

ISSN 1810-5033

**НОВОСТИ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ
НАУК**

**NEWS
OF BIOMEDICAL SCIENCES**

Научно-практический и научно-теоретический журнал

Издается с 2001 года

Выходит четыре раза в год

№ 3, 2009

Минск

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

В. С. Улащик (главный редактор),
В. А. Кульчицкий (зам. главного редактора), А. Г. Чумак (зам.
главного редактора), А. В. Сидоров (ответственный секретарь),
Л. И. Арчакова, Ф. И. Висмонт, С. Л. Кабак, В. Н. Калюнов, Л. М. Лобанок,
А. С. Медведев, А. Г. Мрочек, В. Н. Никандров, Е. И. Слобожанина,
В. В. Солтанов, Н. Ф. Сорока, С. Н. Черенкевич

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

К. В. Анохин (Москва, Россия), Ю. А. Владимиров (Москва, Россия),
А. И. Григорьев (Москва, Россия), Р. А. Григорьян (Санкт-Петербург,
Россия), Д. П. Дворецкий (Санкт-Петербург, Россия), В. В. Зинчук (Гродно,
Беларусь), Ю. Д. Игнатов (Санкт-Петербург, Россия), А. И. Кубарко (Минск,
Беларусь), П. Г. Костюк (Киев, Украина), В. А. Матюхин (Москва, Россия),
А. Д. Ноздрачев (Санкт-Петербург, Россия), Г. И. Пономаренко (Санкт-
Петербург, Россия), А. Н. Разумов (Москва, Россия), В. Ф. Сагач (Киев,
Украина), В. О. Самойлов (Санкт-Петербург, Россия), И. Н. Семененя
(Минск, Беларусь), А. П. Солодков (Витебск, Беларусь), К. В. Судаков
(Москва, Россия), Б. И. Ткаченко (Санкт-Петербург, Россия),
В. А. Труфакин (Новосибирск, Россия), G. Burnstock (United Kingdom),
M.-A. Custaud (France), N. Dale (United Kingdom), D. Djuric (Serbia),
R. Gerstberger (Germany), M. J. Kluger (USA), K. M. Spyer (United Kingdom),
M. Szekely (Hungary), W. Winlow (United Kingdom)

Адрес редакции:

*Институт физиологии НАН Беларуси, к. 203, ул. Академическая, 28,
220072, г. Минск, Республика Беларусь
Тел./Факс: (375) 17 284-16-30
Электронная почта: biblio@fizio.bas.-net.by*

СОДЕРЖАНИЕ ФИЗИОЛОГИЯ

Н. О. МАРТУСЕВИЧ, С. Г. ПАШКЕВИЧ, А. М. НОВОСЕЛОВА, С. В. ПАЦЕЕВ, М.-А. КУСТО, В. А. КУЛЬЧИЦКИЙ

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА ТРАНСЛОКАЦИИ ЭНДОТОКСИНОВ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ..... 7

Т. В. КАРАВАЙ

ВЛИЯНИЕ ТОРМОЗНЫХ АМИНОКИСЛОТ НА СЕГМЕНТАРНЫЙ СИМПАТИЧЕСКИЙ РЕФЛЕКС, ВЫЗВАННЫЙ ИШЕМИЕЙ ТОНКОЙ КИШКИ..... 12

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Е. В. ШУЛЬГА, В. В. ЗИНЧУК

ВЛИЯНИЕ 1-МЕТИЛНИКОТИНАМИДА НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ЭНДОТОКСЕМИИ..... 17

А. Ю. НЕЖУТА, И. Л. МОРОЗОВА

МОДУЛЯЦИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БРЮШНОАОРТАЛЬНОГО НЕРВА КРЫСЫ ЛИГАНДАМИ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ЭНДОТОКСИНА..... 23

А. С. МЕДВЕДЕВ, С. Б. КОНДРАШОВА

БАРЬЕРНАЯ ФУНКЦИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ СИМПАТИЧЕСКОГО НЕРВА..... 30

Н. А. МАКСИМОВИЧ, В. В. ЗИНЧУК, Н. Е. МАКСИМОВИЧ

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОТЕЛИЯ, АГРЕГАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ И ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ВЕГЕТО-СОСУДИСТОЙ ДИСТОНИЕЙ..... 34

