

**Р. С. Довгий, Д. В. Шитіков, І. М. Пішель, Є. В. Опейда*,
Л. М. Сківка***

*Державна установа "Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова
НАМН України", 04114 Київ*

**Навчально-науковий центр "Інститут біології" при Київському
національному університеті ім. Тараса Шевченка, 03022 Київ*

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТА МЕТАБОЛІЧНА ПОЛЯРИЗАЦІЯ МАКРОФАГІВ СЕЛЕЗІНКИ СТАРИХ ІМУНІЗОВАНИХ МИШЕЙ

На молодих (4–5 міс) та старих (23–24 міс) самицях мишей лінії *СВА/Са* досліджено вплив імунізації еритроцитами вівці (внутрішньоочеревинно в дозі $2 \cdot 10^8$ клітин на мишу) на функціональний стан та метаболічну поляризацію макрофагів селезінки. Не було виявлено достовірних змін фагоцитарної активності моноклеарних та поліморфонуклеарних фагоцитів селезінки старих мишей порівняно з молодими, тоді як продукція реактивних форм кисню у старих мишей була достовірно вища в усіх досліджуваних видах клітин. Також було виявлено тенденцію до підвищення продукції нітритів та достовірне зниження аргіназної активності макрофагів у старих мишей. Показано зниження кількості антитілопродукуючих клітин у селезінці старих мишей. Отримані результати свідчать про переважну прозапальну M_1 поляризацію макрофагів старих мишей, що сприяє диференціюванню *T*-хелперів 1 типу, цитокиновий спектр яких гальмує гуморальну імунну відповідь і антитілогенез, і активує клітинні імунні реакції. Це може бути однією з причин зниженої кількості антитілопродукуючих клітин у старих тварин.

Ключові слова: метаболічна поляризація, імунізація, макрофаги, гранулоцити, селезінка.

Дослідженню вікових змін адаптивної ланки імунітету присвячена велика кількість робіт. Особливо значні порушення відбуваються у популяції *T*-лімфоцитів. Описано зниження проліферативної відповіді *T*-лімфоцитів на мітогени, порушення синтезу цитокінів, зниження імунно-

регуляторного індексу $CD4^+/CD8^+$ та багато інших порушень [19, 22]. Це призводить до порушення роботи імунної системи та розвитку багатьох вікових захворювань.

Відомо, що новоутворені T -клітини старих мишей здатні формувати потужну імунну відповідь при первинній імунізації [8]. Автори пояснюють отримані результати тим, що порушення функцій периферичних T -лімфоцитів пов'язане з віком цих клітин. Крім того, дослідження показують важливу роль мікрооточення периферичних лімфоїдних органів у порушенні формування імунної відповіді при старінні [13]. Одними з важливих клітин мікрооточення лімфоїдних органів є макрофаги. У попередній роботі нашої лабораторії було показано, що сумісне культивування T -клітин старих тварин з макрофагами селезінки молодих сприяло відновленню їх проліферативної активності, а при культивуванні з дендритними клітинами селезінки молодих тварин такого ефекту не спостерігалось [1].

Загальноприйнята на сьогоднішній день концепція активації макрофагів передбачає їх поляризацію під дією різноманітних стимулів у 2 протилежні активаційні стани: класично активовані (M_1) макрофаги і альтернативно активовані (M_2) макрофаги; причому M_1 характеризуються прозапальними і антимікробними властивостями, а M_2 — імунорегуляторними та регенераторними властивостями [21].

Одна з основних функцій селезінки — активація T -залежного антигеногенезу, в якому співпрацюють антигенпрезентувальні клітини, T - і B -лімфоцити. Розвитку T -хелпер 1-опосередкованої (T_H1) клітинної імунної відповіді сприяє M_1 поляризація макрофагів, тоді як розвитку T -хелпер 2-опосередкованої (T_H2) гуморальної імунної відповіді сприяють M_2 [17]. Відомо, що при старінні ефективність вакцинації значно знижується, що викликано порушенням гуморальної імунної відповіді. [5]. Однак крім дефектів власне B -лімфоцитів значну роль у порушенні гуморальної імунної відповіді на T -залежний антиген відіграють також вікові зміни T -лімфоцитів та клітин мікрооточення [6]. Показано, що при старінні порушується поляризація макрофагів селезінки мишей як в M_1 , так і в M_2 напрямку [16]. Однак дані щодо поляризації макрофагів при імунізації старих тварин в літературі відсутні.

