

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის

სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ნინო ახვლედიანი

ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინის სპეციფიურობის ბუნებრივი

ანტისხეულების შესწავლა საკვერცხის კეთილთვისებიანი და

ავთვისებიანი სიმსივნეების მქონე ავადმყოფებში.

სამაგისტრო პროგრამა ბიოლოგია

ნაშრომი შესრულებულია ბიოლოგიის მაგისტრის აკადემიური

ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები:

პროფესორი ნინა ფორაქიშვილი

ბ.მ.დ. ნინო ჭიკაძე

თბილისი

2019 წ.

სარჩევი

სარჩევი.....	2
ანოტაცია.....	3
შესავალი.....	7
თავი 1. ლიტერატურის მიმოხილვა.....	11
1.1 ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინი.....	11
1.1.1..აქგ-ს სტრუქტურა და მსგავსება სხვა გლიკოპროტეინულ ჰორმონებთან.....	11
1.1.2 აქგ-ს ფიზიოლოგიური ფუნქცია.....	13
1.1.3 აქგ-ს მსგავსება ზრდის ფაქტორებთან და მისი ექსპრესია სიმსივნურ უჯრედებში...14	
1.1.4 აქგ-ს სხვა ფორმები.....	15
ჰიპერგლიკოზირებული აქგ	
დაზიანებული აქგ	
თავისუფალი აქგ α	
თავისუფალი აქგ β	
1.1.5 აქგ, როგორც საკვერცხის ბიომარკერი.....	16
1.2. აქგ-ს სპეციფიურობის ბუნებრივი ანტისხეულები.....	17
თავი 2. კვლევის მასალა და მეთოდები.....	19
2.1 ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინის და მისი სუბერთეულების სპეციფიურობის ბუნებრივი ანტისხეულების აღმოჩენა და დახასიათება საკვერცხის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნეების მქონე ქალებში.....	20
2.2. IgG-ის ქვეკლასების განსაზღვრა	22
2.3. შედეგების სტრუქტურული დამუშავება.....	22
3 . თავი3. კვლევის შედეგები და მათი განხილვა.....	23
3.1 აქგ-ს და მისი სუბერთეულების სპეციფიურობის ბუნებრივი ანტისხეულების შესასწავლად.....	23
3.2 აქგ-ს და მისი სუბერთეულების სპეციფიურობის ბუნებრივი IgG აუტოანტისხეულების ქვეკლასების განაწილების განსაზღვრა	34
დასკვნები.....	37
გამოყენებული ლიტერატურა.....	38

ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინის სპეციფიურობის ბუნებრივი ანტისხეულების შესწავლა საკვერცხის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნეების მქონე ავადმყოფებში.

ანოტაცია

წინაპირობა: საკვერცხის სიმსივნეების აღმოჩენა ხდება რეპროდუქციულ ასაკში ან მენოპაუზის შემდგომ და კლასიფიცირდება როგორც კეთილთვისებიანი, ავთვისებიანი და მომიჯნავე ფორმა. აღმოჩნდა, რომ საკვერცხის ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე 2-ჯერ მეტ პაციენტს აქვს ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინის (აქგ) მომატებული დონე კეთილთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტებთან შედარებით. წინა კვლევებით კი ნაჩვენებია, რომ საკვერცხის კეთილთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტთა შრატში არის ანტი-აქგ IgG აუტოანტისხეულების გარკვეული დონე.

წარმოდგენილი კვლევის მიზანია ადამიანის ქორიონულ გონადოტროპინთან და მის სუბერთეულებთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი IgG და IgM კლასის აუტოანტისხეულების აღმოჩენა, მათი ტიტრების და ქვეკლასების განაწილების განსაზღვრა საკვერცხის კისტის და საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.

კვლევის მასალა და მეთოდები: შესწავლილია 37 პაციენტის სისხლის შრატი: (22დან-61 წლამდე, ეთიკური კომისიის ნებართვის და პაციენტებისგან ინფორმირებული თანხმობის მიღების შემდგომ) საკვერცხის კისტის მქონე 17 პაციენტის, საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე 10 პაციენტის და შესაბამისი სქესისა და ასაკის, კლინიკურად ჯანმრთელი 10 დონორის სისხლის შრატი. შრატების ტიტრირება მოხდა არაპირდაპირი იმუნოფერმენტული ანალიზით -ELISA. ანტიგენებად გამოყენებულია აქგა β , აქგ β , აქგ α , აქგ β -ს კარბოქსი ტერმინალური დაბოლოვება (აქგ β კტ β) და აქგ β ცენტრალური ფრაგმენტი (აქგ β ცფ). IgG-ის ქვეკლასების აღმოჩენისთვის პლეიტებზე დაგვქონდა ზემოთ ჩამოთვლილი ანტიგენები. ოპტიმალური განზავების შრატის დამატების შემდეგ (50%) ვამატებდით 1მკგ/მლ IgG -ის სხვადასხვა ქვეკლასების სპეციფიურობის მეორად ანტისხეულებს, პირშუშხა პეროქსიდაზით მონიშნულ ბოცვრის, ანტი-ადამიანის IgG1, IgG2, IgG3 და IgG4-ს. შედეგების წაკითხვა ხდებოდა სპექტროფოტომეტრ სელექტა -თი, 450ნმ ტალღის სიგრძეზე.

შედეგები: კვლევაში გამოყენებული ყველა ანტიგენის საწინააღმდეგო IgM ანტისხეულების ტიტრი საკვერცხის კისტის და ადენოკარცინომას მქონე პაციენტებში არ განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფისგან. თუმცა, საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტთა უმრავლესობას სისხლის შრატში აღმოაჩნდა საკვლევი ანტიგენების საწინააღმდეგო IgG ანტისხეულების საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით სარწმუნოდ უფრო მაღალი დონე. ბუნებრივი აქგაβ-ის სპეციფიურობის IgG კლასის აუტოანტისხეულები აღმოჩენილია შემთხვევათა 76%-ში ($p < 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1:50 განზავებისას = 0.485 ± 0.215655), აქგβ-ს სპეციფიურობის 65% -ში ($p = 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1:50 განზავებისას = 0.519318 ± 0.262135), აქგა-ს 82% -ში ($p < 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1: 50 განზავებისას = 0.505 ± 0.232288), აქგკტპ-ს 71% -ში ($p < 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1:50 განზავებისას = 0.635208 ± 0.36324), აქგცფ-ის სპეციფიურობის 82%-ში ($p < 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1:50 განზავებისას = 0.36389 ± 0.10847). გარდა ამისა 5 პაციენტის შრატი უკავშირდებოდა კვლევაში გამოყენებულ ყველა ანტიგენს. ადენოკარცინომას მქონე პაციენტთა შრატი კი, პირიქით, არ შეიცავდა კვლევაში გამოყენებული არცერთი ანტიგენის სპეციფიურობის, IgG კლასის, აუტოანტისხეულების მომატებულ ტიტრს საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით.

საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტების შრატში ჩვენს მიერ აღმოჩენილი IgG კლასის ანტისხეულების ქვეკლასების კვლევამ გვიჩვენა, რომ ყველა გამოყენებული ანტიგენის საწინააღმდეგო აუტოანტისხეულების უმეტესობა მიეკუთვნება IgG2 ქვეკლასს .

დასკვნა: ჩვენი მონაცემებით, საკვერცხის კეთილთვისებიანი (და არა ავთვისებიანი) სიმსივნის მქონე პაციენტთა შრატი შეიცავს ბუნებრივი IgG კლასის ანტისხეულების მომატებულ დონეს, ძირითადად IgG2 ქვეკლასის, რომლებიც უკავშირდებიან აქგ-ს და /ან მის სუბერთეულებს , რაც შესაძლოა მეტყველებდეს ამ ანტისხეულების დამცველობით როლზე. შემდგომმა კვლევებმა შეიძლება მიგვიყვანოს კიბოს პრევენციის და მკურნალობის ახალ მეთოდებამდე, რომელთა სამიზნეც შერჩევითად აქგ ან/და მისი სუბერთეულები იქნება.

Study on Naturally Occurring Antibodies to Human Chorionic Gonadotropin in Patients with Benign and Malignant Ovarian Tumors

Background: Ovarian tumours occur during the reproductive age or after menopause and can be subdivided into benign, borderline or malignant. Twice as many patients with malignant ovarian tumours were found to be seropositive for human chorionic gonadotropin (hCG) as compared to benign tumors. It has been demonstrated high titres of natural anti-hCG IgG antibodies in the sera of patients with benign ovarian tumours.

In this study we further characterize the titres and subclass usage of naturally-occurring IgM and IgG antibodies against hCG and its subunits in patients with ovarian cyst and ovarian adenocarcinoma

Materials and Methods: Titration of blood sera from 37 female patients (aged 22-61 after ethical permission and informed consent) diagnosed with ovarian cyst (n=17), ovarian adenocarcinoma (n=10) and healthy age-matched controls (n=10) was performed using indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Binding of the sera to the following antigens was tested: hCG $\alpha\beta$, hCG β , hCG α , hCG β C-terminal peptide (hCG β CTP) and hCG β core fragment (hCG β CF). For identification of IgG-subclasses the plates were coated with the antigens mentioned above. Following the application of an optimal serum dilution, defined as the 50% titre, rabbit –horseradish peroxidase (HRP) conjugated antibody (Sigma, USA) to human IgG subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4) were added at a concentration 1 μ g/ml. The plates were read at the optical density (OD) 450 nm in a spectrophotometer (Selecta, Spain).

Results: There were no changes in the IgM antibody titers against all tested antigens in patients with ovarian cyst or adenocarcinoma, compared to normal controls. However, sera of the majority of patients with ovarian cyst contained significantly higher levels of IgG antibodies binding to the tested antigens, compared to normal controls: natural IgG antibodies to hCG $\alpha\beta$ heterodimer were detected in 76% of cases (p<0.0001, mean OD at 1:50 dilution = 0.485 \pm 0.215655) , to hCG β in 65% of cases (p=0.0001, mean OD at 1:50 dilution = 0.519318 \pm 0.262135), to hCG α in 82% of cases (p<0.0001, mean OD at 1: 50 dilution=0.505 \pm 0.232288), to hCG β CTP in 71% of cases (p<0.0001, mean OD at 1:50 dilution =

0.635208 \pm 0.36324), to hCG β CF in 82% of cases ($p < 0.0001$, OD at 1:50 dilution = 0.36389 \pm 0.10847). Out of these, sera of 5 patients was binding to all tested antigens. In contrast, sera of patients with ovarian adenocarcinoma, did not contain appreciable titres of IgG to any of the tested antigens above the control levels. Study of subclass usage of autoantibodies we have detected in ovarian cyst patients revealed that the majority of these autoantibodies, to all tested antigens predominantly belong to the IgG2 subclass

Conclusions: Our data demonstrated that sera of patients with benign, but not malignant ovarian tumours contains elevated levels of naturally-occurring IgG antibodies, especially of IgG2 subclass, which bind to hCG and/or its subunits which suggests possible protective role of these antibodies. Further studies may lead to the development of the novel tumour prevention and treatment strategies that selectively target hCG and/or its subunits.

შესავალი

თემის აქტუალობა

საკვერცხის კიბო სიხშირით მე-5 ადგილზეა ქალთა სიკვდილიანობის მიზეზთა შორის. დიაგნოსტიკის ამჟამინდელი მეთოდები მოიცავს სისხლში ონკომარკერების განსაზღვრას და საკვერცხეების ულტრაბგერით მონიტორინგს. ონკომარკერად ყველაზე ხშირად გამოიყენება CA125, თუმცა მას დაბალი მგრძობელობა აქვს ადრეული სტადიის დროს. I და II სტადიისას მხოლოდ 50%-ში იმატებს CA125-ის დონე [36]. ასევე მასთან კომბინაციაში საზღვრავენ CA115-ს, CA72-4-ს, CA15-3-ს, რაც ზრდის ამ ტესტების ჯამურ სენსიტიურობას, თუმცა მაინც ვერ აღწევს სასურველ პროცენტს. [37]

სიმსივნური ანტიგენების უმეტესობა ცირკულირებს ამ დაავადების მქონეთა სისხლში და MHC II კლასის მოლეკულებთან ერთად წარუდგება იმუნურ უჯრედებს, რასაც თან მოჰყვება სიმსივნური ანტიგენის საწინააღმდეგო ანტისხეულების წარმოქმნა [38,39,40]. ამ ანტისხეულების განსაზღვრა შესაძლოა იყოს უფრო მგრძობიარე ონკომარკერი ვიდრე ანტიგენების განსაზღვრა, რადგან ანტისხეულები უფრო სტაბილურებია, ანტიგენებთან შედარებით. მაგალითად CEA, CA19-9 და AFP ს ნახევარდაშლის პერიოდი 1,5 დღეა და S100B პროტეინის კი, პაციენტებში მელანომას დიაგნოზით, 30 წუთი [41,42]. გარდა ანტისხეულების უფრო ხანგრძლივი ნახევარდაშლის პერიოდისა, მათი უპირატესობა ონკომარკერის როლში ასევე განპირობებულია, იმით რომ ისინი სინთეზირდებიან ბევრად უფრო დიდი რაოდენობით ვიდრე თვითონ ანტიგენები და შესაბამისად მცირე ზომის წარმონაქმნის არსებობისას ანტისხეულები უფრო მარტივი აღმოსაჩენია. მაგალითად ანტი-p53 ანტისხეულები რემოდენიმე თვით ან წლით ადრე ჩნდება სისხლში კიბოს კლინიკურ დიაგნოსტიკებამდე [43].

ანტისხეულების მეშვეობით შესაძლებელია მოხერხდეს :

- 1) ადრეული დიაგნოსტიკა;
- 2) პროგნოზის განსაზღვრა;
- 3) რეციდივის ალბათობის განსაზღვრა;
- 4) კიბოს საწინააღმდეგო თერაპიული ღონისძიებების სრულყოფა , იმუნოთერაპიის დახმარებით.

სიმსივნური ანტიგენის სპეციფიურობის ბუნებრივი აუტოანტისხეულები პირველად აღმოაჩინა კრაუფორდმა 1982 წელს. ეს იყო აუტოანტისხეულები p53-ის მიმართ მკერდის კიბოთი დაავადებულებში, თუმცა კვლევის შედეგად დადგინდა რომ მხოლოდ შემთხვევათა 6 %-ში იმატებდა მისი დონე [44].