Т. И. ТЕРПИНСКАЯ

ВЛИЯНИЕ ЦИКЛОФОСФАНА НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЫШЕЙ К ПЕРЕВИВАЕМОЙ ОПУХОЛИ..... 38

МОРФОЛОГИЯ

С. Г. ПАШКЕВИЧ, Я. А. ПЕСОЦКАЯ, Е. П. МИХАДЮК, С. В. КУЛЬЧИЦКИЙ

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОВЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОНОВ ДОРСАЛЬНЫХ И ВЕНТРАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА В КОНТРОЛЬ НОЦИЦЕПТИВНЫХ РЕФЛЕКСОВ..... 44

Л. Н. НОВИКОВА, С. А. НОВАКОВСКАЯ, Л. И. АРЧАКОВА

РЕПЕРФУЗИОННОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ СОСУДИСТОГО СПЛЕТЕНИЯ БОКОВЫХ ЖЕЛУДОЧКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПОСЛЕ ТРЕХЧАСОВОЙ ИШЕМИИ..... 51

БИОХИМИЯ

О. И. ГУБИЧ, С. М. ПЕТРОВА, О. Е. ГРИЦУК, М. В. ШОЛУХ

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ 9,11-ЭТАНОАНАЛОГОВ ПРОСТАГЛАНДИНОВ ГРУППЫ Н..... 57

Т. В. РЯБЦЕВА

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПРОЦЕССЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА..... 61

В. С. ЛУКАШЕВИЧ, Р. И. ГРОНСКАЯ, В. Н. НИКАНДРОВ

ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМИНОГЕНА НА СЕКРЕЦИЮ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 КЛЕТКАМИ ГЛИОМЫ С6 НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ ГИДРОПЕРОКСИДА И ХЛОРИДА АММОНИЯ..... 66

ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

А. Э. ПЫЖ, В. Н. НИКАНДРОВ

ВЛИЯНИЕ МЕДИ НА РОСТ И ОБРАЗОВАНИЕ ГЕМОЛИЗИНОВ ГОСПИТАЛЬНЫМИ ШТАММАМИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*..... 70

БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

А. В. ЗАРОВСКАЯ, И. А. ИЛЬЯСЕВИЧ, О. И. ДУЛУБ, В. А. КУЛЬЧИЦКИЙ

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ГЕМОДИНАМИКИ В СОСУДАХ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ШЕЙНОГО ОТДЕЛА СПИННОГО МОЗГА..... 76

И. В. СЫСОЕВА, В. А. СЕРГЕЕВ, В. В. СОЛТАНОВ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ВЫСОКОИНТЕНСИВНЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА ЧЕЛОВЕКА..... 85

Т. И. ТЕРПИНСКАЯ, К. Д. ЯШИН, В. С. ОСИПОВИЧ, Р. Г. ЛЕМЕШ, В. А. КУЛЬЧИЦКИЙ

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ НАНОКРИСТАЛЛОВ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ КЛЕТОК..... 92

Н. В. НИКОЛАЕВА, Г. А. ВЕЧЕРСКИЙ, А. Г. КРАВЦОВ, С. В. ЗОТОВ

ЭЛЕКТРЕТНО-ТЕРМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ РОЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПАТОГЕНЕЗА ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА..... 100

В. М. РУБАХОВА, В. В. ЕВСТИГНЕЕВ, О. В. КИСТЕНЬ, В. А. ДУБОВСКИЙ, В. В. СЕМАШКО

КОНТРОЛЬ РАВНОВЕСИЯ У ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ..... 107

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

И. Л. МОРОЗОВА, В. С. УЛАЩИК

БОЛЬ: ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И СПОСОБЫ КОРРЕКЦИИ..... 112

С. В. СУРЕНСКИЙ, В. Н. НИКАНДРОВ

ЗНАЧЕНИЕ МИГРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА МОНОЦИТ-ПРОИЗВОДНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ПРИ РАЗРАБОТКЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ВАКЦИН..... 125

Е. В. КРАВЧЕНКО, Л. М. ОЛЬГОМЕЦ

НЕЙРОХИМИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АГОНИСТИЧЕСКОГО ПОВЕДЕНИЯ..... 131

СОБЫТИЯ, ДАТЫ, ЛЮДИ

В. С. УЛАЩИК

И. А. ВЕТОХИН И ОТЕЧЕСТВЕННАЯ ФИЗИОЛОГИЯ (К 125-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ). 138