Метою даної роботи було дослідити зміни функціонального стану та поляризації макрофагів селезінки старих мишей при імунізації T -залежним антигеном.

Матеріал та методи. У дослідях використовували 5 молодих (4–5 міс) та 5 старих (23–24 міс) мишей-самиць лінії *СВА/Са* із розплідника ДУ "Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України", яких утримували в умовах віварію з вільним доступом до води та їжі.

Для оцінки рівня гуморальної відповіді тварин імунізували еритроцитами вівці внутрішньоочеревинно в дозі $2 \cdot 10^8$ клітин на мишу (0,3 мл 3 % зависі еритроцитів вівці у фізіологічному розчині). Евтаназію тварин проводили на 4 добу після ін'єкції [11].

Селезінку видаляли в асептичних умовах і вміщували у стерильне середовище *RPMI-1640* (*Sigma-Aldrich*, США) з додаванням 10 % ембріо-

нальної сироватки крові великої рогатої худоби (*Hyclone*, США). Для отримання суспензії спленоцитів селезінку гомогенізували у гомогенізаторі Даунса з додаванням 4 мл середовища *RPMI-1640*, концентрацію клітин підраховували у камері Горяєва, стандартизовану клітинну суспензію (20 млн/мл) використовували для оцінки внутрішньоклітинної продукції реактивних форм кисню (РФК), фагоцитарної активності, реакції локального гемолізу в гелі за Ерне та отримання фракції прилипаючих клітин, переважно більшість із яких складають макрофаги [7, 9].

Для постановки реакції локального гемолізу в гелі 10^6 клітин суспензії спленоцитів (у відповідному об'ємі) додавали до 0,65 мл суміші розпавленої агарози (0,7 % на розчині Хенкса) з 3 % зависсю еритроцитів вівці (5 : 1). Агарозу з еритроцитами тримали на водяній бані при температурі 48 °С. Отриману суміш обережно розмішували та виливали на підігріту чашку Петрі, давали застигнути на вирівнюючому столику та вміщували до термостату. Чашки інкубували 1 год при 37 °С. Потім додавали по 0,6 мл розведеного 1:10 розчину комплементу. Інкубували з комплементом ще 1,5 год, а потім підраховували кількість видимих зон гемолізу на чашку, яка відповідала кількості антитилоутворюючих клітин (АУК) [11].

У лунки 24-лункових планшетів нашаровували $5 \cdot 10^6$ клітин суспензії спленоцитів. Інкубували при 37 °С та 5 % CO_2 протягом ночі. Відбирали супернатант, який використовували для оцінки продукції оксиду азоту (NO), неприкріплені клітини відмивали *DPBS*. Оцінювали аргіназну активність макрофагів.

Продукцію NO (за кількістю NO_2^-) визначали у середовищі культивування макрофагів селезінки за реакцією Гріса [15]. Для приготування реактива Гріса змішували рівні об'єми 2 % сульфаніlamіду у 10 % фосфорній кислоті і 0,2 % нафтилетилендіамінгідрохлориду. 100 мкл реактиву Гріса додавали до 100 мкл середовища культивування макрофагів селезінки. Суміш інкубували 30 хв у темноті за кімнатної температури. Облік результатів проводили спектрофотометричним методом на планшетному фотометрі *Ascent (Labsystems, Фінляндія)* при довжині хвилі 550 нм. Рівень NO визначали за калібрувальною кривою, побудованою з використанням стандартних розчинів нітриту натрію. Для кожного варіанту досліду проби ставили у чотирьох повторях. Отримані значення ділили на кількість живих клітин у пробі. Рівень NO представляли для 10^6 клітин.

