

T-, NK-, NKT-sejtek vizsgálata szisztémás sclerosisban

OTDK dolgozat

készítette: **KARDOS DOROTTYA VIRÁG**
Biológia BSc hallgató

témavezető: **Dr. SIMON DIÁNA**
Egyetemi adjunktus
PTE KK Immunológiai és Biotechnológiai Intézet



PÉCS, 2014.

TARTALOMJEGYZÉK

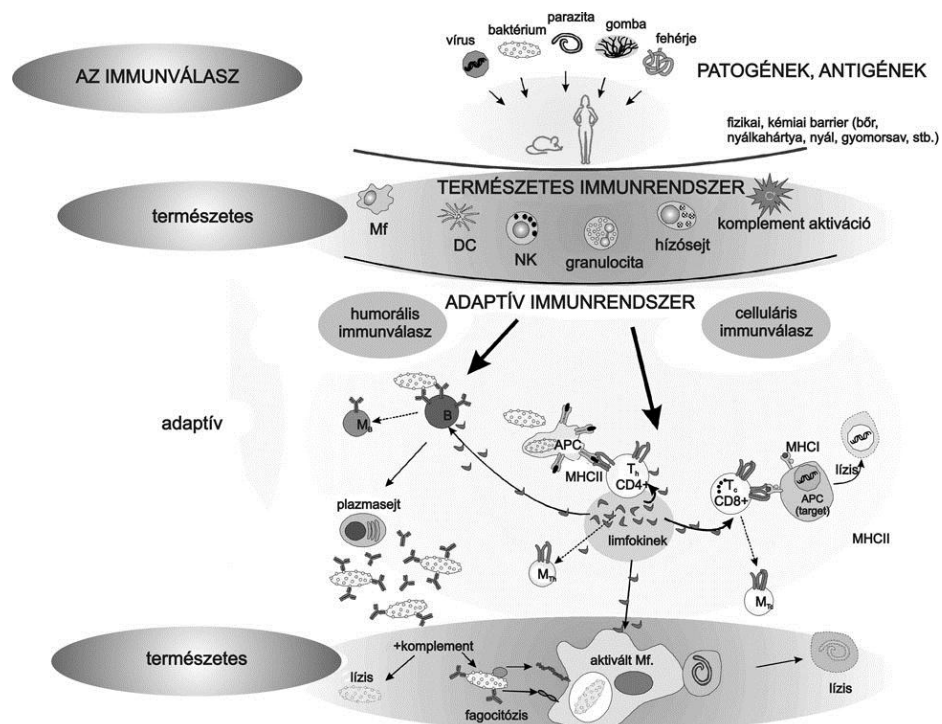
1. Irodalmi áttekintés	3
1.1 A veleszületett és adaptív immunrendszer	3
1.2 Immuntolerancia	6
1.3 Autoimmunitás, autoimmun betegségek	7
1.4 Szisztémás sclerosis (SSc)	8
2. Célkitűzések	12
3. Anyag és módszer	13
3.1 Sejtfelszíni markerek	13
3.2 Antitestek	15
3.3 Protokoll, jelölés menete	15
3.4 Áramlási citometria	16
3.5 Adatok elemzése	18
3.6 Statisztikai analízis	21
4. Eredmények	22
5. Eredmények megbeszélése	27
6. Összefoglalás	28
7. Köszönetnyilvánítás	29
8. Rövidítés jegyzék	30
9. Irodalom jegyzék	31

1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1.1 A veleszületett és adaptív immunrendszer

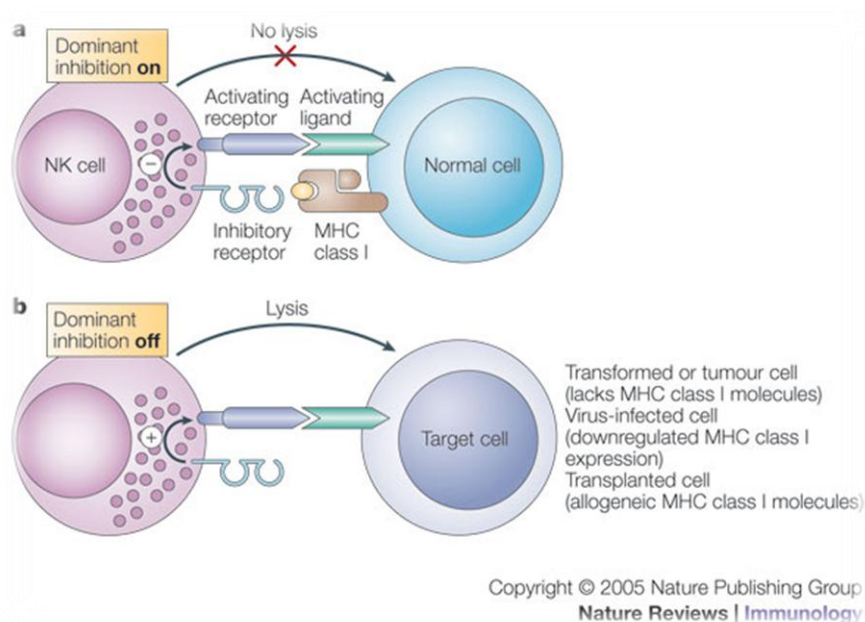
Az immunológia a biológiának a szervezetben lejátszódó védekező folyamatokkal foglalkozó ága. Az immunrendszer fő feladata, hogy különbséget tegyen saját és nem saját struktúrák között, illetve ezekre különbözőképpen reagáljon. Az immunrendszer felismerő, információtovábbító és effektor funkciókat lát el. A sajátnak felismert struktúrákat az immunrendszer megtűri, azaz toleranciával válaszol rá, az idegenek immunválaszt váltanak ki. Utóbbi az előidéző ágens semlegesítéséhez, elpusztításához és szervezetből való eltávolításához vezet (GERGELY ÉS ERDEI; 2006)

Az adaptív, más néven szerzett immunrendszer a törzsfajlás folyamán ráépült a veleszületett immunrendszerre. A szervezetbe bejutó patogén először a veleszületett immunrendszer elemeivel találkozik, majd pár nappal később az adaptív immunrendszer is aktiválódik. A veleszületett immunrendszer sejtjei, és humorális komponensei, a makrofágok, dendritikus sejtek, természetes ölő sejtek (natural killer, NK-sejtek), granulociták, hízósejtek, valamint a komplementrendszer és az antimikrobiális peptidok azonnal működésbe lépnek, és a káros anyagokat hatástalanítják. (1. ábra)



1. ábra A veleszületett és adaptív immunrendszer és immunválasz (GERGELY ÉS ERDEI; 2000)

Az NK-sejtek az MHC I molekulákat nem, vagy nem megfelelő mennyiségben expresszáló sejteket képesek felismerni, majd elpusztítani. Az NK-sejtek effektor működését az MHC I specifikus gátló receptor (KIR) és az aktiváló receptor (KAR) egyensúlya határozza meg. A testi sejtek felszínén lévő fő hisztokompatibilitási komplex I (MHC I)-molekulák száma lecsökken vírusos fertőzések és tumoros elváltozások hatására. A KIR kapcsolódik az MHC I molekulához, így nem alakul ki NK-sejt aktiváció. Ha az MHC I molekula száma lecsökken, KIR kötőhelyek szabadulnak fel, így az nem gátolja a KAR működését, és aktiválódnak az NK-sejtek. **(2. ábra)** Ezek a sejtek a limfocitáknál nagyobb méretűek, citoplazmájukban több granulum található. Ezekben a granulumokban lévő perforin és proteáz anyagok végzik a sejt eliminálásának citotoxikus részét. Ezzel párhuzamosan apoptotikus folyamatok is szerepet játszanak a célsejtek elpusztításában.



2. ábra Természetes ölósejt (FAUCI ÉS MTSAI; 2005)

Az adaptív immunrendszer sejtjeit főként a csontvelőben keletkező, majd a tímuszban fejlődő T- és a csontvelőben kialakuló B-sejtek alkotják. Ezek a sejtek az antigént, antigén felismerő receptoruk segítségével, antigén-prezentáló sejteken keresztül (T-sejtek), vagy közvetlenül (B-sejtek). ismerik fel. A kívülről bejutó antigének jelentős része, fertőzést okozó patogén – vírusok, baktériumok, gombák, protozoonok, férgek-, melyek egyben antigének is. A kórokozót, a szervezetbe jutás helyszínén antigén prezentáló sejtek veszik fel, és enzimek segítségével egy részét lebontják, majd a megfelelő receptort hordozó T-sejtnak bemutatják. Ezek, a molekula egy kis részét, az epitópot ismerik fel. Csak akkor képesek a felismerésre, ha a bemutatást megelőzően az APC molekula felszínén, az antigén a MHC I-gyel, MHC-

antigén komplexet képezve jelenik meg. A Th-sejtek MHC II, míg a Tc-sejtek MHC I molekulával asszociált peptidet ismernek csak fel. **(3. ábra)**Csak azok a limfociták aktiválódnak a másodlagos nyirokszervekben, melyek felszínén jelen van az adott antigént felismerő receptor.(GERGELY ÉS ERDEI; 2006)