კვლევით დადასტურდა, რომ საკვერცხის ადენოკარცინომის დროს ანტი-p53 აღმოჩნდა I-II სტადიის მქონე პაციენტთა 10%-ში და 26,8 %-ში III-IV სტადიისას. ასევე დადგინდა რომ ეს ანტისხეულები არ ვლინდება კარგად დიფერენცირებული სიმსივნეებისას, გვიან სტადიაზეც კი. ასევე არ ვლინდება ანტი-p53 კეთილთვისებიანი წარმონაქმნის არსებობისას. შესაბამისად, მისი აღმოჩენა წარმოადგენს ცუდ პროგნოზულ მარკერს და უნდა დაიგეგმოს აგრესიული ქიმიოთერაპია [45,46].

გარდა ანტი-p53 სა, ონკომარკერის როლში საკვერცხის ადენოკარცინომას დროს შესაძლოა მოგვევლინოს: ანტისხეულები სითბური შოკის ცილა-90ის საწინააღმდეგოდ, HoXB7 პროტეინის სპეციფიურობის ანტისხეულები, STIP-1 ცილის საწინააღმდეგო (stress induced phosphoprotein-1), ანტი-IL8. ამ უკანასკნელს ადრეულ სტადიაზე ახასიათებს 98%-იანი სპეციფიურობა და 68% მგრძნობელობა [47,48,49].

ჩვენ დავინტერესდით ბუნებრივი აუტოანტისხეულების შესწავლით სიმსივნის ზრდის ფაქტორი - ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინის მიმართ საკვერცხის სხვადასხვა ტიპის სიმსივნით დაავადებულებში

კვლევის ძირითადი მიზანი და ამოცანები

წარმოდგენილი კვლევის მიზანია სიმსივნის ზრდის ფაქტორ ადამიანის ქორიონულ გონადოტროპინთან (აქგ) და მის სუბერთეულებთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი აუტოანტისხეულების აღმოჩენა საკვერცხის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნის მქონე პაციენტებში და ამ აუტოანტისხეულების ქვეკლასების შესწავლა.

ამ მიზნით დავსახეთ შემდეგი **ამოცანები**:

1. IgM იზოტიპის ანტი-აქგ α , ანტი-აქგ β , ანტი-აქგ α , ანტი-აქგ β კარბოქსი-ტერმინალური პეპტიდი (აქგ β კტპ) და ანტიაქგ β ცენტრალური ფრაგმენტი (ანტიაქგ β ცფ) ბუნებრივი აუტოანტისხეულების ტიტრის შეფასება საკვერცხის კისტისა და საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებსა და მოხალისე, ჯანმრთელ ქალებში.

2. IgG იზოტიპის ანტი-აქგაფ , ანტი-აქგბ, ანტი-აქგა, ანტი-აქგკტპ და ანტიაქგცფ ბუნებრივი აუტოანტისხეულების ტიტრის შეფასება საკვერცხის კისტისა და საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში და მოხალისე, ჯანმრთელ ქალებში.
3. აღმოჩენილი IgG იზოტიპის ანტი-აქგაფ, ანტი-აქგბ, ანტი-აქგა, ანტი-აქგკტპ და ანტიაქგცფ აუტოანტისხეულების ქვეკლასების განსაზღვრა;

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე

საკვერცხის სიმსივნეები XXI საუკუნეში კვლავ ქალთა მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს, საკვერცხის კიბო, ქალთა სიკვდილიანობის მიზეზთა შორის მე-5 ადგილზეა. აღნიშნულიდან გამომდინარე აუცილებელი ხდება დიაგნოსტიკის ახალი მეთოდების შემუშავება და უკვე არსებული მეთოდების დახვეწა.

წარმოდგენილი კვლევა ითვალისწინებს აქგ-ს და მისი სუბერთეულების საწინააღმდეგო ბუნებრივი აუტოანტისხეულების შესწავლას და მათი დამცავი როლის მნიშვნელობის გამოკვლევას სიმსივნის განვითარების დროს, ბუნებრივი აუტოანტისხეულების შესწავლა მნიშვნელოვან ნაწილს წარმოადგენს ასევე ქალთა რეპროდუქციული სისტემის დაავადებების საწინააღმდეგო ვაქცინაციის შექმნისა და დახვეწის პროცესში. ზოგიერთი გინეკოლოგიური სიმსივნის პრევენციისთვის უკვე არსებობს ვაქცინები, მაგალითად: საშვილოსნოს ყელის კიბოს, ვაგინალური და ვულვის კიბოს დროს. ვაქცინაცია რეკომენდირებულია ჩაუტარდეს 11-დან 13-წლამდე მოზარდებს. აქგ-ს საწინააღმდეგო ანტისხეულების შესწავლამ ჩვენი კვლევის ფარგლებში შესაძლოა მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანოს სწორედ ამ მიმართულებით.

ჩატარებული კვლევა წარმოადგენს უფრო ფართომასშტაბიანი პროექტის დასაწყისს, რომლის განხორციელებითაც ვფიქრობთ, ხელი შეეწყობა იმუნოტექნოლოგიებისა და მოლეკულური ბიოლოგიის ტექნოლოგიების შესაძლებლობების გაფართოებას თსუ-ში. კვლევის საბოლოო შედეგები ფართოდ იქნება წარდგენილი სხვადასხვა სამედიცინო დაწესებულებების შესაბამისი განყოფილებების მედპერსონალთან, მოსალოდნელია პრაქტიკული რეკომენდაციების მომზადება ონკოგინეკოლოგიებისათვის.

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება მომავალში შესაძლოა აქგ-სა და მის სუბერთეულებთან დაკავშირების უნარის მქონე ანტისხეულების განსაზღვრა გახდეს დიაგნოსტიკური ტესტი, რომლის საშუალებითაც მოხდება დიფერენციალური დიაგნოზის გატარება საკვერცხის ავთვისებიან და კეთილთვისებიან სიმსივნეებს შორის. ასევე, ადრეული დიაგნოსტიკა და შემდგომი კვლევების საფუძველზე შესაძლოა შემუშავდეს კიბოს პრევენციის და მკურნალობის ახალი მეთოდები, რომელთა სამიზნეც შერჩევითად აქგ ან/და მისი სუბერთეულები იქნება.

სამაგისტრო ნაშრომის მოცულობა და სტრუქტურა. სამაგისტრო ნაშრომი მოიცავს: შესავალს, კვლევის მასალებსა და მეთოდებს, ექსპერიმენტულ ნაწილს, შედეგების განხილვას, დასკვნებს, ლიტერატურულ მიმოხილვას და გამოყენებული ლიტერატურის სიას. სამაგისტრო ნაშრომი ილუსტრირებულია 1 სურათით და 15 დიაგრამით.

თავი 1

ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინი

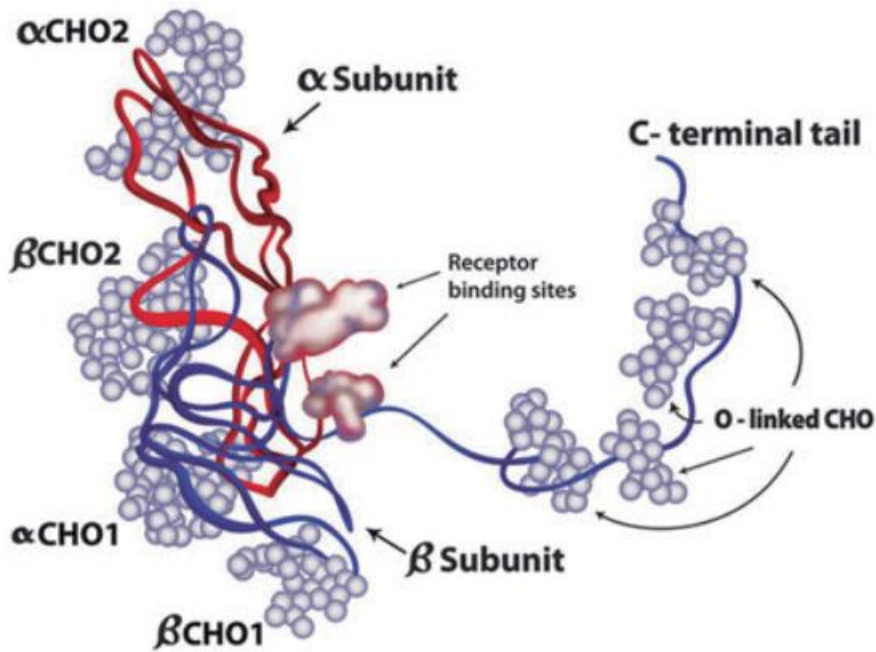
1.1.1 აქგ-ს სტრუქტურა და მსგავსება სხვა გლიკოპროტეინულ ჰორმონებთან.

ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინი გლიკოპროტეინია, რომელიც შედგება 237 ამინომჟავისგან, რომლის მოლეკულური წონა 36,7 კდალტონია. ის წარმოადგენს ჰეტეროდიმერს, რომელიც შედგება ალფა და ბეტა ჯაჭვებისგან [1]. ალფა ჯაჭვი შედგება 92 ამინომჟავისგან, ბეტა ჯაჭვი კი 145 ამინომჟავის ნაშთისგან, რომელიც კოდირებულია 6 ჰომოლოგიური გენით (ლოკალიზებული მე19 ქრომოსომაზე). ალფა ჯაჭვი იდენტურია მალუთეინიზირებული ჰორმონის (მლჰ), ფოლიკულ-მასტიმულ-ირებული ჰორმონის (ფმჰ) და თირეოიდ-მასტიმულირებული ჰორმონის (თმჰ) ალფა ჯაჭვების. აქგ-ს β ჯაჭვის პირველი 114 ამინომჟავა ავლენს 85%-იან ჰომოლოგიას მლჰ-ს, 46% თმჰ-ს და 36%-ს ფმჰ-ს ბეტა ჯაჭვთან [2,3]. აქგβ-ჯაჭვის დარჩენილი კარბოქსი-ტერმინალური ამინომჟავები უნიკალურია აქგ-სთვის და განიხილება როგორც c-(კარბოქსი) ტერმინალური პეპტიდი (კტპ)[3, 4]. აქგა და აქგბ ჯაჭვებში შემავალი ცისტეინის ნაშთები ქმნიან შიდამოლეკულურ დისულფიდურ ხიდაკებს და ცილის მონაკვეთები ამ ცისტეინებს შორის ღებულობენ მარყუჟის ფორმას. აქგა და აქგბ ჯაჭვი ქმნის 3-3 ასეთ მარყუჟს, სწორედ ამიტომ, ამ ორი სუბერთეულის სამგანზომილებიანი სტრუქტურა მსგავსია, მიუხედავად განსხვავებული ამინომჟავური თანმიმდევრობებისა. ორი მარყუჟი მოთავსებულია ცენტრალური ცისტეინის კვანძის ერთ მხარეს, ხოლო მესამე -საპირისპიროდ. ცენტრალური ცისტეინის კვანძი სუბერთეულების შემაკავშირებელი მთავარი სტრუქტურაა. [5,6,7,8].

ოთხივე ჰორმონის β სუბერთეულებს შორის გამოვლენილია 40%-ზე მეტი ჰომოლოგია . ყველაზე უცვლელი უბნები წარმოდგენილია 12 ცისტეინის ნაშთის ირგვლივ. დასტურდება β სუბერთეულის დახვეული მოდელების მსგავსება. მსგავსი მეორეული და მესამეული დომენები, რომელებიც წარმოიქმნებიან დისულფიდური კავშირების ხარჯზე შეიძლება იყოს ჩართული სუბერთეულ-რეცეპტორულ და სუბერთეულ-სუბერთეულოვან ურთიერთქმედებებში. საერთო α სუბერთეული უკავშირდება ნებისმიერ β სუბერთეულს. ასევე, აქგ მაღალი აქტივობით უკავშირდება მლჰ-ისა და თმჰ-ის რეცეპტორებს.[5,6,7,8]. თმჰ-

ს რეცეპტორთან აქგ-ს შეკავშირება ხსნის ორსულობის პირველ ტრიმესტრში თმკ-ის შედარებით დაბალ დონეს (პირველი ტრიმესტრის თირეოტოქსიკოზს).

აღნიშნული ჰორმონები სტრუქტურულად ჰომოლოგიური ცილებია, რომელთა გლიკოზილირებული ჯაჭვები შეიცავს მოლეკულური მასის დაახლოებით 30% ნახშირწყლებს და წარმოადგენს ჰეტეროდიმერს, α და β სუბერთეულისაგან, თუმცა ფიზიოლოგიური ფუნქციები განსხვავებული აქვთ. მლკ, ფმკ და თმკ ჰიპოფიზის პორმონებია, აქგ კი გამოიშვება პლაცენტის მიერ. აქგ, მლკ და ფმკ ასტიმულირებს საკვერცხისა და სათესლის ფუნქციებს, თმკ კი მოქმედებს ფარისებრ ჯირკვალზე და იწვევს თირეოიდული ჰორმონების სინთეზს.[9,10].



სურათი 1. აქგს სტრუქტურა

1.1.2 აქგ-ს ფიზიოლოგიური როლი

აქგ ორსულობის ჰორმონია, თუმცა, ასევე წარმოიქმნება ჰიპოფიზის მიერ დიდი რაოდენობით მალუთეინიზირებული ჰორმონის წარმოებისას, ქალებში მენოპაუზის დროს [11].

ორსულობის შენარჩუნებისთვის აუცილებელი ჰორმონია პროგესტერონი, რომელსაც მანამდე, სანამ პლაცენტა წარმოიქმნება (რომელიც პროგესტერონს წარმოქმნის), წარმოქმნის ყვითელი სხეული-საკვერცხიდან კვერცხუჯრედის ოვულირების შემდგომ, ფოლიკულის დარჩენილი ნაწილი [11]. პროგესტერონის გამომუშავება შეწყვეტა გამოიწვევს საშვილოსნოს კედლის ჩამოშლას, და ვერ მოხდება ემბრიონის იმპლანტაცია [12]. აქგ არის ემბრიონული ჰორმონი, რომელიც სეკრეტირდება ტროფობლასტური უჯრედების მიერ და უზრუნველყოფს ყვითელი სხეულაკის მუშაობას, რომ მან განაგრძოს პროგესტერონის წარმოება ორსულობის პირველი ტრიმესტრის განმავლობაში. აქგ ასევე უზრუნველყოფს, ენდომეტრიუმის მზადყოფნას ემბრიონის ჩანერგვისათვის და ზრდის ენდომეტრიუმის სისხლით მომარაგებას [11].

