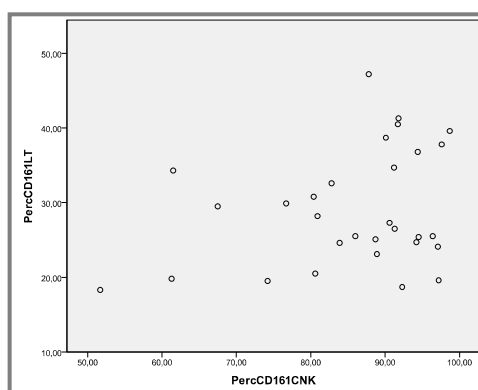
	LT TOTAIS		
	%LT CD161 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD161 <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD161 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	29,6	277,2	109,4
<b>MÉDIA</b>	29,0	287,5	112,5
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	7,8	75,2	11,9
<b>MÍNIMO</b>	18,3	174,6	96,3
<b>MÁXIMO</b>	47,2	477,8	138,4

Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD161, mas a percentagem de células CD161<sup>+</sup> era significativamente superior nos LT CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ) (Figura 3 e Tabela 41).

**Tabela 41.** Expressão de CD161 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD161<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD161 nos LT e pelo respectivo CV.

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD161 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD161 <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD161 <sup>+</sup>	% LT CD161 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD161 <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD161 <sup>+</sup>
<b>Mediana</b>	24,8	266,1	107,5	48,1	424,5	106,8
<b>Média</b>	27,6	263,0	109,2	48,5	477,5	109,0
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	7,4	57,7	11,9	19,3	218,9	25,7
<b>Mínimo</b>	16,1	163,1	94,6	5,3	170,7	59,6
<b>Máximo</b>	45,0	401,8	139,9	82,3	942,4	164,7

Não foi observada correlação entre a % de CNK CD161<sup>+</sup> e a % de LT CD161<sup>+</sup> ( $r=0,201$ ;  $p > 0,05$ ) (Gráfico 9).



**Gráfico 9.** Relação entre a expressão de CD161 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD161<sup>+</sup>.

#### 4.3.3.4 CD314

##### A. CD314 nas CNK

Observou-se expressão de CD314 na maioria ( $91,5 \pm 6,0\%$ ) das CNK de todos os indivíduos estudados, sendo a intensidade de expressão de CD314 relativamente fraca ( $IMF = 59,7 \pm 11,0$ ) e heterogénea ( $CV = 68,3 \pm 4,4$ ) (Figura 3 e Tabela 42).

**Tabela 42.** Expressão de CD314 nas CNK avaliada pela % de CNK CD314<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD314 nas CNK CD314<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK totais		
	%CNK CD314 <sup>+</sup>	IMF das CNK CD314 <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD314 <sup>+</sup>
<b>Mediana</b>	93,0	59,1	68,5
<b>Média</b>	91,5	59,7	68,3
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	6,0	11,0	4,4
<b>Mínimo</b>	68,3	39,3	60,3
<b>Máximo</b>	97,5	91,4	77,7

A % de CNK CD56<sup>+</sup> que expressava CD314 não diferia significativamente da % de CNK CD56<sup>++</sup> que expressava CD314 ( $p > 0,05$ ), mas a expressão de CD314 era mais forte e mais homogénea nas CNK CD56<sup>++</sup> do que nas CNK CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$  nos dois casos) (Figura 3 e Tabela 43).

**Tabela 43.** Expressão de CD314 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD314<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD314 nas CNK CD314<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>			CNK CD56 <sup>++</sup>		
	% CNK CD314 <sup>+</sup>	IMF das CNK CD314 <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD314 <sup>+</sup>	% CNK CD314 <sup>+</sup>	IMF das CNK CD314 <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD314 <sup>+</sup>
<b>Mediana</b>	91,4	59,3	66,2	92,5	91,7	57,4
<b>Média</b>	91,8	58,0	70,0	87,1	93,9	59,1
<b>±</b>	±	±	±	±	±	8,2
<b>DP</b>	4,2	10,7	19,5	14,4	25,6	
<b>Mínimo</b>	82,4	34,0	59,9	42,3	43,3	46,5
<b>Máximo</b>	98,3	86,0	170,6	100,0	148,7	79,4

##### B. CD314 nos LT

Tal como aconteceu nas CNK, observou-se expressão de CD314 nos LT de todos os indivíduos estudados, embora numa fracção mais pequena das células ( $37,0 \pm 10,0\%$ ), sendo a

% de LT CD314<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 3 e Tabela 44).

**Tabela 44.** Expressão de CD314 nos LT avaliada pela % de LT CD314<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD314 nos LT CD314<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

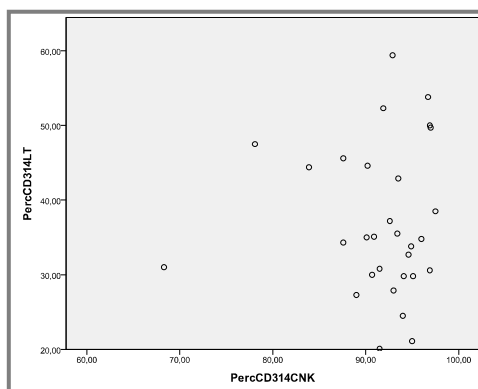
	LT TOTAIS		
	%LT CD314 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD314 <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD314 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	34,9	91,2	58,0
<b>MÉDIA</b>	37,0	90,8	58,1
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	10,0	14,3	3,6
<b>MÍNIMO</b>	20,1	57,7	50,4
<b>MÁXIMO</b>	59,4	113,6	66,7

Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD314, mas a percentagem de células CD314<sup>+</sup> era significativamente superior nos LT CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ) (Tabela 45).

**Tabela 45.** Expressão de CD314 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD314<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD314 nos LT CD314<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD314 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD314 <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD314 <sup>+</sup>	% LT CD314 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD314 <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD314 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	30,8	91,5	55,5	85,4	82,7	59,9
<b>MÉDIA</b>	32,2	93,3	55,5	85,5	84,3	61,6
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	8,6	14,7	3,5	9,0	17,9	7,5
<b>MÍNIMO</b>	17,7	61,4	49,1	60,9	51,0	48,2
<b>MÁXIMO</b>	51,2	117,2	62,3	97,2	118,1	80,6

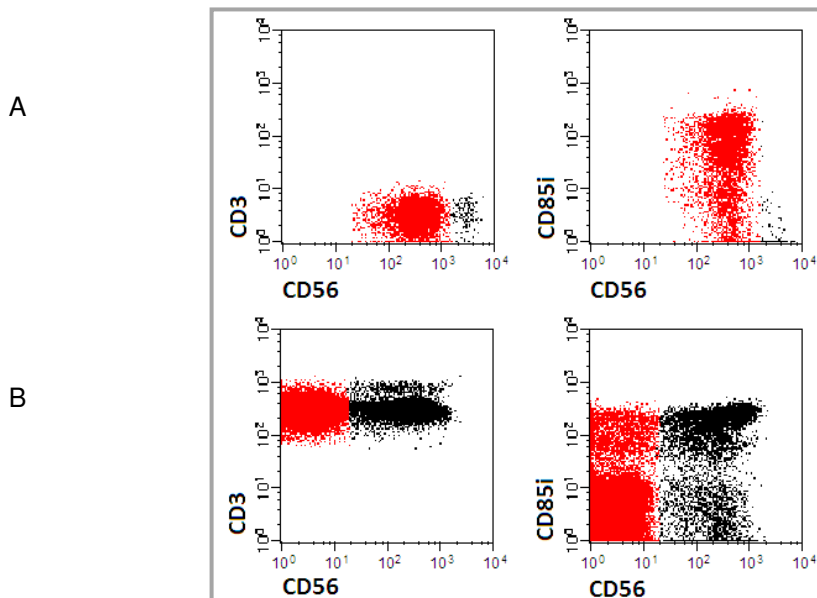
Não foi observada correlação entre a % de CNK CD314<sup>+</sup> e a % de LT CD314<sup>+</sup> ( $r=0,010$ ;  $p > 0,05$ ) (Gráfico 10).



**Gráfico 10.** Relação entre a expressão de CD314 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD314<sup>+</sup>.

#### 4.3.4 RECEPTORES LEUCOCITÁRIOS SEMELHANTES ÀS IMUNOGLOBULINAS (LILR)

Procedemos ao estudo de um LIRL (CD85j) nas CNK e nos LT, tal como ilustrado com um exemplo típico na Figura 4.



**Figura 4.** Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão de CD85j nas CNK (Painel A) CD56<sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56<sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>+</sup> (cor preta).

##### 4.3.4.1 CD85j

###### A. CD85j nas CNK

Observou-se expressão de CD85j numa fracção muito variável das CNK ( $51,2 \pm 21,2\%$ ) de todos os indivíduos estudados (Figura 4 e Tabela 46).

**Tabela 46.** Expressão de CD85j nas CNK avaliada pela % de CNK CD85j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD85j nas CNK CD85j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK totais		
	% CNK CD85j <sup>+</sup>	IMF das CNK CD85j <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD85j <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	46,5	76,7	60,4
<b>MÉDIA</b>	51,2	82,4	61,8
<b>± DP</b>	± 21,2	± 30,7	± 12,2
<b>MÍNIMO</b>	14,8	39,0	42,3
<b>MÁXIMO</b>	87,0	162,6	93,0

A expressão de CD85j estava limitada às CNK CD56<sup>+</sup> (Figura 4 e Tabela 47).

**Tabela 47.** Expressão de CD85j nas CNK CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de CNK CD85j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD158j nas CNK CD158j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>		
	%CNK CD85j <sup>+</sup>	IMF das CNK CD85j <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD85j <sup>+</sup>
<b>Mediana</b>	51,5	74,6	60,8
<b>Média</b>	53,3	82,1	59,7
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	21,6	30,4	10,2
<b>Mínimo</b>	15,1	37,7	40,7
<b>Máximo</b>	88,6	159,9	84,9

### B. CD85j nos LT

Tal como aconteceu nas CNK, observou-se expressão de CD85j nos LT de todos os indivíduos estudados, embora numa fracção mais pequena das células ( $15,8 \pm 8,4\%$ ), sendo a % de LT CD85j<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 4 e Tabela 48).

**Tabela 48.** Expressão de CD85j nos LT avaliada pela % de LT CD85j<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD85j nos LT CD85j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

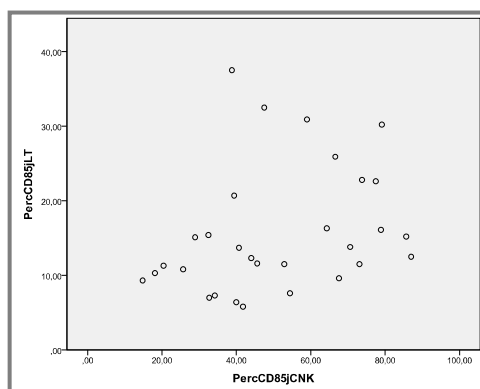
	LT totais		
	%LT CD85j <sup>+</sup>	IMF dos LT CD85j <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD85j <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	13,1	113,1	52,8
<b>MÉDIA</b>	15,8	114,7	53,3
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	8,4	21,0	7,2
<b>MÍNIMO</b>	5,8	70,4	39,2
<b>MÁXIMO</b>	37,5	175,1	68,5

Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD85j, mas a percentagem de células CD85j<sup>+</sup> era significativamente superior nos LT CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ) (Tabela 49).

**Tabela 49.** Expressão de CD85J nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD85J<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD85J nos LT CD85j<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD85J <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD85J <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD85J <sup>+</sup>	% LT CD85J <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD85J <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD85J <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	9,7	110,5	55,6	62,5	114,6	48,7
<b>MÉDIA</b>	10,6	110,6	54,5	61,8	119,5	48,1
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	5,7	17,4	6,9	18,2	25,0	9,9
<b>MÍNIMO</b>	4,2	73,8	42,3	20,6	66,6	30,1
<b>MÁXIMO</b>	29,1	138,6	66,3	93,6	199,2	78,3

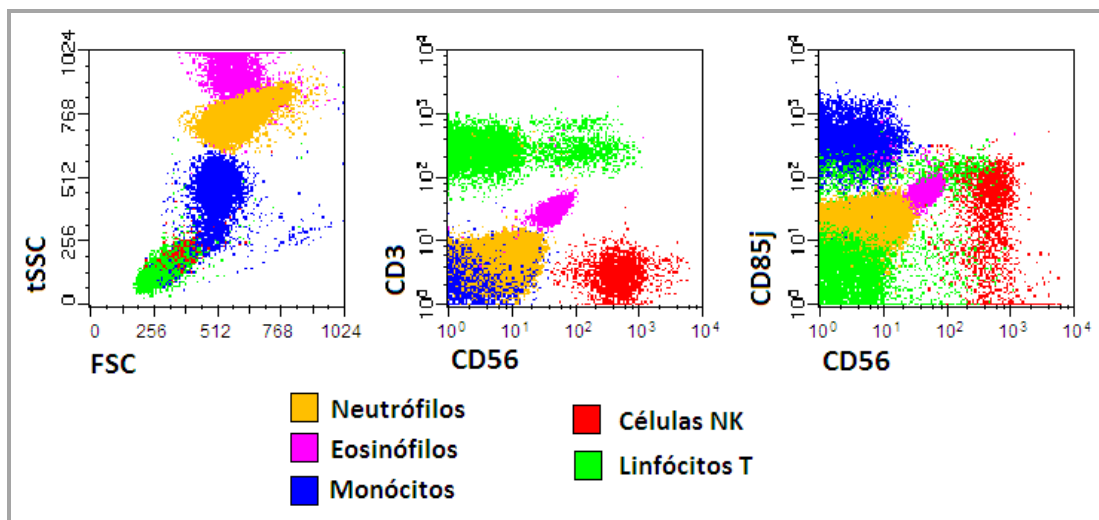
Foi observada correlação positiva moderada entre a % de CNK CD85j<sup>+</sup> e a % de LT CD85j<sup>+</sup> (r=0,411; p <0,05) (Gráfico 11).



**Gráfico 11.** Relação entre a expressão de CD85j nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD85j<sup>+</sup>

### C. CD85j em outros leucócitos

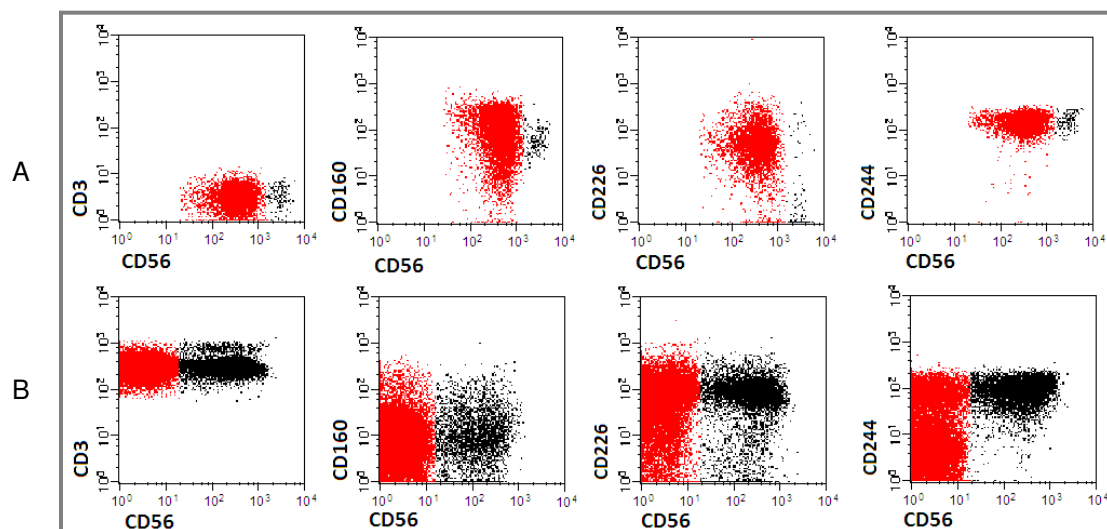
Observamos que os linfócitos B expressavam CD85j<sup>+</sup> com intensidade relativamente forte, assim como os monócitos, enquanto que os neutrófilos apresentavam uma expressão fraca desta molécula (Figura 5).



**Figura 5.** Gráficos biparamétricos de pontos ("dot-plots") exemplificativos da expressão dos diferentes CD85j em diferentes tipos de leucócitos.

### 4.3.5 OUTROS RECEPTORES KILLER (KR)

Procedemos ao estudo de outros KR não incluídos nas famílias anteriormente mencionadas (CD160, CD226 e CD244) nas CNK e nos LT, tal como ilustrado com um exemplo típico na Figura 6.



**Figura 6.** Gráficos biparamétricos de pontos (“dot-plots”) exemplificativos da expressão de CD226 e de CD244 nas CNK (Painel A) CD56<sup>+</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>++</sup> (cor preta) e nos LT (Painel B) CD56<sup>-</sup> (cor vermelha) e CD56<sup>+</sup> (cor preta).

#### 4.3.5.1 CD160

##### A. CD160 nas CNK

Observou-se expressão de CD160 na maioria ( $72,8 \pm 14,9\%$ ) das CNK de todos os indivíduos estudados, sendo que intensidade de expressão de CD160 era relativamente fraca (IMF =  $103,3 \pm 20,5$ ) e heterogénea (CV =  $77,3 \pm 9,8$ ) (Figura 6 e Tabela 50).

**Tabela 50.** Expressão de CD160 nas CNK avaliada pela % de CNK CD160<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD160 nas CNK CD160<sup>+</sup> e pelo respectivo CV

	CNK TOTAIS		
	%CNK CD160 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD160 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD160 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	76,6	104,2	76,4
<b>MÉDIA</b>	72,8	103,3	77,3
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	14,9	20,5	9,8
<b>MÍNIMO</b>	31,9	66,0	62,2
<b>MÁXIMO</b>	94,2	140,2	98,0

A expressão de CD160 foi observada exclusivamente nas CNK CD56<sup>+</sup> (Tabela 51).

**Tabela 51.** Expressão de CD160 nas CNK CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de CNK CD160<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD160 nas CNK CD160<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>		
	%CNK CD160 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD160 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD160 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	84,7	84,7	83,3
<b>MÉDIA</b>	82,5	82,5	83,6
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	10,7	10,7	11,3
<b>MÍNIMO</b>	55,5	55,5	64,3
<b>MÁXIMO</b>	95,5	95,5	106,7

### B. CD160 nos LT

Tal como aconteceu nas CNK, observou-se expressão de CD160 nos LT de todos os indivíduos estudados, embora numa fracção pequena das células ( $8,9 \pm 6,5\%$ ), sendo a % de LT CD160<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 6 e Tabela 52).

**Tabela 52.** Expressão de CD160 nos LT avaliada pela % de LT CD160<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD160 nos LT CD160<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

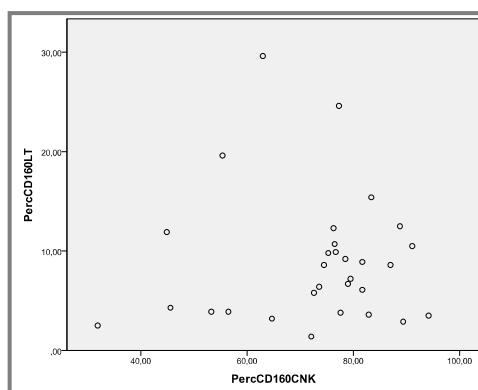
	LT TOTAIS		
	%LT CD160 <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD160 <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD160 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	7,9	85,8	67,9
<b>MÉDIA</b>	8,9	89,7	68,4
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	6,5	22,9	7,9
<b>MÍNIMO</b>	1,4	45,0	54,6
<b>MÁXIMO</b>	29,6	137,0	86,3

Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD160, mas a percentagem de células CD160<sup>+</sup> era significativamente superior nos LT CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ) (Tabela 53).

**Tabela 53.** Expressão de CD160 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD160<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD160 nos LT CD160<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD160 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD160 <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD160 <sup>+</sup>	% LT CD160 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD160 <sup>+</sup>	CV DA IMF dos LT CD160 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	6,5	84,7	67,9	38,2	84,7	82,5
<b>MÉDIA</b>	7,9	82,5	68,1	38,8	82,5	83,7
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	5,7	10,7	9,8	16,9	10,7	17,2
<b>MÍNIMO</b>	1,3	55,5	40,2	3,4	55,5	55,2
<b>MÁXIMO</b>	27,0	95,5	85,6	70,2	95,5	131,1

Não foi observada correlação entre a % de CNK CD160<sup>+</sup> e a % de LT CD160<sup>+</sup> ( $r=0,072$ ;  $p>0,05$ ) (Gráfico 12).