Для визначення аргіназної активності в клітинних лізатах застосовували стандартний метод [15]. До отриманої популяції прилипаючих клітин послідовно додавали 100 мкл 0,1 % *Triton X-100 (Sigma-Aldrich, США)*, 100 мкл 50 ммоль *Tris-HCl* (pH 7,5; *Sigma-Aldrich*), що містив 10 ммоль MnCl_2 . Аргіназну активність макрофагів активували нагріванням суміші при 56 °С упродовж 7 хв. Реакцію гідролізу *L*-аргініну проводили шляхом інкубації суміші, що містила активовану аргіназу, зі 100 мкл *L*-аргініну (0,5 моль, pH 9,7; *Sigma-Aldrich*) при 37 °С впродовж 2 год. Зупиняли реакцію додаванням 800 мкл суміші кислот (H_2SO_4 : H_3PO_4 : H_2O — 1 : 3 : 7). Для колориметричного визначення сечовини до суміші додавали α -ізонітрозопропіофенон (40 мкл, 9 % в етанолі,

Sigma-Aldrich) та інкубували при 95 °С упродовж 30 хв, а потім при 4 °С 30 хв. Концентрацію сечовини визначали спектрофотометрично при $\lambda = 540$ нм. Значення оптичної густини переводили у мікрограми, використовуючи калібрувальну криву, побудовану за розчинами сечовини відомої концентрації. Аргіназну активність розраховували за формулою:

$$\text{Активність аргінази (од./10}^6 \text{ клітин)} = \frac{\text{мкг сечовини} \times 50}{60 \times t},$$

де 50 — фактор розведення, 60 — молекулярна маса сечовини, t — тривалість інкубації, хв.

Одна одиниця аргіназної активності — кількість ферменту, що гідролізує 1 мкмоль аргініну за 1 хв.

Внутрішньоклітинну продукцію РФК оцінювали методом проточної цитофлюориметрії [23]. У пластикові пробірки для проточного цитофлюориметра типа "*Falcon*" вносили по 70 мкл суспензії спленоцитів. В контрольну пробірку до суспензії спленоцитів додавали 30 мкл фосфатно-сольового буферу (ФСБ, рН 7,4). У пробірки для аналізу додавали 4,2 мкл робочого розчину барвника (дихлорфлюоресцеїн), 25,8 мкл ФСБ та ретельно перемішували. Усі пробірки інкубували упродовж 30 хв при 37 °С. Спленоцити осаджували центрифугуванням 5 хв при 250g та відмивали шляхом центрифугування у 2 мл охолодженого ФСБ з додаванням 0,02 % ЕДТА і ресуспендували в 400 мкл ФСБ-ЕДТА з додаванням 0,04 % параформальдегіду для фіксації зразків. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлюориметрі (*FACSalibur*, *Becton Dickinson*, США) за допомогою програмного забезпечення *BP cell Quest* по каналу флюоресценції *FL1* (фільтр 530/30). Оцінювали середню інтенсивність флюоресценції (*MFI*) на кількість клітин, що відображає рівень внутрішньоклітинної продукції активних форм кисню.

Фагоцитарну активність мононуклеарних фагоцитів та гранулоцитів оцінювали за такою методикою [4]. У пластикові пробірки для проточного цитофлюориметра типа "*Falcon*" вносили по 70 мкл суспензії спленоцитів. В контрольну пробірку до суспензії спленоцитів додавали 30 мкл ФСБ. У пробірки для аналізу додавали 10 мкл суспензії стафілококу, міченого флюоресцеїн-5-ізотіоціанатом, із розрахунку 200 млн/мл та 20 мкл ФСБ, потім ретельно перемішували. Усі пробірки інкубували упродовж 30 хв при 37 °С. Спленоцити осаджували центрифугуванням 5 хв при 250g та відмивали шляхом центрифугування у 2 мл охолодженого ФСБ з додаванням 0,02 % ЕДТА і ресуспендували в 300 мкл ФСБ-ЕДТА з додаванням 0,04 % параформальдегіду для фіксації зразків. Аналіз зразків проводили на проточному цитофлюориметрі (*FACSalibur*, *Becton Dickinson*) за допомогою програмного забезпечення *BP cell Quest* по каналу флюоресценції *FL1* (фільтр 530/30). Оцінювали такі 2 параметри: фагоцитарний індекс (співвідношення клітин, що фагоцитували мічений стафілокок, до загальної кількості клітин) та середню інтенсивність флюоресценції (*MFI*), що відображає усереднене для кількості клітин значення поглинутих мічених стафілококів кожним фагоцитом (фагоцитарне число).

