

Влияние гексопреналина сульфата (10–6 М) *in vitro* на показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови здоровых доноров

Показатели	Контроль (преинкубация со средой)	Гексопреналина сульфат
Отн. число объектов фагоцитоза	0,90 ± 0,21	0,73 ± 0,18**
Отн. число фагоцитирующих клеток	50,89 ± 5,47	43,75 ± 6,01
Отн. число активных фагоцитов с двумя и более объектами	21,99 ± 6,48	17,70 ± 5,51
Фагоцитарный индекс	1,60 ± 0,16	1,49 ± 0,13**
Абс. число объектов	3007,53 ± 561,51	2334,74 ± 458,31**
Абс. число фагоцитирующих клеток	1763,65 ± 156,10	1462,19 ± 133,83*
Абс. число активных фагоцитов с двумя и более объектами	721,69 ± 174,01	551,85 ± 145,83**

Примечание. * – $p < 0,05$ по *t*-критерию Стьюдента для парных данных; # – $p < 0,05$ по парному Т-критерию Вилкоксона.

Таким образом, у практически здоровых людей гексопреналина сульфат *in vitro* оказывает угнетающий эффект на нейтрофильный фагоцитоз.

Список литературы

- Shilov Ju.I., Orlova E.G. Role of adrenergic mechanisms in regulation of phagocytic cell functions in acute stress response // *Immunol. Lett.* – 2003. – Vol. 86. – P. 229-233.
- Shilov Ju.I., Lanin D.V., Shilov S.Ju., Orlova E.G. Influence of beta-adrenergic receptor blockade on immunomodulatory effects of hydrocortisone // *New Research on Immunology* / Ed. by Barbara A. Veskler / Nova Biomedical Books. – New York: Nova Science Publishers, Inc., 2005. (ISBN: 1-59454-289-9). – P. 167–191.3.
- Rogausch H., Bock T., Voigt K.H., Besedovsky H. The sympathetic control of blood supply is different in the spleen and lymph nodes // *Neuroimmunomodul.* – 2004. – Vol. 11 (1). – P. 58-64.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДК-ВАКЦИН

Лопатина А.Е., Макарова Н.А.

ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения и социального развития России, Пермь, e-mail: Lebedinska@mail.ru

Для создания вакцин на основе дендритных клеток (ДК) проводятся следующие мероприятия. С помощью специальных методов из крови больного выделяются клетки-предшественники, из которых впоследствии выращиваются ДК. Их высаживают в культуральные сосуды с питательными средами и антибиотиками. Во время фазы созревания в культуру клеток добавляют антигены опухолевых клеток, полученные путем генной инженерии, либо лизат опухоли самого пациента. Незрелые ДК способны захватывать эти структуры. Захваченные молекулы претерпевают структурные изменения, чтобы позднее характерный признак этой опухоли мог быть лучше распознан другими иммунными клетками. В результате этих процессов незрелые клетки превращаются в зрелые ДК, несущие на своей поверхности антигены опухоли с особой сигнальной последовательностью. Именно эту последовательность и распознаёт иммунная клетка как чужеродную.

Созревшие дендритные клетки вводятся под кожу пациента, откуда они активно перемещаются в лимфатические узлы, активируя цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ), которые при контакте с опухолевой клеткой уничтожают её. Активные ЦТЛ, при-

мированные чужеродным антигеном, с током крови распространяются по всему организму и реализуют свои киллерные функции.

Использование дендритных клеток для лечения онкологических заболеваний стало особо привлекательным методом после обнаружения ряда опухолеассоциированных антигенов (ОАА). К ОАА следует отнести: во-первых, антигены онкогенных вирусов (при карциноме печени – вирусы гепатита В и С, при раке шейки матки – вирус папилломы, при лимфоме Беркитта – вирус Эпштейна-Барр и др.); во-вторых, изменённые белки, возникшие в результате соматических мутаций; в-третьих, не экспрессируемые в соматических тканях взрослого организма антигены; в-четвертых, нормальные антигены, гиперэкспрессируемые опухолью (антигены меланом).

ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ СВОЙСТВ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

Лопатина А.Е., Макарова Н.А.

ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения и социального развития России, Пермь, e-mail: Lebedinska@mail.ru

Дендритные клетки (ДК) представляют собой профессиональные антигенпредставляющие клетки (АПК) костномозгового происхождения. ДК — ключевой тип клеток на всех этапах реализации эффекторных функций иммунитета, имеющих наиболее мощный потенциал по сравнению с другими АПК. Они обладают уникальной способностью индуцировать и регулировать и первичный, и вторичный иммунный ответ. Кроме того, дендритные клетки способны активировать В-лимфоциты и NK (натуральные киллеры). ДК играют важную роль в инициации и регуляции иммунных реакций, направленных против вирусов, бактерий и других патогенных организмов. Они участвуют в реакции отторжения трансплантата, в развитии иммунологической толерантности, а также в патогенезе различных клинических симптомов и заболеваний. Самое важное свойство дендритных клеток — способность примировать «наивные» Т-лимфоциты при первом их контакте с антигеном. Следовательно, дендритные клетки являются специализированными индукторами специфического Т-клеточного ответа.

ДК, как и клетки крови, имеют своё происхождение от гемопоэтических стволовых клеток. Одна из самых ранних стадий — развитие клеток-предшественников, которые имеют выраженную тенденцию изменения в сторону лимфоидных или миелоидных клеток. Помимо ДК миелоидного и лимфоидного происхождения, циркулирующих в крови и лимфе, существует целый ряд ДК, располагающихся в лимфоидных и в других тканях.

Фолликулярные ДК экспонируют антиген В-клеткам в центрах размножения фолликулов лимфатических узлов, селезёнки и лимфоидной ткани слизистых оболочек. Дендритные клетки центров размножения, экспрессирующие белки главного комплекса гистосовместимости II класса, обнаруживаются внутри вторичных В-клеточных фолликулов. Опухольассоциированные ДК характеризуются фенотипом незрелых ДК с высокой экспрессией CD1a и низкой экспрессией костимулирующих молекул (CD80, CD86, CD40). Эпидермальные ДК – клетки Лангерганса располагаются в базальных и супрабазальных слоях эпидермиса. Интерстициальные ДК (иДК) являются разновидностью миелоидных ДК и известны как тканевые ДК. Дермальные ДК являются разновидностью

иДК, локализируются в периваскулярных областях дермы, участвуют в активации Т-клеток и контактной гиперчувствительности. Все разновидности дендритных клеток выполняют единую функцию.

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ

Макарова Н.А., Лопатина А.Е.

ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения и социального развития России, Пермь, e-mail: Lebedinska@mail.ru

Дендритные клетки (ДК) являются фагоцитирующими клетками, находящимися в тканях организма. Особенно много этих клеток в слизистых оболочках, где они, подобно макрофагам (МФ) и нейтрофилам, поглощают микробы в результате стимуляции через рецепторы фагоцитоза. ДК активируют наивные рециркулирующие Т-лимфоциты, которые прочно связываются с комплексом «пептид-молекула МНС» на поверхности зрелых дендритных клеток в периферических лимфоидных тканях. В результате происходит интенсивная пролиферация и дифференцировка соответствующих по специфичности клонов с превращением их в функционально зрелые эффекторные Т-лимфоциты.

Дендритные клетки медуллярной зоны тимуса играют важную роль в процессе отрицательной селекции созревающих Т-лимфоцитов и в механизмах центральной Т-клеточной толерантности, т.к. они представляют на своей поверхности собственные антигенные пептиды организма в комплексе с белками МНС. Ведущим механизмом центральной клеточной толерантности является процесс отрицательной селекции.

Существуют две субпопуляции Т-клеток памяти: эффекторные Т-клетки памяти (Тпэ), которые могут немедленно отвечать на антиген; центральные Т-клетки памяти (Тпц), которые вначале пролиферируют, генерируя новые эффекторные Т-лимфоциты. Тпц, подобно наивным Т-лимфоцитам, активируются дендритными клетками во вторичных лимфоидных тканях, через которые они рециркулируют. Таким образом, центральные Т-клетки памяти способны стремительно увеличить свою численность и повышать число доступных центральных Т-клеток памяти, а также обеспечить пул Тпэ, которые могут быть быстро активированы при последующих повторных контактах с инфекцией.

Фолликулярные ДК (ФДК) локализируются в лимфоидных фолликулах лимфоузлов. Взаимодействие с ФДК является важным этапом в созревании и дифференцировке В-лимфоцитов.

