

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**ВЛИЯНИЕ Th1/Th2-ПОЛЯРИЗУЮЩИХ АГЕНТОВ – ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА СУЛЬФАТА И МУРАМИЛДИПЕПТИДА – НА МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ МАКРОФАГОВ**

© 2009 г. В.О. Ткачев, Н.Н. Вольский, О.Т. Кудаева, О.П. Колесникова, В.А. Козлов

ГУ НИИ Клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск, Россия

Поступила: 02.02.2009. Принята: 12.05.2009

В экспериментах *in vivo* и *in vitro* изучено влияние дегидроэпиандростерона сульфата (DHEA-S) и мурамилдипептида (MDP), обладающих оппозитными эффектами на Th1/Th2-баланс, на активность NO-синтазы и аргиназы в макрофагах мышей (C57Bl6xDBA/2) F1. Установлено, что DHEA-S изменяет метаболическое состояние макрофагов в сторону преобладания NO-синтазной активности, способствуя, тем самым, активации клеток по классическому механизму. MDP, напротив, увеличивает активность аргиназы *in vivo*, что свидетельствует об альтернативной активации макрофагов. Эффекты дегидроэпиандростерона и мурамилдипептида могут быть тесно связаны с их оппозитным влиянием на Th1/Th2-девиацию иммунного ответа.

**Ключевые слова:** макрофаги, дегидроэпиандростерона сульфат, мурамилдипептид, аргиназа, оксид азота.

**ВВЕДЕНИЕ**

Макрофаги и дендритные клетки, «дирижирующие» дифференцировкой Т-лимфоцитов, могут находиться в различных метаболических состояниях, в частности, отличаться особенностями метаболизма L-аргинина в клетках, что тесно связано с их иммунорегуляторными свойствами. Развитие Th1-опосредованного иммунного ответа *in vitro* сопровождается индукцией гена индуцибельной NO-синтазы (iNOS) в антигенпрезентирующих клетках [1], при этом синтезируемый данным ферментом из аргинина оксид азота способствует дифференцировке наивных Т-лимфоцитов в Th1-клетки [2]. При Th2-зависимых иммунных процессах наблюдается увеличение активности аргиназы, причем конечные продукты данного пути метаболизма L-аргинина – пролин и полиамины – способствуют клеточной пролиферации (в том числе и пролиферации клеток-антителопродукторов), разрешению острой воспалительной реакции и репарации тканей [3, 4].

При изучении хронической реакции трансплантат против хозяина (РТПХ), индуцированной переносом полуаллогенных

лимфоидных клеток от мышей линии DBA/2 гибридам первого поколения B6D2F1, было выявлено существование двух ее альтернативных иммунопатологических вариантов, характеризующихся преимущественной активацией различных субпопуляций Т-хелперов [5]. Введение мышам дегидроэпиандростерона сульфата (DHEA-S) на этапе индукции существенно увеличивает частоту развития Th1-зависимого варианта хронической РТПХ. Мурамилдипептид (MDP), напротив, оказывает Th2-поляризующее действие на иммунные процессы в описанной модели [6, 7].

До настоящего времени клеточные и молекулярные механизмы влияния DHEA-S и MDP на Th1/Th2-баланс в организме остаются до конца не изученными. Во многих случаях эффекты дегидроэпиандростерона (в том числе на иммунную систему) противоположны действию глюкокортикоидных гормонов. Известно, что глюкокортикоиды снижают экспрессию гена индуцибельной NO-синтазы, но усиливают экспрессию гена аргиназы II типа [8, 9]. В настоящее время регуляторное действие DHEA-S на метаболизм L-аргинина в макрофагах практически не изучено, но можно предположить, что и в данном случае его эффекты будут противоположны влиянию глюкокортикоидов. Согласно литературным данным [10, 11], мурамилдипептид *in vitro* уве-

личивает синтез оксида азота макрофагами, что входит в явное противоречие с его известным Th2-поляризующим эффектом [7, 12] и требует дальнейших исследований. Влияние MDP на аргиназную активность остается до настоящего времени не исследованным.

В связи с вышеизложенным, представляло интерес оценить влияние DHEA-S и MDP на активность NO-синтазы и аргиназы в макрофагах *in vivo* и *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Животные

В работе использовали гибридных мышей (C57Bl/6хDBA/2)F1 (B6D2F1), самок, в возрасте 2–6 месяцев, полученных из экспериментально-биологической клиники лабораторных животных СО РАМН.