**Gráfico 12.** Relação entre a expressão de CD160 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD160<sup>+</sup>.

#### 4.3.5.2 CD226

##### **A. CD226 nas CNK**

Observou-se expressão de CD226 numa fracção muito variável das CNK ( $65,4 \pm 21,8\%$ ) de todos os indivíduos estudados, sendo a intensidade de expressão de CD226 fraca ( $IMF = 35,6 \pm 27,1$ ) e bastante heterogénea ( $CV = 107,0 \pm 39,7$ ) (Figura 6 e Tabela 54).

**Tabela 54.** Expressão de CD226 nas CNK avaliada pela % de CNK CD226<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD226 nas CNK CD226<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK TOTAIS		
	% CNK CD226 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD226 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD226 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	67,4	28,5	96,2
<b>MÉDIA</b>	65,4	35,6	107,0
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	21,8	27,1	39,7
<b>MÍNIMO</b>	20,8	17,7	63,2
<b>MÁXIMO</b>	98,7	167,5	266,4

Esta expressão foi observada quer nas CNK CD56<sup>+</sup> quer nas CNK CD56<sup>++</sup>, embora a fracção de células CD226<sup>+</sup> fosse bastante superior no primeiro caso ( $p < 0,001$ ) (Figura 6 e Tabela 55).

**Tabela 55.** Expressão de CD226 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD226<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD226 nas CNK CD226<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>			CNK CD56 <sup>++</sup>		
	% CNK CD226 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD226 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD226 <sup>+</sup>	% CNK CD226 <sup>+</sup>	IMF DAS CNK CD226 <sup>+</sup>	CV DA IMF DAS CNK CD226 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	64,2	31,9	109,0	6,2	39,5	75,2
<b>MÉDIA</b>	61,7	37,5	135,2	6,8	44,4	72,7
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	21,3	21,3	96,6	4,0	21,4	31,1
<b>MÍNIMO</b>	27,5	22,6	63,9	1,9	15,0	22,3
<b>MÁXIMO</b>	97,2	135,7	571,4	16,5	105,8	159,7

### B. CD226 nos LT

Tal como aconteceu nas CNK, observou-se expressão de CD226 nos LT de todos os indivíduos estudados, ocorrendo esta expressão numa fracção variável das células (65,8 ± 10,2%), que não diferia significativamente da observada nas CNK (p>0,05) (Figura6 e Tabela56).

**Tabela 56.** Expressão de CD226 nos LT avaliada pela % de LT CD226<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD226 nos LT CD226<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

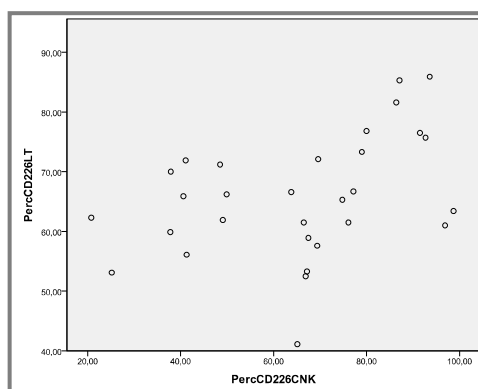
	LT TOTAIS		
	%LT CD226 <sup>+</sup>	IMF DOS LT CD226 <sup>+</sup>	CV DA IMF DOS LT CD226 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	65,6	44,3	78,2
<b>MÉDIA</b>	65,8	51,5	85,3
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	10,2	20,6	33,1
<b>MÍNIMO</b>	41,1	31,5	56,6
<b>MÁXIMO</b>	85,9	115,0	241,3

Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD226, sendo a % de células CD226<sup>+</sup> semelhante (p >0,05) (Tabela 57).

**Tabela 57.** Expressão de CD226 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD226<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD226 nos LT CD226<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD226 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD226 <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD226 <sup>+</sup>	% LT CD226 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD226 <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD226 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	67,8	45,0	75,6	69,2	40,4	79,6
<b>MÉDIA</b>	68,2	52,0	77,5	69,1	44,6	99,2
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	8,8	21,1	14,8	16,6	20,3	64,8
<b>MÍNIMO</b>	53,7	30,1	57,1	30,8	24,6	54,8
<b>MÁXIMO</b>	85,9	115,1	120,6	97,7	107,4	391,2

Foi observada correlação positiva moderada entre a % de CNK CD226<sup>+</sup> e a % de LT CD226<sup>+</sup> ( $r=0,437$ ;  $p < 0,05$ ) (Gráfico 13).



**Gráfico 13.** Relação entre a expressão de CD226 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD226<sup>+</sup>.

#### **4.3.5.3 CD244**

##### **A. CD244 nas CNK**

Observou-se expressão de CD244 na quase totalidade das CNK ( $99,1 \pm 1,0\%$ ) de todos os indivíduos estudados, sendo a intensidade de expressão de CD244 moderada (IMF =  $140,1 \pm 19,0$ ), mas bastante homogênea (CV =  $36,4 \pm 5,4$ ). (Figura 6 e Tabela 58).

**Tabela 58.** Expressão de CD244 nas CNK avaliada pela % de CNK CD244<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD244 nas CNK CD244<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK totais		
	% CNK CD244 <sup>+</sup>	IMF das CNK CD244 <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD244 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	99,4	142,1	35,7
<b>MÉDIA</b>	99,1	140,1	36,4
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	1,0	19,0	5,4
<b>MÍNIMO</b>	94,2	87,2	31,2
<b>MÁXIMO</b>	99,9	172,0	55,9

A expressão de CD244 era mais forte e mais homogênea nas CNK CD56<sup>+</sup> ( $p < 0,001$  nos dois casos) (Figura 6 e Tabela 59).

**Tabela 59.** Expressão de CD244 nas CNK CD56<sup>+</sup> e nas CNK CD56<sup>++</sup>, avaliada pela % de CNK CD244<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD244 nas CNK CD244<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	CNK CD56 <sup>+</sup>			CNK CD56 <sup>++</sup>		
	%CNK CD244 <sup>+</sup>	IMF das CNK CD244 <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD244 <sup>+</sup>	%CNK CD244 <sup>+</sup>	IMF das CNK CD244 <sup>+</sup>	CV da IMF das CNK CD244 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	99,4	145,7	33,8	97,2	89,9	58,0
<b>MÉDIA</b>	99,4	142,2	35,0	92,8	95,7	57,0
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	0,4	18,9	5,2	12,4	35,3	12,5
<b>MÍNIMO</b>	98,7	89,4	30,7	43,2	29,8	35,9
<b>MÁXIMO</b>	100,0	173,2	53,9	100,0	169,9	86,8

### B. CD244 nos LT

Tal como aconteceu nas CNK, observou-se expressão de CD244 nos LT de todos os indivíduos estudados, embora numa fracção mais pequena das células ( $28,2 \pm 10,8\%$ ), sendo a % de LT CD244<sup>+</sup> significativamente inferior à observada nas CNK ( $p < 0,001$ ) (Figura 6 e Tabela 60).

**Tabela 60.** Expressão de CD244 nos LT avaliada pela % de LT CD244<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD244 nos LT CD244<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

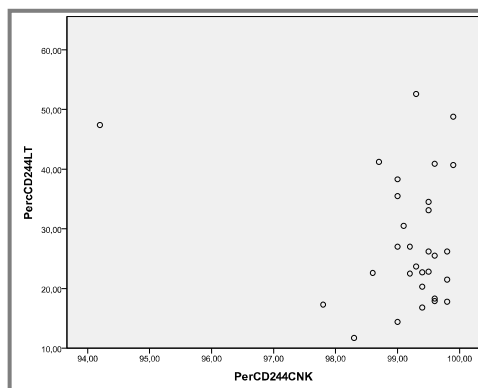
	LT totais		
	%LT CD244 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD244 <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD244 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	25,8	87,1	52,2
<b>MÉDIA</b>	28,2	90,2	53,1
<b>±</b>	±	±	±
<b>DP</b>	10,8	13,2	5,5
<b>MÍNIMO</b>	11,7	64,0	45,3
<b>MÁXIMO</b>	52,6	122,9	63,9

Quer os LT CD56<sup>-</sup> quer os LT CD56<sup>+</sup> expressavam CD244, mas a percentagem de células CD244<sup>+</sup> era significativamente superior nos LT CD244<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ) (Tabela 61).

**Tabela 61.** Expressão de CD244 nos LT CD56<sup>-</sup> e nos LT CD56<sup>+</sup>, avaliada pela % de LT CD244<sup>+</sup>, pela IMF de expressão de CD244 nos LT CD244<sup>+</sup> e pelo respectivo CV.

	LT CD56 <sup>-</sup>			LT CD56 <sup>+</sup>		
	% LT CD244 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD244 <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD244 <sup>+</sup>	% LT CD244 <sup>+</sup>	IMF dos LT CD244 <sup>+</sup>	CV da IMF dos LT CD244 <sup>+</sup>
<b>MEDIANA</b>	19,4	84,4	54,5	92,6	97,2	46,8
<b>MÉDIA</b>	21,1	87,2	53,5	91,5	98,6	47,5
<b>±</b>	±	±	±	±	±	±
<b>DP</b>	8,8	12,5	5,2	5,4	19,8	6,5
<b>MÍNIMO</b>	9,9	64,4	44,8	76,4	63,7	36,8
<b>MÁXIMO</b>	45,9	123,9	62,2	99,9	167,6	59,1

Não foi observada correlação entre a % de CNK CD244<sup>+</sup> e a % de LT CD244<sup>+</sup> ( $r=0,047$ ;  $p>0,05$ ) (Gráfico 14).



**Gráfico 14.** Relação entre a expressão de CD244 nas CNK e nos LT, avaliada pela % de células CD244<sup>+</sup>.



## **PARTE 5: DISCUSSÃO E CONCLUSÃO**



Neste estudo avaliamos a expressão de diferentes tipos de KR nas CNK e nos LT de sangue periférico de indivíduos adultos saudáveis e caracterizamos as subpopulações de CNK CD56<sup>+</sup> e CD56<sup>++</sup> e de LT CD56<sup>-</sup> e CD56<sup>+</sup> para a expressão destas moléculas.

Os resultados obtidos foram, de uma forma geral, comparáveis aos descritos na literatura para cada uma das moléculas individualmente, mas acrescentam alguns dados ao conhecimento actual, pois tanto quanto sabemos não existem trabalhos publicados em que:

1. Se descreva o repertório destes receptores nos indivíduos adultos normais estudando simultaneamente e nos mesmos indivíduos, a expressão de KR de várias famílias (NCR, KIR, KLR, LIRL e outros KR).
2. Se descreva simultaneamente a expressão destes receptores nas CNK e nos LT e, concomitantemente, se analisem subpopulações destas células (CNK CD56<sup>+</sup> versus CNK CD56<sup>++</sup> e LT CD56<sup>-</sup> versus LT CD56<sup>+</sup>, respectivamente).

## **5.1. EXPRESSÃO DE KR NAS CNK E NOS LT**

### **5.1.1. NCR**

Tal como esperado, em concordância com o descrito na literatura, os receptores CD335 e CD337 são expressos na maioria das CNK do sangue periférico. Pelo contrário, o CD336 observa-se numa fracção muito pequena (inferior a 1%) das CNK, o que pode ser explicado pelo facto desta molécula ser induzida pela activação celular. Em contraste, nenhum destes receptores se expressa nos LT.

### **5.1.2. KIR**

Os resultados obtidos permitem-nos tecer algumas considerações importantes acerca da expressão de KIR nas CNK e nos LT:

- A.** Tal como seria de esperar, verificamos que a frequência de expressão destes receptores no grupo de indivíduos que constituem a amostra do estudo variou em função dos KIR. Assim, enquanto os KIR CD158a/h e CD158b1b2/j foram observados nas CNK e nos LT de todos os indivíduos, a expressão de CD158e1/e2 observou-se em 83% (25/30) dos casos, enquanto a expressão do KIR CD158i se observou em apenas 40% (12/30).

Para a interpretação destes dados deve ter-se em consideração vários factos, nomeadamente: **a)** a frequência de cada um dos genes na população; **b)** a frequência dos

vários haplótipos na população e a constituição de cada haplótipo; **c)** a existência, para determinados genes KIR, de alelos nulos que condicionam a “não expressão” do receptor no caso de homozigotia e, finalmente, **d)** o facto dos anticorpos monoclonais identificarem as formas activadoras e inibidoras do mesmo KIR.

Assim, e em concreto, a grande frequência de expressão dos KIR CD158a/h (reconhecidos pelo mesmo anticorpo monoclonal e, no conjunto, expressos em 100% dos casos estudados) pode dever-se ao facto do gene KIR2DL1 (CD158a; receptor inibidor) estar presente nos haplótipos do grupo A (que são os mais frequentes) e quer os genes KIR2DL1 (CD158a; receptor inibidor) como o gene KIR2DS1 (CD158b; receptor activador) poderem estar presentes nos haplótipos do grupo B (que também são frequentes). O mesmo se aplica à expressão de CD158b1b2/j (reconhecidos pelo mesmo anticorpo monoclonal e, tal como no caso do CD158a/h, expressos em 100% dos indivíduos estudados). De facto os genes correspondentes, o KIR2DL2 (CD158b1, receptor inibidor) e o KIR2DL3 (CD158b2, receptor inibidor), embora ausentes nos haplótipos do grupo B, estão sempre presente nos haplótipos do grupo A, enquanto o KIR2DS2 (CD158j, receptor activador), embora também ausente nos haplótipos do grupo A, é um dos KIR activadores que pode estar presente nos haplótipos do grupo B.

A frequência elevada de expressão dos KIR CD158e1/e2 (reconhecidos pelo mesmo anticorpo monoclonal e, no conjunto, expressos em 80% dos indivíduos estudados) também pode ser explicada por motivos idênticos. De facto, o gene KIR3DL1 (CD158e1, receptor inibidor) é um dos genes sempre presentes nos haplótipos do grupo A, embora ausente nos haplótipos do grupo B, enquanto o gene KIR3DS1 (CD158e2, receptor activador) está sempre ausente nos haplótipos do grupo A, podendo estar presente nos haplótipos do grupo B.

Em contrapartida, a baixa frequência de expressão de CD158i (receptor activador expresso em apenas 40% dos indivíduos estudados) pode ser atribuída ao facto do gene KIR2DS4, que codifica para este receptor, apesar de estar sempre presente nos haplótipos do grupo A, nunca se integrar os haplótipos do grupo B; para a menor frequência de expressão de CD158i pode ainda contribuir o facto do gene KIR2DS4 ter um alelo nulo que é muito frequente na população.

- B.** Também como seria de esperar, observamos que a percentagem de CNK e de LT que expressa cada um dos tipos de KIR depende do tipo de receptor e varia de indivíduo para indivíduo.
- C.** Verificamos também que nos indivíduos em que não é possível detectar determinado KIR nas CNK também não é possível detectar esse mesmo KIR nos LT, o que está em concordância com o facto da capacidade de expressar os diferentes tipos de KIR ser determinada geneticamente.

- D.** Constatamos ainda que, com excepção do CD158i, nos indivíduos em que é possível detectar a expressão de determinado KIR, não existe correlação entre a percentagem de CNK e a percentagem de LT que expressam esse receptor. Tanto quanto é do nosso conhecimento, esta observação é nova, não tendo sido anteriormente documentada nos estudos publicados.
- E.** No que respeita às CNK, confirmamos que a expressão de KIR é observada apenas nas CNK CD56<sup>+</sup>, sendo ausente nas CNK CD56<sup>++</sup>. Esta observação é consistente com o que está descrito na literatura e tem sido atribuída ao facto das CNK CD56<sup>+</sup> serem células fundamentalmente com propriedades citotóxicas (destruição de células tumorais e de células infectadas por vírus), enquanto as CNK CD56<sup>++</sup> têm funções imunorreguladoras (produção de citocinas e modulação da função de outras células).
- F.** No que respeita aos LT, verificamos que a expressão de KIR é observada quer nos LT CD56<sup>-</sup> quer nos LT CD56<sup>+</sup>, embora a percentagem de LT que expressa cada um dos receptores seja bastante superior nos LT CD56<sup>+</sup>. Tanto quanto é do nosso conhecimento, esta observação também é nova, não havendo trabalhos publicados na literatura que o mencionem.
- G.** Em alguns tipos de KIR e em alguns indivíduos é possível detectar subpopulações de CNK e de LT com dois níveis de expressão do receptor (fraca e forte), enquanto noutros indivíduos só está presente uma destas populações. Desconhece-se os factores que determinam estas diferenças, que resultam da quantidade de receptor expresso à superfície das células, mas é provável que tenham relação com a existência ou não de homozigotia.

### 5.1.3. KLR

Os resultados obtidos permitem-nos tirar importantes conclusões acerca da expressão de KLR nas CNK e nos LT:

- A.** No respeitante às CNK, observamos que a expressão de KLR não se restringe às CNK CD56<sup>+</sup> e que, pelo contrário, alguns destes receptores se expressam preferencialmente nas CNK CD56<sup>++</sup>, como é o caso do CD94, do CD159a e do CD314.

Estes resultados estão de acordo com o que está descrito na literatura e, pelo menos no caso do CD94 e do CD159a, são explicáveis pelas funções atribuídas a estas moléculas. De facto, tal como foi dito anteriormente, o par CD94/CD159a forma um KLR com funções inibidoras com afinidade para o HLA-E.

- B.** Ainda no que respeita às CNK observamos que a percentagem de CNK que expressa CD94 se correlaciona com a percentagem de CNK que expressa CD159a, o mesmo acontecendo com a quantidade de receptor presente à superfície das células (avaliada pela IMF).

Esta observação pode ser explicada pelo facto destas duas moléculas se associarem na membrana, formando receptores heterodiméricos com actividade funcional.

- C. No que concerne aos LT, verificamos que, da mesma forma que acontece com os KIR, a expressão de KLR é observada quer nos LT CD56<sup>-</sup> quer nos LT CD56<sup>+</sup>.
- D. Ainda no que respeita aos LT, também verificamos que, da mesma forma que acontece com as CNK, percentagem de LT que expressa CD94 se correlaciona com a percentagem de LT que expressa CD159a, o mesmo acontecendo com a quantidade de receptor expresso por célula.
- E. Tal como referido para a expressão dos KIR, observamos que, com excepção do CD159a, não há correlação entre a percentagem de CNK que expressa determinado KLR e a percentagem de LT que expressa esse mesmo receptor.

#### **5.1.4. LIRL**

De acordo com o descrito na literatura e ao contrário do que acontece com os KIR e os KLR, os LIRL expressam-se em vários tipos de leucócitos. Assim, no que respeita ao CD85j, observamos a sua expressão não só nas CNK e nos LT, mas também em LB, monócitos e neutrófilos, embora com diferentes intensidades.

Este receptor da família das imunoglobulinas tem um comportamento idêntico ao observado nos KIR: nas CNK, expressa-se exclusivamente na subpopulação CD56<sup>+</sup> e, nos LT, tem uma expressão preferencial nos LT CD56<sup>+</sup>.

#### **5.1.5. OUTROS KR**

Os outros KR estudados foram detectados na maioria das CNK de todos os indivíduos estudados e, tal como descrito na literatura, o CD160 foi observado apenas nas CNK CD56<sup>+</sup>.

### **5.2. VANTAGENS E LIMITAÇÕES DO ESTUDO IMUNOFENOTÍPICO DOS KR**

O estudo imunofenotípico do repertório de KR por citometria de fluxo fornece informação complementar e tem algumas vantagens em relação ao estudo genotípico, na medida em que permite caracterizar as células que expressam cada um dos receptores e avaliar, em cada população ou subpopulação celular, quer a percentagem de células que expressa determinado KR, quer a sua forma de expressão (intensidade e heterogeneidade). De facto, para além de quantificar a percentagem de células que expressa determinado antígeno, esta técnica permite avaliar a quantidade de antígeno expresso à superfície das células de uma forma qualitativa

(fraca, moderada, forte, muito forte) ou de uma forma quantitativa, através da IMF (i.e. uma célula é tanto mais fluorescente quanto maior é a quantidade de antigénio expresso à sua superfície).

