# ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα Β λεμφοκύτταρα είναι εξειδικευμένος κυτταρικός πληθυσμός του ανοσοποιητικού συστήματος του ανθρώπου, υπεύθυνος για την εκτέλεση των δράσεων της χυμικής άνοσης απάντησης, στο πλαίσιο της προσαρμοστικής ανοσίας. Τα προϊόντα τα οποία εκκρίνονται από τα Β λεμφοκύτταρα, ονομάζονται αντισώματα και συνδέονται με τμήματα των παθογόνων (π.χ. συστατικά του βακτηριακού ή ιικού τοιχώματος) ή εκκρινόμενα παράγωγά τους (π.χ. βακτηριακές τοξίνες),που συνολικά χαρακτηρίζονται ως αντιγόνα, και τα εξουδετερώνουν. Τα Β λεμφοκύτταρα ακολουθούν δύο οδούς διαφοροποίησης, είτε προς Β λεμφοκύτταρα μνήμης τα οποία έχουν την ικανότητα να θυμούνται κάθε συγκεκριμένο αντιγόνο που αντιμετώπισαν και να είναι σε θέση να ενεργοποιήσουν μια ισχυρή και άμεση απάντηση σε κάθε επόμενη προσβολή από το συγκεκριμένο αντιγόνο, διαφοροποιoύμενα είτε προς πλασματοκύτταρα, δηλαδή κύτταρα που εκκρίνουν αντισώματα, ενεργοποιημένα Β λεμφοκύτταρα τα οποία ήρθαν σε επαφή με το αντιγόνο.

Τα Β λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη ενός μονοκλωνικού πληθυσμού Β λεμφοκυττάρων ο οποίος δημιουργείται λόγω απορρύθμισης των φυσιολογικών διεργασιών του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης ενός ενεργοποιημένου Β λεμφοκυττάρου. Μελέτες υποστηρίζουν επίσης και τον ρόλο της σηματοδότησης μετά την ενεργοποίηση του Β κυτταρικού υποδοχέα.

Τα λεμφώματα της οριακής ζώνης αποτελούν το 9% του συνόλου των Β-λεμφωμάτων. Προέρχονται από λεμφοκύτταρα που σχηματίζουν το εξωτερικό περίβλημα του βλαστικού κέντρου και εντοπίζονται άλλοτε στους λεμφαδένες, άλλοτε στον σπλήνα και συνηθέστερα στους βλεννογόνους. Είναι κατά κανόνα ήπια, χωρίς συμπτώματα, με βραδεία εξέλιξη. Το σπληνικό λέμφωμα της οριακής ζώνης (ΣΛΟΖ | splenic marginal-zone lymphoma, SMZL) αποτελεί Β λέμφωμα χαμηλής κακοήθειας και αντιπροσωπεύει το 1-2% όλων των μη Hodgkin λεμφωμάτων. Το κύριο κλινικό χαρακτηριστικό του είναι η σπληνομεγαλία.

Στην Ταξινόμηση των Κακοήθων Λεμφοϋπερπλαστικών Νόσων της WHO (2001) και στην αναθεώρησή της το 2008, το ΣΛΟΖ αναγνωρίζεται ως διακριτή κλινικοπαθολογοανατομική οντότητα με σαφείς μορφολογικές, κυτταρογενετικές, ανοσοφαινοτυπικές και ιστογενετικές ιδιαιτερότητες. Από το 2004, αναγνωρίζεται και το Σπληνικό Λέμφωμα με Λαχνωτά Λεμφοκύτταρα (Splenic Lymphoma with Villous Lymphocytes, SLVL) ως υπότυπος του ΣΛΟΖ, λόγω των ταυτόσημων ιστολογικών, ανοσοφαινοτυπικών και γονοτυπικών ευρημάτων τους στο υλικό της σπληνεκτομής, με την μόνη διαφορά της παρουσίας λαχνωτών (villous) Β-λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα. Έτσι το ΣΛΟΖ διακρίνεται σε δύο υποτύπους: με ή χωρίς λαχνωτά κύτταρα στο περιφερικό αίμα.

