

УДК 616.858-008.6:612.017.1:611.127

DOI: <http://doi.org/10.31928/2664-4479-2025.4.5058>

Морфологічна характеристика міокарда на фоні зміни вмісту імунних клітин у головному мозку при змодельованому паркінсонізмі в мишей різних ліній

І.Ф. Лабунець^{1,3}, П.П. Клименко^{1,3}, В.М. Кирик^{1,3},
Т.В. Довбинчук^{1,2}, Т.М. Пантелеймонова^{1,3}

¹ Інститут генетичної та регенеративної медицини ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини імені академіка М.Д. Стражеска НАМН України», Київ

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка,

Національний науковий центр «Інститут біології та медицини», Київ

³ ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», Київ

Мета роботи – дослідити особливості структурних змін міокарда в мишей різного генотипу Н-2 (аналог HLA людини) з експериментальною токсичною моделлю паркінсонізму на тлі змін вмісту лімфоцитів і макрофагів у головному мозку.

Матеріали і методи. Дорослим (6–7 міс) самцям мишей лінії FVB/N (генотип Н-2q) і 129/Sv (генотип Н-2b) однофазно вводили нейротоксин 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин (МФТП) у дозі 30 мг/кг (дослідні групи) або 0,9 % розчин хлориду натрію (контрольні групи). Через 18 діб після ін'єкцій у мишей усіх експериментальних груп проводили гістологічне дослідження міокарда, імунофенотипування клітин головного мозку за маркерами CD3 і CD11b та оцінювали в гомогенаті головного мозку активність внутрішньоклітинної мієлопероксидази (МПО) як маркера запального процесу.

Результати та обговорення. Після введення МФТП у міокарді мишей лінії 129/Sv спостерігається загибель кардіоміоцитів із появою жирової тканини та зон склерозу, розвиток запалення з ознаками лімфоцитарної, макрофагальної інфільтрації й активації фібробластів, а також виявляються деструктивні зміни в стінці кровоносних судин із руйнуванням моношару ендотеліоцитів. Після введення МФТП у міокарді мишей лінії FVB/N спостерігається загибель кардіоміоцитів, накопичення лімфоцитів і фібробластів, а в кровоносних судинах виявляються осередки жирової емболії. У мишей лінії 129/Sv, яким вводили МФТП, вміст CD3+CD11b+ клітин більше, ніж у мишей контрольної групи. У дослідних мишей лінії FVB/N вміст не тільки CD3+CD11b+ клітин, а й CD3+ клітин перевищує значення показників контрольної групи тварин. Після введення МФТП активність МПО в головному мозку мишей лінії 129/Sv суттєво більша, ніж у контрольних тварин, але не змінюється у мишей лінії FVB/N.

Висновки. У мишей із токсичною моделлю паркінсонізму спостерігаються ушкодження міокарда, прояви і вираженість яких значною мірою залежать від генотипу Н-2 тварин і особливостей накопичення клітин імунної системи в

Лабунець Ірина Федорівна, д. мед. н., ст. наук. співр., зав. лабораторії експериментального моделювання відділу клітинних та тканинних технологій Інституту генетичної та регенеративної медицини ДУ «ННЦ «Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини імені академіка М.Д. Стражеска НАМН України»; ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України»

ORCID ID: 0009-0000-3854-0959

E-mail: irina_labunets@ukr.net

Стаття надійшла до редакції 22 травня 2025 року

Labunets Irina Fedorivna, Doctor of Medical Sciences, PhD, DSc, Head of the Experimental Modeling Laboratory, Cell and Tissue Technologies Department, Institute of Genetic and Regenerative Medicine, National Scientific Center «M.D. Strazhesko Institute of Cardiology, Clinical and Regenerative Medicine of the NAMS of Ukraine»; D.F. Chebotarev State Institute of Gerontology of NAMS of Ukraine

ORCID ID: 0009-0000-3854-0959

E-mail: irina_labunets@ukr.net

Received on 22.05.2025

цьому органі. Виявлено відмінності змін балансу клітин-маркерів нейрозапалення (Т-лімфоцити, макрофаги), а також активності маркера запалення МПО у головному мозку дослідних мишей із різним генотипом Н-2. Експериментальна токсична модель паркінсонізму може бути корисною для вивчення розвитку поєднання патології міокарда і паркінсонізму за участі клітин імунної системи.

