Georgian Scientists

ქართველი მეცნიერები

Vol. 4 Issue 5, 2022

https://doi.org/10.52340/gs.2022.04.05.03

# CD4+CD39+ უჯრედები ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნეების მქონე პაციენტებში

**ნინო ნანავა[1], სოფიო მეტრეველი[1], გიორგი გიორგობიანი[2], თინათინ ჩიქოვანი[1], ნონა ჯანიკაშვილი[1]**

[1]იმუნოლოგიის დეპარტამენტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო [2]ქირურგიის დეპარტამენტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

**აბსტრაქტი**

T ლიმფოციტებში ექტონუკლეოტიდაზა CD39-ის ექსპრესიის ცვლილება აღწერილია სხვადასხვა იმუნოპათოლოგიის დროს სოლიდური სიმსივნეების ჩათვლით. თუმცა საკმაოდ მწირია ინფორმაცია ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნეების მქონე პაციენტებში ამ იმუნომარეგულირებელი მოლეკულის მატარებელ უჯრედებზე. წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა CD39+ უჯრედების სიხშირის შესწავლა ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტების სისხლისა და ელენთის CD4+ პოპულაციაში და სისტემური ანთების სისხლის ბიომარკერებთან მათი კორელაციის დადგენა.

კვლევა ჩატარდა ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის დიაგნოზის მქონე შვიდ პაციენტზე, რომელთაც თერაპიული ჩვენებით ჩაუტარდათ სპლენექტომია. კონტროლად გამოყენებულ იქნა სპლენექტომირებული პაციენტების ორი ჯგუფი. პირველ საკონტროლო ჯგუფს შეადგენდა ექვსი პაციენტი, რომელთაც არ ჰქონდათ სიმსივნური ან აუტოიმუნური დაავადებების დიაგნოზი, ხოლო მეორე საკონტროლო ჯგუფს წარმოადგენდა იმუნური თრომბოციტოპენიის (ითპ) დიაგნოზის მქონე ცხრა პაციენტი.

დადგინდა, რომ ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტთა სისხლსა და ელენთაში CD4+CD39+ უჯრედების რაოდენობა არ განსხვავდება იმ სპლენექტომირებულ პაციენტთა ანალოგიური მაჩვენებლებისგან, ვისაც არ აქვს რაიმე სახის კიბო ან აუტოიმუნური დაავადება. ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტების ელენთაში CD4+CD39+ უჯრედების სიხშირე მნიშვნელოვნად აღემატება ითპ პაციენტების ანალოგიურ მაჩვენებელს. ამავდროულად, ძლიერი უარყოფითი კორელაცია დასტურდება საკვლევი ჯგუფის პაციენტთა ელენთაში CD4+CD39+ უჯრედების სიხშირესა და სისხლში თრომბოციტების მონოციტებთან ფარდობას შორის.

**საძიებო სიტყვები:** *CD4+CD39+ T ლიმფოციტები, ანთებითი მარკერები, ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნე*

**შესავალი**

ჯანმრთელ ქსოვილებში უჯრედგარე ატფ-ის კონცენტრაცია უმნიშვნელოა. თუმცა, ანთების პირობებში და ისეთი სტიმულის საპასუხოდ, როგორიცაა ჰიპოქსია/ქსოვილის დაზიანება ან სიმსივნე, ატფ-ის რაოდენობა მნიშვნელოვნად იმატებს (Moestra et al., 2020; Mittal et al., 2016; Di Virgilio et al., 2017). ანთებით გამოწვეული ატფ-ის წარმოქმნა ნეიტროფილების გასააქტიურებელ და, საერთოდ, იმუნური თავდაცვის განსახორციელებელ ძირითად მექანიზმს წარმოადგენს (Chen et al., 2010). ექტონუკლეოტიდაზა CD39 (ექტო-ნუკლეოზიდ ტრიფოსფატ დიფოსფოჰიდროლაზა) ატფ-ის ადფ-ად ჰიდროლიზებით იმუნურ პასუხს არეგულირებს. ის სიმსივნის /ანთების საწინააღმდეგო იმუნური პასუხის დროს ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მოთამაშედ გვევლინება და დღეისათვის იმუნომარეგულირებელ მედიატორად არის აღიარებული (Tan et al., 2016; Allard et al., 2017).

ადამიანის სხვადასხვა სახის სიმსივნე CD39-ის ძალიან მაღალი ექსპრესიით ხასიათდება. ეს სიმსივნეებია: თირკმლის უჯრედული კიბო, საკვერცხის კიბო, ძუძუს კიბო, ლიმფომა, შარდის ბუშტის კიბო, მსხვილი ნაწლავის კიბო და მელანომა (Wu et al., 2020; Hayes et al., 2015; Bastid et al., 2015; Hausler et al., 2011). CD39-ის ჭარბი ექსპრესია სიმსივნის მიერ შემუშავებული, სიმსივნის საწინააღმდეგო შეტევისგან თავის დასაღწევი ეფექტური მექანიზმია, რაც კიბოს მიკროგარემოში იმუნური სისტემით სტიმულირებული უჯრედგარეთა ატფ-ის დაშლას გულისხმობს. ამიტომ, ავთვისებიანი პროცესების დროს, CD39-ის მაღალი მაჩვენებელი დაავადების პროგრესირებისა და ცუდი გამოსავლის მარკერად განიხილება (Cai et al., 2016; Munoz-Godinez et al., 2020; Cai et al., 2016).

სიმსივნური უჯრედების გარდა ამ იმუნომარეგულირებელი მოლეკულის მაღალი ექსპრესია გამოვლინდა ენდოთელურ უჯრედებზე, კიბოსთან ასოცირებულ ფიბრობლასტებზე (CAF) და იმუნურ უჯრედებზეც, განსაკუთრებით, ბუნებრივ მკვლელებზე (NK), სიმსივნესთან ასოცირებულ მაკროფაგებზე (TAM) და სიმსივნეში ინფილტრირებულ ლიმფოციტებზე (TILs), მათ შორის Tregs და CD8+ T უჯრედებზე (Simoni et al., 2018; Borsellino et al., 2007; Li et al., 2019; Yan et al., 2020; Zhang et al., 2019; Canale et al., 2018; Nagate et al., 2021; Timperi, Barnaba, 2021).

საგულისხმოა, რომ ჰემატოლოგიურ სიმსივნეებში CD39+ იმუნური უჯრედების სიხშირე და ფუნქცია მწირად არის შესწავლილი. მისი ასოციაცია სხვა ონკოჰემატოლოგიურ მარკერებთან კი სრულიად დაუდგენელია. სისხლის საერთო ანალიზი (CBC) იაფი და ადვილად შესასრულებელი სადიაგნოსტიკო ტესტია, რომელიც ფართოდ გამოიყენება ყოველდღიურ კლინიკურ პრაქტიკაში. მას დიდი მნიშვნელობა აქვს არა მხოლოდ ჰემატოლოგიური, არამედ ყველა სხვა სამედიცინო მდგომარეობის დიაგნოსტიკასა და მონიტორინგში.

სამედიცინო პრაქტიკაში წლების განმავლობაში CBC-ის ფართოდ გამოყენების მიუხედავად, მისი ახალი შესაძლებლობები ჯერ კიდევ აღმოჩენის პროცესშია. ბოლო წლებში სულ უფრო მატულობს იმ კვლევების რიცხვი, რომლებიც სისხლის ფორმულის შემადგენელი

კომპონენტების თანაფარდობათა დიაგნოსტიკურ და კლინიკურ ღირებულებაზე მეტყველებს. ესენია: ნეიტროფილების, თრომბოციტების, ლიმფოციტების თანაფარდობები ლიმფოციტებთან, მონოციტებთან (NLR, PLR, PMR, LMR) და ა.შ. ეს თანაფარდობები, ასახავს რა ორგანიზმში მიმდინარე სისტემურ ანთებას, შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას როგორც ინფექციური, აუტოიმუნური, სიმსივნური დაავადებების, ასევე გადაუდებელი მდგომარეობების პროგნოზული და სადიაგნოსტიკო მარკერი (Stefaniuk et al., 2020).

ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს სისხლის საერთო ანალიზიდან მიღებული სისტემური ანთებითი მარკერების (NLR, PLR, PMR, HLR-ჰემოგლობინი/ლიმფოციტი, SII-ნეიტროფილიxთრომბოციტი/ლიმფოციტი, dNLR - ნეიტროფილი/(ლეიკოციტი-ნეიტროფილი) პოტენციური დიაგნოსტიკური და პროგნოზული მნიშვნელობა ჩვენს მიერაც იქნა ნანახი (Nanava et al., 2020). სულ ახლახანს, ერთ-ერთმა კვლევამ (Zang et al., 2021) პერიფერიული T უჯრედული ლიმფომით დაავადებულებში დაადგინა, რომ პაციენტებს, რომელთა LMR ≤ 1.68 და PMR ≤ 300, მკურნალობაზე სრული კლინიკური პასუხისა და გადარჩენის დაბალი მაჩვენებლები აქვთ.
წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა CD39+ უჯრედების სიხშირის შესწავლა ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტების სისხლისა და ელენთის CD4+ პოპულაციაში და სისტემური ანთების სისხლის ბიომარკერებთან მისი კორელაციის დადგენა.

**მასალა და მეთოდები**:
კვლევა შესრულდა ჰელსინკის 1975 წლის დეკლარაციის მიხედვით. ეთიკურ სტანდარტებთან მისი შესაბამისობა დამტკიცდა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ეთიკური კომიტეტის მიერ. კვლევაში ჩაერთო ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის დიაგნოზის მქონე 7 პაციენტი, რომელთაც თერაპიული ჩვენებით ჩაუტარდათ სპლენექტომია. ორი საკონტროლო ჯგუფიდან ერთს (კონტროლი 1) წარმოადგენდა 6 პაციენტი, რომელთაც სამედიცინო ჩვენებით ჩაუტარდათ სპლენექტომია, თუმცა არა ავთვისებიანი სიმსივნის ან აუტოიმუნური დაავადების გამო (ელენთის კისტა (არაექინოკოკური), ელენთის ტრავმა). მეორე ჯგუფს კი წარმოადგენდა იმუნური თრომბოციტოპენიური პურპურის (ითპ) დიაგნოზის მქონე 9 პაციენტი, რომელთაც თერაპიული ჩვენებით ჩაუტარდათ სპლენექტომია.
**სისხლის ნიმუში:** პერიფერიული სისხლის ფიკოლის გრადიენტზე დასმით და მისი ცენტრიფუგირებით მიღებული მონონუკლეარული უჯრედები გროვდებოდა, ირეცხებოდა და მზადდებოდა გამდინარე ციტომეტრიული ანალიზისთვის.

**ელენთის ნიმუში:** ქირურგიული ოპერაციის მიმდინარეობისას ელენთის ქსოვილის მცირე ნაჭერი იდებოდა ფიზიოლოგიურ ხსნარში და მასალის დამუშავებამდე 4-5 საათის განმავლობაში ინახებოდა მაცივარში. ელენთის ქსოვილზე შპრიცის დგუშის მექანიკური ზეწოლით და 100 მკმ ზომის ნეილონის საცერის გამოყენებით (BD, Bioscience) ხდებოდა ქსოვილის დისოციაცია. უჯრედები ირეცხებოდა და მზადდებოდა ფენოტიფირებისთვის. ფენოტიპირებისთვის გამოყენებული იქნა CD39 მარკერი, რომელიც გაიზომა CD4 T ლიმფოციტთა პოპულაციაში. უჯრედების შეღებვა განხორციელდა რეაგენტის მწარმოებლის

ინსტრუქციის მიხედვით. მასალა გაანალიზდა FacsCalibur გამდინარე ციტომეტრით და საბოლოო მონაცემთა მისაღებად გამოყენებულ იქნა FlowJo® v10 პროგრამა.

**სისტემური ანთებითი მარკერები:** პაციენტის სისხლის საერთო ანალიზში მოცემული ლეიკოციტების, ნეიტროფილების, ლიმფოციტების, თრომბოციტების, მონოციტების და ჰემოგლობინის რაოდენობიდან ვანგარიშობდით სისტემურ ანთებით მარკერებს: NLR, PLR, PMR, HPR, HLR, LMR, SII და dNLR. ანთებითი მარკერები გამოთვლილია შემდეგნაირად: NLR - ნეიტროფილების აბსოლუტური რაოდენობის ფარდობა ლიმფოციტების აბსოლუტურ რაოდენობასთან, მსგავსად, შესაბამისი უჯრედების შეფარდებით გამოითვლება PLR, PMR, HLR, HPR და LMR. dNLRდა SII-ის გამოსათვლელად გამოყენებულია შემდეგი ფორმულები:
dNLR=ნეიტროფილი/(ლეიკოციტი-ნეიტროფილი);
SII=ნეიტროფილი x თრომბოციტი/ლიმფოციტი.

**სტატისტიკური ანალიზი**

ორ სატესტო ნიმუშს შორის მნიშვნელოვანი განსხვავების სანახავად გამოყენებული იქნა მან-ვიტნის ტესტი (Mann Whitney test). სხვადასხვა პარამეტრებს შორის კორელაციის სანახავად გამოვიყენეთ სპირმანის ტესტი. მონაცემები დამუშავდა GraphPad და SPSS პროგრამებში.

**მიღებული შედეგები და განხილვა**:

უჯრედშიდა ატფ ენერგიის მნიშვნელოვანი წყაროა, უჯრედგარე ატფ კი "საფრთხის სიგნალად" გვევლინება. ის ფაგოციტებს ანთების ადგილებზე მიიზიდავს, იმუნურ სისტემას ქსოვილთა დაზიანებისა და პათოგენთან დაკავშირებული საფრთხის შესახებ აცნობებს და მის გააქტიურებას იწვევს. ყოველივე ეს ანთებითი პროცესების გააქტიურების, ინტერლეიკინ-1β-ს და ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინების წარმოქმნის შედეგია. დადგინდა, რომ CD39, რომელიც ატფ-ს ადფ-ად და ამფ-ად გარდაქმნის, მნიშვნელოვან როლს ასრულებს კიბოს პათოგენეზში (Boisonet al., 2022; Zhulai et al., 2019). სიმსივნურ ქსოვილში მისი ექსპრესიისა და აქტივობის მატება, ზოგიერთი სახის კიბოს დროს, ცუდ პროგნოზთან ასოცირდება (Shevchenko et al., 2020; Zhulai et 2018; Cai et al., 2016; Nagate et al., 2021).

ლეიკემიის, ლიმფომისა და მიელომის უჯრედები, სოლიდური კიბოს მსგავსად, ურთიერთქმედებს გარემოში მდებარე არასიმსივნურ უჯრედებთან. ეს ურთიერთქმედება ხდება როგორც სისხლის მიმოქცევაში, ასევე დაცულ ნიშებში - ლიმფურ ორგანოებში - და უზრუნველყოფს დამატებით სტიმულს, რაც გავლენას ახდენს უჯრედების ქცევაზე. ის, რაც ხდება გარემოს ნიშებში, ძირითადად გადამწყვეტია დაავადების პროგრესირებისა და ქიმიორეზისტენტობის განსახორციელებლად, ხოლო ლეიკემიური უჯრედები, თავის მხრივ, აყალიბებენ გარემოს, რათა შემდგომში ხელი შეუწყონ თავიანთ ზრდას და იმუნური ზედამხედველობიდან თავის დაძვრენას.

CD39-ის რეგულაციის დარღვევა, სოლიდური სიმსივნეების მსგავსად, აღწერილია ლიმფოიდური და მიელოიდური ავთვისებიანი სიმსივნეების დროსაც. CD39-ის ექსპრესია ზოგადად ტოლერანტული გარემოს განვითარებასთან ასოცირდება, რაც დაავადების პროგრესირებას უწყობს ხელს. სხვადასხვა სახის სიმსივნის დროს CD39-ის ექსპრესია პაციენტთა პერიფერიულ სისხლსა და ლიმფურ კვანძებშია ნანახი.

ჩვენ გამოვიკვლიეთ CD4+CD39+ სუბპოპულაციათა სიხშირე ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტების პერიფერიულ სისხლსა და ელენთაში და შევადარეთ საკონტროლო ჯგუფების პაციენტთა მონაცემებს.

