

Влияние препаратов внутривенных иммуноглобулинов и рекомбинантного G-CSF на цитотоксическую активность НК-клеток

Научный руководитель – Михайлова Валентина Анатольевна

Ковалева А.А.¹, Ошколова А.А.², Зементова М.С.³, Давыдова А.А.⁴

1 - Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: lapislapis1999@gmail.com*; 2 - Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: lapislapis1999@gmail.com*; 3 - Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: lapislapis1999@gmail.com*; 4 - Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: lapislapis1999@gmail.com*

Бесплодие может быть связано с нарушением механизмов иммунной толерантности. В клинической практике для лечения бесплодия используют препараты внутривенных иммуноглобулинов (ВВИГ) и рекомбинантного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF). Исследование влияния этих препаратов на НК-клетки актуально. Целью работы была оценка влияния препаратов ВВИГ и G-CSF на функциональную активность НК-клеток.

Использовали клетки линии НК-92 (АТСС, США) в качестве клеток-эффекторов и клетки линии К-562 (АТСС, США) в качестве клеток-мишеней, препараты ВВИГ («Интрафект», Биотест АГ, Германия) и G-CSF («Нейпомакс», Фармстандарт-Уфавита, Россия). Оценку нетоксичных доз препаратов ВВИГ и G-CSF проводили для клеток линий К-562 и НК-92. Клетки культивировали с препаратами (для G-CSF на 100 мкл среды - 1 500 000 МЕ, 750 000 МЕ, 400 000 МЕ, 375 000 МЕ, 187 500 МЕ, 93 750 МЕ, 46 875 МЕ, 23 437 МЕ, 11 719 МЕ, 5 859 МЕ, 2 930 МЕ, 1464 МЕ, 732 МЕ, 366 МЕ, 183 МЕ, 91 МЕ, 45 МЕ, 23 МЕ, 12 МЕ, 6 МЕ, 3 МЕ, 1,5 МЕ; для ВВИГ - 25 мг/мл, 12,5 мг/мл, 6,25 мг/мл, 3,125 мг/мл, 1,6 мг/мл, 0,8 мг/мл, 0,4 мг/мл, 0,2 мг/мл) и без них в течение 24 часов. Для оценки клеточной гибели использовали раствор пропидия йодида (Sigma-Aldrich, США) в конечной концентрации 5 мкг/мл.

Цитотоксическую активность клеток линии НК-92 оценивали в отношении клеток линии К-562 (соотношение эффектор:мишень - 5:1), с препаратами ВВИГ (12 мг/мл, 6 мг/мл, 3 мг/мл, 1,5 мг/мл, 0,8 мг/мл, 0,4 мг/мл, 0,2 мг/мл) и G-CSF (750 000 МЕ, 400 000 МЕ, 100 000 МЕ, 30 000 МЕ, 15 000 МЕ, 7 500 МЕ, 2 500 МЕ, 1 000 МЕ, 500 МЕ - на 100 мкл среды). Клетки культивировали в течение 4 часов. Оценку гибели клеток проводили аналогично, используя раствор пропидия йодида. Пробы анализировали на проточном цитометре FACSCantoII (BD, США), использована статистическая программа GraphPad Prism 8 (критерии Kruskal-Wallis и Mann-Whitney).

Гибель клеток линии К-562 по сравнению со значением гибели клеток без добавления препаратов повышена в присутствии G-CSF в дозе 1 500 000 МЕ и ВВИГ в дозе 25 мг/мл ($p < 0,05$; $n=3$). Препараты G-CSF в дозах 1 500 000 МЕ и 750 000 МЕ, а также ВВИГ в дозе 25 мг/мл повышали гибель клеток линии НК-92 ($p < 0,05$; $n=6$) по сравнению с показателем для клеток без препарата.

Гибель клеток линии К-562 в присутствии клеток линии НК-92 и препаратов ВВИГ в дозе 12 мг/мл снижена по сравнению с гибелью клеток без препаратов ($p < 0,05$; $n=4$). G-CSF в дозе 400 000 МЕ ($p < 0,05$; $n=4$) снижал гибель клеток-мишеней в присутствии НК-клеток по сравнению с клетками без препаратов.

Таким образом, приведенные концентрации препаратов не являются токсичными для клеток и вызывают снижение гибели клеток-мишеней линии К-562 в присутствии клеток-эффекторов линии НК-92.