Existem, no entanto, algumas limitações da citometria de fluxo no que respeita à avaliação da expressão das moléculas.

Uma das limitações está relacionada com a diversidade de citómetros, anticorpos monoclonais e fluorocromos disponíveis no mercado. De facto, para que alguns parâmetros (por exemplo, a IMF) sejam comparáveis é necessário que se mantenham constantes as condições experimentais (mesmo tipo de citómetro, em condições idênticas de calibração; mesmo tipo de anticorpo monoclonal, do mesmo fabricante, conjugado com o mesmo fluorocromo, etc.). Este é um aspecto muito relevante que deverá ser considerado, uma vez que um dos principais objectivos deste estudo era estabelecer valores de referência para usar em futuros estudos realizados em diferentes patologias.

No que respeita especificamente aos receptores KIR, existe uma limitação adicional relacionada com a estrutura destas moléculas e com a especificidade dos anticorpos disponíveis no mercado. De facto, estes reagem exclusivamente com a porção extracelular das moléculas e não permitem, por isso, distinguir entre formas inibidoras e activadoras dos mesmos receptores, que diferem umas das outras pela presença ou ausência de domínios ITIM citoplasmáticos, respectivamente. Desta forma, documentar a presença ou ausência destes receptores em nada informa sobre a sua função, pelo que seria útil complementar estes resultados com o estudo genotípico.

### **5.3. PROBLEMAS DE NATUREZA TÉCNICA**

No decorrer do estudo deparamo-nos com alguns problemas de ordem técnica relacionados provavelmente, com os reagentes usados e que não conseguimos ultrapassar:

1. A intensidade de expressão de CD335 e de CD337 nas CNK era fraca, o que pode ter influenciado os resultados. De facto, embora o perfil observado nos gráficos biparamétricos CD335 / CD56 e CD337 / CD56 sugira que estes receptores se expressam em todas as CNK, a percentagem de células com intensidade de fluorescência superior à observada nos controlos negativos foi inferior a 100%. Tal pode estar relacionado com as características dos anticorpos monoclonais utilizados (clone, afinidade para o antigénios, fluorocromo, processo de conjugação, etc.) e para uma melhor apreciação seria útil repetir o estudo com outros anticorpos monoclonais.

2. Não se observaram células (nem CNK nem LT) com expressão de CD158f e não houve possibilidade de repetir o estudo com outro anticorpo monoclonal anti-CD158f de outra casa comercial, pelo que os resultados relativos à expressão deste KIR não podem ser valorizados.

Estes problemas técnicos remetem-nos para algumas questões importantes a ter em consideração na execução dos estudos imunofenotípicos:

1. Selecção de anticorpos monoclonais adequados, no que respeita a especificidade e afinidade, já que os anticorpos provenientes de fabricantes distintos podem diferir quanto a vários aspectos (clone, classe e subclasse de imunoglobulinas, etc.)
2. Selecção dos fluorocromos adequados, reservando os fluorocromos “mais fortes” (ex. PE) para os antígenos com intensidade de expressão “mais fraca”.

#### **5.4. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Nos futuros trabalhos de investigação que darão continuidade a este projecto é nossa intenção efectuar um estudo comparativo entre a imunofenotipagem e a genotipagem dos KIR, de forma a documentar a presença ou ausência dos genes que codificam para as formas inibidoras e activadoras destes receptores.

No caso de alguns anticorpos monoclonais com que não obtivemos resultados inteiramente satisfatórios, como o CD335 e o CD336, ou que de todo não funcionaram, como o CD158f, pretendemos efectuar um estudo comparativo com outros anticorpos com especificidades similares disponíveis no mercado (diferentes clones, diferentes fluorocromos, diferentes fabricantes, etc.), o que não foi possível por motivos de ordem económica.

Finalmente, ao caracterizar o perfil de expressão de vários KR na população normal, estabelecemos as bases para o estudo das CNK e dos LT neoplásicos e abrimos as portas para a realização de futuros estudos nas áreas das doenças autoimunes, da resposta imune a infecções e tumores e da biologia da transplantação.

## **PARTE 6: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



- Abecassis, S., [et al.]- Identification of a novel CD160+ CD4+ T-lymphocyte subset in the skin: a possible role for CD160 in skin inflammation. **J Invest Dermatol.** Vol. 127, n.º 5 (2007), p.1161-6.
- Almeida-Oliveira, A.; Diamond, H. R.- A relevância das células *natural killer* (NK) e *killer immunoglobulin-like receptors* (KIR) no transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH). **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** Vol. 30 (2008), p.320-329.
- Arosa, F.A. ; Cardoso, E. M. ; Pacheco, F. P. - **Fundamentos de Imunologia.** 2007.
- Chaplin, D. D.- Overview of the immune response. **J Allergy Clin Immunol.** Vol. 125, n.º 2 Suppl 2 (2010), p.S3-23.
- Cheent, K.; Khakoo, S. I.- Natural killer cells: integrating diversity with function. **Immunology.** Vol. 126, n.º 4 (2009), p.449-57.
- Foster, C. E.; Colonna, M.; Sun, P. D.- Crystal structure of the human natural killer (NK) cell activating receptor NKp46 reveals structural relationship to other leukocyte receptor complex immunoreceptors. **J Biol Chem.** Vol. 278, n.º 46 (2003), p.46081-6.
- Garcia, C.A., [et al.]- Natural Killer Cell Receptors: Functional Roles. **Inmunología.** Vol. 22 Núm 2 (2003), p.190-202.
- Hecht, M. L., [et al.]- Natural cytotoxicity receptors NKp30, NKp44 and NKp46 bind to different heparan sulfate/heparin sequences. **J Proteome Res.** Vol. 8, n.º 2 (2009), p.712-20.
- Jobim, M.; Jobim, L. F.- Natural killer cells and immune surveillance. **J Pediatr (Rio J).** Vol. 84, n.º 4 Suppl (2008), p.S58-67.
- Liang, X.; Graham, D. K.- Natural killer cell neoplasms. **Cancer.** Vol. 112, n.º 7 (2008), p.1425-36.
- Lima, M., [et al.]- Chemokine receptor expression on normal blood NK-cells elucidates about cell partners that comigrate during innate and adaptative immune responses and identifies a transitional CD56+ NK-cell population. **artigo submetido para publicação.** (2010).
- Lima, M., [et al.]- Immunophenotypic characterization of normal blood CD56+lo versus CD56+hi NK-cell subsets and its impact on the understanding of their tissue distribution and functional properties. **Blood Cells Mol Dis.** Vol. 27, n.º 4 (2001), p.731-43.
- Maragon, A. V., [et al.]- Receptores KIR da célula natural killer. **Cienc. Cuid. Saúde.** Vol. 1 (2008), p.153-160.
- Mooney, J. M., [et al.]- The murine NK receptor 2B4 (CD244) exhibits inhibitory function independent of signaling lymphocytic activation molecule-associated protein expression. **J Immunol.** Vol. 173, n.º 6 (2004), p.3953-61.
- Moretta, L., [et al.]- Human NK-cell receptors. **Immunol Today.** Vol. 21, n.º 9 (2000), p.420-2.
- Moretta, L.; Moretta, A.- Killer immunoglobulin-like receptors. **Curr Opin Immunol.** Vol. 16, n.º 5 (2004), p.626-33.
- Motaes, M. M.- **Análise dos locos KIR em pacientes transplantados renais e sua relação com a aceitação do aloenxerto 2007.** Acessível em Curso de Pós-Graduação em Genética do Departamento de Genética, Panamá.
- Poli, A., [et al.]- CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. **Immunology.** Vol. 126, n.º 4 (2009), p.458-65.
- Salim, P. H., [et al.]- Autoimmune rheumatic diseases and their association with killer immunoglobulin-like receptor genes. **Rev Bras Reumatol.** Vol. 51, n.º 4 (2011), p.351-362.
- Seth, S., [et al.]- Heterogeneous expression of the adhesion receptor CD226 on murine NK and T cells and its function in NK-mediated killing of immature dendritic cells. **Journal of Leukocyte Biology.** vol. 86 no. 1 (2009), p.91-101
- Silva, M.E.R; Mory, D.; Davini, E.- Marcadores Genéticos e Auto-Imunes do Diabetes Mellito Tipo 1: da Teoria para a Prática. **Arq Bras Endocrinol Metab** Vol. 52/2 (2008), p.166-180.



## **APÊNDICES**



Apresentam-se os valores obtidos para cada uma das variáveis estudadas em cada um dos indivíduos da amostra.

## Lista de tabelas do apêndice

Tabela do apêndice 1. Data de nascimento e sexo dos indivíduos normais estudados. ....	VII
Tabela do apêndice 2. Hemograma (contagem de hemoglobina, plaquetas e leucócitos). ....	VIII
Tabela do apêndice 3. Hemograma (contagem diferencial dos leucócitos). ....	IX
Tabela do apêndice 4. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD3 e de CD56) das CNK. ....	X
Tabela do apêndice 5. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD56) das CNK CD56 <sup>+</sup> . ....	XI
Tabela do apêndice 6. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD56) das CNK CD56 <sup>++</sup> . ....	XII
Tabela do apêndice 7. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD3 e de CD56) dos LT. ....	XIII
Tabela do apêndice 8. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD3 e de CD56) dos LT CD56 <sup>-</sup> . ....	XIV
Tabela do apêndice 9. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD3 e de CD56) dos LT CD56 <sup>+</sup> . ....	XV
Tabela do apêndice 10. Expressão de NCR nas CNK (% de células CD335 <sup>+</sup> , CD336 <sup>+</sup> e CD337 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD335, CD336 e CD337 e respectivo CV) nas CNK totais. ....	XVI
Tabela do apêndice 11. Expressão de NCR (% de células CD335 <sup>+</sup> , CD336 <sup>+</sup> e CD337 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD335, CD336 e CD337 e respectivo CV) nas CNK CD56 <sup>+</sup> . ....	XVII
Tabela do apêndice 12. Expressão de NCR (% de células CD335 <sup>+</sup> , CD336 <sup>+</sup> e CD337 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD335, CD336 e CD337 e respectivo CV) nas CNK CD56 <sup>++</sup> . ....	XVIII
Tabela do apêndice 13. Expressão de KIR (% de células CD158a/h <sup>+</sup> e CD158b1b2/j <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nas CNK totais. ....	XIX
Tabela do apêndice 14. Expressão de KIR (% de células CD158a/h <sup>+</sup> e CD158b1b2/j <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nas CNK CD56 <sup>+</sup> . ....	XX
Tabela do apêndice 15. Expressão de KIR (% de células CD158a/h <sup>+</sup> e CD158b1b2/j <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nos LT totais. ....	XXI

Tabela do apêndice 16. Expressão de KIR (% de células CD158a/h<sup>+</sup> e CD158b1b2/j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nos LT CD56<sup>-</sup>. ..... XXII

Tabela do apêndice 17. Expressão de KIR (% de células CD158a/h<sup>+</sup> e CD158b1b2/j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>. ..... XXIII

Tabela do apêndice 18. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nas CNK totais ..... XXIV

Tabela do apêndice 19. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>+</sup>. ..... XXV

Tabela do apêndice 20. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nos LT totais. .... XXVI

Tabela do apêndice 21. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nos LT CD56<sup>-</sup>. ..... XXVII

Tabela do apêndice 22. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>. ..... XXVIII

Tabela do apêndice 23. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nas CNK totais. .... XXIX

Tabela do apêndice 24. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>+</sup>. ..... XXX

Tabela do apêndice 25. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>++</sup>. ..... XXXI

Tabela do apêndice 26. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nos LT totais. .... XXXII

Tabela do apêndice 27. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nos LT CD56<sup>-</sup>. ..... XXXIII

Tabela do apêndice 28. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>. ..... XXXIV

Tabela do apêndice 29. Expressão de KLR (% de células CD161<sup>+</sup> e CD314<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nas CNK totais. .... XXXV

Tabela do apêndice 30. Expressão de KIR (% de células CD161<sup>+</sup> e CD314<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>+</sup>. ..... XXXVI

Tabela do apêndice 31. Expressão de KLR (% de células CD161 <sup>+</sup> e CD314 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nas CNK CD56 <sup>++</sup> .....	XXXVII
Tabela do apêndice 32. Expressão de KLR (% de células CD161 <sup>+</sup> e CD314 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nos LT totais. ....	XXXVIII
Tabela do apêndice 33. Expressão de KLR (% de células CD161 <sup>+</sup> e CD314 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nos LT CD56 <sup>-</sup> . ....	XXXIX
Tabela do apêndice 34. Expressão de KLR (% de células CD161 <sup>+</sup> e CD314 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nos LT CD56 <sup>+</sup> .....	XL
Tabela do apêndice 35. Expressão de LILR (% de células CD85j <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nas CNK totais.....	XLI
Tabela do apêndice 36. Expressão de LILR (% de células CD85j <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nas CNK 56 <sup>+</sup> . ....	XLII
Tabela do apêndice 37. Expressão de LILR (% de células CD85j <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nos LT totais. ....	XLIII
Tabela do apêndice 38. Expressão de LILR (% de células CD85j <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nos LT CD56 <sup>-</sup> . ....	XLIV
Tabela do apêndice 39. Expressão de LILR (% de células CD85j <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nos LT CD56 <sup>+</sup> . ....	XLV
Tabela do apêndice 40. Expressão de outros KR (% de células CD160 <sup>+</sup> , CD226 <sup>+</sup> e CD244 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nas CNK totais.....	XLVI
Tabela do apêndice 41. Expressão de outros KR (% de células CD160 <sup>+</sup> , CD226 <sup>+</sup> e CD244 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nas CNK CD56 <sup>+</sup> .....	XLVII
Tabela do apêndice 42. Expressão de outros KR (% de células CD160 <sup>+</sup> , CD226 <sup>+</sup> e CD244 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nas CNK CD56 <sup>++</sup> . ....	XLVIII
Tabela do apêndice 43. Expressão de outros KR (% de células CD160 <sup>+</sup> , CD226 <sup>+</sup> e CD244 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nos LT totais. ....	XLIX
Tabela do apêndice 44. Expressão de outros KR (% de células CD160 <sup>+</sup> , CD226 <sup>+</sup> e CD244 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nos LT CD56 <sup>-</sup> . ....	L
Tabela do apêndice 45. Expressão de outros KR (% de células CD160 <sup>+</sup> , CD226 <sup>+</sup> e CD244 <sup>+</sup> , IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nos LT CD56 <sup>+</sup> . ....	LI



**Tabela do apêndice 1. Data de nascimento e sexo dos indivíduos normais estudados.**

<b>INDIVÍDUO</b>	<b>SEXO</b>	<b>DATA DE NASCIMENTO</b>
01	Masculino	20.02.1964
02	Feminino	22.01.1983
03	Feminino	28.02.1968
04	Masculino	21.08.1968
05	Feminino	29.10.1955
06	Feminino	25.07.1987
07	Masculino	17.03.1987
08	Masculino	23.03.1972
09	Feminino	16.09.1955
10	Feminino	16.03.1962
11	Masculino	08.01.1976
12	Feminino	22.11.1985
13	Masculino	22.08.1967
14	Feminino	11.10.1949
15	Feminino	22.02.1956
16	Masculino	10.05.1980
17	Feminino	02.02.1082
18	Masculino	21.02.1061
19	Feminino	03.12.1970
20	Masculino	14.05.1948
21	Masculino	22.10.1945
22	Masculino	25.07.1969
23	Masculino	12.11.1968
24	Feminino	19.01.1976
25	Masculino	16.05.1966
26	Masculino	10.07.1975
27	Masculino	12.02.1069
28	Feminino	03.10.1960
29	Feminino	23.07.1949
30	Feminino	17.03.1986

**Tabela do apêndice 2. Hemograma (contagem de hemoglobina, plaquetas e leucócitos).**

INDIVÍDUO	HGB g/dL	PLT 10 <sup>9</sup> /L	WBC 10 <sup>9</sup> /L
1	15,8	206,0	8,8
2	12,8	176,0	4,4
3	12,9	244,0	5,9
4	15,0	240,0	9,0
5	12,9	187,0	7,1
6	11,3	203,0	5,6
7	15,8	266,0	8,0
8	14,9	192,0	5,7
9	14,0	162,0	5,0
10	14,3	171,0	11,9
11	15,6	223,0	6,9
12	11,8	266,0	9,2
13	15,2	280,0	9,2
14	12,9	197,0	6,0
15	12,8	211,0	6,3
16	16,3	159,0	6,6
17	13,3	345,0	8,4
18	14,3	175,0	5,7
19	12,6	192,0	4,9
20	12,8	203,0	4,7
21	13,8	289,0	3,5
22	14,3	281,0	5,4
23	16,0	236,0	6,8
24	14,3	233,0	5,4
25	15,1	212,0	5,3
26	16,1	202,0	4,8
27	14,7	185,0	4,5
28	12,4	309,0	6,4
29	14,2	205,0	5,6
30	15,5	227,0	8,7

Tabela do apêndice 3. Hemograma (contagem diferencial dos leucócitos).

INDIVÍDUO	NEUTRÓFILOS %	LINFÓCITOS %	MONÓCITOS %	EOSINÓFILOS %	BASÓFILOS %
1	56,9	31,1	7,0	4,2	0,8
2	49,4	34,5	7,6	7,7	0,8
3	53,1	37,1	8,5	0,8	0,5
4	54,1	31,8	9,9	3,4	0,8
5	59,1	34,4	5,1	1,1	0,3
6	61,2	30,4	6,9	1,0	0,5
7	45,7	39,9	8,1	5,5	0,8
8	50,3	37,3	7,8	3,5	1,1
9	63,5	28,7	6,2	1,0	0,6
10	59,5	30,6	6,4	3,1	0,4
11	55,2	39,4	4,4	0,6	0,4
12	43,2	43,0	4,8	8,3	0,7
13	48,8	41,3	8,2	1,3	0,4
14	57,5	33,0	7,8	1,3	0,4
15	48,0	45,0	5,8	0,6	0,6
16	62,7	27,3	8,2	1,3	0,5
17	53,5	37,7	7,0	1,4	0,4
18	73,9	18,1	6,8	1,0	0,2
19	58,0	30,0	9,9	1,5	0,6
20	48,3	31,8	7,6	11,9	0,4
21	52,7	32,3	11,9	2,5	0,6
22	54,0	30,6	9,5	5,3	0,6
23	54,3	35,3	7,0	2,8	0,6
24	68,4	25,8	5,0	0,6	0,2
25	56,8	24,6	10,2	8,0	0,4
26	54,5	33,3	10,9	1,1	0,2
27	62,9	25,8	8,9	1,6	0,8
28	69,1	18,5	7,7	3,8	0,9
29	51,4	38,7	8,1	0,9	0,9
30	51,6	41,6	5,4	0,8	0,6

