МіністерствоосвітиінаукиУкраїни

КиївськийнаціональнийуніверситетіменіТарасаШевченка

МіністерствоосвітиінаукиУкраїни

КиївськийнаціональнийуніверситетіменіТарасаШевченка

Кваліфікаційнанаукова

працянаправахрукопису

ДОВГИЙРОМАНСЕРГІЙОВИЧ

УДК

ДИСЕРТАЦІЯ

ФУНКЦІОНАЛЬНАПОЛЯРИЗАЦІЯФАГОЦИТІВТАЇЇКОРЕКЦІЯУ

ТВАРИНРІЗНИХВІКОВИХГРУП

–імунологія

Подаєтьсяназдобуттянауковогоступенякандидатабіологічнихнаук

ДисертаціяміститьрезультативласнихдослідженьВикористанняідей

результатівітекстівіншихавторівмаютьпосиланнянавідповіднеджерело

ДовгийРС

НауковийкерівникСківкаЛарисаМихайлівнадокторбіологічнихнаук

професор

Київ–

ЗМІСТ

СПИСОКУМОВНИХСКОРОЧЕНЬ

ВСТУП

РОЗДІЛОглядлітератури

Походженняфункціїметаболічнаполяризаціятаімунорегуляторні

властивостімакрофагів

Фенотиповофункціональнізмінифагоцитівуструктуріпатогенезувікової

патологіїтаїхкорекція

Застосуваннямультипотентнихмезенхімнихстромальнихклітину

лікуванніімунозалежноїпатології

Характеристикатаімуномодуляторнівластивостімультипотентних

мезенхімнихстромальнихклітин

Використаннямультипотентнихмезенхімнихстромальнихклітину

клітиннійтерапії

РОЗДІЛМатеріалиіметодидосліджень

Досліднітварини

Виділенняфагоцитів

Диференціюваннямакрофагівзклітинкістковогомозкувкультурі

Виділенняальвеолярнихмакрофагів

Виділенняперитонеальнихмакрофагів

Виділеннямакрофагівтагранулоцитівселезінки

Виділеннякістковомозковихнейтрофілів

Аналізжиттєздатностіклітин

Дослідженнявнутрішньоклітинноїпродукціїреактивнихформкисню

Дослідженняфагоцитарноїактивності

Дослідженняаргіназноїактивності

ДослідженняпродукціїнітритівреакціяГріса



Дослідженняекспресіїфенотиповихмаркерівфагоцитів

Схемадослідженнявпливумультипотентнихмезенхімнихстромальних

клітинтимусунаметаболічнийпрофільмакрофагів

Формуваннянеонатальноїтолерантностідолейкоцитів

Модельгетерохронногопарабіозу

Схемадослідженнявпливумакрофагівстарихтвариннафенотиповий

профільТлімфоцитівлімфоїднихорганівмолодихгетерохроннихпарабіонтів



Виділеннялімфоїднихорганівтаотриманняклітинімунноїсистеми

парабіонтівдляаналізу

ДослідженняекспресіїфенотиповихмаркерівмакрофагівтаТлімфоцитів

лімфоїднихорганівпарабіонтів

Статистичнийаналізрезультатів

РОЗДІЛВіковізмінифенотиповофункціональногопрофілюмакрофагівта

нейтрофіліврізноїлокалізації

Змінифункціональногопрофілюмакрофагівмоноцитарногопоходженняз

віком

Функціональнийпрофільтканиннихмакрофагівстарихмишей

Змінифункціональногопрофілюперитонеальнихмакрофагівстарих

мишей

Змінифункціональногопрофілюальвеолярнихмакрофагівстарихмишей



Змінифункціональногопрофілюмакрофагівселезінкистарихмишейпісля

імунізаціїкорпускулярнимантигеном

Змінифенотиповофункціональногопрофілюкістковомозкових

нейтрофілівзвікомумишей

Змінифенотиповофункціональногопрофілюгранулоцитівселезінки

старихімунізованихмишей

Висновкидорозділу

РОЗДІЛЗмінифенотиповогопрофілюТлімфоцитіввториннихлімфоїдних

органівмолодихмишейпідвпливоммакрофагівстарихтвариннамоделі

гетерохронногопарабіозу



ФенотиповийпрофільмакрофагівстарихмишейтаТклітинмолодих

тваринулімфовузлахмолодихпартнерівпогетерохронномупарабіозу

ФенотиповийпрофільмакрофагівстарихмишейтаТклітинмолодих

тваринуселезінкахмолодихпартнерівпогетерохронномупарабіозу