აქგ-ს რაოდენობა სისხლში ორმაგდება ორსულობის მე-5 დღიდან ყოველ 2-3 დღეში და პიკს აღწევს ორსულობის მეექვსე კვირას. ამის შემდეგ აქგ-ს დონე ეცემა, თუმცა მისი აღმოჩენა შესაძლებელია მთელი ორსულობის მანძილზე. მას შემდეგ რაც პლაცენტა ფორმულირებულია, ის ხდება პროგესტერონის მთავარი წარმომქმნელი, დაახლოებით ორსულობის მე-12 კვირიდან და აქგ წესით აღარ უნდა იყოს საჭირო, მაგრამ მისი დონე შენარჩუნებულია რაც გვაფიქრებინებს, რომ მას აქვს გარკვეული დამხმარე ეფექტები ორსულობის მომდევნო სტადიებზე. აქგ მალევე ჩნდება ორსულობის დადგომისას შარდში. ეს ფაქტი გახდა ორსულობის დასადგენი ტესტსტების შექმნის საფუძველი [13].

აქგ-ს დონის გაზომვა გამოიყენება:

- 1) ორსულობის დასადგენად და ასევე ორსულობის შემდგომი მონიტორინგისათვის
- 2) პრეეკლამფსიის მონიტორინგისათვის
- 3) პლაცენტარული ტროფობლასტური სიმსივნის დატექციისათვის

- 4) გესტაციონალური ტროფობლასტური დაავადებების დიაგნოსტიკისათვის
- 5) დაუნის სინდრომის დეტექციისათვის, მუცლადყოფნის პერიოდში
- 6) გარეორსულობების მონიტორინგისათვის [11]

1.1.3 აქგ-ს მსგავსება ზრდის ფაქტორებთან და მისი ექსპრესია სიმსივნურ უჯრედებში.

აქგს და მის სუბერთეულებს ასინთეზირებენ როგორც გონადური, ისე არაგონადური წარმოშობის ავთვისებიანი სიმსივნური უჯრედები [14]. ცნობილია, რომ თავისუფალი აქგ წარმოიქმნება ლორწოვანი ეპითელიუმისაგან განვითარებული მრავალი სიმსივნისა და სხვადასხვა გინეკოლოგიური ნეოპლაზიების დროს მაგალითად: პანკრეასის, შარდის ბუშტის, თირკმელის, პროსტატის, ღვიძლის, ფილტვის, მკერდის და სწორ-მსხვილ ნაწლავური სიმსივნეებისას, ასევე საშვილოსნოს ყელის და საკვერცხის კარცინომის დროს. [14, 15, 16]. ემბრიონული სიმსივნეების დროს აქგ-ს დონე მკვეთრად იმატებს შრატში, რაც იძლევა საშუალებას რომ ის გამოვიყენოთ, როგორც ონკომარკერი [22].

დიმერული აქგ-ის ექსპრესია ასოცირებულია ტროფობლასტურ სიმსივნეებთან, არატროფობლასტურ სიმსივნეებთან შეუძლია აქგ-ის ექსპრესია ექტოპიურად, მაგრამ ამ სიმსივნეებში მხოლოდ β -ჯაჭვი წარმოიქმნება α სუბერთეულისაგან დამოუკიდებლად [50]. აღმოჩნდა, რომ აქგ-ის თავისუფალი β სუბერთეულის ექტოპიურ პროდუქციას ფუნქციური კავშირი შეიძლება ჰქონდეს სიმსივნურ ზრდასთან, რაც აიხსნება იმით, რომ აქგ-ს აქვს სტრუქტურული მსგავსება ზრდის ფაქტორთა ოჯახთან, რომლის ყველა წევრი შეიცავს ერთნაირ ტოპოლოგიურ რგოლს - ცისტეინის კვანძს. ეს სტრუქტურული ერთეული აღმოჩენილია აგრეთვე მატრანსფორმირებელ ზრდის ფაქტორ β -ში (TGF- β), ნერვის ზრდის ფაქტორში (NGF), თრომბოციტების მიერ წარმოქმნილ ზრდის ფაქტორ β -ში (PDGF- β) და სხვა ზრდის ფაქტორებში [17, 18, 19]. ისინი უკავშირდებიან სრულიად განსხვავებულ რეცეპტორულ ოჯახებს. მათი ბიოლოგიური აქტივობა მიიღწევა მხოლოდ ჰეტერო- და/ან ჰომოდიმერების წარმოქმნისას. ვინაიდან თავისუფალ აქგ ბეტა ჯაჭვსაც არ შეუძლია მლ3/აქგ რეცეპტორის აქტივაცია და მეორადი მესენჯერის სტიმულაცია. საცარაუდოა, რომ აქგ წარმოქმნიდეს ჰეტეროდიმერებს სხვა ზრდის ფაქტორების სუბერთეულებთან და ამრიგად ქმნიდეს უნიკალურ მოლეკულას მულტიფუნქციური როლებით. გარდა ამისა, ნაჩვენებია,

რომ ზრდის მასტიმულირებელი მოქმედება შეიძლება გამოწვეული იყოს აქგ-β ჰომოდიმერის ფორმირებით, რასაც შესაძლოა ხელს უწყობდეს პოსტრანსლაციურ მოდიფიკაციებში, კერძოდ კი გლიკოზილირების დონეში მომხდარი ცვლილებები [20,21].

აქგ-ს დონე სისხლის შრატში იმატებს ზოგიერთი არასიმსივნური დაავადების დროსაც (კუჭის წყლულოვანი დაავადება, ციროზი) [22].

აღსანიშნავია, რომ თავისუფალი აქგ-ს ძალიან მცირე რაოდენობა აღმოჩენილია ჯანმრთელი ადამიანების შრატსა და შარდში, თუმცა მისი ფუნქცია უცნობია.[23]

1.1.4 აქგ-ს სხვადასხვა ფორმები

ჰიპერგლიკოლიზირებული აქგ და თავისუფალი აქგ-β

კვლევები გამოხატავს, რომ არსებობს კორელაცია ჰიპერგლიკოლიზირებული აქგ-ს ან აქგ-ს თავისუფალი β სუბერთეულის ექსპრესიას და ცუდ პროგნოზს შორის [50].

აქგ-β-ს მომატებული დონე ცუდი კლინიკური პროგნოზის მანიშნებელი მარკერია მსხილი და სწორი ნაწლავის სიმსივნეების დროს, პანკრეასული ეგზოკრინული სიმსივნეებისას, ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომის მქონე პაციენტებში [24]. ქალების გადარჩენის შანსი, რომელთაც აქვთ საშვილოსნოს ყელის კარცინომა და სიმსივნური უჯრედები ასინთეზებენ აქგ-β-ს, 14%-ია, ხოლო იმ ქალებისა ვისაც ნეგატიური აქვთ აქგ-β – 75% [25].

ჰიპერგლიკოლიზირებული აქგ (ჰ-აქგ) გამომუშავდება ინვაზიური ციტოტროფობლასტური უჯრედების მიერ. იგი აუტოკრინული ფაქტორია, აჩქარებს ამავე უჯრედების ზრდასა და შერწყმას საშვილოსნოს კედლის გასწვრივ. ის განაპირობებს იმპლანტაციის დროს უჯრედების ზრდასა და ინვაზიას და ასევე განაპირობებს ციტოტროფობლასტური უჯრედების სიმსივნურ ზრდასაც [50].

ჰ-აქგ ყველაზე ხშირად გვხვდება ტროფობლასტის ავთვისებიანი გადაგვარების დროს. 100 % -ით მგრძნობიარე და სპეციფიკურია ავთვისებიანი და პრესიმსივნური გადაგვარების ერთმანეთისაგან გასარჩევად ქორიოკარცინომის დროს [51].

დამატებით მისი აღმოჩენა შესაძლებელია მსხვილი ნაწლავის, შარდის ბუშტის და ფილტვის სიმსივნეების მქონე პაციენტების სისხლშიც [50].

ორივე ჰიპერგლიკოლიზირებული აქგ და თავისუფალი β განაპირობებს სიმსივნური უჯრედების ზრდას, ინვაზიას და ავთვისებიან გადაგვარებას. ასევე ორივე ბლოკავს ან ანტაგონისტია აპოპტოზის, რითაც იწვევს უჯრედების ზრდას. ანტაგონისტური მოქმედება აქვთ შარდის ბუშტის სიმსივნეებისას, როცა უკავშირდებიან TGF-β რეცეპტორს და ამით ბლოკავენ აპოპტოზის პროცესს [50].

თავისუფალი აქგ-α

ძირითადად თავისუფალი აქგ-α სუბერთეულის გამოყოფა ხდება კომერციული მიზნებისათვის ორსულის სისხლის შრატისა და შარდისგან. ასევე, აქგ-α სუბერთეულის ექსპრესია აღინიშნება ფილტვის კარცინომის დროს; შარდის ბუშტის გარდამავალი უჯრედოვანი კარცინომების 1/3 შემთხვევებში [26].

დაზიანებული (nicked) აქგ (N-აქგ)

N -აქგ-ს დონის მატება აღინიშნება იმ პაციენტების შრატში და შარდში, რომელთაც აქვთ პრეეკლამფსია, ნაადრევი მშობიარობა, ტროფობლასტური დაავადება, დაუნის სინდრომი (ნაყოფის) და ნაყოფის სასქესო ან შარდის ბუშტის სიმსივნე [27].

N-აქგ აღმოჩენა შესაძლებელია რამდენიმე კვირის განმავლობაში ადენომის მოცილების, ან ქიმიოთერაპიით ქორიოადენომის და ქორიოკარცინომის მკურნალობის შემდეგ [28].

N-აქგ-ს მაღალი კონცენტრაციები ასევე ნაპოვნია ნაყოფის სემინომური და არასემინომური სათესლის სიმსივნეების დროს. N -აქგ და მისი დისოციაციის პროდუქტი N-აქგ-β სისხლის შრატში და შარდში გვხვდებიან მაშინაც კი , როცა აქგ-ს მნიშვნელობები ეცემა 100 mUI/ml-ზე დაბლა პაციენტებში ტროფობლასტური დაავადებით ან ემბრიონული უჯრედების ავთვისებიანი გადაგვარებით [28,29].

1.1.5 აქგ, როგორც საკვერცხის სიმსივნეების ბიომარკერი

საკვერცხის სხვადასხვა ტიპის სიმსივნეები წარმოქმნიან ადამიანის ქორიონულ გონადოტროპინს, როგორც აუტოკრინული ზრდის ფაქტორს. საკვერცხის

კეთილთვისებიანი წარმონაქმნის მქონე ქალბატონების 27%-ში და საკვერცხის კარცინომის მქონე პაციენტთა 67%-ში მომატებულია აქგს დონე. თვითონ წარმონაქმნის ქსოვილში, 68%-ში ხდება აქგს აღმოჩენა, მიუხედავად ჰისტოლოგიური ტიპისა [31].

აქგს ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი როლი ონკოგენეზში, მდგომარეობს შემდეგში: ეს ცილა, სიმსივნურ უჯრედში, მონაწილეობს ვასკულოგენურ მიმირკიაში. ვასკულოგენურ მიმირკია არის სიმსივნური უჯრედის უნარი შეიძინოს ენდოთელიოციტების მსგავსი ფენოტიპი და შექმნას სისხლძარღვების მსგავსი არხები, სიმსივნის სისხლით მომარაგებისათვის. სიმსივნური უჯრედების ეს უნარი კორელირებს მეტასტაზირების მომატებულ რისკთან და არასასურველ პროგნოზთან . ამ მონაცემებზე დაყრდნობით, დაიწყო მუშაობა, მონოკლონური ანტისხეულების საფუძველზე , ვაქცინების შესაქმნელად, რომლებიც შებოჭავენ აქგ-ს. შესაძლებელია, რომ სწორედ ბუნებრივი ანტისხეულებით აქგს შებოჭვა იცავს ადამიანს კეთილთვისებიანი წარმონაქმნის ავთვისებიანად გადაგვარებისაგან [32,33,34,35].

1.2 აქგ-ს სპეციფიურობის ბუნებრივი ანტისხეულები.

აქგ-სპეციფიურობის ანტისხეულები ორსულობის დროს.

იმის გამო, რომ აქგ საკმაოდ დიდი ზომის ცილაა და იშვიათია ორგანიზმში მისი მაღალი შემცველობა, იმუნური სისტემა ზოგჯერ იწყებს მის საწინააღმდეგოდ ანტისხეულების გამომუშავებას, რომლებიც ბლოკავენ ჰორმონს და ხელს უშლიან ფიზიოლოგიური ფუნქციის შენარჩუნებაში. პირველ რიგში ფერხდება ყვითელი სხეულის სტიმულაცია, რომელმაც უნდა დაასინთეზოს პროგესტერონი. თავის მხრივ, პროგესტერონი აუცილებელი ჰორმონია ნაყოფის ნორმალური განვითარებისა და ორსულობის ფიზიოლოგიურად წარმართვისათვის. შედეგად აქგ-ს ანტისხეულებით დაბლოკვას მოჰყვება ნაყოფის განვითარების შეფერხება, თვითნებური აბორტი, პლაცენტის ნაადრევი აშრევა [11, 12,13].

აუტოანტისხეულების მაღალი ტიტრის მქონე ქალებში ორსულობა არ დგება, რადგან შეფერხებულია ემბრიონის იმპლანტაცია. საშუალო ტიტრის აღმოჩენისას ხშირია თვითნებური აბორტები სხვადასხვა ვადაზე, ხოლო დაბალი ტიტრის შემთხვევაში ორსულობა არ წყდება, მაგრამ ზოგჯერ ფერხდება ნაყოფის განვითარება [30]

განვითარებულ ქვეყნებში ტარდება კვლევა და ისაზღვრება ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინის სპეციფიურობის აუტოანტისხეულების ტიტრი ქალბატონებში, რომელთაც ანამნეზში აქვთ თვითნებური აბორტი ან ორსულობისას აღინიშნება ნაყოფის განვითარების შეფერხება, ან უჩივიან უშვილობას. ძირითადად საზღვრავენ აქგაფ -ს სპეციფიურობის IgG და IgM კლასის ანტისხეულებს. საყურადღებოა ის ფაქტი, რომ პროგესტერონის მიღება ვერ ახდენს ორსულობის მიმდინარეობის სრულ ნორმალიზებას და პაციენტები, რომელთაც აღენიშნებათ აქგ-ს სპეციფიურობის ანტისხეულები საჭიროებენ გლუკოკორტიკოიდებით მკურნალობას, რათა მოხდეს ანტისხეულების ტიტრის დაქვეითება და შესაბამისად აქგს დონის და ფუნქციის შენარჩუნება. ეს ფაქტი, კიდევ ერთხელ გვაძლევს საფუძველს ვივარაუდოთ, რომ აქგს გარდა ყვითელი სხეულის სტიმულაციისა კიდევ აქგს ორსულობისას დამატებითი ფიზიოლოგიური როლი [30].