ПАМЯТИ УЧЕНОГО

БОРИС ИВАНОВИЧ ТКАЧЕНКО (1931 – 2009 гг.) 143

ОТ РЕДАКЦИИ

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ..... 145

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ..... 146

УДК 615.371: 576.5

С. В. СУРЕНСКИЙ, В. Н. НИКАНДРОВ

ЗНАЧЕНИЕ МИГРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА МОНОЦИТ-ПРОИЗВОДНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ПРИ РАЗРАБОТКЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ВАКЦИН

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Иммунопрофилактика и иммунотерапия острых и хронических заболеваний до настоящего времени сопряжены с множеством проблем. Надзорная функция иммунной системы в идеале состоит в «стерилизации» организма от очагов патологии либо эффективном сдерживании развития болезни в случае сохранения источников патологии (так называемых резервуаров) в организме. Создаваемый в результате борьбы с болезнью потенциал иммунной памяти осуществляет «надзор», защищая организм от рецидивов. Однако реальная картина борьбы организма с болезнью далеко не всегда близка к вышесказанному. Инфекционные процессы, новообразования различной этиологии, иные патологии способны развиваться в организме, преодолев защитный порог иммунной системы, нередко приводя к хроническим (или критическим) формам болезни, истощая и разрушая организм. Эффективность борьбы с болезнью повышается, если наряду с фармакологическими препаратами использовать иммуностимулирующее или иммуномодулирующее воздействие. Поэтому поиск действенной стратегии иммунотерапии, и в частности терапевтической вакцинации в сочетании с химиотерапией, логически оправдан.

В современной клинической медицине широко используются неспецифические иммунотерапевтические воздействия путем введения в организм различных цитокинов: интерлейкинов (ИЛ), интерферонов (ИФН), колоние-стимулирующих факторов (КСФ), факторов роста (ФР) и др. [1–4]. Они способны стимулировать или подавлять пролиферацию одних клеток иммунной системы, контролировать дифференцирование и поляризацию других. Неспецифическую иммунотерапию чаще всего используют вместе с фармацевтическими препаратами при лечении заболеваний инфекционной этиологии, опухолей и аутоиммунных заболеваний. Антиген-специфические вакцины успешно используются для профилактики некоторых вирусных и бактериальных инфекций. Терапевтическая вакцинация используется в клинической практике при лечении рассеянного склероза, а в качестве наиболее успешных примеров лечебного применения специфических вакцин можно привести противостолбнячную и антирабическую вакцинации. В ряде случаев целесообразно сочетание специфического и неспецифического воздействия. Анализ течения болезни пациентов с разной степенью нарушения иммунного статуса приводит к однозначному выводу о необходимости развития методов иммунотерапевтической вакцинации.

Поиск и разработка методов противоопухолевой иммунотерапии выявили проявления ощутимых иммунологических и клинических ответов при введении в организм убитых клеток опухоли; лизатов опухолевых клеток или рекомбинантных онкоантигенов; ДНК, кодирующих опухолевых ассоциированных белки. Однако положительный результат иммунотерапевтических методов лечения часто незначителен, клинический эффект не достигает желанной цели или влияние подобной терапии на положительный результат лечения не было определяющим [5]. Сходные результаты получены и при иммунотерапии многих инфекционных заболеваний. В настоящее время иммунотерапия по эффективности в подавляющем большинстве случаев уступает химиотерапии. Тем не менее, именно иммунная система, а не лекарственные препараты способна обеспечить

полное элиминирование патологического очага либо подавление развития заболевания. Поэтому эффективность химиотерапии не снижает потребности в создании действенных терапевтических вакцин.

Дендритные клетки и их получение. В борьбе организма со злокачественными новообразованиями и множеством заболеваний инфекционной этиологии важную роль играет индукция иммунного ответа первого типа. Дендритные клетки (ДК) крови – наиболее эффективные из антиген-презентирующих клеток – играют ключевую роль в индукции иммунного ответа первого типа [6, 7]. Циркулирующие в крови незрелые дендритные клетки (нДК) при встрече с патологическим антигеном фагоцитируют его и, дифференцируясь в зрелые дендритные клетки (зДК), мигрируют в периферические лимфатические органы иммунной системы, где происходит презентация антигена лимфоцитам с активацией антиген-специфичного иммунного ответа. С учетом вышеуказанных свойств выделенные из организма и «накачанные» соответствующим антигеном дендритные клетки являются естественным адьювантом при разработке высокоэффективной терапевтической вакцины. Однако доля циркулирующих в крови естественных ДК невелика. Она составляет около 0,1 % мононуклеаров крови, что ограничивает возможность их выделения и использования. После открытия способа получения *ex vivo* большого количества ДК из моноцитов крови миелоидного происхождения [8, 9] появилось новое направление в практической иммунологии – создание терапевтических вакцин на основе ДК.