При статистичному аналізі визначали нормальність розподілу даних в групах за допомогою *W*-критерію Шапіро — Уїлка, розраховували середні значення (*M*) та стандартну помилку середнього (*SE*). Вірогідність відмінностей середніх визначали за *t*-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Достовірних змін фагоцитарного індексу мононуклеарних фагоцитів та гранулоцитів селезінки старих мишей у порівнянні з молодими не спостерігалось. Виявлено лише тенденцію до його підвищення у старих тварин (рис. 1).

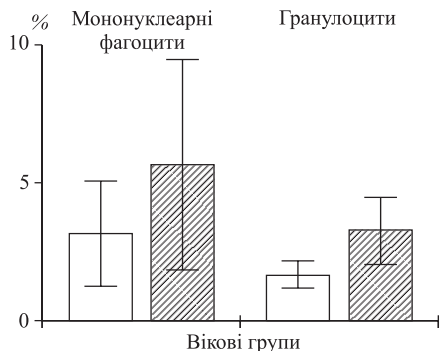


Рис. 1. Фагоцитарний індекс мононуклеарних фагоцитів і гранулоцитів селезінки молодих (світлі стовпчики) та старих (заштриховані стовпчики) мишей.

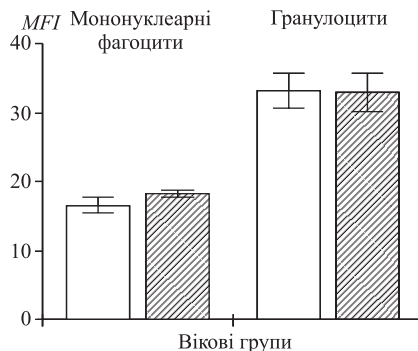


Рис. 2. Фагоцитарне число мононуклеарних фагоцитів і гранулоцитів селезінки молодих (світлі стовпчики) та старих (заштриховані стовпчики) мишей.

Фагоцитарне число мононуклеарних фагоцитів мишей також достовірно не відрізнялося у старих мишей порівняно з молодими (рис. 2). У мононуклеарних фагоцитів спостерігалася тенденція до його підвищення у старих тварин. При дослідженні фагоцитарної функції клітин моноцитарно-макрофагального ряду різними групами вчених були отримані змішані результати [20]. Одні дослідження вказують на збереження фагоцитарної функції макрофагів старих мишей [14], інші — на її погіршення [2].

Рівень продукції РФК мононуклеарними фагоцитами, гранулоцитами та лімфоцитами достовірно підвищувався ($P < 0,05$) у старих тварин порівняно з молодими (рис. 3). Ці результати можуть бути підтвердженням мітохондріальної теорії старіння, згідно з якою вільні радикали викликають пошкодження макромолекул, що призводить до виникнення мутацій і до підвищення продукції РФК та накопичення вільних радикалів всередині клітини [10]. Крім того, продукція РФК є однією з ознак класично активованих макрофагів, що може свідчити про більш виражену M_1 поляризацію макрофагів старих імунізованих мишей. Результати клінічних досліджень також вказують на підвищення спонтанної продукції РФК нейтрофілами при старінні [18].

Рівень продукції NO макрофагами селезінки достовірно не відрізнявся у старих мишей порівняно з молодими (рис. 4). Спостерігалася лише не-

значна тенденція до підвищення значень цього показника у старих тварин. Дані літератури свідчать, що вікові зміни макрофагів значною мірою залежать від їх локалізації. Дослідження *in vitro* показали, що альвеолярні макрофаги та макрофаги селезінки старих мишей продукують більше NO та цитокінів, ніж відповідні макрофаги молодих тварин, тоді як у перитонеальних макрофагів спостерігалася протилежна картина [12]. Таким чином, отримані результати підтверджують дані літератури.