მიუთითეთ რომელი -----

9. ხომ არ გაქვთ ფარისებრი ჯირკვლის დაავადება

დიახ

არა

მიუთითეთ რომელი -----

10. თუ ამჟამად იღებთ რომელიმე სამკურნალო პრეპარატს გთხოვთ მიუთითოდ რომელს და მიღების ხანგრძლივობა-----

11. იღებთ თუ არა ჩასახვის საწინააღმდეგო საშუალებას

კი

არა

---მიუთითეთ პრეპარატი-----

12. მენოპაუზა

კი

არა

2.1 ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინის და მისი სუბერთეულების სპეციფიურობის ბუნებრივი ანტისხეულების აღმოჩენა და დახასიათება საკვერცხის კეთილთვისებიანი და ავთვისებიანი სიმსივნეების მქონე ქალებში.

გამოყენებული ანტიგენები:

ნატიური აქგაქ: ფეხმძიმე ქალების შარდიდან გამოყოფილი და გასუფთავებული აქგაქ
(Sigma, აშშ).

ნატიური აქგაქ: ფეხმძიმე ქალების შარდიდან გამოყოფილი და გასუფთავებული აქგაქ-ჯაჭვი
(Sigma, აშშ).

ნატიური აქგა: ფეხმძიმე ქალების შარდიდან გამოყოფილი და გასუფთავებული აქგა-ჯაჭვი (Mybiosource, აშშ)

აქგკტპ: აქგ-ჯაჭვის კარბოქსი-ტერმინალური პეპტიდის ანალოგი სინთეზური პეპტიდი (Sigma, აშშ).

აქგ-ჯაჭვის ცენტრალური ფრაგმენტი -აქგცფ - ბიოლოგიური სტანდარტების და კონტროლის ეროვნული ინსტიტუტი (დიდი ბრიტანეთი)

შრატების ტიტრირება:

შრატების ტიტრირებას ვახდენდით პირდაპირი იმუნოფერმენტული ანალიზით (ELISA). Nunc- ის ფირმის MaxisorpC ბრტყელძირიანი, 96 ფოსოიანი მიკროპლეიტის ფოსოებში დაგვქონდა 50 - 50 მკლ ნატიური აქგა, ნატიური აქგ, ნატიური აქგა აქგკტპ და და აქგცფ -კონცენტრაციით 1მკგ/მლ 0,05 M კარბონატიკარბონატული ბუფერში (CBB, pH = 9,6) და ვტოვებდით მაცივარში 4⁰C ერთი ღამით. ინკუბაციის შემდგომ პლეიტს ვრეცხავდით სამჯერ გამრეცხი ხსნარით. პაციენტების შრატს ვაზავებდით PBS –T- BSA ბუფერით (PBS –T ემატება 2% ხბოს შრატის ალბუმინი). ვიყენებდით შრატების შემდეგ განზავებებს განზავებებს 1:50დან - 1:6400 მდე. განზავებულ შრატების 50-50 მკლ ვამატებდით პლეიტის ფოსოებში დუბლიკატებში. პლეიტს ვათავსებდით 2 სთ-ით 37⁰ C თერმოსტატში. ინკუბაციის შემდეგ თითოეულ ფოსოში ვუმატებდით 50-50 მკლ ბოცვრის ანტი-ადამიანის, პირშუშხა პეროქსიდაზით მონიშნულ, მეორად IgGანტისხეულებს (Sigma) ან ბოცვრის ანტი-ადამიანის, პირშუშხა პეროქსიდაზით მონიშნულ, მეორად IgM ან IgG ანტისხეულებს (Sigma). მეორადი ანტისხეულების დატანის შემდეგ პლეიტას კვლავ ვათავსებდით 2 სთ-ით 37⁰ C. ინკუბაციის ვადის გასვლის შემდეგ პლეიტი 5-ჯერ ირეცხებოდა და თითოეულ ფოსოში ვუმატებდით 100-100 მკლ სუბსტრატს - 3,3',5,5' ტეტრამეთილბენზიდინი. პლეიტს ვათავსებდით სიბნელეში, ოთახის ტემპერატურაზე 5 წუთით და შემდეგ, რეაქციას ვაჩერებდით 100 მკლ 0,05 M H₂SO₄ დამატებით ფოსოებში.

შედგების წაკითხვა ხდებოდა სპექტროფოტომეტრ Selecta -თი, 450ნმ ტალღის სიგრძეზე. შრატის 50%-იანი ტიტრს ვითვლიდით, როგორც შრატის განზავებას, რომელიც შეესაბამება მრუდის პლატოს 50%-ს, ხოლო ტიტრის საბოლოო მაჩვენებლის შერჩევას ვახდენდით კონტროლის შესაბამისი ოპტიკური სიმკვრივის მაჩვენებლის მომდევნო

განზავების მაჩვენებლით. შრატის 50%-იანი ტიტრით ვმსჯელობდით ანტისხეულების აფინობაზე, ხოლო საბოლოო ტიტრის მიხედვით კი კონცენტრაციაზე.

2.2 იმუნოგლობულინ G-ის ქვეკლასების განსაზღვრა

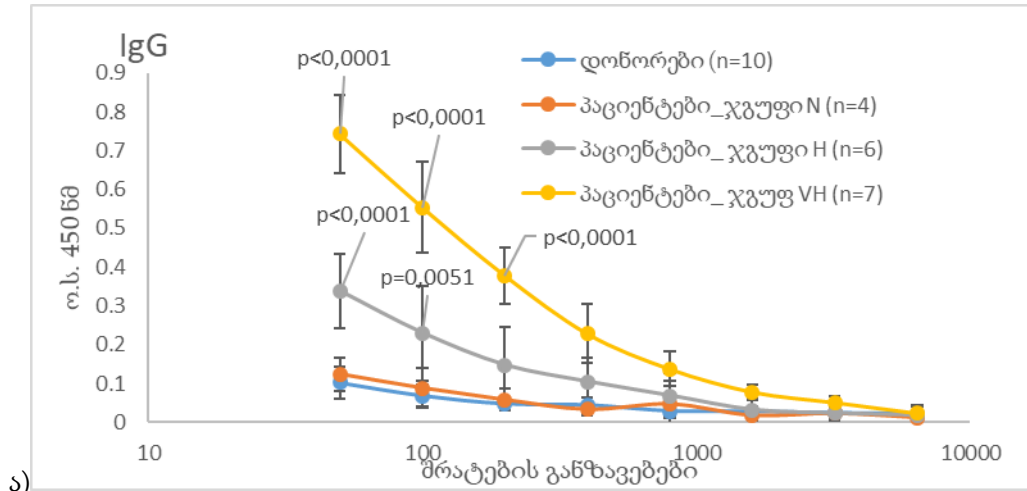
IgG-ის ქვეკლასების განსაზღვრისათვის გამოვიყენეთ პირდაპირი იმუნოფერმენტული ანალიზი (ELISA), ისევე, როგორც ეს აღწერილია 2.1-ში, იმ განსხვავებით რომ ვიყენებდით შრატის მხოლოდ ერთ განზავებას - 1:100, ხოლო მეორად ანტისხეულებად ვიყენებდით IgG - ის სხვადასხვა ქვეკლასების სპეციფიურობის, პირშუშხა პეროქსიდაზით მონიშნული ანტი-ადამიანის IgG1, IgG2, IgG3 და IgG4-ს. შედეგების წაკითხვა, ამ შემთხვევაშიც ხდებოდა სპექტროფოტომეტრ Selecta -თი, 450ნმ ტალღის სიგრძეზე.

2.3 შედეგების სტატისტიკური დამუშავება

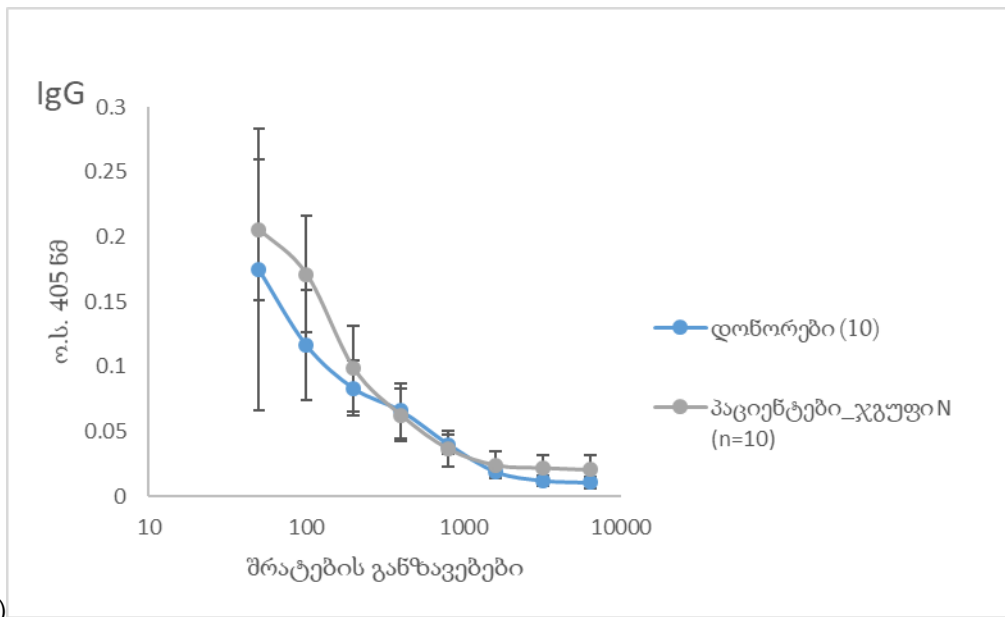
მიღებული შედეგები გაანალიზებულია და სტატისტიკურად დამუშავებულია კომპიუტერული პროგრამა Microsoft Excel-ის და სტუდენტის t-ტესტის გამოყენებით.

თავი მე-3 კვლევის შედეგები და მათი განხილვა

3.1 შრატების ტიტრირება აქგ-ს და მისი სუბერთეულების სპეციფიურობის ბუნებრივი, IgM და IgG აუტოანტისხეულების შესასწავლად

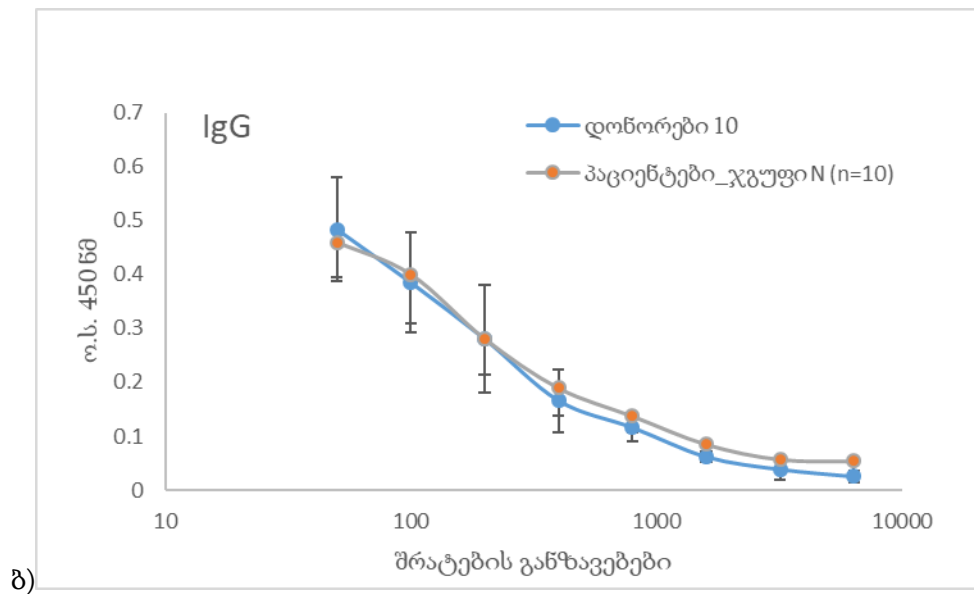
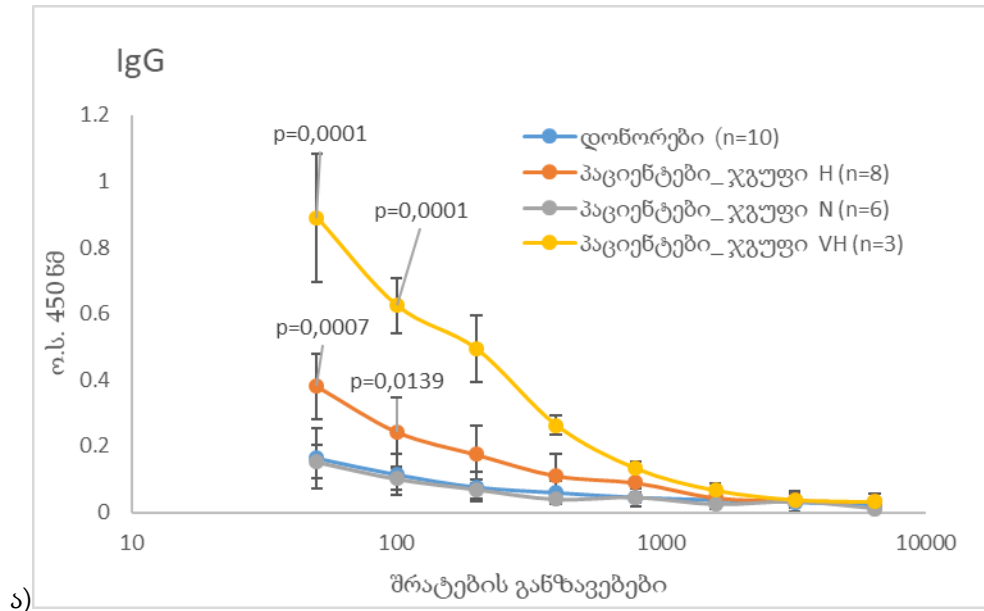


ა)

