

Фундаментальные исследования в биологии и медицине

**ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО
ИММУНОМОДУЛЯТОРА НА
ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ
МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

Ахматова¹ Н.К., Лебединская² Е.А.,
Мелехин² С.В., Лебединская² О.В., Доненко¹ Ф.В.,
Шехмамиев² Р.М., Киселевский¹ М.В.
¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва,
²ГОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава,
Пермь

В настоящее время для терапии онкологических и инфекционных заболеваний создаются бактериальные иммуномодулирующие препараты, активирующие макрофаги, лимфоциты, натуральные киллеры (НК-клетки), супрессированные опухолевым процессом.

Цель работы — исследование влияния бактериальной вакцины на цитотоксическую активность (ЦА) моноклеарных лейкоцитов (МЛ) периферической крови человека в культурах.

МЛ выделяли из стабилизированной гепарином периферической крови 15 здоровых доноров. Кровь, разведённую в 2 раза средой 199, центрифугировали в градиенте плотности фиколл-урографина. МЛ, образовавшие интерфазное кольцо, собирали, отмывали в среде 199 и осаждали центрифугированием. Для дальнейшего использования в эксперименте культивировали клетки-мишени эритробластного лейкоза К-562 и колоректального рака Colo в среде RPMI-1640. Использовали поликомпонентную вакцину «Иммуновак-ВП-4» из антигенов условно-патогенных микроорганизмов (ГУ НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН), содержащую липополисахаридный комплекс (ЛПС), ассоциированный с белком наружной мембраны грамотрицательных микроорганизмов, пептидогликан, теиховые кислоты и лабильные белковые компоненты стафилококка. Предварительно определяли прямое цитотоксическое действие вакцины на клетки линии К-562 и Colo в концентрациях от 0,1 до 10,0 мкг/мл и установили отсутствие эффекта. В дальнейшем к МЛ добавляли вакцину в дозах от 0,01 до 10 мкг/мл и инкубировали в течение 72 часов. Для выявления ЦА клеток использовали тест восстановления 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ-тест). Цитотоксическую активность МЛ определяли на линии К-562 и Colo. Опухолевые клетки (3×10⁴ в 1 мл) инкубировали в культуральной среде с обработанной вакциной МЛ в соотношениях 1:5; 1:2,5; 1:1 в микропланшетах. Затем в лунки добавляли витальный краситель МТТ и по оптической плотности, измеряемой на мультискане, рассчитывали процент лизиса опухолевых клеток. Максимальная спонтанная киллерная активность МЛ отмечалась при соотношении 1:5. При данном соотношении клеток-мишеней и клеток-эффекторов вакцина во всех дозах оказывала наибольший стимулирующий эффект на ЦА моноклеаров по отношению к клеткам линии Colo. Далее была изучена способность вакцины ВП-4 индуцировать НК-активность МЛ по отношению к

клеткам линии К-562 с выбранным наиболее оптимальным соотношением клеток-мишеней и клеток-эффекторов — 1:5. Внесение в среду культивирования вакцины в концентрациях 1,0 и 10,0 мкг/мл достоверно повышало уровень цитотоксичности МЛ по отношению к клеткам линии К-562. В эксперименте наблюдался дозозависимый эффект влияния вакцины ВП-4 на цитотоксичность моноклеарных лейкоцитов.

Можно предположить, что при использовании вакцины «Иммуновак-ВП-4» происходит: во-первых, взаимодействие антигенов препарата с ЛПС-рецепторами моноцитов/макрофагов, содержащихся в популяции МЛ с последующей инициацией секреции регуляторных цитокинов (IL-12, TNF и др.), а во-вторых, активация Т-лимфоцитов и НК-клеток (основных эффекторов противоопухолевого иммунитета) под действием белковых компонентов вакцины.

Сложные механизмы влияния подобных вакцин пока изучены недостаточно, что требует продолжения исследований для обоснования применения их в практике клинической онкологии в качестве иммуномодулирующих препаратов.

**ДИНАМИКА ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ
ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК, ГЕНЕРИРОВАННЫХ
ИЗ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ
КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ**

Ахматова¹ Н.К., Лебединская² О.В.,
Киселевский¹ М.В., Гармашова² Е.А.,
Шехмамиев² Р.М., Болотова² Е.И.,
Гусманова² П.С., Пепеляева² Е.А., Мелехин² С.В.
¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва,
²ГОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава,
Пермь

Дендритные клетки (ДК) являются гетерогенными антиген-презентирующими клетками костномозгового происхождения, способными инициировать и регулировать как первичный, так и вторичный Т и В-клеточный иммунитет. На поверхности ДК имеются специфические рецепторы врожденного иммунитета, которые распознают патоген-ассоциированные молекулярные структуры (ПАМС) микроорганизмов.

Цель работы — сравнительное изучение динамики фагоцитарной активности незрелых дендритных клеток и ДК, активированных фактором некроза опухоли (ФНО-α) и вакциной Иммуновак-ВП-4, содержащей антигены условно-патогенных микроорганизмов.

Для получения дендритных клеток использованы клетки костного мозга 20 мышей линии СВА. Костный мозг переводили в полную культуральную среду, содержащую гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и интерлейкин-4 — для генерации ДК. Затем заменяли среду с добавлением в неё вакцину Иммуновак-ВП-4 (25 мкг/мл) или ФНО-α (20 нг/мл), способствующих образованию зрелых дендритных клеток.