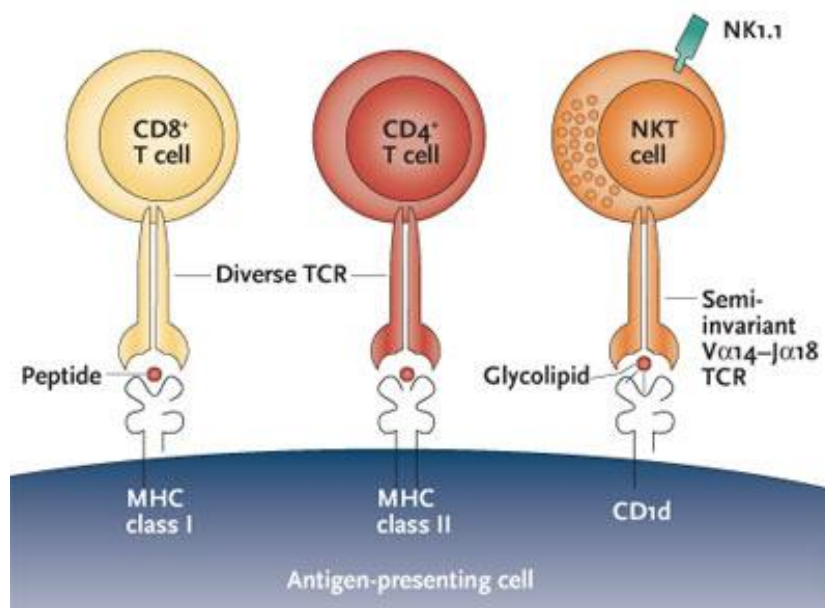
A T-sejtek esetében az antigén felismerő receptor (TCR) szerkezete alapján két csoportba sorolhatók a sejtek. Az első az α és β láncból álló, a második a γ és δ láncból álló heterodimer. Az α és β TCR-t hordozó sejtek, a felszíni marker szerint további két alcsoportra bonthatók. A CD4⁺ segítő (helper, Th) és a CD8⁺ citotoxikus T-sejtek (Tc). A Tc-sejtek a celluláris immunválasz során a kórokozók közvetlen elpusztítására képesek.

A Th-sejtek két alpopulációja, a Th1 és Th2 sejtcsoport eltérő funkciót lát el a védekezésben. A Th1-sejtek elsősorban a makrofágokat aktiváló, gyulladás és citotoxikus folyamatokban szerepet játszó limfokineket termelnek, például IL-2, IFN- γ , TNF- α . Ezek főként az intracelluláris kórokozók ellen védenek. A Th2-sejtek az IL-4, 5, 6, 10 limfokinek termelésével aktiválják a B-limfocitákat, és ellenanyag termelő sejté váló alakulásában játszanak szerepet, a humorális immunválaszt segítik. Így főként az extracelluláris kórokozók elleni védelemben hatékony. (ERDEI ÉS MTSAI; 2012)

A Th1 és Th2 sejtektől elkülönülő csoportot alkotnak a Th17 és a follikuláris Th-sejtek (TF) valamint a regulatórikus T-sejtek. Előbbi az IL-17 citokin termelésével gátolja az IFN- γ jelátvitelt, így fokozza a kórokozók fejlődését és súlyosbíthatja az autoimmunitást. (HARRINGTON ÉS MTSAI; 2005) A TFH sejtek nagymennyiségben termelik az IL-21 citokint, feladatuk a memória B-sejtek és plazmasejtek differenciálódásának elősegítése (FAZILLEAU ÉS MTSAI; 2009) (BARNETT ÉS MTSAI; 2014) Az adaptív immunrendszer működését a regulatórikus T-sejtek szabályozzák. (ERDEI ÉS MTSAI; 2012)

A T-sejtek egy szubpopulációját alkotják a természetes ölő T-sejtek (NKT-sejtek). Ezek különlegessége, hogy felszínükön hordozzák a T-sejtekre jellemző α és β TCR-t, és expresszálják a tipikusan NK-sejtekre jellemző felszíni molekulákat, mint például az NK1-et. Az NKT-sejtek két csoportja, az invariáns TCR receptort hordozó (iNKT/ I-es típusú NKT-sejtek) és a variáns TCR-t hordozó, II-es típusú NKT-sejtek. Előbbi receptora különbözik a T-sejtek által ismert, α és β láncú T-sejt receptortól. A glikolipid természetű antigén bemutatás egy az MHC molekulához hasonló, CD1d nevezetű molekula által történik. Ezután indul meg a Th1 és Th2 citokinek termelése, mely a naiv T-sejtek differenciációjára van hatással. (KUMAR ÉS MTSAI; 2014) Az NKT-sejt összekötő funkciójú az adaptív és természetes

immunrendszer között. (VOMHOF-DEKREY ÉS MTSAI; 2014) Főként tumorok kialakulásnál, autoimmun betegségeknél, allergiás reakcióknál játszik szerepet. (3. ábra)



3. ábra A helper, a citotoxikus T-sejt és az NKT-sejt antigén felismerése (JILL ADAMS; 2005)

1.2 Immunológiai tolerancia

Az immunrendszer sejtjeinek érése során, a mikrokörnyezeti antigének hatására a saját struktúrák nagy részével szemben tolerancia alakul ki. Bizonyos genetikai hibák, vagy az immunrendszer szabályzásának kisiklása előidézhetheti kóros folyamatok kialakulását. Ez történik az autoimmun betegségek és allergiás reakció során.

A tolerancia két fajtája különböztethető meg, ezek a centrális és a perifériális tolerancia. A centrális tolerancia a központi nyirokszervekben alakul ki; a T- és B-sejtek érése során, a saját struktúrákat felismerő receptorokkal rendelkező T- és B-sejtek nagy része eliminálódik, mivel a receptornak megfelelő antigén nem, vagy csak kis mennyiségben található meg a mikrokörnyezetben. A T-sejt tolerancia során a tímuszban érő T-sejtek közül csak azok maradnak életben, melyek a saját MHC –molekulát képesek felismerni. Ezt nevezik pozitív szelekciónak. A negatív szelekció során pedig a saját struktúrákat kötni képes T-sejtek szelektálódnak ki. A saját struktúrákat megkötni képes T-és B-sejtek egy része túléli ezt a folyamatot, és kijuthat a perifériára. Amennyiben itt sem találkozik a megfelelő antigénnel, rövid időn belül elpusztul. Ha azonban találkozik olyan antigénnel, mely aktiválni képes az

autoreaktív sejteket, a limfocita anergiával válaszol. Ezen folyamatok vezetnek a perifériás tolerancia kialakulásához. (GERGELY ÉS ERDEI; 2006)

A klonális deléció során, az autoantigének hatására, az autoreaktív B- és T –sejtek apoptózissal elpusztulnak, az anergia során a T- és B-sejtek autoantigén hatására inaktív állapotba kerülnek, a szupressziós folyamatokban a regulatórikus T-sejtek játszanak jelentős szerepet. Ezek a sejtek az IL10 és TGF- β citokinek termelésével gátolják a T-sejtek proliferációját. (ABUL K. ABBAS ÉS MTSAI; 2012)

1.3 Autoimmunitás, autoimmun betegségek

A jól szabályozott autoreaktivitás nem jelent veszélyt a szervezetre. Autoreaktív T- és B-sejtek, autoantitestek illetve rövid ideig tartó autoimmunfolyamatok az egészséges szervezetben is kimutathatók, ezt nevezzük fiziológiás autoimmunitásnak. Az autoimmun betegségekre a szervezet saját struktúráit pusztító krónikus gyulladás jellemző. A károsító folyamatok célpontja a szervezet szinte bármely szerve, szövete lehet. Ennek első jellegzetessége a szövetspecifikus autoantigének elleni antitestek és a T-sejtek képződése. Ha a betegség csak bizonyos szervet érint, akkor szerv specifikus, ha az egész szervezetet érinti, akkor szisztémás autoimmun betegségről beszélünk. A szisztémás autoimmun betegségek során több szerv sejtjeire jellemző autoantitestek jelennek meg. (GERGELY ÉS ERDEI; 2006)

Az autoimmun betegségek kiváltó oka nem teljesen ismert, és nem vezethető vissza egyetlen tényezőre. Szerepet játszanak genetikai, valamint környezeti tényezők. Általában több gén működési zavarával függ össze a betegség kialakulása, de kiemelt szerepe van az MHC által kódolt géneknek. Legszorosabb összefüggést az MHC II osztályba tartozó allélokkal mutattak ki, de az MHC I osztályba tartozókkal is van összefüggés. Az MHC haplotípus elősegíti a megfelelő epitópok bemutatását így növelve a T-sejt aktivációt. Az is lehetséges, hogy a tímuszban nem megfelelő a saját peptidek prezentációja, így növekszik az agresszív T-sejtek száma, és csökken a regulatórikus T-sejtek száma.

A fent említett okokon kívül fertőzések is szerepet játszhatnak a betegségek kialakulásában. Ennek többféle oka lehet, például bizonyos kórokozók epitóp mintázata megegyezhet az autoantigénekével, illetve a kórokozók által kiváltott gyulladásos folyamat növeli az APC felszínén jelen lévő kostimulációs molekulák számát, így nagy mennyiségű T-sejtet aktivál, ezzel növelve az autoreaktív T-sejt aktiváció esélyét.