როგორც ცხრილი 1-დან ჩანს, პერიფერიულ სისხლში აღნიშნული მაჩვენებელი ჩვენს მიერ შესწავლილ პაციენტთა სამ ჯგუფში სტატისტიკურად სარწმუნოდ ერთმანეთისგან არ განსხვავდება (ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტებში - 25.59±16.61, კონტროლი 1 - 20.10±16.59; ითპ-კონტროლი - 32.24±23.35; ჯგუფებს შორის p>0.05).

**ცხრილი 1. CD4+CD39+ უჯრედების პროცენტული შემცველობა ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნეების მქონე პირებსა და საკონტროლო ჯგუფის პაციენტებში**

| ცვლადები | ჰას | კონტროლი1 | ითპ-კონტროლი | P value (კონტროლი1/ჰას) | P value (კონტროლი1/ითპ) | P value (ითპ/ჰას) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| CD4+CD39+ (%) სისხლში | 25.59 ± 16.61 | 20.10± 16.59 | 32.24±23.35 | >0.05 | >0.05 | >0.05 |
| CD4+CD39+ (%) ელენთაში | 33.36± 19.92 | 33.48± 23.00 | 15.80±4.41 | >0.05 | 0.0286 | 0.0190 |

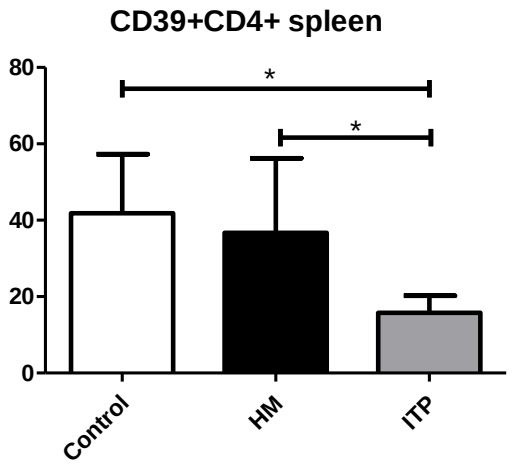
ჰას - პაციენტები ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის დიაგნოზით
ითპ - პაციენტები იმუნური თრომბიციტოპენიის დიაგნოზით
განსხვავება სტატისტიკურად სარწმუნოა, თუ p<0.05

განსხვავებული შედეგები მივიღეთ ელენთის უჯრედების გამოკვლევისას. აღმოჩნდა, რომ ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი დაავადების დიაგნოზის მქონე პაციენტთა ელენთაში CD4+CD39+ უჯრედების რაოდენობა არ განსხვავდება კონტროლი 1 პაციენტების ანალოგიური მაჩვენებლისგან (შესაბამისად, 33.36±19.92 და 33.48±23.00), თუმცა ის სტატისტიკურად სარწმუნოდ მაღალია ითპ-კონტროლის პაციენტთა მონაცემთან შედარებით (33.36±19.92 და 15.80±4.41; p>0.0190). ითპ-კონტროლის პაციენტთა ჯგუფში CD4+CD39+ უჯრედების რაოდენობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ დაბალია კონტროლი 1-ის პაციენტებთან შედარებითაც (15.80±4.41 vs 33.48±23.00 P=0.0286) (იხ. სურათი).

ამდენად, ჩვენი კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი დაავადების მქონე პაციენტთა სისხლსა და ელენთაში CD4+CD39+ უჯრედების რაოდენობა არ განსხვავდება იმ სპლენექტომირებულ პაციენტთა ანალოგიური მაჩვენებლებისგან, ვისაც არ აქვს რაიმე სახის კიბო ან აუტოიმუნური დაავადება. ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი დაავადების მქონეთა ელენთის CD4+ უჯრედებში CD39-ის ექსპრესიის სიხშირე

სტატისტიკურად სარწმუნოდ მაღალია, ვიდრე ითპ-ით დაავადებულებში. ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი დაავადებების მქონეთა სისხლში, ჯანმრთელ დონორებთან შედარებით, სიმსივნურ, CD4(+), CD8(+) და სხვა უჯრედებზე CD39-ის მაღალი ექსპრესიაა ნანახი, რაც სიმსივნის მიერ იმუნური ზედამხედველობის თავიდან არიდების საშუალებად მიიჩნევა (Pulte et al., 2011; Vaisitti et al., 2019: Nagate et al., 2021).

**სურათი. CD4+CD39+ უჯრედების სიხშირე ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის და იმუნური თრომბოციტოპენიის მქონე პაციენტთა ელენთაში**




* - გამოხატავს სარწმუნო განსხვავებას, როდესაც P ≤ 0.05.
HM - ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნე
ITP - იმუნური თრომბოციტოპენია

მრავალი ჰემატოლოგიური პროგნოზული მახასიათებლის არსებობის მიუხედავად, დაავადების პროგრესი და გადარჩენის მაჩვენებელი ხშირად პაციენტების ერთიდაიგივე ქვეჯგუფშიც კი ძალიან განსხვავებულია. უკანასკნელი კვლევების თანახმად, სისხლის ისეთი მარტივი, ეკონომიური, დაბალი რისკის ტესტები, როგორიცაა სისხლის საერთო ანალიზში უჯრედების რაოდენობა ან/და მათი თანაფარდობა შეიძლება გამოყენებულ იქნას დაავადების პროგნოზის შესაფასებლად. NLR, PLR, PMR, LMR და სხვ. - სიმსივნის მიკროგარემოს ბიომარკერებია, რომლებიც შეიძლება გამოყენებულ იქნას როგორც სოლიდური, ასევე ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის პროგნოზულ მარკერებად (Wang et al., 2017; Kumagai et al., 2014; Wilcox et al., 2011; Stefaniuk et al., 2020). ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტებში აღნიშნული მარკერები ჩვენს მიერაც იქნა გამოკვლეული (Nanava et al., 2020).

თუმცა, საყურადღებოა, რომ მოცემულ კვლევაში პირველად იქნა შესწავლილი კორელაცია ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტების სისხლსა და ელენთაში CD4+CD39+ უჯრედების სიხშირესა და სისხლის საერთო ანალიზიდან მიღებულ სისტემურ ანთების ბიომარკერებს შორის.

მიღებული შედეგები წარმოდგენილია ცხრილი 2-ზე.

**ცხრილი 2. ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტთა სისხლსა და ელენთაში CD4+CD39+ უჯრედების სიხშირის კორელაცია სისტემური ანთების სისხლის ბიომარკერებთან**

| ცვლადები | | NLR | PLR | PMR | HLR | SII | LMR | HPR | dNLR |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CD4+CD39+ სისხლში | კორელაციის კოეფიციენტი | -.179 | -.250 | -.464 | -.214 | -.250 | -.536 | .180 | -.179 |
| | სარწმუნოება (2-კუდიანი) | .702 | .589 | .294 | .645 | .589 | .215 | .699 | .702 |
| CD4+CD39+ ელენთაში | კორელაციის კოეფიციენტი | -.071 | -.536 | -.857* | .071 | -.679 | -.643 | .721 | -.321 |
| | სარწმუნოება (2-კუდიანი) | .879 | .215 | .014 | .879 | .094 | .119 | .068 | .482 |

*. კორელაცია მნიშვნელოვანია 0.05 დონეზე (2-კუდიანი)

როგორც ცხრილი 2-დან ჩანს, სტატისტიკურად სარწმუნო ძლიერი უარყოფითი კორელაცია დადასტურდა PMR-სა და ელენთაში CD4+CD39+ უჯრედების სიხშირეს შორის (კორელაციის კოეფიციენტი ρ=-0.857, p=0.014). სხვა შესწავლილ ცვლადებს შორის კორელაციის არსებობა არ დადგინდა.

ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის დროს სისხლის სისტემურ ბიომარკერსა და სიმსივნის მიკროგარემოს ერთ-ერთ უჯრედულ პოპულაციას შორის კორელაციის არსებობა ვანგისა და თანაავტორთა (Wang et al., 2017) კვლევითაც იქნა გამოვლენილი. მათ დაადგინეს, რომ დიფუზური გიგანტურუჯრედული B ლიმფომის დროს LMR უარყოფითად კოლერილებს სიმსივნურ ქსოვილში CD163+ M2 მაკროფაგების რაოდენობასთან.
უდავოა, რომ უკანასკნელ წლებში ონკოლოგიური დაავადების დიაგნოსტიკის, პროგნოზის განსაზღვრისა და მკურნალობის სტრატეგიებში მზარდი ინტერესი გაჩნდა არა მხოლოდ ახალი ბიომარკერების გამოსავლენად, არამედ უკვე დანერგილ და ხელმისაწვდომ ტესტ-მარკერებთან მათი კორელაციის დადგენის მიმართულებით.

