

Sledovanie NKT buniek v periférnej krvi u žien s poruchou plodnosti

Žaneta Dzurillová
Martin Dzurilla

www.dzurilla.com



Úvod

- NKT bunky nesú povrchový znak $CD56^+$ → napriek tomu ich nemožno považovať za podskupinu NK buniek
- U žien s ↑ periférnych NK buniek, ktorým sa podávali intravenózne imunoglobulíny (IVIg) → ↑ miera úspešnosti otehotnenia aj pôrodu
- Pochybnosti ohľadom vyšetrovania NK bb. v periférnej krvi (nekorelujú so zastúpením NK bb. v decidue)
- U myší: NKT bb. mali významný vplyv na resorbciu plodov
- NKT bb. produkujú ↑ Th1 cytokíny (TNF- α , IFN- γ) → aktivácia koagulačnej a komplementovej kaskády → vznik trombov, nábor a aktivácia neutrofilov v placente
- NKT bb. majú vplyv na NK bb. $CD56^{dim} CD16^+$ (10%) na fetomaternálnom rozhraní → ↑ cytolytickej aktivity

NKT bunky všeobecne

- NKT bb. exprimujú na svojom povrchu CD znaky: CD3, CD56, CD16, sú prevažne CD4⁺
- 80% NKT bb. má invariabilný $\alpha\beta$ T-bunkový receptor (TCR), rozoznávajú glykolipidy pomocou CD1d prezentačnej molekuly
- NKT bb. exprimujú aj CD161, majú schopnosť produkovať cytokíny Th1 (IFN- γ) aj Th2 typu (IL-4, IL-10, GM-CSF) bez potreby klonovej expanzie ako pri klasických T-lymfocytoch
- Aktivované NKT bb. napomáhajú dozrievaniu dendritových buniek, maturácii B-lymfocytov a sekrécii Ig, indukujú v NK bb. produkciu IFN γ

Uterinné (uNKT) bunky

- Na rozdiel od NK bb. nevykazujú uNKT bb. podobnú dynamiku zastúpenia v decidue podľa fázy menštruačného cyklu a gravidity
- *Tsuda et al.* preukázal, že uNKT bb. produkujú IFN- γ alebo IL-4 \rightarrow vplyv na Th₁/Th₂ imunitný profil
- *Boyson et al.* manifestoval, že u zdravých tehotných žien decíduálne NKT bb. produkovali cytokíny Th₁ typu a periférne NKT bb. dominantne IL-4
- uNKT bb. u CBA \times DBA/2 myši spúšťajú rezorpciu plodov ak im bol podaný alfa-galaktozylceramid (aGalCer)

Literárne údaje 1

- Zaradených 31 žien s opakovaným implantačným zlyhaním (RIF) a spontánnou potrácavosťou (RPL), kontrolná skupina 15 žien
- Žiadne rozdiely v počtoch NKT bb. v periférnej krvi počas menštruačného cyklu
- IVIg boli aplikované s/bez heparínu a/alebo Anopyrinu počas 1 roka každé 3-4 týždne v rozdielnych dávkach
- Stanovená cut-off hodnota pre NKT bb. – 93,6 buniek/ μ L
- U žien s hodnotou NKT bb. nad 93,6 buniek/ μ L, u ktorých k došlo ich poklesu počas terapie IVIg otehotneli
- Pacientky s hodnotami NKT bb. pod 93,6 buniek/ μ L bez prejavov autoimunity mali nižšiu úspešnosť otehotnenia počas aplikácie IVIg
- NKT bb. s neplodnosťou pravdepodobne súvisia viac, než NK bb. ako také

Literárne údaje 2

- Observačná štúdia, zaradených 428 žien, 217 RPL a 211 RIF, kontrolná skupina 50 žien
- Zaradovacie kritérium: > 12% zastúpenie NK bb. CD56⁺ CD16⁺ a > 10% NKT bb. CD3⁺, CD56⁺ CD16⁺ v periférnej krvi
- IVIg protocol: 400 mg/kg každé 3 týždne počas 1. trimestra a potom 200 mg/kg každé 4 týždne do 35.–36. týždňa gravidity
- U pacientok s IVF prvá IVIg infúzia 400 mg/kg podaná do 24 hodín pred embryotransferom
- Výrazne ↑ pôrodov živých detí v oboch skupinách s liečbou IVIg oproti skupine bez liečby
- Z údajov v článku sa nedá abstrahovať podskupina žien s > 10% NKT s úspešnou th. IVIg
- Variabilita % zastúpenia NKT počas gravidity nebola hodnotená

Ramos-Medina et. al.: Experience in IVIg therapy for selected women with recurrent reproductive failure and NK cell expansion., AJRI, 2014

Náš súbor 1

- **Kontrolná skupina - fertílné ženy (14):**

- minimálne jedna nekomplikovaná gravidita s pôrodom v termíne
- spontánne otehotnenie do jedného roka, pred dosiahnutím 40. roku veku a bez anamnézy spontánneho potratu

