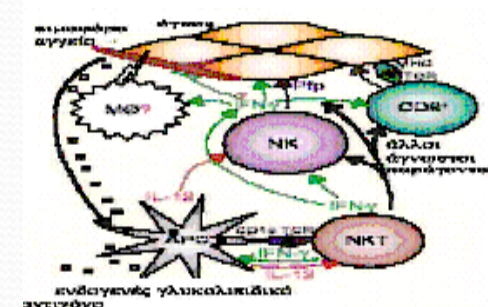
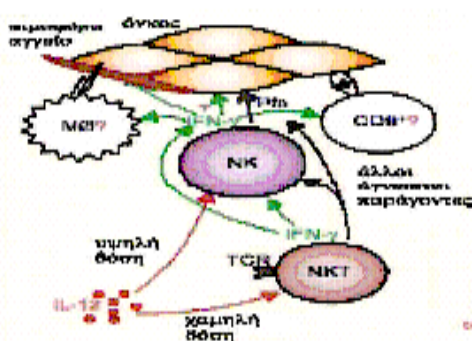


ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΟΙ

NK ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Κώνστα Ευγενία, Χημικός, MSc Κλινικής Χημείας, PhD

**Επιστημονικός Συνεργάτης, Β΄ Παθολογική Προπαιδευτική Κλινική,
Αιματολογική Μονάδα, Π.Γ.Ν “Αττικόν”**

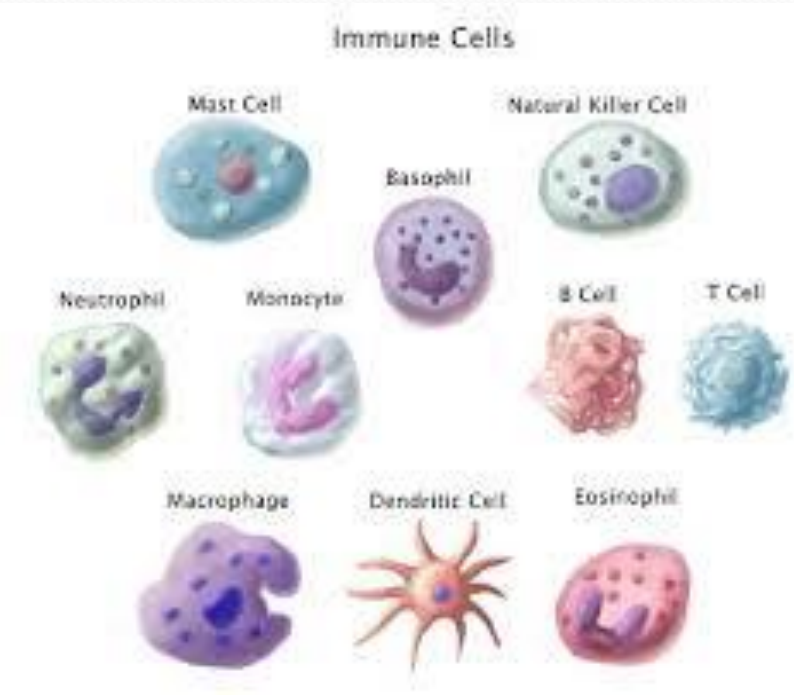




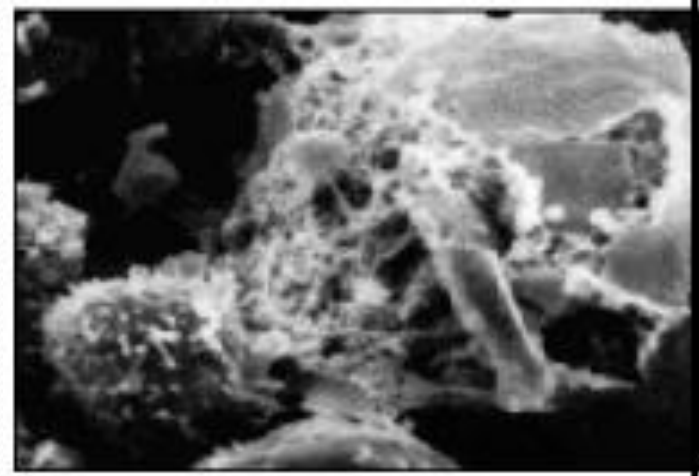
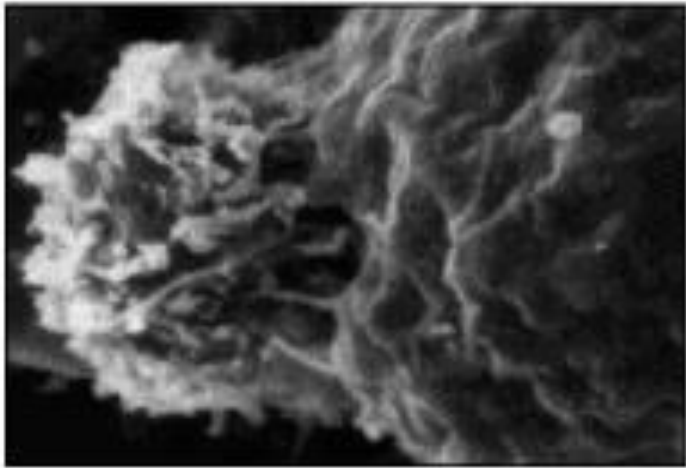
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΦΥΣΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΟΚΤΟΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (NK ΚΥΤΤΑΡΑ)

- Παραγωγή πρόδρομων μορφών στον μυελό των οστών
- 10-15% των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος – ανεύρεση και στον μυελό, λεμφαδένες, σπλήνα, πλακούντα, κλπ.
- Μορφολογία μεγάλων κοκκιωδών λεμφοκυττάρων
- Κύτταρα της μη ειδικής ανοσίας [όχι ειδικές συνθήκες ενεργοποίησης, όχι ανοσολογική μνήμη]



NK ΚΥΤΤΑΡΑ (2)



- Εξουδετέρωση καρκινικών και προσβεβλημένων από διάφορους ιούς κύτταρα
- Μετά από ενεργοποίηση (IL-12, IL-15, IL-18):
 - έκκριση κυτταροκινών (π.χ. IFN- γ , TNF)
 - αύξηση έκφρασης NKG υποδοχέων [CD94/NKG2A, CD94/NKG2C] και CD69
 - μείωση έκφρασης KIR υποδοχέων και CD57
- Πλήρης ανεπάρκεια NK κυττάρων → κατάληξη ασθενών σε πολύ μικρή ηλικία λόγω λοιμώξεων

NK ΚΥΤΤΑΡΑ (3)

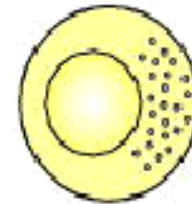
➤ Ηλικιακή κατανομή:

- Από την παιδική ηλικία στην ενήλικη ζωή:
 1. Μείωση NK κυττάρων
 2. Έκφραση CD27^{high}
 3. Αυξημένη κυτταροτοξικότητα
 4. Αυξημένη παραγωγή IFN-γ
- Στους ηλικιωμένους:
 1. Αύξηση NK κυττάρων
 2. Έκφραση CD27^{low}
 3. Μειωμένη κυτταροτοξικότητα
 4. Μειωμένη παραγωγή κυτταροκινών

➤ Οροθετικότητα στον CMV:

- Δεν επηρεάζεται το ποσοστό των NK κυττάρων και των υποπληθυσμών τους
- Αυξημένη έκφραση CD57 και CD94/NKG2C
- Μειωμένη έκφραση granzyme A και B [στους ηλικιωμένους]

Φυσικό Κυτταροκτόνο (NK) κύτταρο



Εκκρίνει λυτικές πρωτεΐνες, που καταστρέφουν κύτταρα προσβεβλημένα από ιούς.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

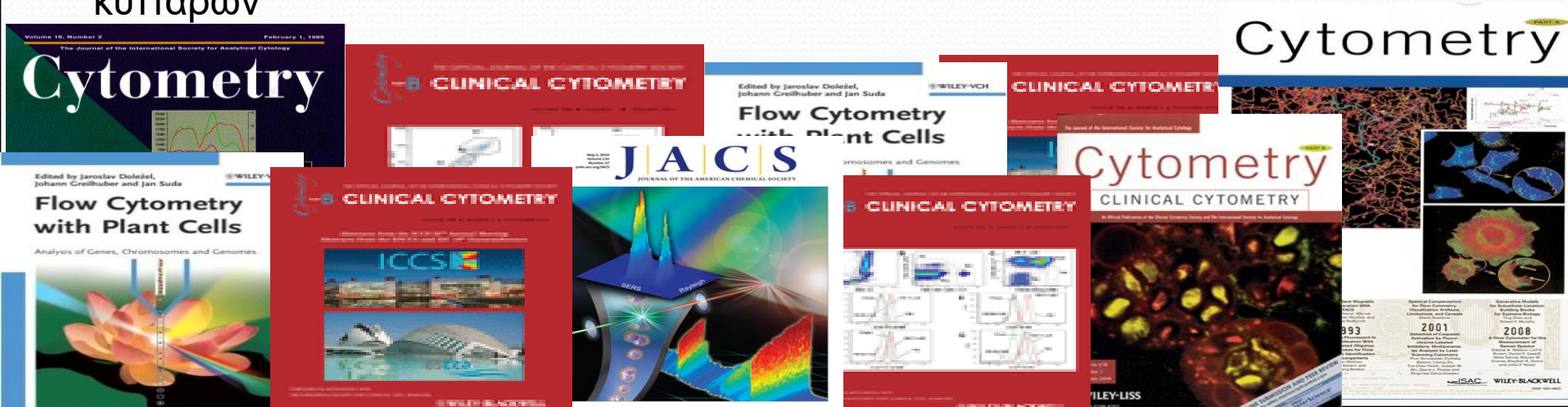
- Εκδήλωση κυτταρολυτικής δράσης τους λόγω μείωση έκφρασης των MHC-τάξης I μορίων στα κύτταρα-στόχους
- Αποτροπή εμβρυομητρικής ανοσιακής απάντησης και φαινομένων αυτοανοσίας
- Συμβολή:
 1. στον έλεγχο ιογενών, βακτηριακών και παρασιτικών λοιμώξεων,
 2. στην καταστροφή καρκινικών και αλλογενών κυττάρων,
 3. στη ρύθμιση άλλων κυττάρων, που συμμετέχουν στην ειδική ανοσιακή απάντηση,
 4. στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των αιμοποιητικών κυττάρων,
 5. στην αλλοαναγνώριση στις μεταμοσχεύσεις αιμοποιητικών οργάνων



Natural Killer Cell

ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΜΕΛΕΤΗΘΕΙ ΤΑ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΑ;

- Λοιμώξεις (HIV, H1N1, HPV, VZV, ιός Έμπολα, ιός της γρίπης, ιός ηπατίτιδας B, κ.ά.)
- Κακοήγη νοσήματα (μη-μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα, MDS, NK λεμφοκυττάρωση)
- Αναπαραγωγή (επαναλαμβανόμενες αυτόματες αποβολές, ενδομητρίωση)
- Ρευματοειδής αρθρίτιδα
- Πολλαπλή σκλήρυνση
- Δερματικά νοσήματα (ψωρίαση, ατοπική δερματίτιδα)
- Ίνωση του ήπατος
- Μεταμόσχευση ιστών, συμπαγών οργάνων και αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων



ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ NK ΚΥΤΤΑΡΩΝ

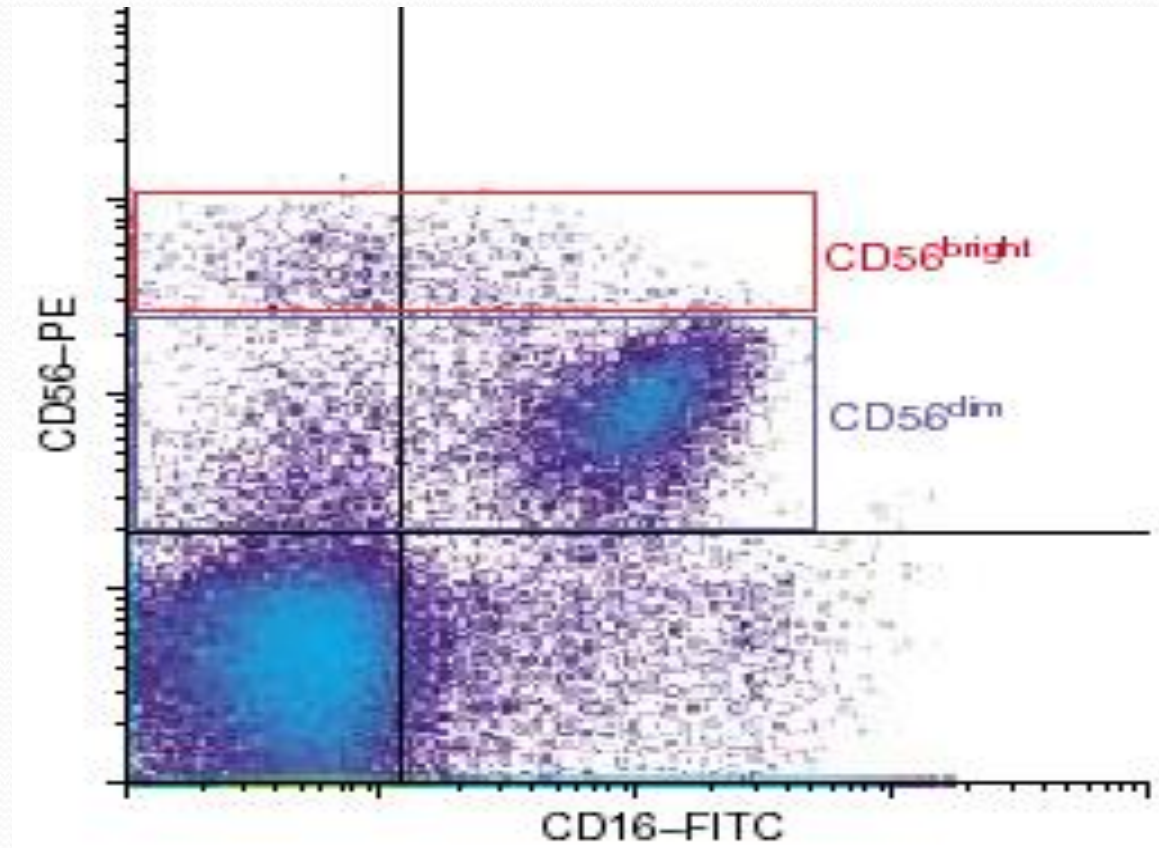
- Πρόσφατα μοντέλα ανοσοθεραπείας προτείνουν την ετερόλογη μεταμόσχευση προγονικών κυττάρων μυελού (κυρίως για τη θεραπεία λευχαιμιών) διότι η ειδική σχέση ασυμβατότητας των υποδοχέων των NK κυττάρων του δότη και των MHC-I του λήπτη μπορεί να οδηγήσει στη λύση των λευχαιμικών κυττάρων
- Ερευνητές προτείνουν την in vivo κάλυψη των ανασταλτικών υποδοχέων (που αναγνωρίζουν τα MHC-I μόρια) με μονοκλωνικά αντισώματα, ώστε να επικρατεί η δράση των επαγωγικών υποδοχέων
- Ανοσοθεραπεία καρκίνου





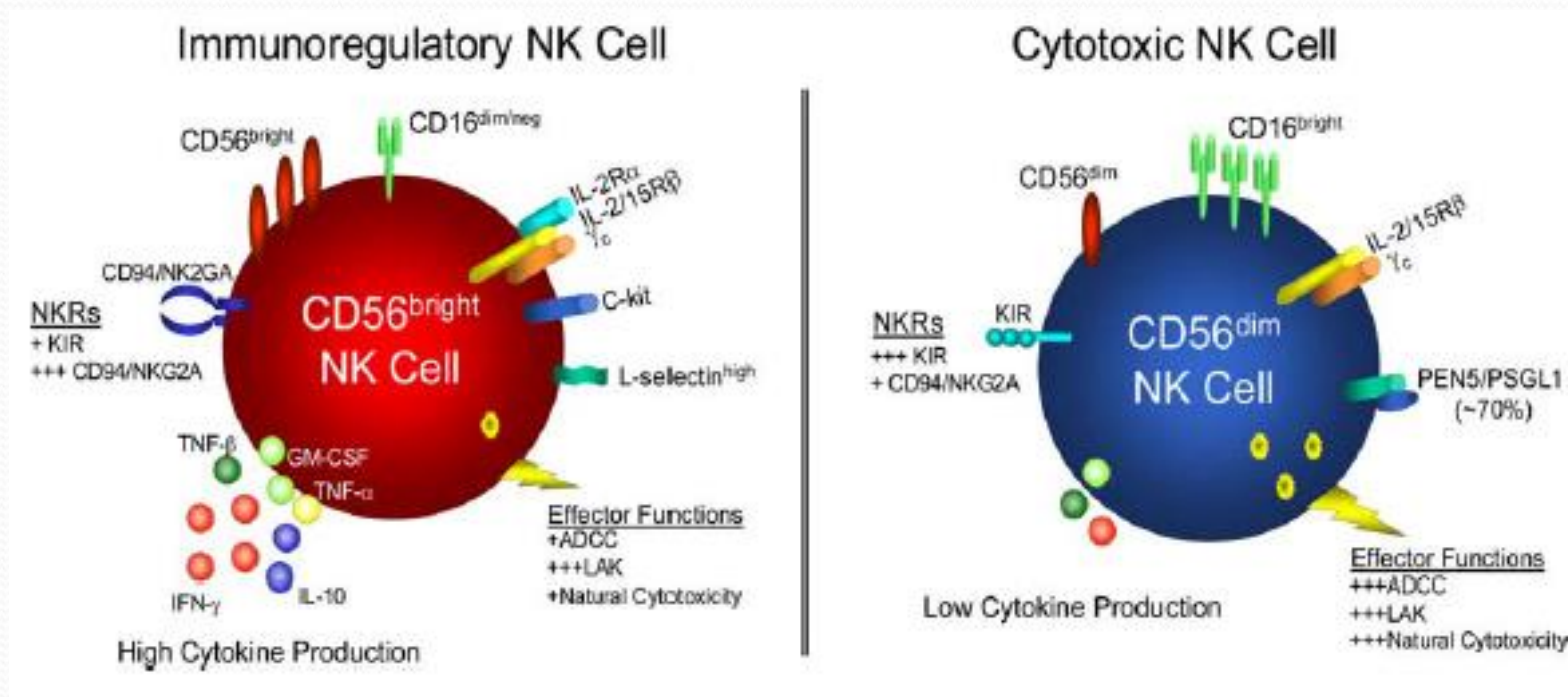
ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ NK ΚΥΤΤΑΡΩΝ

NK KYTTAPA



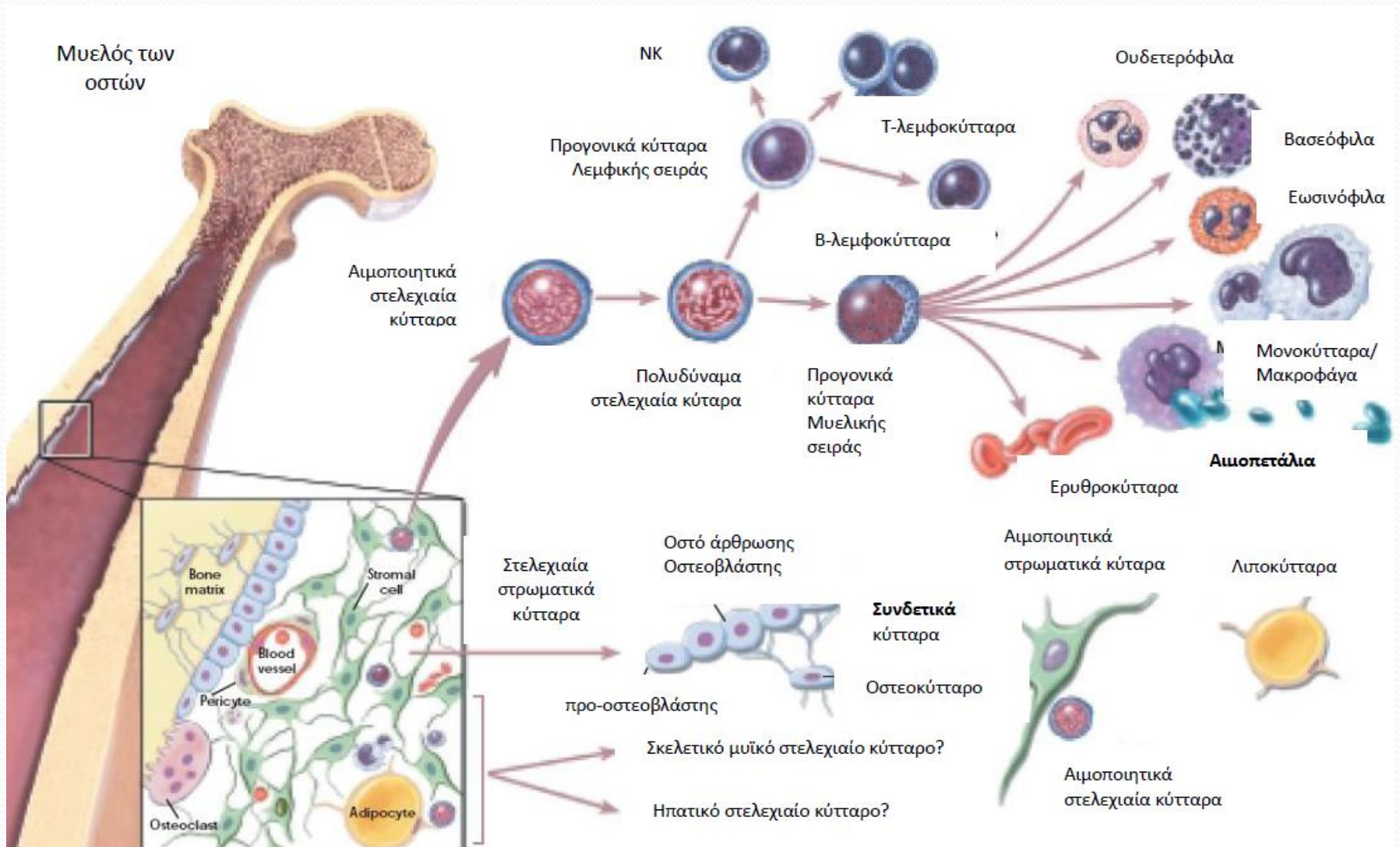
Ως NK κύτταρα: CD3- (CD16 και/ή CD56)+

ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΟΙ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