Висновкидорозділу

РОЗДІЛВпливмультипотентнихмезенхімнихстромальнихклітинтимусу

наметаболічнийпрофільтканиннихмакрофагівтамакрофагів

моноцитарногопоходженняотриманихвідмишейрізноговіку

Модуляціяфенотиповофункціональногопрофілюмакрофагів

моноцитарногопоходженняотриманихвідстарихмишейпри

співкультивуваннізмультипотентнимимезенхімнимистромальнимиклітинами

тимусумолодихтварин

Зміниметаболізмуаргінінуперитонеальнихмакрофагівотриманихвід

старихмишейприспівкультивуваннізмультипотентнимимезенхімними

стромальнимиклітинамитимусумолодихтварин

Висновкидорозділу

ОБГОВОРЕННЯРЕЗУЛЬТАТІВ

ВИСНОВКИ

СПИСОКВИКОРИСТАНИХДЖЕРЕЛ

ДОДАТОК



ПЕРЕЛІКУМОВНИХСКОРОЧЕНЬ

ВЛО–вториннілімфоїдніоргани

ГКСФ–колонієстимулюючийфакторгранулоцитів

ДК–дендритніклітини

ДХФ–’’дихлордигідрофлюоресцеїндиацетат

ЕДТА–етилендіамінтетраоцтовакислота

ЕТС–ембріональнателячасироватка

ІФНγ–інтерферонгамма

КПЗ–клітиниперитонеальногозмиву

ЛВ–лімфовузли

ЛПС–ліпополісахарид

мРНК–матричнарибонуклеїновакислота

МКСФ–колонієстимулюючийфактормакрофагів

ММСК–мультипотентнімезенхімністромальніклітини

ПМФ–перитонеальнімакрофаги

РТПГ–реакціятрансплантатпротигосподаря

РФК–реактивніформикисню

ТКР–Тклітиннийрецептор

ТФРβ–трансформуючийфакторростуβ

тММСК–мультипотентнімезенхімністромальніклітинитимусу

Тх–Тхелпер

ФБР–фосфатнийбуфернийрозчин

ФІ–фагоцитарнийіндекс

ФМА–форболміристатацетат

ФНПα–факторнекрозупухлиниα

ФР–фізіологічнийрозчин

ФЧ–фагоцитарнечисло

β––енхансерзв’язуючийбілок



––хемокінмотивліганд

––кластердиференціації

––білокасоційованийз

цитотоксичнимиТлімфоцитами

––хемокінмотивліганд

––хемокіновийрецептор

––фосфатнийбуферДюльбеко

––флюоресцеїнаізотіоціанат

––зеленийфлуоресцентнийбілок

––інтерлейкін

––індуцибельнасинтазаоксидуазоту

α–α–індукованийгіпоксієюфакторα

людськийлейкоцитарнийантиген

––міогенактивованапротеїнкіназа

––

Нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат

––позаклітинніпасткинейтрофілів

––оксидазоту

–рецепторпрограмованоїзагибеліклітин

–фікоеритрин

–подібнірецептори

––білокфакторнекрозу

пухлиниαіндуцибельногогену



ВСТУП

АктуальністьтемиСтаріннясупроводжуєтьсяпорушенням

функціонуванняусіхсистеморганізмуутомучислійімунноїсистемиЦе

зумовлюєпідвищеннячастотивиникненнязлоякіснихновоутвореньта

аутоімунниххворобзвікоматакожпідвищеннязахворюваностітасмертності

відінфекційВіковізміниімунноїреактивностіасоційованітакожіз

явищемінфламейджингувіданглрозвиткомхронічного

запальногопроцесузпідвищеннямрівнячинниківзапаленняінтерлейкіну

Среактивногобілкатафакторанекрозупухлинαкотрийвважаютьоднієюз

основнихпричинсерцевосудиннихзахворюваньметаболічногосиндромута

іншихвіковиххворобКількістьлюдейпохилоговікуусвітіпостійно

зростаєщоактуалізуєдослідженнявіковихпорушеньімунноїсистеми

Виключнарольузабезпеченніімунноїрезистентностііконтроліімунної

реактивностіорганізмуналежитьмакрофагамВониєрезидентними

клітинамиусіхтканинорганізмуівиконуютьфункціюпідтримкитканинного

гомеостазуатакожфункціїклітинпатрульнихякізабезпечуютьпершулінію

імунногозахистуорганізмуізначноюміроювизначаютьспрямованістьі

характерадаптивноїімунноївідповідіВідомощоТклітинналанка

імунітетупорушуєтьсязвікомОскількиТлімфоцитиєважливим