### Выделение и культивирование резидентных перитонеальных макрофагов

Мышам после декапитации в полость брюшины вводили 10 мл холодной культуральной среды RPMI-1640 (ГНЦ ВБ Вектор) с 1% фетальной бычьей сывороткой (FCS; Биолот), через 2 минуты клетки перитонеального экссудата извлекали при помощи шприца. Полученные клетки отмывали и культивировали в 96-луночном планшете (Orange scientific, Бельгия) по  $200 \times 10^3$  клеток на лунку в течение 2 часов в полной культуральной среде, приготовленной на основе RPMI-1640 (без фенолового красного) и содержащей 10% FCS, 15 мМ Нерес (Sigma, США), 0,3% L-глутамина (ГНЦ ВБ Вектор). После этого неприлипающую фракцию удаляли двукратной отмывкой теплой средой RPMI-1640. Полученные таким образом перитонеальные макрофаги культивировали в течение 24 часов (для определения активности аргиназы), либо 48 часов (для определения продукции оксида азота) в полной культуральной среде. Для активации NO-синтазы в начале культивирования добавляли LPS (*E. Coli* B5 : 055) в конечной концентрации 10 мкг/мл (Sigma, США) и LPS в сочетании с содержащим IFN $\gamma$ . В качестве источника IFN $\gamma$  использовали супернатант смешанной культуры лимфоцитов, полученным стандартным методом [13].

### Схемы опытов

В опытах *in vitro* DHEA-S в конечной концентрации 200 мкМ и MDP в конечных концентрациях 5 и 10 мкг/мл вносили к клеточным

культурам в начале срока культивирования. В опытах *in vivo* DHEA-S вводили мышам за 12 и 24 часа до выделения макрофагов в дозе 0,75 мг/мышь. MDP вводили мышам за 24 часа до выделения макрофагов в дозе 0,05 мг/мышь.

Продукцию оксида азота оценивали по содержанию нитритов в супернатанте клеточных культур [14]. Спустя 48 часов из лунок культурального планшета отбирали по 100 мкл супернатанта и смешивали с равным объемом реактива Грисса (Fluka). Пробы выдерживали в темноте 15 минут, после чего определяли оптическую плотность при длине волны 540 нм.

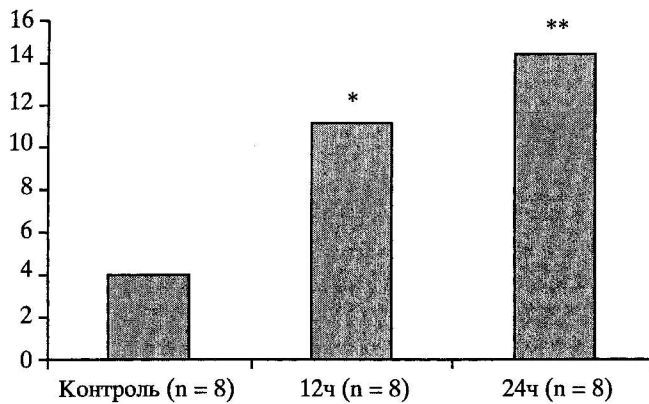
Активность аргиназы определяли микрометодом по скорости образования мочевины из экзогенного L-аргинина [15]. Для этого макрофаги лизировали 0,1% раствором Triton X100, после чего к 50 мкл лизата добавляли 50 мкл 50 мМ Tris-HCl (pH 7,4) и 10 мкл 50 мМ раствора хлорида марганца. Аргиназу активировали нагреванием на водяной при +57 °С в течение 10 минут, добавляли к пробам по 100 мкл 0,5 М раствора L-аргинина и инкубировали их 1 час при +37 °С. Реакцию останавливали добавлением H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O (в объемном соотношении 1 : 3 : 7). Концентрацию мочевины определяли колориметрически при длине волны 540 нм после добавления альфа-изонитрозопропиофенона (9% спиртового раствора) и нагревания на кипящей водяной бане в течение 30 минут. Результат выражали в mU активности фермента. За 1 U активности аргиназы принимали количество фермента, синтезирующего 1 ммоль мочевины в минуту.

