

УДК 602.9:611.018:616-006:636.028

Кладницька Л. В., к.вет.н., доцент, **Мазуркевич А. Й.**, д.вет.н., професор,
Величко С. В., к.б.н., **Ковпак В. В.**, к.вет.н., ст.викл., **Джус О. І.**, аспірант,
Шелест Д. В., аспірант (E-mail: kladlarisa@yandex.ru) ©

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м.Київ

ВПЛИВ АЛОГЕННИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН НА ОКСИГЕНЗАЛЕЖНИЙ МЕТАБОЛІЗМ ПЕРИТОНЕАЛЬНИХ МАКРОФАГІВ МИШЕЙ C57BL/6

Дослідження проводили на самцях мишей C57BL/6 масою 20–22 г віком 2–3 місяці. Алогенні МСК отримували культивуванням первинного матеріалу, що був виділений з кісткового мозку мишей C57BL/6. Культивування клітин проводили у середовищі DMEM з додаванням 20 % фетальної сироватки бичків (FBS) та 1 % суміші антибіотика-антимікотика (Sigma, USA) за 37°C, 100 % вологості і 5 % CO₂.

Мишам C57BL/6 внутрішньом'язово інокулювали клітинну суспензію метастатичної карциноми легень Льюїс (LLC) у концентрації $1 \times 10^6/0,1$ мл розчину Хенкса. На 8-му добу після інокуляції пухлинних клітин групі тварин вводили внутрішньовенно алогенні МСК в концентрації $1,25 \times 10^4$ на тварину. Після цього було сформовано такі групи тварин: 1-ша включала інтактних тварин (контроль), 2-га включала тварин, яким вводили тільки алогенні мезенхімальні стовбурові клітини (MSC), 3-тя включала тварин, яким вводили суспензію метастатичної карциноми легень Льюїс (LLC), 4-та – тварини, яким вводили суспензію метастатичної карциноми легень Льюїс і алогенні МСК (LLC+ MSC).

Для визначення оксигензалежної біоцидності перитонеальних макрофагів застосовували спонтанний та стимулювальний НСТ-тест.

Встановлено, що введення алогенних МСК чинить вплив на оксигензалежний метаболізм перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6. Застосування алогенних МСК забезпечує вірогідне зниження метаболічної активності перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6 з показником стимуляції -12% , що вказує на відсутність функціонального резерву клітин. Встановлено вірогідне зниження метаболічної активності перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6 з перецеленою карциномою легень Льюїс з показником стимуляції -30% , що вказує на відсутність функціонального резерву клітин. Введення алогенних МСК призводить до вірогідного незначного підвищення метаболічної активності перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6 з перецеленою карциномою легень Льюїс із показником стимуляції – 8% , що вказує на наявність функціонального резерву клітин.

Ключові слова: перитонеальні макрофаги, алогенні мезенхімальні стовбурові клітини, оксигензалежний метаболізм, спонтанна активність, стимульована активність, миші, карцинома Льюїс.

УДК 602.9: 611.018: 616-006: 636.028

Кладницький Л. В., к.вет.н., доцент, **Мазуркевич А. И.**, д.вет.н., профессор,
Величко С. В., к.б.н., **Ковпак В. В.**, к.вет.н., старший преподаватель.,
Джус А. И., аспірант, **Шелест Д. В.**, аспірант

Національний університет біоресурсів і природопользования Украины, Киев

ВЛИЯНИЕ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК В ОКСИГЕНЗАВИСИМЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО МАКРОФАГОВ МЫШЕЙ C57BL / 6

Исследования проводили на самцах мышей C57BL/6 массой 20–22 г в возрасте 2–3 месяца. Аллогенные МСК получали культивированием первичного материала, который

© Кладницька Л. В., Мазуркевич А. Й., Величко С. В., Ковпак В. В., Джус О. І., Шелест Д. В., 2015

был выделен из костного мозга мышей C57BL/6. Культивирование клеток проводили в среде DMEM с добавлением 20% фетальной сыворотки бычков (FBS) и 1% смеси антибиотика-антимикотика (Sigma, USA) при 37 °C, 100% влажности и 5% CO₂.