елементомзахисноїсистемиорганізмупорушенняїхніхфункційзумовлює

розвитокчисленнихвіковихзахворюваньВраховуючиздатність

вродженоїімунноїсистемизокрематканиннихмакрофагівініціюватита

регулюватиадаптивнуімуннувідповідьприпускаєтьсящосаме

макрофагистарогоорганізмуможутьвикликатирозвитоквіковихзмінТлімфоцитів

Макрофагихарактеризуютьсяздатністюдонабуттяширокогоспектру

функціональнихстаніввзалежностівідстимулівщообумовлюютьїхню

активаціюЗагальноприйнятоюєконцепціяактиваціїщопередбачає

поляризаціюмакрофагівупротилежніактиваційністанипрозапальніабо



класичноактивованіМтапротизапальніабоальтернативноактивовані

МмакрофагиКожензцихполяризаційнихстанівпередбачаєактивацію

метаболічнихреакційнеобхіднихдляпідтримкигомеостазуорганізму

ЦентральнимрегуляторомактиваціїмакрофагівєметаболізмаргінінуДва

протилежнішляхиобумовлюютьметаболічніперетворенняаргінінууцих

клітинСинтазаоксидуазотуперетворюєаргініннаоксидазотурадикали

якогообумовлюютьцитотоксичнудіюпрозапальнихМмакрофагіва

аргіназа–напролінтаполіамінияківідіграютьважливурольусинтезі

колагенутапроліфераціїклітиниобумовлюючитакимчиномрепаративну

функціюпротизапальнихМмакрофагів

Чималопатологічнихстаніврізноїорганноїлокалізаціїпов’язанізтим

чиіншимметаболічнимзсувоммакрофагівякийневідповідаєфізіологічним

потребампевноїтканиниЗоглядунацеактивнорозробляються

терапевтичніпідходидляманіпуляціїполяризаційнимстатусоммакрофагівпри

різнихзахворюванняхОднимзтакихтерапевтичнихпідходівможе

розглядатисяклітиннатерапіязвикористанняммультипотентнихмезенхімних

стромальнихклітинЦіклітиниєперспективнимзасобомдлялікування

захворюваньімунноїсистемиутомучисліобумовленихфеноменом

інфламейджингузавдякиїхздатностірегулюватиреакціїзапаленняоднієюз

основнихклітиннихефекторнихланокякогоємакрофагиРозробка

такихметодіввимагаєглибокогознаннявіковихфенотиповофункціональних

особливостейцихклітинРезультатидеякихдослідницькихгрупвказуютьна

порушенняактиваціїмакрофагівпристарінніОднакціданіє

нечисленнимитасуперечливимитомухарактеристикаактиваційногостатусу

макрофагівстарогоорганізмутаможливістьйогомодулюваннявимагають

подальшоговивчення

Дослідженняостанніхроківзначнорозширилинашерозуміння

онтогенезутканиннихмакрофагівБільшістьрезидентнихмакрофагівмають

ембріональнепоходженняівнормінепотребуютьміграціїмоноцитівв

тканинидляпідтриманнясвоєїкількостіВиявленощовокремих



тканинахзвікомвідбуваєтьсяпрогресивнезаміщеннямакрофагів

ембріональногопоходженнянамакрофагиякідиференціюютьсяз

циркулюючихмоноцитівКрімтогопоказанощоумакрофагів

ембріональногопоходженняспостерігаєтьсяпорушенняфагоцитарноїфункціїз

вікомвтойчасякумакрофагівмоноцитарногопоходженнятакихзмінне

виявленоЦесвідчитьпроможливурольонтогенезуурозвиткувікових

порушеньцихклітинНатомістьособливостіфункціональногопрофілю

макрофагіврізноїлокалізаціїтаонтогенезупристаріннізалишаються

практичнонедослідженими

Зв’язокроботизнауковимипрограмамипланамитемами

ДисертаційнароботанакафедрімікробіологіїтаімунологіїННЦІнститут

біологіїтамедициниКиївськогонаціональногоуніверситетуіменіТараса

ШевченкаурамкахнауководосліднихтемМеханізмиреалізаціїадаптаційнокомпенсаторнихреакційорганізмузаумоврозвиткурізнихпатологій