- **Neplodné ženy: 2 podskupiny:**

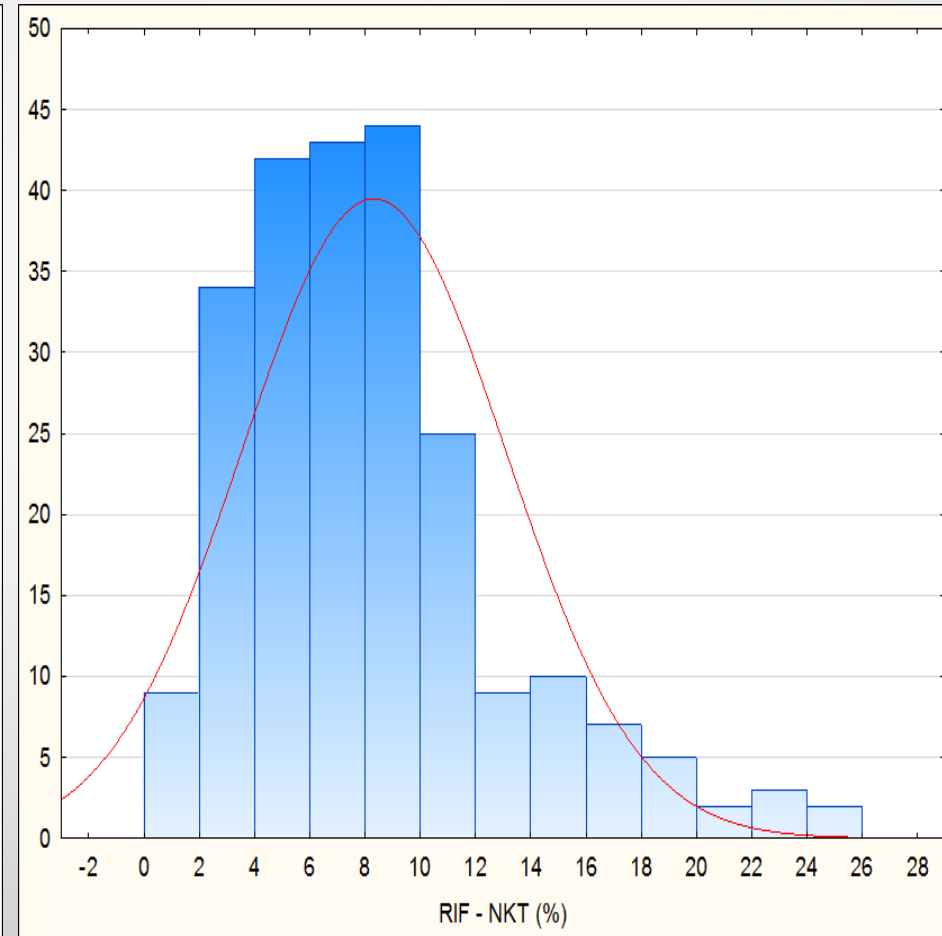
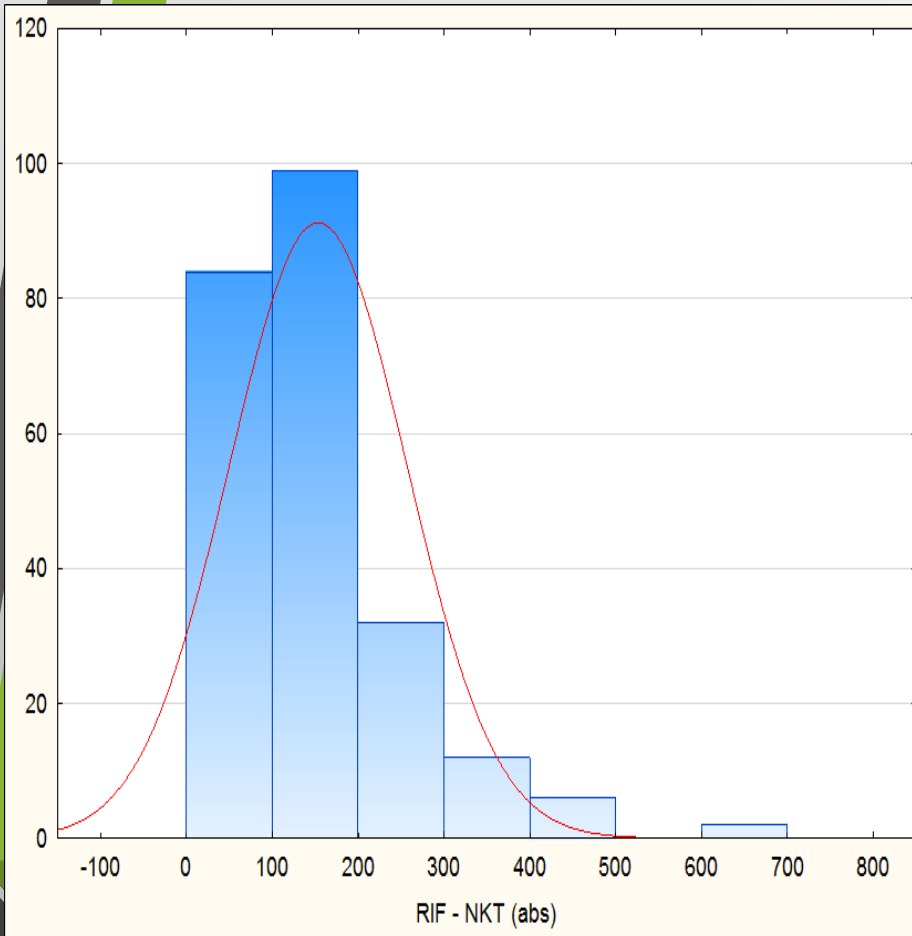
1. podskupina: 235 žien s opakovanou poruchou implantácie (RIF) – tri a viac zlyhaných IVF po transfere vysokokvalitných embryí