**გამოყენებული ლიტერატურა:**


1. Allard B, Longhi MS, Robson SC, Stagg J. The ectonucleotidases CD39 and CD73: novel checkpoint inhibitor targets. *Immunol Rev* (2017) 276:121–44. 10.1111/imr.12528
2. Bastid J., Regairaz A., Bonnefoy N., Déjou C., Giustiniani J., Laheurte C., Cochaud S., Laprevotte E., Funck-Brentano E., Hemon P., et al. Inhibition of CD39 Enzymatic Function at the Surface of Tumor Cells Alleviates Their Immunosuppressive Activity. *Cancer Immunol. Res.* 2015;3:254–265. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0018.

3. Boison D., Yegutkin G.G. Adenosine Metabolism: Emerging Concepts for Cancer Therapy. *Cancer Cell.* 2019;36:582–596. doi: 10.1016/j.ccell.2019.10.007.
4. Borsellino G., Kleinewietfeld M., Di Mitri D., Sternjak A., Diamantini A., Giometto R., Höpner S., Centonze D., Bernardi G., Dell'Acqua M.L., et al. Expression of Ectonucleotidase CD39 by Foxp3+ Treg Cells: Hydrolysis of Extracellular ATP and Immune Suppression. *Blood.* 2007;110:1225–1232. doi: 10.1182/blood-2006-12-064527.
5. Cai X.-Y., Ni X.-C., Yi Y., He H.-W., Wang J.-X., Fu Y.-P., Sun J., Zhou J., Cheng Y.-F., Jin J.-J., et al. Overexpression of CD39 in Hepatocellular Carcinoma Is an Independent Indicator of Poor Outcome after Radical Resection. *Medicine.* 2016;95:e4989. doi: 10.1097/MD.0000000000004989
6. Cai X.-Y., Wang X.-F., Li J., Dong J.-N., Liu J.-Q., Li N.-P., Yun B., Xia R.-L., Qin J., Sun Y.-H. High Expression of CD39 in Gastric Cancer Reduces Patient Outcome Following Radical Resection. *Oncol. Lett.* 2016;12:4080–4086. doi: 10.3892/ol.2016.5189.
7. Canale F.P., Ramello M.C., Núñez N., Araujo Furlan C.L., Bossio S.N., Gorosito Serrán M., Tosello Boari J., Del Castillo A., Ledesma M., Sedlik C., et al. CD39 Expression Defines Cell Exhaustion in Tumor-Infiltrating CD8+ T Cells. *Cancer Res.* 2018;78:115–128. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2684.
8. Chen Y, Yao Y, Sumi Y, Li A, To UK, Elkhal A, et al. Purinergic signaling: a fundamental mechanism in neutrophil activation. *Sci Signal* (2010) 3:ra45. 10.1126/scisignal.2000549
9. Di Virgilio F., Adinolfi E. Extracellular Purines, Purinergic Receptors and Tumor Growth. *Oncogene.* 2017;36:293–303. doi: 10.1038/onc.2016.206
10. Häusler S.F.M., Montalbán del Barrio I., Strohschein J., Chandran P.A., Engel J.B., Hönig A., Ossadnik M., Horn E., Fischer B., Krockenberger M., et al. Ectonucleotidases CD39 and CD73 on OvCA Cells Are Potent Adenosine-Generating Enzymes Responsible for Adenosine Receptor 2A-Dependent Suppression of T Cell Function and NK Cell Cytotoxicity. *Cancer Immunol. Immunother.* 2011;60:1405–1418. doi: 10.1007/s00262-011-1040-4.
11. Hayes G.M., Cairns B., Levashova Z., Chinn L., Perez M., Theunissen J.-W., Liao-Chan S., Bermudez A., Flory M.R., Schweighofer K.J., et al. CD39 Is a Promising Therapeutic Antibody Target for the Treatment of Soft Tissue Sarcoma. *Am. J. Transl. Res.* 2015;7:1181–1188.
12. Kumagai S, Tashima M, Fujikawa J, Iwasaki M, Iwamoto Y, Sueki Y, et al. Ratio of peripheral blood absolute lymphocyte count to absolute monocyte count at diagnosis is associated with progression-free survival in follicular lymphoma. *Int J Hematol.* 2014;**99**:737–742. doi: 10.1007/s12185-014-1576-0.
13. Li X.-Y., Moesta A.K., Xiao C., Nakamura K., Casey M., Zhang H., Madore J., Lepletier A., Aguilera A.R., Sundarrajan A., et al. Targeting CD39 in Cancer Reveals an Extracellular ATP- and Inflammasome-Driven Tumor Immunity. *Cancer Discov.* 2019;9:1754–1773. doi: 10.1158/2159-8290.CD-19-0541.

14. Mittal D., Sinha D., Barkauskas D., Young A., Kalimutho M., Stannard K., Caramia F., Haibe-Kains B., Stagg J., Khanna K.K., et al. Adenosine 2B Receptor Expression on Cancer Cells Promotes Metastasis. *Cancer Res.* 2016;76:4372–4382. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0544.
15. Moesta A.K., Li X.-Y., Smyth M.J. Targeting CD39 in Cancer. *Nat. Rev. Immunol.* 2020;20:739–755. doi: 10.1038/s41577-020-0376-4.
16. Muñóz-Godínez R., de Lourdes Mora-García M., Weiss-Steider B., Montesinos-Montesinos J.J., Del Carmen Aguilar-Lemarroy A., García-Rocha R., Hernández-Montes J., Azucena Don-López C., Ávila-Ibarra L.R., Torres-Pineda D.B., et al. Detection of CD39 and a Highly Glycosylated Isoform of Soluble CD73 in the Plasma of Patients with Cervical Cancer: Correlation with Disease Progression. *Mediat. Inflamm.* 2020;2020:1678780. doi: 10.1155/2020/1678780.
17. Nanava N., Betaneli M., Giorgobiani G., Chikovani T., and Janikashvili N., "COMPLETE BLOOD COUNT DERIVED INFLAMMATORY BIOMARKERS IN PATIENTS WITH HEMATOLOGIC MALIGNANCIES," *Georgian Med. News*, no. 302, pp. 39–44, May 2020.
18. Nagate Y, Ezoe S, Fujita J, Okuzaki D, Motooka D, Ishibashi T, Ichii M, Tanimura A, Kurashige M, Morii E, Fukushima T, Suehiro Y, Yokota T, Shibayama H, Oritani K, Kanakura Y. Ectonucleotidase CD39 is highly expressed on ATLL cells and is responsible for their immunosuppressive function. Leukemia. 2021 Jan;35(1):107-118. doi: 10.1038/s41375-020-0788-y.
19. Nagate Y, Ezoe S, Fujita J, Okuzaki D, Motooka D, Ishibashi T, Ichii M, Tanimura A, Kurashige M, Morii E, Fukushima T, Suehiro Y, Yokota T, Shibayama H, Oritani K, Kanakura Y. Ectonucleotidase CD39 is highly expressed on ATLL cells and is responsible for their immunosuppressive function. Leukemia. 2021 Jan;35(1):107-118. doi: 10.1038/s41375-020-0788-y. Epub 2020 Mar 20. PMID: 32203145; PMCID: PMC7787980
20. Pulte D, Furman RR, Broekman MJ, Drosopoulos JH, Ballard HS, Olson KE, Kizer JR, Marcus AJ. CD39 expression on T lymphocytes correlates with severity of disease in patients with chronic lymphocytic leukemia. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2011 Aug;11(4):367-72. doi: 10.1016/j.clml.2011.06.005. PMID: 21816376; PMCID: PMC3590911.
21. Shevchenko I., Mathes A., Groth C., Karakhanova S., Müller V., Utikal J., Werner J., Bazhin A.V., Umansky V. Enhanced Expression of CD39 and CD73 on T Cells in the Regulation of Anti-Tumor Immune Responses. OncoImmunology. 2020;9:1744946. doi: 10.1080/2162402X.2020.1744946.
22. Simoni Y., Becht E., Fehlings M., Loh C.Y., Koo S.-L., Teng K.W.W., Yeong J.P.S., Nahar R., Zhang T., Kared H., et al. Bystander CD8+ T Cells Are Abundant and Phenotypically Distinct in Human Tumour Infiltrates. *Nature.* 2018;557:575–579. doi: 10.1038/s41586-018-0130-2.
23. Stefaniuk P, Szymczyk A, Podhorecka M. The Neutrophil to Lymphocyte and Lymphocyte to Monocyte Ratios as New Prognostic Factors in Hematological Malignancies - A Narrative Review. Cancer Manag Res. 2020 Apr 29;12:2961-2977. doi: 10.2147/CMAR.S245928. PMID: 32425606; PMCID: PMC7196794.