Ключові слова: структура міокарда, нейротоксин 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин, паркінсонізм, Т-лімфоцити, макрофаги, миші різного генотипу Н-2.

Хвороба Паркінсона (ХП) – це хронічна нейродегенеративна патологія, яка прогресує і призводить до інвалідизації пацієнтів, а тому має важливе соціально-економічне значення [1, 2]. У період воєнних дій в Україні частота цієї патології істотно зростає в результаті тривалого впливу стресових чинників. Хоча ХП розвивається переважно в осіб віком понад 60 років, типовий вік маніфестації первинного паркінсонізму спостерігається у віці 45–52 роки, тобто в період активного способу життя [1].

Існує зв'язок між ХП і ризиком розвитку патології серцево-судинної системи (ішемічна хвороба серця, серцева недостатність, аритмії, артеріальна гіпертензія тощо) [3, 4]. Дослідження Л. Сунса-Вермеґе та співавторів [5] показали, що тривале використання медикаментозних препаратів для лікування ХП (леводопа, агоністи дофаміну, інгібітори MAO-B тощо) сприяє появі кардіоваскулярних порушень. При дослідженні можливих механізмів зв'язку між розвитком ХП і серцево-судинних захворювань (ССЗ) виявлено, що при обох патологіях розвиваються запальні процеси, оксидативний стрес, дисліпідемія та інсулінорезистентність [3]. Є дані щодо ролі клітин імунної системи (клітини мікроглії/макрофаги, Т-лімфоцити) у розвитку ушкоджень не тільки ЦНС при ХП, а й міокарда при ССЗ [6, 7]. Зокрема показано, що ці клітини продукують такі ушкоджувальні фактори, як прозапальні цитокіни інтерлейкін 1 β , фактор некрозу пухлин α , інтерферон γ , хемокіни, вільні радикали й активні форми кисню.

При проведенні досліджень механізмів зв'язку між ХП і ССЗ є актуальним використання експериментальних токсичних моделей паркінсонізму, оскільки на сьогодні показана роль токсинів, наркотичних засобів у розвитку цих патологій [8, 9]. Дані літератури і наші результати свідчать щодо морфофункціональних змін ЦНС і міокарда у тварин із токсичними моделями паркінсонізму [10–12]. Виявлено зв'язок між ризиком розвитку ХП, деяких форм ССЗ і поліморфізмом генів головного комплексу гістосумісності (HLA) та особливостями стану імунної системи [13, 14].

Мета роботи – дослідити особливості структурних змін міокарда у мишей різного генотипу Н-2 (аналог HLA людини) з експериментальною токсичною моделлю паркінсонізму на тлі змін вмісту лімфоцитів і макрофагів у головному мозку.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Тварини. Експерименти проводили на мишах-самцях лінії FVB/N (генотип Н-2q, n=15) і 129/Sv (генотип Н-2b, n=15) віком 6–7 міс (дорослі) з розплідника Інституту генетичної та регенеративної медицини ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини імені академіка М.Д. Стражеска НАМН України». Відомо щодо більшого ризику розвитку ХП і ССЗ у особин чоловічої статі. В нашому експерименті ми використали мишей згаданих ліній, оскільки серед великого розмаїття ліній лабораторних тварин вони є високочутливими до впливу нейротоксинів у результаті особливостей стану нейроендокринної, імунної та кровоносної систем, а також є такими, що довго живуть [15]. Крім того, за нашими даними, миші лінії FVB/N і 129/Sv мають відмінності у функціонуванні тимуса, кісткового мозку та надниркових залоз, активності антиоксидантних ферментів головного мозку, що дає змогу визначити роль факторів цих систем у розвитку індукованої нейродегенеративної патології залежно від генотипу тварин [12, 15].