Статистическую обработку проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Отличия между сравниваемыми величинами показателей различных экспериментальных групп считали достоверными при  $p < 0,05$ . Результаты на графиках и в таблицах приведены в виде средних величин.

Работа выполнена с использованием технической базы Центра коллективного пользования СО РАМН.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В условиях *in vivo* DHEA-S, введенный в дозе, оказывающей Th1-поляризующее влияние на иммунные реакции (0,75 мг/мышь), многократно усиливает LPS-стимулированную продукцию NO. Она возросла в 2,8 раза при



**Рис. 1.** Влияние DHEA-S на LPS-стимулированную продукцию оксида азота перитонеальными макрофагами мышей *in vivo*

По оси абсцисс: время после введения гормона

По оси ординат: концентрация нитритов (мкМ)

\*отличия между опытной и контрольной группами достоверны с  $p < 0,05$ .

\*\*отличия между опытной и контрольной группами достоверны с  $p < 0,01$ .

введении гормона за 12 часов и в 3,6 раза при введении гормона за 24 часа до выделения макрофагов (рис. 1). Продукция оксида азота, стимулированная LPS в сочетании с  $IFN\gamma$ , в условиях данного эксперимента не изменялась (данные на рисунках не приведены). На активность аргиназы в макрофагах введение DHEA-S за 12 и 24 часа до выделения клеток не оказывает заметного влияния (табл. 1).

Спустя 24 часа после введения интактным мышам MDP не влияет на продукцию оксида азота — как спонтанную, так и стимулированную различными активаторами (данные на рисунках не представлены). В тот же срок MDP увеличивает активность аргиназы в клетках на 44% по сравнению с контролем (табл. 2).

**Таблица 1.** Влияние DHEA-S на активность аргиназы (в mU) в макрофагах *in vitro* и *in vivo*

Условия эксперимента	Экспериментальные группы		
<i>In vitro</i>	Контроль (n = 8)	DHEA-S 200 мкМ (n = 8)	
	833		280*
<i>In vivo</i>	Контроль (n = 8)	DHEA-S 12 часов (n = 8)	DHEA-S 14 часов (n = 8)
	1290	1342	1676

\*отличия между опытной и контрольной группами достоверны с  $p < 0,05$ .

**Таблица 2.** Влияние MDP на активность аргиназы (в mU) в макрофагах *in vitro* и *in vivo*

Условия эксперимента	Экспериментальные группы		
<i>In vitro</i>	Контроль (n = 8)	MDP 5 мкг/мл (n = 8)	MDP 10 мкг/мл (n = 8)
	690	718	525
<i>In vivo</i>	Контроль (n = 8)		MDP 24 часа (n = 8)
	692		992*

\*отличия между опытной и контрольной группами достоверны с  $p < 0,05$ .

**Таблица 3.** Влияние DHEA-S на продукцию оксида азота (в мкМ нитритов) *in vitro*

Стимулятор продукции NO	Экспериментальные группы	
	Контроль (n = 8)	DHEA-S (200 мкМ) (n = 8)
LPS	4	3
LPS/ $IFN\gamma$	36,5	29,6*

\*отличия между опытной и контрольной группами достоверны с  $p < 0,05$ .

Как следует из полученных данных, влияние DHEA-S и MDP *in vivo* на особенности метаболизма L-аргинина в макрофагах совпадают с их противоположно направленными эффектами на Th1/Th2-баланс в иммунной системе. Однако проведенные опыты не дают представления о непосредственных клеточных мишенях действия этих соединений: возможно, часть наблюдаемых эффектов обусловлена воздействием DHEA-S и/или MDP не на макрофаги, а на другие клетки иммунной системы. Поэтому для уточнения механизма действия использованных в данной работе Th1/Th2-поляризующих агентов было изучено их действие на культуры перитонеальных макрофагов *in vitro*.

Обнаружено, что в условиях *in vitro* DHEA-S в конечной концентрации 200 мкМ не влияет на продукцию оксида азота, стимулированную LPS, и на 19% снижает продукцию оксида азота, стимулированную LPS в сочетании с  $IFN\gamma$  (табл. 3).