2. podskupina: 45 žien s opakovanou potrácavosťou (RPL) - tri a viac po sebe nasledujúcich nevysvetlených spontánnych abortov do 14. gestačného týždňa

Náš súbor 2

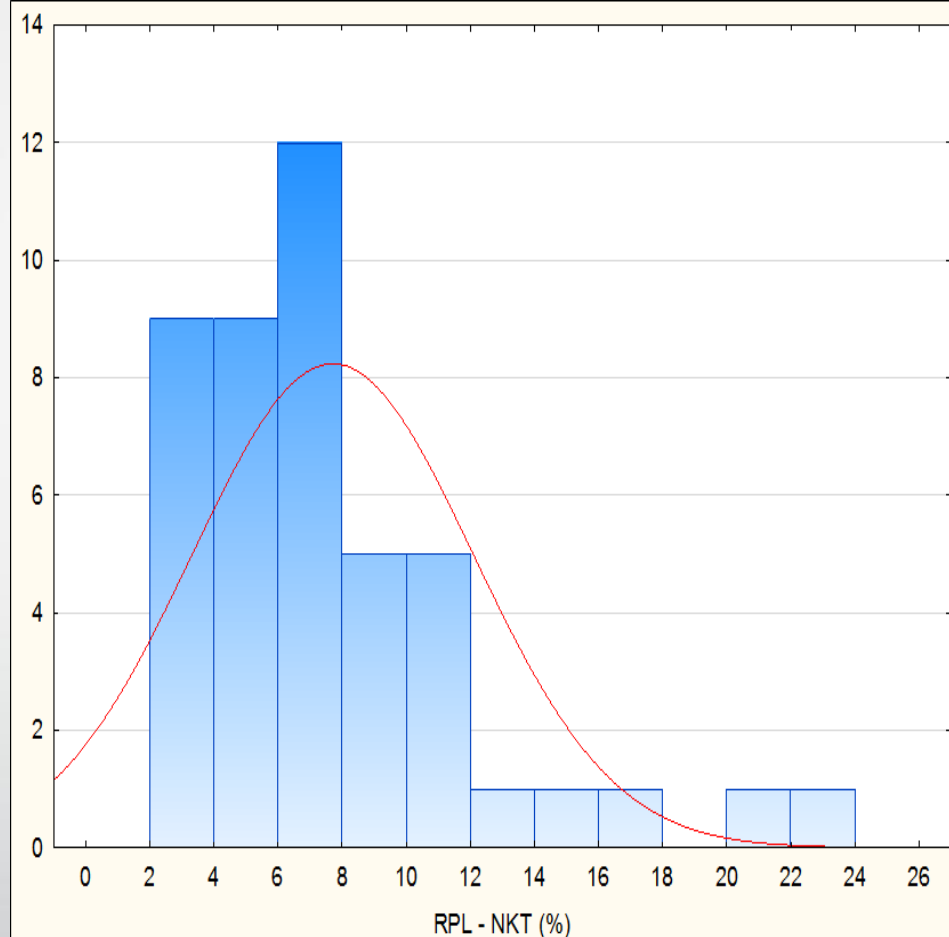
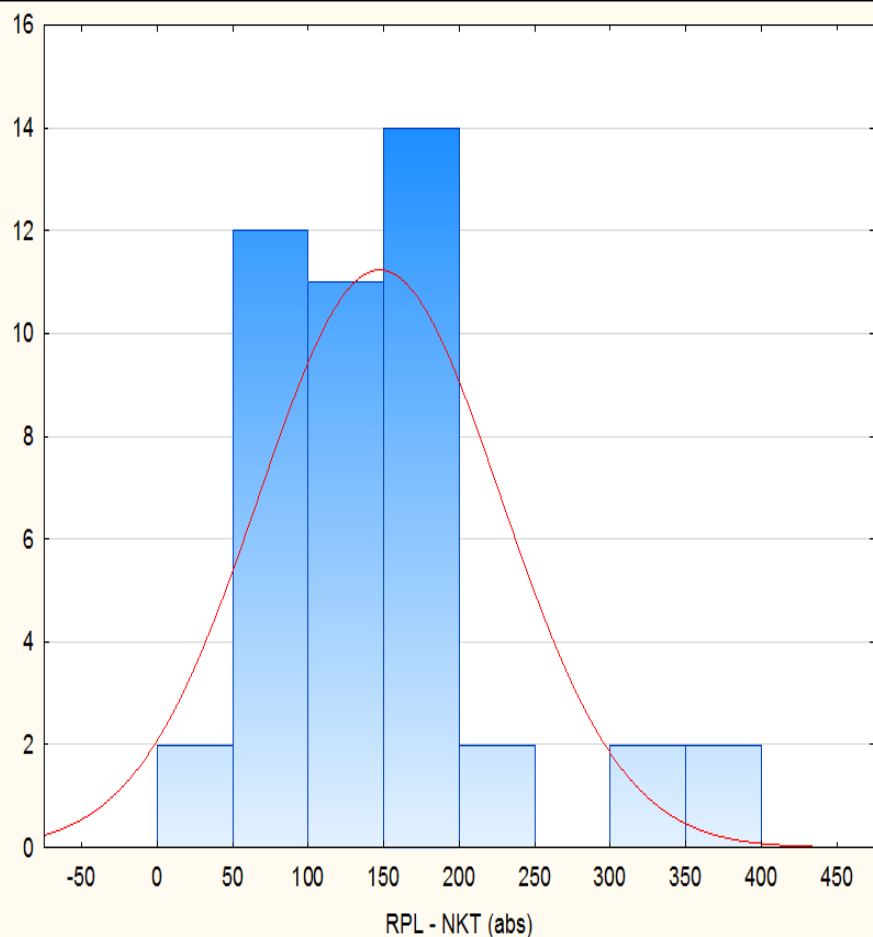
RIF_RPL		N	Minimum	Maximum	Priemer	Štand. odchýlka	Variancia
RIF	Vek	235	25,30	44,70	34,7024	3,83538	14,710
	NKT (abs.)	235	10,30	690,00	151,9706	102,75923	10559,459
	NKT (%)	235	0,50	25,20	8,2600	4,74797	22,543
RPL	Vek	45	24,00	41,80	34,4847	4,35690	18,983
	NKT (abs.)	45	33,00	370,00	146,1933	79,88403	6381,458
	NKT (%)	45	2,60	22,30	7,6622	4,35990	19,009