Експериментальні тварини перебували у стандартних умовах віварію при фіксованому світловому режимі 12:12 та вільному доступі до їжі та води *ad libitum*.

Біологічний матеріал для дослідів (серце, головний мозок) отримували після декапітації мишей у ранкові години доби (9.00–10.00) під ефірним наркозом. Усі роботи з експериментальними тваринами виконували з дотриманням Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986).

Експериментальні моделі. Для відтворення моделі паркінсонізму використовували нейротоксин 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин (МФТП), який після системного введення мишам ушкоджує дофамінергічні нейрони чорної субстанції середнього мозку, а також призводить до дефіциту дофаміну в інших структурах головного мозку [11, 16, 17]. МФТП (Sigma, США) вводили мишам підшкірно (у ділянку шиї) одноразово у дозі 30 мг/кг, в об'ємі 100 мкл – дослідні групи (в кожній групі 8 тварин); миші контрольних груп (в кожній групі 7 тварин) отримували одну ін'єкцію

розчинника нейротоксину – 0,9 % розчину хлориду натрію.

Дослідження у всіх експериментальних групах мишей проводили через 18 діб після введення МФТП або його розчинника.

Гістологічне дослідження міокарда мишей проводили за описаною нами раніше методикою [18]. Виділені на секції серця промивали в 0,9 % розчині хлориду натрію, розрізали на окремі фрагменти та фіксували для гістологічного дослідження в 4 % розчині параформальдегіду на фосфатно-сольовому буфері протягом 24 год при температурі +4 °С. Після фіксації препарати міокарда зневоднювали за стандартною методикою в розчинах етанолу зростаючої концентрації та бензолу: двічі по 30 хв у 70 % розчині етанолу; двічі по 30 хв – у 80 % розчині; двічі по 30 хв – у 90 % розчині; 30 хв – у 96 % розчині; 12 год – у 96 % розчині; двічі по 30 хв – у 100 % розчині етанолу; 30 хв – у суміші 100 % етанолу та бензолу у співвідношенні 1:1; двічі по 30 хв – у бензолі. Препарати витримували в суміші бензолу і парафіну в співвідношенні 1:1 протягом 30 хв при температурі +37 °С, тричі переносили у розплавлений при +57 °С парафін типу 6 (Richard-Allan Scientific, США).

За допомогою ротаційного мікротома RM 21225 RT (Leica, Німеччина) робили гістологічні зрізи міокарда товщиною 6 мкм, переносили їх на предметні скельця і висушували у термостаті при температурі +37 °С. Зрізи депарафінували двічі по 5 хв у бензолі та витримували 5 хв в 96 % та 5 хв в 70 % розчині етанолу. Зрізи забарвлювали розчином гематоксиліну Ерліха протягом 10 хв, промивали та забарвлювали 0,1 % розчином еозину протягом 2 хв. Препарати зневоднювали у 96 % розчині етанолу протягом 3 хв, двічі відмивали у бензолі, заливали «канадським бальзамом» (Sigma, США) та покривали покривними скельцями. Отримані зрізи досліджували під світлооптичним мікроскопом Axiolab (Carl Zeiss, Німеччина).