Мышам C57BL/6 внутримышечно вводили клеточную суспензию метастатической карциномы легких Льюис (LLC) в концентрации $1 \times 10^6/0,1$ мл раствора Хэнкса. На 8-е сутки после инокуляции опухолевых клеток группе животных вводили внутривенно аллогенные МСК в концентрации $1,25 \times 10^4$ на животное. После этого было сформировано следующие группы животных: 1-я включала интактных животных (контроль), 2-я включала животных, которым вводили только аллогенные мезенхимальные стволовые клетки (МСК), 3-я включала животных, которым вводили суспензию метастатической карциномы легких Льюис (LLC), 4-я – животные, которым вводили суспензию метастатической карциномы легких Льюис и аллогенные МСК (LLC + MSC).

Для определения оксигензависимой биоцидности перитонеальных макрофагов применяли спонтанный и стимулированный НСТ-тест.

Установлено, что введение аллогенных МСК оказывает влияние на оксигензависимый метаболизм перитонеальных макрофагов у мышей C57BL/6. Применение аллогенных МСК обеспечивает достоверное снижение метаболической активности перитонеальных макрофагов у мышей C57BL/6 с показателем стимуляции -12%, что указывает на отсутствие функционального резерва клеток. Установлено достоверное снижение метаболической активности перитонеальных макрофагов у мышей C57BL/6 с первитой карциномой легких Льюис с показателем стимуляции -30%, что указывает на отсутствие функционального резерва клеток. Введение аллогенных МСК приводит к достоверному незначительному повышению метаболической активности перитонеальных макрофагов у мышей C57BL / 6 с первитой карциномой легких Льюис с показателем стимуляции – 8%, что указывает на наличие функционального резерва клеток.

UDC 602.9: 611,018: 616-006: 636,028

Kladnytska L., k.vet.n., Associate Professor, **Mazurkiewicz A.**, d.vet.n., Professor, **Velichko S.**, PhD, **Kovpak V.**, k.vet.n., senior teacher, **Dzhus A.**, graduate student, **Shelest D.**, PhD student ©

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

INFLUENCE ALLOGENEIC MESENCHYMAL STEM CELLS IN PERITONEAL MACROPHAGES OKSYHENZALEZHNYIY METABOLISM MICE S57BL / 6

The study was conducted on male mice C57BL/6 weighing 20-22 g aged 2-3 months. Receiving allogeneic MSCs cultivation of primary material that was isolated from the bone marrow of mice C57BL/6. Cultivation of cells was carried out in DMEM medium with addition of 20% fetal bovis serum (FBS) and 1% antibiotic-antimycotics (Sigma, USA) at 37 °C, 100% humidity and 5% CO₂.

It was inoculated intramuscularly cell suspension metastatic Lewis lung carcinoma (LLC) in a concentration $1 \times 10^6/0.1$ ml Hanks to mice C57BL/6. On the 8th day after tumor cell inoculation it was administered intravenously allogeneic MSCs in a concentration $1,25 \times 10^4$ to 4th group of animals. After that was formed following groups of animals: 1st included intact animals (control), 2nd – included animals which was administered only allogeneic mesenchymal stem cells (MSC), 3rd – included animals which was administered suspension metastatic Lewis lung carcinoma (LLC), 4th group – which was administered suspension metastatic Lewis lung carcinoma and allogeneic MSCs (LLC + MSC).

Spontaneous and stimulated oxidative metabolism of peritoneal macrophages were established in NBT-test.

It was established that administration allogeneic MSCs influence on oxidative metabolism of peritoneal macrophages in mice C57BL/6. The use of allogeneic MSCs provides a probable decrease metabolic activity of peritoneal macrophages in mice C57BL/6 with stimulation index -12%. It was indicate that cells lose of functional reserve. In mice with Lewis lung carcinoma (3rd group of animals) metabolic activity of peritoneal macrophages in mice C57BL/6 was decreased with stimulation index - 30% like indicating a losek of cells. functional reserve.

Allogeneic MSCs application in mice C57BL/6 perescheplenoyu Lewis lung carcinoma is lead to a slight increase metabolic activity of peritoneal macrophages with stimulation index 8%, which indicates the presence of cells functional reserve.