*In vitro* DHEA-S значительно угнетает активность аргиназы спустя 24 часа культивирования макрофагов. Активность аргиназы в макрофагах снижалась при этом на 63% по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

**Таблица 4.** Влияние MDP на продукцию оксида азота (в мкМ нитритов) *in vitro*

Стимулятор продукции NO	Экспериментальные группы		
	Контроль (n=8)	MDP 5 мкг/мл (n=8)	MDP 10 мкг/мл (n=8)
—	0	8,6*	11,3*
LPS	10,4	14,4	11,6
LPS/IFN $\gamma$	38,8	39	37,8

\*отличия между опытной и контрольной группами достоверны с  $p < 0,05$ .

MDP в условиях *in vitro* в дозах 5 и 10 мкг/мл увеличивает спонтанную продукцию NO. При этом она возрастает до уровня, достигаемого активацией NO-синтазы мышинных макрофагов липополисахаридом (табл. 4). В то же время, MDP *in vitro* не влияет на продукцию оксида азота, стимулированную LPS или LPS в сочетании с IFN $\gamma$ , а также на активность аргиназы (табл. 2).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, результаты влияния DHEA-S и MDP на пути метаболизма L-аргинина в перитонеальных макрофагах существенно различаются в зависимости от того, действуют ли эти агенты в условиях целостного организма или в культуре изолированных макрофагов. Так, в условиях *in vivo* DHEA-S стимулирует продукцию NO, несколько снижая этот показатель в культуре макрофагов. Полученные *in vitro* результаты могут быть объяснены прямым ингибированием DHEA-S NO-синтазы. Как было установлено ранее, данный гормон характеризуется чрезвычайно быстрым эффектом на продукцию супероксидного радикала иммунокомпетентными клетками [16], что объясняется его способностью ингибировать NADPH-оксидазу. NO-синтаза имеет в своем составе редуктазный домен, который является гомологом gp91<sup>PHOX</sup> (основной каталитической субъединицы NADPH-оксидазы фагоцитов) и способен переносить электрон с NADPH на O<sub>2</sub>, восстанавливая его до супероксидного радикала (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Отмечено, что продукция O<sub>2</sub><sup>-</sup>NO-синтазой усиливается при связывании активного центра фермента с субстратом (как L-аргинином, так и эндогенными конкурентными ингибиторами продукции оксида азота — асимметричными диметиларгининами), что расценивается как

свидетельство в пользу участия супероксидного радикала в механизме синтеза NO [17, 18]. Таким образом, редуктазный домен индуцибельной синтазы оксида азота может быть одной из молекулярных мишеней DHEA-S. На основании этого становится объяснимым, почему данный эффект DHEA-S достоверно выявляется только при активации NO-синтазы сочетанием LPS и провоспалительных цитокинов. Вероятно, он становится заметным лишь при увеличении активности iNOS до максимального в данных условиях уровня, в то время как при стимуляции клеток только LPS, ингибирующий эффект DHEA-S, не выходит за рамки разброса данных, обусловленного различиями в индивидуальных уровнях экспрессии iNOS у экспериментальных животных.

Вполне возможно, что такое прямое ингибирующее влияние DHEA-S на активность iNOS существует и в условиях *in vivo*, но оно перекрывается стимулирующим действием гормона, которое опосредуется популяциями клеток, отличных от макрофагов, и может быть связано с увеличением продукции провоспалительных цитокинов Т-лимфоцитами. Показано, что DHEA-S повышает уровни IL-2 и IFN $\gamma$  при введении экспериментальным животным *in vivo* [19, 20]. И, кроме того, некоторые клинические данные указывают на наличие положительной корреляции между сывороточными уровнями IFN $\gamma$  и этого гормона [21].

Обнаруженное нами ингибирование активности аргиназы при действии DHEA-S *in vitro* ранее описано не было и не имеет общепринятого объяснения. Все же можно предположить, что данный эффект этого гормона связан с его способностью снижать внутриклеточное содержание перекиси водорода [16], которая, по некоторым данным, является индуктором аргиназы в макрофагах [22]. Такой механизм действия DHEA-S, прямо противоположный действию глюкокортикоидов на индукцию аргиназы [8, 9] и продукцию активных форм кислорода [23], может быть ограничен условиями *in vitro* (как это обнаружено в проведенных нами опытах), так как в целостном организме макрофаги находятся под постоянным контролем глюкокортикоидных гормонов, отсутствующих в культуре клеток.

