

*Е. М. НАЗАРЕНКО^{1,2}, Н. А. МОРОЗОВА³, А. В. ВЕЛИЧКО^{1,2},
Ж. В. КОЛЯДИЧ³, Д. Б. НИЖЕГОРОВОДА^{1,2}*

**ПРОДУКЦИЯ ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА ЛИМФОИДНЫМИ
КЛЕТКАМИ В КО-КУЛЬТУРЕ С КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИЕЙ K562
У ПАЦИЕНТОВ С НОВООБРАЗОВАНИЯМИ**

¹*НИИ экспериментальной и клинической медицины БГМУ, а/г Лесной, Беларусь*

²*Международный государственный экологический институт
имени А. Д. Сахарова БГУ, Минск, Беларусь*

³*РНПЦ онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова,
223040, а/г Лесной, Беларусь
E-mail: el.m.nazarenko@gmail.com*

Введение. Интерферон-гамма (IFN- γ) представляет собой плейотропный цитокин, обладающий противовирусной, противоопухолевой и иммуномодулирующей функциями. В воспалительной среде IFN- γ запускает активацию иммунного ответа и стимулирует элиминацию возбудителей, а также предотвращает чрезмерную активацию иммунной системы и повреждение тканей, что поддерживается сложными и до конца не изученными механизмами [1]. Актуальным направлением в онкоиммунологии являются исследования IFN- γ в качестве перспективного терапевтического агента и потенциального прогностического маркера малигнизации опухолевого процесса.

Республика Беларусь входит в категорию стран с высоким риском развития синоназальных новообразований, которые включают гетерогенную группу злокачественных и доброкачественных опухолей полости носа и околоносовых пазух. Однако иммунные механизмы злокачественной трансформации доброкачественных синоназальных новообразований, представленных преимущественно инвертированной папилломой, до сих пор остаются предметом активного обсуждения.

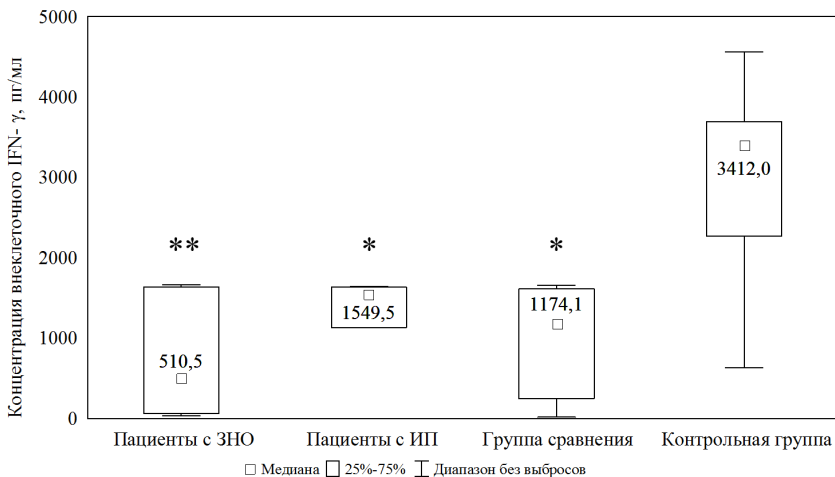
Цель работы – оценить продукцию внеклеточного IFN- γ лимфоидными клетками в ко-культуре с опухолевой линией K562 у пациентов со злокачественными и доброкачественными синоназальными новообразованиями.

Материалы и методы. Материалом исследования являлись мононуклеары периферической крови (МПК) 20 пациентов (10 мужчин и 10 женщин, средний возраст 61,5 (48,5–73,8) года), среди которых 8 пациентов со злокачественными синоназальными новообразованиями, 6 – с инвертированной папилломой, 6 – с полипозным риносинуситом (группа сравнения) и 6 здоровых лиц (контрольная группа), сопоставимых по возрасту и полу. Совместное культивирование выделенных на градиенте плотности Roti®Sep 1077 (Carl Roth, Германия) МПК и клеток-мишеней K562 ($1 \cdot 10^4$ клеток на лунку) проводили в соотношении 6,25 : 1 в культуральной среде RPMI-1640 (Sigma, Германия) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки, 1 % антибиотика-антимикотика и 1 % L-глутамина (Gibco, Великобритания) в течение 3 сут

