

ჰეპატოციტების პოლიპლოიდიზაციის პროცესში სხვადასხვა სასიგნალო გზის როლის შესწავლა ქოლესტაზური ღვიძლის მოდელზე

ე. ბაკურაძე, ს.კიპაროძე, ი. მოდებაძე, დ.ძიმიფური

ივ. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახ. უნივერსიტეტის ბიოლოგიის დეპარტამენტის, მორფოლოგიის კათედრა

შესავალი. ღვიძლის სტრუქტურისა და ფუნქციის აღდგენაში, როგორც ცნობილია, მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება ისეთ პროცესებს, როგორებიცაა: ჰიპერტოფია, პროლიფერაცია და მისი ერთერთი ფორმა - პოლიპლოიდიზაცია. ამ ორი უკანასკნელი პროცესისთვის წინაპირობაა უჯრედის შესვლა ე.წ. მიტოზურ ციკლში. დღეისათვის იდენტიფიცირებულია ოთხი მთავარი კასკადური გზა, რომელიც უზრუნველყოფს უჯრედის ციკლში შესვლას, ესენია: ERK 1/2; JNK1/2/3; p38 და ERK5. მიუხედავად ამისა, არ არის ბოლომდე ცნობილი პროლიფერაციის და პოლიპლოიდიზაციის პროცესების ინიცირება ერთი და იგივე სასიგნალო გზით ხორციელდება, თუ განსხვავებულია მხოლოდ ამ კასკადური გზების აქტივაციის ფაქტორები. ამ საკითხის კვლევა აქტუალურია გამომდინარე იქიდანაც, რომ ჯერ კიდევ არ არის დადგენილი ციკლში შესული უჯრედი როდის ან რომელ ეტაპზე იღებს სიგნალს ციტოკინების და/ან კარიოკინების ბლოკის თაობაზე (არასრული მიტოზი), რის შედეგადაც წარმოიქმნება პოლიპლოიდური უჯრედები.

აღნიშნული საკითხისადმი ინტერესი განაპირობა ასევე, ქოლესტაზური ღვიძლის მოდელზე ჩატარებული კვლევის შედეგებმა. კერძოდ, ნაჩვენებია იქნა, რომ: 1. ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან 4 დღის განმავლობაში ზრდასრული ვირთაგვების ღვიძლის პარენქიმაში მნიშვნელოვნად იზრდება მალაპლოიდური უჯრედების შემცველობა; 2. ჰეპატოციტების მალალი მიტოზური აქტიურობა, რომელიც ვლინდება ოპერაციიდან მე-4 დღეს, სწორედ პოლიპლოიდური უჯრედების წარმოქმნას ემსახურება.

ყოველივე ზემოთ აღნიშნულის გათვალისწინებით აუცილებლად მივიჩნიეთ ამ საკითხის შესასწავლად ზემოთ ხსენებული 4 სასიგნალო გზის შერჩევითი ბლოკირებით დაგვედგინა ქოლესტაზურ ღვიძლში პოლიპლოიდიზაციის ინიცირების მოლეკულური მექანიზმი. გამომდინარე იქიდან, რომ პროლიფერაციაში წამყვანი როლი ჰეპატოციტების ზრდის ფაქტორს (HGF) ენიჭება და ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან მეორე დღეს სისხლში სწორედ HGF-ის კონცენტრაციის მატება ხდება, საინტერესო იყო ქოლესტაზური ღვიძლის მოდელზე პოლიპლოიდიზაციის პროცესში HGF-ის როლის დადგენა. HGF-ით აქტივირებული სასიგნალო კასკადის ერთ-ერთი საფეხურის ცილებია MEK 1 და MEK 2 რომლებიც ERK 1/2 სასიგნალო ქსელის საკვანძო მოლეკულებია, რომელთა მონაწილეობის დადგენა პოლიპლოიდიზაციაში მნიშვნელოვანია, რადგან მათი გააქტიურება შეიძლება მოხდეს HGF-ის რეცეპტორის C-Met-ის გვერდის ავლით. გარდა ERK1/2 გზისა საინტერესო იყო ისეთი მძლავრი სასიგნალო გზის შესწავლა პოლიპლოიდიზაციაში, როგორიცაა JNK კასკადი. JNK ოჯახის ცილები აქტიურდებიან ციტოკინების, ულტრაიისფერი გამოსხივების, ზრდის ფაქტორების ნაკლებობითა და ზოგიერთი G ცილასთან (G12/13) ასოცირებული რეცეპტორების მოქმედების შედეგად და იწვევენ უჯრედის ციკლში შესვლას.

კვლევის მიზანი. ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, კვლევის მიზანი იყო ქოლესტაზური ღვიძლის მოდელზე ჰეპატოციტების პოლიპლოიდიზაციის პროცესში ERK 1/2-ისა და JNK სასიგნალო გზების როლის შესწავლა.