Одним из способов генерации большого количества ДК является дифференцирование не-пролиферирующих CD14 моноцитов крови в дендритные клетки. К настоящему времени найдено множество стимуляторов и их комбинаций, обеспечивающих дифференцирование моноцитов в незрелые дендритные клетки (нДК) с последующим этапом стимуляции их созревания в зДК дополнительным набором активирующих молекул. Разработаны методы одноэтапного дифференцирования моноцитов в зрелые дендритные клетки (зДК).

В литературе отмечено получение нДК путем культивирования моноцитов крови в присутствии комбинации гранулоцитарно-макрофагального колоние-стимулирующего фактора (ГМ-КСФ)/ИЛ4 [10] или ГМ-КСФ/ИФН-альфа [11], а так же ИЛ3/ИФН-бета [12]. Получить зДК одноэтапно можно, используя комбинации ГМ-КСФ с одним из следующих стимуляторов: фактором некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа) или липополисахаридом (ЛПС), или с ионофором кальция [13], или аденовирусным вектором-5 [14]. Принципиально иным способом получения ДК из не-пролиферирующих моноцитов является метод их трансэндотелиального перехода без воздействия перечисленных выше цитокинов [15].

Результаты использования различных стимуляторов созревания для получения зДК из нДК широко освещены в научной литературе [10, 16–18], и в настоящей статье мы не останавливаемся на этом вопросе. Для получения незрелых дендритных клеток нами использовалось сочетание ГМ-КСФ/ИФН-альфа, как и в [11], а в качестве стимулятора созревания – ЛПС [19, 20]. Полученные зрелые дендритные клетки показаны на рисунке.

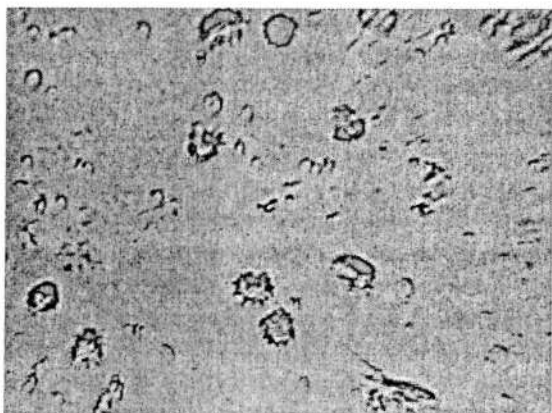


Рисунок. Группа зрелых дендритных клеток

Получены культивированием популяции (≥ 90 % чистоты) CD14 моноцитов крови человека миелоидного происхождения в RPMI-1640 с добавлением ГМ-КСФ/ИФН-альфа (по 1000 МЕ/мл) в течение 4 сут с последующей инкубацией в этой же среде, содержащей ЛПС (50 нг/мл), в течение 24–48 ч.

Клетки имеют выраженные дендритные отростки на цитоплазматической мембране. В цитоплазме большинства из них – фагоцитированные латексные частицы в виде белых включений [19].

Незрелые дендритные клетки способствуют активации иммунного ответа преимущественно регуляторного характера *in vitro* и *in vivo* [21, 22], что открывает перспективу в лечении аутоиммунных заболеваний. Но они малоэффективны при активации ответа первого типа, необходи-

мого для борьбы организма против злокачественных опухолей и ряда внутриклеточных инфекций. Полученные различными способами зрелые моноцит-производные ДК обладают высоким потенциалом активации иммунного ответа первого типа *in vitro* [17]. Судя по результатам [23], их активирующий потенциал несколько ниже, чем у естественных зДК крови. Однако это различие незначительно и не носит принципиального характера. Тем не менее получение зДК любым из упомянутых нами методов недостаточно для получения вакцин на основе дендритных клеток. Причина состоит в том, что достижение эффективного специфического ответа *in vivo* с использованием моноцит-производных ДК зависит не только от определяемого *in vitro* потенциала активации дендритными клетками иммунного ответа, но и от их мобильности *in vivo*, позволяющей ДК мигрировать в периферические лимфатические органы и заселять их соответствующим образом [24].