Імунофенотипування клітин головного мозку за CD3 і CD11b (Mac-1) маркерами (Т-лімфоцити і макрофаги відповідно) проводили за допомогою моноклональних антитіл до мембранних антигенів миші, кон'югованих з флюорохромами (BD Bioscience, США): CD3-фікоеритрин-кон'юговані антитіла (кат. № 555275), CD11b-флуоресцеїнізоціанат-кон'юговані антитіла (кат. № 557396). Робоча концентрація моноклональних антитіл була 0,5 мкг/мл. В пробірки об'ємом 5 мл вносили 1×10^6 клітин гомогенату головного мозку в 50 мкл буфера для фарбування (фосфатний буфер, який містить 0,1 % азид натрію та 1 % сироватку ембріонів корів) і надалі додавали моноклональні антитіла у розведенні 1:50. Проводили інкубацію впродовж 20 хв при температурі +4 °С, після

чого клітини відмивали у буфері CellWash, центрифугували при 200xg впродовж 5 хв з підтриманням температури +4 °С. Безпосередньо перед аналізом суспензію клітин пропускали через клітинні фільтри з діаметром пор 70 мкм. Вимірювання проводили на лазерному проточному цитофлюориметрі-сортері BD FACSAria (Becton Dickinson, США) за допомогою програми BD FACS Diva 6.1.

Біохімічні дослідження. Визначення активності мієлопероксидази (МПО) головного мозку проводили за H_2O_2 -залежного окиснення о-діанізидин гідрохлориду, як нами описано раніше [19]. Дослідження В. Пулі і співавторів [20] показало, що внутрішньоклітинна МПО є прозапальним ферментом і одним із маркерів запального процесу в органах мишей. До гомогенізованих у рідкому азоті зразків головного мозку мишей експериментальних груп додавали Htab (Hexadecyltrimethylammonium bromide) буфер (Sigma-Aldrich, США). Мікропробірки із суспензією гомогенатів проводили через 3 цикли: 1 хв – у рідкому азоті, 10 хв – на водяній бані при температурі 37 °С, а потім зразки сонікували протягом 10 с на ультразвуковому дезінтеграторі при вихідній силі струму – 0,5 А. Далі зразки центрифугували впродовж 15 хв при 14 000 об/хв при температурі 4 °С. У супернатанті зразків визначали активність МПО на спектрофотометрі при 450 нм (Bio-Rad, США). Як стандарт використовували розчин МПО в НТАВ у концентраціях 0,5 Од/мл, 0,25 Од/мл, 0,125 Од/мл, 0,06 Од/мл, 0,03 Од/мл, 0,015 Од/мл. Активність МПО розраховували на 1 г тканини. Дані подавали у вигляді активності МПО – Од/г.

Статистичний аналіз результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента за допомогою програмного забезпечення Statistica 7,0 (Statsoft Inc., США). Результати наведені у вигляді середнього арифметичного в кожній експериментальній групі \pm стандартна похибка середнього ($M \pm SEM$). Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ

Структурні зміни міокарда в мишей різного генотипу H-2 з експериментально індукованою токсичною моделлю паркінсонізму

Миші лінії 129/Sv. У міокарді мишей контрольної групи цієї лінії спостерігається контрактура міофібрил кардіоміоцитів, деструкція поодиноких еритроцитів і накопичення білків плазми в просвіті артерій і вен (рис. 1А, 1Б). Контрактура міофібрил у контрольних мишей лінії 129/Sv може бути пов'язана з особливостями метаболічних процесів у міокарді таких тварин цієї лінії, зокре-