рр№дртаМеханізмирегуляціїметаболічнихпроцесівв

організмізаумоврозвиткупатологічнихстаніврр№др



Авторвисловлюєособливуподякузавідувачулабораторіїпатофізіології

таімунологіїБутенкуГМтавсьомуколективулабораторіїзанеоціненну

допомогуупроведеннідослідженьнамоделігетерохронногопарабіозу

МетаізадачідослідженняМетоюроботибулодослідити

фенотиповофункціональнийпрофільфагоцитівтайогокорекціюумишей

різнихвіковихгруп

Длядосягненняметибулипоставленінаступнізавдання

Дослідитиспрямованістьметаболізмуаргінінурезидентних

тканиннихмакрофагівтамакрофагівдиференційованихзмоноцитів

отриманихвідмишейрізноговіку

Провестипорівняльнедослідженняфагоцитарноїактивностіта

оксидативногометаболізмумакрофагівтанейтрофілівмишейрізноговіку



Визначитиособливостіспонтанноїтаіндукованої

співкультивуваннямзММСКтимусутММСКекспресіїфенотипових

маркерівфункціональноїзрілостімакрофагамимишейрізноговіку

Дослідитивпливмакрофагівстарихмишейнафенотиповийпрофіль

Тлімфоцитівлімфоїднихорганівмолодихтвариннамоделігетерохронного

парабіозу

Дослідитиконтактнийвпливмультипотентнихмезенхімних

стромальнихклітинтимусутММСКнаметаболічнийпрофільтканинних

макрофагівтамакрофагівмоноцитарногопоходженняотриманихвідмишей

різноговіку

Об’єктдослідженняфункціональнаполяризаціяфагоцитівумишей

різноговіку

Предметдослідженняекспресіяфенотиповихмаркерівфункціональної

зрілостіметаболізмаргінінуфагоцитарнаактивністьтаоксидативний

метаболізммакрофагівтанейтрофілівфенотиповофункціональнізміни

фагоцитівзаумовспівкультивуваннязтММСК

Методидослідженнядлявиконанняпоставленихзавданьуроботі

використаноімунологічнітацитофлуориметричнівизначенняпоглинальної

активностітапродукціїРФКфагоцитамисубпопуляційногоскладулімфоцитів

тамакрофагіввториннихлімфоїднихорганівекспресіїфенотиповихмаркерів

функціональноїзрілостімакрофагамибіохімічнітаспектрофотометричні

визначенняаргіназноїактивностітапродукціїоксидуазотукультуральні

диференціюваннязрілихмакрофагівзпопередниківкістковогомозку

співкультивуваннямакрофагівтатММСКтастатистичніметоди

НауковановизнаотриманихрезультатівВпершевиявленота

охарактеризованоособливостізмінметаболічногопрофілюфагоцитіврізної

локалізаціїтапоходженнязвікомумишейВстановленощомакрофагам

моноцитарногопоходженнякістковомозковітаселезінковістарихтварин

властивийпрозапальнийМзсувметаболізмуаргінінуутойчасяк

макрофагамембріональногопоходженняперитонеальніальвеолярні



притаманнийпротизапальнийзсувметаболізмуаргінінуМзізниженням

оксидативногометаболізму

Розширеноіснуючіуявленнястосовновпливумакрофагівлімфоїдних

органівнавіковізміниТлімфоцитівНамоделігетерохронногопарабіозу

показанощомакрофагистарихтваринхарактеризуютьсяпосиленоюміграцією

вселезінкуілімфоїднівузлиЗбільшеннявідносноїкількостімакрофагіву

лімфовузлахасоціюєтьсязізбільшеннямуїхскладічасткиТлімфоцитівз

фенотипомрегуляторнихклітинМіграціямакрофагівстарихтварину