Мезенхімальні стромальні клітини (МСК) проявили себе як перспективний терапевтичний інструмент в регенеративній медицині, хоча механізми, що лежать в основі дії МСК досі чітко не визначені. В останні роки стало ясно, що лікувальні властивості МСК, пов'язані не тільки з їхньою здатністю диференціюватися в різні клони, але і їх можливості пригнічувати імунну відповідь. Імуномодулювальні ефекти МСК були перевірені не тільки в лабораторних, але і в природних умовах, у ряді моделей на тваринах, пов'язаних з аутоімунними захворюваннями, протипухлинним імунітетом [1–5]. Зокрема, досліджено імуномодулювальну дію, опосередковану МСК, на Т і В-лімфоцити, дендритні клітини і NK-клітини. Було встановлено, що введення МСК до або незабаром після індукції сепсису в мишей забезпечує зниження смертності і поліпшення функції органів. Досліджено, що застосування МСК пригнічує виробництво макрофагами запальних цитокінів – фактора некрозу пухлин (ФНП-альфа), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерлейкіну-12 (ІЛ-12п), інтерферону-гамма але сприяє продукції інтерлейкіну-10 (ІЛ-10) і інтерлейкіну-12п40 (ІЛ-12п40) [5–13].

Запалення зазвичай включає місцеве накопичення великого числа лейкоцитів, які піддаються апоптозу в вогнищі запалення. Кількість апоптотичних клітин відіграє важливу роль у протіканні запальних процесів. Якщо клітини неефективно піддаються апоптозу, вони синтезують внутрішньоклітинні компоненти, здатні додатково збільшити хід запалення, серед них – АТФ, іони К⁺, сечова кислота, кальційзв'язувальні сполуки та ін. [14]. Але механізми, за допомогою яких МСК збільшують фагоцитоз апоптотичних тимоцитів макрофагами, ще належить визначити. Встановлено, що МСК не впливають на збільшення поглинання частинок зімозана макрофагами, підтверджуючи тим, що підвищення здатності макрофагів до фагоцитозу апоптотичних клітин здійснюється не через поліпшення ефективності їхньої фагоцитарної техніки. Крім того з'ясовано, що кількість двох важливих рецепторів, залучених в розпізнаванні апоптотичних клітин – CD36 і CD14, була знижена за впливу MSC. Однак слід зазначити, що поглинання апоптотичних клітин фагоцитами залежить від складної системи рецепторів, а не тільки від кількості CD36 і CD14 [15–20], деякі з яких можуть регулюватися в макрофагах під впливом МСК.

Визначено, що МСК індукують помітне збільшення сприйнятливості до інфекції макрофагів [21]. Механізми, відповідальні за притаманного відносного опору макрофагів до інфекції за всією видимістю, пов'язані з виробництвом запальних цитокінів ФНП-альфа, ІЛ-12п70, ІФН- γ , окису азоту. Результати досліджень показали, що MSC знижують виробництво всіх цих цитокінів у стимульованих макрофагів [21, 22]. Останнє дає можливість припустити, що зниження здатності продукувати цитокіни може бути причиною для підвищеною сприйнятливості до інфекцій.

Секреторна та ефекторна активність мононуклеарних фагоцитів залежить від ступеня їх диференціації і зумовлена конкретним мікрооточенням. Здатність підтримувати пухлинну прогресію особливою мірою притаманна макрофагам, які інфільтрують пухлину – пухлиноасоційованими макрофагам. Треба відзначити, що спеціалізація та активація макрофагів регулюється локальними і системними стимулами, такими, як цитокіни, хемокіни тощо, у тому числі, продукованими під час пухлинного росту. Саме тому сьогодні не викликає сумніву можливість участі макрофагів у процесах стимуляції росту та метастазування пухлин. Відповідно до Th1/Th2 шляху розвитку імунної відповіді існує щонайменше два типи спрямованості активації макрофагів: класичний і альтернативний. Під впливом медіаторів пухлинного походження макрофаги поляризуються до M2-фенотипу, втрачають здатність проявляти протипухлинну дію і можуть сприяти росту і метастазуванню пухлини. Продукти секреції макрофагів забезпечують ангіогенез у пухлині, протеоліз та деградацію екстрацелюлярного матриксу, підтримуючи, таким чином, прогресування фагоцитів пухлинного процесу.