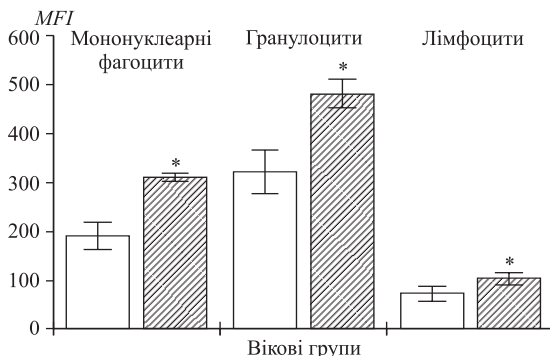


Рис. 3. Продукція реактивних форм кисню клітинами селезінки молодих (світлі стовпчики) та старих (заштриховані стовпчики) мишей. Тут і на рис. 5–6: * $P < 0,05$ порівняно з молодими тваринами.

У той же час, аргіназна активність макрофагів селезінки була досить низькою і достовірно нижчою у старих мишей (рис. 5), що може вказувати на переважну M_1 поляризацію макрофагів селезінки мишей.

Кількість АУК селезінки у старих мишей достовірно знижувалася порівняно з молодими (рис. 6), що узгоджується з даними експериментальних та клінічних досліджень про зниження експансії В-лімфоцитів у відповідь на імунізацію при старінні [3, 6].

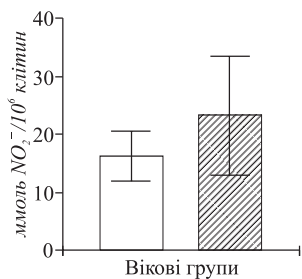


Рис. 4. Продукція NO_2^- макрофагами селезінки молодих (світлі стовпчики) та старих (заштриховані стовпчики) мишей.

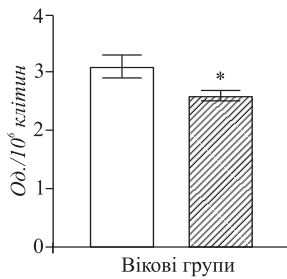


Рис. 5. Аргіназна активність макрофагів селезінки молодих (світлі стовпчики) та старих (заштриховані стовпчики) мишей.

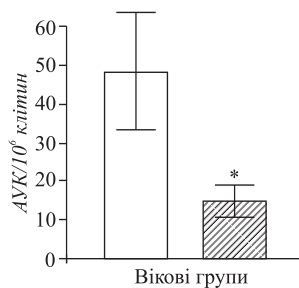


Рис. 6. Кількість анти-туморозуючих клітин селезінки молодих (світлі стовпчики) та старих (заштриховані стовпчики) мишей.

Таким чином, при імунізації старих мишей еритроцитами вівці спостерігається переважна M_1 поляризація макрофагів селезінки, яка характеризується високим рівнем продукції NO, РФК та низькою аргіназною активністю. У старих мишей спостерігався достовірно нижчий рівень аргіназної активності макрофагів, більш висока продукція РФК мононуклеарними фагоцитами селезінки, а також тенденція до підвищення продукції NO. Крім того, підвищення продукції РФК свідчить про прозапальну активацію поліморфонуклеарних фагоцитів. Прозапальна поляризація фагоцитів асоціюється з диференціюванням наївних T -клітин на T_H1 , цитокіновий спектр яких гальмує гуморальну імунну відповідь і антитілогенез, і більшою мірою пов'язаний з активацією клітинних імунних реакцій. Отже, однією з причин зниженої кількості антитілопродукуючих клітин у старих тварин може бути несприятливий цитокіновий профіль, сформований в результаті прозапальної поляризації спленічних фагоцитів.

