

Исследование влияния карбонил-цианид 4-(трифторметокси)фенилгидразона на продукцию цитокинов тучными клетками

Научный руководитель – Челомбитько Мария Александровна

Смирнов Максим Сергеевич

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: litrsokavinograd@mail.ru

Ключевое значение в развитии аллергических заболеваний играют тучные клетки (ТК). Основную роль в активации ТК при аллергии играет взаимодействие антигенов с IgE и последующее связывание этих комплексов с рецептором FcεRI, что в конечном счете приводит к быстрому экзоцитозу гранул и последующей продукции и цитокинов [1]. Имеются данные о роли мембранного потенциала митохондрий в антиген-зависимой активации ТК. Так, применение некоторых разобщителей окислительного фосфорилирования уменьшает антиген-зависимую дегрануляцию ТК [2]. Однако, влияние разобщителей на продукцию цитокинов ТК не изучено. Было предположено, что разобщители наряду с ингибированием дегрануляции снижают продукцию цитокинов ТК.

Для проверки гипотезы было изучено воздействие разобщителя окислительного фосфорилирования карбонил-цианид 4-(трифторметокси)фенилгидразона (ФССР) на экспрессию генов ФНО и ИЛ-4 в ТК базофильной лейкемии крыс RBL-2H3. Стимуляция клеток осуществлялась путем сенсибилизации клеток с помощью мышиных моноклональных антител изотипа IgE против динитрофенила в течение ночи с последующей стимуляцией антигеном (DNP-BSA) в течение 2 часов. Экспрессию генов определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Для оценки цитотоксичности использовался резазуриновый тест. Статистическая обработка данных проводилась в программе GraphPad Prism 8.0. Для оценки статистической значимости отличий применяли тест множественных сравнений Даннета

Вначале была проведена оценка жизнеспособности клеток RBL-2H3 через 24 часа после их инкубации с ФССР в концентрациях 1 и 10 мкМ в течение 1 часа. В ходе выполнения данного анализа не было обнаружено цитотоксического эффекта ФССР. Анализ результатов оценки экспрессии генов ФНО и ИЛ-4 показал, что предварительная инкубация клеток RBL-2H3 с ФССР в концентрациях 1 и 10 мкМ в течение 1 часа не влияет на базовый уровень экспрессии генов цитокинов ФНО и ИЛ-4. При этом обработка клеток с помощью ФССР в концентрации 10 мкМ достоверно уменьшала антиген-зависимую экспрессию ИЛ-4 на 67 %. Предобработка клеток ФССР в более низкой концентрации не оказывала такого эффекта. При этом ни одна из исследуемых концентраций ФССР не влияла на антиген-зависимую экспрессию гена цитокина ФНО.

Полученные результаты свидетельствуют об ингибировании антиген-зависимой экспрессии цитокина ИЛ-4 в ТК под действием ФССР. Однако, механизм этого процесса нуждается в дальнейшем исследовании.

Источники и литература

- 1) Kanagaratham C, El Ansari YS, Lewis OL, Oettgen HC. IgE and IgG Antibodies as Regulators of Mast Cell and Basophil Functions in Food Allergy // Front Immunol. 2020. 11:603050.

- 2) Mohr FC, Fewtrell C. The relative contributions of extracellular and intracellular calcium to secretion from tumor mast cells. Multiple effects of the proton ionophore carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone//J Biol Chem. 1987. 262:10638–43.