Оксигензалежний метаболізм – один з критеріїв класичної (прозапальної) активації макрофагів. Взаємодія макрофагів з агентами запалення такими, як патогенасоційовані мікробні структури, або прозапальні цитокіни (наприклад, ІФН- γ) призводить до прозапальної (класичної) активації цих клітин, що супроводжується продукцією ними прозапальних цитокінів, реактивних форм кисню, окису нітрогену та ін. У сукупності така активація макрофагів спричиняє розвиток запального процесу й індукування імунної відповіді Th1-типу [23]. Неадекватна прозапальна активація макрофагів може виступати патогенетичним фактором низки захворювань.

Отже, вплив МСК на мікросередовище тканин цілісного організму, а також на біологічні властивості клітин є складним процесом, остаточно не з'ясованим, і тому актуальність цього питання не викликає сумніву.

Метою нашої роботи було дослідити вплив алогенних МСК на функціональну активність перитонеальних макрофагів мишей C57Bl/6.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на самцях мишей C57Bl/6 масою тіла 20–22 г віком 2–3 місяці. Всі дослідження на тваринах були проведені відповідно до Правил належної лабораторної практики щодо використання експериментальних тварин.

Алогенні МСК отримували культивуванням первинного матеріалу, що був виділений із кісткового мозку мишей C57Bl/6 [24]. Культивування клітин проводили у середовищі DMEM із додаванням 20 % фетальної сироватки бичків (FBS) та 1 % суміші антибіотика-антимікотика (Sigma, USA) за 37°C, 100 % вологості і 5 % CO₂ (рис.1).

Мишам C57Bl/6 внутрішньом'язово інюкулювали клітинну суспензію метастатичної карциноми легень Льюїс (LLC) у концентрації $1 \times 10^6 / 0,1$ мл розчину Хенкса. На 8-му добу після інюкуляції пухлинних клітин групі тварин вводили внутрішньовенно алогенні МСК в концентрації $1,25 \times 10^4$ на тварину. Після цього було сформовано наступні групи тварин: 1-ша включала інтактних тварин (контроль), 2-га включала тварин, яким вводили тільки алогенні мезенхімальні стовбурові клітини (MSC), 3-тя включала тварин, яким вводили суспензію метастатичної карциноми легень Льюїс (LLC), 4-та – тварини, яким вводили суспензію метастатичної карциноми легень Льюїс і алогенні МСК (LLC+ MSC).

На 19-ту добу від початку досліду визначали вплив алогенних МСК на активність перитонеальних макрофагів. Позаклітинну продукцію реактивних форм

кисню перитонеальних макрофагів визначали в НСТ-тесті [25]. Як стимулятор «кисневого вибуху» використовували ФМА в концентрації 0,1 мкг/мл.

Джерелом макрофагів слугував перитонеальний ексудат мишей контрольної і дослідних груп [26]. Для цього мишей піддавали еутаназії, здійснюючи цервікальну дислокацію під ефірним наркозом. Звільняли доступ до черевної стінки шляхом зрізання ділянки шкірного покриву. У черевну порожнину стерильно вводили 3 мл середовища RPMI-1640 з додаванням 10% ембріональної сироватки бика і 1% гепарину (5 од/мл), масажували протягом 1 хвилини. За допомогою голки та шприца одержували від кожної тварини по 2,0–2,5 мл промивної рідини в якій осаджували клітини центрифугуванням 1000 об/хв протягом 10 хв. Відмивали клітини середовищем RPMI-1640 та знову осаджували. Супернатант видаляли, осад розпіпетовували у середовищі. Визначали кількість клітин у суспензії за допомогою камери Горяєва після зафарбовування 0,1% трипановим синім.