Distribúcia v skupine RIF



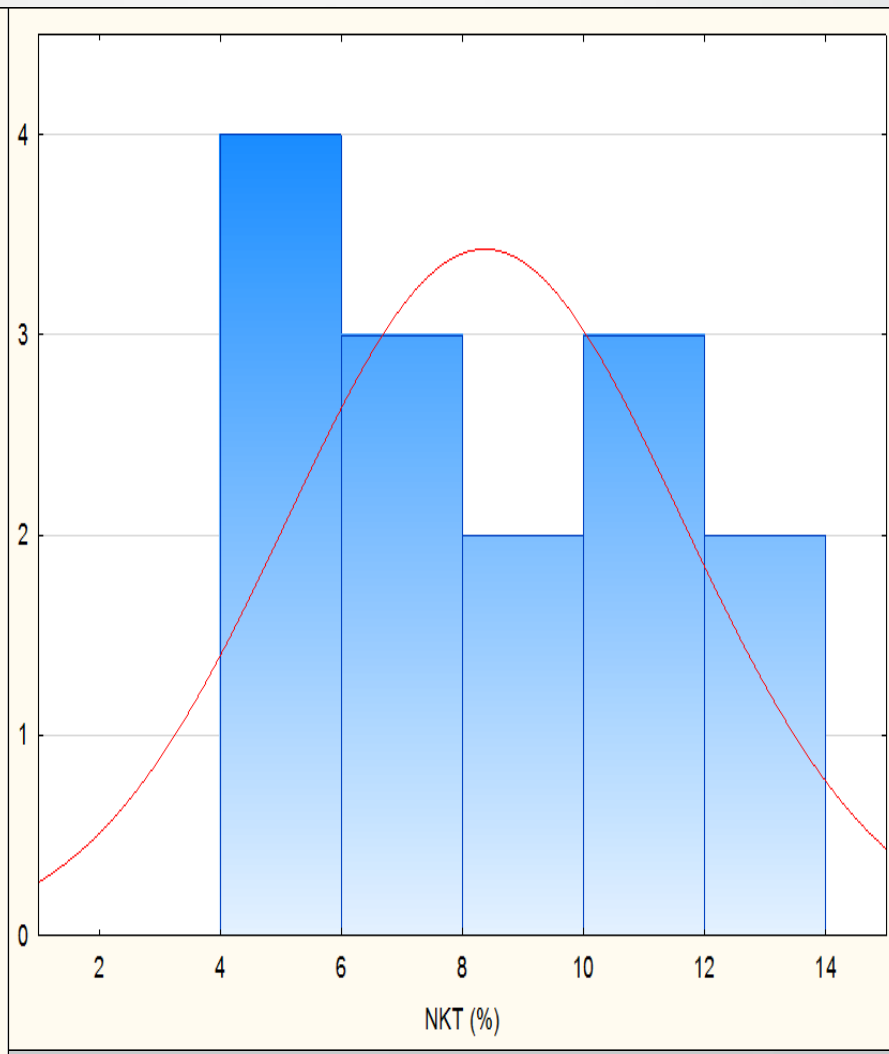
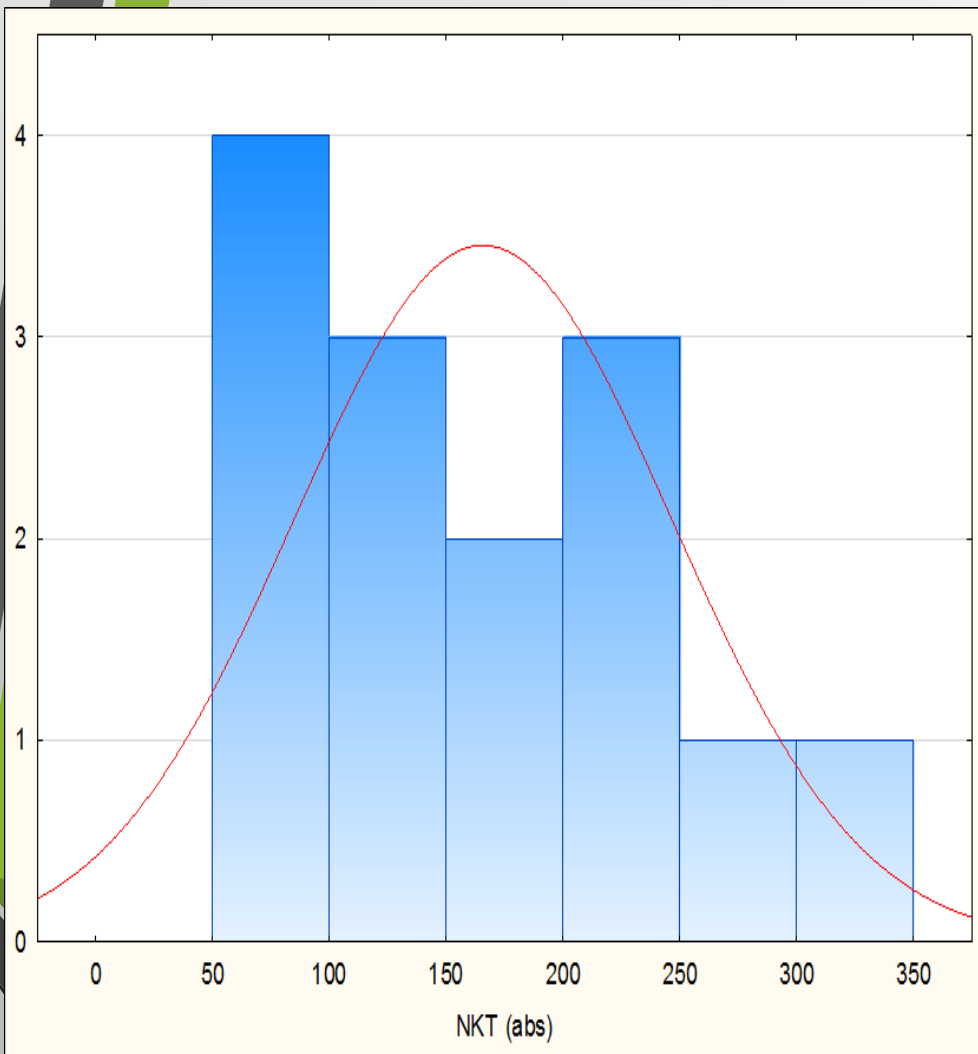
NKT (abs) $W = 0,852$, $p = 0,000$, NKT (%) $W = 0,916$, $p = 0,000$ (normalita nezistená)

