

mgr Kamila Bujko

Rola receptorów P2X w procesach zasiedlania szpiku kostnego oraz farmakologicznej mobilizacji komórek macierzystych.

Streszczenie

Sygnalowanie purynergiczne uważane jest za jeden z najstarszych systemów sygnalizacji w organizmie. Jest to pozakomórkowy szlak, w którym elementami pośredniczącymi w przekazywaniu sygnału są zewnątrzkomórkowe nukleotydy, w tym adenosyno-5'-trifosforan (ATP, ang. *adenosine-5'-triphosphate*). W związku z ugruntowaną rolą ATP jako nośnika energii metabolicznej, teoria o jego zaangażowaniu w przekaznictwo sygnału zewnątrzkomórkowego została sceptycznie przyjęta. Aktualnie dwójaka rola ATP jest powszechnie akceptowana, co skutkuje skupieniem uwagi na roli sygnalowania purynergicznego w różnych stanach fizjologicznych oraz patologicznych w organizmie. Szczególną rolę sygnalowaniu purynergicznemu przypisuje się w regulacji układu nerwowego i krwionośnego oraz w rozwoju chorób nowotworowych i odpowiedzi immunologicznej. Znaczenie sygnalowania purynergicznego w procesach krwiotwórczych jest znane dla komórek w pełni zróżnicowanych, natomiast jego rola w regulacji krwiotwórczych komórek macierzystych (KKM) nie jest do końca zbadana. W aspekcie badań nad procesami towarzyszącymi terapii z wykorzystaniem KKM wykazano, iż ATP jest ważnym regulatorem procesu mobilizacji, wszczepiania się oraz odnowy hematologicznej. Dodatkowo wykazano, iż receptor P2X7 jest mediatorem działania ATP.

Celem niniejszej pracy było zbadanie potencjalnego znaczenia wybranych receptorów P2X w wyżej wymienionych procesach, towarzyszącym terapii z wykorzystaniem KKM. Profilowanie ekspresji receptorów purynergicznych na mysich oraz ludzkich KKM wykazało, iż receptory P2X1, P2X4 oraz P2X7 charakteryzują się wyższą ekspresją na KKM w porównaniu do komórek jednojądrzastych szpiku lub krwi pępowinowej. Rola receptora P2X7 została potwierdzona we wcześniejszych badaniach, dlatego w prezentowanej rozprawie określano znaczenie receptorów P2X1 oraz P2X4. Przeprowadzając szereg eksperymentów, oceniających rolę wybranych receptorów w procesach towarzyszących terapiom wykorzystującym KKM, zastosowano komercyjnie dostępne inhibitory receptorów oraz unikalne modele zwierzęce.

Uzyskane wyniki potwierdziły znaczenie receptorów P2X1 i P2X4 w procesie farmakologicznej mobilizacji wykorzystującej rutynowo stosowane czynniki - G-CSF oraz AMD3100. Wykazano, iż zablokowanie prawidłowej funkcji receptorów powodowało znaczące upośledzenie tego procesu. Wyniki uzyskiwane podczas eksperymentów określających wydajność wszczepienia się KKM oraz zasiedlania niszy szpikowej również wykazały, iż poprawne funkcjonowanie receptora P2X1 i P2X4 jest niezbędne dla uzyskania prawidłowego wszczepienia. Dodatkowo udowodniono, iż obniżenie wydajności procesu wszczepienia i zasiedlenia niszy szpikowej, prowadzi do wydłużenia czasu potrzebnego do odtworzenia krwiotworzenia po przeszczepie. Dowiedziano również, iż ekspresja receptorów P2X na KKM wpływa na aktywację inflamasomu Nlrp3, który jest kompleksem łączącym sygnałowanie purynergiczne oraz kaskadę układu dopełniacza. Prawidłowe działanie wymienionych układów jest zatem niezbędne dla optymalnego procesu farmakologicznej mobilizacji oraz poprzeszczepowych mechanizmów warunkujących odtworzenie procesu krwiotworzenia.

Podsumowując, wyniki uzyskane w ramach niniejszej rozprawy znacząco zwiększają poziom wiedzy o roli sygnałowania purynergicznego w regulacji migracji KKM oraz ich retencji w niszy szpikowej. Wykazanie znaczenia receptorów P2X1 oraz P2X4 może zostać wykorzystane do optymalizacji protokołów klinicznych, dla pacjentów poddawanych mobilizacji, gdzie wytypowanie mutacji w genach kodujących receptory purynergiczne będzie wskazówką do zastosowania niestandardowych procedur mobilizujących KKM.