Для визначення оксигензалежної біоцидності перитонеальних макрофагів застосовували спонтанний та стимульований НСТ-тест. Тест проводили у 96-лункових плоскодонних планшетах за обліку результатів спектрофотометричним методом за довжини хвилі 540 нм. Для цього спочатку готували зразки суспензії клітин для аналізу. Проводили розведення клітин перитонеальних макрофагів у суспензії до концентрації 1×10^5 штук на лунку. Вносили отриману суспензію клітин на 96-лунковий планшет. У дослідні проби для визначення спонтанної активності внесли 0,1 мл нитросинього тетразолію (НСТ) у розведенні – 20 мг НСТ у 10 мл фосфатно-буферного розчину. Для визначення стимульованої активності – 0,1 мл НСТ і 0,02 мл зимозану як додаткового стимулу за стандартних умов. У контрольні лунки вносили тільки 0,1 мл фосфатного буфера. Клітини інкубували протягом 1 години за температури 37 °С в CO₂ інкубаторі. Після інкубації планшет центрифугували протягом 10 хв. за 1000 об/хв. Супернатант видаляли, а до осаду вносили 0,2 мл метанолу. Проводили повторне центрифугування за тих самих умов. Після видалення супернатанту в усі лунки додавали 0,1 мл КОН і 0,1 мл ДМСО, вміст акуратно піпетували. Облік результатів проводили спектрофотометричним методом за довжини хвилі 540 нм. Спонтанну активність перитонеальних макрофагів виражали в умовних одиницях. Відсоток стимуляції активності перитонеальних макрофагів розраховували за формулою:

$$(Cm - Cn) / Cn \times 100\%, \text{ де}$$

Cn – показник оптичної густини спонтанної проби;

Cm – показник оптичної густини стимульованої форболовими ефірами (ФМА) проби.

Результати дослідження. Стимульований НСТ-тест виявляє резервні можливості перитонеальних макрофагів. Початкові показники оксигензалежної реактивності перитонеальних макрофагів вказують на вірогідне збільшення їх спонтанної активності в усіх дослідних групах (табл. 1).

Найбільш суттєве збільшення спонтанного НСТ тесту реєстрували у тварин груп другої (MSC) $0,67 \pm 0,13^{**}$ при $p \leq 0,01$ та четвертої дослідних груп (LLC+MSC) $0,51 \pm 0,03^{***}$ при $p \leq 0,001$. Додаткова стимуляція зимозаном у тварин другої та третьої дослідних груп викликала зниження метаболічної активності з показниками стимуляції перитонеальних макрофагів -12, -30 % відповідно, що вказує на відсутність функціонального резерву клітин, зумовлену перебуванням їх в активному стані. Водночас у четвертій групі (LLC+MSC) метаболічна активність незначно підвищилась і становила 8%, що характеризується наявністю незначного функціонального резерву перитонеальних макрофагів.

Таблиця 1

Вплив алогенних МСК на оксигензалежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей C57BL/6, M+m, n=8, у.о.

Активність	Групи тварин			
	інтактні	MSC	LLC	LLC+MSC
спонтанна	0,25±0,02	0,67±0,13**	0,46±0,40***	0,51±0,03***
індукована	0,34±0,02	0,59±0,11*	0,32±0,4	0,55±0,09*
Показник стимуляції, %	36	-12	-30	8

Примітка: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ у порівнянні з інтактними тваринами

Результати дисперсійного аналізу вказують на те, що застосування алогенних МСК вірогідно впливає на оксигензалежний метаболізм перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6 за розвитку карциноми легень Льюїс (табл. 2).

Таблиця 2

Сила впливу алогенних МСК на оксигензалежний метаболізм перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6, η^2_x , n=8

Активність	Групи тварин	
	MSC	LLC+MSC
спонтанна	0,33**	0,40**
індукована	0,23**	0,28**

Примітка: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$

Така зміна оксигензалежного метаболізму перитонеальних макрофагів у тварин четвертої групи (LLC+MSC), на нашу думку, пов'язана як з процесом культивування МСК *in vitro*, так і з регулювальним впливом стовбурових клітин на цілісний організм. Секреторна і ефекторна активність макрофагів залежить від ступеня їхньої диференціації і зумовлена конкретним мікрооточенням, яке забезпечує особливості фенотипу та функцій зрілих макрофагів. Процес культивування первинного матеріалу *in vitro* супроводжується перебуванням клітин у штучних умовах, де відбувається їхня адаптація і зміна імуногенних властивостей. Наступне введення алогенних МСК мишам сприймається організмом тварини як додаткове антигенне навантаження, що в свою чергу супроводжується імуносупресією. Але з іншого боку, наявність функціонального резерву, що був виявлений у тварин 4-ої групи за стимуляції макрофагів зімозаном вказує на регулювальний вплив МСК на організм в цілому.