Проблемы миграции моноцит-производных дендритных клеток. Способность естественных ДК мигрировать к очагу воспаления, а затем после фагоцитирования антигена – в лимфатические узлы определяется, в частности, способностью клеток регулировать экспрессию соответствующих хемокиновых рецепторов, отвечающих за направленную миграцию, а также секрецией ряда хемокинов клетками иммунной системы. Моноцит-производные ДК для стимуляции или коррекции иммунного ответа в конечном счете тоже должны быть направлены в ближайшие к патологическому очагу узлы лимфатической системы. Дифференцированные вне организма ДК после внутривенной инъекции заселяют преимущественно селезенку, приводя к заметному усилению противоопухолевого иммунного ответа в случае рака легких. Однако такой способ введения ДК не вызывал удовлетворительного антиопухолевого иммунного ответа первого типа в большинстве других органов и тканей. В свою очередь внутримышечное или подкожное введение ДК вблизи патологического очага выявило довольно слабый миграционный потенциал этих клеток. Из-за недостаточного заселения периферических лимфатических тканей стимулированными дендритными клетками регистрируемый иммунный ответ оказывался значительно слабее прогнозируемого [24].

До сих пор для получения моноцит-производных ДК чаще всего используют комбинацию ГМ-КСФ/ИЛ4. Применение ИЛ4 обусловлено его свойством подавлять дифференцирование моноцитов в макрофаги [25]. Вместе с тем этот цитокин ингибирует активность цитозольной фосфолипазы А₂, нарушая метаболизм арахидоновой кислоты и образование эйкозаноидов в дендритных клетках. Таким образом он воздействует на участвующие в каскадных процессах клеточного метаболизма циклооксигеназу СОХ-2, липооксигеназы 5-LO, 15-LO [24]. Результат действия ИЛ4 наиболее зримо проявляется в нарушении миграционного потенциала ДК [26, 27].

Изучение миграционных возможностей дендритных клеток показало, что нДК экспрессируют хемокиновые рецепторы CCR1, CCR2, CCR5, CXCR1 (их лигандами являются: CCL3, CCL2, CCL4, CXCL8 соответственно), определяющие их миграцию в очаг воспаления. В процессе созревания ДК характер экспрессии хемокиновых рецепторов клеток меняется. Созревая, ДК вместо перечисленных рецепторов начинают экспрессировать CCR7, соответствующий лигандам CCL21 и CCL19, а также CXCR4, соответствующий лиганду CXCL12 [28, 29]. В течение первых нескольких часов после начала созревания ДК секретируют большое количество провоспалительных цитокинов: ФНО-альфа, ИЛ6, ИЛ1-бета и хемокинов CCL3, CCL4, CCL5, в результате чего в зону воспаления рекрутируются новые нДК, моноциты, макрофаги, гранулоциты и CD45RO Т-клетки. Секреция этих цитокинов и хемокинов, за исключением CCL5, постепенно снижается и уже через несколько часов не обнаруживается [29]. Как показали исследования, при созревании моноцит-производных дендритных клеток ИЛ4 тормозит их способность мигрировать [26, 27]. У генерируемых под действием ИЛ4/ГМ-КСФ ДК при стимуляции их созревания коктейлем ФНО-альфа/ИЛ6/ИЛ1-бета были слабо выражены переключения экспрессии хемокиновых рецепторов CCR1, CCR2, CCR5 на CCR7. Практически отсутствовала подвижность зДК *in vitro* в ответ на хемокины, включая CCL19, CCL21 [28, 29], CXCL12 [29]. Сходная картина наблюдалась и при применении иных стимуляторов созревания ДК [26, 27]. Следует заметить, что при нарушениях эйкозаноидного метаболизма клетки подавляется подвижность многих типов клеток и даже микроорганизмов [30, 31].