**Tabela do apêndice 4. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD3 e de CD56) das CNK.**

INDIVÍDUO	%CNK nos linfócitos	FSC (u.a.f.)		SSC (u.a.f.)		CD3FITC (u.a.f.)		CD56PC5 (u.a.f.)	
		IMF	CV	IMF	CV	IMF	CV	IMF	CV
01	31,2	337,9	8,0	203,3	15,0	5,1	42,4	548,8	78,1
02	11,7	329,6	9,1	192,9	16,4	3,8	51,8	731,9	112,1
03	8,4	349,7	9,3	188,2	15,0	4,4	66,2	553,0	110,1
04	10,3	352,9	8,7	215,0	14,3	4,0	46,5	851,3	71,7
05	7,0	356,5	9,2	209,0	16,3	4,4	49,0	653,7	92,7
06	7,5	344,4	8,9	196,9	15,8	4,3	51,3	819,9	108,8
07	25,2	342,2	9,0	197,6	15,7	4,0	46,0	729,6	93,2
08	10,2	347,7	10,6	201,8	15,4	3,8	45,2	709,6	96,2
09	10,9	340,8	10,2	192,5	15,7	4,0	52,6	600,5	118,4
10	15,1	348,1	8,4	193,2	16,1	4,8	47,9	1151,5	82,8
11	11,2	353,9	8,4	199,5	15,2	3,4	46,6	623,4	133,2
12	11,2	353,9	8,2	211,1	15,0	3,8	49,0	669,0	103,0
13	5,5	274,9	16,8	170,9	20,6	3,4	57,2	521,2	122,5
14	13,2	291,2	14,2	168,3	19,3	3,8	61,1	334,0	122,0
15	11,1	281,9	13,4	168,2	18,0	3,0	46,2	445,8	95,0
16	17,3	352,3	11,4	196,9	17,6	3,5	52,2	576,5	97,7
17	5,8	365,4	9,3	202,7	16,6	4,8	58,8	830,2	124,0
18	11,2	335,0	9,3	209,0	14,8	3,5	45,7	743,4	117,8
19	6,3	334,2	10,1	209,8	16,6	3,5	53,6	717,9	110,3
20	37,2	342,3	8,5	179,8	15,3	3,2	48,7	343,4	82,6
21	33,4	263,6	17,5	147,6	22,7	2,8	49,3	338,8	84,9
22	17,3	350,1	8,7	179,2	16,0	3,4	52,6	624,3	91,2
23	9,2	373,8	8,0	199,9	15,6	3,5	46,8	719,1	100,6
24	9,6	385,4	8,4	217,5	14,2	3,3	45,0	673,2	84,0
25	7,8	358,6	8,5	198,3	15,1	3,5	45,3	956,8	87,0
26	32,2	396,1	9,4	202,0	14,6	3,9	49,2	720,0	54,2
27	15,1	365,9	8,3	194,6	15,1	3,4	47,1	637,4	102,0
28	13,1	350,3	7,3	204,4	14,2	3,7	57,3	651,7	103,5
29	11,1	336,8	8,2	182,5	15,6	3,7	47,9	530,3	113,1
30	12,9	343,8	7,8	194,7	15,1	3,4	56,1	597,6	90,1

**Tabela do apêndice 5. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD56) das CNK CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	%CNK CD56 <sup>+</sup> nas CNK	FSC (u.a.f.)		SSC (u.a.f.)		CD56PC5 (u.a.f.)	
		IMF	CV	IMF	CV	IMF	CV
01	98,8	337,8	8,1	203,6	14,9	521,7	52,2
02	92,0	327,4	9,2	193,4	16,3	522,4	58,2
03	95,0	348,2	9,2	186,8	14,9	431,7	57,4
04	96,1	352,5	8,6	215,0	14,3	760,3	43,9
05	96,1	356,3	8,9	210,4	15,9	569,4	58,5
06	90,5	342,7	8,6	196,7	15,4	567,9	56,6
07	93,7	341,0	8,8	197,0	15,6	585,1	51,2
08	93,8	346,1	10,2	200,5	14,8	568,4	58,2
09	92,9	338,3	9,9	191,3	15,3	430,2	57,2
10	96,0	347,1	8,3	192,2	15,9	993,7	48,2
11	93,7	352,5	8,2	198,3	14,7	427,4	65,9
12	96,0	354,3	7,8	211,1	14,6	553,3	52,5
13	93,4	273,6	16,4	169,5	20,2	379,5	59,3
14	97,2	290,9	14,1	168,1	19,3	277,0	65,5
15	95,3	280,7	13,6	167,9	18,0	386,8	59,8
16	96,1	352,6	11,2	196,0	17,3	485,5	55,9
17	91,6	363,5	8,9	200,6	15,6	557,4	63,2
18	94,8	334,0	8,8	210,0	14,9	570,6	53,0
19	85,8	332,5	9,9	211,1	15,9	442,4	60,3
20	98,8	341,9	8,6	179,5	15,2	320,4	54,3
21	98,9	263,6	17,6	147,8	23,0	323,1	71,0
22	96,9	348,9	8,9	178,3	15,6	546,1	51,1
23	95,0	374,0	8,0	200,1	15,5	586,2	63,8
24	92,7	385,0	8,4	218,5	14,0	545,7	51,0
25	92,9	358,0	8,4	198,5	14,8	764,0	47,4
26	99,7	396,0	9,3	201,6	14,4	708,8	49,6
27	90,7	365,1	8,0	193,8	14,9	468,2	50,9
28	93,6	349,9	7,1	204,3	13,9	510,6	52,0
29	97,4	336,1	8,0	181,9	15,3	451,9	57,8
30	97,9	343,6	7,7	195,0	15,1	539,6	51,8

**Tabela do apêndice 6. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD56) das CNK CD56<sup>++</sup>.**

INDIVÍDUO	%CNK CD56 <sup>++</sup> nas CNK	IMF FSC (u.a.f.)	CV FSC (u.a.f.)	IMF tSSC (u.a.f.)	CV tSSC (u.a.f.)	IMF CD56 PC5 (u.a.f.)	CV CD56 PC5 (u.a.f.)
01	1,2	355,6	9,9	219,8	18,6	3310,1	41,8
02	8,0	350,0	10,5	189,2	20,1	3230,6	35,1
03	5,0	367,0	9,7	201,5	15,4	2782,2	41,8
04	3,9	371,3	9,7	222,1	15,4	3239,1	30,5
05	3,9	362,6	11,2	203,1	19,7	3019,8	36,6
06	9,5	357,9	10,7	198,4	19,2	3158,0	35,8
07	6,3	366,6	10,1	211,9	18,4	2980,3	30,8
08	6,2	366,9	12,0	210,2	16,7	2804,4	35,2
09	7,1	371,5	9,9	213,4	17,7	2835,1	35,5
10	4,0	372,9	8,3	225,0	16,5	4944,1	31,6
11	6,3	367,3	11,1	212,7	18,7	3456,9	31,5
12	4,0	351,2	11,3	212,7	17,8	3550,0	29,3
13	6,6	278,7	18,6	176,7	20,8	2621,6	33,5
14	2,8	309,7	13,7	181,2	18,6	2315,8	35,8
15	4,7	309,3	13,8	185,6	19,8	2008,6	32,4
16	3,9	380,3	11,9	216,6	21,0	2925,9	32,5
17	8,4	381,5	10,1	217,2	18,6	3785,3	32,5
18	5,2	344,2	12,8	218,1	18,4	4116,3	35,5
19	14,2	341,2	10,7	206,9	18,5	2457,0	29,6
20	1,2	357,8	10,6	199,9	16,6	2254,0	31,8
21	1,1	293,5	14,5	164,7	24,1	1863,8	37,5
22	3,1	377,1	10,2	200,7	17,8	3159,5	37,2
23	5,0	385,4	9,1	204,7	18,5	3240,5	33,1
24	7,3	394,7	10,0	209,0	18,4	2283,2	33,4
25	7,1	371,8	10,2	198,3	18,3	3495,5	29,5
26	0,3	393,8	8,5	192,7	15,9	3473,5	25,2
27	9,3	382,1	9,0	211,5	16,1	2407,1	36,0
28	6,4	361,7	9,5	215,4	19,3	2945,2	29,5
29	2,6	360,1	10,8	194,2	18,0	3677,7	31,9
30	2,1	362,1	9,0	200,7	20,2	3607,8	33,6

**Tabela do apêndice 7. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD3 e de CD56) dos LT.**

INDIVÍDUO	%LT nos linfócitos	IMF FSC (u.a.f.)	CV FSC (u.a.f.)	IMF tSSC (u.a.f.)	CV tSSC (u.a.f.)	IMF CD3 FITC (u.a.f.)	CV CD3 FITC (u.a.f.)	IMF CD56 PC5 (u.a.f.)	CV CD56 PC5 (u.a.f.)
01	51,4	299,2	16,6	152,4	27,0	243,8	44,7	22,1	408,5
02	74,7	296,1	15,4	138,6	28,6	211,3	51,5	28,9	407,1
03	78,9	320,3	13,5	162,8	20,1	278,5	46,3	39,8	352,2
04	70,9	306,6	15,9	159,7	24,7	322,3	44,4	24,0	404,6
05	75,0	309,6	15,3	149,0	24,9	298,7	40,4	10,9	614,8
06	83,2	308,4	14,3	154,3	24,1	339,7	49,8	14,4	433,9
07	63,1	308,4	14,5	155,8	23,0	343,5	52,9	17,2	458,7
08	79,2	332,4	13,9	167,4	21,0	443,3	55,7	116,8	193,7
09	75,3	319,2	15,2	151,0	24,5	358,1	40,4	15,7	501,9
10	70,2	317,1	15,7	159,7	24,4	352,6	40,4	126,1	265,4
11	76,4	334,1	15,1	169,9	24,5	297,7	35,7	93,0	204,1
12	69,8	294,1	15,0	145,4	27,9	334,4	43,8	8,0	597,5
13	73,4	247,7	23,1	118,5	32,6	248,1	54,0	13,2	409,8
14	71,6	256,5	19,2	129,7	29,4	305,5	35,7	6,7	512,8
15	75,1	248,1	17,8	124,1	30,5	278,6	44,4	6,2	516,3
16	68,3	295,5	17,9	145,1	31,1	456,1	40,5	22,0	422,0
17	75,8	314,6	15,3	150,8	28,4	367,8	38,5	36,9	392,3
18	77,1	314,4	14,7	167,2	24,1	492,7	54,8	75,4	260,4
19	80,6	297,6	14,7	155,5	23,6	366,5	38,4	15,5	455,1
20	49,9	302,5	15,6	147,0	24,0	329,8	38,9	14,9	488,4
21	50,6	226,6	21,9	105,8	33,8	243,7	45,4	9,6	544,5
22	67,7	307,6	15,0	142,7	25,0	349,8	42,4	24,4	343,0
23	79,8	324,4	13,8	148,5	26,1	401,6	49,9	9,1	509,5
24	72,4	320,5	15,7	150,8	26,8	352,1	36,7	14,7	415,9
25	71,2	319,6	14,9	152,3	25,2	281,6	45,3	35,7	369,4
26	57,1	351,3	14,7	159,1	24,7	315,5	45,9	26,0	460,2
27	70,8	321,3	14,3	150,7	23,0	324,3	41,9	37,8	354,9
28	66,2	313,4	13,8	162,7	23,7	354,6	42,5	8,3	514,3
29	71,6	318,5	14,7	159,2	23,7	367,5	38,3	78,9	262,8
30	72,8	296,1	14,1	140,7	26,1	431,9	44,7	18,4	417,3

**Tabela do apêndice 8. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD3 e de CD56) dos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	%LT CD56 <sup>+</sup> nos LT	IMF FSC (u.a.f.)	CV FSC (u.a.f.)	IMF tSSC (u.a.f.)	CV tSSC (u.a.f.)	IMF CD3 FITC (u.a.f.)	CV CD3 FITC (u.a.f.)	IMF CD56 PC5 (u.a.f.)	CV CD56 PC5 (u.a.f.)
01	92,0	294,9	16,6	148,2	26,4	241,3	44,2	3,5	82,8
02	90,6	291,9	15,3	134,0	28,0	209,2	50,4	3,4	83,9
03	87,7	316,0	13,5	158,5	19,8	278,1	45,5	3,2	88,3
04	92,0	303,0	15,5	155,9	24,1	321,6	43,2	3,5	83,5
05	96,8	308,8	15,1	147,8	24,7	297,3	39,0	3,4	84,4
06	92,8	305,4	14,4	151,6	24,1	327,1	44,5	3,2	86,2
07	92,8	308,0	14,3	153,7	22,9	334,7	50,2	3,1	84,7
08	63,5	322,6	14,8	157,9	22,1	339,9	48,6	3,1	85,7
09	94,9	317,7	15,3	149,0	24,5	360,3	40,1	3,0	87,1
10	80,4	307,5	15,6	151,7	24,4	346,6	40,7	3,6	90,9
11	73,0	317,8	14,5	156,0	23,7	295,8	34,7	2,9	86,7
12	96,4	292,3	14,8	143,5	27,5	331,2	42,2	2,6	82,8
13	91,5	246,2	22,4	116,5	32,7	238,0	50,8	3,2	82,0
14	97,6	255,4	19,1	128,9	29,4	305,3	35,1	2,9	86,4
15	96,8	247,0	17,9	122,7	30,3	276,6	42,6	2,6	81,4
16	92,8	291,3	17,2	140,4	30,2	462,2	39,1	2,8	91,3
17	88,5	308,6	14,9	144,1	27,5	368,1	37,1	2,9	88,6
18	77,4	305,4	14,8	157,4	23,8	425,9	51,6	2,8	87,7
19	93,3	295,1	14,7	153,0	23,6	366,3	38,0	2,6	85,4
20	94,4	300,6	15,4	145,4	24,0	329,7	38,0	2,7	84,2
21	94,4	225,8	21,2	104,2	33,1	242,8	43,8	1,8	72,9
22	88,4	302,9	14,8	138,7	25,1	347,6	39,9	2,9	86,9
23	95,0	322,3	13,9	145,9	25,6	394,1	47,3	2,3	79,5
24	93,1	316,2	14,8	146,9	25,7	348,6	34,4	2,6	81,0
25	86,3	315,2	14,7	147,1	25,0	274,0	42,8	3,1	84,2
26	92,5	348,0	14,2	155,6	23,8	311,8	42,6	3,4	85,9
27	89,7	315,8	14,0	146,8	23,0	320,5	39,3	2,6	81,8
28	96,0	311,3	14,2	161,3	24,0	350,1	39,2	2,7	85,0
29	78,7	307,9	14,3	150,0	22,8	369,0	37,0	2,8	83,3
30	92,2	292,7	13,6	136,9	25,3	415,4	39,4	2,6	88,0

**Tabela do apêndice 9. Percentagem e características (IMF e CV do FSC, do SSC e da expressão de CD3 e de CD56) dos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	%LT CD56 <sup>+</sup> nos LT	IMF FSC (u.a.f.)	CV FSC (u.a.f.)	IMF tSSC (u.a.f.)	CV tSSC (u.a.f.)	IMF CD3 FITC (u.a.f.)	CV CD3 FITC (u.a.f.)	IMF CD56 PC5 (u.a.f.)	CV CD56 PC5 (u.a.f.)
01	8,0	348,9	11,5	207,2	15,9	272,1	47,4	238,4	96,5
02	9,4	334,3	12,0	186,0	15,5	234,3	57,9	279,3	103,3
03	12,3	349,3	11,4	193,7	14,4	283,1	54,1	300,6	95,3
04	8,0	355,8	10,6	207,8	15,3	335,1	55,1	262,3	91,2
05	3,2	343,4	13,3	184,9	19,6	347,6	60,2	237,3	123,9
06	7,2	341,7	12,0	189,8	15,3	508,1	59,3	158,1	112,6
07	7,2	325,7	13,1	185,9	15,7	467,0	60,6	202,2	111,2
08	36,5	350,9	10,0	184,2	14,9	625,2	41,7	315,9	88,7
09	5,1	341,7	11,2	190,1	14,2	328,9	49,7	251,3	99,3
10	19,6	357,2	9,5	193,0	14,6	378,7	38,3	627,4	80,4
11	27,0	376,5	8,8	207,3	13,4	303,4	37,7	336,8	67,8
12	3,6	338,7	12,5	197,9	19,0	436,0	56,4	151,9	127,8
13	8,5	271,5	20,5	142,1	24,4	368,7	53,1	120,0	122,3
14	2,4	300,5	15,4	176,5	19,4	329,9	47,3	161,4	99,1
15	3,2	277,4	15,8	163,7	19,9	348,1	65,1	113,4	123,8
16	7,2	356,1	12,7	204,9	16,3	389,7	54,1	270,2	86,2
17	11,5	361,5	11,1	199,4	14,7	370,5	46,2	297,1	108,5
18	22,6	344,6	9,6	201,3	14,2	723,0	41,2	323,3	92,4
19	6,7	329,0	12,1	191,1	15,3	381,1	38,8	195,1	102,2
20	5,6	337,8	13,3	179,1	16,8	342,2	49,2	213,8	96,6
21	5,6	259,9	19,3	139,1	24,2	290,1	52,2	139,9	124,9
22	11,6	341,4	12,5	175,4	15,2	372,4	54,5	187,4	92,4
23	5,0	369,7	10,3	198,3	15,6	561,1	59,8	142,6	125,1
24	6,9	389,1	10,2	206,6	15,6	405,2	37,3	179,6	88,4
25	13,7	348,6	13,1	185,6	17,1	331,6	51,6	242,1	115,6
26	7,5	400,3	11,4	206,1	15,8	364,8	65,6	308,1	107,4
27	10,3	370,1	9,1	187,9	14,5	358,3	55,8	343,9	76,9
28	4,0	342,2	11,5	194,0	16,5	467,6	67,9	142,0	115,5
29	21,3	357,7	9,9	192,9	14,8	362,8	42,8	361,2	88,7
30	7,8	338,3	11,7	187,0	14,9	633,5	54,1	206,4	95,4

**Tabela do apêndice 10. Expressão de NCR nas CNK (% de células CD335<sup>+</sup>, CD336<sup>+</sup> e CD337<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD335, CD336 e CD337 e respectivo CV) nas CNK totais.**

INDIVÍDUO	CD335			CD336			CD337		
	%CNK CD335 <sup>+</sup> nas CNK	IMF CD335 AF 647 (u.a.f.)	CV CD335 AF 647 (u.a.f.)	%CNK CD336 <sup>+</sup> nas CNK	IMF CD336 PE (u.a.f.)	CV CD336 PE (u.a.f.)	%CNK CD337 <sup>+</sup> nas CNK	IMF CD337 APC (u.a.f.)	CV CD337 APC (u.a.f.)
01	68,5	44,4	108,2	0,6	91,5	87,3	80,7	44,8	70,5
02	76,4	61,9	102,5	1,5	48,0	107,0	73,6	42,4	75,5
03	47,1	57,6	142,6	0,3	36,7	88,7	55,0	31,1	79,3
04	68,0	63,4	109,8	0,7	40,6	112,3	78,2	40,1	73,2
05	67,9	57,2	108,1	0,6	31,6	169,6	73,7	47,4	72,9
06	69,6	64,4	113,2	0,4	42,7	100,5	62,4	34,1	67,9
07	83,4	70,8	94,6	0,5	46,9	140,9	73,6	48,4	71,9
08	79,7	69,4	100,6	0,6	33,6	73,8	70,1	46,5	72,3
09	75,6	53,4	114,7	0,3	67,7	117,1	61,6	40,9	75,4
10	48,3	46,8	113,5	0,3	63,3	78,7	39,9	35,6	70,6
11	92,6	87,9	98,2	0,6	62,6	110,2	92,6	70,7	66,5
12	75,2	54,0	107,8	0,4	27,6	51,7	59,0	30,9	84,0
13	23,4	40,5	153,9	0,5	31,9	76,1	19,3	19,7	71,8
14	26,9	38,7	125,7	0,3	46,1	62,6	31,5	38,1	78,2
15	73,3	62,8	86,5	0,3	46,8	120,1	79,0	53,6	71,5
16	76,4	58,1	114,4	0,4	66,9	72,9	60,3	35,3	73,8
17	56,8	66,5	124,5	1,5	54,2	124,5	46,6	32,4	81,5
18	89,9	68,6	112,3	0,3	53,9	131,7	66,1	36,1	78,9
19	90,0	91,5	94,9	0,1	91,4	130,5	79,4	48,2	64,9
20	55,2	48,4	98,2	0,3	24,3	62,5	55,2	36,8	86,8
21	30,3	31,6	114,7	0,3	44,1	130,1	81,0	44,8	75,7
22	72,0	53,8	102,5	0,1	33,6	49,8	70,7	42,1	70,9
23	77,2	83,2	103,2	0,2	54,5	46,7	78,3	58,5	74,7
24	79,6	72,3	105,0	0,2	74,9	59,3	67,6	37,9	72,4
25	96,0	79,7	100,3	0,5	15,6	51,1	88,6	40,7	73,9
26	80,1	51,0	107,7	0,2	66,1	207,5	63,5	31,9	68,7
27	62,3	73,7	100,6	0,4	19,1	113,3	73,4	39,9	70,5
28	83,3	48,7	136,3	0,4	36,1	90,5	64,5	40,6	87,4
29	72,7	55,2	107,6	0,4	83,6	155,3	72,5	49,4	76,1
30	77,3	71,7	91,3	0,2	41,6	141,9	69,0	55,1	68,4