Az autoimmun folyamatok beindításánál a T-sejteknek különösen fontos szerepe van. A túlzott mértékű Th aktiváció, nagy mennyiségű ellenanyag termelődéssel jár, mely károsítja a környező szöveteket. (ERDEI ÉS MTSAI; 2012)

A szisztémás autoimmun kórképek patomechanizmusa változatos, de a kezdeti tünetek igen hasonlóak. Leggyakrabban középkorú nőket érint. A kötőszöveti betegségek között népbetegségek is találhatók. Ezek legfőbb tünetei a gyulladásos bőrtünetek, Raynaud-jelenség, az ismétlődő serositisek. A betegségek folyamatos vagy időszakos gyulladásos jelenségekkel járnak. Szisztémás autoimmun betegség gyanúja merül fel, több ízületet szimmetrikusan érintő gyulladás esetén, főként, ha a kéz kisízületei is érintettek. Ezen kívül a betegség jelenlétére utaló tünetek a Raynaud-jelenség, a sziccátünetek (szem és szájszárazság), fehérje vizezés, gyulladásos bőrijelenségek, szimmetrikus izomfájdalom vagy gyengeség, és az antifoszfolipid szindróma. (DR. CZIRJÁK LÁSZLÓ; 2006)

1.4 A szisztémás sclerosis (SSc)

A szisztémás sclerosis (SSc), a szisztémás autoimmun betegségek egyike, mely leggyakrabban a negyven éves kor feletti nőket érinti. Nevét legjellemzőbb tünetéről, a bőrmegvastagodásról kapta, de gyakorlatilag minden szervet érint. Kialakulásában szerepet játszhatnak genetikai eltérések, valamint környezeti tényezők, mint például egyes gyógyszerek és vegyi anyagok. Két formája, a diffúz (dc) és a limitált (lc) SSc eltér egymástól a klinikai tünetek megnyilvánulásában és a prognózisban. A diffúz forma jóval súlyosabb lefolyású, ennek a legmagasabb a mortalitási és mobilitási rátája. (FRECH ÉS MTSAI; 2013) (DR. CZIRJÁK LÁSZLÓ; 2006)

A kórkép előterében a fibroblasztsejtek fokozott proliferációja, a megnövekedett kollagén illetve intercelluláris mátrix szintézis állnak. A betegség bőr és bizonyos belső szervek fibrózisával és késői atrófiájával, valamint obliteratív vaszkulopátiával jellemezhető. (ZIMMERMANN ÉS MTSAI; 2013) Elsődleges jelenségek az ismeretlen eredetű vaszkuláris endotheliális lézió, kapilláris szám redukció, és óriás kapillárisok kialakulása. A kisartériák morfológiai károsodása érinthetik a vese és arteria pulmonaris területét. (DEMIR ÉS MTSAI; 2014) Az SSc érintheti a bőrt, mozgásszerv rendszert, a gasztrointesztinális rendszert, a tüdőt, szívet, és akár a perifériás, ritkán a központi idegrendszert is. (PARKS ÉS MTSAI; 2013)

A bőr és mozgásszervi tüneteknél leggyakoribbak az ujjak bőrének megvastagodása, mely jelen lehet az akrális részeken, leggyakrabban periorálisan, a füleken és orron. A törzs bőrének érintettsége súlyosabb dcSSc-re utalhat. Gyakori tünet az ujjbegy fekély, és a már

korábban említett Raynaud-jelenség. (XU ÉS MTSAI; 2013) A gasztrointesztinális rendszert érintő tünetek közül a betegek 1/3-át érinti a csökkent nyál- és könnytermelés. A nyelőcső manifesztáció gyakran reflux oesophagitis kialakulásához vezet. A gyomor és vékonybél érintettség súlyosabb esetben belső vérzést okoz. A halálozási okok között a tüdőmanifesztáció a leglényegesebb, legtöbb esetben tüdőfibrózis társul a kórképhez. Ez dominálón a tüdő bazális részein kezdődik, csökkent diffúziós kapacitás és vitálkapacitás jellemző a betegekre. Az lcSSc csoportban előfordul pulmonalis hypertonia. A kardiális érintettség is igen gyakori, ennek következményeként ingervezetési-ingerképzési zavarok lépnek fel. (NTUSI ÉS MTSAI; 2014) Elsősorban a bal kamra diasztolés funkciója károsodik. A vese érintettsége általában a korai dcSSc-re jellemző. (DR. CZIRJÁK LÁSZLÓ; 2006)

A humorális immunválasz eltérései közül a leggyakoribb az antinukleáris antitestek előfordulása 80-95%-os. Az Scl-70 antigén elleni autoantitest a DNS topoizomeráz I. ellen irányul, és a súlyosabb klinikai tünetekkel járó dcSSc-re jellemző, a kutatások szerint jelenléte összefüggésbe hozható a tüdőfibrózissal. (SUJAU ÉS MTSAI; 2014) Az anti-RNS polimeráz I-III. és antifibrillarin autoantitestek szintén a dc típusnál vannak jelen. Az lcSSc-nél az anticentromer antitestek (ACA) jelenléte figyelhető meg. Eddigi adatok nem támasztják alá az autoantitestek betegség patogenezisében betöltött szerepét. (HEIJNEN ÉS MTSAI; 2013)

Bár több kísérlet is irányult a SSc igen komplex patogenezisének és a betegség háttérfolyamatainak megismerésére, eddig még nem sikerült olyan egységes hipotézist elfogadni, mely minden szempontból magyarázza az SSc kialakulását, és lefolyásának mechanizmusát. Korábbi vizsgálatok arra utalnak, hogy az immunrendszer aktiválódása egy kulcsfontosságú inger a fibrózis és a vaszkuláris rendellenességek kialakulásában. Eddig bizonyítottan három sejt típus rendellenes működése felelős a betegség klinikai és patológiai megnyilvánulásáért. A fibroblaszt sejtek, az endotheliális sejtek, és az immunsejtek közül főként a T- és B- sejtek funkcionális eltérése okozza az SSc-re jellemző tünet együttest, (JIMENEZ ÉS MTSAI; 2004)

Az autoantitest termelés mellett a megváltozott B-sejt funkció is hozzájárul az SSc kialakulásához. Anti-CD20 monoklonális antitest terápia hatásossága is bizonyítja a B-sejtek szerepének fontosságát a betegség lefolyásában. A B-sejtek is hozzájárulhatnak a fibrózis kialakulásához. Állatmodellekben igazolták, hogy a CD19, B-sejt szignáltranszdukciós molekula hiánya csökkent fibrózist eredményez. (SAKKAS ÉS MTSAI; 2004)

Bőrbíopsziás mintákban csökkent számban találtak NK-sejteket és megnövekedett számban találtak CD4⁺ Th-sejteket. Ennek megfelelően megfigyelték a Th2 sejtek által termelt citokinek –az IL-4, IL-10, IL-13, és IL-17- megnövekedett mennyiségét a szövetmintákban. (KUROSAWA ÉS MTSAI; 2000)

Az SSc fő fibrogén citokinje az IL-4 és a TGF- β . Az IL-4 fokozza a fibroblasztok kollagén termelését, illetve a TGF- β szintézisét indukálja az SSc-s betegekben. A TGF- β stimulálja a fibronectin és a proteoglikánok termelését, és gátolja az extracelluláris mátrix lebontását, a mátrix metalloproteinázok (MMP) szintézisének csökkentésével, valamint azáltal, hogy növeli az MMP szöveti inhibitorának mennyiségét. A Th2 sejtek IL-4 termelésével stimulálják a kollagén szintézist, míg a Th1 sejtek IFN- γ termelésével gátolják a kollagén szintézist. (VALENTINI; 2001) A fent említett citokineken kívül az IL-1, IL-6 és CTGF (connective tissue growth factor) is megnövekedett mennyiségben található az érintett szövetekben és a szérumban. Az említett mediátorok együttesen vesznek részt az SSc patomechanizmusának kialakításában, a fibroblasztok, endotheliális sejtek és makrofágok működésének befolyásolásával. (J.-P. ZUBER, F. SPERTINI; 2006)

Perifériás vérben történő vizsgálat során kimutatták a CD3- és CD56⁺ NK-sejtek csökkent mennyiségét. Ezen kívül az NK-sejtek receptorának csökkent működése, főként tüdőfibrózisos SSc-s betegekben arra utal, hogy a tünetek megnyilvánulásában szerepet játszik a receptorok csökkent működése. (SALIM ÉS MTSAI; 2013) (PUXEDDU ÉS MTSAI; 2012) Ezzel ellentétben egy 2011-es magyar kutatás szerint az NK-sejtek és a Th-sejtek (Th17) aránya nőtt, míg az NKT-, Th1, 1-es típusú regulatórikus T-sejtek (Tr1), és CD4 + CD25 + regulatórikus T-sejtek aránya csökken a betegekben. (PAPP ÉS MTSAI; 2011) További adatok alapján az NK-sejtek aránya a késő stádiumban még tovább csökken. A betegség súlyosságával is összefüggést mutat, mivel a súlyosabb dcSSc-ben alacsonyabb NK-sejt arány figyelhető meg, mint az lcSSc-ben. (ERCOLE-LP; 2003)

Szintén betegek perifériás vérmintájának vizsgálata során írtak le az SSc-ben megnövekedett CD4⁺ T-sejt számot (BESLIU ÉS MTSAI; 2011) és CD8⁺ sejt mennyiséget. (ARTLETT ÉS MTSAI; 2002) A dcSSc-ben, tüdőfibrózissal és ujjbegy fekélyvel szenvedő betegekben csökkent T-sejt számot írtak le. A tüdőfibrózisos egyéneknél a CD8⁺, valamint CD56⁺ sejtek száma is csökkent. Funkciójukat tekintve, az effektor sejtek aránya megnőtt, míg a naiv és memória sejtek aránya csökkent a CD8⁺ és CD4⁺ sejteken belül. Ez a változás különösen az ujjbegy

fekéllyel és tüdőfibrózissal rendelkező egyéneknél volt megfigyelhető. (CARVALHEIRO ÉS MTSAI; 2014)

Egerekben végzett kísérletben bizonyították, hogy a specifikus glikolipiddel történő NKT-sejt aktiváció megvédte a kísérleti állatokat az autoimmun folyamatok kialakulásától. Ezen kívül megfigyelték, hogy az NKT-sejtek mennyiségének csökkenése a betegség súlyosbodásával jár, azaz az NKT-sejtek szerepet játszanak az autoimmunitás elnyomásában. (WU ÉS MTSAI; 2009)

2. CÉLKITŰZÉSEK

Korábbi tanulmányok alapján feltételezhető az NK-, NKT-, Th- és Tc-sejtek zavarának szerepe az SSc-ben. A korábbi vizsgálatok főleg szöveti mintákból történtek, perifériás vérből származó eredmények ellentmondásosak, ezért célunk a perifériás vérben jelen lévő T-sejtek, ezen belül a Th- és Tc-sejtek, NK- valamint NKT-sejtek arányának és mennyiségének vizsgálata SSc-ben szenvedő betegekben és egészséges egyéneknél, illetve az SSc-s betegek klinikai szempontok szerint kialakított különböző csoportjaiban.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 Sejtfelszíni markerek

