Резюме. Цель исследования - генерация дендритных клеток из костного мозга мышей (ДК) in vitro и оценка влияния вирулентных и аттенуированных вариантов вируса гриппа на созревание ДК.

Материалы и методы. Для индукции дифференцировки мононуклеаров костного мозга в ДК использовали гранулоцитарно-макрофагальный фактор (GM-CSF) и интерлейкин-4 (IL-4). На 5 сутки инкубации добавляли штаммы вируса гриппа в культуру ДК и дополнительно инкубировали их в течение 2 дней. Оценивали морфологические характеристики ДК, иммунофенотип и экспрессию некоторых Toll-рецепторов.

Результаты. На пятый день инкубации ДК приобретали типичные морфологические характеристики. ДК имели большие размеры с эксцентрично расположенным ядром, чаще неправильной формы, многочисленными отростками. На 7 день инкубации в присутствии штаммов вируса гриппа цитоплазма их несколько уплотнялась, ДК приобретали больше отростков, необходимых для межклеточных контактов. В зрелых ДК был повышен уровень экспрессии маркера CD11c, костимуляторных молекул CD80, CD86, CD83 и молекул МНС II. Вирулентные и аттенуированные штаммы вируса гриппа индуцировали различные варианты дифференцировки ДК, включая формирование поверхностных маркеров дифференциации на мембране клеток, экспрессию. Toll-рецепторов и костимулирующих молекул.

Выводы. Мышиные мононуклеары костного мозга могут продуцировать большое количество н-ДК, которые могут созревать в присутствии различных вариантов вируса гриппа. При формировании иммунофенотипа ДК под влиянием исследуемых вариантов вируса гриппа обнаружено в разной степени проявление признаков иммуносупрессии. Аттенуированные варианты U2 и M-26, полученные с помощью сайт-специфического мутагенеза при формировании иммунофенотипа ДК обладали сниженной иммуносупресирующей активностью и не уступали ХА реассортанту по большинству позиций, а по некоторым позициям превосходили его. Данные исследования могут помочь выявить критерии оценки эффективности разрабатываемых вакцин против гриппа in vitro.

**Ключевые слова**. Культура клеток, дендритные клетки, морфология, вирулентные и аттенуированные варианты вируса гриппа, маркеры дифференцировки, ко-стимуляторные молекулы, Toll-подобные рецепторы.

**Abstract**

Background. The aim of this study was to generate dendritic cells from the bone marrow of mice (DC) in vitro and to assess the effect of virulent and attenuated variants of influenza virus on the maturation of DCs.

Material/Methods. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) and interleukin-4 (IL-4) were used in combination to induce differentiation of mouse bone marrow (BM) mononucleocytes into DCs. On the 5-th day various variants of influenza virus were added to the cell culture and cells were additionally incubated for 2 days. The morphological characteristics of DCs, immunophenotype of DCs and expression of some Toll-like receptors were evaluated.

Results. On the fifth day of incubation DCs acquired typical morphological characteristics. DCs were large in size with an eccentrically located nucleous, often irregular in shape, with numerous processes. On the 7 th day of incubation in the presence of influenza virus variants their cytoplasm was somewhat denser. DCs acquired more processes, necessary for intercellular contacts. Expression levels of CD11c, a specific marker of BM-derived DCs, and of co-stimulatory molecules such as CD40, CD80, CD86, and MHC-II were elevated in the mature DCs. Virulent and attenuated strains of the influenza virus induced various variant of DCs differentiation, including the rate of formation of differentiation markers, expression of Toll-like receptors and costimulatory molecules.

Conclusions. Mouse BM-derived mononucleocytes cultured in vitro can produce a large number of n-DCs, that can mature in the presence of different variants of the influenza virus. During the formation of the immunophenotype of DCs under the influence of the studied variants of the influenza virus, the manifestation of signs of immunosuppression was found. The attenuated variants obtained using site-specific mutagenesis during the formation of the DCs immunophenotype were not inferior to the cold-adapted (CA) reassortant in most positions, but exceeded it in some positions. These studies can help identify criteria for evaluation the effectiveness of developing in vitro influenza vaccines.

**Keywords**: Cell culture; dendritic cells; morphology, virulent and attenuated variants of influenza virus, markers of differentiation, Toll-like receptors