**Tabela do apêndice 11. Expressão de NCR (% de células CD335<sup>+</sup>, CD336<sup>+</sup> e CD337<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD335, CD336 e CD337 e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD335			CD336			CD337		
	%CNK CD335 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD335 AF 647 (u.a.f.)	CV CD335 AF 647 (u.a.f.)	%CNK CD336 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD336 PE (u.a.f.)	CV CD336 PE (u.a.f.)	%CNK CD337 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD337 APC (u.a.f.)	CV CD337 APC (u.a.f.)
01	62,9	44,9	99,7	n.a.	n.a.	n.a.	81,3	44,5	71,3
02	68,2	60,9	97,3	n.a.	n.a.	n.a.	70,8	43,0	74,0
03	44,3	52,8	146,7	n.a.	n.a.	n.a.	55,4	30,4	81,2
04	67,5	58,4	111,1	n.a.	n.a.	n.a.	81,5	37,2	76,9
05	62,4	54,0	99,9	n.a.	n.a.	n.a.	88,4	40,3	85,0
06	69,3	56,9	121,3	n.a.	n.a.	n.a.	70,5	30,4	75,8
07	84,6	63,8	95,6	n.a.	n.a.	n.a.	77,1	47,9	74,1
08	77,7	61,0	101,4	n.a.	n.a.	n.a.	73,6	45,9	74,3
09	72,1	50,0	111,1	n.a.	n.a.	n.a.	73,6	35,3	84,9
10	51,8	42,0	121,2	n.a.	n.a.	n.a.	51,9	30,1	83,1
11	95,1	75,0	98,7	n.a.	n.a.	n.a.	94,5	68,6	69,6
12	77,5	48,9	111,5	n.a.	n.a.	n.a.	53,4	31,9	82,3
13	27,9	24,7	58,4	n.a.	n.a.	n.a.	5,4	36,5	62,7
14	27,3	36,1	127,8	n.a.	n.a.	n.a.	40,4	31,0	92,4
15	77,7	55,3	89,4	n.a.	n.a.	n.a.	87,7	50,6	77,3
16	77,0	51,4	113,0	n.a.	n.a.	n.a.	65,1	32,3	77,5
17	53,4	53,2	137,3	n.a.	n.a.	n.a.	45,5	30,1	86,3
18	89,5	54,5	99,6	n.a.	n.a.	n.a.	70,6	27,9	70,4
19	94,4	68,8	100,4	n.a.	n.a.	n.a.	85,3	39,8	71,8
20	64,3	39,8	97,6	n.a.	n.a.	n.a.	65,8	32,0	96,0
21	31,7	28,8	114,7	n.a.	n.a.	n.a.	84,8	42,1	77,6
22	77,2	45,7	102,8	n.a.	n.a.	n.a.	75,2	38,4	74,2
23	72,7	73,3	100,2	n.a.	n.a.	n.a.	76,5	58,2	75,2
24	80,3	63,1	105,3	n.a.	n.a.	n.a.	70,9	35,2	79,4
25	97,3	68,5	99,2	n.a.	n.a.	n.a.	88,6	34,5	59,3
26	82,2	49,7	109,7	n.a.	n.a.	n.a.	71,5	29,4	73,7
27	73,5	55,0	108,2	n.a.	n.a.	n.a.	76,4	37,2	76,0
28	88,0	34,0	122,2	n.a.	n.a.	n.a.	72,5	30,8	77,6
29	81,3	45,4	106,1	n.a.	n.a.	n.a.	76,7	44,9	75,3
30	84,7	64,5	96,8	n.a.	n.a.	n.a.	80,5	48,9	78,0

**Tabela do apêndice 12. Expressão de NCR (% de células CD335<sup>+</sup>, CD336<sup>+</sup> e CD337<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD335, CD336 e CD337 e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>++</sup>.**

INDIVÍDUO	CD335			CD336			CD337		
	%CNK CD335 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>++</sup>	IMF CD335 AF 647 (u.a.f.)	CV CD335 AF 647 (u.a.f.)	%CNK CD336 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>++</sup>	IMF CD336 PE (u.a.f.)	CV CD336 PE (u.a.f.)	%CNK CD337 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>++</sup>	IMF CD337 APC (u.a.f.)	CV CD337 APC (u.a.f.)
01	93,5	130,4	78,8	n.a.	n.a.	n.a.	81,6	50,4	73,7
02	90,9	98,9	76,0	n.a.	n.a.	n.a.	73,9	46,8	74,5
03	84,0	93,9	79,0	n.a.	n.a.	n.a.	70,5	45,3	59,4
04	90,9	132,4	76,6	n.a.	n.a.	n.a.	92,9	61,3	63,1
05	95,2	110,8	62,7	n.a.	n.a.	n.a.	84,5	67,2	72,2
06	93,0	107,9	73,2	n.a.	n.a.	n.a.	79,5	35,6	66,7
07	95,5	136,2	68,2	n.a.	n.a.	n.a.	75,3	29,9	78,0
08	95,1	131,8	71,2	n.a.	n.a.	n.a.	76,6	29,7	87,2
09	90,7	119,4	81,0	n.a.	n.a.	n.a.	82,7	44,4	87,3
10	80,5	61,6	93,8	n.a.	n.a.	n.a.	60,6	22,1	90,1
11	100,0	230,7	46,5	n.a.	n.a.	n.a.	100,0	80,2	50,3
12	100,0	135,4	78,3	n.a.	n.a.	n.a.	98,9	43,2	56,4
13	43,9	56,4	118,2	n.a.	n.a.	n.a.	12,8	38,5	24,4
14	47,6	74,4	94,7	n.a.	n.a.	n.a.	72,9	39,5	70,9
15	91,8	105,6	71,3	n.a.	n.a.	n.a.	57,0	32,5	102,0
16	98,3	163,7	59,8	n.a.	n.a.	n.a.	97,5	47,7	74,1
17	91,6	130,2	74,8	n.a.	n.a.	n.a.	92,9	36,4	66,5
18	100,0	256,4	35,7	n.a.	n.a.	n.a.	97,1	79,2	65,9
19	98,7	196,0	49,2	n.a.	n.a.	n.a.	100,0	69,9	49,7
20	96,4	143,1	74,9	n.a.	n.a.	n.a.	95,3	42,4	84,2
21	81,1	64,6	94,6	n.a.	n.a.	n.a.	100,0	96,2	51,4
22	98,6	164,5	58,4	n.a.	n.a.	n.a.	100,0	67,6	60,7
23	97,5	183,4	61,7	n.a.	n.a.	n.a.	100,0	65,4	68,6
24	100,0	188,4	56,2	n.a.	n.a.	n.a.	100,0	42,4	58,4
25	100,0	226,3	43,2	n.a.	n.a.	n.a.	100,0	99,9	46,7
26	100,0	210,9	42,8	n.a.	n.a.	n.a.	97,1	73,1	48,3
27	98,1	142,5	76,0	n.a.	n.a.	n.a.	97,4	48,5	56,2
28	99,2	225,0	35,9	n.a.	n.a.	n.a.	100,0	118,5	45,4
29	100,0	227,9	40,9	n.a.	n.a.	n.a.	100,0	130,3	47,3
30	99,4	165,2	52,5	n.a.	n.a.	n.a.	97,8	59,2	67,8

**Tabela do apêndice 13. Expressão de KIR (% de células CD158a/h<sup>+</sup> e CD158b1b2/j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nas CNK totais.**

INDIVÍDUO	CD158a/h			CD158b1b2/j		
	%CNK CD158a/h <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD158a/h PE (u.a.f.)	CV CD158a/h PE (u.a.f.)	%CNK CD158b1b2/j <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD158b1b2/j APC (u.a.f.)	CV CD158b1b2/j APC (u.a.f.)
01	21,5	1055,9	72,1	57,2	100,7	89,3
02	35,7	1128,9	65,1	31,9	62,3	98,3
03	6,9	863,4	114,3	45,6	106,0	64,4
04	24,2	1492,5	58,4	33,1	123,5	91,8
05	25,7	1490,6	69,9	43,3	82,1	88,2
06	23,1	809,7	67,2	44,2	53,3	89,3
07	17,4	785,1	63,1	23,8	86,5	82,4
08	14,7	554,1	63,3	31,2	168,3	70,3
09	32,3	706,0	84,0	35,1	81,9	82,3
10	24,8	1068,9	88,6	58,1	77,0	84,6
11	31,1	1611,8	80,3	29,8	143,8	73,2
12	30,3	1120,6	42,5	41,9	182,8	64,1
13	21,7	960,9	92,2	25,3	105,9	74,0
14	11,8	235,7	171,9	53,8	178,6	49,7
15	34,7	966,6	62,1	33,3	135,4	77,3
16	10,7	810,7	72,2	53,5	176,5	58,1
17	11,5	429,6	71,6	53,7	169,4	53,8
18	23,2	1344,5	36,6	29,8	192,9	58,5
19	20,1	910,9	88,4	13,0	144,7	62,7
20	49,0	921,0	61,7	30,1	135,6	62,7
21	24,8	808,5	87,0	50,6	167,2	54,9
22	28,2	1088,4	51,8	29,2	101,9	65,1
23	33,6	703,9	68,5	38,2	169,6	68,2
24	8,6	1603,7	60,1	68,5	127,4	57,2
25	28,2	1140,9	75,3	15,4	162,4	56,7
26	75,1	1278,4	38,8	18,5	172,8	61,6
27	16,6	1069,0	70,4	21,9	124,1	59,2
28	2,3	1110,8	42,7	14,6	228,3	49,9
29	26,8	362,1	68,7	38,9	202,4	67,8
30	46,3	755,3	76,5	38,0	165,1	67,5

**Tabela do apêndice 14. Expressão de KIR (% de células CD158a/h<sup>+</sup> e CD158b1b2/j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD158a/h			CD158b1b2/j		
	%CNK CD158a/h <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158a/h PE (u.a.f.)	CV CD158a/h PE (u.a.f.)	%CNK CD158b1b2/j <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158b1b2/j APC (u.a.f.)	CV CD158b1b2/j APC (u.a.f.)
01	21,8	1093,8	85,5	40,7	307,8	222,9
02	38,3	1117,6	62,3	16,7	488,0	167,2
03	8,7	685,2	117,4	41,1	69,6	411,0
04	26,8	1378,0	64,9	24,4	389,5	198,9
05	27,0	1453,6	72,0	28,0	526,5	177,8
06	25,3	803,4	64,5	19,8	286,0	191,8
07	18,3	787,5	63,4	16,4	243,0	198,1
08	15,7	530,5	64,6	30,9	138,8	213,1
09	34,3	707,2	87,6	26,0	252,1	195,4
10	26,7	1001,9	91,8	40,5	313,6	203,3
11	33,9	1584,4	82,3	26,8	740,6	161,4
12	31,8	1108,1	43,8	42,0	333,3	176,7
13	22,4	955,5	93,4	21,8	252,1	226,0
14	11,3	249,2	172,2	53,7	17,1	853,4
15	35,8	962,4	62,6	31,4	382,0	163,0
16	11,1	805,1	72,2	55,2	88,0	352,0
17	12,6	420,4	63,5	61,6	61,6	273,1
18	25,1	1328,1	37,6	38,5	406,0	169,6
19	22,7	888,9	82,9	20,5	328,1	200,0
20	49,2	926,7	61,2	31,0	414,2	147,9
21	25,9	795,8	88,4	53,3	236,9	227,4
22	29,0	1080,7	52,4	30,7	320,8	188,0
23	35,7	704,1	68,1	42,8	348,6	131,8
24	9,8	1491,9	67,8	73,6	96,2	445,6
25	30,7	1119,4	76,2	20,3	551,8	145,3
26	75,4	1272,4	38,7	18,6	493,7	146,6
27	18,3	1028,4	73,9	27,2	283,3	226,3
28	4,7	559,9	105,6	15,7	28,5	523,9
29	27,5	360,8	68,6	44,9	128,6	163,5
30	47,0	756,0	76,5	40,1	427,8	138,1

**Tabela do apêndice 15. Expressão de KIR (% de células CD158a/h<sup>+</sup> e CD158b1b2/j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nos LT totais.**

INDIVÍDUO	CD158a/h			CD158b1b2/j		
	%LT CD158a/h <sup>+</sup> nos LT	IMF CD158a/h PE (u.a.f.)	CV CD158a/h PE (u.a.f.)	%LT CD158b1b2/j <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD158b1b2/j APC (u.a.f.)	CV CD158b1b2/j APC (u.a.f.)
01	1,1	614,4	192,1	2,5	160,7	76,8
02	0,6	432,1	149,4	2,1	153,3	66,3
03	0,6	347,2	144,5	2,3	149,1	60,5
04	0,3	974,2	116,6	5,5	149,0	41,6
05	0,2	1120,8	122,1	0,5	93,0	60,4
06	0,6	988,3	97,9	2,1	108,8	57,0
07	0,7	550,5	94,9	0,9	118,5	44,0
08	1,4	579,6	45,8	6,3	166,2	66,4
09	0,5	948,1	102,4	0,9	93,4	58,4
10	0,6	482,3	173,6	7,1	72,8	70,2
11	4,8	603,9	105,0	6,8	136,8	48,6
12	1,3	654,0	109,8	1,7	155,1	74,4
13	4,5	919,8	71,8	3,9	75,0	71,3
14	0,9	171,0	156,8	0,7	89,9	82,0
15	1,0	142,2	228,9	0,7	96,4	61,4
16	3,2	978,2	61,2	6,4	223,4	84,6
17	1,0	102,5	100,5	0,7	178,3	78,9
18	5,9	1351,7	41,1	7,0	197,6	50,8
19	1,7	251,3	151,4	1,4	101,4	54,8
20	1,3	858,9	80,4	2,3	142,4	35,0
21	1,0	177,0	192,8	1,1	183,1	86,5
22	5,8	1150,3	39,6	2,2	91,5	45,6
23	1,1	461,6	113,1	1,4	153,1	56,1
24	3,2	793,5	102,6	2,0	124,7	89,0
25	3,3	705,4	87,4	1,6	162,9	52,7
26	5,3	543,0	110,9	2,8	123,4	73,5
27	2,2	150,5	214,7	0,7	87,5	58,8
28	2,2	105,5	223,2	5,7	175,2	41,7
29	1,6	215,2	75,1	4,4	129,7	76,7
30	0,9	305,5	140,7	1,4	119,7	78,3

**Tabela do apêndice 16. Expressão de KIR (% de células CD158a/h<sup>+</sup> e CD158b1b2/j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nos LT CD56<sup>-</sup>.**

INDIVÍDUO	CD158a/h			CD158b1b2/j		
	%LT CD158a/h <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>-</sup>	IMF CD158a/h PE (u.a.f.)	CV CD158a/h PE (u.a.f.)	%LT CD158b1b2/j <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>-</sup>	IMF CD158b1b2/j APC (u.a.f.)	CV CD158b1b2/j APC (u.a.f.)
01	0,0	397,8	218,3	0,0	101,2	89,1
02	0,0	367,3	169,7	0,0	117,7	66,5
03	0,0	187,4	157,9	1,4	139,3	76,9
04	0,0	357,8	172,9	4,2	145,6	41,0
05	0,0	971,4	95,4	0,0	71,7	61,4
06	0,0	681,9	96,9	1,1	107,6	53,2
07	0,0	608,0	90,9	0,0	119,0	43,3
08	0,0	408,5	73,9	1,8	135,7	68,3
09	0,0	628,4	85,6	0,0	89,0	51,5
10	0,0	898,0	100,8	0,0	74,7	73,5
11	1,7	458,0	136,2	1,6	117,7	58,1
12	1,5	432,4	129,9	1,3	157,9	72,2
13	3,8	1066,7	59,5	2,6	71,8	71,7
14	0,0	161,0	168,2	0,0	88,8	79,9
15	0,0	836,6	101,4	0,0	94,8	59,7
16	1,1	534,2	129,7	2,2	116,5	60,7
17	0,0	437,7	93,7	0,0	79,9	109,8
18	1,0	490,4	122,1	1,7	111,3	97,9
19	1,7	133,7	163,6	1,3	77,0	70,4
20	0,0	244,4	226,3	2,1	144,6	33,6
21	0,0	994,5	82,8	0,0	87,8	139,1
22	2,1	1074,0	42,8	1,1	76,5	59,4
23	0,0	861,8	51,7	0,0	135,2	51,3
24	0,0	1409,2	41,5	0,0	91,9	67,2
25	0,0	651,1	54,2	0,0	127,8	57,5
26	0,0	1009,2	38,5	1,0	116,3	77,8
27	0,0	1619,5	50,4	0,0	109,0	56,9
28	0,0	1245,3	51,0	5,2	179,0	36,6
29	1,6	134,7	124,6	2,3	113,8	85,8
30	0,0	245,6	151,2	0,0	130,3	88,3

**Tabela do apêndice 17. Expressão de KIR (% de células CD158a/h<sup>+</sup> e CD158b1b2/j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158a/h e de CD158b1b2/j e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD158a/h			CD158b1b2/j		
	%LT CD158a/h <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158a/h PE (u.a.f.)	CV CD158a/h PE (u.a.f.)	%LT CD158b1b2/j <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158b1b2/j APC (u.a.f.)	CV CD158b1b2/j APC (u.a.f.)
01	2,9	890,4	113,5	23,2	163,4	73,8
02	2,6	443,4	114,1	14,1	178,1	59,1
03	1,7	537,8	65,5	10,7	153,0	58,3
04	1,7	684,0	105,8	26,4	146,9	54,4
05	2,6	565,9	101,8	9,2	115,6	50,9
06	5,5	943,1	53,8	18,8	94,0	59,9
07	2,3	591,6	82,6	2,5	116,2	49,4
08	3,7	587,8	47,6	14,4	170,8	67,4
09	4,1	846,2	60,9	7,4	94,0	68,8
10	2,0	308,3	125,2	30,5	74,9	67,7
11	9,7	840,0	61,3	21,0	142,7	45,4
12	7,0	884,7	57,4	15,4	147,5	80,9
13	13,8	420,0	108,6	18,3	90,0	60,8
14	4,7	213,1	71,7	10,8	89,1	91,2
15	2,6	660,1	125,1	7,7	93,7	53,7
16	25,4	1224,3	28,5	59,3	268,5	77,4
17	2,2	126,1	184,8	4,0	174,1	55,3
18	24,5	1443,0	30,8	28,0	209,9	43,0
19	6,0	555,2	76,0	6,3	123,4	47,2
20	16,0	1188,7	75,1	5,1	136,8	36,7
21	2,1	233,9	175,4	17,7	196,3	81,6
22	39,4	1182,8	38,4	18,1	81,0	54,2
23	10,0	698,2	51,5	17,3	160,0	62,2
24	23,0	1354,6	35,6	17,5	139,7	57,2
25	13,4	989,6	50,8	9,5	171,4	53,2
26	32,0	898,1	57,1	24,4	128,0	72,0
27	3,6	327,7	129,4	4,6	81,7	54,5
28	8,0	138,0	162,4	20,0	165,2	64,5
29	3,9	244,6	65,3	13,2	137,3	72,6
30	3,5	576,0	87,7	12,1	111,0	75,5

**Tabela do apêndice 18. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nas CNK totais**

INDIVÍDUO	CD158e1/e2			CD158i		
	%CNK CD158e1e2 <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD158e1e2 PE (u.a.f.)	CV CD158e1e2 PE (u.a.f.)	%CNK CD158i <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD158i PE (u.a.f.)	CV CD158i PE (u.a.f.)
01	15,1	414,7	31,4	58,8	246,2	69,4
02	14,1	534,4	39,9	52,8		69,4
03	15,5	149,9	49,9	0,0 (Negativo)		
04	11,8	440,1	40,5	54,0	308,3	63,5
05	26,9	188,0	60,3	0,0 (Negativo)		
06	21,2	306,8	70,3	46,0	167,1	88,3
07	14,5	183,9	50,8	0,0 (Negativo)		
08	12,0	395,0	70,0	52,2	311,2	64,8
09	31,2	407,4	56,3	0,0 (Negativo)		
10	22,6	492,8	55,0	0,0 (Negativo)		
11	19,1	542,3	37,6	0,0 (Negativo)		
12	9,3	578,6	38,6	47,9	173,1	68,2
13	6,5	99,6	47,5	0,0 (Negativo)		
14	5,3	75,4	46,0	0,0 (Negativo)		
15	19,8	383,7	49,8	74,2	294,0	67,1
16	19,4	182,2	37,7	0,0 (Negativo)		
17	3,2	539,6	35,7	53,7	160,9	68,6
18	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
19	5,9	874,7	39,5	40,0	293,0	76,5
20	17,0	697,3	37,0	28,2	412,5	46,5
21	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
22	24,0	444,3	37,1	0,0 (Negativo)		
23	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
24	13,2	792,8	36,3	0,0 (Negativo)		
25	5,3	169,7	49,1	0,0 (Negativo)		
26	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
27	21,2	185,8	48,1	0,0 (Negativo)		
28	37,7	711,1	28,4	24,3	459,2	58,3
29	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
30	12,9	731,5	39,4	49,5	271,3	88,7