Проявляющиеся в опытах с DHEA-S различия в состоянии и реактивности аргинин-метаболизирующих систем макрофагов в

условиях *in vivo* и *in vitro* подтверждаются также данными, полученными при воздействии на клетки MDP. Увеличение спонтанной продукции NO при действии MDP *in vitro* обусловлено активацией NOD2-рецепторов с последующим запуском MAPK-зависимого сигнального пути [24], который опосредует также проведение сигнала с Toll-like-рецепторов, связывающих LPS [25]. Такой механизм действия MDP подтверждается отсутствием его эффекта на фоне дополнительной стимуляции NO-синтазы липополисахаридом. Способность MDP сдвигать Th1/Th2-баланс в иммунной системе, направляя дифференцировку Т-лимфоцитов в сторону Th2-клеток и стимулируя продукцию цитокинов соответствующего профиля [12], приводит, как было показано в наших опытах *in vivo*, к существенному увеличению макрофагальной аргиназы (табл. 2) и параллельно с этим нивелирует NOD2-зависимую активацию iNOS, наблюдаемую *in vitro*. С этим хорошо согласуется отсутствие стимуляции активности этого фермента в условиях *in vitro*, где исключена межклеточная кооперация.

Полученные данные позволяют сделать вывод об оппозитном влиянии дегидроэпиандростерона и мурамилдипептида на метаболическое состояние макрофагов, тесно связанное с механизмом их активации. DHEA-S способствует классической активации макрофагов в условиях *in vitro* (ингибируя аргиназу) и *in vivo* (активируя NO-синтазу), что совпадает с его Th1-поляризующим действием. Мурамилдипептид *in vivo* приводит к активации макрофагов по альтернативному механизму, что отражается в увеличении активности аргиназы и отмене собственно стимулирующего влияния MDP на продукцию оксида азота макрофагами, наблюдаемого в условиях *in vitro*. Вызываемые мурамилдипептидом и дегидроэпиандростероном изменения метаболизма L-аргинина в макрофагах должны учитываться при объяснении их разнонаправленного влияния на Th1/Th2-баланс в иммунной системе.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. van der Veen R.C., Dietlin T.A., Pen L. et al. Antigen presentation to Th1 but not Th2 cells by macrophages results in nitric oxide production and inhibition of T cell proliferation: interferon-gamma is essential but insufficient. *Cell. Immunol.* 2000, 206(2), 125 – 135.
2. Niedbala W., Wei X.Q., Piedrafita D. et al. Effects of nitric oxide on the induction and differentiation of Th1 cells. *Eur. J. Immunol.* 1999, 29, 2498 – 2505.
3. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Шкурупий В.А. Механизмы активации макрофагов. *Успехи современной биологии* 2007, № 3, 243 – 256.
4. Morris S.M.Jr. Arginine metabolism: boundaries of our knowledge. *J. Nutrition* 2007, 137(6 Suppl 2), 1602 – 1609.
5. Козлов В.А., Кугаева О.Т., Колесникова О.П. и др. Th1- и Th2-зависимые варианты хронической реакции трансплантат против хозяина. *Иммунология* 2002, 3, 143 – 147.
6. Вольский Н.Н., Кугаева О.Т., Перминова О.М. и др. Антиоксидантный эффект дегидроэпиандростерона сульфата и его влияние на Th1/Th2-баланс в опытах *in vivo*. *Иммунология* 2007, 3, 134 – 138.
7. Кугаева О.Т., Гойман Е.В., Лыков А.П. и др. Влияние препаратов, изменяющих соотношение Th1/Th2, на частоту развития клинических вариантов хронической реакции трансплантат против хозяина. *Бюлл. эксп. биол. мед.* 2005, 9, 325 – 327.
8. Gotoh T., Mori M. Arginase II downregulates nitric oxide (NO) production and prevents NO-mediated apoptosis in murine macrophage-derived RAW 264.7 cells. *J. Cell. Biol.* 1999, 144(3), 427 – 443.
9. Morris S.M.Jr, Kepka-Lenhart D., Chen L.C. Differential regulation of arginases and inducible nitric oxide synthase in murine macrophage cells. *Am. J. Physiol.* 1998, 275(5 Pt 1), 740 – 747.
10. Jorens P.G., van Overveld F.J., Bult H. et al. Muramyl dipeptide and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor enhance interferon-gamma-induced nitric oxide production by rat alveolar macrophages. *Agents Actions* 1993, 38(1 – 2), 100 – 105.
11. Morin C., Fessi H., Devissaguet J.P. et al. Factors influencing macrophage activation by muramyl peptides: inhibition of NO synthase activity by high levels of NO. *Biochim. Biophys. Acta* 1994, 1224(3), 427 – 432.
12. Magalhaes J.G., Fritz J.H., Le Bourhis L. et al. Nod2-dependent Th2 polarization of antigen-specific immunity. *J. Immunol.* 2008, 181(11), 7925 – 7935.
13. Селегцов В.И., Перминова О.М. Колориметрический метод определения активности макрофагактивирующего фактора. *Иммунология*, 1991, 2, 69 – 70.
14. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite, and (15N) nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* 1982, 126(1), 131 – 138.
15. Corraliza I.M., Campo M.L., Soler G., Modolell M. Determination of arginase activity in macrophages: a micromethod. *J. Immunol. Methods* 1994, 174(1 – 2), 231 – 235.
16. Перминова О.М., Ткачев В.О., Сеньюков В.В. и др. Супрессирующее влияние дегидроэпиандростерона сульфата в условиях *in vivo* и *in vitro*