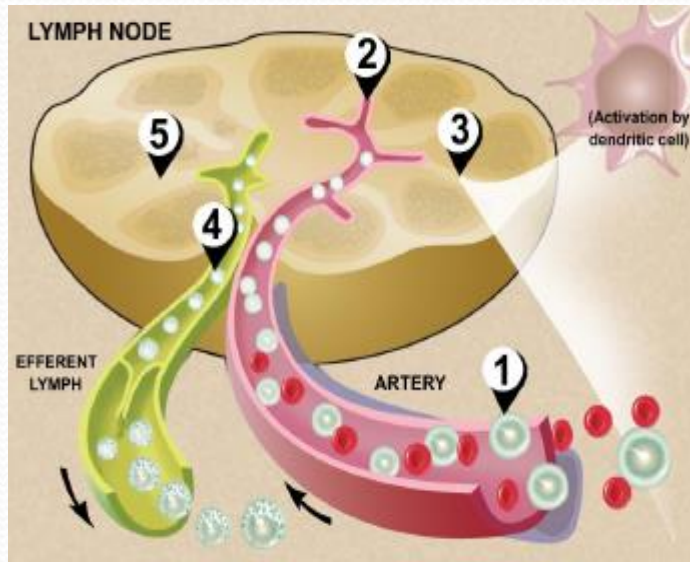


1. **CD56^{bright}CD16^{dim}CD3⁻:** «ανοσορρυθμιστικός» ρόλος - ασθενής κυτταροτοξική δράση [~10%]
2. **CD56^{dim}CD16^{bright}CD3⁻:** έντονη κυτταροτοξική δράση [~90%]

ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΩΝ



ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΩΡΙΜΑΝΣΗ NK ΚΥΤΤΑΡΩΝ

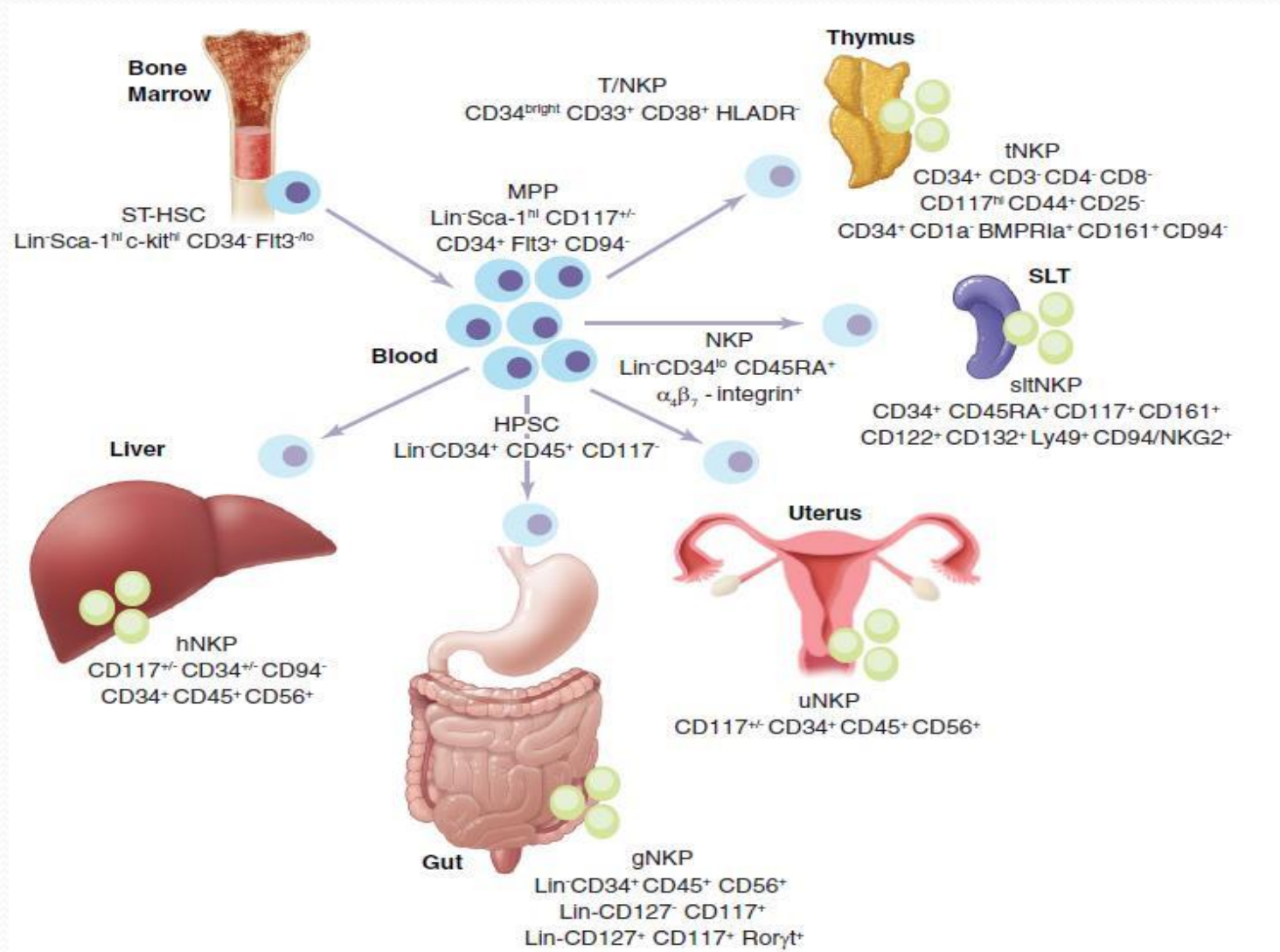


1. Μυελός των οστών: pro-NK
2. HEV - περιλεμφοζιδιακά
3. Ωρίμανση NK κυττάρων
4. Ώριμα NK κύτταρα ($CD56^{dim}CD16^{bright}$)
5. Παραμονή ορισμένων $CD56^{bright}CD16^{dim}$ κυττάρων στους λεμφαδένες



<u>pro-NK</u>	<u>pre-NK</u>	<u>iNK</u>	<u>CD56^{bright} NK</u>	<u>CD56^{dim} NK</u>
CD34 ⁺	CD34 ⁺	CD34 ⁻	CD117 ^{+/-}	CD117 ⁻
CD45RA ⁺	CD45RA ⁺	CD117 ⁺	NKp46 ⁺	NKp46 ⁺
CD10 ⁺	CD10 ⁻	CD161 ⁺	CD94/ NKG2A ⁺	CD94/ NKG2A ^{+/-}
CD117 ⁻	CD117 ⁺	NKp46 ⁻	CD16 ⁻	CD16 ⁺
CD161 ⁻	CD161 ^{+/-}	CD94/ NKG2A ⁻	KIR ^{+/-}	KIR ⁺

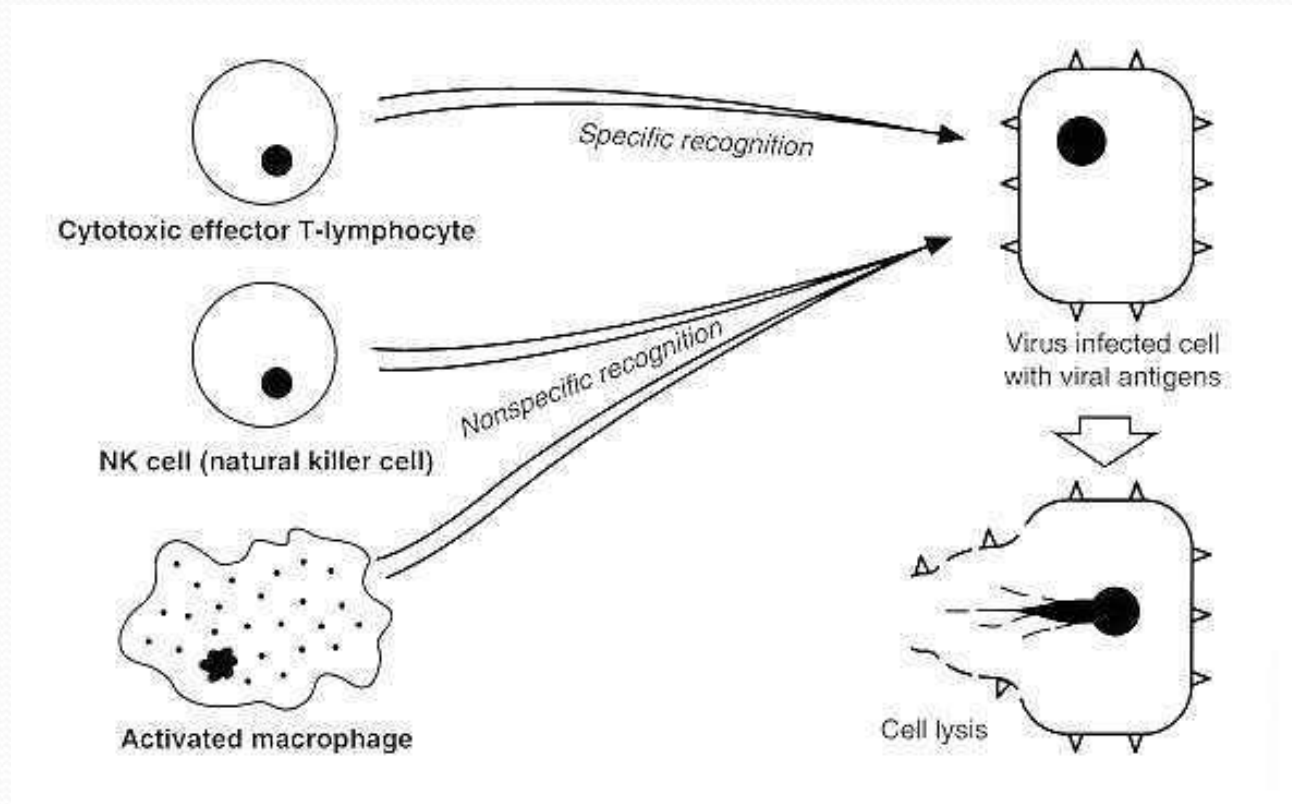
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (2)