Az egyes sejtpopulációk különböző, glikolipid és glikoprotein természetű sejtfelszíni markereket hordoznak a felszínükön, melyek hiánya vagy jelenléte alapján azonosíthatók. Ezeknek a molekuláknak az elkülönítésére, egységes rendszert hoztak létre, mely a „CD” (cluster of differentitaion) rövidítésből és egy számból áll. A CD marker meglétét '+' jelzi, hiányát pedig '-'. Három csoportja különíthető el ezeknek: a sejtvonal, az érési és az aktivációs CD markerek. Az első kizárólag egyes sejt típusokon jelenik meg (pl. CD3, CD19), a második a sejtek csak egy bizonyos érettségi állapotára jellemző (pl. CD10), míg az utolsó nyugvó sejteken nem, vagy alig expresszálódik, azonban aktivált sejtek felszínén nagy mennyiségben fejeződik ki (pl. CD25). (ERDEI ÉS MTSAI; 2012)

A CD4 molekula, egy 55 kDa tömegű, egyetlen polipeptidláncból álló glikoprotein molekula. Ez 4 extracelluláris immunoglobulinszerű doménből, egy hidrofób transzmembrán szakaszból és egy erősen bázikus, de rövid citoplazmatikus részből áll. A CD4 az MHC II molekulához kapcsolódik a Th-sejtek antigén felismerése során. A CD4 antigén nagy mennyiségben expresszálódik a Th-sejteken és timocitákon, de alacsonyabb számban a monocitákon és dendritikus sejtek felszínén is megtalálható. (GERGELY ÉS ERDEI; 2006)

A CD8 molekula egy 34 kDa tömegű molekula polipeptidlánc, mely diszulfid híddal összekapcsolt dimert alkot. Ez lehet CD8 α homodimer, vagy CD8 α/β heterodimer. A Tc-sejtek számára történő antigén bemutatás során a CD8 az MHC I molekulához kapcsolódik. A CD8 antigén nagy mennyiségben expresszálódik a Tc-sejteken és timocitákon, és szintén megtalálható az NK sejtek egy részének felszínén is. (Erdei és mtsai; 2012)

A CD3 antigén 5 különböző láncból áll. Ezekből három polipeptidlánc (γ , δ , ϵ) nem kovalens kötéssel kapcsolódik egymáshoz. Ehhez kapcsolódik a két ξ -lácból álló homodimer, vagy egy ξ és egy λ -lácból álló heterodimer. Mindhárom lánc egy N-terminális, immunglobulin típusú extracelluláris domént, egy rövid kapcsolódó peptidszakaszt, egy transzmembrán illetve egy citoplazmatikus részt tartalmaz. A TCR-hez tud kapcsolódni, és a szignál transzdukciós folyamatokért felelős. A CD3 antigén a timocitákon, az érett T-sejtek és NKT-sejtek felszínén található. (GERGELY ÉS ERDEI; 2006)

A CD56 az immunglobulin szupergén családba tartozó molekula; 140 kDa tömegű transzmembrán glikoprotein. Az extracelluláris részét 5 Ig-szerű domén, és kettő fibronectin

II-es típusú domén alkotja. A CD56 antigén az NK és NKT-sejtek felszínén található meg. (ERDEI ÉS MTSAI; 2012)

Mindezek alapján az általunk vizsgált Th- és Tc-sejtek, NK-sejtek, illetve NKT-sejtek elkülönítése lehetséges négy sejtfelszíni marker alapján. Mindhárom T-sejt alcsoport felszínén megtalálható a CD3 molekula, azonban a CD4 molekula csak a Th-, a CD8 molekula pedig csak a Tc-sejtek felszínén van jelen. Az NK-sejtek elkülönítése a CD56 molekulával lehetséges. (GERGELY ÉS ERDEI; 2006) **(1. táblázat)**

1. táblázat: Különböző sejt típusok elkülönítése sejtfelszíni marker alapján

sejt típus	sejtfelszíni marker
NKT-sejt	CD3, CD56
NK-sejt	CD56
citotoxikus T-sejt	CD3, CD8,
helper T-sejt	CD3, CD4,

3.2 Antitestek

A felsorolt sejtfelszíni molekulák, antigén tulajdonságúak, így a különböző sejtpopulációk elkülönítését a sejtfelszíni molekulákat specifikus felismerő, monoklonális antitestek teszik lehetővé. Az antitestekhez kovalensen vannak kötve olyan aromás gyűrűs molekulák, illetve fehérjék, amelyek bizonyos hullámhosszú fénnel megvilágítva, szekunder fluoreszcens fényt bocsátanak ki. Több, egyidejű jelölés esetén olyan molekulákat kell választani, melyek emissziós hullámhossza nem fed át, így lesz lehetőségünk a különböző típusú sejteket egyidejűleg detektálására. Az általunk használt antitestek az anti-CD4-FITC, anti-CD3-PE, anti-CD56-PE-Cy5, és az anti-CD8-APC. **(2. táblázat)** A kísérlet során az antitestekkel történt jelölést követően a sejteket áramlási citométer segítségével analizáltuk. (PÁLINKÁS ÉS MTSAI; 2005)

3.3 Protokoll, jelölés menete

26 beteg és 14 egészséges egyén perifériás vérmintájával végeztünk sejtfelszíni jelölést, majd vizsgáltuk áramlási citométerrel a sejteket.

A sejtek jelölését protokoll szerint végeztük. (Current protocols in immunology, Volume 5, JOHN E. COLIGEN ÉS MTSAI, 2009)

1. *Antitest és minta bemérése*

Mintánként két jelölő csőben végeztük a kísérletet. Az elsőbe nem tettünk antitestet, mivel ez autofluoreszcens kontrollként szolgál az áramlási citométerrel történő mérés során. A másik csőbe automatapipettával bemértünk 2,5µl anti-CD4-FITC antitestet, 10µl anti-CD3-PE antitestet, 10 µl anti-CD56-PE-Cy5 antitestet és 10 µl anti-CD8-APC antitestet. Ezután mindkét jelölő csőbe bemértünk 5 µl-t a vizsgálni kívánt alvadásgátolt human vérmintából. Ennél a két lépésnél fontos, hogy a vér illetve az antitest ne kerüljön a cső falára, mert akkor az antitestek nem tudnak a sejtek felszínéhez kötődni, és ez téves eredményhez vezet a mérés során.

2. *Inkubálás*

Miután a vért és az antitesteket is bemértük a csövekbe, vortex-el összekevertük, majd sötétben 30 percig inkubáltuk. Az inkubálást mindig sötétben kell végezni, mivel a fluorofor anyagok, amelyekkel az antitestek vannak jelölve fényérzékenyek. Az inkubálási idő betartása fontos, hogy az antitestnek legyen ideje specifikus kötést kialakítani a megfelelő antigénnel.

3. Lizálás

FACS lízis puffert, az előírt módon tízszeresére hígítottuk, és mindkét csőre 1 ml-t mértünk.

4. Inkubálás

Óvatosan összeráztuk, majd sötétben 10 percig inkubáltuk a csöveket. A lízis puffer 15% formaldehidet és 50% dietilén-glikolt tartalmaz, mely gyenge hipotóniás közeget teremtve bomlasztja a vörösvértesteket. Eközben a fehérvérsejteket nem károsítja.

5. Mosás

Következő lépésként 2 ml PBS/BSA/ NaN_3 -val mostuk a mintáinkat, majd 5 percig 1000 rpm-en centrifugáltuk. Ennek során, kimostuk a nem kötődött antitesteket, az elpusztult vörösvértesteket, illetve a lízis puffert a mintából. Centrifugálás közben a jelölt fehérvérsejtek leülepednek a jelölő csövek aljára, a felülúszóban pedig megtalálható, minden eltávolítani kívánt anyag.

6. Fixálás

A felülúszót leöntöttük, és 350 μl FACSFix-et mértünk a csövekbe, majd vortexszel összekevertük a sejteket a fixáló oldattal. A FACSFix 35%-os formaldehidet és PBS-t tartalmaz, mely a sejtek felszínéhez kötött antitestek fixálásához szükséges.