- на продукцию активированных кислородных метаболитов иммунокомпетентными клетками мышц. Бюллетень СО РАМН 2007, 2, 19 – 22.
17. Andrew P.J., Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc. Res* 1999, 43(3), 521 – 531.
  18. Druhan L.J., Forbes S.P., Pope A.J. et al. Regulation of eNOS-derived superoxide by endogenous methylarginines. *Biochemistry* 2008, 47(27), 7256 – 7263.
  19. Daynes R.A., Dudley D.J., Araneo B.A. Regulation of murine lymphokine production in vivo. II. Dehydroepiandrosterone is a natural enhancer of interleukin 2 synthesis by helper T cells. *Eur. J. Immunol.* 1990, 20, 793 – 802.
  20. Suzuki T., Suzuki N., Daynes R. A., Engleman E.G. Dehydroepiandrosterone enhances IL2 production and cytotoxic effector function of human T cells. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1991, 61, 202 – 211.
  21. Bozza V.V., D'Attilio L., Mahuad C.V. et al. Altered Cortisol/DHEA Ratio in Tuberculosis Patients and its Relationship with Abnormalities in the Mycobacterial-driven Cytokine Production by Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Scand. J. Immunol.* 2007, 66, 96 – 103.
  22. Matthiesen S., Lindemann D., Warnken M. et al. Inhibition of NADPH oxidase by apocynin inhibits lipopolysaccharide (LPS) induced up-regulation of arginase in rat alveolar macrophages. *Eur. J. Pharmacol.* 2008, 579, 403 – 410.
  23. Вольский Н.Н., Козлов В.А., Лозовой В.П. Влияние гидрокортизона на продукцию супероксидного радикала клетками селезенки. Бюлл. эксп. биол. мед. 1987, № 6, С. 694 – 696.
  24. Kobayashi K.S., Chamillard M., Ogura Y. et al. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 2005, 307(5710), 731 – 734.
  25. Krishnan J., Selvarajoo K., Tsuchiya M. et al. Toll-like receptor signal transduction. *Exp. Mol. Med.* 2007, 39(4), 421 – 438.

## INFLUENCE OF Th1/Th2-POLARIZING AGENTS – DEHYDROEPIANDROSTERONE SULFATE AND MURAMYL DIPEPTIDE – ON MACROPHAGE METABOLIC STATE

V.O. Tkachev, N.N. Volsky, O.T. Kudaeva,  
O.P. Kolesnikova, V.A. Kozlov

*Institute of Clinical Immunology SB RAMS, Novosibirsk, Russia*

Effects of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) and muramyl dipeptide (MDP), which have opposite influence on Th1/Th2-balance, on NO-synthase and arginase activity in (C57Bl6xD-BA/2)F1 murine macrophages. DHEA-S switch macrophage metabolic state to NO-synthase prevalence, promote its classical activation. MDP, on the contrary, increase arginase activity, which indicate macrophage alternative activation. DHEA-S and MDP effects may be closely associated with their opposite influence on Th1/Th2-deviation of immune response.