при 37 °C и 5 % CO₂. Для оценки жизнеспособности клеток-мишеней культуру K562 окрашивали карбоксифлуоресцеином 7 мМ (CFSE, Sigma, Германия) и по окончании культивирования добавляли в ко-культуры пропидий йодид (Elabscience, Китай). Регистрацию результатов выполняли на 5 000 клеток K562 в пробе с использованием проточного цитометра CytoFlex (Beckman Coulter, США). Концентрацию IFN-γ в супернатантах определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа согласно инструкции производителя с использованием коммерческого набора «Гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ» («Вектор-БЕСТ», Россия), чувствительность набора – 2,0 пг/мл. Результаты регистрировали на микропланшетном фотометре Sunrise (Tecan, Австрия) при λ = 450 нм. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0.

Результаты и их обсуждение. Оценка цитотоксичности эффекторных клеток в исследуемых группах выявила снижение количества погибших клеток опухолевой культуры K562 в присутствии МПК у пациентов со злокачественными (44,7 (38,0–54,7) %) и доброкачественными (46,2 (40,0–53,0) %) новообразованиями относительно контрольной группы (57,3 (46,5–64,3) %; $p = 0,02$ и $p = 0,05$ соответственно), что может свидетельствовать о нарушении реализации эффекторных механизмов цитотоксичности у пациентов с синоназальными опухолями.

Наряду с этим выявлено снижение внеклеточной продукции IFN-γ в супернатантах ко-культур у пациентов со злокачественными и доброкачественными синоназальными новообразованиями ($p = 0,01$ и $p = 0,04$ соответственно), а также у лиц группы сравнения ($p = 0,03$) относительно контрольной группы (рисунок).



Уровни внеклеточного IFN-γ в ко-культуре МПК у пациентов с K562
(* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по отношению к контрольной группе).

ЗНО – злокачественные новообразования, ИП – инвертированная папиллома

Установлена связь между поставленным диагнозом и уровнем клеточной гибели культуры K562 при совместном культивировании с эффекторными клетками ($R = -0,35$; $p = 0,009$): чем выше степень малигнизации, тем менее эффективно опухолевая культура уничтожалась цитотоксическими клетками пациентов. Кроме того, между концентрацией внеклеточного IFN- γ и степенью малигнизации опухолевого процесса также выявлена отрицательная корреляция ($R = -0,47$; $p = 0,02$), но при этом статистически значимой зависимости с гибелью клеток-мишеней не установлено.

Полученные результаты можно соотнести с литературными данными о том, что в процессе прогрессирования новообразования основные популяции цитотоксических клеток теряют свою функциональную активность, снижая продукцию IFN- γ в микроокружении опухоли, что влияет на подавление элиминации раковых клеток. Показано, что низкие дозы IFN- γ могут обуславливать метастазирование опухоли, тогда как высокие концентрации в опухолевом микроокружении приводят к регрессии новообразования [2]. Таким образом, появляется все больше доказательств того, что IFN- γ может стать будущей терапевтической мишенью для воздействия на лимфоидные клетки пациентов с новообразованиями.

Выводы. Противоопухолевый клеточный иммунный ответ эффекторных лимфоцитов в ко-культурах с K562 у пациентов с синоназальными новообразованиями характеризуется сниженной киллерной активностью (предположительно за счет уменьшения продукции внеклеточного IFN- γ) и может обуславливать процесс малигнизации заболевания, что подтверждается корреляционным анализом.

Литература

1. Roles of IFN- γ in tumor progression and regression: a review / D. Jorgovanovic [et al.] // Biomark. Res. – 2020. – Vol. 8, N 1. – P. 1–16.
2. Low-dose IFN- γ induces tumor cell stemness in tumor microenvironment of non-small cell lung cancer / M. Song [et al.] // Cancer Res. – 2019. – Vol. 79, N 14. – P. 3737–3748.

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Совет молодых ученых

МОЛОДЕЖЬ В НАУКЕ 2024

Тезисы докладов
XXI Международной
научной конференции
молодых ученых
(Минск, 29—31 октября 2024 г.)

В двух частях

Часть 2

Медицинские,
физико-
математические,
физико-технические
науки,
химия
и науки о Земле

Минск
«Беларуская навука»
2024