Простагландин Е2 (ПГЕ2), являющийся одним из компонентов наиболее широко применяемого в настоящее время коктейля стимуляторов созревания ДК (ФНО-альфа/ИЛ6/ИЛ1-

бета/ПГЕ2), возвращает подвижность клеткам *in vitro* и способствует переключению у них экспрессии хемокиновых рецепторов при созревании. Изучая различные стимуляторы, возвращающие клеткам подвижность, T. Luft et al и E. Scandella et al. показали, что, восстановление миграционного потенциала ДК связано с активацией аденилатциклазы дендритных клеток. Ее активация осуществляется при взаимодействии ПГЕ2 с рецепторами EP2/EP4, связанными с Gs-белками [26, 27]. В этих же работах была также продемонстрирована полная потеря подвижности ранее мобильных клеток при последующем ингибировании в них активности аденилатциклазы в результате инкубации в среде, например, с коклюшным токсином. Коклюшный токсин, как полагают авторы, действует через рецепторы EP1 или EP3, связанные с Gi-белками. Важно отметить, что после потери подвижности под действием коклюшного токсина характер экспрессии хемокиновых рецепторов ДК не изменялся и оставался соответствующим состоянию высокой подвижности [26]. Очевидно, экспрессия соответствующих хемокиновых рецепторов типа CCR7 – необходимое, но не достаточное условие миграции зДК.

При введении ДК в организм необходимо учитывать динамику изменения состава хемокинов *in vivo*. В частности, хемоаттрактант дендритных клеток CCL19 секретируется в лимфатических тканях, в том числе и самими ДК [32]. Его продуцирование клетками начинается через 10–30 часов после начала индукции созревания [29]. Секретия дендритными клетками данного хемокина способна привлечь в область инъекции ДК не только указанные ранее моноциты, макрофаги, гранулоциты и CD45RO T-клетки, но также наивные T-лимфоциты, конституитивно экспрессирующие CCR7. В результате всех этих процессов нарушается хемокиновый состав микроокружения введенных в организм ДК. К тому же становится вероятным взаимодействие клеток иммунной системы в области инъекции ДК, в среде несравненно менее благоприятной, чем имеющаяся в лимфатических тканях.

Кроме изложенных аспектов миграции клеток, известно, что активация аденилатциклазы при воздействии ПГЕ2 несколько снижает активацию ядерного фактора NF-κB и соответственно выработку дендритными клетками биоактивного гетеродимера ИЛ12p70, стимулирующего иммунный ответ первого типа [33, 34]. Преодоление этой проблемы вполне реально при использовании соответствующих стимуляторов [35]. Не исключено, что генерация ДК с применением стимуляторов, отличных от ИЛ4, помогла бы обойти часть имеющихся трудностей в миграции клеток. Тем не менее до настоящего времени генерация ДК применением ГМ-КСФ/ИЛ4 является наиболее распространенной и в доступной литературе нами не найдено данных о клинических испытаниях терапевтических вакцин, использующих моноцит-производные ДК, полученные без ИЛ4.

По данным литературы известно, что моноцит-производные ДК после их введения подкожно или внутримышечно подвержены массовому апоптозу в области инъекции. Лишь около 5 % ДК достигают лимфатических узлов [18]. Поэтому не удивительно появление работ, показавших лучший результат применения альтернативной иммунотерапии в сравнении с вакцинацией на основе ДК [36].

Инъекция ДК непосредственно в лимфатические узлы снимает проблему миграции [37]. Однако возникает вопрос о непредсказуемости изменений цитокинового состава в лимфатическом органе при подобных инъекциях. Возможность появления провоспалительных цитокинов в зоне межклеточного взаимодействия и их влияние на естественные условия процессов (активации иммунного ответа и последующей релаксации), происходящих в лимфатических тканях, не изучены.

Вместе с поисками эффективных стимуляторов подвижности ДК в последние годы проводятся исследования по активации противоопухолевого иммунного ответа путем введения ДК непосредственно в опухоль. Известно, что цитокины, секретируемые злокачественными клетками, создают неблагоприятную среду для активного иммунного ответа лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль. В новообразованиях, в частности, наблюдается повышенный уровень секреции трансформирующего фактора роста (ТФР-бета) [38, 39]. Высокий уровень ТФР блокирует созревание нДК [39, 40]. Кроме того, присутствие ТФР в среде при активации T-лимфоцитов дендритными клетками приводит к поляризации популяций CD4 и CD8 T-лимфоцитов в толерогенные CD8 T-клетки и CD4 хелперы третьего типа T_H3 соответственно [40, 41]. Бесспорно, в этом одна из причин сниженной антиген-презентующей эффективности ДК в активных опухолях. Тем не менее потенциал дендритных клеток, завершивших стадию созревания (зДК) и активирующих ответ первого типа, устойчив и не подвержен влиянию толерогенных цитокинов.