Distribúcia v skupine RPL



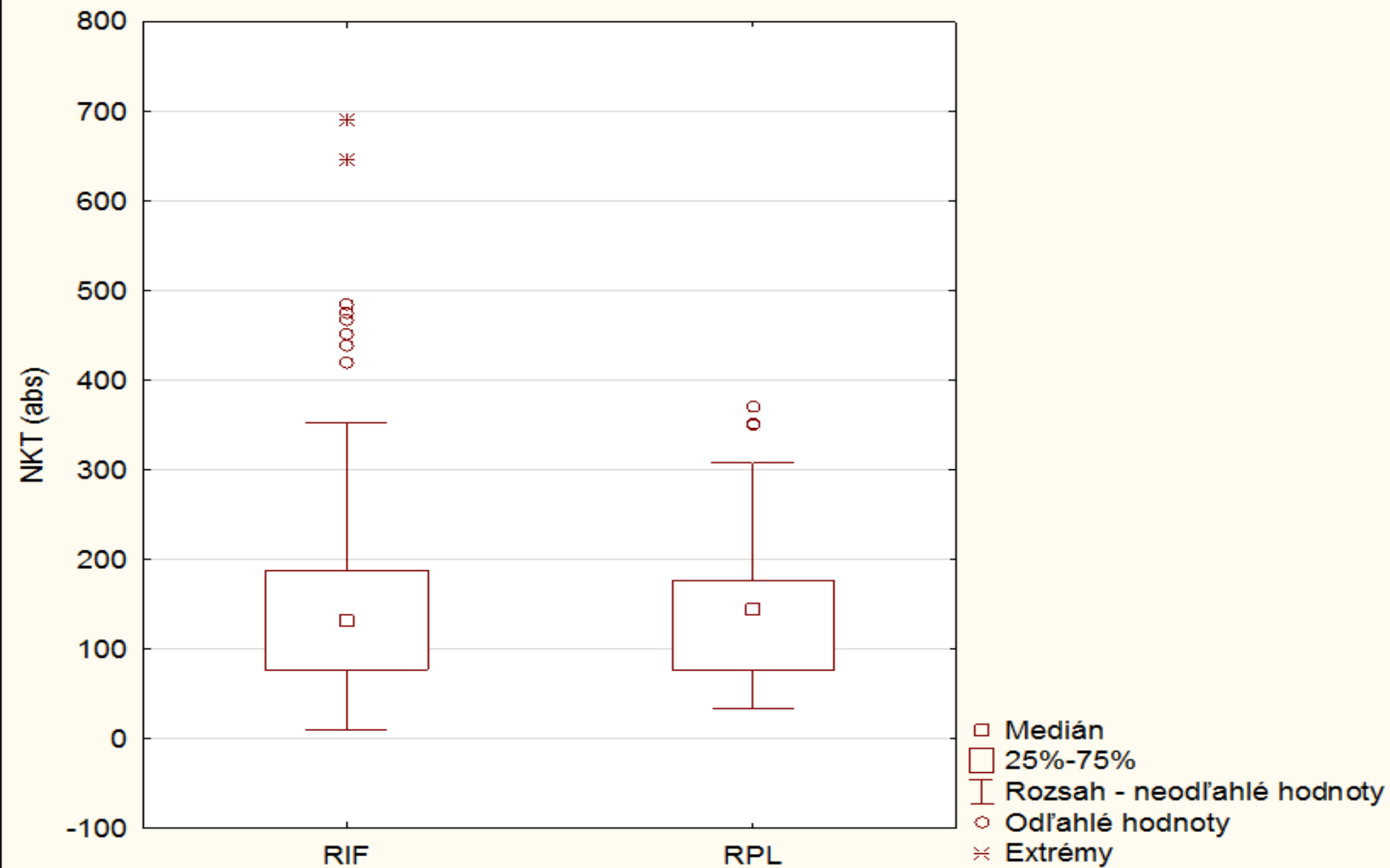
NKT (abs) $W = 0,883$, $p = 0,000$, NKT (%) $W = 0,851$, $p = 0,000$ (normalita nezistená)

