

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Chemijos fakultetas



Biochemijos studijų programos magistras

Asta LUČIŪNAITĖ

Magistro darbas

Skirtingos kilmės ir struktūros oligomerinių baltymų bei jų imuninių kompleksų poveikio makrofagų fenotipui tyrimas

Darbo vadovė

Prof. Aurelija Žvirblienė

Konsultantė

Dokt. Indrė Dalgėdienė

Vilnius 2016

SANTRAUKA

Makrofagai atlieka svarbų vaidmenį apsaugant organizmą nuo įvairių patogenų. Jie šalina patogeninius mikroorganizmus ir ląstelių nuolaužas bei gali aktyvinti kitas imuninės sistemos ląsteles. Jie taip pat aptinka antikūnais opsonizuotus antigenus ir juos endocituoja. Todėl makrofagai gali turėti įtakos antigeno pašalinimui tam tikrų ligų atvejais. Pavyzdžiui, mikroglia šalina β -amiloidus ($A\beta$) Alzheimerio ligos (AL) metu. Detalus makrofagų aktyvinimo imuniniais kompleksais mechanizmas nėra žinomas, kaip rodo pasireiškęs AL gydymui naudojamos anti- $A\beta$ terapijos šalutinis poveikis. Dėl to šio darbo tikslas yra iširti, kaip keičiasi makrofagų fenotipas, paveikus juos $A\beta$ ir virusiniais oligomeriniais baltymais (tymų viruso, WU poliomos viruso ir metapneumoviruso) bei jų imuniniais kompleksais (IK). Tyrimo modelis – pirminė BALB/c pelių blužnies ląstelių kultūra. Makrofagai buvo gauti iš blužnies ląstelių, veikiant makrofagų kolonijas stimuliuojančiu faktoriumi. Uždegiminių makrofagų M1 ir priešūždegiminių makrofagų M2 žymenų raiška buvo tirta tėkmės citometrijos ir imunofermentinės analizės metodais. Buvo nustatytas M1 ir M2 makrofagų fenotipo susidarymas po poveikio $A\beta$ oligomerais ir jų IK. Paveikus makrofagus $A\beta$ oligomerų IK, nustatyta didesnė IL-10 sekrecija lyginant su atitinkamais oligomeriniais baltymais. Didesnė IL-10, fagocitozę slopinančio veiksnio, sekrecija gali rodyti neigiamą imuninių kompleksų poveikį fagocituojamų oligomerų suskaidymo efektyvumui. Makrofagų aktyvinimas virusiniais oligomeriniais baltymais ir jų IK sukėlė M1 makrofagų susidarymą. Šiuo atveju aktyvinimo signalas buvo mažesnis palyginus su $A\beta$ oligomerais. Apibendrinant, priklausomai nuo oligomerinių antigenų kilmės ir jų struktūros ypatybių, šie baltymai ir jų IK gali sukelti skirtingą makrofagų aktyvinimą – gali susidaryti tiek uždegiminėmis, tiek priešūždegiminėmis savybėmis pasižymintys makrofagai.

SUMMARY

Investigation of the Impact of Different Oligomeric Proteins and Their Immune Complexes on the Phenotype of Macrophages

Macrophages are a part of organism defence system. They remove pathogenic microorganisms and cellular debris and may give an activation signal to other cells of the immune system. They also can detect antigens opsonized with antibodies and internalize them. Therefore, macrophages might have an impact on the efficiency of antigen elimination in certain diseases. An example is microglia-mediated removal of β -amyloid ($A\beta$) oligomers in Alzheimer's disease (AD). However detailed mechanism of macrophage activation by the immune complexes (IC) is unknown as certain side effects of anti- $A\beta$ therapy have been shown in treatment of AD. The aim of the current study was to investigate the influence of $A\beta$ oligomers and viral oligomers (measles virus, WU polyomavirus and metapneumovirus) and their IC on macrophage phenotype. The research model was primary spleen cell culture from BALB/c mice. The macrophages were generated from splenic monocytes incubated with macrophage colony stimulating factor. The levels of different cellular markers indicative of either inflammatory macrophage M1 phenotype or anti-inflammatory macrophage M2 phenotype were investigated by flow cytometry and ELISA. Induction of both M1 and M2 phenotype after macrophage treatment with $A\beta$ oligomers and their IC was demonstrated. The IC induced higher expression of M2-related marker IL-10 compared to $A\beta$ oligomers alone. Higher levels of IL-10 may indicate a negative impact of IC on the phagocytic degradation of $A\beta$ oligomers. Macrophage treatment with oligomeric viral antigens and their IC induced the inflammatory phenotype of macrophages. However, the activation signal was lower compared to $A\beta$ oligomers. In conclusion, the activation of macrophages with oligomeric proteins and their IC can induce different signals and lead either to the inflammatory or anti-inflammatory phenotype depending on the origin and structure of the oligomeric proteins.