Зрелые ДК секретируют активирующие цитокины, создавая вокруг себя цитокиновое микроокружение, благоприятствующее формированию противоопухолевого ответа. Этим объясняется тот факт, что одновременное введение моноцит-производных ДК и в опухоль, и подкожно дало лучшие (в сравнении с только подкожным введением) результаты в I/II фазе клинических испытаний [42]. Авторы к тому же использовали для «накачки» ДК иммуностимулирующий антиген как дополнительный неспецифический стимулятор. Внутритропухолевое введение ДК с использованием дополнительных иммуностимуляторов лабораторным животным [43] дало оптимистические результаты. В последней работе авторы зарегистрировали также повышение миграционного потенциала вводимых ДК при модифицировании их иммуностимулирующими молекулами и соответственно усиление терапевтического иммунного ответа. Сочетание специфического и неспецифического воздействия с использованием дендритных клеток может быть перспективно в клинической практике.

Заключение. Более чем пятнадцатилетний мировой опыт работ по созданию вакцин на основе ДК наряду с успехами выявил и трудности, одна из которых – контроль миграционного потенциала дендритных клеток. Решение этой задачи в настоящее время ведется путем поиска иммуностимулирующих агентов, повышающих миграционные способности клеток, а также выбора альтернативных методов дифференцирования ДК и поиска оптимальных способов введения ДК в организм. Достигнутые к настоящему моменту результаты позволяют предположить, что задачи создания иммуноспецифических терапевтических вакцин могут быть решены только при условии использования комбинированных подходов, заключающихся в сочетании выбора оптимальных стимуляторов, условий дифференцирования и созревания дендритных клеток, а также способов их введения в организм.

Литература:

- [1]. *Poym A., Brostoff D., Mehl D.* Иммунология. М.: Мир, 2000. 374 с.
- [2]. *Tascon R.E., Colston M.J., Ragno S. et al.* // *Nat. Med.* 1996. Vol. 2. P. 888–893.
- [3]. *Lorie D.B., Tascon R.E., Bonato V.L.D. et al.* // *Nature.* 1999. Vol. 400. P. 269–271.
- [4]. *Toso J.F., Lapointe R., Hwu P.* // *J. Immunol. Methods.* 2002. Vol. 259. P.181–190.
- [5]. *Finn O.J.* // *Nat. Rev. Immunol.* 2003. Vol. 3. P. 630–641.
- [6]. *de Bruijn M.L.H., Neiland J.D., Schumacher T.N.M. et al.* // *Eur. J. Immunol.* 1992. Vol. 22. P. 3013–3020.
- [7]. *Bharwaj N., Bender A., Gonzalez N. et al.* // *J. Clin. Invest.* 1994. Vol. 94. P. 797–807.
- [8]. *Sallusto F., Lanzavecchia A.* // *J. Exp. Med.* 1994. Vol. 179. P. 1109–1118.
- [9]. *Romani N., Gruner S., Brang D. et al.* // *J. Exp. Med.* 1994. Vol. 180. P. 83–93.
- [10]. *Bender A., Sapp M., Schuler G. et al.* // *J. Immunol. Methods.* 1996. Vol. 196. P. 121–135.
- [11]. *Santini S.M., Di Pucchio T., Lapenta C. et al.* // *Stem Cells.* 2003. Vol. 21. P. 357–362.
- [12]. *Buelens C., Bartolome E.J., Amraoui Z. et al.* // *Blood.* 2002. Vol. 99. P. 993–998.
- [13]. *Lyakh L.A., Koski G.K., Telford W. et al.* // *J. Immunol.* 2000. Vol. 165. P. 3647–3655.
- [14]. *Lyakh L.A., Koski G.K., Young H. et al.* // *Blood.* 2002. Vol. 99. P. 600–608.
- [15]. *Randolph G.J., Beaulieu S., Lebecque S. et al.* // *Science.* 1998. Vol. 282. P. 480–483.
- [16]. *Romani N., Reider D., Heuer M. et al.* // *J. Immunol. Methods.* 1996. Vol. 196. P. 137–151.
- [17]. *Mehlhop E., Villamide L.A., Frank I. et al.* // *J. Immunol. Methods.* 2002. Vol. 260. P. 219–234.
- [18]. *O'Neil D.W., Adams S., Bhardwaj N.* // *Blood.* 2004. Vol. 104. P. 2235–2246.
- [19]. Суренский С.В. // *Мед. Иммунол.* 2004. Т. 6. № 3–5. С. 253.
- [20]. *Космачева С.М., Суренский С.В., Белевцев М.В., Потанин М.П.* // *Цитология.* 2006. Т. 48. С. 771–772.
- [21]. *Jonuleit H., Schmitt E., Schuler G. et al.* // *J. Exp. Med.* 2000. Vol. 192. P. 1213–1222.
- [22]. *Dhodapkar M.V., Steinman R.M., Krasovskiy J. et al.* // *J. Exp. Med.* 2001. Vol. 193. P. 233–238.
- [23]. *Osugi Y., Vuckovic S., Hart D.N.J.* // *Blood.* 2002. Vol. 100. P. 2858–2866.
- [24]. *Thurner M., Zelle-Rieser C., Ramoner R. et al.* // *FASEB J.* 2001. Vol. 15. P. 1054–1061.
- [25]. *Jansen J.H., Wientjens G.-J.H.M., Fibbe W.E. et al.* // *J. Exp. Med.* 1989. Vol. 170. P. 577–582.
- [26]. *Scandella E., Men Y., Gillessen S. et al.* // *Blood.* 2002. Vol. 100. P. 1354–1361.
- [27]. *Luft T., Jefford M., Luejens P. et al.* // *Blood.* 2002. Vol. 100. P. 1362–1372.
- [28]. *Sallusto F., Schaerli P., Loetscher P. et al.* // *Eur. J. Immunol.* 1998. Vol. 28. P. 2760–2769.
- [29]. *Sallusto F., Palermo B., Lenig D. et al.* // *Eur. J. Immunol.* 1999. Vol. 29. P. 1617–1625.
- [30]. *Rozic J.G., Chakraborty C., Lala P.K.* // *Int. J. Cancer.* 2001. Vol. 93. P. 497–506.
- [31]. *Dauguschies A., Ruttkowsky B.* // *Int. J. Parasitol.* 1998. Vol. 28. P. 355–362.
- [32]. *Ngo V.N., Tang H.L., Cyster G.* // *J. Exp. Med.* 1998. Vol.188. P. 181–191.
- [33]. *Delgado M., Ganea D.* // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 31930–31940.