**Tabela do apêndice 19. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD158e1/e2			CD158i		
	%CNK CD158e1e2 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158e1e2 PE (u.a.f.)	CV CD158e1e2 PE (u.a.f.)	%CNK CD158i <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158i PE (u.a.f.)	CV CD158i PE (u.a.f.)
01	15,3	411,6	32,7	60,3	242,6	71,0
02	15,1	533,1	42,1	45,6	17,4	82,6
03	16,0	149,3	50,4	0,0 (Negativo)		
04	12,2	440,4	41,8	56,5	302,9	65,7
05	27,7	185,3	61,5	0,0 (Negativo)		
06	22,8	303,5	71,2	50,3	162,9	88,0
07	15,3	184,2	50,4	0,0 (Negativo)		
08	12,5	390,3	70,5	53,9	312,9	64,3
09	32,1	409,4	56,3	0,0 (Negativo)		
10	23,8	491,3	55,6	0,0 (Negativo)		
11	20,4	544,6	38,6	0,0 (Negativo)		
12	9,4	594,9	35,1	49,2	174,3	67,9
13	6,7	103,3	53,0	0,0 (Negativo)		
14	5,4	75,0	48,0	0,0 (Negativo)		
15	20,3	388,1	49,2	75,5	294,4	67,1
16	20,0	182,5	37,8	0,0 (Negativo)		
17	3,4	535,6	37,1	57,6	160,4	68,8
18	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
19	6,6	876,7	38,6	43,5	292,3	76,9
20	17,5	696,4	37,7	28,7	410,0	47,6
21	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
22	24,7	447,1	37,6	0,0 (Negativo)		
23	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
24	13,9	775,8	38,8	0,0 (Negativo)		
25	5,3	171,7	47,9	0,0 (Negativo)		
26	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
27	23,1	185,8	48,1	0,0 (Negativo)		
28	39,7	714,1	27,7	25,9	448,3	61,3
29	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
30	13,1	732,3	39,3	49,5	274,7	87,3

**Tabela do apêndice 20. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nos LT totais.**

INDIVÍDUO	CD158e1/e2			CD158i		
	%LT CD158e1e2 <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD158e1e2 PE (u.a.f.)	CV CD158e1e2 PE (u.a.f.)	%LT CD158i <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD158i PE (u.a.f.)	CV CD158i PE (u.a.f.)
01	0,3	310,2	32,2	1,9	82,9	96,1
02	0,3	294,1	47,1	7,8	42,3	59,0
03	8,5	126,8	31,5	0,0 (Negativo)		
04	0,4	291,1	45,0	2,7	258,4	63,5
05	0,4	80,7	72,8	0,0 (Negativo)		
06	0,5	255,0	55,8	2,4	135,9	82,2
07	0,2	145,9	64,9	0,0 (Negativo)		
08	7,0	273,3	40,3	5,4	112,5	97,9
09	1,6	239,3	80,5	0,0 (Negativo)		
10	1,8	277,3	64,8	0,0 (Negativo)		
11	3,9	379,0	38,8	0,0 (Negativo)		
12	0,6	400,7	44,3	1,8	101,4	83,6
13	1,7	62,3	161,8	0,0 (Negativo)		
14	0,2	66,7	53,4	0,0 (Negativo)		
15	0,3	204,9	74,9	0,7	89,1	116,2
16	0,5	157,2	45,1	0,0 (Negativo)		
17	0,9	441,0	27,3	1,1	92,0	91,3
18	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
19	0,1			1,1	189,8	79,3
20	0,2	405,2	50,9	0,1	332,6	63,0
21	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
22	2,5	254,1	32,8	0,0 (Negativo)		
23	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
24	0,5	366,3	46,0	0,0 (Negativo)		
25	0,3	110,0	64,3	0,0 (Negativo)		
26	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
27	1,0	89,0	50,2	0,0 (Negativo)		
28	1,1	361,3	34,7	1,5	181,8	98,7
29	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
30	0,6	485,1	36,5	0,9	161,7	94,3

**Tabela do apêndice 21. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD158e1/e2			CD158i		
	%LT CD158e1e2 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158e1e2 PE (u.a.f.)	CV CD158e1e2 PE (u.a.f.)	%LT CD158i <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158i PE (u.a.f.)	CV CD158i PE (u.a.f.)
01	0,0	268,7	30,2	0,0	92,9	97,9
02	0,0	282,7	63,2	0,0	60,7	44,2
03	2,7	117,9	31,8	0,0 (Negativo)		
04	0,0	190,6	80,2	1,0	255,8	75,2
05	0,0	65,9	49,2	0,0 (Negativo)		
06	0,0	270,5	60,2	1,1	128,6	81,5
07	0,0	158,8	58,9	0,0 (Negativo)		
08	3,5	275,1	30,8	1,1	80,1	91,8
09	0,0	250,6	59,7	0,0 (Negativo)		
10	0,0	286,8	74,5	0,0 (Negativo)		
11	0,0	312,1	160,3	0,0 (Negativo)		
12	0,0	321,3	49,8	1,4	94,1	84,0
13	1,2	53,4	57,1	0,0 (Negativo)		
14	0,0	64,6	44,5	0,0 (Negativo)		
15	0,0	196,0	78,3	0,0	65,4	124,7
16	0,0	174,7	41,9	0,0 (Negativo)		
17	0,0	346,0	40,0	0,0	103,3	84,6
18	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
19	0,0	648,5	35,5	0,0	178,0	83,8
20	0,0	448,7	75,0	0,0	103,1	58,4
21	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
22	0,0	255,6	34,8	0,0 (Negativo)		
23	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
24	0,0	354,5	47,9	0,0 (Negativo)		
25	0,0	122,7	62,1	0,0 (Negativo)		
26	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
27	0,0	92,6	50,0	0,0 (Negativo)		
28	1,0	345,5	32,5	1,1	182,4	98,5
29	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
30	0,0	499,4	38,5	0,0	194,9	70,7

**Tabela do apêndice 22. Expressão de KIR (% de células CD158e1/e2<sup>+</sup> e CD158i<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD158e1/e2 e de CD158i e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD158e1/e2			CD158i		
	%LT CD158e1e2 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158e1e2 PE (u.a.f.)	CV CD158e1e2 PE (u.a.f.)	%LT CD158i <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD158i PE (u.a.f.)	CV CD158i PE (u.a.f.)
01	2,7	312,6	43,1	18,4	80,2	94,6
02	2,3	301,0	39,4	24,9	73,5	495,0
03	55,3	130,0	31,3	0,0 (Negativo)		
04	3,9	333,4	27,9	25,6	256,4	57,5
05	8,4	93,3	72,2	0,0 (Negativo)		
06	4,8	235,2	53,6	21,1	150,5	77,6
07	1,0	117,6	78,9	0,0 (Negativo)		
08	13,8	273,9	43,6	12,8	126,0	188,4
09	20,6	232,0	90,5	0,0 (Negativo)		
10	8,3	274,7	62,3	0,0 (Negativo)		
11	14,9	385,8	37,7	0,0 (Negativo)		
12	9,7	502,1	28,4	20,5	100,5	110,7
13	9,7	57,3	47,2	0,0 (Negativo)		
14	1,2	92,9	62,1	0,0 (Negativo)		
15	2,4	233,2	66,5	13,5	99,4	121,8
16	4,6	138,5	51,1	0,0 (Negativo)		
17	7,0	457,1	23,7	5,7	86,4	96,6
18	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
19	0,0	571,1	63,8	9,7	202,2	81,5
20	0,0			3,2	176,7	107,1
21	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
22	14,1	252,7	32,2	0,0 (Negativo)		
23	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
24	3,1	377,6	45,9	0,0 (Negativo)		
25	1,8	106,9	63,0	0,0 (Negativo)		
26	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
27	9,0	85,5	52,9	0,0 (Negativo)		
28	4,2	438,4	43,8	10,5	178,9	100,2
29	0,0 (Negativo)			0,0 (Negativo)		
30	4,6	479,2	33,1	6,9	153,5	107,1

**Tabela do apêndice 23. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nas CNK totais.**

INDIVÍDUO	CD94			CD159a		
	%CNK CD94 <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD94 APC (u.a.f.)	CV CD94 APC (u.a.f.)	%CNK CD159a <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD159a PE (u.a.f.)	CV CD159a PE (u.a.f.)
01	89,0	121,9	84,2	61,1	462,4	66,9
02	89,8	157,2	95,5	59,2	333,2	78,4
03	88,1	178,7	73,1	32,2	526,7	71,5
04	85,2	127,4	91,6	63,0	425,2	82,5
05	88,2	162,7	94,1	67,7	552,8	76,1
06	76,8	87,4	133,2	42,4	395,9	99,2
07	89,1	118,3	98,0	63,9	400,8	82,5
08	81,7	129,8	95,5	63,7	447,5	82,9
09	76,2	100,7	129,9	38,6	412,9	97,3
10	81,1	104,3	91,1	33,8	534,8	88,8
11	79,4	138,5	88,7	63,9	489,5	73,6
12	74,8	107,4	99,9	32,9	441,1	93,0
13	43,2	88,9	86,4	34,9	390,2	89,2
14	44,6	56,9	120,7	15,3	328,8	82,7
15	59,2	86,8	128,6	32,3	351,3	114,3
16	42,5	129,9	123,6	26,9	552,6	93,1
17	80,4	166,9	67,5	29,1	477,5	99,0
18	85,9	128,9	117,5	37,6	473,3	102,0
19	82,4	157,9	103,3	59,2	552,5	90,2
20	73,9	132,5	76,8	47,9	422,7	79,1
21	66,2	100,8	105,6	30,6	424,0	84,6
22	57,6	131,4	114,1	28,6	389,3	97,6
23	85,5	135,8	84,0	56,6	506,8	82,9
24	88,1	128,4	105,0	21,3	809,5	80,4
25	78,7	108,2	103,2	59,4	348,4	88,9
26	86,8	71,3	76,2	11,8	378,8	82,2
27	69,7	166,0	90,1	56,4	422,7	82,4
28	74,3	136,2	117,5	30,2	757,9	62,8
29	84,7	129,7	92,7	56,4	446,2	77,8
30	74,4	101,6	104,2	48,6	301,1	103,3

**Tabela do apêndice 24. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD94			CD159a		
	%CNK CD94 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD94 APC (u.a.f.)	CV CD94 APC (u.a.f.)	%CNK CD94 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD159a PE (u.a.f.)	CV CD159a PE (u.a.f.)
01	87,6	120,9	80,9	60,2	457,8	63,9
02	88,1	135,5	88,3	56,8	297,4	76,7
03	86,9	174,4	72,0	30,4	512,5	70,6
04	85,0	116,8	88,6	61,5	389,7	76,6
05	86,5	147,2	86,8	67,1	521,3	74,6
06	64,5	64,8	114,9	35,8	271,4	103,0
07	85,3	102,0	83,7	61,0	346,7	73,4
08	78,7	114,7	89,5	60,3	411,0	79,7
09	73,9	77,6	111,7	35,5	311,6	90,6
10	85,9	92,5	92,2	31,4	461,3	90,5
11	72,4	131,8	81,8	61,7	418,8	69,2
12	72,4	101,6	97,7	30,0	403,9	92,4
13	41,2	78,6	81,1	29,1	325,6	84,7
14	45,2	47,7	118,2	13,6	308,6	82,0
15	56,2	60,7	116,4	29,4	252,5	117,9
16	42,3	106,7	126,1	24,3	493,6	89,3
17	73,2	163,6	54,5	24,1	314,8	101,0
18	81,6	110,6	104,0	33,0	382,1	91,7
19	78,7	120,7	103,8	50,6	418,9	86,0
20	76,5	125,5	77,6	46,5	408,7	72,7
21	63,9	98,3	100,8	29,5	390,4	81,4
22	58,3	115,8	118,9	26,0	313,2	92,8
23	88,5	110,5	78,6	53,3	415,6	72,3
24	86,5	109,0	88,3	14,8	550,6	87,0
25	75,9	90,5	104,0	56,3	320,1	88,8
26	88,7	68,7	73,5	11,4	371,7	80,6
27	71,3	132,6	95,3	52,6	382,8	82,8
28	29,5	221,6	51,3	25,7	621,8	56,3
29	84,6	120,9	88,3	54,4	418,3	69,5
30	79,4	87,1	98,9	46,4	270,8	90,4

**Tabela do apêndice 25. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>++</sup>.**

INDIVÍDUO	CD94			CD159a		
	%CNK CD94+ nas CNK D56++	IMF CD94 APC (u.a.f.)	CV CD94 APC (u.a.f.)	%CNK CD159a+ nas CNK CD56++	IMF CD159a PE (u.a.f.)	CV CD159a PE (u.a.f.)
01	100,0	348,4	55,0	98,3	1096,4	52,3
02	99,8	366,5	59,4	99,8	546,6	63,2
03	100,0	291,3	63,1	95,5	666,5	70,9
04	100,0	330,0	51,1	93,2	1024,6	50,0
05	100,0	481,8	43,0	100,0	1225,2	40,5
06	100,0	293,7	53,2	100,0	777,0	56,9
07	100,0	367,5	44,3	100,0	940,7	49,7
08	100,0	335,6	50,2	93,1	856,8	57,6
09	100,0	378,0	57,7	100,0	918,5	57,6
10	100,0	256,2	62,6	100,0	982,1	60,2
11	100,0	338,2	43,3	100,0	996,7	43,7
12	100,0	252,9	66,1	96,4	866,9	60,7
13	74,8	156,9	73,9	100,0	722,7	62,7
14	82,5	185,8	62,2	83,0	485,1	72,9
15	100,0	288,3	56,2	100,0	899,3	53,0
16	99,5	314,1	75,9	100,0	1113,1	63,2
17	100,0	268,6	69,2	89,1	956,1	56,8
18	99,2	485,4	41,9	100,0	1057,9	64,0
19	100,0	355,6	52,8	93,3	1065,1	51,1
20	96,9	362,2	55,5	100,0	1213,6	49,3
21	100,0	346,6	56,4	100,0	990,7	55,4
22	89,6	349,9	51,4	100,0	817,4	63,9
23	100,0	320,8	50,2	100,0	1151,5	48,8
24	100,0	416,0	54,8	100,0	1293,0	53,2
25	100,0	288,0	45,5	100,0	562,9	70,0
26	100,0	308,1	46,5	100,0	606,5	71,4
27	100,0	335,3	52,6	100,0	694,0	59,5
28	100,0	438,7	48,4			
29	100,0	445,6	44,8	100,0	1117,1	53,4
30	100,0	396,4	52,7	100,0	993,3	57,4

**Tabela do apêndice 26. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nos LT totais.**

INDIVÍDUO	CD94			CD159a		
	%LT CD94 <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD94 APC (u.a.f.)	CV CD94 APC (u.a.f.)	%LT CD159a <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD159a PE (u.a.f.)	CV CD159a PE (u.a.f.)
01	5,8	238,9	48,3	5,4	604,59	56,91
02	2,1	246,9	63,8	2,1	435,41	76,93
03	10,5	239,4	45,1	1,8	835,72	57,21
04	9,2	318,9	53,3	6,9	969,29	50,67
05	1,5	372,3	53,2	2,2	855,32	73,56
06	3,9	199,7	53,1	4,1	477,69	76,63
07	7,9	304,8	54,0	9,0	750,65	65,86
08	30,4	329,7	36,9	30,5	905,29	37,9
09	2,0	328,3	65,4	2,0	889,82	75,73
10	5,2	218,0	65,5	4,5	713,36	62,27
11	26,5	329,2	53,4	24,8	919,23	46,36
12	2,1	347,1	51,6	2,5	831,59	60,95
13	9,8	188,7	56,7	9,7	589,54	60,09
14	1,9	159,9	58,7	1,8	460,75	64,86
15	1,5	210,1	50,1	1,7	519,49	67,42
16	3,4	467,7	63,4	4,0	1162,55	77,36
17	1,1	227,8	54,3	1,1	564,36	78,52
18	18,7	246,3	52,6	15,3	690,28	56,62
19	1,4	284,6	58,6	1,4	747,78	74,81
20	3,5	272,0	55,0	4,0	743,55	57,68
21	2,2	272,9	58,6	2,2	692,78	78,77
22	6,0	246,6	49,2	2,6	569,35	70,2
23	6,9	236,9	49,1	7,0	699,3	52,32
24	2,0	290,8	77,6	1,0	1255,58	74,36
25	5,1	248,5	63,7	3,8	650,91	74,62
26	3,6	219,0	57,4	3,7	566,05	80,23
27	8,5	321,4	52,4	9,3	691,41	55,67
28	0,8	269,8	54,0	1,0	563,42	63,45
29	3,1	408,5	42,8	3,6	981,07	54,33
30	3,6	318,7	52,9	3,8	778,65	64,63

Tabela do apêndice 27. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nos LT CD56<sup>-</sup>.

INDIVÍDUO	CD94			CD159a		
	%LT CD94 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>-</sup>	IMF CD94 APC (u.a.f.)	CV CD94 APC (u.a.f.)	%LT CD94 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>-</sup>	IMF CD159a PE (u.a.f.)	CV CD159a PE (u.a.f.)
01	2,5	250,4	56,5	2,3	640,5	63,7
02				1,7	442,3	77,2
03	5,4	252,3	50,4	1,7	830,2	57,0
04	7,6	242,4	88,4	3,3	1071,8	57,0
05				1,7	819,8	73,5
06	3,2	181,0	69,4	2,7	518,6	79,5
07	6,9	290,4	59,8	6,6	766,6	61,9
08	11,2	342,1	34,8	9,2	914,4	35,2
09	1,5	359,3	63,6	1,3	1027,2	64,3
10	2,1	264,8	74,4	1,9	781,6	74,5
11	6,1	235,0	66,4	5,7	622,7	63,5
12	1,9	334,9	56,5	2,0	832,2	61,8
13	7,7	202,4	54,6	7,5	624,6	58,2
14	1,5	145,9	63,0	1,2	439,9	69,9
15	1,5	177,6	57,8	1,3	519,2	68,7
16	3,2	468,8	65,3	3,6	1195,4	76,2
17	0,0	251,1	48,7	0,0	574,5	77,6
18	8,6	288,1	51,7	8,5	770,9	58,2
19	1,3	259,0	63,3	1,2	740,8	71,9
20	2,2	293,1	56,8	2,5	782,5	59,7
21	1,3	285,0	83,6	1,4	780,2	72,3
22	2,3	249,4	51,1	1,6	638,7	68,7
23	5,3	241,4	45,7	5,6	690,5	51,6
24	0,0	402,2	62,4	3,2	1468,4	100,3
25	2,8	289,6	63,1	2,1	688,5	72,1
26	1,7	234,2	55,7	2,0	578,7	79,1
27	1,6	278,6	66,0	1,7	660,3	63,0
28	0,0	232,4	59,8	1,0	568,2	62,8
29	2,3	335,0	53,7	2,0	947,6	53,7
30	1,7	317,3	54,9	1,7	746,5	67,6