7. Mérés áramlási citométerrel

3.4 Áramlási citometria

A sejtek detektálása, áramlási citométerrel történt. Az áramlási citométer egy olyan eljárás, mely alkalmas különböző sejtcsoportok elkülönítésére, azok nagysága és granularitása alapján, valamint egy sejt-szinten több hullámhosszon azok fluoreszcens jelének detektálására. A készülék folyadék, optikai, és elektronikus rendszerekből épül fel. A folyadék rendszerben a sejtszuspenziót a köpenyfolyadék a kapillárisba áramoltatja. A köpenyfolyadék koncentrikus körökben veszi körül a mintafolyadékot, így hidrodinamikai fókuszálással az áramlási fej közepére fókuszálja a mintát. Ennek célja, hogy ott haladjanak a sejtek, ahol a lézer megvilágítja őket. A hidrodinamikai fókuszálás során pizelektromos kristály rezgése bontja különálló sejtekre a köpenyfolyadékot. (BROWN & WITTEW; 2000)

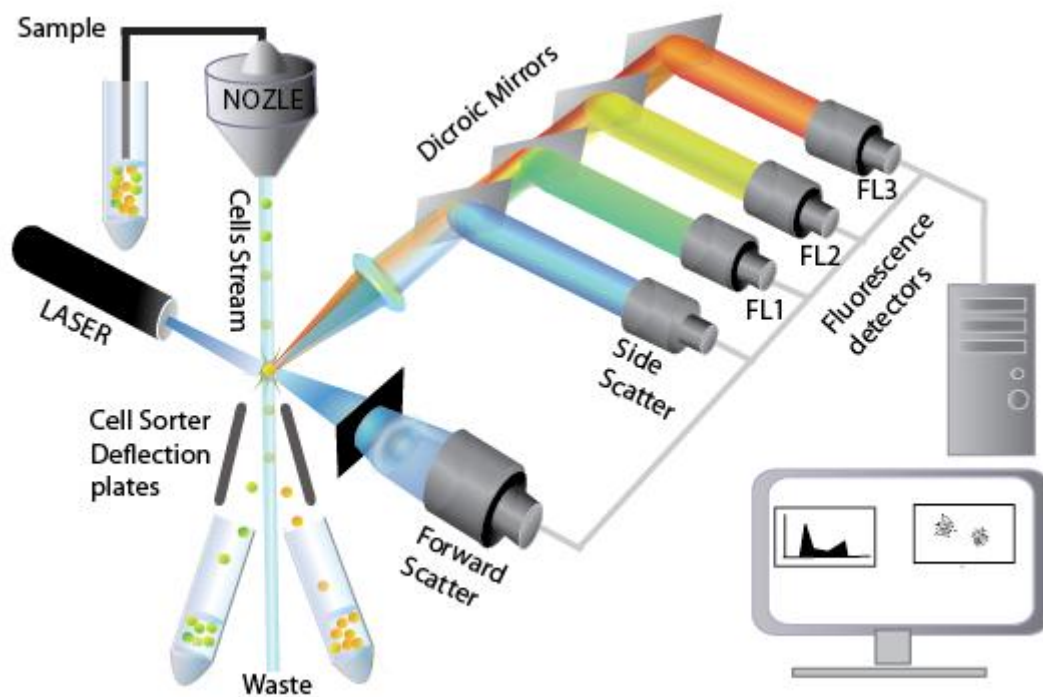
A sejtek egyesével jutnak ezután az optikai rendszerbe. Az áramlási cellába, lézerfény gerjeszti a sejtek felszínéhez kötött antitesteken lévő fluorokrómokat. A fluorokóm energiát vesz fel a lézer fényéből, majd nagyobb hullámhosszon bocsátja ki a felvett energiát, amelyek

különböző emissziós csatornában detektálhatóak **(2. táblázat)**. Az emittált fluoreszcencia intenzitás arányos a gerjesztett festék molekulák számával. A fény előre felé szóródása (FCS= forward scatter) a sejtek nagyságáról ad információt. A fénysugár oldalirányú szóródása (SSC=side scatter) a sejtek granularitásával arányos. (VIRGO & GIBBS; 2011)

Az emittált fény eljut az elektronsokszorozóba, majd a jeleket két detektor érzékeli, melyek digitális jellé alakítása az elektronikus rendszerben történik. **(4. ábra)** A jeleket egy számítógépes program hisztogramon illetve dot plot-on jeleníti meg. A dot ploton minden sejt egy pontként ábrázolódik. A vizsgálni kívánt sejteket ún. kapuval kijelölhetjük, így lehetőségünk nyílik arra, hogy az egy adott kapuban lévő sejteket az egyéb sejtektől elkülönítve vizsgáljuk. Így meg tudjuk határozni, hogy a limfociták hány százalékanak felszínén expresszálódnak a vizsgált molekulák. Megtudhatjuk, hogy morfológiailag melyik populációhoz tartozik a pozitív populáció, és ha szükséges a fluoreszcencia intenzitásból kiszámítható, hogy a vizsgált molekula milyen mennyiségben jelenik meg az egyes sejtek felszínén. (PÁLINKÁS ÉS MTSAI; 2005)

2. táblázat: Jelölésre használt festékek és antitestek (PÁLINKÁS ÉS MTSAI; 2005)

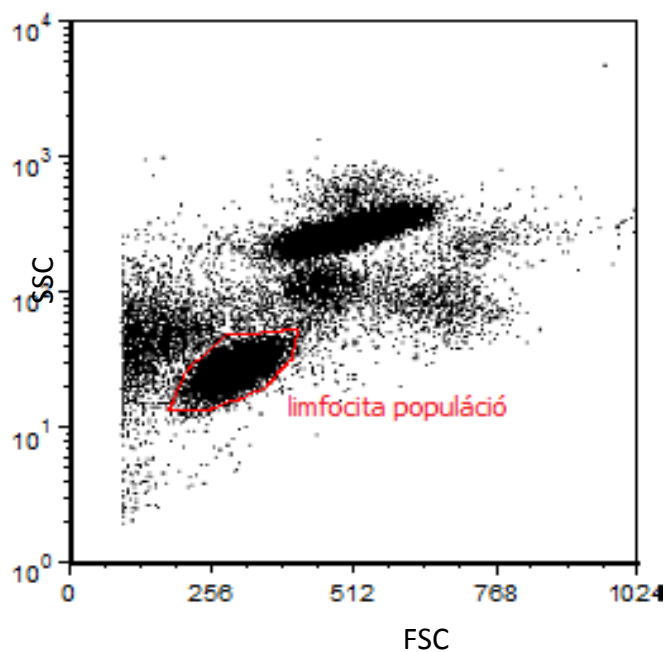
fluoreszcens festék neve	rövidítése	emissziós csatorna	jelöléshez használt antitest
Fluorescein 5 (6)-isothiocyanate	FITC	FL-1	CD4
R-Phycoerythrin	PE	FL-2	CD3
R-Phycoerythrin-Chyrome	PE-Cy5	FL-3	CD56
Allophycocyanin	APC	FL-4	CD8



4. ábra Az áramlási citométer működési elve
<http://utbiorad.casaccia.enea.it/facs-flow-cytometry.html>

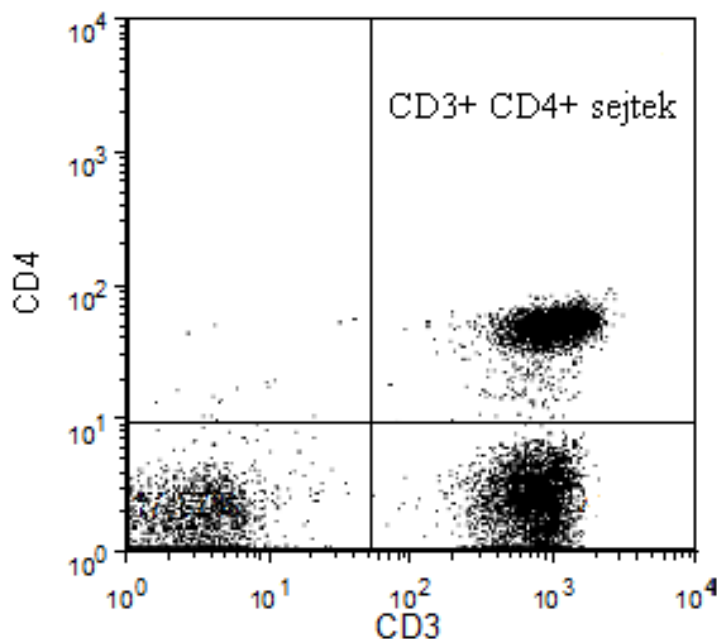
3.5 Adatok feldolgozása

Az áramlási citométerrel (típusa: BD FACSCalibur) lemerő sejteket, az FCS Express 4 programmal analizáltuk. A mérés során 10000 sejtet mértünk le mintánként.



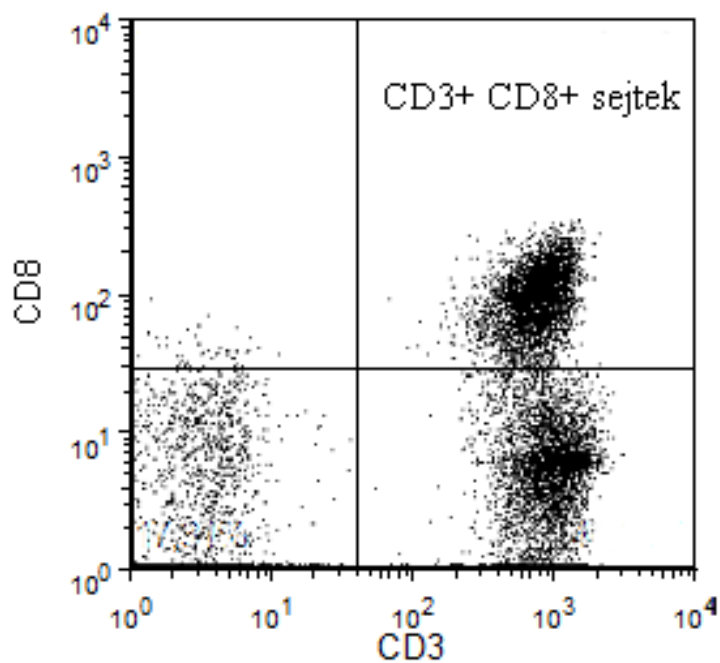
5. ábra Különböző fehérvérsejt populációk

A dot ploton a perifériás vérben található sejtpopulációk nagyság és granularitás alapján ábrázolva láthatóak. Kapuzással kiemeltük a limfocita populációt, innentől kezdve a többi diagramon csak az ebben a kapuban lévő sejteket vizsgálja a program. A dot plotokon szereplő százalékos érték a limfocitákon belül a különböző markerekkel jelölt sejtek százalékos arányát mutatja. **(5. ábra)**