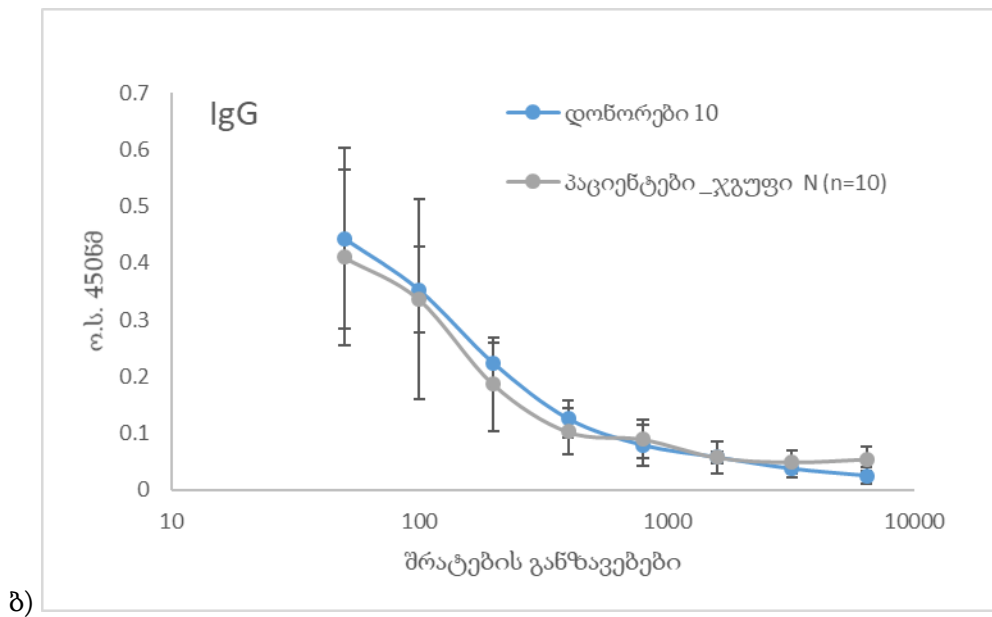
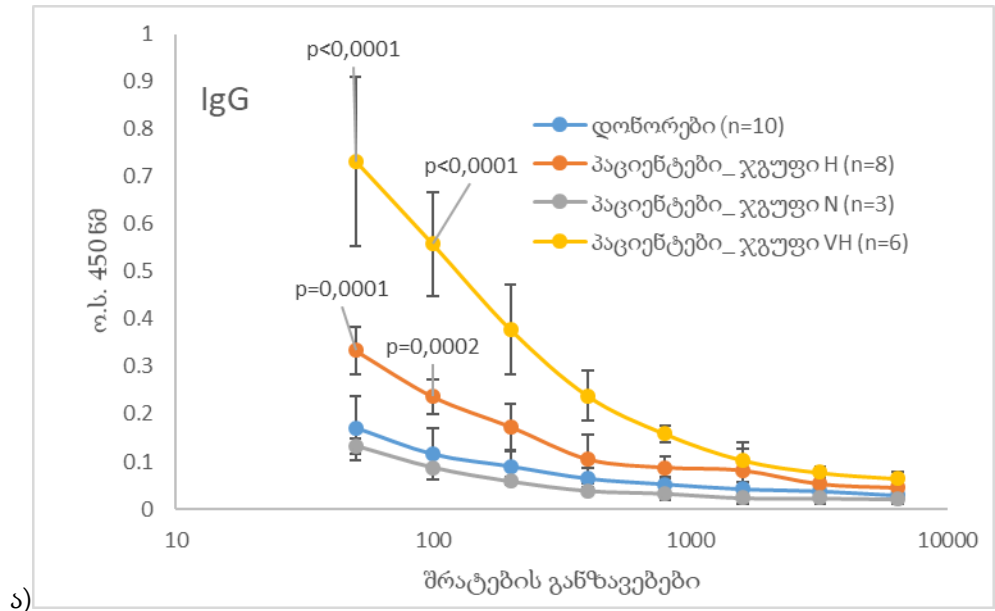


ბ)

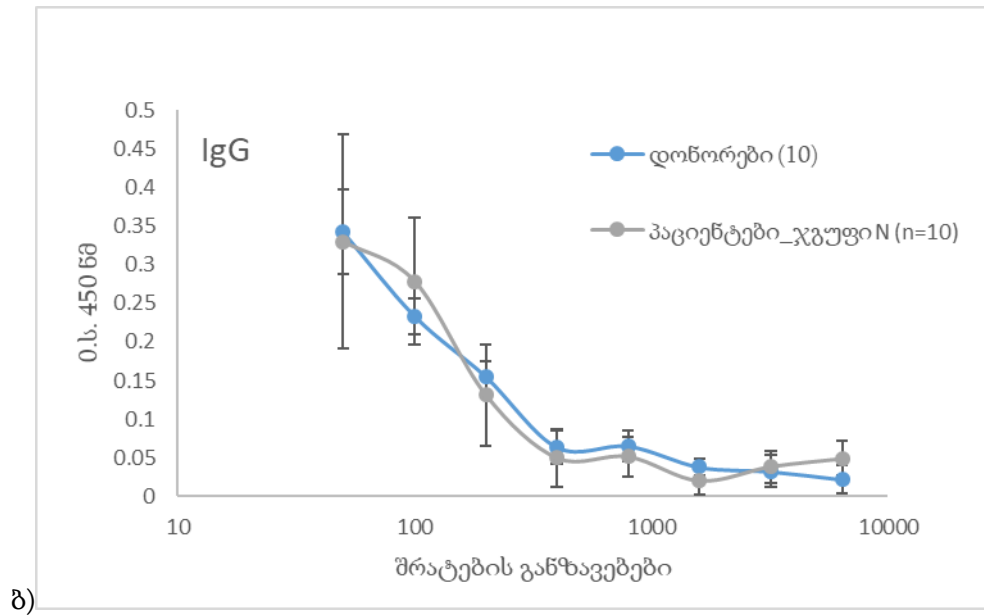
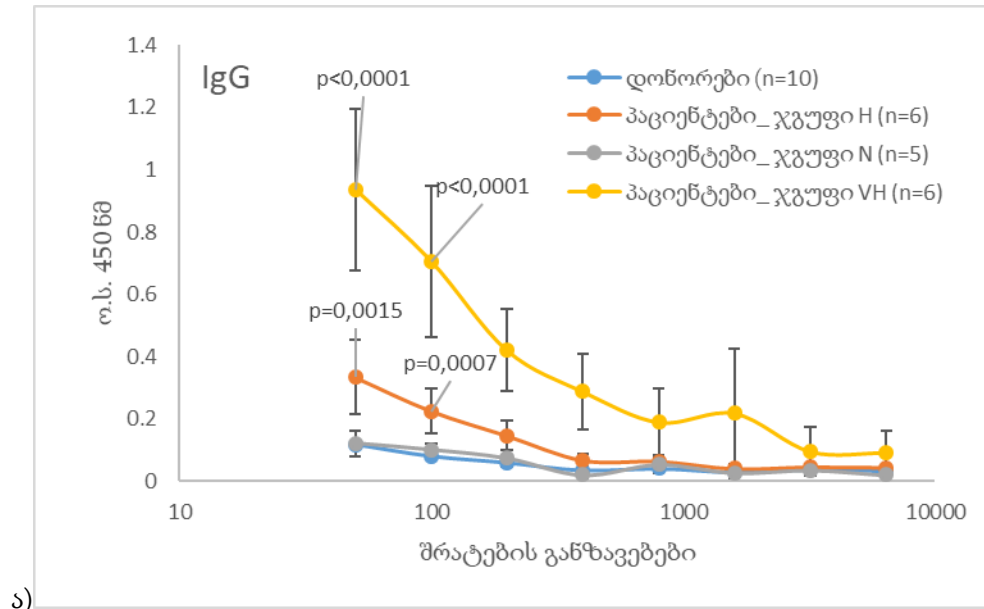
დიაგრამა 1: შრატების ტიტრირება აქგაფ-სთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgG კლასის აუტოანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში



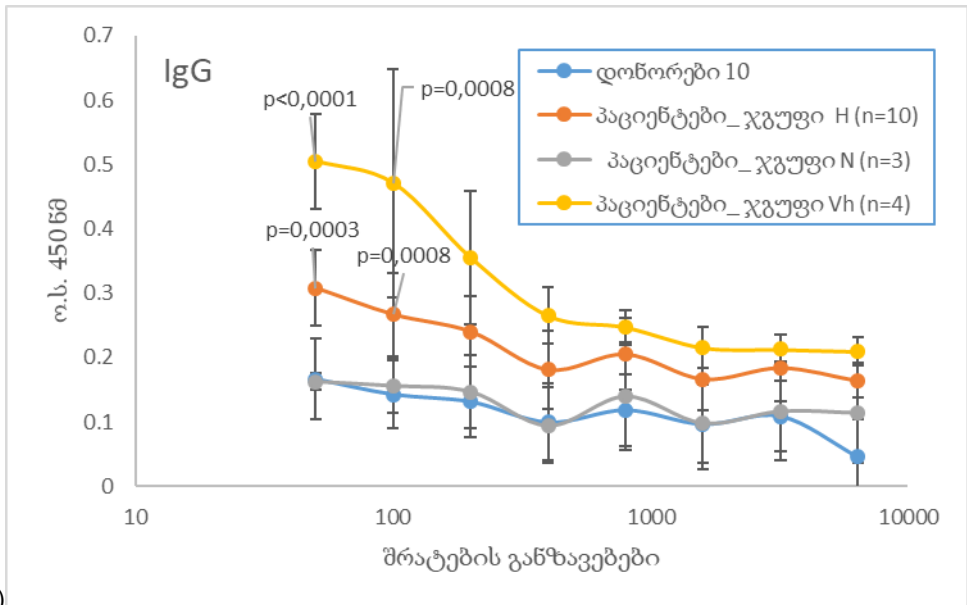
დიაგრამა 2: შრატების ტიტრირება აქვბ-სთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgG კლასის აუტანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.



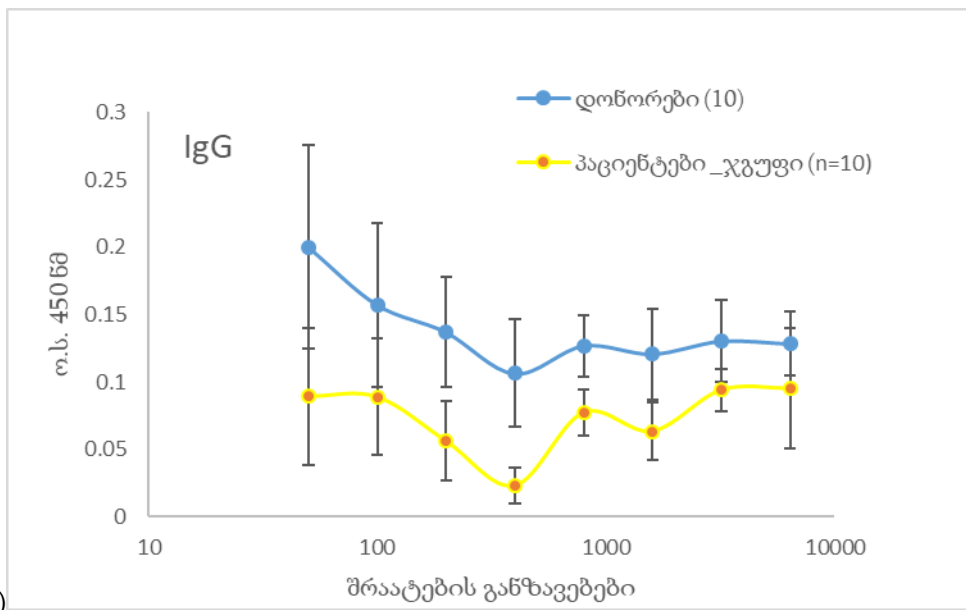
დიაგრამა 3: შრატების ტიტრირება აქგა-სთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgG კლასის აუტანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.



დიაგრამა 4: შრატების ტიტრირება აქგვკტპ-სთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgG კლასის აუტოანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.

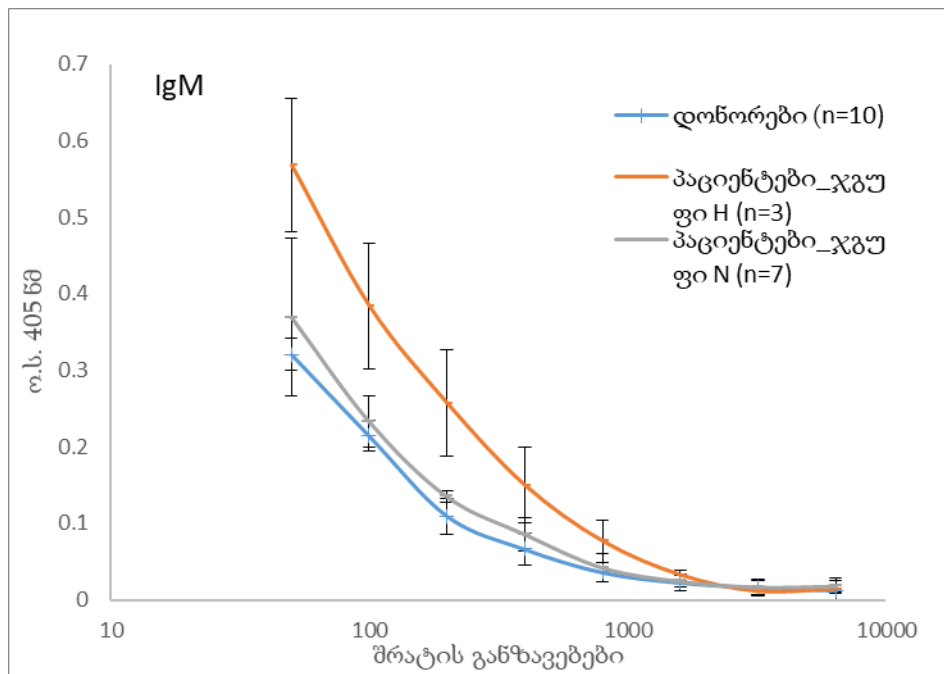
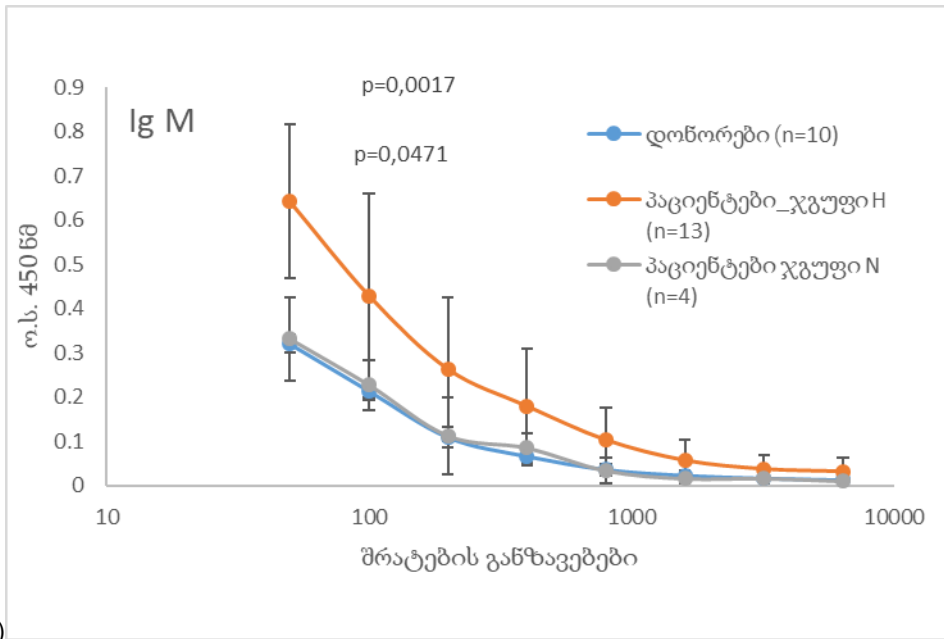