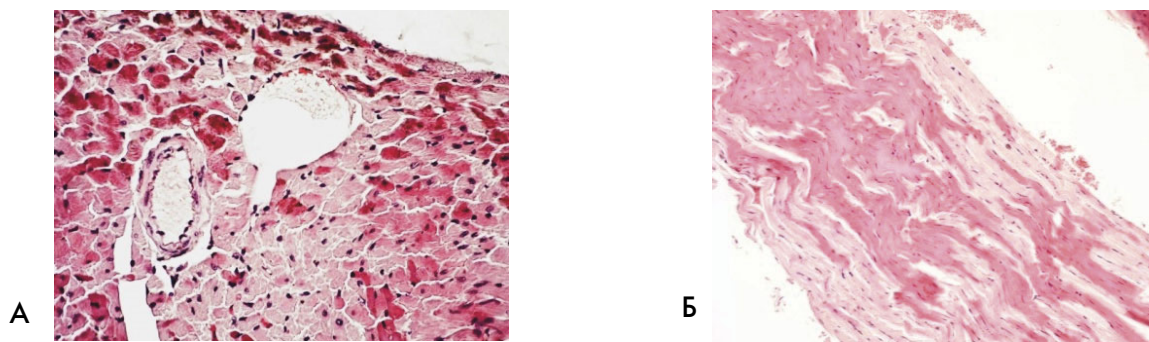


Рис. 1. Мікрофото гістологічних зрізів серця мишей лінії 129/Sv контрольної групи (опис цього рисунка і надалі рис. 2–4 у тексті). Світлова мікроскопія, забарвлення – гематоксилін-еозин (x400).

ма енергетичними процесами, метаболізмом таурину тощо [21].

Після введення МФТП у кардіоміоцитах мишей цієї лінії контрактура міофібрил була такою, як і у контрольних тварин (рис. 2А), але спостерігається набряк ядер та цитоплазми, деструкція протеїнів (рис. 2Б); місця загибелі кардіоміоцитів заміщуються ділянками жирової тканини (рис. 2А) або незрілою сполучною тканиною з подальшим формуванням зони склерозу (рис. 2В). Реєструється набряк міжклітинного простору (рис. 2В), інфільтрація його лімфоцитами і макрофагами, а також підвищення кількості фібробластів та їх активація

(рис. 2Г). У стінці кровоносних судин міокарда дослідних мишей спостерігається руйнування ендотеліоцитів, набряк ядер і цитоплазми гладком'язових клітин середньої оболонки артерії (рис. 2Г) та їх пошкодження (рис. 2Б). Виявлено стаз еритроцитів у просвіті судин та їх гемоліз, а також кровонаповнення кровоносних судин (рис. 2Г).

Таким чином, у міокарді дорослих самців мишей лінії 129/Sv після введення МФТП спостерігається загибель кардіоміоцитів із появою жирової тканини та зон склерозу, розвиток запалення з ознаками лімфоцитарної та макрофагальної інфільтрації, активації фібробластів, а також