Distribúcia v kontrolnej skupine

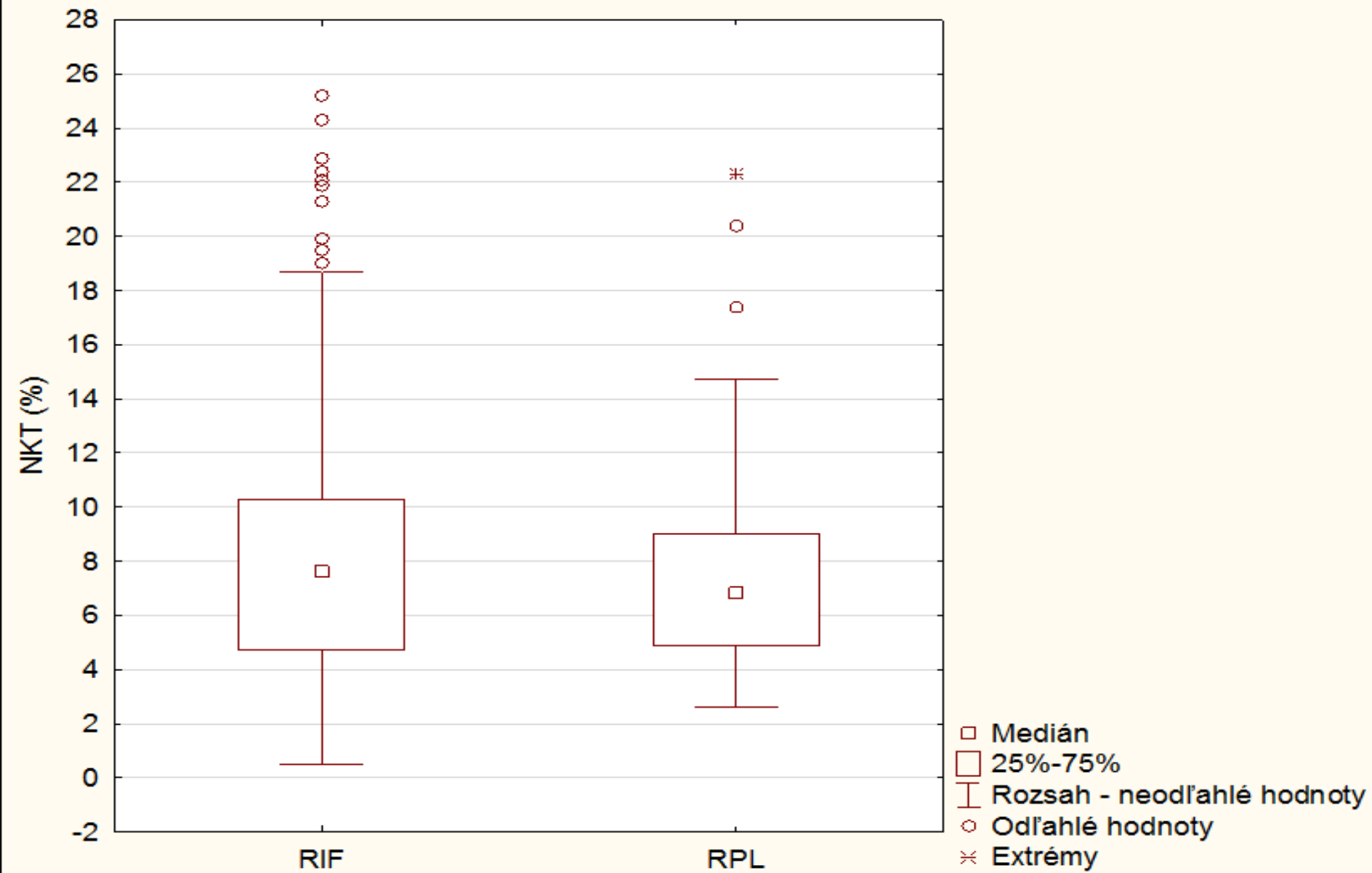


NKT (abs) $W= 0,934$, $p= 0,347$, NKT (%) $W= 0,924$, $p= 