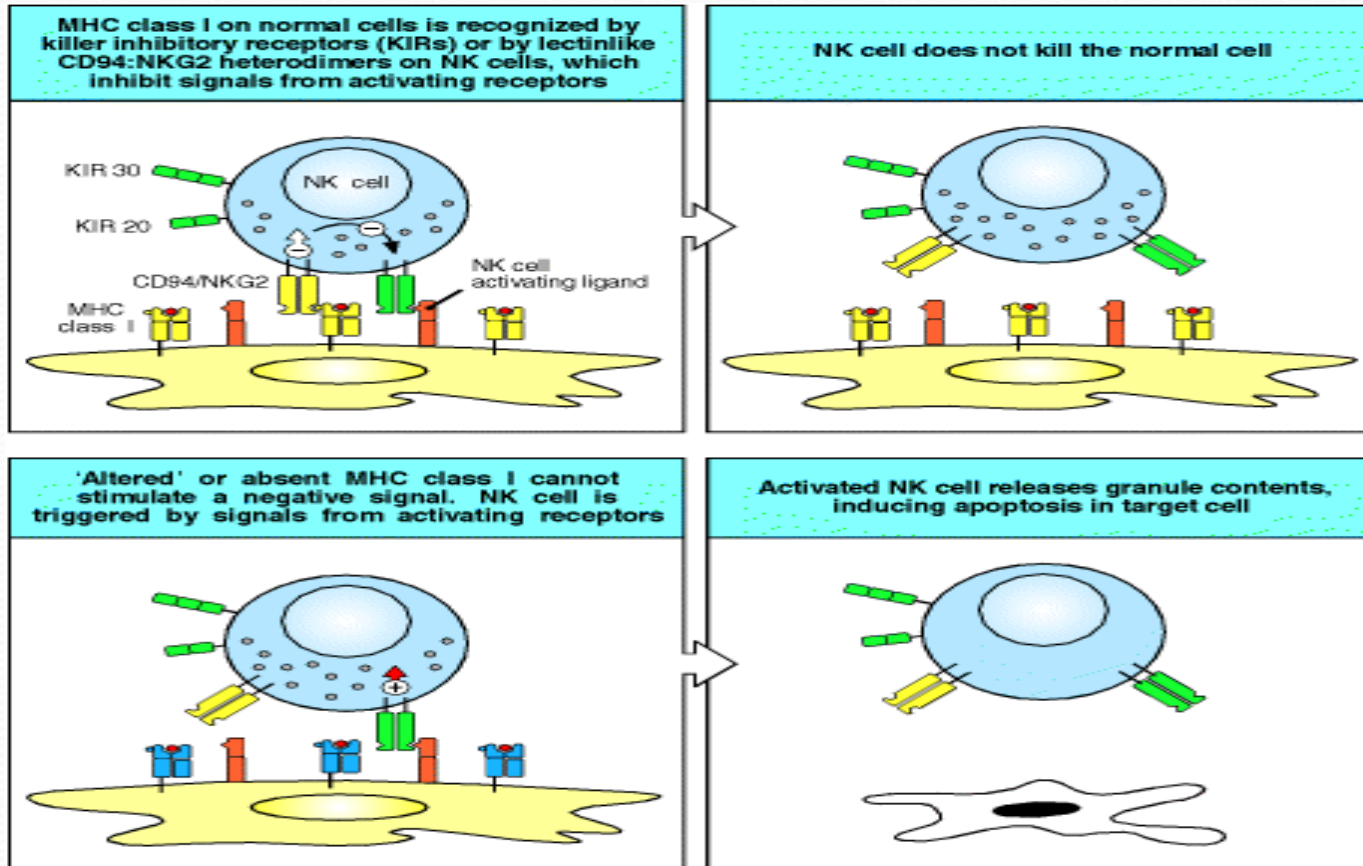
ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ NK ΚΥΤΤΑΡΩΝ

ΥΠΟΘΕΣΗ «ΑΠΩΛΕΙΑΣ ΤΟΥ ΙΔΙΟΥ» ("MISSING SELF HYPOTHESIS")



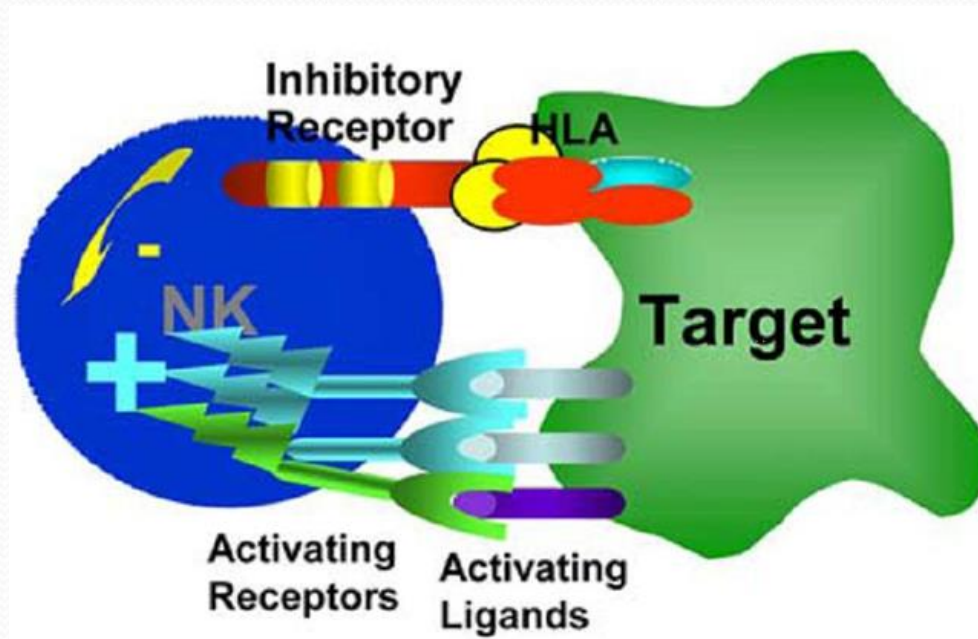
Μη δεσμευμένη από το μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας (non-MHC restricted)
η κυτταρολυτική δραστηριότητα των NK κυττάρων

“TWO RECEPTOR HYPOTHESIS”



- Ρύθμιση από πολλαπλούς υποδοχείς επιφανείας, που δεσμεύονται με ειδικά διαλυτά ή κυτταρικά μόρια
- Μετάφραση σε ενδοκυττάρια θετικά και αρνητικά βιοχημικά σήματα
- Ενεργοποίηση ή αναστολή της κυτταρολυτικής διαδικασίας, αντίστοιχα

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ NK ΚΥΤΤΑΡΩΝ



- ❖ Διαφορετική λειτουργία των ανασταλτικών και επαγωγικών υποδοχέων λόγω της διαφορετικής δομής του μορίου τους
- ❖ Δυνατή η συνέκφραση των δύο τύπων υποδοχέων στο ίδιο κύτταρο με ειδικότητα για τους ίδιους MHC-συνδέτες

↓
Δράση επαγωγικών μόνο επί αδυναμίας δράσεως ανασταλτικών υποδοχέων

↓
Ρυθμιστής της κυτταρολυτικής δράσης των NK κυττάρων:

Ανασταλτικοί υποδοχείς

- ❖ Ύπαρξη τεσσάρων τύπων υποδοχέων μέχρι σήμερα

I. KILLER CELL IMMUNOGLOBULIN LIKE RECEPTORS (KIRs)

- Έντονη έκφραση των KIRs επί των CD16 strong NK κυττάρων – Απουσία ή ασθενής έκφραση αυτών επί των CD56 strong NK κυττάρων
- Κωδικοποίηση από γονίδια στο χρωμόσωμα 19
- Καθορισμός λειτουργίας KIRs από το μήκος της ενδοκυττάριας αλυσού (Ανασταλτική δράση: KIRs με μακρά ενδοκυττάρια άλυσο L - Επαγωγική δράση: KIRs με βραχύ ενδοκυττάριο τμήμα S)
- Αναγνώριση κοινών δομών επί των αντιγόνων HLA-τάξης I (όχι ξεχωριστά HLA αντιγόνα) από τους ανασταλτικούς KIRs και από ορισμένους επαγωγικούς υποδοχείς

I. KILLER CELL IMMUNOGLOBULIN LIKE RECEPTORS (KIRs) (2)

Receptor		Ligand
<i>Killer Ig-like receptors (KIR)</i>		
Inhibitory	Activating ^a	
KIR2DL1	KIR2DS1	Group 2 HLA-C Asn77Lys80 alleles
KIR2DL2	KIR2DS2	Group 1 HLA-C Ser77Asn80 alleles
KIR2DL3		
	KIR2DL4 ^b	HLA-G
	KIR2DS4	Unknown
KIR2DL5	KIR2DS5	Unknown
	KIR3DS1	Unknown
KIR3DL1		HLA-Bw4
KIR3DL2		HLA-A3, -A11
KIR3DL7		Unknown

- Ενεργοποιητική δράση των επαγωγικών ασθενέστερη της ανασταλτικής δράσης των αντίστοιχων υποδοχέων

II. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ C-ΤΥΠΟΥ ΛΕΚΤΙΝΩΝ – NKG ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

- Ετεροδιμερή με μία κοινή υποομάδα CD94 (σύνδεση αυτής με μία πρωτεϊνική αλυσίδα της ομάδας C-type lectin NKG2)
- Κωδικοποίηση των 6 NKG2 πρωτεϊνών (NKG2A, NKG2C, NKG2E, NKG2F, NKG2B, NKG2H) και της αλυσίδας CD94 από γονίδια στο χρωμόσωμα 12

Heterodimeric C-type Lectin receptors

Inhibitory

CD94/NKG2A/B^c

Activating

CD94/NKG2C

HLA-E

CD94/NKG2E/H^c

Unknown

NKG2D

MICA, MICB, ULBP-1, -2, -3

- CD94/NKG2A και CD94/NKG2B: ανασταλτικοί υποδοχείς
- Μη κλασικό αντιγόνο HLA-E: συνδέτης υποδοχέων CD94/NKG2A, B, C

II. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ C-ΤΥΠΟΥ ΛΕΚΤΙΝΩΝ– NKG ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ (2)

- Έκφραση του ανασταλτικού CD94/NKG2A σχεδόν αποκλειστικά επί των CD56 strong NK κυττάρων
- Επαγωγικός υποδοχέας NKG2D: μικρή ομολογία με τους άλλους υποδοχείς και διαφορετικούς συνδέτες - όχι σύνδεση με CD94, αλλά ως ομοδιμερές σε όλους τους υποπληθυσμούς των NK κυττάρων
- Ύπαρξη δύο διαφορετικών οικογενειών συνδετών του NKG2D – όχι έκφραση υπό φυσιολογικές συνθήκες, αλλά επαγωγή αυτής κατόπιν κυτταρικού “stress” ή σε κύτταρα τα οποία έχουν υποστεί νεοπλασματική εξαλλαγή

III. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΥΠΟΥ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ (ILTs) – LIR ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

- Κωδικοποιούνται από γονίδια στο χρωμόσωμα 19
- Ύπαρξη ανασταλτικών (ILT2, ILT3, ILT4) και επαγωγικών (ILT1) υποδοχέων
- Εμφάνιση ILTs σε αρκετούς κυτταρικούς πληθυσμούς (B-λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα και δενδριτικά κύτταρα)
- NK κύτταρα: ILT1 (επαγωγικός) και ILT2 (ανασταλτικός) - συνδέτης MHC-τάξης I μόρια

IV. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ NCRs (Natural Cytotoxicity Receptors)