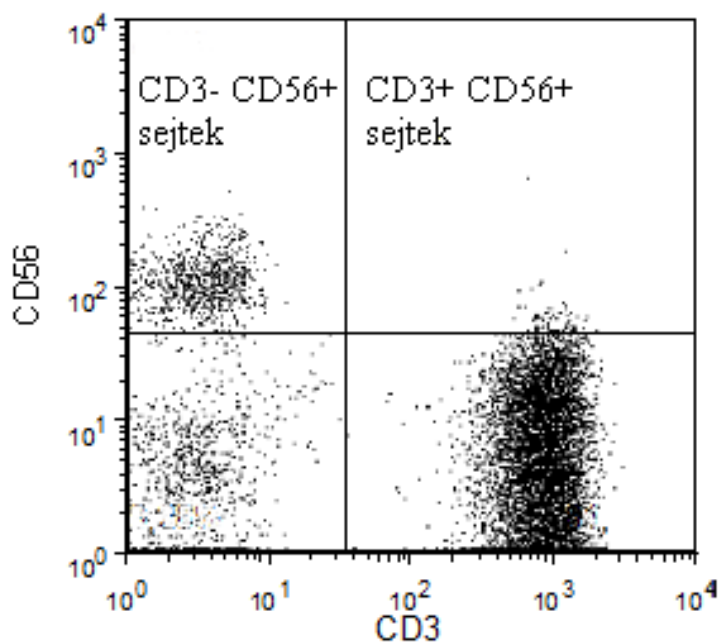
6. ábra CD3+ CD4+ helper T-sejtek

Az ábrán a CD3+ és CD4+ sejtek láthatók. Az x tengelyen az anti-CD3-PE-, az y tengelyen pedig anti-CD4-FITC jelintenzitása látható logaritmus skálán. A dot plotra kvadránsokat helyezve négy részre bontható a tér. Ezek elnevezése angol rövidítésük alapján történik. A bal felső kvadránsban (upper left = UL) a CD4+ és CD3-, a bal alsó kvadránsban (lower left=LL) a kettős negatív, a jobb alsó kvadránsban (upper left= UL) a CD3+, és CD4- míg a jobb felső kvadránsban (UR) a kettős pozitív sejtek találhatóak. A CD3+ T-sejtek (UR+LR) kvadránsban találhatóak. A többi dot plotról ehhez hasonlóan olvashatók le az adatok, a tengelyfeliratok segítségével. **(6. ábra)**



7. ábra CD3+ CD8+ citotoxikus T-sejtek

A CD3+ T-sejteket az (UR+LR), a CD3+ és CD8+ Tc-sejtek (UR) kvadránsban találjuk. (7. ábra)



8. ábra CD3- CD56+ NK-sejtek és CD3+ CD56+ NKT-sejtek

A CD3- CD56+ NK-sejteket az UL, míg a CD3+ CD56+ NKT-sejteket az UR kvadráns mutatja. (8. ábra)

Az analízis után a betegek adatait tartalmazó Excel táblázatba írtuk ki a Th-, Tc-sejtek, NKT-sejtek, és NK-sejtek százalékos értékét. Ezután a fehérvérsejtszám (giga/l), és a limfocita százalékos értékének ismeretében kiszámítottuk a betegek limfocita számát (giga/l). A dot plotok-ról leolvasott százalékos arányok segítségével kiszámoltuk az általunk vizsgált sejtcsoportok abszolút számát (giga/l).

3.6 Statisztikai analízis

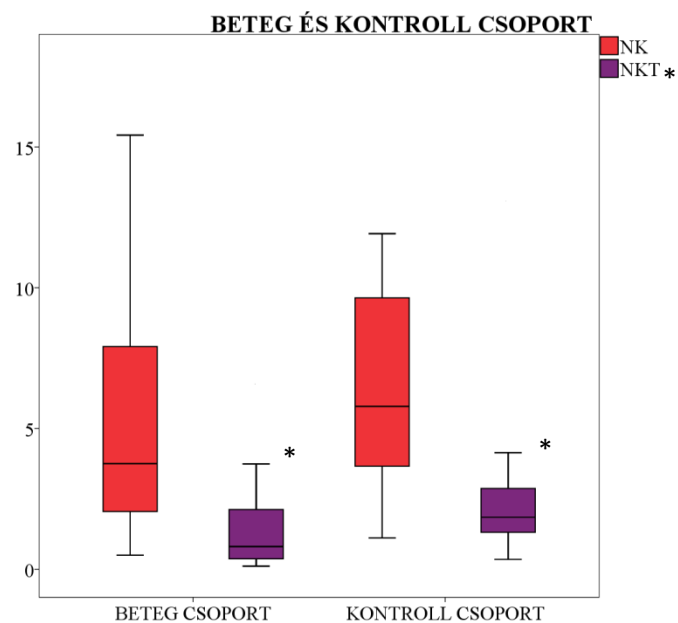
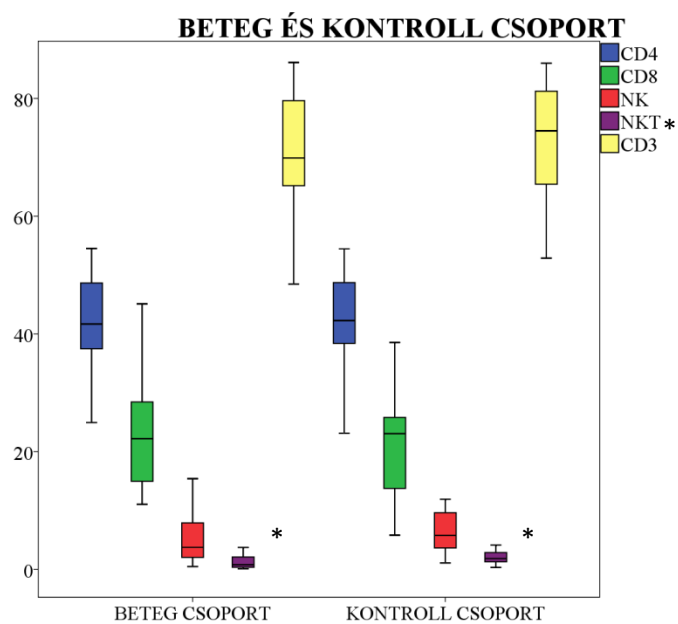
Következő lépésként különböző csoportba soroltuk a vizsgált egyéneket, majd az SPSS Statistics program segítségével összehasonlítottuk a különböző csoportokban a Th- és Tc-sejtek, NK-sejtek, valamint NKT-sejtek arányát, és mennyiségét. Elsőként az egészséges egyéneket és az SSc-s betegeket, majd az SSc-seket klinikai szempontok alapján hasonlítottuk össze egymással. A betegcsoportok kialakítása a következő szempontok alapján történt:

- betegség formája: dcSSc vagy lcSSc
- betegség fennállásának időtartama: kevesebb, mint három éve kezdődött, vagy három évnél régebb óta tart
- betegség aktivitása: aktív-nem aktív
- betegek neme
- fontosabb antitestek jelenléte: anti-Scl-70 antitest, ACA, anti-RNS polimeráz III antitest
- belső szervek érintettsége: veseérintettség, tüdőfibrózis fennállása, szív érintettség, és gasztrointesztinális érintettség,
- ujjbegy fekély
- hypokomplementaemia
- süllyedés: kisebb vagy nagyobb, mint 30 mm/h

Először normalitás vizsgálatot végeztünk, melynél azt kaptuk eredményül, hogy adataink nem normál eloszlásúak. Ezért nemparaméteres tesztel dolgoztunk tovább. Mivel minden esetben két csoport értékeit hasonlítottuk össze, a Mann-Whitney próbát alkalmaztuk. A kapott különbségeket szignifikánsnak tekintettük, ha $p < 0,05$.

4. EREDMÉNYEK

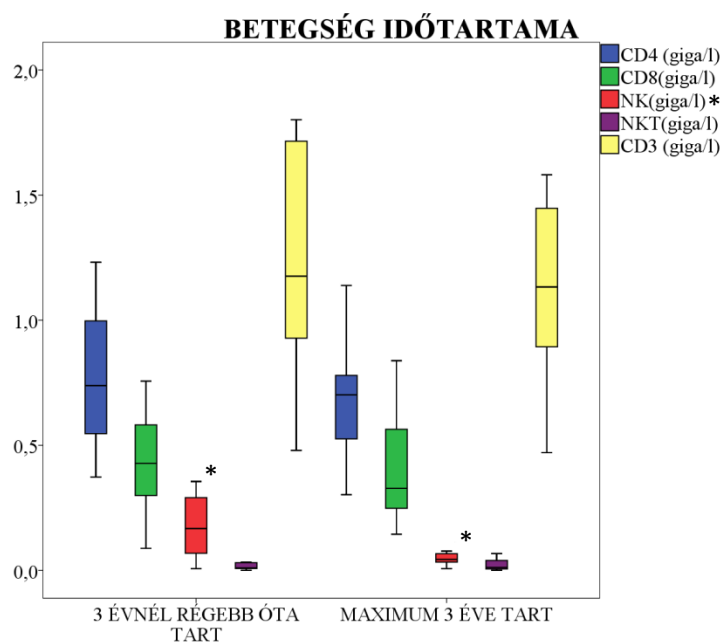
Az eredményeket box-plot diagramon ábrázoltuk az SPSS Statistics program segítségével. A szignifikáns eltéréseket ábrázoló box-okat csillaggal jelöltük a diagramokon. Az egyes csoportok elemszámát (n), valamint a szignifikáns különbségeket (p) zárójelben tüntettük fel az ábrák alatt.



