

9. Рябчук Ф.Н., Пирогова З.И., Александрова В.А. Дисбактериозы у детей. Учебное пособие для врачей-слушателей. – Л., - 1988, 24 с.

#### ГЕНЕРАЦИЯ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ИЗ КЛЕТОК - ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ КОСТНОМОЗГОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Макашин<sup>1</sup> А.И., Кузовлев<sup>2</sup> Е.Н.,  
Ахматова<sup>1</sup> Н.К., Лебединская<sup>3</sup> О.В.,  
Доненко<sup>2</sup> Ф.В., Шубина<sup>2</sup> И.Ж., Киселевский<sup>2</sup> М.В.  
<sup>1</sup>ГУ НИИ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова  
РАМН, Москва

(директор академик РАМН Б.Ф. Семенов)

<sup>2</sup>ГУ Российский научный онкологический центр  
им.Н.Н.Блохина РАМН

(директор академик РАН и РАМН М.И.Давыдов)

<sup>3</sup>ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия МЗ РФ» (ректор профессор В.А. Черкасов)

Центральное место в системе врожденного и приобретенного иммунитета принадлежит дендритным клеткам (ДК). Эти клетки распознают патогенассоциированные молекулярные структуры (ПАМС) микроорганизмов и с помощью цитокинов и хемокинов передают сигнал о проникновении в макроорганизм патогенов Т - и В - лимфоцитам. Зрелые ДК представляют собой профессиональные антигенпредставляющие клетки (АПК), индуцирующие первичный иммунный ответ.

#### Материалы и методы

*Животные.* Мыши линии СВА. Животные содержались в стандартных условиях: в пластиковых клетках с опилками, имели постоянный доступ к воде и пище.

*Культивирование ДК.* ДК получали из клеток костного мозга мышей линии СВА, используя стандартную методику культивирования. В качестве индукторов созревания использовали рекомбинантные GM - CSF и IL - 4 по 10 нг/мл, а в качестве факторов дозревания использовали ВП-4 (50 мкг/мл), липополисахарид (ЛПС) *K. pneumoniae* (0,125 мкг/мл) или фактор некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) для индукции созревания ДК.

#### Результаты

Фазово-контрастная микроскопия клеток, полученных при данных условиях, выявляла звездчатые клеточные формы с характерными цитоплазматическими отростками. Клетки имели вуалевидный характер с многочисленными длинными тонкими отростками на поверхности.

Дендритные клетки, обладающие фенотипическими признаками незрелых, имели низкий уровень экспрессии стимулирующих и МНС молекул. Использование ЛПС *K. pneumoniae*, вакцины ВП - 4 и TNF -  $\alpha$  в качестве индукторов созревания позволило генерировать зрелые ДК, характеризующиеся типичным фенотипом CD34<sup>-</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD40<sup>+</sup>, CD80<sup>+</sup>, CD86<sup>+</sup>, МНС I<sup>+</sup>, МНС II<sup>+</sup>, F4/80<sup>low</sup>.

ДК обладали высокой фагоцитарной активностью по отношению к частицам латекса и условно - патогенным микроорганизмам. Способность к фагоцитозу снижалась по мере созревания клеток.

В культуральной среде со зрелыми ДК достоверно повышался уровень ряда цитокинов (IL - 1 $\beta$ , IL-6, IL-12, INF- $\gamma$ , и TNF- $\alpha$ ) по сравнению с незрелыми ДК, при этом наиболее высокими были концентрации. Содержание IL-2, IL-10 не претерпевало существенных изменений, в то время как продукция IL-4 зрелыми ДК была достоверно ниже, чем у незрелых форм.

Таким образом, из клеток костного мозга при воздействии стандартных ростовых факторов и использовании в качестве индуктора созревания ЛПС *K. pneumoniae*, были получены зрелые ДК, с высокой функциональной активностью.

#### РОЛЬ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК В СТИМУЛЯЦИИ ПРОТОВОИНФЕКЦИОННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА МОДЕЛИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Макашин<sup>1</sup> А.И., Кузовлев<sup>2</sup> Е.Н.,  
Ахматова<sup>1</sup> Н.К., Лебединская<sup>3</sup> О.В.,  
Доненко<sup>2</sup> Ф.В., Шубина<sup>2</sup> И.Ж., Киселевский<sup>2</sup> М.В.  
<sup>1</sup>ГУ НИИ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова  
РАМН, Москва

(директор академик РАМН Б.Ф. Семенов)

<sup>2</sup>ГУ Российский научный онкологический центр  
им.Н.Н.Блохина РАМН

(директор академик РАН и РАМН М.И.Давыдов)

<sup>3</sup>ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия МЗ РФ» (ректор профессор В.А. Черкасов)

В настоящее время использование дендритных клеток (ДК) рассматривают как новую стратегию в разработке вакцинных препаратов для адоптивной иммунотерапии инфекционных заболеваний. Это объясняется тем, что среди других профессиональных антиген презентующих клеток, ДК являются наиболее эффективным связующим звеном при активации врожденного и приобретенного иммунитета. Представляется важным что, создание готового препарата ДК, обладающего протективным эффектом, занимает всего несколько дней и может быть использовано для экстренной профилактики инфекций неизвестной этиологии. Учитывая то, что в последние десятилетия проблема лечения и профилактики инфекций, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами сохраняет свою актуальность в качестве модели исследования для получения вакцины на основе ДК была выбрана *K. pneumoniae*, занимающая одно из первых мест в структуре внутрибольничных инфекций.

#### Материалы и методы

*Животные.* Мыши линии СВА. Животные содержались в стандартных условиях: в пластиковых клетках с опилками, имели постоянный доступ к воде и пище.

*Культивирование ДК.* ДК получали из клеток костного мозга мышей линии СВА, используя стандартную методику культивирования. В качестве индукторов созревания использовали рекомбинантные GM - CSF, IL - 4 по 10 нг/мл.

*Пульсирование ДК лизатом *Klebsiella pneumoniae*.* К ДК добавляли лизат в расчете 5 миллионов лизированных клеток на 1 млн ДК и инкуби-