Το ΣΛΟΖ εμφανίζει ιδιαίτερο ανοσογενετικό προφίλ με έντονη επιλεκτικότητα στο ρεπερτόριο των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών (συχνότητα γονιδίου IGHV1-2\*04 ~ 30%) και σωματική υπερμεταλλαξιγένεση στη συντριπτική πλειονότητα των περιπτώσεων. Σε προηγούμενη μελέτη έχει επιβεβαιωθεί ενδοκλωνική ετερογένεια (ΕΕ) στα γονίδια της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών στο ΣΛΟΖ, ισχυρή ένδειξη για το ρόλο της συνεχιζόμενης αντιγονικής διέγερσης στην επιλογή των κλωνογενών κυττάρων και την κλωνική εξέλιξη της νόσου.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε το φαινόμενο της ενδοκλωνικής ετερογένειας των γονιδίων των ελαφριών αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών με τη στρατηγική της υποκλωνοποίησης των αναδιατάξεων IGKV-IGKJ και IGLV-IGLJ σε 11 ασθενείς με ΣΛΟΖ. Δύο ασθενείς ελέγχθηκαν σε δύο διαφορετικά στιγμιότυπα κατά την πορεία της νόσου.

Οι αναδιατάξεις IGKV-IGKJ και IGLV-IGLJ ενισχύθηκαν με RT-PCR. Τα προϊόντα PCR ενσωματώθηκαν στο πλασμίδιο PCRR 2.1 και κλωνοποιήθηκαν σε κύτταρα Ε. coli/TOP10F’. Συνολικά, αναλύθηκαν 311 υποκλώνοι (10-28/ δείγμα, Δm:25). Η ανάλυση των αλληλουχιών πραγματοποιήθηκε με τα εργαλεία V-QUEST/IMGT και Galaxy.

Έξι από τις 11 αναδιατάξεις που αναλύθηκαν έφεραν επιβεβαιωμένες μεταλλάξεις (μεταλλάξεις που εμφανίζονταν τουλάχιστον σε δύο υποκλώνους) και θεωρήθηκε ότι εμφανίζουν ΕΕ. Η ύπαρξη ενδοκλωνικής ετερογένειας σε αυτές τις περιπτώσεις υποδηλώνει πως τα κλωνικά Β λεμφοκύτταρα διαφοροποιούν περαιτέρω τους υποδοχείς τους μέσω της συνεχιζόμενης εισαγωγής μεταλλάξεων. Αυτές οι μεταλλάξεις οφείλονται στην επαναλαμβανόμενη/συνεχιζόμενη επαφή του κυττάρου με το αντιγόνο που προκάλεσε την αρχική ενεργοποίηση.

Οι περισσότερες σημειακές μεταλλάξεις προκαλούσαν αντικατάσταση αμινοξέος, γεγονός που αποτελεί ένδειξη ωρίμανσης για την επίτευξη υψηλότερης συγγένειας με το αντιγόνο. Επίσης, κατά την ανάλυση φάνηκε ότι σε 3/6 περιπτώσεις οι υποκλώνοι κατατάσσονταν σε δύο κύριες ομάδες, ένδειξη για πρώιμη «διακλάδωση» του κλωνικού πληθυσμού σε υποπληθυσμούς με ιδιαίτερα πρότυπα μεταλλαξιγένεσης.

Συμπερασματικά: (i) η παρούσα μελέτη συμπληρώνει το ανοσογενετικό προφίλ του ΣΛΟΖ προσφέροντας νέες μοριακές ενδείξεις για την παθογένεση του νοσήματος μέσω διεργασιών επιλογής από αντιγόνο. (ii) Παράλληλα, τεκμηριώνει τη σημασία των ελαφριών αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών στην αλληλεπίδραση των κλωνογενών κυττάρων με το μικροπεριβάλλον.