

B-ქრონიკული ლიმფოციტური ლეიკემიით დაავადებულებში ანტიგენ-წარმდგენი უჯრედების ფუნქციური და ფენოტიპური ცვლილებები
თამარ ტერტსვაძე

ნინა კულიკოვა, ნინო ფორაქიშვილი

ელ-ფოსტა: tamar.tsertsvadze@tsu.ge

ბიოლოგიის დეპარტამენტი, ივ.ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, უნივერსიტეტის ქ.13, 0143, თბილისი

ქრონიკული ლიმფოციტური ლეიკემია (ქლლ) ხასიათდება CD5⁺CD19⁺CD23⁺ B უჯრედების კლონური ექსპანსიით და აკუმულირებით პერიფერიულ ლიმფურ ორგანოებს, ქსოვილებსა და ძვლის ტვინში. ნაჩვენებია, რომ ქლლ უჯრედები მიკროგარემოსგან ლებულობენ სიგნალებს, რომლებიც ხელს უწყობენ დაყოფას, გადარჩენასა და ექსპანსიას *in vivo*. სავარაუდოთ, ქლლ-ის განვითარებას ბიძგს აძლევს ჰიპოთეტური ანტიგენი ან ანტიგენები. შესაბამისად, ქლლ-ის იმუნოპათოგენეზის მექანიზმის დასადგენად მეტად მნიშვნელოვანია როგორც ამ პირველადი ანტიგენების, ასევე მათი გამომცნობი უჯრედების/რეცეპტორების იდენტიფიცირება, რადგანაც ქლლ-ის ჩამოყალიბების მექანიზმის გარკვევა შემდგომში განაპირობებს ამ ჯერჯერობით განუკურნებელი დაავადებისთვის ოპტიმალური თერაპიული საშუალებების ან სულაც პრევენციული მიდგომების შემუშავებას.

ჰიპოთეტური ქლლ-მაინდუცირებელი ანტიგენისპირველად გამოცნობაში, უნდა მონაწილეობდნენ ანტიგენ-წარმდგენი უჯრედების პოპულაციები, ხოლო ამ ანტიგენების ყველაზე სავარაუდო გამომცნობ რეცეპტორებს წარმოადგენენ მაღალ-კონსერვატიული Toll-მსგავსი რეცეპტორების ოჯახის წევრები, რომლებიც ზუსტად ანტიგენ-წარმდგენი უჯრედების ყველა პოპულაციის ზედაპირზე წარმოდგენილია. შესაბამისად, ქლლ იმუნოპათოგენეზის მექანიზმის გამოკვლევისას, მნიშვნელოვანია განსაკუთრებული ყურადღებით შევისწავლოთ ქლლ დაავადებულებში ანტიგენ-წარმდგენი უჯრედების პოპულაციების როგორც პროცენტული მაჩვენებელი, ასევე მათი იმუნოფენოტიპი და ფუნქციური მდგომარეობა. ანტიგენ-წარმდგენი უჯრედების ორ ძირითად სახეობას: მაკროფაგებს და სისხლში-წარმოქმნილ დენდრიტულ უჯრედებს დასაბამს აძლევენ მონოციტები. შესაბამისად, უპირველეს ყოვლისა, ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა ამ უჯრედების იმუნოფენოტიპი და ფუნქცია. კერძოდ, ჩვენი კვლევის პირველ ეტაპზე, დავადგინეთ B-ქლლ დაავადებულთა მონოციტებში ფაგოციტური ფუნქციის დაქვეითება. პარალელურად ვსაზღვრავდით მონოციტების იმუნოფენოტიპურ პროფილს: შევისწავლეთ Fcγ-რეცეპტორების: FcγRI (CD64)-ის, FcγRII (CD32)-ის ექსპრესიის ხასიათი. გამოვლინდა FcγRI (CD64)-ის ექსპრესიის დონის დაქვეითება ჯანმრთელ დონორებთან შედარებით, ხოლო FcγRII (CD32)-ის ექსპრესიის დონე შეუცვლილი აღმოჩნდა.