ა)

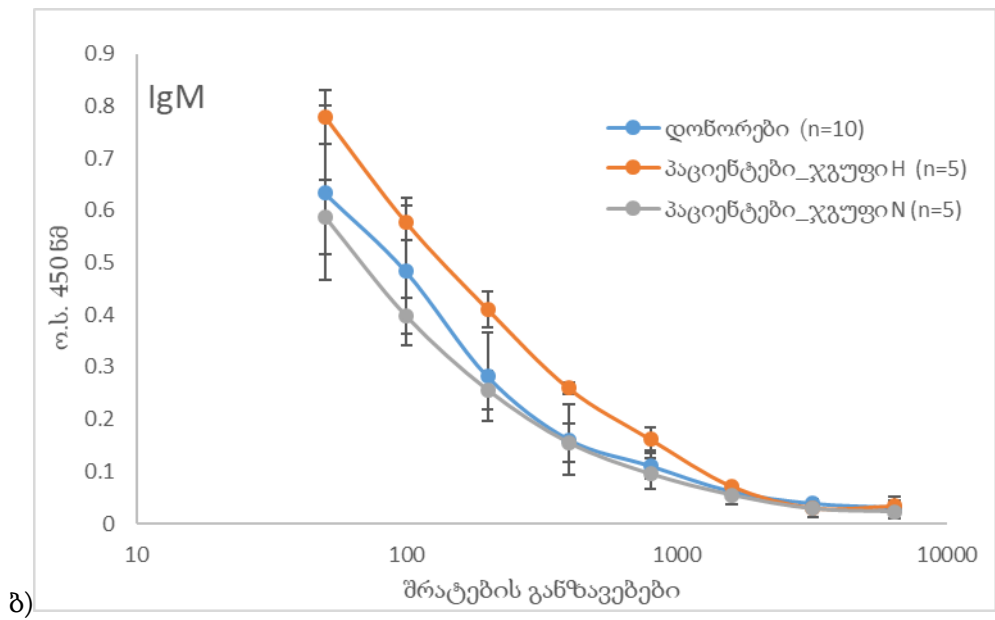
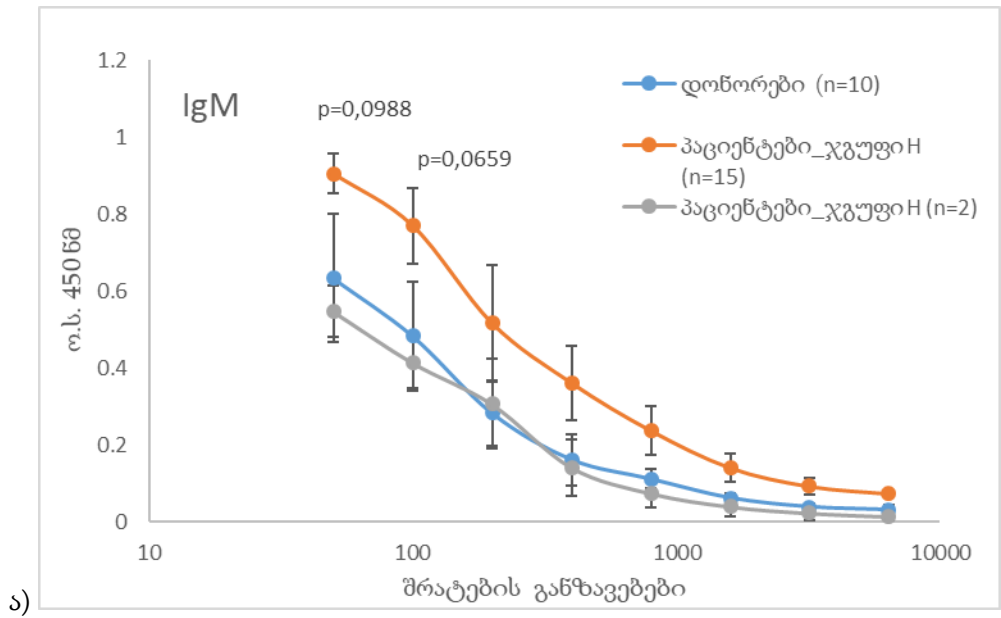


ბ)

დიაგრამა 5: შრატების ტიტრირება აქვცვ-სთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgG კლასის აუტოანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.

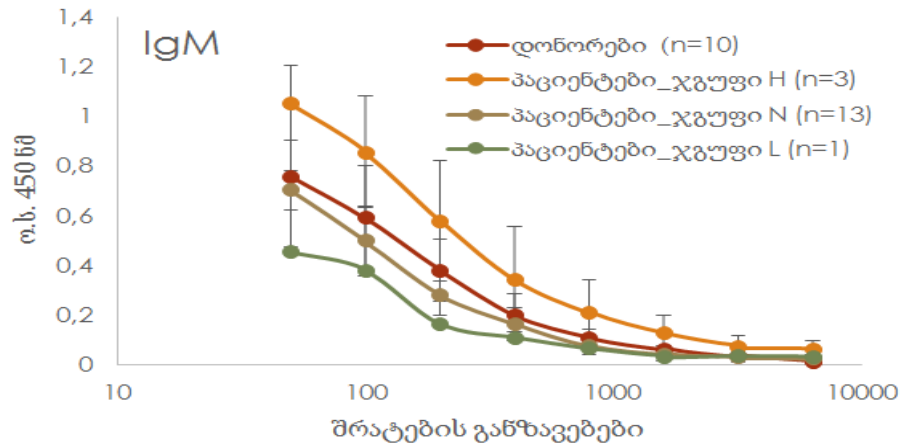


დიაგრამა 6: შრატების ტიტრირება აქგაფ-სთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgM კლასის ანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში

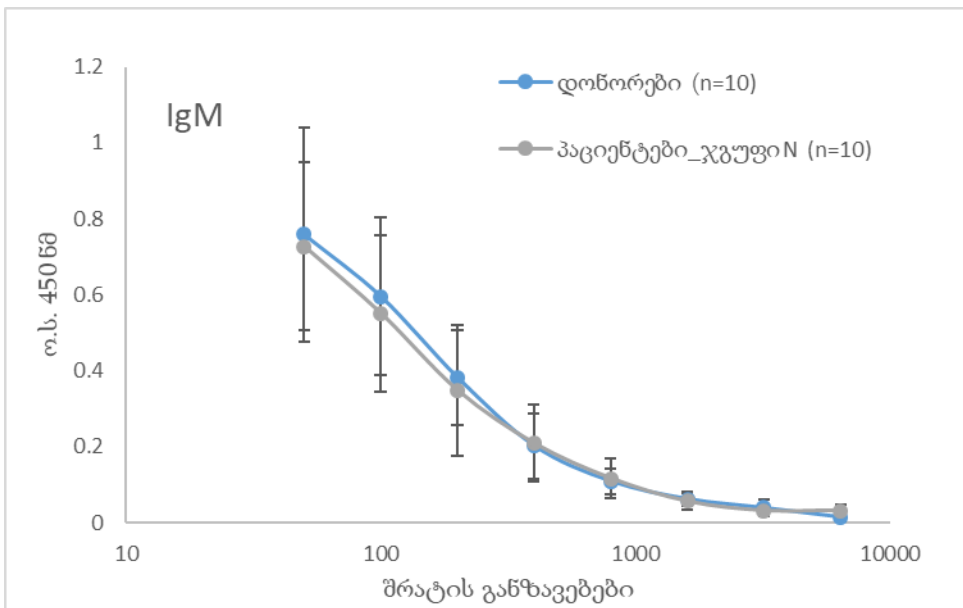


დიაგრამა 7: შრატების ტიტრირება აქვს-სთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgM კლასის ანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.

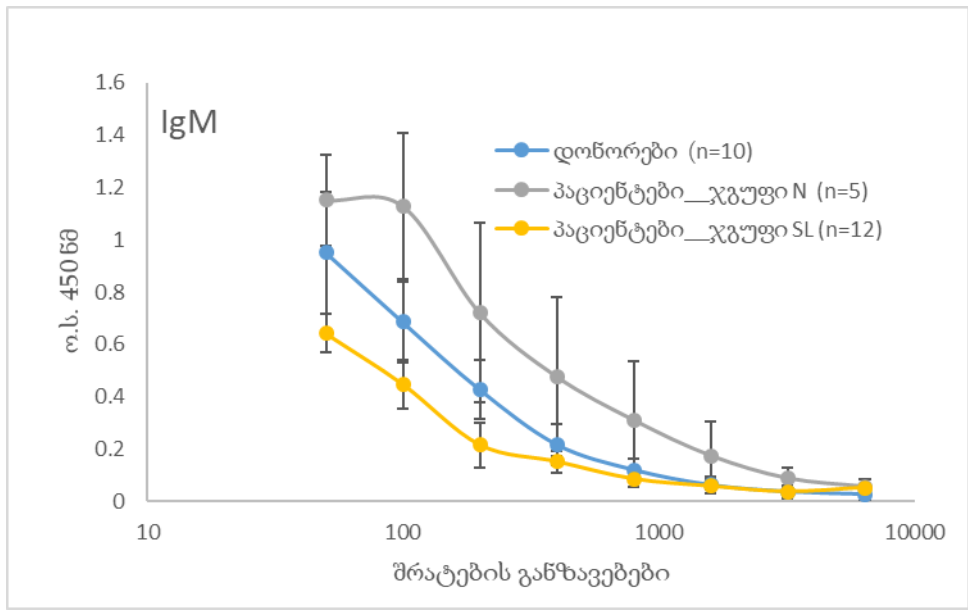
ა)



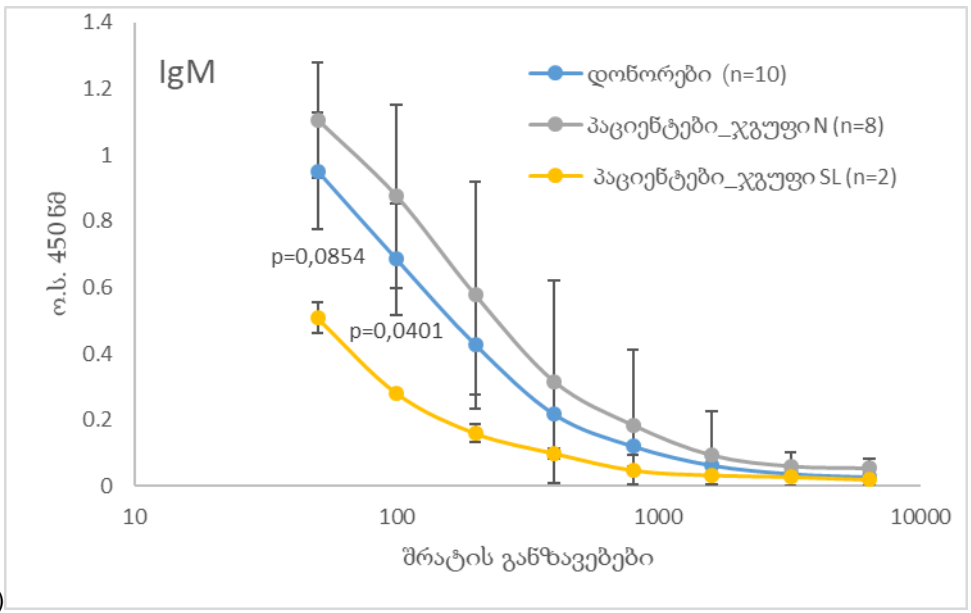
ბ)



დიაგრამა 8: შრატების ტიტრირება აქვ α -სთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgM კლასის ანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.