0,250$ (normalitu nezamietame)

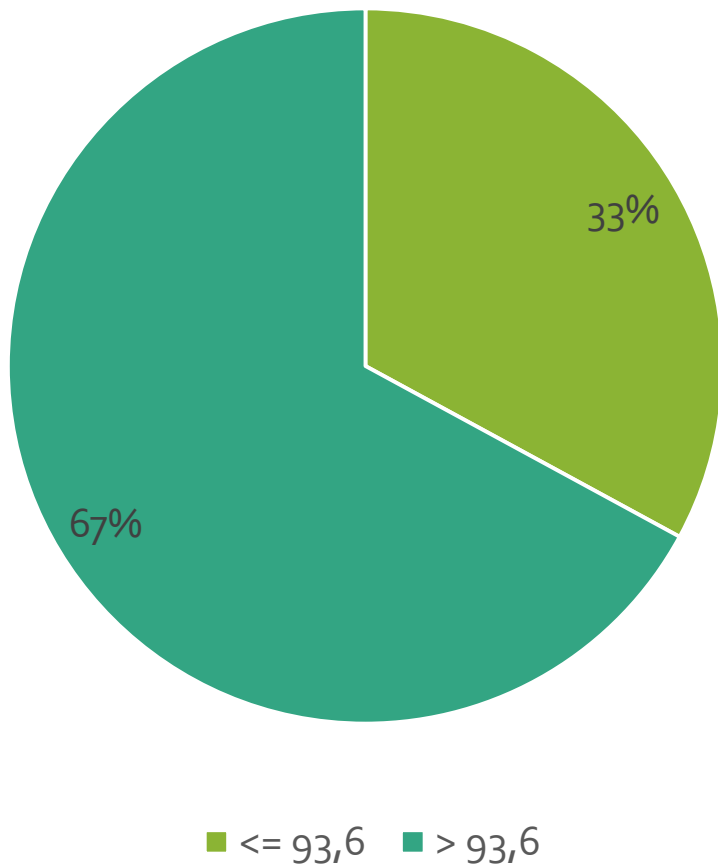
NKT (abs)



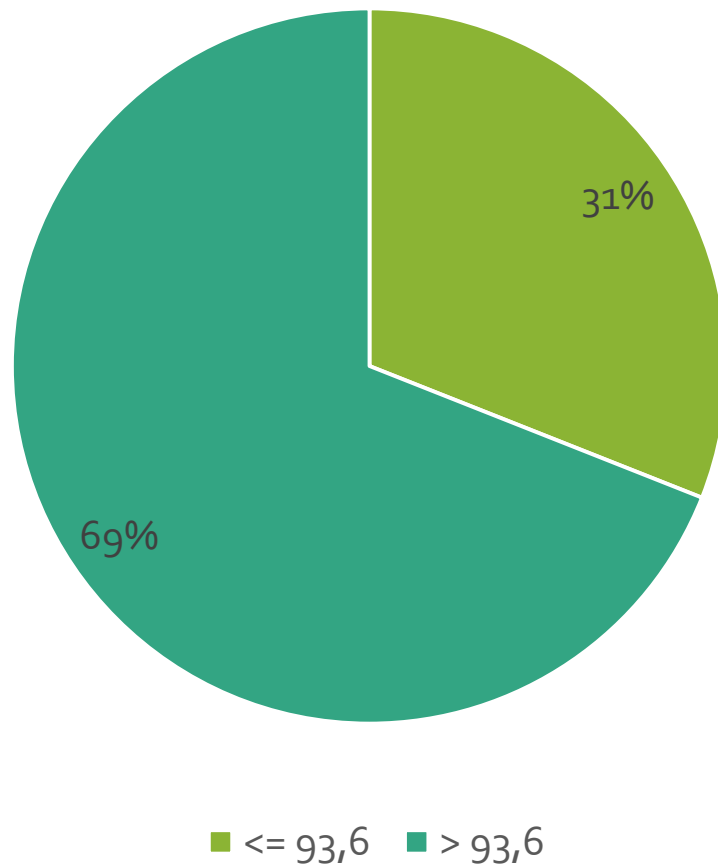
NKT (%)