селезінкусупроводжуєтьсязменшеннямвідносноїкількостірегуляторнихТклітин

ОтриманоновіданістосовномодуляторноговпливутММСКна

метаболічнийпрофільмакрофагівВумовахпродемонстровано

можливістьмодуляціїметаболізмуаргінінуумакрофагіврізноїлокалізаціїта

онтогенетичногопоходженняотриманихвідстарихмишейпри

співкультивуваннітММСКмолодихтваринПродемонстрованобільшвиразний

модуляторнийефекттММСКнамакрофагимоноцитарногопоходження

отриманівідстарихмишейпорівнянозвідповіднимиклітинамимолодих

тваринневиявленозалежностімодуляторноговпливутММСКнамакрофаги

ембріональногопоходженнявідвікумишейдонорівцихклітин

ПрактичнезначенняодержанихрезультатівРезультати

дисертаційногодослідженняекспериментальнообґрунтовуютьможливість

застосуванняклітинноїтерапіїзвикористаннямтММСКдляпротизапальної

метаболічноїполяризаціїтканиннихмакрофагів

Зарезультатамироботирозробленометодикуіндукуваннянеонатальної

толерантностідопозитивнихлейкоцитівякаможебутивикористанау

дослідженняхприсвяченихвивченнюпроцесівміграціїіхомінгуклітин

імунноїсистеми

Матеріалидисертаційноїроботивикористовуютьсявучбовомупроцесі

кафедримікробіологіїтаімунологіїННЦІнститутбіологіїтамедициниу



структурікурсулекційІмунологіярепродукціїдлястудентівімунологів

освітньогорівнямагістр

ОсобистийвнесокздобувачаСпільнознауковимкерівникомдбн

ЛМСківкоюрозробленоконцепціюдисертаційноїроботисформульовано

метутазавданнядисертаційногодослідженняАвторомсамостійнобули

проаналізованіданілітературищостосуютьсяпроблематикидисертаційної

роботиЗдобувачемпроведенідослідженняфенотиповофункціонального

профілюфагоцитіврізноїтканинноїлокалізаціїтапоходженняЕксперименти

намоделігетерохронногопарабіозупроведенізапідтримкиіконсультативної

допомогидмнпрофесораакадемікаНАМНУкраїничленкореспондента

НАНУкраїнитаРАМНГМБутенкоДослідженняпоспівкультивуванню

тММСКпроведенізапідтримкиіконсультативноїдопомогизавідувача

лабораторіїімунологіїДержавноїустановиІнститутгенетичноїта

регенеративноїмедициниНАМНУкраїнидмнпрофесораІС

НікольськогоАвторвисловлюєтакожглибокувдячністьзаконсультативну

допомогудмнІМПішель

АпробаціярезультатівдисертаціїРезультатидисертаційноїроботи

булипредставленінаМіжнароднійконференціїмолодихвчених’Київ

МіжнароднійнауковійконференціїМікробіологіятаімунологія–перспективи

розвиткувстоліттіКиївМіжнароднійконференціїмолодих

ученихБіологіявідмолекулидобіосфериХарківІІМіжнародній

науковійконференціїстудентівіаспірантівМолодьіпоступбіологіїЛьвів

МіжнароднійконференціїЄвропейськоїОрганізаціїМолекулярної

БіологіїГейдельберг

НімеччинаМіжнароднійнауковійконференціїПсихофізіологічні

тавісцеральніфункціївнормііпатологіїКиїв

ПублікаціїЗаматеріаламидисертаціїопублікованоробітзних

статейуфаховихнауковихвиданняхзних–увиданняхщовходятьдо

міжнародноїбазиданих–увиданняхщовходятьдоміжнародної



базиданихтезуматеріалахміжнароднихтавітчизняних

