

2

A SMITH-LEMLI-OPITZ SZINDRÓMA HATÁSA A LIMFOCITÁK KV1.3 CSATORNÁINAK MŰKÖDÉSÉRE ÉS A SEJTEK PROLIFERÁCIÓJÁRA

Balajthy András¹, Pethő Zoltán Dénes¹, Somodi Sándor², P. Szabó Gabriella³, Hajdú Péter¹Debreceni Egyetem OEC, ¹Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet,²I. Belgyógyászati Klinika, ³Gyermekgyógyászati Intézet

A Smith-Lemli-Opitz (SLO) szindróma a koleszterin anyagcsere veleszületett zavarainak egyike, mely a 7-dehydrocholesterol (7DHC) reduktáz enzim dysfunkciójával jellemezhető. A SLO-ban szenvedő gyermekek koleszterin bioszintézise zavart szenved, melynek eredményeképp a szérumban és a szöveti környezetben alacsonyabb koncentrációban található meg a koleszterin, ezzel szemben a 7DHC mennyisége többszöröse a normál értéknek. Továbbá ismert, hogy a 7DHC membránba történő beépülése növeli annak fluiditását és módosítja a raftok működését. Munkacsoportunk korábbi kísérletei során kimutatta, hogy a limfociták aktivációjához esszenciális Kv1.3 kálium ioncsatornák működését nagymértékben befolyásolja a sejtmembrán koleszterintartalma, fizikokémiai jellemzői, valamint, hogy raftokban helyezkednek el. Mindezek alapján vizsgálataink arra irányultak, hogy a betegség hatására módosulnak-e, illetve milyen formában a T sejtek fiziológiáját meghatározó Kv1.3 ioncsatornák biofizikai jellemzői, illetve ez hatással van-e a sejtek osztódási képességére.

Munkánk során beteg és egészséges(kontroll) gyermekek perifériás véréből ficoll-hypaque sűrűség-gradiens centrifugálással mononukleáris sejteket szeparáltunk, majd az elektrofiziológiai mérésekhez monoklonális antitest adhéziós módszer felhasználásával CD4+ T-sejteket izoláltunk. A Kv1.3 ioncsatornáinak áramát patch-clamp technikával, teljes-sejt konfigurációban vizsgáltuk. A sejtek osztódását CFSE hígítási esszével áramlási citométeren követtük, anti-CD3 és anti-CD28 stimulációt követően.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a Kv1.3 csatorna idő- és membránpotenciál függő kapuzásának kinetikai jellemzői (aktiváció, deaktiváció, inaktiváció) lelassultak, az egyensúlyi aktivációját jellemző félaktivációs feszültség pedig a pozitívabb membránpotenciálok felé tolódott el ($V_{1/2,k} = -28.8$ mV $V_{1/2,SLO} = -20.9$ mV). A betegekben származó sejtek az antiCD3-CD28 stimulációra kisebb mértékű proliferációt mutattak, mint a kontroll sejtek. Ezen eredmények alapján feltételezhető, hogy az SLO-szindrómban szenvedő gyermekekben módosul a limfociták fiziológias működése.

CFSE: karboxifluorescein-szukcinimidil-észter