

## Влияние ингибитора CDK8/19 на цитотоксические функции естественных киллеров

Научный руководитель – Соколов Дмитрий Игоревич

Зементова М.С.<sup>1</sup>, Ошколова А.А.<sup>2</sup>, Ковалева А.А.<sup>3</sup>

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

Модуляция цитотоксической активности естественных киллеров открывает широкие перспективы для применения в различных физиологических и патологических процессах. Например, при регуляции иммунологической толерантности в системе мать-плод. Ингибитор киназ CDK8/19 блокирует киназы, участвующие в транскрипционном перепрограммировании клеток. В настоящее время данные о влиянии ингибитора CDK8/19 на естественные киллеры противоречивы и требуют дальнейших исследований.

Изучить влияние ингибитора киназ CDK8/19 на цитотоксические функции клеток линии NK-92 в отношении Jег-3 в *in vitro* модели.

В работе использовали клеточные линии NK-92 (ATCC, США) в качестве клеток-эффекторов и клетки линии Jег-3 (ATCC, США) в качестве клеток-мишеней. NK-92 вносили в объеме 100 мкл и культивировали в 96-ти луночных планшетах для суспензионных культур в концентрации  $3 \times 10^5$  клеток в 1 мл культуральной среды. В часть лунок добавляли ингибитор CDK8/19 в концентрации 1 мкМ/мл и инкубировали 1 час. Затем в определенные пробы вносили TNF $\alpha$  в концентрации 400 Ед/мл и инкубировали сутки. Далее в лунки с NK-92 добавляли по 50 мкл Jег-3 в соотношении эффектор:мишень - 10:1, содержащихся в концентрации  $3 \times 10^4$  клеток в 1 мл среды, предварительно окрашенных карбоксифлуоресцеин сукцинимидиловым эфиром (CFSE) в конечной концентрации 3,6 мкМ (Sigma, США).

В качестве контролей использовались клетки линии Jег-3 без NK-92 с добавлением ингибитора CDK8/19 (1мкМ/мл), TNF $\alpha$  (400 Ед/мл) и без них. Затем клетки инкубировали в течение 4 часов. После инкубации клетки отмывали и обрабатывали раствором пропидия йодида (PI) (Sigma, США) в конечной концентрации 5 мкг/мл.

Анализ проводили с помощью проточного цитофлуориметра FACSCantoII (BD, США), использована статистическая программа GraphPad Prism 8 (критерий Mann-Whitney).

Ингибитор CDK8/19 не оказывал влияния на спонтанную гибель клеток линии NK-92 и клеток линии Jег-3. Ингибитор не изменял цитотоксический эффект клеток линии NK-92 в отношении Jег-3. TNF $\alpha$  увеличивал цитотоксичность клеток линии NK-92 в отношении клеток линии Jег-3 по сравнению с таковой в отсутствие цитокина ( $p < 0.01$ ). Предобработка ингибитором CDK8/19 клеток линии NK-92 отменяла стимулирующий цитотоксический эффект TNF $\alpha$  в отношении клеток трофобласта ( $p < 0.01$ ).

Цитотоксическая активность клеток линии NK-92 в отношении клеток-мишеней линии Jег-3 без ингибитора в присутствии TNF $\alpha$  увеличивается. Ингибитор киназ CDK8/19 отменяет стимулирующий цитотоксический эффект TNF $\alpha$  в отношении клеток трофобласта линии Jег-3.