конгресівіконференцій

СтруктураіобсягдисертаціїДисертаційнароботаскладаєтьсязі

вступуоглядулітературиописуматеріалівтаметодівдослідженнятрьох

розділіврезультатівдослідженнятаїхобговореннявисновківсписку

використанихлітературнихджерелтадодаткуЗагальнийобсягдисертації

складаєсторінокосновнучастинуроботивикладенонасторінках

РоботаілюстрованатаблицямитарисункамиПереліквикористаних

літературнихджерелвключаєнайменуваньзнихкирилицею–

латиницею–

ВИСНОВКИ

Удисертаціїнаведенотеоретичнеузагальненнятапредставлено

вирішенняодногозважливихпитаньімуногеронтології–з’ясуванняхарактеру

змінфункціональногопрофілюфагоцитіврізногопоходженняїхвпливуна

фенотиповийпрофільлімфоцитіввториннихлімфоїднихорганівчутливостідо

модуляторноїдіїсингеннихмультипотентнихмезенхімнихстромальнихклітин

звіком

Умакрофагівмоноцитарногопоходженнястарихмишейзареєстровано

прозапальнуполяризаціюметаболізмуаргінінузниженняаргіназної

активностінаумакрофагівселезінкитанаумакрофагів

кістковогомозкупорівнянозвідповіднимиклітинамимолодихтварин

Макрофагиембріональногопоходженнястарихмишей

характеризувалисязростаннямаргіназноїактивностіальвеолярнихта

перитонеальнихмакрофагівнатапорівнянозклітинами

молодихтваринвідповідно

Встановленодостовірновищийрівеньпродукціїреактивнихформкисню

макрофагамикістковогомозкутаселезінкистарихмишейута

разивідповіднопорівнянозклітинамимолодихтваринУальвеолярних

макрофагівстарихмишейвідсотокклітинщопродукувалиРФКнижчий

уразівпорівнянозклітинамимолодихтваринРівеньпродукціїРФК

перитонеальнимимакрофагамистарихмишейнанижчийніжу

молодихтварин

Угранулоцитівселезінкистарихтваринвиявленоуразивищірівні

продукціїреактивнихформкиснюпорівнянозклітинамимолодих

мишей

Умакрофагівембріональногопоходженнястарихмишейзареєстровано

достовірнезниженняфагоцитарногочисланауальвеолярних

макрофагівтанауперитонеальнихмакрофагівпорівняноз



клітинамимолодихтваринПоказникифагоцитарногоіндексустарихта

молодихтваринневідрізнялися

Намоделігетерохронногопарабіозувиявленопосиленняміграційної

здатностіфагоцитівстарихтваринПрисутністьфагоцитівстарихтварин

увториннихлімфоїднихорганахмолодихгетерохроннихпарабіонтів

асоціюєтьсязізбільшеннямкількостіТлімфоцитівзфенотипом

регуляторнихклітинулімфовузлахтазменшеннямкількостіцихклітин

уселезінці

Співкультивуваннямакрофагівмоноцитарногопоходженняіз

сингеннимитММСКсупроводжуєтьсязростаннямекспресії

фенотиповогомаркераальтернативноїактиваціїуразіву

макрофагівмолодихмишейтауразиуфагоцитівстарихтварин

порівнянозконтрольнимитваринамивідповідноївіковоїкатегорії

тММСКвумовахконтактногоспівкультивуванняспричиняють

протизапальнийзсувметаболізмуаргінінумакрофагамимоноцитарного

таембріональногопоходженнязізростаннямаргіназноїактивності

макрофагівмоноцитарногопоходженнямолодихтастарихмишейута

разааргіназноїактивностіперитонеальнихмакрофагівута

разіввідповідно