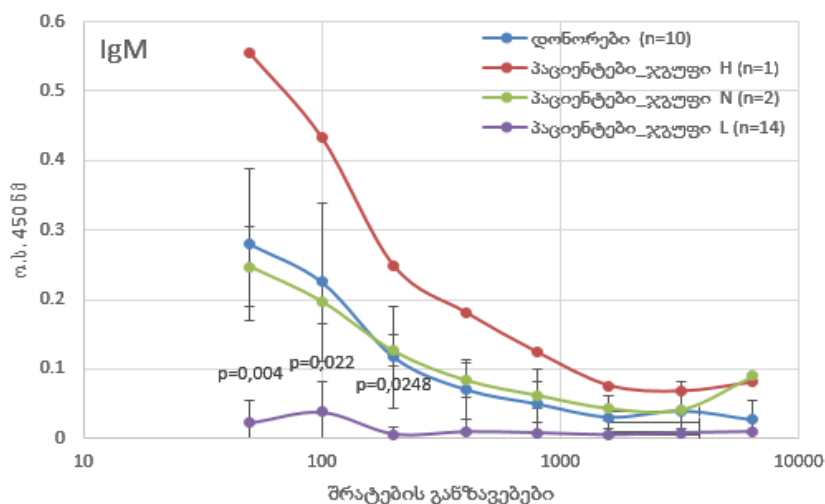


ა)

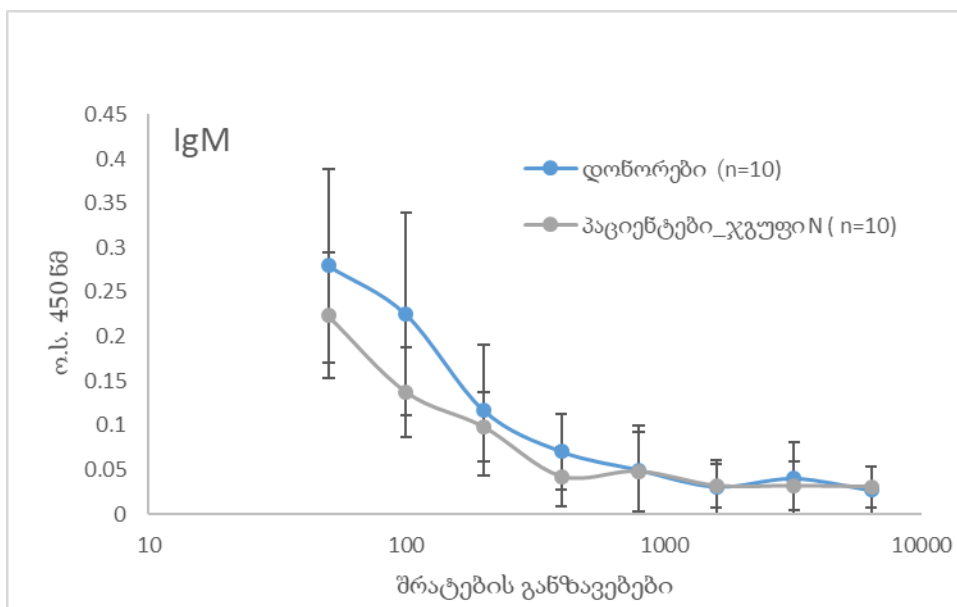


ბ)

დიაგრამა 9: შრატების ტიტრირება აქვტკ-სთან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgM კლასის ანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.



ა)



ბ)

დიაგრამა 10: შრატების ტიტრირება აქვცფ-თან დაკავშირების უნარის მქონე ბუნებრივი, IgM კლასის ანტისხეულების აღმოსაჩენად ა) საკვერცხის კისტის და ბ) საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.

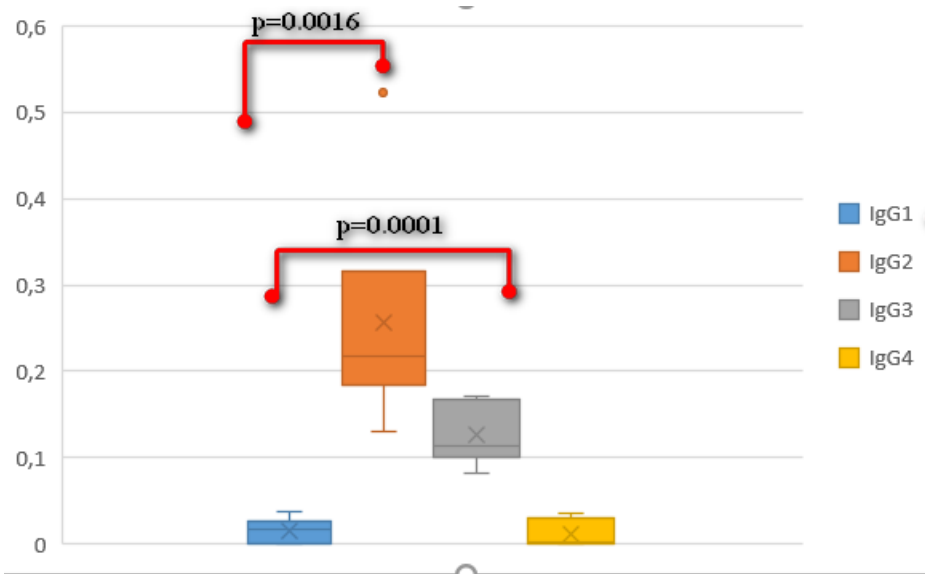
კვლევაში გამოყენებული ანტიგენების აქვაფ, აქვბ, აქვგ, აქვდ -ს კარბოქსი ტერმინალური დაბოლოება (აქვბკტპ) და აქვბ ცენტრალური ფრაგმენტი (აქვბცფ)-ის საწინააღმდეგო IgM

ანტისხეულების ტიტრი საკვერცხის კისტის და ადენოკარცინომას მქონე პაციენტებში არ განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფისგან. თუმცა, საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტთა უმრავლესობას სისხლის შრატში აღმოაჩნდა საკვლევი ანტიგენების საწინააღმდეგო IgG ანტისხეულების საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით სარწმუნოდ უფრო მაღალი დონე. ბუნებრივი აქგა β -ის სპეციფიურობის IgG კლასის აუტოანტისხეულები აღმოჩენილია შემთხვევათა 76%-ში ($p < 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1:50 განზავებისას – 0.485 ± 0.215655), აქგ β -ს სპეციფიურობის 65% -ში ($p = 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1:50 განზავებისას = 0.519318 ± 0.262135), აქგ α -ს 82% -ში ($p < 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1: 50 განზავებისას = 0.505 ± 0.232288), აქგ β კტ β -ს 71% -ში ($p < 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1:50 განზავებისას = 0.635208 ± 0.36324), აქგ β ცფ-ის სპეციფიურობის 82%-ში ($p < 0.0001$, ოპტიკური სიმკვრივე 1:50 განზავებისას = 0.36389 ± 0.10847).

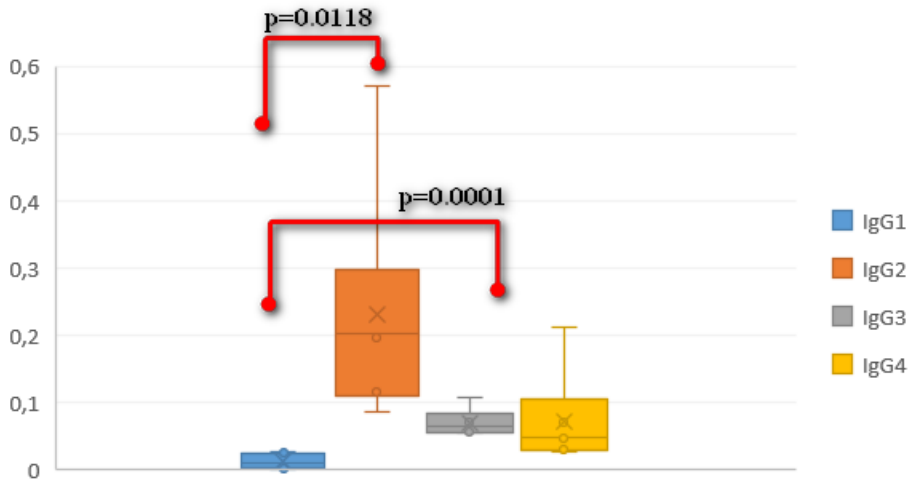
5 პაციენტის შრატი უკავშირდებოდა კვლევაში გამოყენებულ ყველა ანტიგენს. ადენოკარცინომას მქონე პაციენტთა შრატი კი, პირიქით, არ შეიცავდა კვლევაში გამოყენებული არცერთი ანტიგენის სპეციფიურობის, IgG კლასის, აუტოანტისხეულების მომატებულ ტიტრს საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით.

როდესაც მოხდა პაციენტების მიერ შევსებული კითხვარების მონაცემების გაანალიზება, აღმოჩნდა რომ საკვერცხის კისტის მქონე ქალბატონების დიდ ნაწილს სისხლში აღენიშნებოდათ თირეოტროპული ჰორმონის მომატებული დონე, ასევე მათი დიდი ნაწილი ლეზულობდა ორალურ კონტრაცეპტივებს (თავდაცვის ან მკურნალობის მიზნით). ამ ფაქტს თეორიულად შეეძლო ემოქმედა აქგ α -ს და აქგ β -ს სპეციფიურობის ბუნებრივი ანტისხეულების ტიტრზე, რადგან ალფა ჯაჭვი იდენტურია მალუთეინიზირებელი ჰორმონის (მლჰ), ფოლიკულ-მასტიმულირებელი ჰორმონის (ფმჰ) და თირეოიდ-მასტიმულირებელი ჰორმონის (თმჰ) ალფა ჯაჭვის და აქგ-ს β ჯაჭვის პირველი 114 ამინომჟავა კი, ავლენს 85%-იან ჰომოლოგიას მლჰ-ს, 46% თმჰ-ს და 36%-ს ფმჰ-ს ბეტა ჯაჭვთან. თუმცა აქგ β -ჯაჭვის დარჩენილი კარბოქსი-ტერმინალური ამინომჟავები უნიკალურია აქგ-სთვის და აქგ β კტ β -ს სპეციფიურობის ბუნებრივი ანტისხეულების ტიტრზე სხვა გლიკოპროტეინული ჰორმონების დონის ცვლილება ვერ იმოქმედებდა. სწორედ ეს ფაქტი ხდის კონკრეტულად აქგ β კტ β -ს სპეციფიურობის ბუნებრივ ანტისხეულებს შემდგომი კვლევებისთვის გამორჩეულად საინტერესოს.

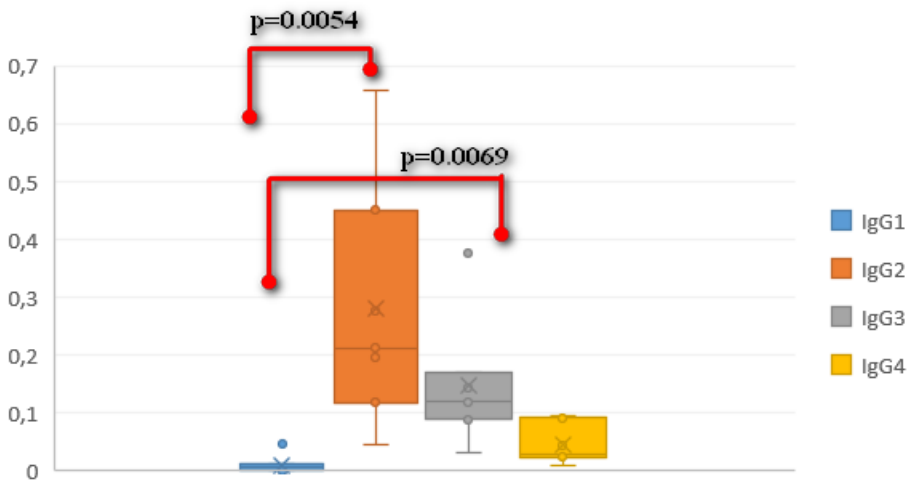
3.2 აქგ-ს და მისი სუბერთეულების სპეციფიურობის ბუნებრივი IgG აუტოანტისხეულების ქვეკლასების განაწილების განსაზღვრა საკვერცხის კისტის და საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტებში.



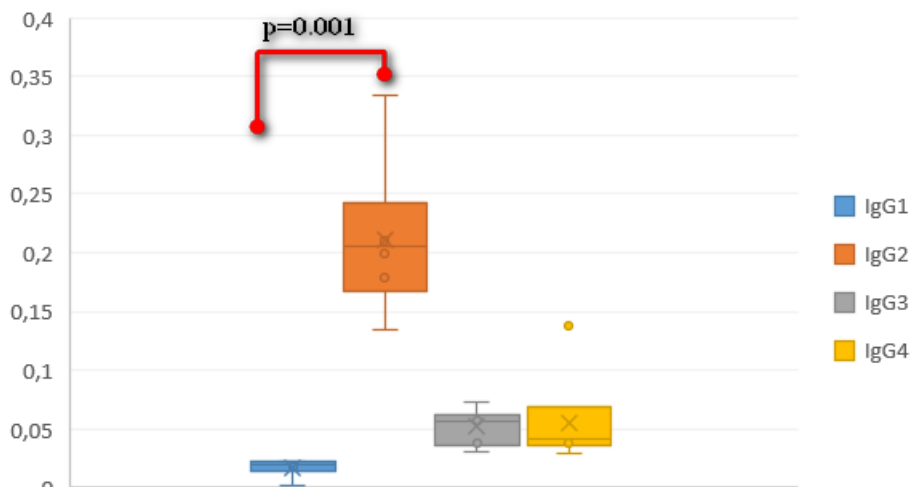
დიაგრამა 11 - საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტების სისხლის შრასტში არსებული ანტი-აქგაბ IgG აუტოანტისხეულების განაწილება ქვეკლასების მიხედვით



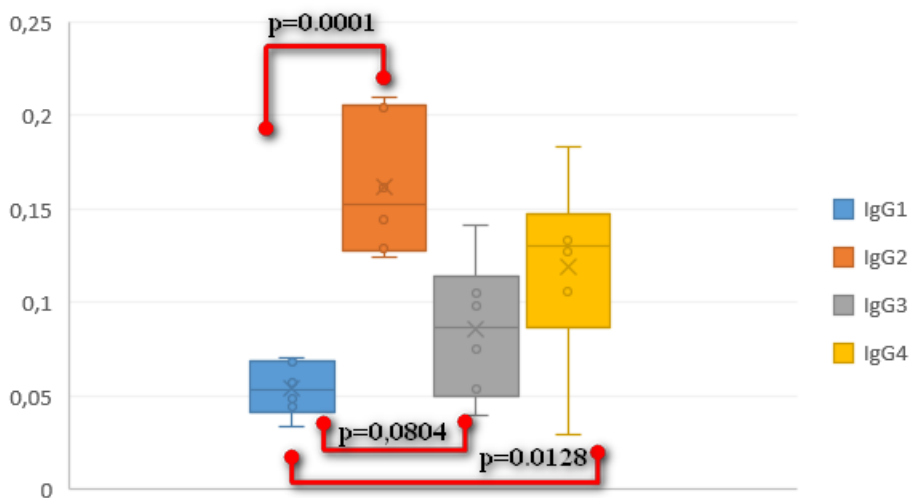
დიაგრამა 12- საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტების სისხლის შრასტში არსებული ანტი-აქგბ IgG აუტოანტისხეულების გადანაწილება ქვეკლასების მიხედვით



დიაგრამა 13 - საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტების სისხლის შრასტში არსებული ანტი-აქგბკტუ IgG აუტოანტისხეულების გადანაწილება ქვეკლასების მიხედვით



დიაგრამა 14 - საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტების სისხლის შრასტში არსებული ანტი-აქგა IgG აუტოანტისხეულების გადანაწილება ქვეკლასების მიხედვით



დიაგრამა 15 - საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტების სისხლის შრასტში არსებული ანტი-აქგბცვ IgG აუტოანტისხეულების გადანაწილება ქვეკლასების მიხედვით

საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტების შრატში ჩვენს მიერ აღმოჩენილი IgG კლასის ანტისხეულების ქვეკლასების კვლევამ გვიჩვენა, რომ ყველა გამოყენებული ანტიგენის საწინააღმდეგო აუტოანტისხეულების უმეტესობა მიეკუთვნება IgG2 ქვეკლასს .

