

Κυριακή Σαργανάκη

«Μελέτη έκφρασης των πολυμορφικών μορίων του κύριου συμπλόκου ιστοσυμβατότητας στον όρχι στο ποντίκι»

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα προϊόντα του Μείζονος συμπλόκου Ιστοσυμβατότητας (MHC: Major Histocompatibility Complex) καθώς και οι υποδοχείς των Τ λεμφοκυττάρων (T cell receptors), αποτελούν τα πλέον πολυμορφικά μόρια του ανοσοποιητικού συστήματος, και ανιχνεύονται τόσο σε μεμβρανική, όσο και σε διαλυτή μορφή σε όλα σωματικά υγρά. Ο βαρυσήμαντος ρόλος τους έγκειται τόσο στην ίδια τους την λειτουργία, η οποία είναι η αντογονοπαρουσίαση και η αντίστοιχη απόκριση του οργανισμού, όσο και στην ιδιότητα τους να είναι πολυμορφικά, γεγονός που προσδίδει την ικανότητα αναγνώρισης και απόκρισης σε πληθώρα αντιγονικών πεπτιδίων, και συνεπώς εξελικτικό πλεονέκτημα στους οργανισμούς που φέρουν τον πολυμορφισμό αυτό.

Η διατήρηση και ενίσχυση του πολυμορφισμού των μορίων αυτών, οφείλει να πραγματοποιείται διαμέσου της διαδικασίας της γονιμοποίησης, σε μία μορφή «επιλογής» γαμέτη, έτσι ώστε ο πολυμορφισμός να περνάει από γενιά σε γενιά και το είδος να είναι βέλτιστα αρμοσμένο. Σύμφωνα με μελέτες που έχουν διεξαχθεί, έχειδειχθεί ότι τα μόρια αυτά υπάρχουν στο θηλυκό γαμέτη (ωάρια και κύτταρα ακτινωτού στεφάνου) και σε ιστούς της γυναικείας αναπαραγωγικής οδού, όπως τράχηλος και σάλπιγγα. Επίσης έχειδειχθεί ότι τα μόρια αυτά υπάρχουν και στον αρσενικό γαμέτη, σε μεμβρανική μορφή στα σπερματοζώαρια και σε διαλυτή μορφή στο σπερματικό υγρό.

Η ύπαρξη των μορίων αυτών στον αρσενικό γαμέτη και στο σπερματικό υγρό, δημιούργησε νέα ερωτήματα που αφορούν τον τρόπο και την τοποθεσία που δημιουργούνται τα μόρια αυτά στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα. Κατά τη διάρκεια αυτής της διπλωματικής εργασίας, εξετάστηκε η ύπαρξη των μορίων αυτών, τόσο σε μεμβρανική όσο και σε διαλυτή μορφή στον ιστό του όρχι έχοντας ως οργανισμό μοντέλο Balb/c ποντίκια. Συγκεκριμένα μελετήθηκε η ύπαρξη διαλυτών μορίων τάξης I και τάξης II MHC καθώς και TCRγδ σε καλλιέργεια κυττάρων όρχεων σε διάστημα πέντε ημερών με τη μέθοδο της Ενζυμοσύνδετης Ανοσοπροσοφητικής Δοκιμής (ELISA). Όσον αφορά τα μεμβρανικά μόρια του ανοσοποιητικού συστήματος, εξετάστηκε η παρουσία μορίων τάξης I και τάξης II MHC καθώς και TCRαβ και TCRγδ σε κρυτομέζ από ιστούς όρχεων με ανοσοφθορισμό και παρατήρηση στο αντίστοιχο μικροσκόπιο.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μόρια αυτά υπάρχουν τόσο σε μεμβρανική μορφή στον όρχι όσο και σε διαλυτή σε καλλιέργεια κυττάρων όρχι. Φάνηκε ότι τα μόρια αυτά υπάρχουν σε μεμβρανική μορφή στους όρχεις, και κάθε μόριο που εξετάστηκε είχε διαφορετική κατανομή και έκφραση στα διαμερίσματα του ιστού. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι τα μόρια τάξης I, τάξης II MHC και TCRαβ ευρίσκονται κυρίως στον διάμεσο ιστό, ενώ τα μόρια TCRγδ στα τοιχώματα αλλά και εσωτερικά των σπερματικών σωληναρίων έως και τον αυλό. Όσον αφορά την έκφραση των διαλυτών μορίων MHC και TCRγδ, φαίνεται ότι υπάρχει αυξημένη και χρονοεξαρτώμενη έκφραση διαλυτών μορίων TCRγδ σε σχέση με τα MHC τάξης I και τάξης II στην καλλιέργεια κυττάρων όρχεων.