Висновки.

1. Введення алогенних МСК чинить вплив на оксигензалежний метаболізм перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6.

2. Застосування алогенних МСК забезпечує вірогідне зниження метаболічної активності перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6 з показником стимуляції – -12%, що вказує на відсутність функціонального резерву клітин.

3. Встановлено вірогідне зниження метаболічної активності перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6 з перещепленою карциномою легень Льюїс з показником стимуляції – -30%, що вказує на відсутність функціонального резерву клітин.

4. Введення алогенних МСК призводить до вірогідного незначного підвищення метаболічної активності перитонеальних макрофагів у мишей C57BL/6 з перещепленою карциномою легень Льюїс з показником стимуляції – 8%, що вказує на наявність функціонального резерву клітин.

Література

1. Keating A. Mesenchymal stromal cells. *Curr Opin Hematol*. 2006; 13: 419–425.

2. Geissmann F., Manz M. G., Jung S., Sieweke M. H., Merad M., Ley K. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science*. 2010; 327: 656–661.
3. Nauta A. J., Fibbe W. E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*. 2007;110:3499–3506.
4. Uccelli A., Moretta L., Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:726–736
5. Jiang X. X., Zhang Y., Liu B., Zhang S. X., Wu Y., et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood*. 2005; 105: 4120–4126.
6. Julian Maggini Mouse Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells Turn Activated Macrophages into a Regulatory-Like Profile // Julian Maggini, Gerardo Mirkin, Ianina Bognanni, Josefina Holmberg, Isabel M. Piazzón, Irene Nepomnaschy, Héctor Costa, Cristian Cañones, Silvina Raiden,¹Mónica Vermeulen,¹and Jorge R. Geffner *PLoS One*. 2010; 5(2): e9252. Published online 2010 Feb 16. doi: 10.1371/journal.pone.0009252
7. Li Y. P., Paczesny S., Lauret E., Poirault S., Bordigoni P. Human mesenchymal stem cells license adult CD34+ hemopoietic progenitor cells to differentiate into regulatory dendritic cells through activation of the Notch pathway. *J Immunol*. 2008;180: 1598–1608.
8. Spaggiari G. M., Capobianco A., Becchetti S., Mingari M. C., Moretta L.. Mesenchymal stem cells-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. *Blood*. 2006; 107: 1484–1490.
9. Spaggiari G. M., Capobianco A., Abdelrazik H., Becchetti F., Mingari M. C., et al. Mesenchymal stem cells inhibit natural-killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood*. 2008; 111:1327–1333.
10. Krampera M., Glennie S., Dyson J., Scott D., Laylor R. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naïve and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood*. 2003; 101: 3722–3729.
11. Keating A. How do mesenchymal stromal cells suppress T cells? *Cell Stem Cell*. 2008; 2: 106–108 .
12. Rasmuson I., Ringdén O., Sundberg B., Le Blanc K. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells. *Transplantation*. 2003; 76: 1208–1213.
13. Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E., Giunti D., Cappiello V., et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*. 2006; 107: 367–372.
14. Coligan J. E., Kruibeek A. M., Margulies D. H. Morphological and biochemical assays of apoptosis. 1994. In: *Current Protocols in Immunology*. Vol 3, New York: Wiley.
15. Puddu P., Fantuzzi L., Borghi P., Varano B., Rainaldi G., et al. IL-12 induces IFN-gamma expression and secretion in mouse peritoneal macrophages. *J Immunol*. 1997;159: 3490–3497.
16. Mantovani A., Sica A. Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity // *Curr. Opin. Immunol.* – 2010. – 22, No 2. – P. 231–237.
17. Munder M., Mallo M., Eichmann K., Modolell M. Murine macrophages secrete interferon gamma upon combined stimulation with interleukin (IL)-12 and IL-18: A novel pathway of autocrine macrophage activation. *J Exp Med*. 1998;187:2103–2108.
18. Schleicher U., Hesse A., Bogdan C. Minute numbers of contaminant CD8+ T cells or CD11b⁺CD11c⁺ NK cells are the source of IFN- γ in IL-12/IL-18 stimulated mouse macrophage populations. *Blood*. 2005; 105: 1319–1328.
19. Mosser D. M., Edwards J. P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8: 958–969.
20. Erwig L. P., Henson P. M. Clearance of apoptotic cells by phagocytes. *Cell Death Differ*. 2008;15: 243–250.
21. Moncayo A., Ortiz Yanine M. I. An update on Chagas disease (human American trypanosomiasis). *Ann Trop Med Parasitol*. 2006; 100: 663–677.