იმ ფაქტის გათვალისწინებით, რომ ანტიგენ-წარმდგენი უჯრედების კიდევ ერთ სახეობას B უჯრედები წარმოადგენენ და ქლლ-ისას ზუსტად ამ უჯრედების კლონური ექსპანსია მიმდინარეობს, ანუ ქლლ-ით დაავადებულებში ანტიგენ-წარმდგენი პოპულაციებს შორის რაოდენობრივად ერთგვაროვნად B უჯრედები ჭარბობენ, გადავწყვიტეთ კვლევის აღნიშნულ ეტაპზე ამ უჯრედების ფენოტიპის, კერძოდ B უჯრედებზე ექსპრესირებადი Fcγ-რეცეპტორის: FcγRII (CD32)-ის ექსპრესიის შესწავლა. რადგანაც CD32 B უჯრედული რეცეპტორის (BCR) სასიგნალო გზის ნეგატიურ რეგულატორს წარმოადგენს, პარალელურად შევისწავლეთ მეორე ნეგატიური რეგულატორის CD5-ის ექსპრესიაც. CD32-ის ექსპრესიის შემთხვევაში აღინიშნება ექსპრესიის დონის მომატება საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (% ჯანმრთელი პირები: 20,74±4,658 %, B-ქლლ უჯრედებზე: 59,47±7,279%; ფსი: ჯანმრთელი პირები: 111,1 ±11,35, B-ქლლ უჯრედებზე: 249,1 ± 89,79). პარალელურად დადგინდა პირდაპირი კორელაცია CD32-ის ექსპრესიასა და CD5-ის ექსპრესიას შორის (კორ.კოეფ = 0,97). რაც, ზოგადად, მიუთითებს, BCR -ის ნეგატიური რეგულატორების სიჭარბეზე ქლლ უჯრედების ზედაპირზე. იმის გათვალისწინებით, რომ ჩვენი ჯგუფის წინა კვლევებში დადგინდა Toll-მსგავსი რეცეპტორების ოჯახის წევრის - CD180 -ის დაკლებული ექსპრესია B ქლლ უჯრედებში [Porakishvili et al., 2005] მიზანშეწონილად ჩავთვალეთ ანტიგენ-წარმდგენი უჯრედების სხვა პოპულაციაში, კერძოდ მონოციტებში CD180 -ის ექსპრესიის შესწავლა. მიღებული მონაცემებით, B უჯრედების მსგავსად, მონოციტებშიც დაფიქსირდა CD180 -ის შემცირებული ექსპრესია(% ჯანმრთელ პირების მონოციტებზე: 80.72 ± 2.85, %, B-ქლლ პიენტების მონოციტებზე: 38.86 ± 4.559 %, P< 0.0001; იფა:

ჯანმრთელ პირების მონოციტებზე: 83.94 ± 4.710 , B-ქლლ პიენტების მონოციტებზე: 34.34 ± 3.867 , $P < 0.01$).

აღსანიშნავია, რომ ქლლ დაავადებულებში პერიფერიულ სისხლში არსებული როგორც მონოციტების ასევე B ლიმფოციტების პოპულაციები არ პროლიფერირებენ. ამ დროს, როგორც ზემოთ აღინიშნა, ქლლ-ის პათოგენეზისთვის დამახასიათებელია პროლიფერაცია, ოღონდ მას ადგილი აქვს მხოლოდ და მხოლოდ ე.წ. “პროლიფერაციულ ცენტრებში”- ლიმფურ კვანძებსა და ძვლის ტვინში.

გარდა ამისა, *in vitro* კულტივირებისას ქლლ უჯრედები სწრაფად განიცდიან სპონტანურ აპოპტოზს, რის გამოც რეალურად შეუძლებელი აღმოჩნდა დროში CD180 -ის და CD32-ის ექსპრესიის სურათის მიღება.

ზემოხსენებულიდან გამომდინარე, კვლევის მომდევნო ეტაპზე გადავწყვიტეთ გამოვიყენოთ არსებული ქლლ-ის მოდელი: უჯრედული ხაზი MEC1, რომელიც მიღებულ იქნა ებშტეინ-ბარის ვირუსზე სეროპოზიტიული ქლლ დაავადებულის პერიფერიული ლიმფოციტებიდან და აღიარებულია, როგორც სამოდელო სისტემა ქლლ პათოგენეზის შესასწავლად. შესაბამისად, სამოდელო სისტემის პირობებში, აქტიურად ციკლირებად უჯრედების პოპულაციაში, შევისწავლეთ CD180-ის და CD32-ის ექსპრესიის სურათი. მიღებული მონაცემებით შეინიშნებოდა CD32-ის ექსპრესიის მომატება დროში, კერძოდ, თუ 24სთ-ზე ის $11 \pm 3.8\%$ უდრიდა, კულტურის გადათესვიდან 96 საათისთვის ის აღწევდა $36 \pm 1.3\%$ -ს. რაც შეეხება ხოლო CD180-ის ექსპრესიას, მიღებული მონაცემებით დაფიქსირდა აღნიშნული რეცეპტორის ექსპრესიის ფლუქტუაცია დროში, რისი ახსნა ჯერჯერობით არ გაგვაჩნია. კვლევის შემდგომ ეტაპზე ვგეგმავთ შევისწავლოთ CD180-ით გაშუალებული გზის გავლენა სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნების და პროლიფერაციულ მექანიზმებზე, რადგანაც ნაჩვენები იქნა, რომ BCR-ის ლიგაცია იწვევს CD180-ის შებოჭვით განპირობებული სიგნალის გადაცემის გაწყვეტას, რაც საფუძველს გვამლევს ვივარაუდოთ, რომ CD180 და BCR საერთო სასიგნალო გზას იყენებენ. ამისთვის ვგეგმავთ CD180-ის ან/და ზედაპირული IgM-ის შებოჭვის შემდგომ უჯრედული ციკლის ფაზებში უჯრედების პროცენტული გადანაწილების სურათის და აპოპტოზური უჯრედების პროცენტული მაჩვენებლის შეფასებას. MEC1 უჯრედებში სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნების მექანიზმების გამოკვლევა დაგვეხმარება უკეთ ავხსნათ თუ როგორ მოქმედებს მიკროგარემოს მხრიდან სტიმულაცია ლეიკემიური უჯრედების ექსპანსიაზე და ზოგადად, დაავადების პროგრესირებაზე, რაც საშუალებას მოგვცემს ამ დღესდღეობით განუკურნებელი დაავადებისთვის ახალი თერაპიული საშუალებების გამომუშავებას.