24. Tan DBA, Ong NE, Zimmermann M, Price P, Moodley YP. An evaluation of CD39 as a novel immunoregulatory mechanism invoked by COPD. *Hum Immunol* (2016) 77:916–20. 10.1016/j.humimm.2016.07.007
25. Timperi E, Barnaba V. CD39 Regulation and Functions in T Cells. Int J Mol Sci. 2021 Jul 28;22(15):8068. doi: 10.3390/ijms22158068. PMID: 34360833; PMCID: PMC8348030.
26. Wang J, Gao K, Lei W, Dong L, Xuan Q, Feng M, Wang J, Ye X, Jin T, Zhang Z, Zhang Q. Lymphocyte-to-monocyte ratio is associated with prognosis of diffuse large B-cell lymphoma: correlation with CD163 positive M2 type tumor-associated macrophages, not PD-1 positive tumor-infiltrating lymphocytes. *Oncotarget.* 2017; **8**:5414–5425. doi: 10.18632 /oncotarget. 14289
27. Wilcox RA, Ristow K, Habermann TM, Inwards DJ, Micallef IN, Johnston PB. The absolute monocyte and lymphocyte prognostic score predicts survival and identifies high risk patients in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia.* 2011;**25**(9):1502–1509. doi: 10.1038/leu.2011.112.
28. Wu J., Wang Y.-C., Xu W.-H., Luo W.-J., Wan F.-N., Zhang H.-L., Ye D.-W., Qu Y.-Y., Zhu Y.-P. High Expression of CD39 Is Associated with Poor Prognosis and Immune Infiltrates in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Onco Targets Ther.* 2020;13:10453–10464. doi: 10.2147/OTT.S272553.
29. Yan J., Li X.-Y., Roman Aguilera A., Xiao C., Jacoberger-Foissac C., Nowlan B., Robson S.C., Beers C., Moesta A.K., Geetha N., et al. Control of Metastases via Myeloid CD39 and NK Cell Effector Function. *Cancer Immunol. Res.* 2020;8:356–367. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-19-0749.
30. Zhang H., Vijayan D., Li X.-Y., Robson S.C., Geetha N., Teng M.W.L., Smyth M.J. The Role of NK Cells and CD39 in the Immunological Control of Tumor Metastases. *OncoImmunology.* 2019;8:e1593809. doi: 10.1080/2162402X.2019.1593809.
31. Zhang Y, Shi Y, Shen H, Shou L, Fang Q, Zheng X, Zhu M, Huang X, Huang J, Li L, Zhou D, Zhu L, Zhu J, Ye X, Jin J, Xie W. The value of a new prognostic model developed by lymphocyte-monocyte ratio and platelet-monocyte ratio in peripheral T-cell lymphoma. Cancer Cell Int. 2021 Oct 29;21(1):573. doi: 10.1186/s12935-021-02275-2. PMID: 34715862; PMCID: PMC8555175.
32. Zhulai G, Oleinik E, Shibaev M, Ignatev K. Adenosine-Metabolizing Enzymes, Adenosine Kinase and Adenosine Deaminase, in Cancer. Biomolecules. 2022 Mar 8;12(3):418. doi: 10.3390/biom12030418. PMID: 35327609; PMCID: PMC8946555.
33. Zhulai G.A., Churov A.V., Oleinik E.K., Romanov A.A., Semakova V.M., Oleinik V.M. Activation of CD4+CD39+ T Cells in Colorectal Canser. Bull. Russ. State Med. Univ. 2018;3:47–53. doi: 10.24075/brsmu.2018.027.
34. Vaisitti T, Arruga F, Guerra G, Deaglio S. Ectonucleotidases in Blood Malignancies: A Tale of Surface Markers and Therapeutic Targets. Front Immunol. 2019 Oct 4;10:2301. doi: 10.3389/fimmu.2019.02301. PMID: 31636635; PMCID: PMC6788384.

# CD4+CD39+ cells in patients with hematologic malignancies

**Nino Nanava,[1] Sophio Metreveli,[1] Giorgi Giorgobiani,[2] Tinatin Chikovani[1] and Nona Janikashvili[1]**

[1]Tbilisi State Medical University, Department of Immunology, [2]Department of surgery

**Abstract**

Altered expression of the ectonucleotidase CD39 in T lymphocytes has been described in various immunopathologies including solid tumors. However, the information on the cells expressing this immune checkpoint molecule in patients with hematological malignancies is limited. The aim of the present study was to see the frequency of CD39+ cells in circulating and splenic CD4+ T lymphocyte populations of patients with hematological malignancies and to determine their correlation with blood biomarkers of systemic inflammation.

The study was conducted on seven patients diagnosed with hematologic malignancies, who underwent splenectomy for therapeutic reasons. Two groups of splenectomized patients were used as controls. The first control group consisted of six patients without a diagnosis of cancer or autoimmune diseases, and the second control group consisted of nine patients diagnosed with immune thrombocytopenia (ITP).

Our results revealed that the frequencies of CD4+CD39+ cells in the blood and spleen of patients with hematologic malignancies do not differ from similar values in splenectomized patients having no history of cancer or autoimmune disease. The frequency of CD4+CD39+ cells in the spleen of patients with hematologic malignancies is significantly higher than the similar rate of ITP patients. In addition, a strong negative correlation is confirmed between the frequency of CD4+CD39+ cells in the spleen of the patients of the study group and the platelets to monocytes ratio in the blood.

**Keywords:** *CD4+CD39+ T lymphocytes, Inflammatory markers, Hematologic malignancies*

Georgian Scientists

ქართველი მეცნიერები

Vol. 4 Issue 5, 2022

https://doi.org/10.52340/gs.2022.04.05.04

# TGF-β ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტებში

**ნინო ნანავა[1], სოფიო მეტრეველი[1], გიორგი გიორგობიანი[2], თინათინ ჩიქოვანი[1], ნონა ჯანიკაშვილი[1]**

[1]იმუნოლოგიის დეპარტამენტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო [2]ქირურგიის დეპარტამენტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

**აბსტრაქტი:**

**შესავალი**: TGF-β-ს ექსპრესია ხშირად იმატებს ისეთი დაავადებების დროს, როგორიც არის ავთვისებიანი პროცესი, ანთება და ფიბროზული პათოლოგია. TGF-β-ს ლიგანდი ლიმფოიდური უჯრედების განვითარების მრავალ პროცესში მონაწილეობს. TGF-β მაინჰიბირებელ სტიმულს ავლენს ღეროვანი უჯრედების წინამორბედთა დიფერენციაციასა და პროლიფერაციაში. ღეროვანი უჯრედების წინამორბედებზე TGF-β-ს რაოდენობა შეიძლება სხვადასხვა ბიოლოგიურ ეფექტს განსაზღვრავდეს. ასე მაგალითად, თუ TGF-β-ს მაღალ კონცენტრაციას ღეროვანი უჯრედების წინამორბედებზე მაინჰიბირებელი მოქმედება აქვს, დაბალ დოზებში ის შეიძლება მასტიმულირებელი გახდეს, განსაკუთრებით ღეროვანი უჯრედების წინამორბედთა იმ ჯგუფში, რომელსაც მიელოიდური უჯრედებისკენ განვითარების მაღალი ალბათობა აქვს.

წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტების პერიფერიულ სისხლში TGF-β-ს შემცველობის განსაზღვრა და მისი კორელაციის დადგენა სისტემური ანთების სისხლის ბიომარკერებთან.

**მასალა და მეთოდები**: კვლევაში ჩაერთო ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის დიაგნოზის მქონე 7 პაციენტი, რომელთაც თერაპიული ჩვენებით ჩაუტარდათ სპლენექტომია. ერთ საკონტროლო ჯგუფს წარმოადგენდა შესაბამისი ასაკის 22 ჯანმრთელი პაციენტი, მეორე საკონტროლო ჯგუფს კი 9 სპლენექტომირებული პაციენტი, სადაც სპლენექტომიის თერაპიული ჩვენების მიზეზი არ ყოფილა ავთვისებიანი სიმსივნე ან აუტოიმუნური დაავადება.

TGF-β-ს კონცენტრაცია პერიფერიულ სისხლში განისაზღვრა იმუნოფერმენტული ანალიზის საშუალებით (eBioscience, USA) მომწოდებლის ინსტრუქციის თანახმად.

პაციენტების სისხლის საერთო ანალიზიდან ვანგარიშობდით სისტემურ ანთებით მარკერებს, უჯრედების: ლეიკოციტების, ნეიტროფილების (N), ლიმფოციტების (L), თრომბოციტების (P), მონოციტების (M) და ჰემოგლობინის (H) თანაფარდობებს (R): NLR, PLR, PMR, HPR, HLR, LMR, ასევე სისტემური ანთების ინდექსს - SII და ნეიტროფილ-ლიმფოციტის ფარდობის წარმოებულს - dNLR.

**კვლევის შედეგები:** TGF-β-ს დონე ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის (ჰას) მქონე პაციენტებში სარწმუნოდ განსხვავდება შესაბამისი ასაკობრივი ჯანმრთელი კონტროლის მონაცემებისგან, მაგრამ არ განსხვავდება სპლენექტომირებული პაციენტების საკონტროლო ჯგუფის ანალოგიური მონაცემებისგან. TGF-β არ კორელირებს ჩვენს მიერ შესწავლილ სისტემური ანთების სისხლის ბიომარკერებთან.

**საძიებო სიტყვები:** *TGF-β, ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნე*

**შესავალი:**

მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორი ბეტა (TGF-β) ნორმალური ჰემოპოეზის მნიშვნელოვანი რეგულატორია. TGF-β-ს რეგულაციის დარღვევა სხვადასხვა ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის განვითარებასთან ასოცირდება. ბოლო წლებში მკურნალობის ახალი საშუალებების დანერგვის მიუხედავად, პაციენტთა დიდ ნაწილს მაინც დაავადების რეციდივი უვითარდება. ავთვისებიანი უჯრედებისთვის სიმსივნის მიკროგარემო ქმნის დამცავ ნიშას, რომელიც იცავს მათ იმუნური მოშორებისგან და სხვადასხვა თერაპიისგან. [1] სიმსივნის მიკროგარემოს შესწავლა მნიშვნელოვანია ლიმფომაგენეზის და წამლის მიმართ რეზისტენტობის განვითარების მიზეზებში გარკვევისთვის. ახალი კვლევები მოწმობს მატრანსფორმირებელ ზრდის ფაქტორ ბეტას (TGF-β) მნიშვნელოვან როლზე სოლიდური ავთვისებიანი სიმსივნეების მიკროგარემოს რემოდილირებაში. თუმცა, ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს მისი როლი ნაკლებადაა ცნობილი. [2] TGF-β-ს სასიგნალო გზა მრავალ უჯრედულ პროცესშია ჩართული, ეს პროცესებია: ზრდა, მიგრაცია, ექსტრაუჯრედული მატრიქსის რემოდილირება, ინვაზია და იმუნური სუპრესია. TGF-β-ს ექსპრესია ხშირად იმატებს ისეთი დაავადებების დროს, როგორიც არის ავთვისებიანი პროცესი, ანთება და ფიბროზული პათოლოგია. [3] TGF-β-ს ლიგანდი ლიმფოიდური უჯრედების განვითარების მრავალ პროცესში მონაწილეობს, მაგალითად უჯრედული ხაზის განსაზღვრაში და იმუნურ რეგულაციაში. TGF-β მაინჰიბირებელ სტიმულს ავლენს ღეროვანი უჯრედების წინამორბედთა დიფერენციაციასა და პროლიფერაციაში [4], [5]. TGF-β-ს რაოდენობა შეიძლება განსაზღვრავდეს სხვადასხვა ბიოლოგიურ ეფექტს ღეროვანი უჯრედების წინამორბედებზე. ასე მაგალითად, თუ TGF-β-ს მაღალ კონცენტრაციას ღეროვანი უჯრედების წინამორბედებზე მაინჰიბირებელი მოქმედება აქვს, დაბალ დოზებში ის შეიძლება მასტიმულირებელი გახდეს, განსაკუთრებით ღეროვანი უჯრედების წინამორბედთა იმ ჯგუფში, რომელსაც მიელოიდური უჯრედებისკენ განვითარების მაღალი ალბათობა აქვს[6].

მწვავე ლიკემია ჰემოპოეზური ღეროვანი უჯრედების წინამორბედიდან წარმოქმნილი ნეოპლაზიების ყველაზე აგრესიული ფორმაა. ის მოიცავს მიელოიდურ (AML) და ლიმფოიდურ (ALL) ფორმას. TGF-β-ს სასიგნალო გზის ცვლილებას, სოლიდური სიმსივნისგან განსხვავებით, არ გააჩნია ცენტრალური როლი ლეიკემიაგენეზში, თუმცა მნიშვნელოვან როლს ასრულებს გარკვეულ სიტუაციებში. [7] მწვავე მიელოიდური ლეიკემიის დროს TGF-β-ს მაინჰიბირებელი ეფექტი დაკარგულია TGF-β-ს სასიგნალო გზის სუპრესიის გამო. მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიის დროს ასევე დაკარგულია მგრძნობელობა TGF-β-ს სიგნალზე[8]. TGF-β-ს რეგულაციის დარღვევა ნანახია B უჯრედული ავთვისებიანი სიმსივნეების დროსაც, ასე მაგალითად, TGF-β-ს ექსპრესია მომატებულია ქრონიკული ლიმფოიდური ლეიკემიის (CLL), ფოლიკულური ლიმფომის (FL), ბუსუსოვანუჯრედული ლეიკემიის (HCL), მანტიის ზონის ლიმფომის (MCL) და მრავლობითი მიელომის (MM) დროს.
წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტების პერიფერიულ სისხლში TGF-β-ს შემცველობის განსაზღვრა და მისი კორელაციის დადგენა სისტემური ანთების სისხლის ბიომარკერებთან.

**მასალა და მეთოდები**:

კვლევა შესრულდა ჰელსინკის 1975 წლის დეკლარაციის მიხედვით. ეთიკურ სტანდარტებთან მისი შესაბამისობა დამტკიცდა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ეთიკური კომიტეტის მიერ. კვლევაში ჩაერთო ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის დიაგნოზის მქონე 7 პაციენტი, რომელთაც თერაპიული ჩვენებით ჩაუტარდათ სპლენექტომია. ორი საკონტროლო ჯგუფიდან ერთს (ჯგუფი 1) წარმოადგენდა ასაკით შესაბამისი ჯანმრთელი 22 ინდივიდი, რომელთაც ჩაიტარეს რუტინული ლაბორატორიული შემოწმება; მეორე ჯგუფს (ჯგუფი 2) წარმოადგენდა 9 სპლენექტომირებული პაციენტი, სადაც სპლენექტომიის თერაპიული ჩვენების მიზეზი არ ყოფილა ავთვისებიანი სიმსივნე ან აუტოიმუნური დაავადება.

**TGF-β-ს განსაზღვრა პერიფერიულ სისხლში:**

TGF-β-ს კონცენტრაცია განისაზღვრა EDTA სინჯარებში შეგროვებულ პერიფერიულ სისხლში იმუნოფერმენტული ანალიზით. ანალიზი ჩატარდა ELISA (eBioscience, USA) ნაკრების საშუალებით, მომწოდებლის ინსტრუქციის თანახმად.