Список використаної літератури

1. Шитіков Д. В., Шкумат М. С., Бальва О. В. та ін. Зміни рівня проліферації T -лімфоцитів під впливом клітин лімфоїдної ніші (дослідження на моделі гетерохронного парабіозу) // Пробл. старения и долголетия. — 2014. — **23**, № 2. — С. 113–125.
2. Aprahamian T., Takemura Y., Goukassian D., Walsh K. Ageing is associated with diminished apoptotic cell clearance *in vivo* // Clin. Exp. Immunol. — 2008. — **152**, № 3. — P. 448–455.
3. Bloomberg B. B., Frasca D. Quantity, not quality, of antibody response decreased in the elderly // J. Clin. Invest. — 2011. — **121**, № 8. — P. 2981–2983.
4. Cantinieaux B., Hariga C., Courtoy P. et al. *Staphylococcus aureus* phagocytosis. A new cytofluorometric method using FITC and paraformaldehyde // J. Immunol. Methods. — 1989. — **121**, № 2. — P. 203–208.
5. Chen W. H., Kozlovsky B. F., Effros R. B. et al. Vaccination in the elderly: an immunological perspective // Trends Immunol. — 2009. — **30**, № 7. — P. 351–359.
6. Dailey R. W., Eun S.-Y., Russell C. E., Vogel L. A. B cells of aged mice show decreased expansion in response to antigen, but are normal in effector function // Cell. Immunol. — 2001. — **214**, № 2. — P. 99–109.
7. Freudenthal P. S., Steinman R. M. The distinct surface of human blood dendritic cells, as observed after an improved isolation method // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1990. — **87**. — P. 7698–7702.
8. Haynes L., Eaton S. M., Burns E. M. et al. Newly generated CD4 T cells in aged animals do not exhibit age-related defects in response to antigen // J. Exp. Med. — 2005. — **201**, № 6. — P. 845–851.
9. Inaba K., Inaba M., Deguchi M. et al. Granulocytes, macrophages, and dendritic cells arise from a common major histocompatibility complex class II negative progenitor in mouse bone marrow // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1993. — **90**. — P. 3038–3042.
10. Jang Y. C., Remmen H. V. The mitochondrial theory of aging: Insight from transgenic and knockout mouse models // Exp. Gerontol. — 2009. — **44**, № 4. — P. 256–260.
11. Jerne N. K., Nordin A. A., Henry C. Cell-bound antibodies. — Wistar Institute Press, 1963. — 109 p.
12. Kohut M. L., Senchina D. S., Madden K. S. et al. Age effects on macrophage function vary by tissue site, nature of stimulant, and exercise behavior // Exp. Gerontol. — 2004. — **39**, № 9. — P. 1347–1360.

13. *Lefebvre J. S., Maue A. C., Eaton S. M.* et al. The aged microenvironment contributes to the age-related functional defects of CD4 T cells in mice // *Aging Cell.* — 2012. — **11**, № 5. — P. 732–740.
14. *Liang S., Domon H., Hosur K. B.* et al. Age-related alterations in innate immune receptor expression and ability of macrophages to respond to pathogen challenge *in vitro* // *Mech. Ageing Dev.* — 2009. — **130**. — P. 538–546.
15. *Macrophages and dendritic cells. Methods and Protocols* / Ed. Neil E. Reiner. — NY.: Humana Press, 2009. — 368 p.
16. *Mahbub S., Deburghraeve C. R., Kovacs E. J.* Advanced age impairs macrophage polarization // *J. Interferon Cytokine Res.* — 2012. — **32**, № 1. — P. E. J. 18–26.
17. *Mills C. D., Kincaid K., Alt J. M.* et al. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm // *J. Immunol.* — 2000. — **164**, № 12. — P. 6166–6173.
18. *Ogawa K., Suzuki K., Okutsu M.* et al. The association of elevated reactive oxygen species levels from neutrophils with low-grade inflammation in the elderly // *Immunity & Ageing.* — 2008. — **5**. — doi: 10.1186/1742-7933-5-13.
19. *Serrano-Villar S., Moreno S., Fuentes-Ferrer M.* et al. The CD4:CD8 ration is associated with markers of age-associated disease in virally suppressed HIV-infected patients with immunological recovery // *HIV Medicine.* — 2014. — **15**, № 1. — P. 40–49.
20. *Shaw A. C., Goldstein D. R., Montgomery R. R.* Age-dependent dysregulation of innate immunity // *Nature Reviews.* — 2013. — **13**. — P. 875–887.
21. *Sica A., Mantovani A.* Macrophage plasticity and polarization: *in vivo* veritas // *J. Clin. Invest.* — 2012. — **122**. — P. 787–795.
22. *Tortorella C., Pisconti A., Piazzolla G., Antonaci S.* APC-dependent impairment of T cell proliferation in aging: role of CD28- and IL-12/IL-15-mediated signaling // *Mech. Ageing Dev.* — 2002. — **123**, № 10. — P. 1389–1402.
23. *Woo J. M., Shin D.-Y., Lee S. J.* et al. Curcumin protects retinal pigment epithelial cells against oxidative stress via induction of heme oxygenase-1 expression and reduction of reactive oxygen // *Mol. Vis.* — 2012. — **18**. — P. 901–908.