დასკვნები

საკვერცხის კისტის მქონე ქალების დაახლოებით 75%-ის სისხლის შრატში წარმოდგენილია აქგ-სა და მის სუბერთეულებთან დაკავშირების უნარის მქონე, IgG კლასის ბუნებრივი აუტოანტისხეულები, რომელთა დონეც დონორების სისხლის შრატში არსებულ იგივე სპეციფიურობის აუტოანტისხეულების დონესთან შედარებით საკმაოდ მაღალია.

აქგ-სა და მის სუბერთეულებთან დაკავშირების უნარის მქონე IgG კლასის, ბუნებრივი აუტოანტისხეულების დონე საკვერცხის ადენოკარცინომის მქონე პაციენტების სისხლში არ განსხვავდება დონორების სისხლში იგივე ანტისხეულების დონისაგან.

აქგ-სთან და მის სუბერთეულებთან დაკავშირების უნარის მქონე IgM იზოტიპის ბუნებრივი აუტოანტისხეულების დონე ფიქსირდება, როგორც საკვერცხის კისტისა და ადენოკარცინომის მქონე პაციენტების, ასევე დონორების სისხლის შრატებში და მათ შორის სარწმუნო განსხვავება არ არის.

საკვერცხის კისტის მქონე პაციენტების სისხლის შრატში აღმოჩენილი, IgG იზოტიპის, ბუნებრივი აუტოანტისხეულების უმეტესობა IgG2 ქვეკლასს მიეკუთვნება.

ის ფაქტი, რომ ბუნებრივი IgG კლასის აუტოანტისხეულები უკავშირდებიან აქგ-ს და /ან მის სუბერთეულებს, შესაძლოა მეტყველებდეს ორგანიზმში ავთვისებიანი სიმსივნური ზრდისაგან ამ ანტისხეულების დამცველობით როლზე. შემდგომმა კვლევებმა შეიძლება მიგვიყვანოს კიბოს პრევენციის და მკურნალობის ახალ მეთოდებამდე, რომელთა სამიზნეც შერჩევითად აქგ ან/და მისი სუბერთეულები იქნება.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Lustbader JW., Yarmush DL., Birken S., Puett D., Canfield RE. The application of chemical studies of human chorionic gonadotropin to visualize its three-dimensional structure. *Endocrine Reviews, USA* 1993; 14(3): 291-311.
2. Acevado HF. Human chorionic gonadotropin (hCG), the hormone of life and death: A review. *J Experimental Therapeutics and Oncology* 2002; 15:212.
3. Delves PJ., McBride JD., Porakishvili N., Chikadze N., Kvirkvelia N., Janikashvili N., Charrel M., Martensen P., Justesen J., Dalla Chiesa M., Laylor R., Jackson A., Lund T. Development of an antifertility vaccine based upon a mutated human chorionic gonadotropin b-chain. *Recent Res. Devel Immunology* 2003; 5: 283-293.
4. Reiss AM., Singer HO., Hawk I., Jacobs RJ. Immunologic cross-reaction between luteinizing hormone and antisera to human chorionic gonadotropin. *In. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 1996; 30 561-574.
5. Laptorn AJ., Harris DC., Littlejohn A., Lustbader JW., Canfield RE., Machin KJ., Morgan FJ., Isaacs NW. Crystal structure of human chorionic gonadotropin. *Nature* 1994; 369: 455-461.
6. Berger P., Sturgeon C., Bidart IM., Paus E., Gerth R., Niang M., Bristow A., Birken S., Stenman UH. The ISOBM TD-7 Workshop on hCG and related molecules. Towards user-oriented standardization of pregnancy and tumor diagnosis: assignment of epitopes to the three-dimensional structure of diagnostically and commercially relevant monoclonal antibodies directed against human chorionic gonadotropin and derivatives. *TumourBiol.* 2002; 23: 1-38.
7. Seshagiri PB., Hearn JP. In vitro development of in-vivo-produced rhes monkey morulae and blastocysts to hatched, attached and post-attached blastocyst stages: morphology and early secretion of chorionic gonadotropin. *Hum. Reprod.* 1993; 8: 279-287.
8. Rouas N., Christophe S., Housseau F., Bellet D., Guillet JG., Bidart JM. Influence of protein primary structure on antigen processing. *J Immunol.* 1993; 150: 782-792.
9. Iles RK., Chard T. Molecular insights into the structure and function of human chorionic gonadotropin. *J Molecular Endocrinology* 1993; 10, 217-234.

10. Rock EP., Czaplicki J., Milon A. Structural analysis of the carboxyl terminal peptide from human chorionic gonadotropin beta-subunit by two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Am J Reprod. Immunol.* 1996; 35(3): 156-62.
11. Society for endocrinology, "Human Chorionic gonadotrophin," *you and your hormones*, 2015.
12. L. C. B. R. C. T. Norman RJ Menabawey M, "Relationship between blood and urine concentrations of intact human chorionic gonadotropin and its free subunits in early pregnancy," *ObstetGynecol*, 1987.
13. J. A. K. E. H. E. Randeve HS, "hCG production and activity during pregnancy.," *FetalMaternMedRev*, 2001.
14. Akhvlediani L., Chikadze N., Janikashvili N., Kartvelishvili M., Baloiani D., Porakishvili N. Lymphocyte subpopulations in the blood of women with malignant and benign tumors of reproductive system. *Proc. Georgian Acad. Sci., Biol.Ser. B* 2005; 3(3): 43-48.
15. Yoshida J., Nagai K., Nishimura M., Takahashi K., Kakinuma R., Nishiwaki Y., Yokose T. Secretion of hCG/b-hCG by squamous cell carcinoma of the lung in a 31-year-old female smoker. *Japanes J Clinical Oncology* 2000; 30: 163-166.
16. He L-Z., Ramakrishna V., Connolly JE., Wang X-T., Smith PA., Jones CL., Valkova-Valchanova M., Arunakumari A., Trembl JF., Goldstein J., Wallace PK., Keler T., Endres MJ. A novel human cancer vaccine elicits cellular responses to the tumor-associated antigen, human chorionic gonadotropin β . *Clinical Cancer Research* 2004; 10: 1920-1927.
17. Hearn MT., Gomme PT. Molecular architecture and biorecognition processes of the cystine knot protein superfamily: part I. The glycoprotein hormones. *J Mol. Recognit.* 2000; 13: 223-278.
18. Lund T., Delves PJ. Immunological analysis of epitopes on hCG. *Reviews of Reproduction* 1998; 3: 71-76.
19. Acevedo HF., Tong JY., Hartsock RJ. Human chorionic gonadotropin β subunit gene expression in cultured fetal and cancer cells of different types and origins. *Cancer* 1995; 76: 1467-1475.
20. Jackson AM., Klonisch T., Laphorn AJ., Berger P., Isaacs NW., Delves PJ., Lund T., Roitt IM. Identification and selective destruction of shared epitopes in human chorionic gonadotropin β subunit. *J ReprodImmunol.* 1996; 31; 21 36.
21. Birken S., Gawinowicz Koks MA., Amr S. Structural and functional studies of the tryptic core of the human chorionic gonadotropin beta-subunit. *Endocrinol.* 1995; 121(2): 657-667.

22. S. K. I. S. O. C. S. M. N. T. S. S. O. S. Hoshi S, "Significance of simultaneous determination of serum human chorionic gonadotropin (hCG) and hCG-beta in testicular tumor patients.," *Int J Urol* , 2000.
23. Ozturk M., Bellet D., Manil L., Hennen G., Frydman R., Wands JR. Physiological studies of human chorionic gonadotropin (hCG). *Endocrinology* 1987; 120: 549-558.
24. B. S. P. D. Kelly LS, " Determination of hyperglycosylated human chorionic gonadotropin produced by malignant gestational trophoblastic neoplasias and male germ cell tumors using a lectin-based immunoassay and surface plasmon resonance," *Mol Cell Endocrinol* , p. 260–262;33–39., 2007.
25. I. R. C. T. .. Gillott DJ, "The effects of beta-human chorionic gonadotrophin on the in vitro growth of bladder cancer cell lines," *Br J Cancer*, pp. 223-226, 1996.
26. K. P. E. C. F. H. M. S. Dirnhofer, " Production of trophoblastic hormones by transitional cell carcinoma of the bladder: association to tumor stage and grade.," *Hum Pathol* 29: , 1998
27. S. J. Cole LA, " hCG tests in the management of gestational trophoblastic diseases.," *Clin Obstet Gynecol* , 2003.
28. K. E. K. G. Cole LA, "Detecting and monitoring trophoblastic disease: new perspectives on measuring human chorionic gonadotropin levels.," *J Reprod Med* , 1994.
29. S. J. Cole LA, " Selecting an appropriate hCG test for managing gestational trophoblastic disease and cancer.," *J Reprod Med* , 2004.
30. <https://helix.ru/kb/item/13-151>
31. Lenhard et al.: Human chorionic gonadotropin and its relation to grade, stage and patient survival in ovarian cancer. *BMC Cancer* 2012 12:2.
32. Alfthan H, Haglund C, Dabek J, Stenman UH: Concentrations of human choriogonadotropin, its beta-subunit, and the core fragment of the beta-subunit in serum and urine of men and nonpregnant women. *ClinChem* 1992, 38(10):1981-1987.
33. Stenman UH, Alfthan H, Ranta T, Vartiainen E, Jalkanen J, Seppala M: Serum levels of human chorionic gonadotropin in nonpregnant women and men are modulated by gonadotropin-releasing hormone and sex steroids. *J Clin Endocrinol Metab* 1987, 64(4):730-736.
34. Vaitukaitis JL: Human chorionic gonadotropin as a tumor marker. *Ann Clin Lab Sci* 1974, 4(4):276-280.

- 35.** Rutanen EM, Seppala M: The hCG-beta subunit radioimmunoassay in nontrophoblastic gynecologic tumors. *Cancer* 1978, 41(2):692-696.
- 36.** Mann WJ, Patsner B, Cohen H, Loesch M. Preoperative serum CA-125 levels in patients surgical stage I invasive ovarian adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1988; 80:208–209[PubMed: 3162284]
- 37.** Yurkovetsky Z, Skates S, Lomakin A, Nolen B, Pulsipher T, Modugno F, Marks J, Godwin A, Gorelik E, Jacobs I, Menon U, Lu K, Badgwell D, Bast RC Jr, Lokshin AE. Development of a multimarker assay for early detection of ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2010; 28:2159–2166. [PubMed: 20368574]
- 38.** Luftner D, Luke C, Possinger K. Serum HER-2/neu in the management of breast cancer patients. *Clin Biochem.* 2003; 36:233–240. [PubMed: 12810150]
- 39.** Sack TL, Gum JR, Low MG, Kim YS. Release of carcinoembryonic antigen from human colon cancer cells by phosphatidylinositol-specific phospholipase C. *J Clin Invest.* 1988; 82:586–593. [PubMed: 3042807]
- 40.** Stockert E, Jager E, Chen YT, Scanlan MJ, Gout I, Karbach J, Arand M, Knuth A, Old LJ. A survey of the humoral immune response of cancer patients to a panel of human tumor antigens. *J Exp Med.* 1998; 187:1349–1354. [PubMed: 9547346]
- 41.** Yoshimasu T, Maebeya S, Suzuma T, Bessho T, Tanino H, Arimoto J, Sakurai T, Naito Y. Disappearance curves for tumor markers after resection of intrathoracic malignancies. *Int J Biol Markers.* 1999; 14:99–105. [PubMed: 10399629]
- 42.** Harpio R, Einarsson R. S100 proteins as cancer biomarkers with focus on S100B in malignant melanoma. *Clin Biochem.* 2004; 37:512–518. [PubMed: 15234232]
- 43.** Abendstein B, Marth C, Muller-Holzner E, Wid-schwendter M, Daxenbichler G, Zeimet AG. Clinical significance of serum and ascitic p53 autoantibodies in epithelial ovarian carcinoma. *Cancer.* 2000; 88:1432–1437. [PubMed: 10717627]
- 44.** Crawford LV, Pim DC, Bulbrook RD. Detection of antibodies against the cellular protein p53 in sera from patients with breast cancer. *Int J Cancer.* 1982; 30:403–408. [PubMed: 6292117]
- 45.** Vogl FD, Frey M, Kreienberg R, Runnebaum IB. Au-toimmunity against p53 predicts invasive cancer with poor survival in patients with an ovarian mass. *Br J Cancer.* 2000; 83:1338–1343. [PubMed: 11044359]

- 46.** Gadducci A, Ferdeghini M, Buttitta F, Cosio S, Fanucchi A, Annicchiarico C, Gaggioli O, Bevilacqua G, Genazzani AR. Assessment of the prognostic relevance of serum anti-p53 antibodies in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 1999; 72:76–81. [PubMed: 9889034]
- 47.** Naora H, Yang YQ, Montz FJ, Seidman JD, Kurman RJ, Roden RB. A serologically identified tumor antigen encoded by a homeobox gene promotes growth of ovarian epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98:4060–4065. [PubMed: 11274429]
- 48.** Luo LY, Herrera I, Soosaipillai A, Diamandis EP. Identification of heat shock protein 90 and other proteins as tumour antigens by serological screening of an ovarian carcinoma expression library. *Br J Cancer.* 2002; 87:339–343. [PubMed: 12177805]
- 49.** Lokshin AE, Winans M, Landsittel D, Marrangoni AM, Velikokhatnaya L, Modugno F, Nolen BM, Gorelik E. Circulating IL-8 and anti-IL-8 autoantibody in patients with ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2006; 102:244–251. [PubMed: 16434085]
- 50.** L. A. Cole, "New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin," *Reprod Biol Endocrinol*, 2009.
- 51.** K. S. Cole LA, "Hyperglycosylated hCG: a variant with separate biological functions to regular hCG," *Mol Cell Endocrinol*, 2007.