**სისტემური ანთებითი მარკერების განსაზღვრა:**
პაციენტების სისხლის საერთო ანალიზიდან ვანგარიშობდით სისტემურ ანთებით მარკერებს, უჯრედების: ლეიკოციტების, ნეიტროფილების (N), ლიმფოციტების (L), თრომბოციტების (P), მონოციტების (M) და ჰემოგლობინის (H) თანაფარდობებს (R): NLR, PLR, PMR, HPR, HLR, LMR, ასევე სისტემური ანთების ინდექსს - SII და ნეიტროფილ-ლიმფოციტის ფარდობის წარმოებულს - dNLR.

ანთებითი მარკერების - NLR, PLR, PMR, HPR, HLR, LMR - გამოსათვლელად ვაფარდებდით შესაბამისი უჯრედების აბსოლუტურ რაოდენობას. მაგ NLR - ნეიტროფილების აბსოლუტური რაოდენობის ფარდობა ლიმფოციტების აბსოლუტურ რაოდენობასთან.
dNLR-ს ვითვლიდით ფორმულით:

dNLR=ნეიტროფილი/(ლეიკოციტი-ნეიტროფილი);

SII-ის გამოსათვლელად გამოვიყენეთ ფორმულა:

SII=ნეიტროფილი x თრომბოციტი/ლიმფოციტი.

**მასალის სტატისტიკური დამუშავება**

მონაცემები მოცემულია საშუალო მაჩვენებლებისა და სტანდარტული გადახრის სახით. მონაცემთა შორის მნიშვნელოვანი განსხვავების სანახავად გამოყენებული იყო არაპარამეტრული მან-ვიტნის U ტესტი (Mann Whitney test). სხვადასხვა პარამეტრებს შორის კორელაციის სანახავად გამოვიყენეთ სპირმანის ტესტი. მონაცემები დამუშავდა GraphPad და SPSS პროგრამებში.

**მიღებული შედეგები და განხილვა**:

როგორც ცხრილი 1-დან ჩანს, TGF-β-ს დონე ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის (ჰას) მქონე პაციენტებში სარწმუნოდ განსხვავდება შესაბამისი ასაკობრივი ჯანმრთელი კონტროლის (ჯგუფი 1) მონაცემებისგან (ჰას - 20.8±26.8, ჯგუფი 1 – 82.0±32.0; P=0.005), მაგრამ არ განსხვავდება სპლენექტომირებული (ჯგუფი 2) კონტროლისგან (ჯგუფი 2 - 26.5±19.8).

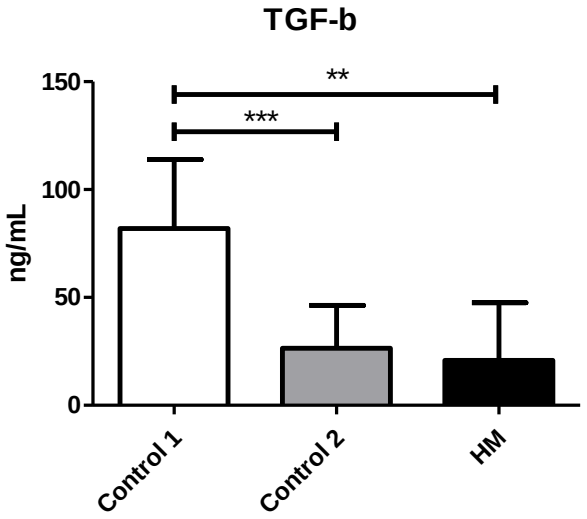
**ცხრილი 1. TGF-β-ს დონე ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტებში და საკონტროლო ჯგუფის პაციენტებში**

| | ჰას | ჯანმრთელი კონტროლი (ჯგუფი 1) | სპლენექტომირებული კონტროლი (ჯგუფი 2) | P ჯგუფი 1/ჰას | P ჯგუფი 1/ჯგუფი 2 |
|---|---|---|---|---|---|
| **TGF-β** | 20.8±26.8 | 82.0±32.0 | 26.5±19.8 | 0.0050 | 0.0007 |

ჰას = ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტები
განსხვავება სტატისტიკურად სარწმუნოა, თუ $p<0.05$

ასევე, ერთმანეთისგან სტატისტიკურად სარწმუნოდ განსხვავებულია საკონტროლო ჯგუფების მონაცემები (ჯგუფი 1 – 82.0±32.0, ჯგუფი 2 - 26.5±19.8; P=0.0007), იხ. სურათი.

**სურათი. TGF-β-ს დონე საკონტროლო ჯგუფებსა და ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტებში**




** - გამოხატავს სარწმუნო განსხვავებას, როდესაც P ≤ 0.01.

*** - გამოხატავს სარწმუნო განსხვავებას, როდესაც P ≤ 0.001.

**Control 1** - ასაკით შესაბამისი ჯანმრთელი კონტროლი

**Control 2** - სპლენექტომირებული კონტროლი

**HM** - ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტები

ცხრილი 2-ში მოცემულია TGF-β-ს კორელაცია სისხლის ანთებად ბიომარკერებთან (NLR, PLR, PMR, HLR, SII, LMR, HPR, dNLR). როგორც ცხრილიდან ჩანს, TGF-β არც ერთ მარკერთან არ კორელირებს (P>0.05).

**ცხრილი 2. ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტებში TGF-β დონის კორელაცია სისტემური ანთების სისხლის ბიომარკერებთან**

| ცვლადები | | NLR | PLR | PMR | HLR | SII | LMR | HPR | dNLR |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| TGF-β | კორელაციის კოეფიციენტი | .800 | .400 | .400 | 0.000 | .400 | 0.000 | 0.000 | .400 |
| | სარწმუნოება (2-კუდიანი) | .200 | .600 | .600 | 1.000 | .600 | 1.000 | 1.000 | .600 |

კორელაცია მნიშვნელოვანია 0.05 დონეზე (2-კუდიანი)

TGF-β-ს სასიგნალო გზა კომპლექსური ქსელია. ის აერთიანებს ლიგანდს, რეცეპტორს და უჯრედშიდა სიგნალებს. ამ სასიგნალო გზას საბოლოოდ განსხვავებული ეფექტი შეიძლება ჰქონდეს იმის მიხედვით, თუ რა უჯრედზე მოქმედებს და დიფერენციაციის რა სტატუსი აქვს უჯრედს. მასზე გავლენა შეიძლება ჰქონდეს ასევე სხვა სასიგნალო გზებსაც. TGF-β მნიშვნელოვან მარეგულირებელ როლს ასრულებს ჰემატოლოგიურ ჰომეოსტაზში. ეს როლი უმეტესად მაინჰიბირებელია და მნიშვნელოვანია ძვლის ტვინის თვითგანახლებადი უნარის შესანარჩუნებლად. TGF-β პათოლოგიურ პროცესებშიც არის ჩართული, მაგალითად, მიელოიდური ნეოპლაზიების დროს TGF-β შესაძლოა ინაქტივირდეს, რითიც ხელს უწყობს სიმსივნური უჯრედების რეპლიკაციას, ან გაძლიერდეს მისი ფუნქცია, რითაც ხელს შეუწყობს არალეიკემიურ უჯრედებში მაინჰიბირებელი მიკროგარემოს შენარჩუნებას. TGF-β-ს კომპლექსური სასიგნალო გზა, სხვა სასიგნალო გზებისგან განსხვავებით, ჰემატოლოგიური ავთვისებიანი სიმსივნეების დროს ჯერ კიდევ არ არის კარგად აღწერილი. თუმცა, მზარდია მის მიმართ ინტერესი, რადგან ის პოტენციურ თერაპიულ სამიზნედ მიიჩნევა.[8]

იმუნური სისტემის გამართული მუშაობა მუდმივ რეგულაციას მოითხოვს, რაც უზრუნველყოფს უცხო აგენტებისგან დაცვას და, ამავდროულად, საკუთარის მიმართ ტოლერანტობას. ამ კრიტიკულად მნიშვნელოვანი ბალანსის შენარჩუნებაში სხვადასხვა მარეგულირებელი კომპონენტი მონაწილეობს, მაგალითად მარეგულირებელი T (Treg) უჯრედი, რომელიც იმუნური ეფექტორული უჯრედების ექსპანსიას ზღუდავს; მარეგულირებელი მოლეკულები (CTLA-4 და PD-1), რომელიც ანტიგენ-რეცეპტორის სიგნალს აბალანსებს და იმუნუმასუპრესირებელი ციტოკინები [9] რომელთაგან ყველაზე გამოხატული მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორი ბეტაა.

