

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

Макашин¹ А.И., Кузовлев² Е.Н.,
Ахматова¹ Н.К., Лебединская³ О.В.,
Доненко² Ф.В., Шубина² И.Ж., Киселевский² М.В.
¹ГУ НИИ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова
РАМН, Москва

(директор академик РАМН Б.Ф. Семенов)

²ГУ Российский научный онкологический центр
им.Н.Н.Блохина РАМН

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

³ГОУ 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- α) 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 - α в качестве индукторов созревания позволило генерировать зрелые ДК, характеризующиеся типичным фенотипом CD34⁻, CD38⁺, CD40⁺, CD80⁺, CD86⁺, МНС I⁺, МНС II⁺, F4/80^{low}.

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 β , IL-6, IL-12, INF- γ , и TNF- α) 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*

Макашин¹ А.И., Кузовлев² Е.Н.,

Ахматова¹ Н.К., Лебединская³ О.В.,

Доненко² Ф.В., Шубина² И.Ж., Киселевский² М.В.

¹ГУ НИИ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова

РАМН, Москва

(директор академик РАМН Б.Ф. Семенов)

²ГУ Российский научный онкологический центр

им.Н.Н.Блохина РАМН

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

³ГОУ 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-

ровали на протяжении 3 суток при 37⁰ С. Далее инкубируемые ДК снимались с пластика культуральных флаконов при помощи раствора Версена, дважды отмывались средой RPMI - 1640 и ресуспендировались в физиологическом растворе. В качестве контроля использовали ДК, к которым добавляли фактор некроза опухоли (TNF- α) для индукции созревания ДК, также использовались незрелые ДК.

Вакцинация мышей. Мышам вводили по 5 млн ДК(на особь) подкожно трижды с интервалом в 2 недели, контрольной группе вводили физиологический раствор.

Результаты

В различных сериях экспериментов выживаемость иммунизированных мышей, зараженных обсадно - летальной дозой (10 ЛД₅₀) составила 50-80%. При этом у вакцинированных животных, в отличие от контрольной группы не отмечалось признаков интоксикации. Полученные эффекты являются специфическими в силу того, что выживаемость наблюдалась в группе животных, которым вводился зрелые ДК, пульсированные лизатом *K. Pneumoniae*. Во всех остальных группах, в которых мышам вводились зрелые ДК (ДК+TNF- α) либо незрелые, ДК, также как в контроле отмечалась 100% гибель животных.

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМНОГО И ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МОРОФОЛОГИЧЕСКИХ ТИПАХ РОСТА МИОМЫ МАТКИ

Мальшикина А.И., Сотникова Н.Ю.,
Анциферова Ю.С., Перетятко Л.П.

ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства
им. В.Н.Городкова Минздрава России»,
Иваново

Несмотря на длительную историю изучения, этиология и патогенез миомы матки остаются дискуссионными. По-прежнему быстрорастущая миома матки является наиболее частым показанием к удалению матки у женщин детородного возраста. Различают два морфологических типа быстрого роста миомы матки - «истинный» (за счет пролиферации миогенных элементов) и «ложный», в основе которого лежат нарушение питания узлов, отек, дегенеративные изменения в опухоли (Г.А.Савицкий, 2000). Представляет интерес, какие особенности иммунной системы характеризуют различные варианты быстрого роста опухоли.

Цель: установить особенности системного и локального иммунитета у женщин с быстрорастущей миомой матки в зависимости от морфологического типа роста опухоли.

Материалы и Методы исследования. В исследование включены 54 женщины позднего репродуктивного возраста с быстрорастущей миомой матки: 24 пациентки с «истинным» характером роста опухоли и 32 – с «ложным» ростом опухоли. Группу контроля составили 31 фертильных здоровых женщин. Материал для исследования - периферическая кровь, перитонеальная жидкость. Характер роста опухоли был подтвержден морфологическим исследованием удален-

ной матки. Оценивались локализация, размеры, наличие отека и вторичных изменений в узлах. «Истинный» рост миомы подтверждали с помощью гистологических методик: окраска гематоксилином и эозином, по ван-Гизону, гистометрии. Оценку экспрессии активационных и адгезивных молекул на поверхности лимфоцитов проводили с использованием моноклональных антител («Клоноспектр», Москва) методом проточной цитометрии на аппарате «FACSscan».

Результаты. Женщины с быстрорастущей миомой матки при различных вариантах роста опухоли были сопоставимы по среднему возрасту ($43,2 \pm 1,04$ и $43,9 \pm 0,9$ года), особенностям менструальной и репродуктивной функции, экстрагенитальной патологии, сопутствующей генитальной инфекции. У основной массы больных была установлена подбрюшинно-межмышечная локализация миоматозных узлов, однако подбрюшинные узлы чаще характеризовались «истинным» характером роста, а межмышечно-подслизистые – «ложным» ($p < 0,05$, $p < 0,02$ соответственно). При «ложном» характере роста опухоли общие размеры матки чаще превышали 14 недель беременности, а миоматозные узлы обычно были единичными, тогда как при наличии «истинного» роста опухоль чаще была множественной ($p < 0,05$). Давность заболевания миомой матки при «истинном» росте опухоли была достоверно больше, чем при «ложном» ($p < 0,05$).

При анализе состояния иммунокомпетентных клеток периферической крови пациенток с различным характером быстрого роста миомы матки в сравнении друг с другом и со здоровыми женщинами было установлено, что иммунными маркерами «истинного» роста миомы матки на системном уровне являются снижение продукции Т-лимфоцитов с цитотоксической активностью (CD8+) и резкое повышение CD38+ позитивных Т-лимфоцитов. «Ложный» рост миомы матки сопровождается повышенной продукцией естественных киллеров (CD16+), что может быть связано с наличием воспалительного процесса, сопутствующим вторичным изменениям опухоли.

При сравнении особенностей популяционного состава и активации перитонеальных лимфоцитов женщин трех групп установлено, что высокое содержание естественных киллеров (CD16+) и повышенная экспрессия маркеров поздней активации лимфоцитов были характерны для женщин с «ложным» ростом опухоли. Данные параметры при «истинном» характере роста миомы матки не отличались от таковых у здоровых женщин за исключением повышенного показателя CD38-позитивных лимфоцитов, который как на системном, так и на локальном уровне является маркером быстрого роста миомы матки (А.И. Мальшикина, 2004).

Выводы: высокое содержание активированных лимфоцитов в перитонеальной жидкости и естественных киллеров как в периферической крови, так и в перитонеальной жидкости при наличии «ложного» роста миомы матки можно расценивать как активацию иммунного ответа клеточного типа на наличие воспалительного процесса, сопутствующего дегенеративным процессам, происходящим в опухоли. Увеличение количества CD38 - позитивных лимфоцитов на