Надійшла 10.04.2015

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ПОЛЯРИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ СТАРЫХ ИММУНИЗИРОВАННЫХ МЫШЕЙ

Р. С. Довгий, Д. В. Шитиков, И. Н. Пишель, Е. В. Опейда*, Л. М. Скивка*

Государственное учреждение "Институт геронтологии
им. Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины", 04114 Киев
* Учебно-научный центр "Институт биологии" при Киевском
национальном университете им. Тараса Шевченко, 03022 Киев

На молодых (4–5 мес) и старых (23–24 мес) самках мышей линии *СВА/Са* исследовано влияние иммунизации эритроцитами овцы (внутрибрюшинно в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток на мышь) на функциональное состояние и метаболическую поляризацию макрофагов селезенки. Не было обнаружено достоверных изменений фагоцитарной активности мононуклеарных и полиморфонуклеарных фагоцитов селезенки старых мышей по сравнению с молодыми, тогда как продукция ре-

активных форм кислорода у старых мышей была достоверно выше во всех исследуемых видах клеток. Также была выявлена тенденция к повышению продукции нитритов и достоверное снижение аргиназной активности макрофагов у старых мышей. Показано снижение количества антителопродуцирующих клеток в селезенке старых мышей. Полученные результаты свидетельствуют о преимущественной провоспалительной M_1 поляризации макрофагов старых мышей, что способствует дифференцированию Т-хелперов 1 типа, цитокиновый спектр которых тормозит гуморальный иммунный ответ и антителогенез, и активизирует клеточные иммунные реакции. Это может быть одной из причин сниженного количества антителопродуцирующих клеток у старых мышей.

FUNCTIONAL STATE AND METABOLIC POLARIZATION OF SPLENIC MACROPHAGES OF OLD IMMUNIZED MICE

R. S. Dovgiy, D. V. Shitikov, I. N. Pishel, E. V. Opeida*, L. M. Skivka*

State Institution "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS Ukraine",
04114 Kyiv

*Educational and Scientific Centre "Institute of Biology"
of Taras Shevchenko Kyiv National University, 03022 Kyiv

Changing of functional state and metabolic polarization of splenic macrophages following immunization of young (4–5 mo.) and old (23–24 mo.) female *CBA/Ca* mice with sheep erythrocytes (i/p, $2 \cdot 10^8$ cells per mouse) was investigated. No significant changes were found in phagocyte activity of mononuclear and polymorphonuclear spleen phagocytes of old vs. young mice, while production of reactive forms of oxygen in old mice was significantly higher in all types of cells studied. Also detected was a tendency towards increase in the production of nitrites and significant decrease of arginase activity in macrophages of old mice. The number of antibody-producing cells in the old mice spleen was found to decrease. The results obtained may suggest a predominant proinflammatory M_1 polarization of old mice macrophages thereby facilitating differentiation of T-helpers type 1; the cytokine spectrum of the latter inhibits humoral immune response and antibody genesis, as well as activates immune reactions of the cells. This may be a reason for decreased number of antibody-producing cells in old mice.

Відомості про авторів

ДУ "Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України"

Лабораторія імунології та патофізіології

І. М. Пішель — гол.н.с., д.м.н.

Д. В. Шитиков — н.с., к.б.н.

Р. С. Довгий — м.н.с. (romandovgiy@gmail.com)

Навчально-науковий центр "Інститут біології" при Київському національному університеті ім. Тараса Шевченка

Кафедра мікробіології та загальної імунології

Л. М. Сківка — зав. кафедри, д.б.н.

Є. В. Опейда — магістр 2-го курсу