TGF-β ბევრი იმუნური უჯრედის წარმოქმნას და მის ეფექტორულ ფუნქციას არეგულირებს.[10], [11] ის ადაპტაციური იმუნური სისტემის კონტროლს Treg უჯრედების ექსპანსიის გაზრდით, ხოლო ეფექტორული T-უჯრედების და ანტიგენწარმდგენი დენდრიტული უჯრედების წარმოქმნისა და ფუნქციის ინჰიბიციით უზრუნველყოფს. TGF-β ანალოგიურად აკონტროლებს თანდაყოლილ იმუნურ სისტემასაც, ის აინჰიბირებს ბუნებრივ მკვლელ უჯრედებს (NK) და არეგულირებს მაკროფაგებისა და ნეიტროფილების კომპლექსურ ქცევას.[12] აღსანიშნავია, რომ TGF-β-ს სიმსივნის მასუპრესირებელი ძლერი ეფექტი აქვს, სიმსივნის წინამორბედი უჯრედების აპოპტოზის გზით, ასევე კარცინომული უჯრედების პროლიფერაციის ინჰიბიციით, თუმცა სიმსივნურ უჯრედულ კლონებს, შეუძლიათ TGF-β-ს სასიგანლო გზის ინაქტივაცია და სიმსივნის მასუპრესირებელი ეფექტის ცვლილება, რის შედეგადაც სიმსივნური უჯრედები TGF-β-ს სიმსივნის პროგრესირებისთვის იყენებენ. ასეთ შეცვლილ კონტექსტში სიმსივნე წარმოებულ TGF-β-ს შეუძლია წარმოქმნას სიმსივნოგენური და პრომეტასტაზური პასუხი როგორც სიმსივნურ უჯრედებში, ასევე სტრომაში. ეს უზრუნველყოფს იმუნომასუპრესირებელი გარემოს ჩამოყალიბებას.[13], [14]

## გამოყენებული ლიტერატურა:


[1] M. B. Meads, R. A. Gatenby, and W. S. Dalton, "Environment-mediated drug resistance: a major contributor to minimal residual disease," *Nat. Rev. Cancer*, vol. 9, no. 9, pp. 665–674, Sep. 2009, doi: 10.1038/NRC2714.

[2] A. L. Grauel *et al.*, "TGFβ-blockade uncovers stromal plasticity in tumors by revealing the existence of a subset of interferon-licensed fibroblasts," *Nat. Commun.*, vol. 11, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/S41467-020-19920-5.

[3] M. A. Timmins and I. Ringshausen, "Transforming Growth Factor-Beta Orchestrates Tumour and Bystander Cells in B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma," *Cancers (Basel).*, vol. 14, no. 7, Apr. 2022, doi: 10.3390/CANCERS14071772.

[4] S. S. Söderberg, G. Karlsson, and S. Karlsson, "Complex and Context Dependent Regulation of Hematopoiesis by TGF-β Superfamily Signaling," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1176, no. 1, pp. 55–69, Sep. 2009, doi: 10.1111/J.1749-6632.2009.04569.X.

[5] A. Hinge and M. D. Filippi, "Deconstructing the Complexity of TGFβ Signaling in Hematopoietic Stem Cells: Quiescence and Beyond," *Curr. Stem Cell Reports*, vol. 2, no. 4, pp. 388–397, Dec. 2016, doi: 10.1007/S40778-016-0069-X/FIGURES/3.

[6] G. A. Challen, N. C. Boles, S. M. Chambers, and M. A. Goodell, "Distinct Hematopoietic Stem Cell Subtypes Are Differentially Regulated by TGF-β1," *Cell Stem Cell*, vol. 6, no. 3, pp. 265–278, Mar. 2010, doi: 10.1016/j.stem.2010.02.002.

[7] S. J. Kim and J. Lettirio, "Transforming growth factor-β signaling in normal and malignant hematopoiesis," *Leuk. 2003 179*, vol. 17, no. 9, pp. 1731–1737, Sep. 2003, doi: 10.1038/sj.leu.2403069.

[8] A. Bataller, G. Montalban-Bravo, K. A. Soltysiak, and G. Garcia-Manero, "The role of TGFβ in hematopoiesis and myeloid disorders," *Leuk. 2019 335*, vol. 33, no. 5, pp. 1076–1089, Feb. 2019, doi: 10.1038/s41375-019-0420-1.

[9] M. O. Li and R. A. Flavell, "Contextual Regulation of Inflammation: A Duet by Transforming Growth Factor-β and Interleukin-10," *Immunity*, vol. 28, no. 4, pp. 468–476, Apr. 2008, doi: 10.1016/j.immuni.2008.03.003.

[10] S. Sanjabi, S. A. Oh, and M. O. Li, "Regulation of the Immune Response by TGF-β: From Conception to Autoimmunity and Infection," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 9, no. 6, p. a022236, Jun. 2017, doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A022236.

[11] R. A. Flavell, S. Sanjabi, S. H. Wrzesinski, and P. Licona-Limón, "The polarization of immune cells in the tumour environment by TGFβ," *Nat. Rev. Immunol. 2010 108*, vol. 10, no. 8, pp. 554–567, Jul. 2010, doi: 10.1038/nri2808.

[12] E. Batlle and J. Massagué, "Transforming Growth Factor-β Signaling in Immunity and Cancer," *Immunity*, vol. 50, no. 4, pp. 924–940, Apr. 2019, doi: 10.1016/J.IMMUNI.2019.03.024.

[13] C. J. David and J. Massagué, "Contextual determinants of TGFβ action in development, immunity and cancer," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 19, no. 7, pp. 419–435, Jul. 2018, doi:

10.1038/S41580-018-0007-0.
[14] M. W. Pickup, P. Owens, and H. L. Moses, "TGF-β, Bone Morphogenetic Protein, and Activin Signaling and the Tumor Microenvironment," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 9, no. 5, May 2017, doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A022285.

## TGF-β in patients with hematologic malignancies

**Nino Nanava,[1] Sophio Metreveli,[1] Giorgi Giorgobiani,[2] Tinatin Chikovani[1] and Nona Janikashvili[1]**
[1]Tbilisi State Medical University, Department of Immunology, [2]Department of surgery

**Abstract:**

**Introduction:** TGF-β expression is often increased in diseases such as malignancy, inflammation and fibrotic pathology. TGF-β ligand is involved in many processes of lymphoid cell development. TGF-β exerts an inhibitory stimulus on the differentiation and proliferation of stem cell progenitors. The amount of TGF-β on stem cell progenitors can determine various biological effects. For instance, if high concentrations of TGF-β have an inhibitory effect on stem cell progenitors, at low doses it can become stimulatory, especially in that group of stem cell progenitors that have a high probability of developing into myeloid cells.
The aim of the study was to determine the level of TGF-β in the peripheral blood of patients with hematologic malignancies and to see its correlation with blood biomarkers of systemic inflammation.
**Materials and methods:** 7 patients diagnosed with hematologic malignancy, who underwent splenectomy with therapeutic indications, were included in the study. One control group consisted of 22 healthy age-matched individuals, and the other control group consisted of 9 splenectomized patients, where the reason of splenectomy was not cancer or autoimmune disease.
TGF-β concentration in peripheral blood was determined by enzyme immunoassay (eBioscience, USA) according to the supplier's instructions.
From the complete blood count of the patients, we calculated systemic inflammatory markers, cell: leukocytes, neutrophils (N), lymphocytes (L), platelets (P), monocytes (M) and hemoglobin (H) ratios (R): NLR, PLR, PMR, HPR, HLR, LMR, as well as systemic immune-inflammation index - SII and derived neutrophil-lymphocyte ratio - dNLR.
**Results:** TGF-β levels in patients with hematologic malignancies (HM) are significantly different from those of age-matched healthy controls, but not different from those of a similar control group of splenectomized patients. TGF-β did not correlate with the blood biomarkers of systemic inflammation we studied.

**Keywords:** *TGF-β, Hematologic malignancies*