10. ábra Beteg és kontroll csoport összehasonlítása

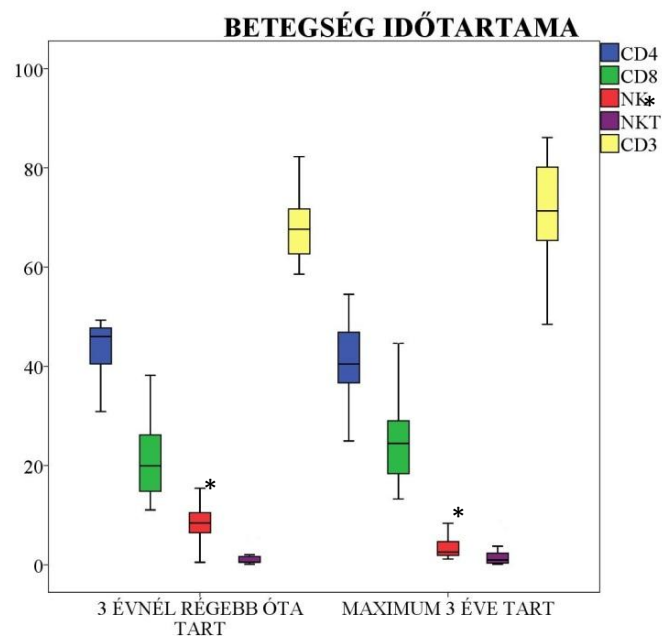
(n beteg csoport=26; n kontroll csoport=14; p=0,049)

A beteg és egészséges egyénekből álló kontroll csoportokat összehasonlítva, a kontroll csoportban szignifikánsan magasabb volt az NKT-sejtek aránya. **(10. ábra)**



11. ábra Betegség időtartama szerinti összehasonlítása I.

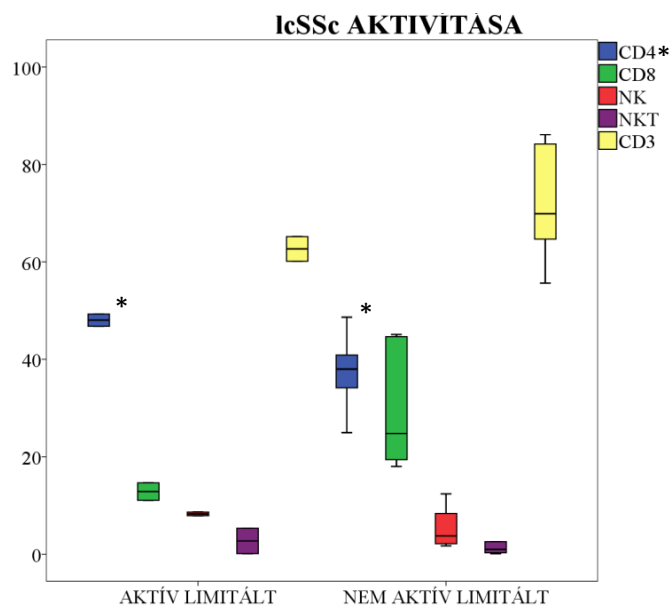
(n 3 évnél régebb óta tart=8; n maximum 3 éve tart=18; p=0,018)



12. ábra Betegség időtartama szerinti összehasonlítása II.

(n 3 évnél régebb óta tart=8; n maximum 3 éve tart=18; p=0,032)

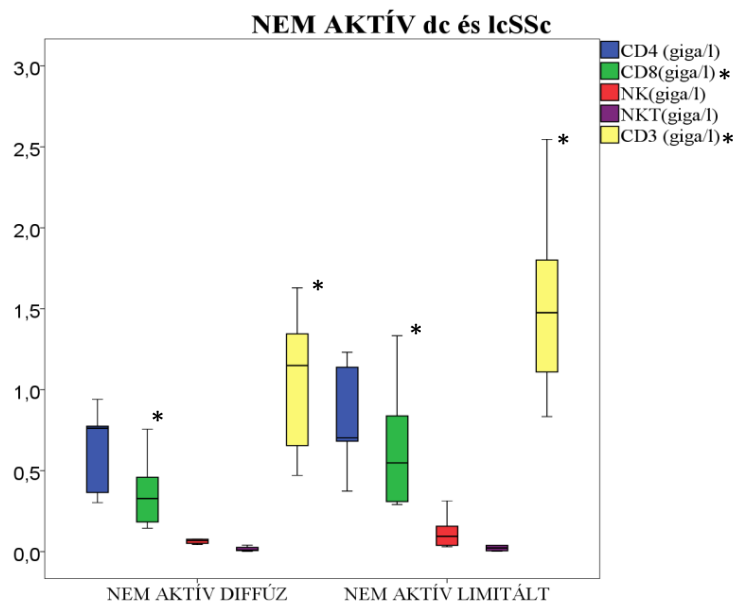
A klinikai manifesztációk alapján kialakított csoportokban szignifikánsan alacsonyabb NK-sejt szám és arány található azoknál a betegeknél, ahol az SSc kevesebb, mint 3 éve kezdődött. **(11-12. ábra)**



13. ábra lcSSc aktivitás szerinti vizsgálata

(n_{aktív limitált}=3; n_{nem aktív limitált}= 8; p=0,041)

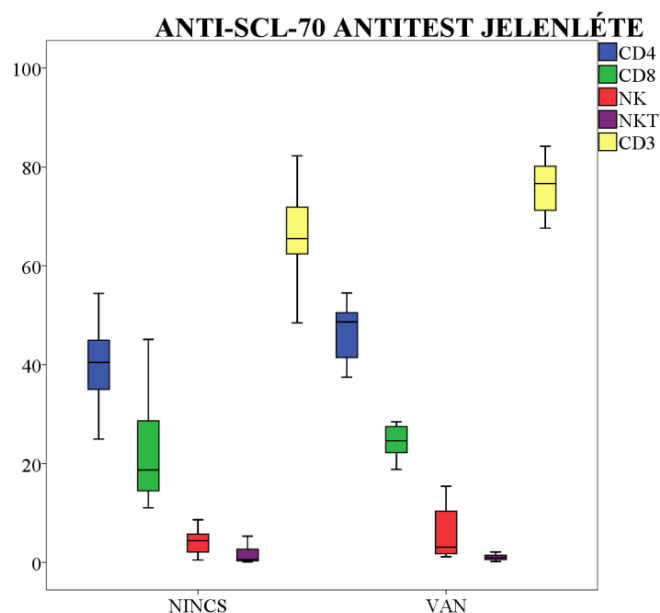
Továbbá az lcSSc-ket vizsgálva az aktív stádiumban lévő betegek mintájában szignifikánsan magasabb a CD4+ sejtek aránya, a nem aktív stádiumban lévőhöz képest. **(15. ábra)**



14. ábra Nem aktív dc és lcSSc összehasonlítása

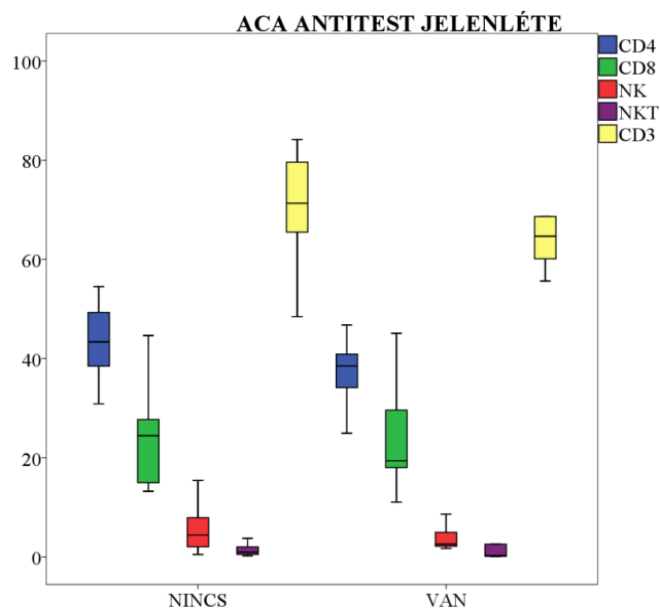
(n_{nem aktív diffúz}=7; n_{nem aktív limitált}= 8; p=0,046)

A dc és lcSSc között a nem aktív csoporton belül találtam szignifikáns eltérést. A nem aktív dcSSc-s betegeknél szignifikánsan alacsonyabb a CD3+ és CD8 + sejtek száma a nem aktív lcSSc betegekéhez képest. **(16. ábra)**



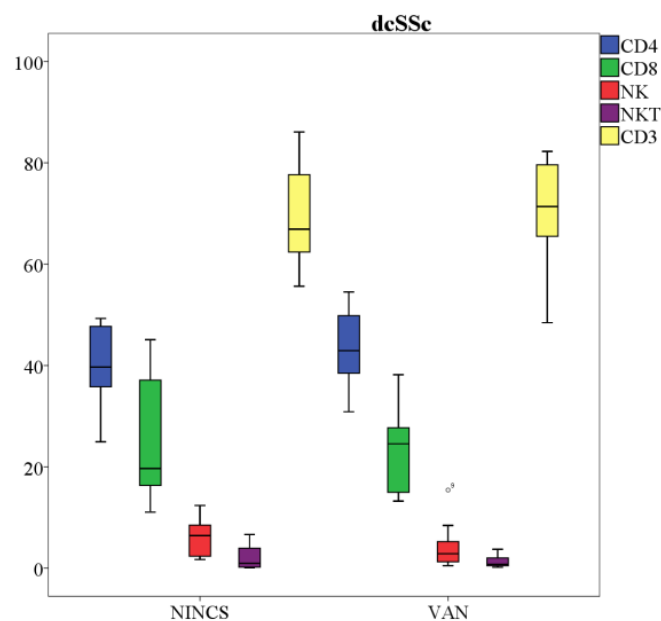
18. ábra anti-Scl-70 antitest vizsgálata

(n nincs anti-Scl-70= 18; n van anti-Scl-70= 7)



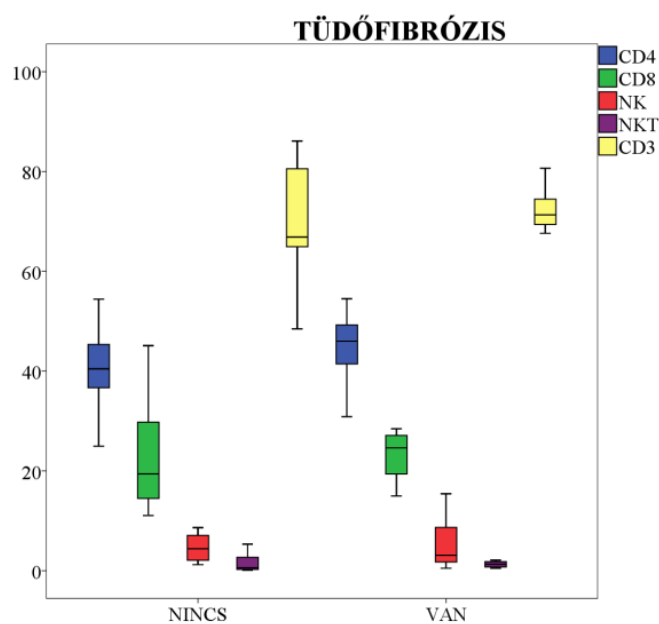
19. ábra ACA antitest jelenlétének vizsgálata II.