**Tabela do apêndice 28. Expressão de KLR (% de células CD94<sup>+</sup> e CD159a<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD94 e de CD159a e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD94			CD159a		
	%LT CD94 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD94 APC (u.a.f.)	CV CD94 APC (u.a.f.)	%LT CD159a <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD159a PE (u.a.f.)	CV CD159a PE (u.a.f.)
01	55,6	214,0	47,2	40,8	584,1	49,5
02	5,0	289,6	46,2	7,4	367,3	88,6
03	60,9	219,9	41,4	2,7	834,6	61,2
04	81,9	271,9	51,7	60,6	879,2	40,7
05				23,1	961,2	72,8
06	35,6	157,3	52,4	26,9	395,8	67,7
07	39,9	269,8	59,9	46,9	679,2	73,1
08	71,8	325,3	37,9	71,9	901,9	38,6
09	17,5	221,4	72,9	15,9	644,4	99,0
10	17,3	194,9	50,3	15,7	671,4	51,5
11	91,9	340,2	50,0	81,6	974,7	42,2
12	18,5	288,1	56,8	22,5	803,1	62,2
13	44,9	142,8	64,0	39,7	510,3	60,5
14	33,6	146,4	70,2	26,5	492,6	51,8
15	16,7	212,1	54,9	21,1	476,7	73,3
16	7,9	363,6	70,9	9,6	920,2	92,8
17	4,0	224,0	53,9	5,4	521,8	86,6
18	63,7	210,2	55,5	42,1	624,0	52,0
19	8,2	244,6	78,6	5,3	743,7	83,4
20	29,7	236,4	50,0	34,9	701,8	50,4
21	32,2	212,4	64,0	16,4	556,1	87,1
22	45,0	222,6	52,9	11,0	490,6	66,4
23	45,3	227,6	57,5	40,3	710,8	57,6
24	21,1	180,7	84,1	3,2	1468,4	100,3
25	22,5	202,4	56,2	15,1	532,2	70,5
26	35,9	184,5	66,4	28,4	546,6	83,0
27	75,2	326,4	51,3	70,3	693,4	54,0
28	9,4	265,4	64,4	1,0	569,3	62,1
29	9,2	383,6	51,9	9,5	965,5	60,2
30	32,0	303,7	56,1	32,0	780,4	65,1

**Tabela do apêndice 29. Expressão de KLR (% de células CD161<sup>+</sup> e CD314<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nas CNK totais.**

INDIVÍDUO	CD161			CD314		
	%CNK CD161 <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD161 PE (u.a.f.)	CV CD161 PE (u.a.f.)	%CNK CD314 <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD314 APC (u.a.f.)	CV CD314 APC (u.a.f.)
01	97,2	197,8	64,1	87,6	43,1	66,1
02	94,5	312,7	63,8	90,1	62,7	68,6
03	61,5	188,4	79,3	90,2	48,3	69,9
04	86,0	156,8	82,6	90,7	57,8	73,4
05	88,7	205,7	68,7	95,1	71,5	68,2
06	91,2	198,7	65,2	87,6	52,8	70,8
07	90,6	185,3	75,3	97,0	64,5	60,3
08	91,8	320,8	67,4	92,9	52,9	70,9
09	94,4	268,8	66,9	95,0	48,7	77,0
10	61,3	181,6	77,3	94,1	52,4	72,5
11	92,3	193,9	70,9	96,9	57,4	73,4
12	83,9	179,7	73,5	96,0	63,1	68,7
13	67,5	137,5	86,2	78,1	40,6	72,5
14	96,4	223,4	55,6	91,5	59,0	63,1
15	94,2	200,3	70,8	89,0	53,5	69,4
16	74,2	152,1	90,5	92,6	56,1	71,7
17	80,6	178,1	90,4	93,5	65,6	66,2
18	90,1	247,0	66,3	91,9	65,8	64,7
19	87,8	264,6	73,4	93,4	72,1	68,6
20	98,7	150,3	72,0	68,3	39,3	68,3
21	88,9	241,7	69,6	94,0	62,1	68,0
22	80,9	158,0	82,2	83,9	57,2	70,0
23	80,4	196,0	70,5	91,5	63,0	65,3
24	97,1	209,2	72,8	94,6	73,8	60,7
25	91,7	195,0	71,8	90,9	50,8	77,7
26	51,7	117,0	89,2	96,7	67,3	65,1
27	82,8	142,8	81,0	94,9	66,8	67,4
28	76,7	162,1	89,6	97,5	91,4	62,4
29	97,6	309,3	61,6	96,9	72,5	61,5
30	91,3	228,3	66,9	93,0	59,3	65,7

**Tabela do apêndice 30. Expressão de KIR (% de células CD161<sup>+</sup> e CD314<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD161			CD314		
	%CNK CD161 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD161 PE (u.a.f.)	CV CD161 PE (u.a.f.)	%CNK CD314 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD314 APC (u.a.f.)	CV CD314 APC (u.a.f.)
01	97,4	197,6	63,3	82,8	44,7	62,0
02	95,3	322,0	62,4	88,2	63,8	65,3
03	60,0	192,0	78,5	89,5	48,3	68,9
04	85,9	159,3	76,4	91,1	54,8	69,8
05	84,9	216,5	65,4	92,8	73,1	66,0
06	96,5	203,2	63,5	89,8	47,9	67,2
07	93,4	187,3	74,4	96,7	63,8	61,3
08	94,2	332,8	65,2	91,4	52,4	68,2
09	95,2	273,1	66,6	90,4	49,0	71,3
10	62,6	180,9	77,6	89,5	52,1	64,4
11	96,8	194,8	84,1	96,3	56,3	73,3
12	83,8	183,3	66,4	93,1	63,9	66,5
13	66,9	142,2	125,7	83,8	40,7	170,6
14	96,9	226,1	58,9	91,4	59,2	62,7
15	94,2	201,8	67,9	91,9	51,7	68,1
16	77,5	148,9	92,3	91,5	55,4	70,8
17	82,7	183,0	87,9	90,4	67,7	63,0
18	90,9	252,6	65,0	97,5	59,8	64,8
19	93,3	278,4	71,4	91,4	64,1	63,9
20	97,2	152,9	70,7	82,4	34,0	77,9
21	89,5	242,3	69,6	96,5	59,5	69,1
22	80,2	159,8	80,2	88,6	53,6	72,9
23	83,4	195,8	71,2	91,2	60,2	61,3
24	97,0	216,1	70,0	96,4	70,7	61,6
25	92,3	198,8	67,7	92,2	46,0	71,0
26	51,0	119,1	87,9	97,0	66,6	64,7
27	61,5	114,3	107,5	95,8	63,0	67,8
28	76,4	170,0	86,4	98,3	86,0	61,3
29	98,4	310,3	56,9	96,5	71,0	59,9
30	91,0	230,4	66,4	90,7	59,5	63,9

**Tabela do apêndice 31. Expressão de KLR (% de células CD161<sup>+</sup> e CD314<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>++</sup>.**

INDIVÍDUO	CD161			CD314		
	%CNK CD161 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>++</sup>	IMF CD161 PE (u.a.f.)	CV CD161 PE (u.a.f.)	%CNK CD314 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>++</sup>	IMF CD314 APC (u.a.f.)	CV CD314 APC (u.a.f.)
01	78,6	189,1	81,4	86,0	72,2	71,8
02	75,5	171,7	88,3	78,9	73,9	67,5
03	62,7	183,4	88,2	72,7	63,1	70,5
04	63,4	114,3	83,8	85,1	128,8	54,2
05	84,3	160,9	68,0	71,6	97,3	60,7
06	44,3	101,9	92,4	75,8	102,6	54,2
07	46,8	148,6	98,2	93,8	89,2	62,8
08	52,7	162,9	82,7	77,3	80,5	53,6
09	76,9	211,5	76,5	89,2	80,6	70,8
10	58,9	141,4	83,2	86,1	104,8	57,9
11	55,2	141,6	101,1	96,1	78,2	58,2
12	51,3	122,6	88,6	100,0	78,1	54,6
13	64,8	131,6	88,6	42,3	43,3	73,9
14	66,7	114,0	92,0	58,6	68,0	55,6
15	66,5	150,2	85,6	66,5	71,4	79,4
16	51,2	155,8	116,8	80,1	98,2	46,5
17	51,5	150,9	106,6	77,9	72,6	64,7
18	74,1	193,5	79,4	98,6	130,4	52,3
19	61,5	139,0	98,0	100,0	119,0	51,8
20	77,3	187,6	81,1	92,4	62,5	64,5
21	62,8	194,6	74,6	100,0	114,9	56,9
22	55,8	171,0	95,5	92,5	85,5	61,9
23	46,0	152,0	88,7	97,5	100,4	61,2
24	73,9	138,4	74,4	97,5	95,7	59,3
25	89,2	122,5	92,3	98,4	89,5	53,9
26	38,7	165,1	117,0	100,0	146,7	50,2
27	51,2	96,2	95,6	99,1	96,9	54,8
28	41,4	138,9	82,6	99,5	148,7	48,2
29	65,7	191,2	88,3	98,2	130,2	48,9
30	73,6	198,7	88,5	100,0	93,9	53,8

**Tabela do apêndice 32. Expressão de KLR (% de células CD161<sup>+</sup> e CD314<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nos LT totais.**

INDIVÍDUO	CD161			CD314		
	%LT CD161 <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD161 PE (u.a.f.)	CV CD161 PE (u.a.f.)	%LT CD314 <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD314 APC (u.a.f.)	CV CD314 APC (u.a.f.)
01	19,6	291,6	136,3	34,3	84,6	55,8
02	25,4	397,8	115,8	35,0	82,7	63,3
03	34,3	217,6	111,4	44,6	102,1	54,0
04	25,5	265,1	105,8	30,0	105,5	60,1
05	25,1	225,8	106,3	29,8	112,0	58,0
06	34,7	327,8	108,7	45,6	77,8	58,1
07	27,3	413,7	106,1	49,7	82,9	59,3
08	41,3	328,3	120,4	59,4	70,1	57,1
09	36,8	352,5	109,6	21,1	92,4	57,4
10	19,8	216,6	138,4	29,8	73,5	66,7
11	18,7	315,6	136,1	50,0	79,6	61,6
12	24,6	241,4	104,7	34,8	105,2	59,3
13	29,5	176,8	116,6	47,5	57,7	59,3
14	25,5	174,6	96,3	20,1	83,3	59,0
15	24,7	198,0	123,5	27,3	85,3	56,2
16	19,5	323,6	103,1	37,2	105,7	61,1
17	20,5	394,4	120,0	42,9	75,1	60,0
18	38,7	262,8	105,7	52,3	93,9	58,0
19	47,2	350,4	104,6	35,5	101,5	63,9
20	39,6	324,7	97,6	31,0	70,5	60,6
21	23,1	255,6	125,7	24,5	112,0	57,6
22	28,2	477,8	109,4	44,4	87,3	61,5
23	30,8	235,5	101,3	30,8	91,6	54,2
24	24,1	309,8	99,0	32,7	94,5	56,8
25	40,5	289,3	97,6	35,1	85,6	53,3
26	18,3	215,3	126,9	53,8	113,6	54,6
27	32,6	190,7	109,3	33,8	90,9	51,3
28	29,9	260,7	104,7	38,5	107,3	50,4
29	37,8	252,4	110,2	30,6	107,1	57,8
30	26,5	339,1	123,8	27,9	93,4	55,4

**Tabela do apêndice 33. Expressão de KLR (% de células CD161<sup>+</sup> e CD314<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD161			CD314		
	%LT CD161 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD161 PE (u.a.f.)	CV CD161 PE (u.a.f.)	%LT CD314 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD314 APC (u.a.f.)	CV CD314 APC (u.a.f.)
01	17,7	282,0	127,4	29,9	86,0	55,5
02	21,5	353,0	111,2	30,8	87,3	58,9
03	35,7	212,7	115,0	39,7	97,7	53,8
04	24,6	273,3	99,1	24,1	109,2	50,5
05	23,9	224,7	98,1	29,1	110,7	58,9
06	32,9	317,8	109,2	41,1	80,9	55,6
07	24,4	348,6	105,5	48,7	81,9	59,4
08	30,3	260,6	126,1	40,7	75,8	53,6
09	36,4	300,3	108,7	17,7	96,6	53,9
10	21,0	207,9	130,9			
11	23,1	271,7	139,9	35,2	82,8	55,8
12	23,2	232,2	100,4	33,1	107,3	54,4
13	26,6	163,1	114,3	42,0	61,4	54,3
14	25,0	176,0	95,7	18,6	82,7	59,5
15	23,4	187,8	117,3	25,7	86,0	55,8
16	19,3	295,5	100,3	31,3	111,7	58,2
17	18,2	302,8	114,1	39,4	72,9	60,2
18	35,8	260,0	104,4	40,0	97,9	53,3
19	45,0	338,7	97,8	33,6	103,5	61,0
20	40,6	291,3	96,1	30,4	69,5	62,3
21	22,9	214,2	111,4	20,9	117,2	51,1
22	26,7	401,8	116,5	39,0	89,9	59,5
23	29,0	229,1	94,6	28,1	91,5	53,3
24	23,3	303,2	100,0	29,5	95,0	57,3
25	38,6	273,2	96,1	29,7	88,7	50,6
26	16,1	195,9	113,5	51,2	114,6	53,9
27	32,3	188,4	98,8	26,8	89,6	50,6
28	29,8	250,6	101,3	36,3	108,8	49,1
29	36,2	244,4	106,4	19,6	116,2	55,7
30	23,0	288,4	126,0	23,1	92,5	53,8

**Tabela do apêndice 34. Expressão de KLR (% de células CD161<sup>+</sup> e CD314<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD161 e de CD314 e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD161			CD314		
	%LT CD161 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD161 PE (u.a.f.)	CV CD161 PE (u.a.f.)	%LT CD314 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD314 APC (u.a.f.)	CV CD314 APC (u.a.f.)
01	39,5	395,0	147,8	89,8	75,9	59,8
02	62,0	618,4	113,6	77,3	62,8	80,6
03	37,0	170,7	115,5	88,4	118,1	52,3
04	20,3	338,1	128,8	95,5	105,8	58,2
05	43,2	446,6	114,0	75,0	114,5	56,1
06	70,4	424,9	100,6	93,1	70,6	60,7
07	76,8	829,4	70,0	86,6	76,7	73,1
08	64,8	392,7	112,3	95,8	65,8	58,5
09	63,8	942,4	59,6	85,4	73,5	72,5
10	15,4	253,7	164,7	85,6	51,0	77,9
11	5,3	921,7	75,9	97,2	73,7	61,6
12	62,7	424,1	95,4	83,7	100,0	61,7
13	69,1	235,6	155,4	79,3	51,0	59,9
14	37,2	187,3	103,6	84,8	84,4	58,3
15	56,2	500,1	92,7	93,1	78,9	62,1
16	19,0	724,0	105,4	94,1	93,3	61,7
17	41,5	748,6	95,3	84,7	74,8	67,4
18	52,8	280,0	157,7	96,8	89,3	55,6
19	64,8	553,3	108,3	60,9	82,7	66,0
20	49,3	686,3	79,8	72,7	57,3	67,0
21	45,1	530,6	91,1			
22	46,9	809,3	78,2	85,4	79,7	67,1
23	73,5	292,1	114,6	93,5	97,1	55,8
24	37,3	358,2	93,0	82,6	89,7	55,3
25	62,7	342,5	101,8	76,8	75,2	62,4
26	38,5	378,4	120,1	93,5	107,6	59,6
27	25,6	286,2	131,3	94,7	94,5	52,2
28	39,9	499,6	100,3	80,0	104,2	48,2
29	50,5	243,2	133,9	70,2	97,5	59,4
30	82,3	511,3	108,1	81,9	98,3	56,8

**Tabela do apêndice 35. Expressão de LILR (% de células CD85j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nas CNK totais.**

INDIVÍDUO	CD85j		
	%CNK CD85j <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD85j PE (u.a.f.)	CV CD85j PE (u.a.f.)
01	40,7	54,7	71,7
02	14,8	89,7	59,1
03	79,1	114,6	48,6
04	18,1	64,1	63,7
05	41,8	66,2	71,7
06	28,9	51,3	58,2
07	34,2	65,3	60,2
08	38,8	62,7	65,3
09	40,0	71,4	50,8
10	39,4	49,3	53,5
11	47,5	55,1	62,0
12	67,6	86,2	53,0
13	59,0	113,3	62,5
14	70,6	100,4	49,9
15	45,6	41,0	63,5
16	85,7	113,0	45,7
17	25,7	77,9	60,6
18	66,6	58,5	58,2
19	44,0	68,0	87,5
20	52,9	80,3	56,0
21	87,0	99,7	46,3
22	64,3	75,5	65,4
23	54,4	105,5	93,0
24	73,1	160,4	42,3
25	32,5	39,0	70,2
26	78,9	93,6	55,9
27	20,4	57,9	63,8
28	77,5	162,6	56,7
29	73,8	102,5	70,6
30	32,7	91,6	87,8

**Tabela do apêndice 36. Expressão de LILR (% de células CD85j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nas CNK 56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD85j		
	%CNK CD85j <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD85j PE (u.a.f.)	CV CD85j PE (u.a.f.)
01	38,2	56,2	61,4
02	15,1	88,7	60,6
03	81,5	114,6	48,2
04	19,7	65,4	71,3
05	43,8	65,4	72,0
06	31,1	54,7	69,4
07	36,3	65,6	60,5
08	40,1	64,6	76,4
09	43,2	73,0	55,2
10	41,4	48,8	50,6
11	49,2	56,6	60,9
12	66,9	90,1	51,5
13	58,0	116,0	62,7
14	73,6	100,0	48,8
15	46,0	41,0	52,2
16	87,9	114,3	44,1
17	29,8	72,3	63,7
18	72,5	56,5	54,1
19	53,8	62,2	73,9
20	55,4	79,6	61,5
21	88,6	99,1	45,1
22	65,6	76,1	62,8
23	59,4	98,7	65,1
24	78,6	159,9	40,7
25	33,9	37,7	65,0
26	80,3	93,8	55,6
27	21,8	56,2	53,0
28	82,2	159,0	56,2
29	73,3	103,7	65,1
30	32,3	94,0	84,9

**Tabela do apêndice 37. Expressão de LILR (% de células CD85j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nos LT totais.**

INDIVÍDUO	CD85j		
	%LT CD85j <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD85j PE (u.a.f.)	CV CD85j PE (u.a.f.)
01	13,7	133,1	39,7
02	9,3	143,9	50,7
03	30,2	120,2	48,5
04	10,3	110,8	50,8
05	5,8	106,6	57,9
06	15,1	114,4	46,6
07	7,3	110,7	57,8
08	37,5	119,0	52,9
09	6,4	105,3	49,5
10	20,7	109,9	47,8
11	32,5	154,1	39,2
12	9,6	96,1	56,6
13	30,9	131,8	48,7
14	13,8	102,4	49,2
15	11,6	80,4	58,5
16	15,2	121,6	55,1
17	10,8	109,5	58,6
18	25,9	70,4	58,9
19	12,3	98,0	66,6
20	11,5	113,3	52,8
21	12,5	112,9	51,5
22	16,3	129,0	40,7
23	7,6	115,3	58,1
24	11,5	113,5	52,7
25	15,4	94,1	61,5
26	16,1	86,6	62,2
27	11,3	111,8	45,7
28	22,6	133,5	58,2
29	22,8	175,1	54,3
30	7,0	118,7	68,5

**Tabela do apêndice 38. Expressão de LILR (% de células CD85j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nos LT CD56<sup>-</sup>.**

INDIVÍDUO	CD85j		
	%LT CD85j <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>-</sup>	IMF CD85j PE (u.a.f.)	CV CD85j PE (u.a.f.)
01	8,3	133,6	42,3
02	6,5	133,9	53,9
03	23,3	118,8	50,4
04	6,1	109,9	49,4
05	4,8	101,1	55,3
06	11,7	118,0	43,2
07	6,2	109,9	56,2
08	18,6	124,0	49,5
09	4,7	101,6	48,2
10	10,4	117,6	46,4
11	12,4	118,4	55,9
12	7,9	97,9	52,2
13	29,1	138,6	45,1
14	11,8	104,8	48,3
15	10,5	79,0	56,6
16	10,2	120,4	61,7
17	7,8	108,7	60,6
18	13,5	73,8	60,7
19	9,4	93,5	64,9
20	9,3	111,0	54,7
21	9,4	103,8	56,4
22	10,9	132,2	43,1
23	5,8	111,1	66,3
24	7,5	101,3	57,1
25	10,3	86,7	49,1
26	12,4	86,1	62,3
27	4,3	89,9	59,7
28	20,9	133,4	57,5
29	9,9	131,8	62,4
30	4,2	125,8	64,7