Μέσω της περαιτέρω μελέτης των μορίων αυτών στην αρσενική γονάδα, στον αρσενικό γαμέτη και τις εκκρίσεις του αναπαραγωγικού συστήματος του αρσενικού ατόμου, θα μπορούσαμε πιθανότατα να κατανοήσουμε καλύτερα τον ρόλο τους, που πιθανότατα σχετίζεται με τον μοριακό μηχανισμό της γονιμοποίησης, και της επιλογής γαμέτη.

Abstract

“Research about expression of polymorphic molecules of major histocompatibility complex in rat testis”

The major histocompatibility complex (MHC) and T cell receptors are the most polymorphic molecules of the immune system and are detected in both membrane and soluble form in all body fluids. Their crucial role lies in their function, which is the antigen presentation and the corresponding response of the organism, as well as in their capacity to be polymorphic, which gives the ability to recognize and respond to a plethora of antigenic peptides, and therefore an evolutionary advantage in organisms carrying this polymorphism.

The preservation and enhancement of the polymorphism of these molecules must take place through the fertilization process, in a form of "gamete" selection, so that the polymorphism to pass from one generation to the next, and as a result the species to have the optimum fitness, in an evolutionary manner. According to studies that have been carried out, these molecules are present in the female gamete (eggs and cumulus cells) and in tissues of the female reproductive tract, such as cervix and fallopian tubes. It has also been shown that these molecules are also present in the male gamete, in membrane form in spermatozoa and in soluble form in seminal fluid.

The existence of these molecules in the male gamete and in the seminal fluid, created new questions regarding the way and the location where these molecules are created in the male reproductive system. During this aftergraduate thesis, we examined the existence of these molecules, both in membrane and in soluble form in the testicular tissue having as a model organism Balb / c mice. Specifically, we examined the existence of soluble class I and class II MHC molecules as well as TCR $\gamma\delta$ in testicular cell culture over a period of five days using the Enzyme-linked Immunosorbent Assay Method (ELISA). As far as the membrane molecules of the immune system are concerned, we examined the presence of class I and class II MHC molecules as well as TCR $\alpha\beta$ and TCR $\gamma\delta$ in cryotomies of testicular tissues by immunofluorescence and observation under the appropriate microscope.

The results showed that these molecules are present both in membrane as well as in soluble form in the testis in testicular cell culture. These molecules appeared to be present in membrane form in the testes, and each molecule tested had a different distribution and expression in the tissue compartments. In particular, it appears that the class I, class II MHC and TCR $\alpha\beta$ molecules are found mainly in the interstitial tissue, while the TCR γ molecules are found in the walls and inside the seminal vesicles up to the lumen. Regarding the expression of soluble MHC and TCR $\gamma\delta$ molecules, there appears to be increased and time-dependent expression of soluble TCR $\gamma\delta$ molecules relative to MHC class I and class II molecules in testicular cell culture.

Through further study of these molecules in the male gonad, gamete and in the secretions of the male reproductive system, we will probably be able to better understand their role, which is likely related to the molecular mechanism of fertilization, and gamete selection.