Таким образом, необходимо отметить, что ДК, как самая активная группа антигенпрезентирующих клеток, являются ключевым звеном взаимодействия между врожденным и адаптивным иммунитетом. При этом зрелые ДК работают наиболее активно и интенсивно, принимая участие в модулировании иммунного ответа.

ДЕЙСТВИЕ ЦИКЛОФОСФАНА НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

Малыкина А.Е., Тройнич Я.Н., Лебединская О.В., Годовалов А.П.

ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Минздравсоцразвития, Пермь, e-mail: alexsandra_1@mail.ru

Известно, что циклофосфан является иммунодепрессантом, проявляющим супрессорную активность как в отношении пролиферирующих, так и «покоя-

щихся» иммунокомпетентных клеток. Интерес вызывает его действие на моноциты периферической крови, которое в дальнейшем может привести к нежелательным последствиям со стороны всех органов и систем – в связи с изменением или нарушением функции тканевых макрофагов, являющихся важным барьером на пути инфекции.

Цель исследования – изучить действие циклофосфана (ЦФ) на фагоцитарную активность моноцитов периферической крови здоровых доноров *in vitro*.

В ходе проведенных исследований, на пробах периферической крови, полученной от 14 человек, было выявлено, что при снижении дозы ЦФ увеличивается количество фагоцитирующих моноцитов. Так, при концентрации ЦФ 100 мкг/мл фагоцитирующие моноциты составляли $24,38 \pm 6,67\%$, при концентрации ЦФ 0,01 мкг/мл фагоцитирующих моноцитов было $45,70 \pm 7,64\%$ ($p < 0,05$ между пробами с концентрацией ЦФ 100 и 0,01 мкг/мл). При использовании ЦФ в высоких дозах снижается фагоцитарное число: при концентрации ЦФ 100 мкг/мл для моноцитов – до $0,28 \pm 0,08$; при концентрации ЦФ 10 мкг/мл для моноцитов – $0,30 \pm 0,08$ (в контрольных пробах для моноцитов – $0,75 \pm 0,14$; $p < 0,05$). Абсолютное число фагоцитирующих моноцитов при концентрации ЦФ 100 и 10 мкг/мл статистически значимо меньше, чем в контрольных пробах ($127,5 \pm 34,6$; $124,6 \pm 28,2$ и $271,4 \pm 47,8$ на 1 мкл крови соответственно; $p < 0,05$). При концентрации 100 мкг/мл число активно фагоцитирующих моноцитов ($11,2 \pm 7,65$ на 1 мкл крови) статистически значимо меньше, чем в контрольных пробах ($98,0 \pm 34,2$ на 1 мкл крови; $p < 0,05$).

Таким образом, в ходе проведенных исследований было показано, что химиотерапевтический цитостатик – циклофосфан – модулирует фагоцитарную активность моноцитов периферической крови человека.

Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-96037р_урал_a и Администрацией Пермского края.

ФАГОЦИТОЗ И ОЦЕНКА ЕГО НАРУШЕНИЙ

Мифтахова А.М.

ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения и социального развития, Пермь, e-mail: Lebedinska@mail.ru

Эндоцитоз делится на два процесса: пиноцитоз и фагоцитоз. Фагоцитоз как фактор неспецифической защиты проявляет себя при проникновении патогенных микробов в организм. Процесс фагоцитоза протекает в несколько стадий: хемотаксис, адгезия фагоцитов к эндотелию, поглощение и переваривание антигена. Для определения функциональной активности фагоцитов проводится оценка поглотительной способности клеток с использованием бактерий. Гибель 96% микробных клеток соответствует норме.

Нарушение хемотаксиса лейкоцитов может быть обусловлено дефектом фагоцитов, наличием ингибиторов хемотаксиса, нарушением адгезии лейкоцитов. В основном это вызвано снижением экспрессии или отсутствием на их поверхности молекул адгезии (например CD11/CD18). Для определения адгезии лейкоцитов применяют метод проточной цитофлюорометрии. Также незначительные нарушения фагоцитоза можно выявить определением активности миелопероксидазы, глутатионпероксидазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, пируваткиназы в фагоцитирующих клетках.

Таким образом, фагоцитоз играет важную роль в защите организма от чужеродных факторов. Нарушение его функции приводит к повышенной восприимчивости к инфекциям.