Natural cytotoxicity receptors (NCR)

NKp30	Unknown
NKp46	Unknown
NKp44	Unknown

- Επαγωγικοί υποδοχείς - υπεύθυνοι για την αναγνώριση και λύση καρκινικών κυττάρων, καθώς και κυττάρων μολυσμένων από ιούς
- Κωδικοποίηση από γονίδια στα χρωμοσώματα 19 (NKp46) και 6 (NKp30, NKp44)
- Έκφραση NKp46 και NKp30 επί όλων των NK κυττάρων
- Έκφραση NKp44 μόνο σε ενεργοποιημένα NK κύτταρα (επίδραση IL-2)
- Άγνωστοι οι συνδέτες των NCRs

ΣΥΝΥΠΟΔΟΧΕΙΣ NK ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Activating co-receptors

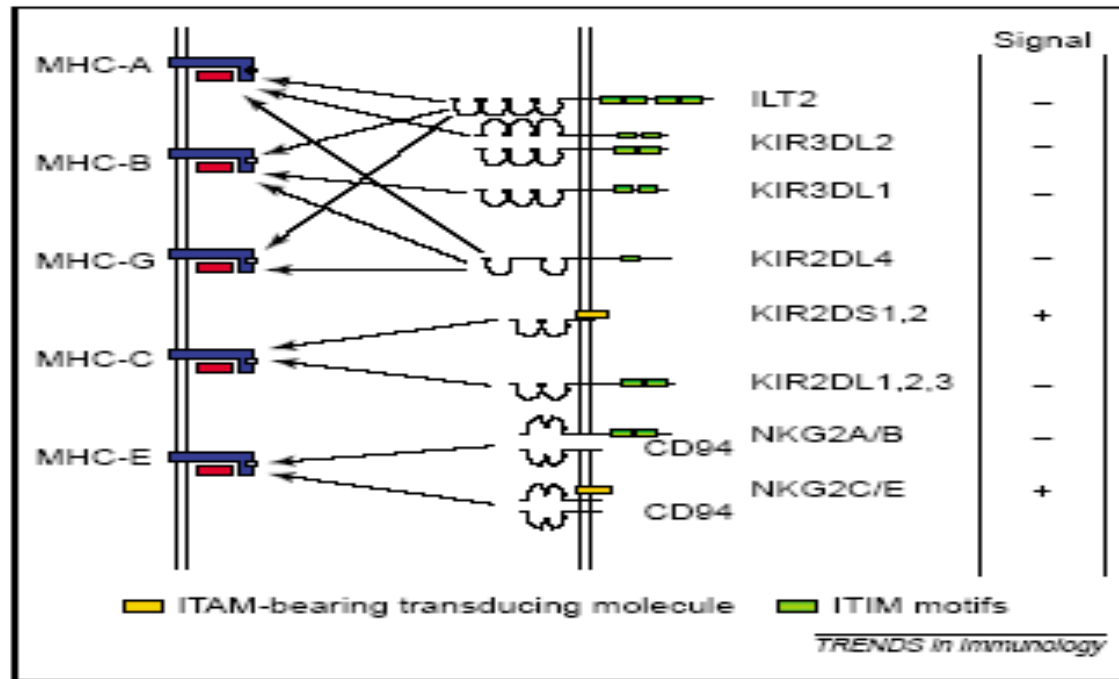
FcγRIII (CD16)	Fc of IgG
CD2	CD58 (LFA-3)
LFA-1	ICAM-1
2B4	CD48
NKp80	Unknown
CD69	Unknown
CD40 ligand	CD40

- Ομάδα επιφανειακών μορίων: συμβολή στην ενεργοποίηση των NK κυττάρων προς τη διαδικασία της κυτταροτοξικότητας
- Εξάρτηση της ικανότητάς τους από την ταυτόχρονη σύζευξη με άλλους υποδοχείς

ΤΙ ΚΑΘΟΡΙΖΕΙ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ;

- Ο KIR γονότυπος καθορίζει την έκφραση των KIR
- Από τα υπάρχοντα δεδομένα φαίνεται ότι η έκφραση των HLA ασκεί ασθενή ή καμία επίδραση στην έκφραση των KIR υποδοχέων
- CD94/C-type lectin receptors: εκφράζονται με τυχαίο τρόπο
- NKG2D, NKp46, NKp30: εκφράζονται στο σύνολο των NK-κυττάρων
- NKp44, καθώς και το σύνολο των συν-ενεργοποιητικών υποδοχέων εκφράζονται μετά από διέγερση με κυτταροκίνες (IL-2, IL-15, IL-12)
- Ο κάθε άνθρωπος διαθέτει πλούσιο ρεπερτόριο NK-κυττάρων με όλους τους πιθανούς συνδυασμούς ενεργοποιητικών και ανασταλτικών υποδοχέων

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

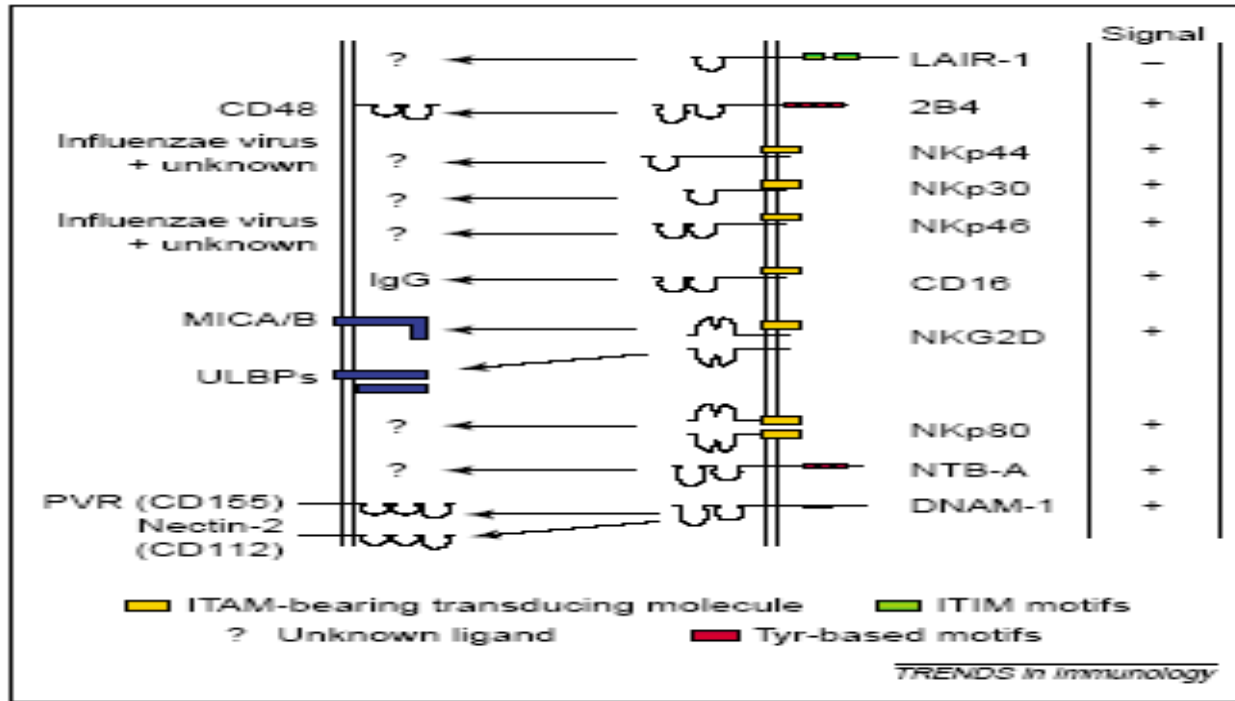


- Εμφάνιση γονιδιακού πολυμορφισμού - διαφορετικό ρεπερτόριο μεταξύ ατόμων, εξαιτίας ίσως ορισμένων κλινικών καταστάσεων
- Έκφραση τουλάχιστον ενός ανασταλτικού υποδοχέα με ειδικότητα για «ίδιο» MHC-τάξης I σε κάθε άτομο



Αποτροπή τυχόν διεγερμένων NK κυττάρων να λύσουν «ίδια» κύτταρα
(αποφυγή αυτοάνοσων αντιδράσεων)

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (2)



- Όχι συσχέτιση ρεπερτορίου υποδοχέων ΝΚ κυττάρων με τον ΜΗC-φαινότυπο του ατόμου
- Έκφραση και υποδοχέων στο άτομο για τους οποίους δεν υπάρχουν αντίστοιχοι συνδέτες στα δικά του κύτταρα



Ένδειξη σημασίας των υποδοχέων σε αλλογενείς αντιδράσεις (μεταμοσχεύσεις, κύηση)



ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΝΚ ΚΥΤΑΡΩΝ

ΣΚΟΠΟΣ

Μελέτη έκφρασης κυτταρικών δεικτών και υποδοχέων στους υποπληθυσμούς των NK κυττάρων σε φυσιολογικούς μάρτυρες, ώστε να διευκρινιστεί η σημασία του ανοσοφαινότυπου των κυττάρων αυτών σε περιστατικά με σημαντική αύξηση του ποσοστού των κυττάρων αυτών επί των λεμφοκυττάρων

ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΗΝ HIV ΛΟΙΜΩΞΗ

- Καταστροφή μολυσμένων κυττάρων από τον ιό HIV
- Ελάττωση του αριθμού και της λειτουργίας των NK κυττάρων στην HIV λοίμωξη
- Συσχέτιση με:
 - μειωμένη έκφραση των NCRs υποδοχέων (NKp30, NKp46)
 - αυξημένη έκφραση των KIRs και LIR-1 υποδοχέων
- Ελάττωση των CD56+CD16dim και αύξηση των CD56-CD16+ κυττάρων
[3^{ος} υποπληθυσμός με μειωμένη αντιική δράση]

ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΗΝ ΝΚ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

- Έκφραση δεικτών: CD56, CD16 και CD94
- NK δραστηριότητα
- Παρόμοια μορφολογία με ώριμα λεμφοκύτταρα
- Διαφορές από τα φυσιολογικά NK κύτταρα:
 - μειωμένη κυτταροτοξικότητα
 - μειωμένη έκφραση των δεικτών CD56, CD8, CD57 και ιδιαίτερως του CD11b

ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΗΝ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ

- Επαναλαμβανόμενες αυτόματες αποβολές: τουλάχιστον τρεις διαδοχικές αποβολές πριν την εικοστή εβδομάδα κύησης
- Προγνωστικοί δείκτες: αυξημένος αριθμός και δραστικότητα ΝΚ κυττάρων σε γυναίκες με ιστορικό αυτόματων αποβολών αγνώστου αιτιολογίας (AAAA)
- ΝΚ κύτταρα σε PB γυναικών με ιστορικό AAAA:
 - αυξημένη έκφραση δεικτών ενεργοποίησης (CD69, CD161) και κυτταροκινών (TNF- α , INF- γ)
 - μειωμένη έκφραση ανασταλτικών υποδοχέων (CD94, CD158a, CD158b)
 - αυξημένη ΝΚ κυτταροτοξικότητα
- ❖ Συσχέτιση με υπογονιμότητα και ενδομητρίωση: οι μεταβολές του αριθμού και του ανοσοφαινότυπου των ΝΚ κυττάρων της μήτρας

ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΣ

- Δείγματα περιφερικού αίματος (PB):
 1. φυσιολογικών μαρτύρων (N=20)
 2. ασθενών HIV(+) με αυξημένο ποσοστό NK κυττάρων (N=20)
 3. ασθενών με αντιδραστική NK λεμφοκυττάρωση (N=15)
 4. ασθενών με NK λεμφοκυττάρωση (N=12)
 5. ζευγαριών με ιστορικό AAAA (N=24)
- Κυτταρομετρητής ροής EPICS Coulter® XL-MCL™ (Beckman Coulter)

- Μελέτη έκφρασης επιφανειακών κυτταρικών δεικτών:

Συνδυασμός μονοκλωνικών αντισωμάτων



100 μl δείγματος περιφερικού αίματος



Επώαση 10 min



Λύση των ερυθροκυττάρων με κατάλληλο διάλυμα του εμπορίου
(ImmunoPREP™)

ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΣ (2)

- Μελέτη έκφρασης κυτταροπλασματικών κυτταρικών δεικτών:

50 μ l δείγματος περιφερικού αίματος

↓
100 μ l Intra Prep Reagent 1

↓
Επώαση 15 min

↓
4ml PBS

↓
Φυγοκέντρηση (5 min, 400 g)

↓
Απομάκρυνση υπερκειμένου

↓
100 μ l Intra Prep Reagent 2

Επώαση 5 min

↓
Μονοκλωνικά αντισώματα (10 ή 20 μ l)

↓
Επώαση 15 min (σκοτάδι)

↓
4ml PBS

↓
Φυγοκέντρηση (5 min, 400 g)

↓
Απομάκρυνση υπερκειμένου

↓
500 μ l PFA

ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΣ (3)

- Δύο ομάδες πρωτοκόλλων (panel) τετραχρωματικής ανάλυσης για τα NK κύτταρα και τους υποπληθυσμούς τους:

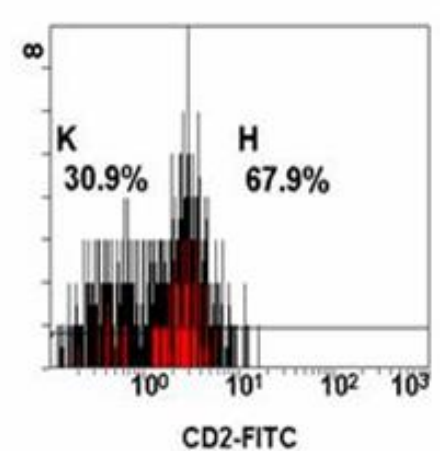
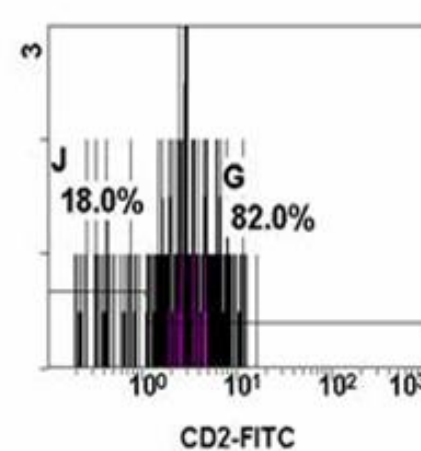
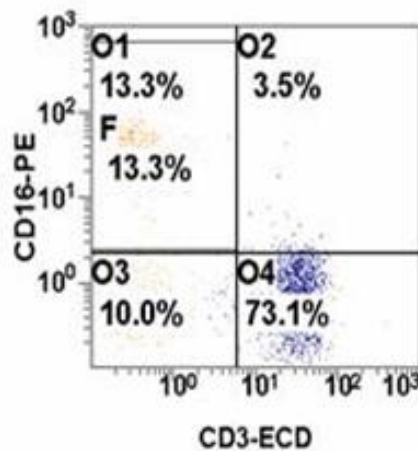
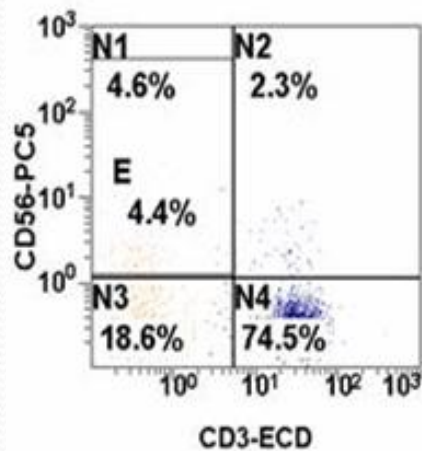
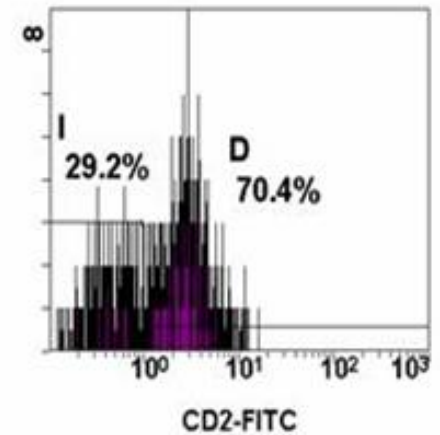
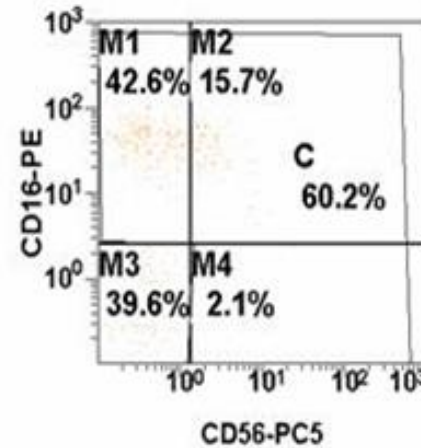
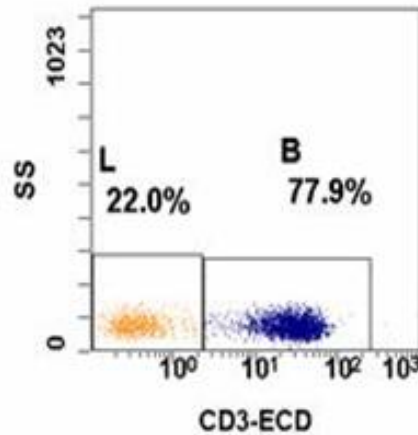
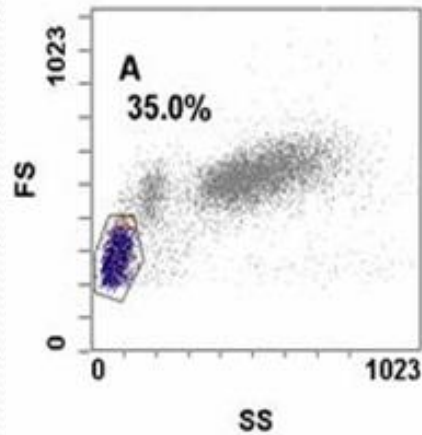
A) Panel μελέτης χαρακτηριστικών δεικτών των κυττάρων:

- 1) CD3/CD56/CD16/CD2
- 2) CD3/CD56/CD16/CD7
- 3) CD3/CD56/CD16/CD45RA
- 4) CD3/CD56/CD16/CD45RO
- 5) CD3/CD56/CD16/CD11a
- 6) CD3/CD56/CD16/CD57
- 7) CD3/CD56/CD16/CD11c
- 8) CD3/CD56/CD16/HLA DR
- 9) CD3/CD56/CD16/TCR $\gamma\delta$
- 10) CD3/CD56/CD16/perforin
- 11) CD3/CD56/CD16/granzyme A
- 12) CD3/CD56/CD16/CD8
- 13) CD3/CD56/CD16/CD4
- 14) CD3/CD56/CD16/CD11b

B) Panel μελέτης υποδοχέων των κυττάρων:

- 1) CD3/CD56/CD16/CD158a
- 2) CD3/CD56/CD16/CD158b
- 3) CD3/CD56/CD16/NKp44
- 4) CD3/CD56/CD16/NKp30
- 5) CD3/CD56/CD16/NKp46
- 6) CD3/CD56/CD16/KIRp70
- 7) CD3/CD56/CD16/KARp50.3

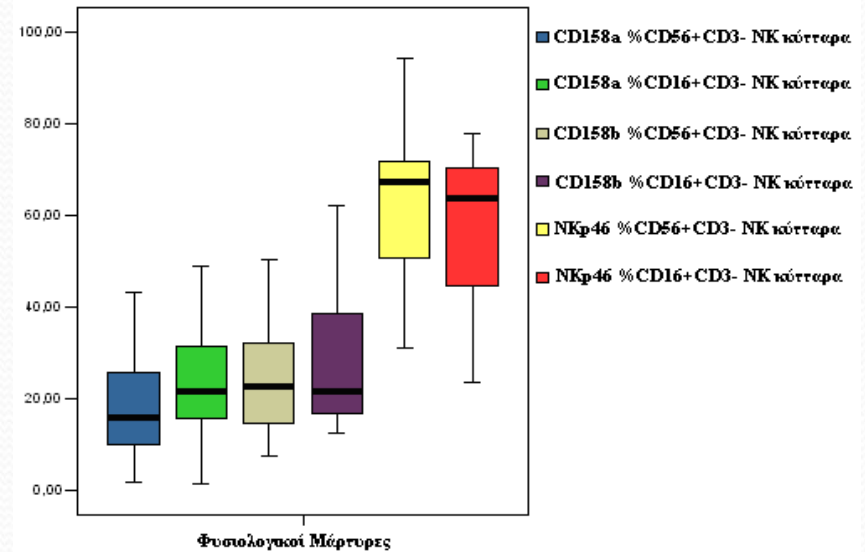
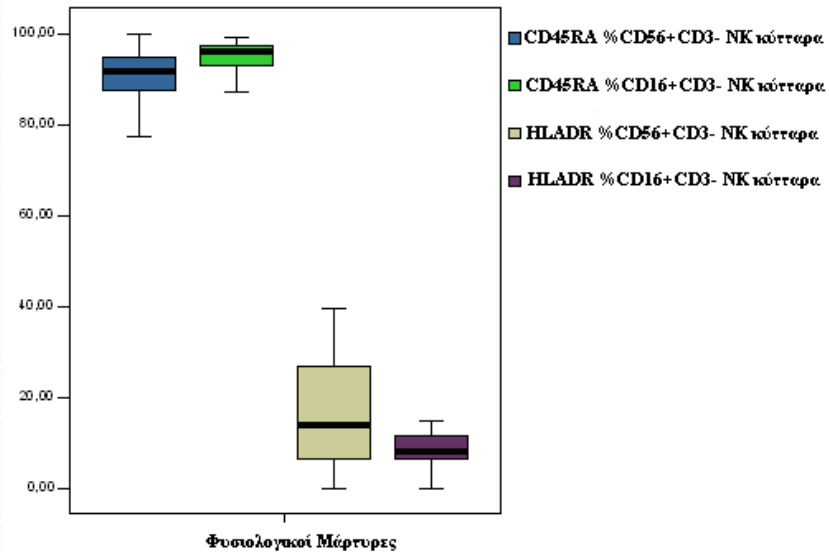
ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΥΠΟΠΛΗΘΥΣΜΩΝ NK ΚΥΤΤΑΡΩΝ





I. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΟΜΑΔΑΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΑΡΤΥΡΩΝ

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ



➤ CD3-CD56+ NK κύτταρα / CD3-CD16+ NK κύτταρα:

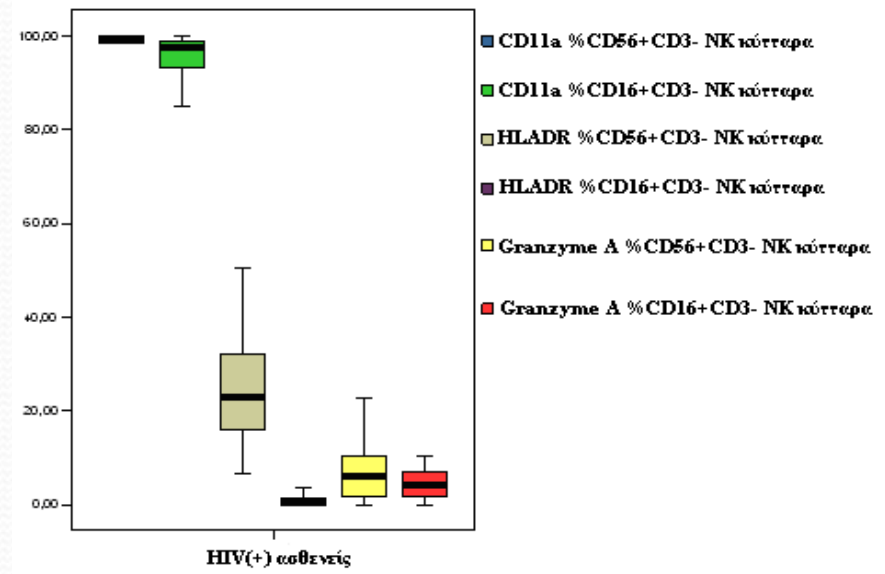
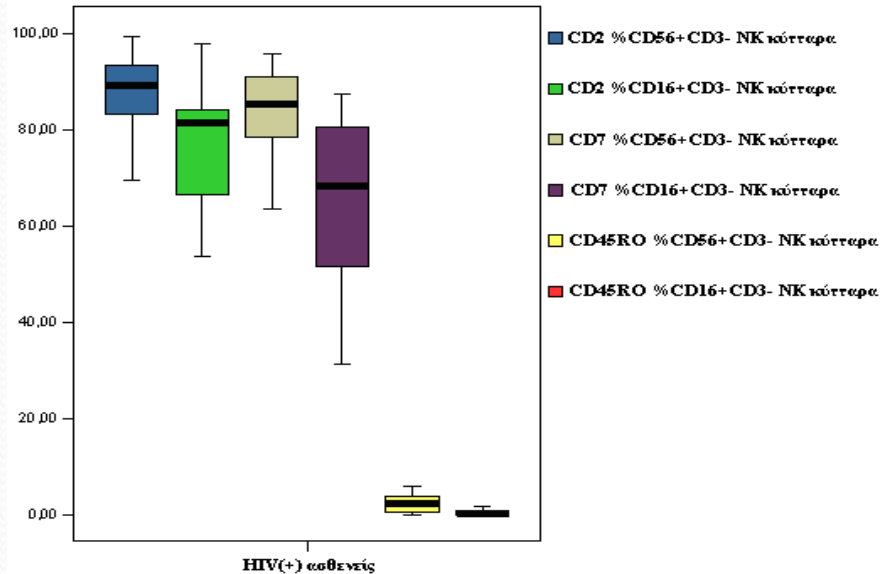
1. αυξημένη έκφραση: CD2, CD7, HLADR, NKp46

2. μειωμένη έκφραση: CD45RA, CD4, CD158a, CD158b, KIRp70, KARp50.3



II. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΟΜΑΔΑΣ ΑΣΘΕΝΩΝ HIV(+)

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ



➤ CD3-CD56+ NK κύτταρα / CD3-CD16+ NK κύτταρα:

Αυξημένη έκφραση των CD2, CD7, CD45RO, CD11a, HLADR, granzyme A

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

❖ Οι υποπληθυσμοί των NK κυττάρων σε ασθενείς με HIV λοίμωξη χαρακτηρίζονται από διαταραχές:

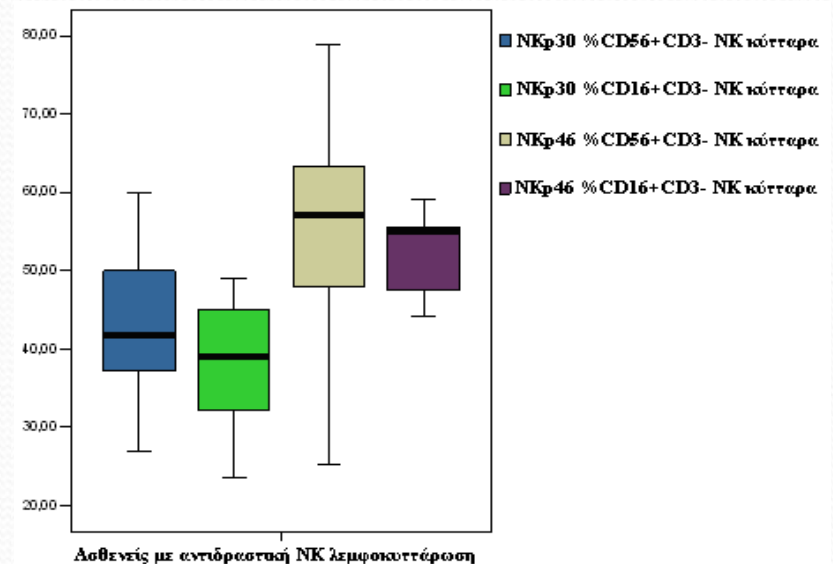
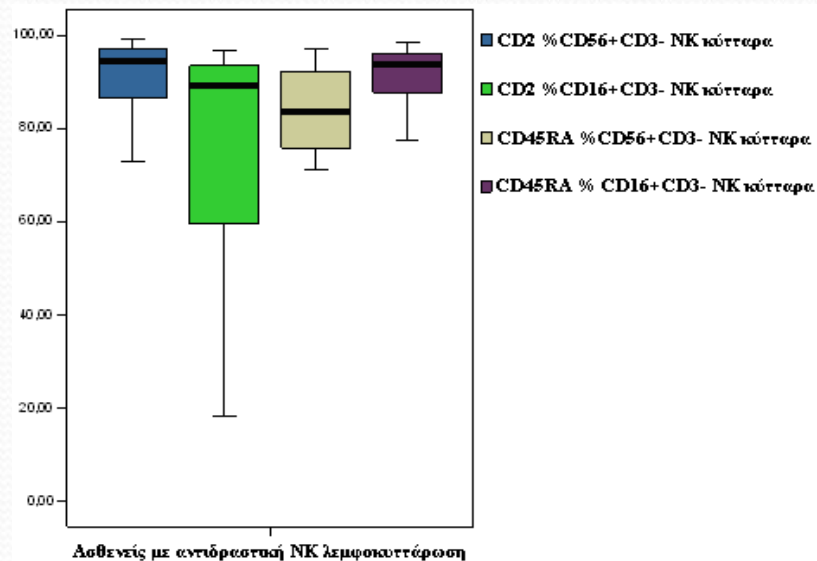
1. έκφραση μορίων προσκόλλησης ($\uparrow$ CD11a)
2. έκφραση δεικτών ενεργοποίησης ($\uparrow$ CD45RO)
3. κυτταροτοξικότητας ($\uparrow$ granzyme A)

υποδεικνύοντας τη δυσλειτουργία αυτών των πληθυσμών



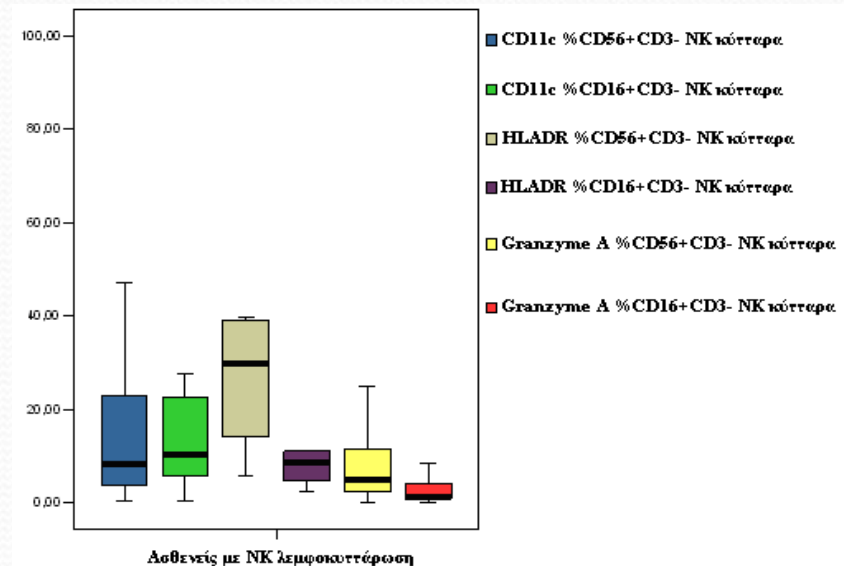
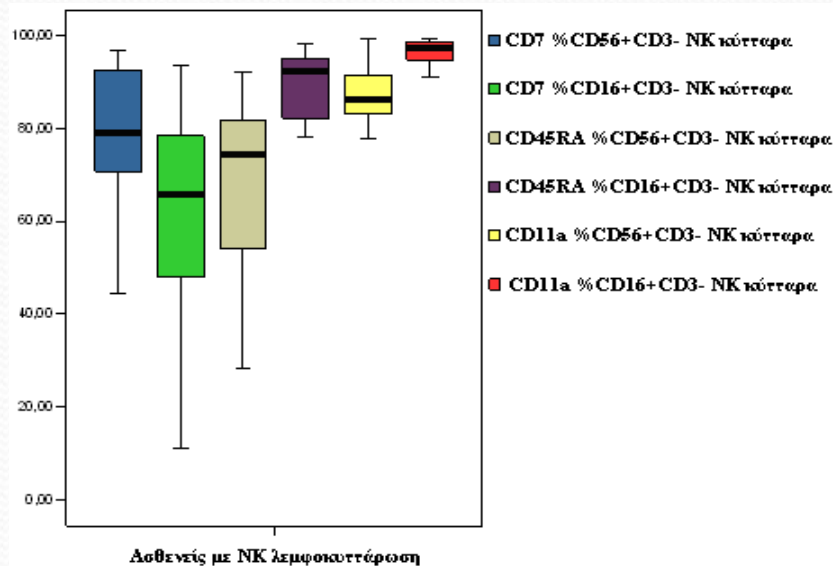
III. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΟΜΑΔΑΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΝΚ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ

Α. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΗ ΝΚ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ



- CD3-CD56+ NK κύτταρα / CD3-CD16+ NK κύτταρα:
 1. αυξημένη έκφραση: CD2, HLADR, NKp30, NKp46
 2. μειωμένη έκφραση: CD45RA, CD11a, CD158a, CD158b

Β. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΝΚ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ



- CD3-CD56+ NK κύτταρα / CD3-CD16+ NK κύτταρα:
 1. αυξημένη έκφραση: CD7, CD11c, HLADR, granzyme A
 2. μειωμένη έκφραση: CD45RA, CD11a

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

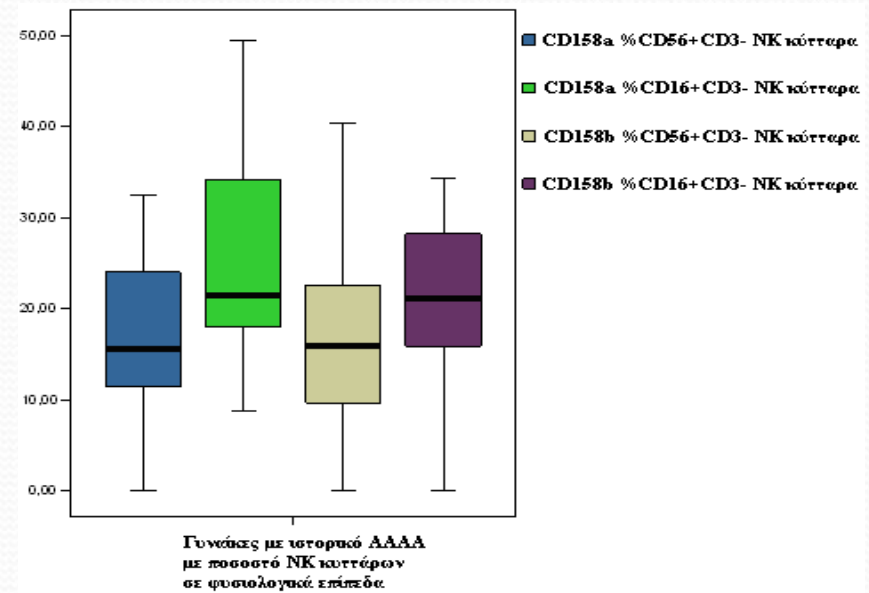
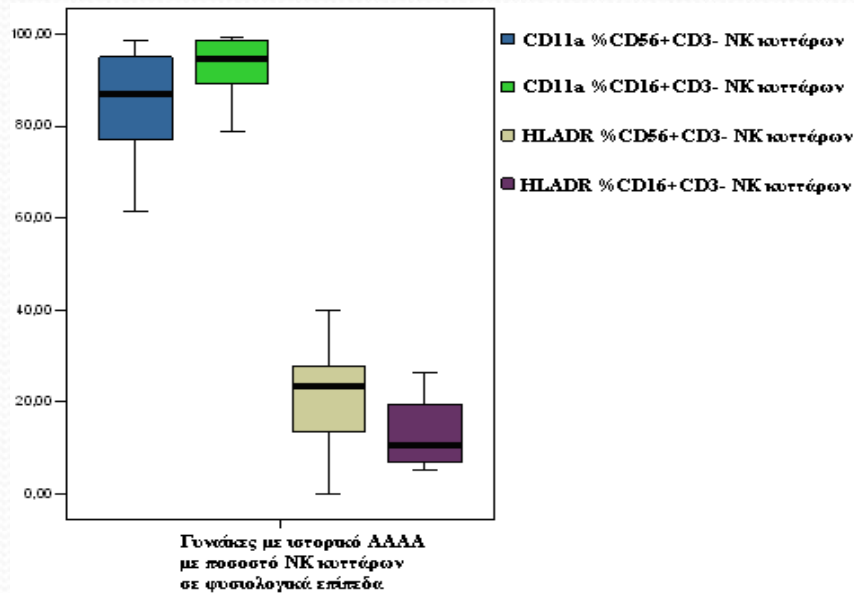
- ❖ Οι υποπληθυσμοί των NK κυττάρων σε ασθενείς με αντιδραστική ή όχι NK λεμφοκυττάρωση χαρακτηρίζονται από διαταραχές:
 1. έκφραση μορίων προσκόλλησης (↑ CD11c, ↓ CD11a)
 2. έκφραση υποδοχέων (↑ NKp30)
 3. κυτταροτοξικότητας (↑ granzyme A)

- ❖ Διαφορά στην έκφραση τόσο των ανασταλτικών (↓CD158a, CD158b) όσο και των κυτταροτοξικών υποδοχέων (↑NKp30, NKp46) μεταξύ των δύο υποπληθυσμών των NK κυττάρων φαίνεται να υπάρχει **μόνο** στην περίπτωση της αντιδραστικής NK λεμφοκυττάρωσης



IV. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΟΜΑΔΑΣ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΜΕ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΑΑΑ

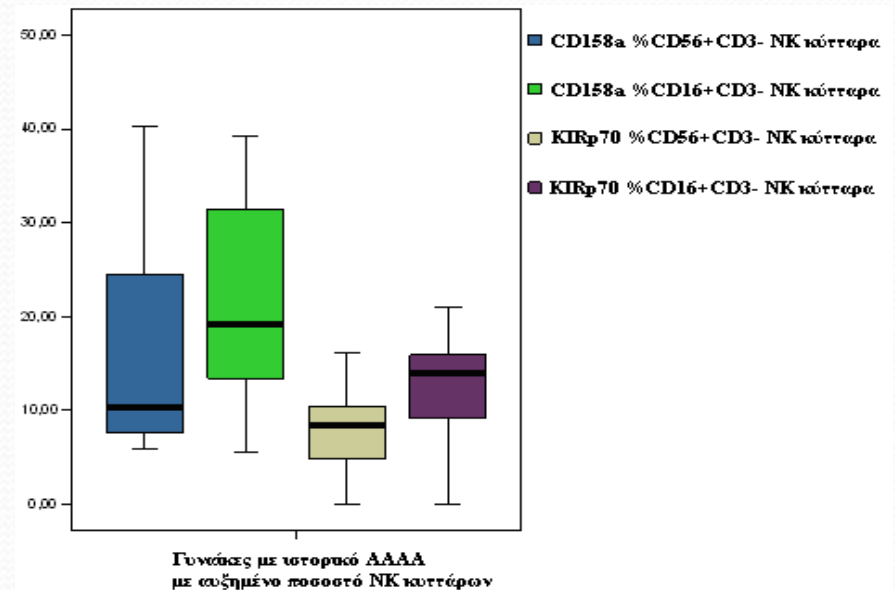
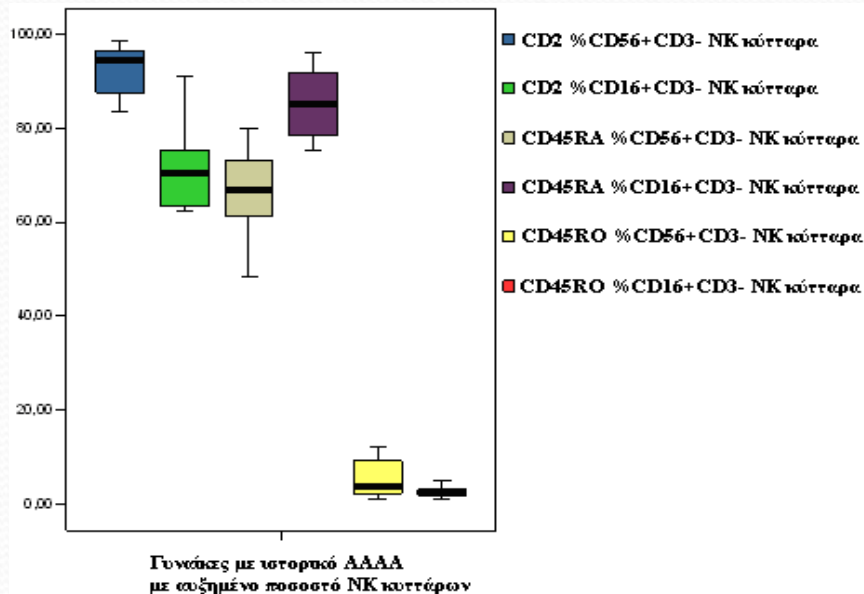
Α. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΜΕ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΛΛΑ (ΠΟΣΟΣΤΟ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ)



➤ CD3-CD56+ NK κύτταρα / CD3-CD16+ NK κύτταρα:

1. αυξημένη έκφραση: CD2, CD7, HLADR, NKp46
2. μειωμένη έκφραση: CD45RA, CD11a, perforin, CD11b, CD158a, CD158b, NKp30, KIRp70

Β. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΜΕ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΔΑΔ (ΑΥΞΗΜΕΝΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΩΝ)



➤ CD3-CD56+ NK κύτταρα / CD3-CD16+ NK κύτταρα:

1. αυξημένη έκφραση: CD2, CD45RO

2. μειωμένη έκφραση: CD45RA, CD11a, CD11c, perforin, CD11b, CD158a, KIRp70

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- ❖ Οι υποπληθυσμοί των NK κυττάρων των γυναικών με ιστορικό AAAA με ποσοστό NK κυττάρων σε φυσιολογικά επίπεδα χαρακτηρίζονται από διαταραχές σε σχέση με τους αντίστοιχους υποπληθυσμούς των γυναικών με ιστορικό AAAA με αυξημένο ποσοστό NK κυττάρων (>12%):
 1. έκφραση δεικτών ενεργοποίησης (↑HLADR)
 2. έκφραση υποδοχέων (↓CD158b, ↓NKp30, ↑NKp46)

ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- ❖ Η μελέτη του ανοσοφαινότυπου των NK κυττάρων και των υποπληθυσμών τους, όπου παρατηρείται σημαντική αύξηση του ποσοστού των κυττάρων αυτών επί των λεμφοκυττάρων, είτε αυτή:
 1. οφείλεται σε χρόνια λοίμωξη (HIV λοίμωξη)
 2. οφείλεται σε αιματολογική διαταραχή (NK λεμφοκυττάρωση)
 3. συναντάται σε γυναίκες με ιστορικό AAAA

φαίνεται να προσθέτει νέες πληροφορίες σχετικά με τις παθολογικές διαταραχές και τη λειτουργία των NK κυττάρων

- ❖ Η μελέτη αυτή πιθανόν να επιτρέψει τη διάκριση (μέσω του ανοσοφαινότυπου και των λειτουργικών δοκιμασιών) των φυσιολογικών NK κυττάρων από παθολογικά NK κύτταρα ή κύτταρα των οποίων η αύξηση αποτελεί αντίδραση σε υποκείμενο νόσημα
- ❖ Η αξιολόγηση των παραπάνω ευρημάτων σε σχέση με τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά θα μπορούσε να βοηθήσει στη θεραπεία και την παρακολούθηση των ασθενών, καθώς και στην καλύτερη κατανόηση και ταξινόμηση των αντίστοιχων αιματολογικών διαταραχών



Σας Ευχαριστώ!