(n nincs ACA=19; n van ACA= 7)



20. ábra Betegség formája szerinti összehasonlítás

(n_{dcSSc}=15; n_{lcSSc}=11)



21. ábra Tüdőfibrózis jelenlétének vizsgálata

(n_{nincs tüdőfibrózis}= 19; n_{van tüdőfibrózis}= 7)

A betegség súlyosságával összefüggő 4 jellemzőt- dcSSc, tüdőfibrózis tünetei, anti-Scl-70 antitest pozitivitás és ACA negativitás elemezve megfigyeltük, hogy mind a négy esetben megemelkedett CD3+, és CD4+ sejt arány található. (18.-19.-20.-21. ábra)

5. EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

Eredményeink alátámasztják a korábbi tanulmányokban leírtakat, miszerint az SSc-ben szignifikánsan alacsonyabb az NKT-sejtek aránya, mint az egészséges egyének vérében. (WU ÉS MTSAI; 2009) Bár az NK-sejtek arányának változásáról ellentmondásos eredményeket írtak le. (PAPP ÉS MTSAI; 2011) (SALIM ÉS MTSAI; 2013) (PUXEDDU ÉS MTSAI; 2012) eredményeink szerint az SSc-ben csökkent az NK-sejtek aránya a kontroll csoporthoz képest.

Korábbi vizsgálatok (ERCOLE-LP, 2003) (J.-P. ZUBER, F. SPERTINI; 2006) a korai és késő stádiumot összehasonlítva azt találták, hogy a késői SSc-ben szignifikánsan csökkent NK-sejt arány, amit a mi eredményeink is igazoltak. Ezek szerint a betegség előrehaladtával folyamatosan csökken az NK-sejtek mennyisége.

Az aktivitás vizsgálatára nem találtunk korábbi adatokat, így elsőként mi írhatjuk le az aktív és nem aktív csoportok közötti eltéréseket. Eredményeink szerint az aktív lcSSc-ben a CD4+ Th-sejtek aránya volt szignifikánsan emelkedett. A nem aktív csoporton belül a dcSSc-ben szignifikáns mértékben csökkent CD3+ T-sejt és CD8+ Tc-sejt szám található. Ezek alapján valószínűsíthető a T-sejtek, elsősorban a Th-sejtek szerepe az SSc aktivitásában.

Az SSc-ben szerepet játszó antitestek pozitivitását nézve, az anti-Scl-70 pozitív betegeknél szignifikánsan magasabb CD3+ T-sejt arány található. Az SSc súlyossága összefüggést mutat, az anti-Scl-70 antitest pozitivitással, az ACA antitest negativitással, a tüdőfibrózis fennállásával, illetve a diffúz formával. (SUJAU ÉS MTSAI; 2014) Mind a négy szempont szerint analizálva az adatokat, a CD3+ T-sejtek, és ezen belül a CD4+ Th-sejtek aránya emelkedett volt. Eredményeink azt mutatják, hogy a T-sejtek arányának, különösen a Th-sejtek arányának változása összefüggést mutathat az SSc súlyosságával.

A kutatás eredményei hozzájárulhatnak a betegség patomechanizmusának megértéséhez, segítséget nyújthatnak az SSc aktivitás és súlyosság megítélésében és a vizsgált betegcsoportok elkülönítésében.

A továbbiakban munkánk célja a mintaszámok növelése, valamint vizsgálataink kiterjesztése a naiv és memória T-sejtek valamint aktivált Th- és Tc-sejtek arányának és abszolút számának vizsgálatára.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A szisztémás sclerosis (SSc), egy olyan szisztémás autoimmun betegség, mely a bőr és bizonyos belső szervek fibrózisával, késői atrófiával, valamint vaszkuláris károsodással jár. Két fajtája a diffúz (dc) és limitált (lc) SSc, mely a klinikai tünetekben és a prognózisban is eltér egymástól. A betegség súlyosságát jelzi a dc forma, az anti-Scl-70 antitestre való pozitivitás, ACA negativitás, valamint tüdőfibrózis fennállása. Korábbi tanulmányok alapján feltételezhető a NK-, NKT-, és T-sejt csoportok –citotoxikus (Tc) és helper T-sejtek (Th)-mennyiségének és arányának eltérése az SSc-s betegekben.

Munkánk célja az SSc betegek és egészséges egyének (kontroll) perifériás vérében jelen lévő T-sejtek, ezen belül a Th- és Tc sejtek, NK- valamint NKT-sejtek arányának vizsgálata, illetve az SSc betegek adatainak a klinikai manifesztációk alapján történő további analízise volt. A perifériás vérmintákat fluoreszcens molekulával jelölt monoklonális antitestekkel jelöltük. A T-sejteket anti-CD3-PE, ezen belül a Th-sejteket anti-CD4-FITC, a Tc-sejteket anti-CD8-APC, az NK-sejteket anti-CD56-PE-Cy5, az NKT-sejteket pedig anti-CD3-PE és anti-CD56-PE-Cy5 antitestekkel különítettük el. A sejteket áramlási citométerrel vizsgáltuk. Statisztikai analízist normalitás vizsgálatot követően Mann-Whitney teszttel végeztük az SPSS program segítségével. Eredményeinket box-plot diagramokon ábrázoltuk.

Eredményeink szerint az SSc-seknél szignifikánsan alacsonyabb volt az NKT-sejt arány, mint a kontroll csoportban. A dc-lc csoportot vizsgálva szignifikáns különbséget a nem aktív betegekben találtunk. A nem aktív dcSSc-s betegekben szignifikánsan alacsonyabb a CD3+ T-sejt és CD8+ Tc-sejt szám a nem aktív lcSSc-s betegekéhez képest. A betegség aktivitását vizsgálva az lcSSc-n belül találtunk különbséget. Az aktív lcSSc-s betegekben szignifikánsan magasabb a CD4+ Th-sejt arány, mint a nem aktív stádiumban lévőkben. Továbbá szignifikánsan alacsonyabb NK-sejt szám és arány található azoknál a betegekben, ahol a betegség kevesebb, mint 3 éve kezdődött. Nem szignifikáns mértékben nőtt a CD3+ és CD4+ sejt arány a dc forma, az anti-Scl-70 pozitív, ACA negatív, és tüdőfibrózisos SSc estében.

Eredményeinket összegezve megállapítható, hogy az SSc kialakulásában a NKT-sejt arány csökkenése, míg a betegség aktivitásában és súlyosabbá válásában a T-sejtek, elsősorban Th- és Tc-sejtek arányának változása játszhat szerepet. Az NK-sejtek a betegség időtartamával mutatnak összefüggést.

7.KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm a PTE KK Immunológiai és Biotechnológiai Intézet igazgatójának Prof. Dr. Berki Tímeának, hogy lehetőséget biztosított munkám elvégzésére. Hálás köszönettel tartozom Dr. Simon Diána témavezetőmnek a szakdolgozat írás során adott hasznos tanácsaiért, és ötleteiért, valamint a labormunka és az adatok analizálása során nyújtott segítségéért. Köszönöm a PTE KK Immunológiai és Biotechnológiai Intézet munkatársainak, hogy segítséget nyújtottak a labormunka elvégzése során. Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani családomnak, akik nélkül a szakdolgozatom nem jöhetett volna létre. Köszönöm nekik, hogy tanulmányaim során türelemmel és megértéssel támogattak.

8. RÖVIDÍTÉS JEGYZÉK

ACA	anticentromer antitest
anti-Scl-70	anti-DNS topoizomeráz I. antitest
APC	Allophycocyanin
APC	antigén prezentáló sejt
BSA	borjú szérum albumin,
CD	cluster of differentiation
dcSSc	diffúz szisztémás sclerosis
FCS	forward scatter; fény előrefelé szóródása
FITC	Fluorescein 5 (6)-isothiocyanate
IFN	interferon
IL	interleukin
iNKT-sejt	invariáns természetes ölő T-sejt
KAR	természetes ölősejt aktiváló receptor
KIR	természetes ölősejt specifikus gátló receptor
lcSSc	limitált szisztémás sclerosis
MHC	főhisztokompatibilitási komplex
MMP	mátrix metalloproteinázok
NaN ₃	nátrium-azid
NK-sejt	természetes ölősejt
NKT-sejt	természetes ölő T-sejt
PBS	foszfát-puffer
PE	R-Phycoerythrin
PE-Cy	R-Phycoerythrin-Chyrome
SSc	szisztémás sclerosis
SSC	side scatter; fénysugár oldalirányú szóródása
Tc-sejt	citotoxikus T-sejt
TCR	T-sejt receptor
TGF	transzformáló növekedési faktor
Th-sejt	helper T-sejt
THF	follikuláris helper T-sejt
TNF	tumor nekrosis faktor
Treg-sejt	regulatórikus T-sejt