**Tabela do apêndice 39. Expressão de LILR (% de células CD85j<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD85j e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD85j		
	%LT CD85j <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD85j PE (u.a.f.)	CV CD85j PE (u.a.f.)
01	81,5	133,6	34,2
02	40,6	156,4	48,6
03	93,6	119,1	46,2
04	71,0	109,7	49,3
05	54,8	111,1	55,5
06	59,7	113,6	42,8
07	20,6	116,2	53,2
08	78,6	112,0	57,4
09	36,4	113,2	40,2
10	64,2	104,0	48,8
11	93,0	168,3	30,1
12	49,8	110,7	47,8
13	54,7	94,6	58,0
14	91,0	97,6	42,9
15	44,3	104,6	49,1
16	78,9	122,8	34,8
17	34,4	111,9	54,2
18	72,9	66,6	50,1
19	48,8	115,7	57,8
20	50,3	123,1	45,0
21	60,8	123,9	36,2
22	70,0	138,1	33,9
23	55,0	119,3	57,2
24	76,4	132,1	44,9
25	49,6	98,3	50,3
26	65,6	91,5	59,9
27	79,1	121,6	38,9
28	64,7	151,6	52,6
29	71,2	199,2	46,4
30	43,6	104,0	78,3

**Tabela do apêndice 40. Expressão de outros KR (% de células CD160<sup>+</sup>, CD226<sup>+</sup> e CD244<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nas CNK totais.**

INDIVÍDUO	CD160			CD226			CD244		
	%CNK CD160 <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD160 AF 647 (u.a.f.)	CV CD160 AF 647 (u.a.f.)	%CNK CD226 <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD226 PE (u.a.f.)	CV CD226 PE (u.a.f.)	%CNK CD244 <sup>+</sup> nas CNK totais	IMF CD244 APC (u.a.f.)	CV CD244 APC (u.a.f.)
01	94,2	140,2	62,2	41,3	167,5	115,8	99,6	147,8	31,2
02	81,7	99,6	70,1	66,9	17,7	125,9	99,5	149,2	35,8
03	55,4	82,2	82,2	49,1	21,9	136,9	98,7	136,9	37,3
04	76,3	94,5	78,1	37,8	27,3	93,0	99,3	148,9	35,4
05	77,6	95,5	78,7	49,9	28,5	266,4	98,3	153,2	33,6
06	83,4	119,3	68,1	25,2	28,4	74,9	99,0	132,5	36,6
07	91,1	110,8	66,5	63,8	24,3	81,6	99,4	151,5	33,4
08	82,9	111,1	77,9	48,5	21,6	171,5	99,3	137,5	38,4
09	79,5	119,0	71,1	67,2	27,2	109,6	99,0	149,4	35,8
10	56,5	70,8	82,5	37,9	24,0	121,0	99,0	87,2	55,9
11	31,9	114,1	67,1	87,1	46,6	74,8	99,6	151,8	35,2
12	79,0	82,4	87,0	65,1	22,1	82,9	99,6	125,5	39,5
13	53,3	70,6	89,1	67,5	26,7	90,0	94,2	95,0	51,2
14	64,7	87,3	86,8	91,5	38,2	79,8	97,8	111,1	40,4
15	88,8	124,9	63,8	80,0	25,5	83,5	98,6	128,7	37,6
16	81,7	110,4	74,8	66,5	32,6	100,0	99,6	148,9	33,7
17	45,6	96,9	97,8	69,4	28,8	76,3	99,2	136,3	40,0
18	44,9	122,3	67,6	76,1	28,3	103,6	99,5	151,1	31,3
19	76,5	99,4	88,9	69,6	24,0	93,9	99,2	132,3	37,0
20	72,1	84,5	72,5	92,7	33,4	72,3	99,5	117,2	35,0
21	75,3	125,4	85,7	79,0	31,5	88,2	99,8	160,8	32,0
22	74,5	116,6	67,3	77,2	38,6	107,4	99,8	139,4	35,2
23	78,5	100,9	78,8	98,7	32,1	63,2	99,4	139,2	35,6
24	73,6	107,5	86,0	96,9	23,3	89,1	99,1	140,3	35,8
25	76,7	91,0	70,3	41,1	29,3	114,8	99,9	161,7	32,2
26	63,0	66,0	98,0	20,8	33,3	90,2	99,8	132,7	35,9
27	87,0	125,5	69,9	40,6	20,5	136,1	99,5	143,9	37,4
28	77,3	68,8	87,2	86,4	47,6	98,4	99,0	159,4	31,3
29	72,6	128,6	73,0	93,6	70,2	105,2	99,4	161,6	31,2
30	89,4	133,0	70,3	74,8	47,8	164,2	99,9	172,0	31,3

**Tabela do apêndice 41. Expressão de outros KR (% de células CD160<sup>+</sup>, CD226<sup>+</sup> e CD244<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD160			CD226			CD244		
	%CNK CD160 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD160 AF 647 (u.a.f.)	CV CD160 AF 647 (u.a.f.)	%CNK CD226 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD226 PE (u.a.f.)	CV CD226 PE (u.a.f.)	%CNK CD244 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>+</sup>	IMF CD244 APC (u.a.f.)	CV CD244 APC (u.a.f.)
01				52,6	135,7	135,3	99,8	148,0	31,1
02	88,8	98,1	72,4	47,6	23,3	108,9	99,8	154,1	32,7
03	67,3	72,3	93,5	40,8	25,7	316,5	99,1	139,0	35,9
04	85,2	88,5	84,2	29,5	42,4	571,4	99,4	150,9	34,1
05	84,7	90,5	83,3	41,8	33,1	138,3	98,8	155,3	32,2
06	92,0	118,0	69,6	32,9	26,5	101,9	99,4	136,0	33,6
07	95,5	111,6	69,8	60,4	26,2	77,4	99,7	154,9	31,1
08	88,3	110,2	79,3	44,6	23,9	164,7	99,5	140,8	36,0
09	87,4	114,4	75,0	58,4	31,3	96,5	99,5	154,4	32,1
10	63,6	66,1	89,5	30,0	30,5	115,8	99,3	89,4	53,9
11	92,1	111,2	76,9	88,7	51,8	154,1	99,5	156,0	32,7
12	82,6	82,0	89,5	58,4	25,1	95,0	99,7	127,4	38,4
13	56,9	69,1	91,2	73,6	27,8	138,9	98,7	96,3	50,2
14	67,5	85,7	87,3	85,7	42,8	94,4	99,1	111,3	40,5
15	92,0	124,2	64,3	74,6	28,2	117,1	99,6	131,7	35,6
16	85,9	105,6	75,5	66,4	34,0	102,1	99,6	150,9	32,5
17	55,5	83,4	106,7	69,2	31,3	73,8	98,8	142,9	36,3
18	92,1	118,1	77,9	62,0	34,0	89,3	98,9	150,1	31,3
19	84,2	92,9	94,7	69,9	26,4	81,4	98,7	137,0	35,7
20	82,2	78,9	73,7	90,0	35,7	148,3	99,4	117,8	34,5
21	84,0	116,6	90,6	74,0	33,8	80,3	99,8	161,4	31,7
22	83,3	108,8	74,3	76,2	40,4	109,1	99,7	141,1	34,2
23	84,5	98,0	80,1	97,2	32,5	64,7	99,0	142,2	35,0
24	84,1	93,9	91,6	67,5	28,5	63,9	99,4	144,3	33,4
25	87,6	83,7	102,4	34,2	36,1	105,4	100,0	161,4	31,8
26	71,7	58,2	105,5	27,5	27,9	110,2	99,9	132,6	36,0
27	91,0	124,1	71,2	36,7	22,6	118,8	99,3	147,0	35,7
28	84,7	60,7	96,8	89,0	49,0	96,8	98,8	158,1	31,0
29	83,1	114,2	83,3	96,8	71,1	223,9	99,3	161,1	31,2
30	94,2	127,3	73,7	73,8	48,6	160,3	99,8	173,2	30,7

**Tabela do apêndice 42. Expressão de outros KR (% de células CD160<sup>+</sup>, CD226<sup>+</sup> e CD244<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nas CNK CD56<sup>++</sup>.**

INDIVÍDUO	CD160			CD226			CD244		
	%CNK CD160 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>++</sup>	IMF CD160 AF 647 (u.a.f.)	CV CD160 AF 647 (u.a.f.)	%CNK CD226 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>++</sup>	IMF CD226 PE (u.a.f.)	CV CD226 PE (u.a.f.)	%CNK CD244 <sup>+</sup> nas CNK CD56 <sup>++</sup>	IMF CD244 APC (u.a.f.)	CV CD244 APC (u.a.f.)
01	0,0			3,2	35,5	30,7	93,9	110,2	58,5
02	0,0			2,6	47,4	159,7	95,7	91,8	57,5
03	0,0			7,8	23,0	56,1	86,4	88,0	50,4
04	0,0			1,9	77,6	89,1	89,8	86,7	61,1
05	0,0			1,9	30,4	39,2	97,0	80,6	64,3
06	0,0			3,6	39,0	91,5	95,3	102,0	59,1
07	0,0			11,5	20,6	117,9	95,6	88,1	60,8
08	0,0			4,7	15,0	42,2	87,6	65,4	67,5
09	0,0			7,0	29,3	83,7	93,4	69,0	66,8
10	0,0			5,8	38,6	77,0	91,1	29,8	76,1
11	0,0			3,5	50,5	78,9	99,0	96,8	62,4
12	0,0			4,9	20,7	52,3	97,5	66,2	64,1
13	0,0			6,7	46,7	104,9	43,2	40,8	86,6
14	0,0			11,5	36,0	77,8	59,2	51,4	86,8
15	0,0			8,5	38,1	57,8	81,8	64,3	60,8
16	0,0			9,3	67,5	99,8	96,0	113,0	46,1
17	0,0			4,0	27,3	58,6	97,9	69,8	60,2
18	0,0			5,7	43,0	87,0	98,0	148,7	43,2
19	0,0			7,5	57,2	73,5	100,0	108,4	40,3
20	0,0			2,0	59,4	22,3	100,0	66,4	60,5
21	0,0			2,8	72,5	37,2	98,4	112,3	52,6
22	0,0			9,0	45,2	45,7	99,5	85,1	55,1
23	0,0				33,2	27,6	98,8	104,4	50,5
24	0,0				28,7	41,7	90,7	83,3	50,3
25	0,0			8,8	39,9	79,6	100,0	167,0	38,1
26	0,0			7,5	42,0	105,1	97,4	112,5	54,6
27	0,0			4,9	17,3	70,8	99,7	109,4	52,4
28	0,0			16,5	54,7	99,0	100,0	169,8	39,9
29	0,0			13,0	105,8	65,3	100,0	169,9	35,9
30	0,0			15,2	89,3	110,0	100,0	118,9	46,9

**Tabela do apêndice 43. Expressão de outros KR (% de células CD160<sup>+</sup>, CD226<sup>+</sup> e CD244<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nos LT totais.**

INDIVÍDUO	CD160			CD226			CD244		
	%LT CD160 <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD160 AF 647 (u.a.f.)	CV CD160 AF 647 (u.a.f.)	%LT CD226 <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD226 PE (u.a.f.)	CV CD226 PE (u.a.f.)	%LT CD244 <sup>+</sup> nos LT totais	IMF CD244 APC (u.a.f.)	CV CD244 APC (u.a.f.)
01	3,5	89,7	63,3	56,1	41,3	109,6	17,9	86,6	49,1
02	8,9	64,8	61,7	52,5	33,5	62,7	26,2	87,2	58,3
03	19,6	87,0	68,2	61,9	31,8	57,0	41,2	115,5	59,4
04	12,3	132,5	57,7	59,9	41,1	108,5	23,7	116,3	53,1
05	3,8	81,2	75,4	66,2	41,9	101,3	11,7	80,6	56,4
06	15,4	79,1	74,7	53,1	32,3	74,3	27,0	82,8	51,8
07	10,5	74,4	63,5	66,6	35,0	67,5	22,7	85,1	54,3
08	3,6	114,3	56,0	71,2	34,2	56,6	52,6	88,3	46,1
09	7,2	74,0	70,7	53,3	35,4	80,5	14,4	99,5	59,1
10	3,9	55,6	67,8	70,0	46,5	85,8	35,5	74,9	49,8
11	2,5	133,1	59,8	85,3	84,0	66,2	40,9	93,9	46,0
12	6,7	82,8	60,6	41,1		75,3	18,3	78,9	61,0
13	3,9	45,0	74,1	58,9	41,7	94,6	47,4	64,0	49,4
14	3,2	69,6	74,0	76,5	43,6	75,5	17,3	83,9	49,2
15	12,5	72,1	66,9	76,8	55,1	82,9	22,6	79,2	53,6
16	6,1	137,0	63,1	61,5	44,0	72,2	25,5	101,0	47,6
17	4,3	89,4	72,8	57,6	56,5	82,0	27,0	101,7	47,2
18	11,9	87,6	62,3	61,5	44,3	68,1	33,1	79,2	63,2
19	10,7	91,7	73,1	72,1	53,7	79,1	22,5	70,9	62,7
20	1,4	117,1	54,6	75,7	63,5	82,1	22,8	80,7	63,9
21	9,8	83,6	86,3	73,3	59,4	71,9	26,2	92,7	51,3
22	8,6	92,1	85,2	66,7	59,2	77,4	17,8	101,1	45,3
23	9,2	116,5	61,5	63,4	46,6	99,8	20,3	87,1	57,9
24	6,4	85,3	74,5	61,0	47,8	76,7	30,5	95,7	51,8
25	9,9	71,9	68,1	71,9	46,7	80,0	48,8	98,5	47,8
26	29,6	102,5	76,1	62,3	37,9	241,3	21,5	85,2	52,5
27	8,6	86,4	67,1	65,9	40,7	64,3	34,5	122,9	47,1
28	24,6	74,3	74,1	81,6	115,0	68,7	38,3	94,3	53,0
29	5,8	77,5	74,2	85,9	106,8	80,5	16,8	93,0	53,5
30	2,9	122,8	64,4	65,3	73,9	117,6	40,7	86,7	50,8

**Tabela do apêndice 44. Expressão de outros KR (% de células CD160<sup>+</sup>, CD226<sup>+</sup> e CD244<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD160			CD226			CD244		
	%LT CD160 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD160 AF 647 (u.a.f.)	CV CD160 AF 647 (u.a.f.)	%LT CD226 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD226 PE (u.a.f.)	CV CD226 PE (u.a.f.)	%LT CD244 <sup>+</sup> nos LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD244 APC (u.a.f.)	CV CD244 APC (u.a.f.)
01	1,9	104,4	59,7	57,0	41,3	84,1	11,3	87,0	50,9
02	5,7	76,7	52,8	53,7	33,5	63,0	19,5	85,4	57,7
03	13,0	79,4	67,9	67,2	31,6	57,1	34,4	99,0	58,5
04	9,7	135,5	57,9	62,9	40,8	107,6	18,5	108,3	58,7
05	2,7	95,7	66,8	67,7	41,3	101,0	9,9	77,2	56,7
06	11,5	91,0	62,8	55,2	31,9	75,5	22,5	82,2	50,4
07	11,7	66,8	70,8	68,3	34,7	68,4	19,5	85,7	54,5
08	7,8	83,6	76,1	70,9	30,1	60,4	29,3	84,7	49,0
09	6,9	71,3	74,3	55,2	35,1	80,8	10,6	97,1	62,2
10	4,4	52,0	72,6	74,4	47,4	87,4	20,5	81,9	46,0
11	3,7	105,8	68,5	82,1	92,9	62,3	21,9	76,0	54,4
12	6,5	81,1	62,9	59,9	40,9	65,7	16,1	79,9	57,4
13	2,6	48,4	65,9	77,9	43,5	74,3	43,7	64,4	47,6
14	2,8	67,4	75,2	78,4	54,2	80,8	15,8	81,4	48,7
15	11,4	73,9	66,6	62,4	43,1	69,3	20,3	80,5	51,8
16	6,5	130,9	66,9	58,2	56,9	82,4	19,2	98,3	49,4
17	3,3	99,4	67,9	60,6	44,0	70,9	18,0	105,4	44,8
18	12,7	76,4	67,0	78,6	67,3	63,6	24,8	73,7	52,8
19	9,7	94,3	73,2	72,3	53,7	65,7	27,5	83,6	60,0
20	1,3	104,2	40,2	76,1	63,5	84,1	17,2	71,1	59,4
21	8,9	77,4	81,2	73,6	59,9	73,5	19,3	74,4	59,2
22	7,7	97,1	85,6	67,9	59,6	77,7	17,9	93,3	51,6
23	6,7	125,1	54,6	64,4	46,1	98,4	14,0	98,2	44,9
24	6,2	74,3	84,0	60,9	46,8	75,7	14,5	81,4	59,7
25	6,6	90,0	59,1	74,1	47,4	77,6	23,6	91,4	54,9
26	27,0	109,7	70,7	64,2	36,1	86,5	45,9	101,0	47,0
27	6,2	94,4	69,3	68,8	40,8	60,0	12,6	79,7	55,7
28	23,1	75,9	72,8	82,0	115,1	69,4	32,4	123,9	46,9
29	6,0	65,2	84,8	85,9	106,2	82,8	22,5	84,0	58,4
30	2,5	120,7	64,5	64,9	73,2	120,6	11,1	87,5	56,7

**Tabela do apêndice 45. Expressão de outros KR (% de células CD160<sup>+</sup>, CD226<sup>+</sup> e CD244<sup>+</sup>, IMF de expressão de CD160, CD226 e CD244 e respectivo CV) nos LT CD56<sup>+</sup>.**

INDIVÍDUO	CD160			CD226			CD244		
	%LT CD160 <sup>+</sup> NOS LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD160 AF 647 (U.A.F.)	CV CD160 AF 647 (U.A.F.)	%LT CD226 <sup>+</sup> NOS LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD226 PE (U.A.F.)	CV CD226 PE (U.A.F.)	%LT CD244 <sup>+</sup> NOS LT CD56 <sup>+</sup>	IMF CD244 APC (U.A.F.)	CV CD244 APC (U.A.F.)
01	33,9	55,9	76,7	64,7	31,7	79,5	92,8	88,5	48,1
02	21,5	62,9	60,9	58,2	25,6	56,9	92,3	92,7	57,6
03	56,7	101,2	55,2	30,8	25,4	59,5	96,3	167,6	42,9
04	69,6	95,0	77,1	33,7	28,6	76,4	98,2	137,8	36,9
05	16,4	79,5	69,7	62,1	33,1	102,6	82,9	95,6	51,8
06	51,5	59,9	83,9	47,7	27,3	85,4	93,0	86,8	53,2
07	47,8	41,7	90,6	66,0	31,3	68,2	76,4	76,5	59,1
08	30,3	29,0	89,2	70,9	30,1	60,4	99,0	90,6	44,2
09	44,1	48,8	88,8	43,1	25,2	97,3	88,7	104,3	52,7
10	27,9	24,6	83,1	58,8	38,3	82,0	97,8	68,0	53,4
11	3,4	84,1	61,8	97,7	59,7	54,8	98,2	106,9	36,8
12	49,2	51,7	82,3	67,5	43,1	391,2	86,1	89,0	55,2
13	20,6	20,4	58,3	76,4	44,7	128,2	92,8	63,7	57,1
14	31,6	67,0	80,2	74,3	58,3	163,4	92,2	99,1	51,5
15	62,9	53,9	69,9	81,9	38,4	75,2	92,8	81,1	46,5
16	32,6	52,6	95,9	66,5	38,0	86,8	94,7	112,0	38,2
17	16,5	56,4	91,3	82,0	42,3	63,5	91,3	101,5	45,4
18	42,3	56,0	87,3	81,8	55,9	65,0	96,8	100,0	43,8
19	34,6	57,6	89,2	81,2	47,0	200,9	82,0	80,9	54,9
20	43,0	46,5	121,4	85,1	55,7	57,3	89,2	85,6	54,4
21	53,8	68,3	131,1	82,7	48,8	104,4	93,8	95,6	42,8
22	36,1	44,6	109,0	66,7	48,4	85,5	87,3	97,2	45,1
23	70,2	85,4	77,0	73,6	42,3	147,6	94,3	117,9	36,9
24	28,7	74,6	82,0	83,1	45,2	66,7	92,5	110,0	41,3
25	40,3	36,4	79,1	64,8	37,6	112,5	83,5	101,1	48,6
26	46,8	52,8	86,2	58,7	29,6	62,6	92,4	91,4	43,1
27	56,8	50,7	72,4	48,5	24,6	75,6	91,9	97,3	42,1
28	54,3	64,9	82,8	87,6	103,1	79,6	90,8	116,4	44,9
29	9,6	81,9	69,1	87,5	107,4	73,4	97,5	103,1	47,1
30	30,8	55,6	108,1	88,5	72,2	114,4	87,9	101,2	48,1