22. Stempin C., Giordanengo L., Gea S., Cerbán F. Alternative activation and increase of *Trypanosoma cruzi* survival in murine macrophages stimulated by cruzipain, a parasite antigen. *J Leuk Biol.* 2002; 72: 727–734.

23. Németh K., Leelahavanichkul A., Yuen P. S., Mayer B., Parmelee A., et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E2-dependent reprogramming of host macrophages to increase their IL-10 production. *Nat Med.* 2009; 15: 42–49.

24. Mazurkevich A. Y., Kladnytska L. V., Kovpak V. V. Features conditions selection and cultivation mouse bone marrow adhesive fraction mononuclear cells. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv – Vestnik;* 2013, Vol. 64 Issue 2, pp. 41–43.

25. Park B.H., Fikrig S.M., Smithwich E.M. Infection and nitrobluetetrazolium reduction by neutrophils; a diagnostic aid. *Lancet.* 1968. V. 11 (2). P. 532–534.

26. Zhang X. The isolation and characterization of murine macrophages Zhang X. Goncalves R. Mosser D. // *Curr. Protoc. Immunol.* – 2008. – Chapter 14 unit 14.1 – P.1411–1414.

Стаття надійшла до редакції 25.09.2015

УДК 619: 611. 3/34. 018: 636.598

Кот Т. Ф., к. вет. н., доцент (E-mail: rool@pisem.net) ©

Житомирський національний агроекологічний університет, м. Житомир, Україна

МИКРОСКОПІЧНІ ПОКАЗНИКИ РОСТУ ЯЙЦЕПРОВОДУ КУРЕЙ В РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ

У статті наведені мікроскопічні показники росту яйцепроводу курей кросу Хайсекс віком 1, 30, 60, 90, 120 діб. Встановлено два періоди зміни мікроскопічних показників: помірного збільшення та інтенсивного збільшення. Товщина стінки яйцепроводу найбільш інтенсивно зростає в курей віком від 90 до 120 діб (на 165 % – в краніальній, на 420 % – в середній, на 501 % – в каудальній частинах). Показники висоти складок слизової оболонки, товщини слизової і м'язової оболонок теж інтенсивно збільшуються у курей з 90- до 120-догові віку. Між віком курей і мікроскопічними показниками залежність поліноміальна. У курей всіх вікових груп товщина стінки яйцепроводу і його м'язової оболонки найбільша в каудальній частині (70,24±6,28 – 1430,22±173,52 і 39,72±3,26 – 1307,57±188,12 мкм), а товщина слизової оболонки і висота складок найбільша в середній частині (37,45±5,28 – 310,72±36,37 і 82,78±10,12 – 2799,29±304,54 мкм) органу. Параметри морфометрії яйцепроводу у клінічно здорових птахів слід використовувати як показники норми при діагностиці захворювань різноманітного генезису та при проведенні експериментальних досліджень.

Ключові слова: *кури, онтогенез, яйцепровід, товщина стінки і оболонок, висота складок слизової оболонки.*

УДК 619: 611. 3/34. 018: 636.598

Кот Т. Ф., к. вет. н., доцент

*Житомирський національний агроекологічний університет, г. Житомир,
Україна*

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РОСТА ЯЙЦЕВОДА КУР В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

В работе приведены микроскопические показатели роста яйцевода кур кросса Хайсекс возрастом 1, 30, 60, 90, 120 суток. Установлено два периода изменения микроскопических показателей: умеренного увеличения и интенсивного увеличения. Толщина стенки яйцевода наиболее интенсивно увеличивается у кур возрастом от 90 до 120 суток (на 165 % – в краниальной, на 420 % – в средней, на 501 % – в каудальной