RIF - NKT (abs)

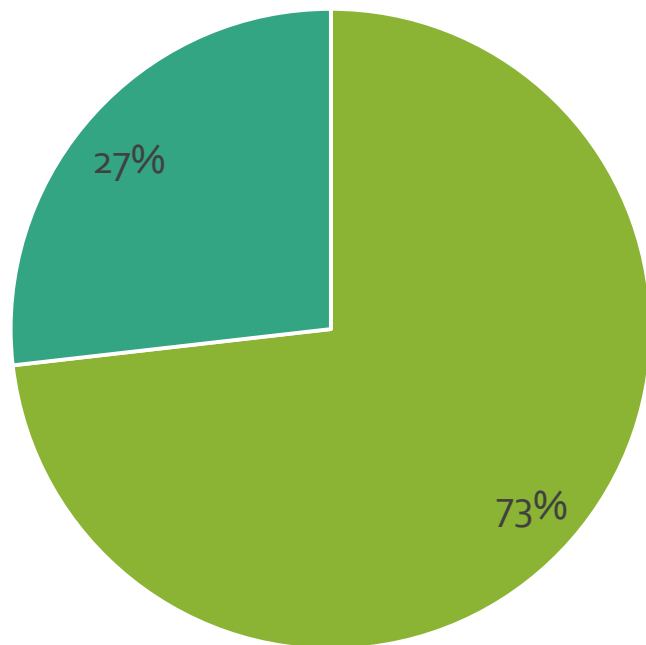


RPL - NKT (abs)



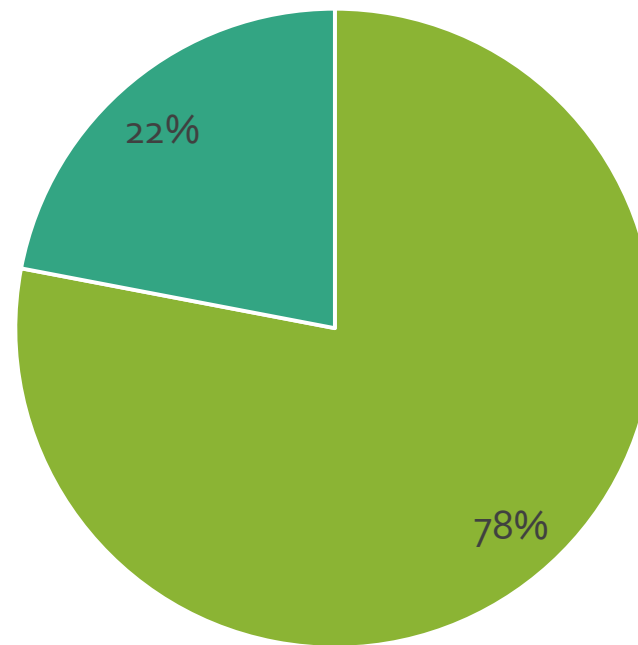
		Kategória	N
NKT (abs.)	Skupina 1	<= 93,6	91
	Skupina 2	> 93,6	189
	Spolu		280

RIF - NKT (%)



■ <= 10 ■ > 10

RPL - NKT (%)



■ <= 10 ■ > 10

					Kategória	N
NKT (%)	Skupina 1	<= 10	207	0,74	0,50	0,000
	Skupina 2	> 10	73	0,26		
	Spolu		280	1,00		

Naše výsledky

- V skupinách RIF a RPL nebola zistená normalita
- Žiadny rozdiel NKT (abs) a NKT (%) v podskupinách RIF a RPL ($p=0,827$ a $p=0,395$)
- Žiadny rozdiel NKT (abs) a NKT (%) v experimentálnej a kontrolnej skupine ($p=0,313$, $p=0,454$)

Záver

- Cieľom sledovania imunitných parametrov u porúch plodnosti by pravdepodobne nemalo byť predpovedanie úspechu gravidity, ale skôr identifikácia pacientok vhodných na presne definovanú liečbu, ktorá zvýši počet pôrodov donosených detí
- Budúcnosť možno leží vo funkčnej analýze NKT bb., aby sa vyseletovali ženy so ↑ aktivitou NKT bb. (↑ tvorba IFN- γ , IL-4)
- Je potrebná presná identifikácia skupiny pacientiek, ktorým sa nebude podávať pre ne neúčinná liečba

Ďakujem za pozornosť



www.dzurilla.com