- [34]. Bray M.A., Gordon D. // Brit. J. Pharmacol. 1978. Vol. 63. P. 635–642.
- [35]. Rubio M.T., Means T.K., Chakraverty R. et al. // Int. Immunol. 2005. Vol. 17. P. 1561–1572.
- [36]. Slingluff Jr. C.L., Petroni G.R., Yamshchikov G.V. et al. // J. Clin. Oncol. 2003. Vol. 21. P. 4016–4026.
- [37]. Maier T., Tun-Kyi A., Tassis A. // Blood. 2003. Vol. 102. P. 2338–2344.
- [38]. Letterio J.J., Roberts A.B. // Ann. Rev. Immunol. 1998. Vol. 16. P. 137–161.
- [39]. Kao J.Y., Gong Y., Chen C.-M. et al. // J. Immunol. 2003. Vol. 170. P. 3806–3811.
- [40]. Inaba K. // Stem Cells. 1997. Vol. 15. P. 144–153.
- [41]. Wakkach A., Fournier N., Brun V. et al. // Immunity. 2003. Vol. 18. P. 605–617.
- [42]. Yamanaka R., Homma J., Yajima N. et al. // Clin. Cancer Res. 2005. Vol. 11. P. 4160–4167.
- [43]. Liu S., Foster B.A., Chen T. et al. // Clin. Cancer Res. 2007. Vol. 13. P. 283–291.

Поступила в редакцию 12. 06. 2009 г.

S. V. SURENSKY, V. N. NIKANDROV

**MONOCYTE-DERIVED DENDRITIC CELLS MIGRATORY POTENTIAL
SIGNIFICANCE IN THERAPEUTIC VACCINE DESIGN**

Institute of Physiology, National Academy of Sciences, Minsk, Belarus

Summary

Efficient immunoprophylaxis and immunotherapy require enough immunocompetent antigen-presenting cells for activation of antigen-specific effector cells. This problem is resolved *in vitro* more than dozen years ago. The main difficulty to make use of these results in clinical practice is lost of migratory potential by dendritic cells the most powerful antigen-presenting cells. The article describes the complexity of this problem and suggest the possibility of its overcoming with combined approach.