კვლევის მასალა და მეთოდები. კვლევის ობიექტად გამოვიყენეთ ზრდასრული ვირთაგვები (130–150 გრ). ექსპერიმენტულ მოდელი იყო ქოლესტაზური ღვიძლი (გამოწვეული ნაღვლის საერთო სადინარის გადაკეტვით). კვლევის მიზნიდან გამომდინარე, ცხოველები დაყავით სამ ჯგუფად: I- საკონტროლო ჯგუფი - ინტაქტური ცხოველები, II- პირველი საცდელი ჯგუფი -

ქოლესტაზიანი ცხოველები და III – მეორე საცდელი ჯგუფი - ქოლესტაზიანი ცხოველები, რომლებშიც შეგვყავდა MEK 1/2 სასიგნალო მოლეკულების ინჰიბიტორი (PD98059) (10მგ/კგ–ზე). მეორე ამოცანის შესასრულებლად ცხოველები დავყავით სამ ჯგუფად: I– საკონტროლო ჯგუფი - ინტაქტური ცხოველები, II– პირველი საცდელი ჯგუფი - ქოლესტაზიანი ცხოველები და III – მეორე საცდელი ჯგუფი - ქოლესტაზიანი ცხოველები, რომლებშიც შეგვყავდა JNK ცილის ინჰიბიტორი (SP 600125) (1მგ/კგ–ზე). დნმ–ის რაოდენობას ვსაზღვავდით კომპიუტერული პროგრამა Image J გამოყენებით. ღვიძლის ქსოვილის პროლიფერაციული აქტიურობის შესაფასებლად ვიყენებდით კოლხიცინური მიტოზური ინდექსის განსაზღვრის მეთოდს. მონაცემები სტატისტიკურად დამუშევებული იყო სტუდენტის t კრიტერიუმით. მონაცემებს სარწმუნოდ ვთვლიდით $p < 0.5$ შემთხვევაში.

კვლევის შედეგები. MEK 1/2 სასიგნალო ცილების ინჰიბირების შედეგად პირველი საცდელი ჯგუფის ცხოველების ღვიძლის პარენქიმულ უჯრედებში ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან მე-2 დღეს მნიშვნელოვნად იზრდება უჯრედების მიტოზური აქტიურობა კონტროლთან შედარებით. ამასთან, მცირდება დიპლოიდური (2c) და ორბირთვიანი (2c×2) ჰეპატოციტების რაოდენობა და მატულობს მაღალპლოიდური (4c, 4c×2, 8c) უჯრედების შემცველობა. მეორე საცდელი ჯგუფის ცხოველებში შეინიშნება ტეტრაპლოიდური (4c) უჯრედების კლების ტენდენცია, ხოლო საერთოდ არ გვხვდება ერთბირთვიანი ოქტაპლოიდური (8c) და ორბირთვიანი ოქტაპლოიდური (4c×2) უჯრედები, რაც ცალსახა მტკიცებულებაა პოლიპლოიდიზაციის პროცესის დათრგუნვისა. ხოლო რაც შეეხება პროლიფერაციულ აქტიურობას, იგი არ არის განსხვავებული პირველ და მეორე საცდელი ცხოველების ჯგუფებს შორის. JNK ცილის ინჰიბიტორის გამოყენების შედეგად პირველი საცდელი ჯგუფის ცხოველების ღვიძლის პარენქიმულ უჯრედებში ნაღვლის საერთო სადინარის ლიგირებიდან მე-2 დღეს მნიშვნელოვნად იზრდება უჯრედების მიტოზური აქტიურობა კონტროლთან შედარებით. ამასთან, მცირდება დიპლოიდური (2c) და ორბირთვიანი (2c×2) ჰეპატოციტების რაოდენობა და მატულობს მაღალპლოიდური (4c, 4c×2, 8c) უჯრედების შემცველობა. მაღალპლოიდური უჯრედების ანალოგიური რაოდენობრივი მატება გამოვლინდა II საცდელი ჯგუფის ვირთაგვების ღვიძლის პარენქიმაშიც, ასევე არ დაფიქსირდა რაიმე განსხვავება პირველი საცდელი ჯგუფისაგან მიტოზურ აქტიურობაში.

დასკვნა: 1. თეთრ, არახაზოვან ვირთაგვებში HGF-ისა და JNK კასკადური გზების ბლოკირებით, მხოლოდ უჯრედების გამრავლების შეფერხება იმაზე მეტყველებს, რომ ქოლესტაზურ ღვიძლში პროლიფერაცია და პოლიპლოიდიზაცია სხვადასხვა სასიგნალო გზებით წარიმართება.

2. MEK 1/2 ცილების ბლოკირებით მაღალპლოიდური (ოქტაპლოიდური) უჯრედების წარმოქმნის შეფერხება იმაზე მიუთითებს, რომ ERK 1/2 სასიგნალო გზის აქტივაცია ჰეპატოციტების პოლიპლოიდიზაციისთვის ერთ-ერთი აუცილებელი პირობაა.