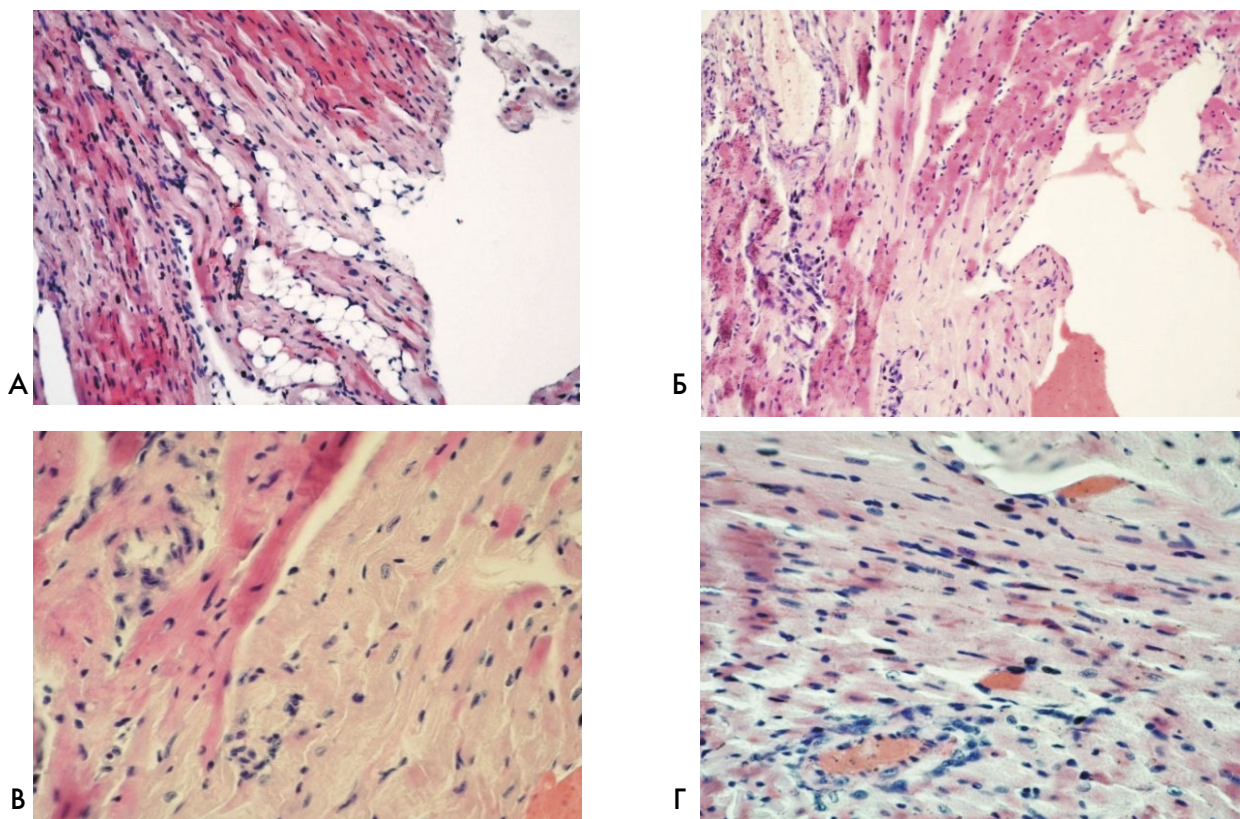


Рис. 2. Мікрофото гістологічних зрізів серця мишей лінії 129/Sv після введення 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину. Світлова мікроскопія, забарвлення – гематоксилін-еозин (x400).

деструктивні зміни в стінці кровоносних судин із руйнуванням моношару ендотеліоцитів і кровонаповненням кровоносних судин.

Миші лінії FVB/N. У міокарді контрольних мишей цієї лінії виявлено лімфоцити (рис. 3А) та жирову тканину (рис. 3Б), а в просвіті судин – білки плазми (рис. 3А, 3Б). Інфільтрація лімфоцитами різних органів є характерною особливістю мишей цієї лінії [15].

Після введення МФТП у мишей лінії FVB/N реєструється загибель кардіоміоцитів (рис. 4А), збільшення кількості лімфоцитів та фібробластів в інтерстиції (рис. 4Б), гемоліз еритроцитів у просвіті судин (рис. 4А), жирова тканина в інтерстиції міокарда (рис. 4А), накопичення ліпідів у просвіті судин (жирова емболія) (рис. 4В).

Отже, у дорослих мишей самців лінії FVB/N після введення МФТП спостерігаються зміни структури міокарда, які стосуються кардіоміоцитів і кровоносних судин з ознаками жирової емболії, а також виявляється накопичення лімфоцитів і фібробластів.

Узагальнення основних ознак структурних змін міокарда у мишей різних ліній із МФТП-моделлю паркінсонізму наведено в табл. 1.

Клітини імунної системи й активність мієлопероксидази в головному мозку мишей різного генотипу Н-2 з експериментально індукованою моделлю паркінсонізму

Ми виявили, що в мишей лінії 129/Sv після введення МФТП вміст CD3+11b+ клітин (імунофенотип активованих макрофагів) вище, ніж у мишей контрольної групи (табл. 2). У мишей лінії FVB/N не тільки вміст CD3+11b+ клітин, а й CD3+ клітин (імунофенотип загальної популяції Т-лімфоцитів) перевищує значення показників контрольної групи тварин.

Активність МПО у дослідних мишей лінії 129/Sv суттєво більша, ніж у контрольних тварин, і не змінюється у мишей дослідної групи лінії FVB/N.

Отже, після введення МФТП у головному мозку мишей різних ліній виявлено відмінності у зміні балансу клітин-маркерів нейрозапалення і активності МПО.

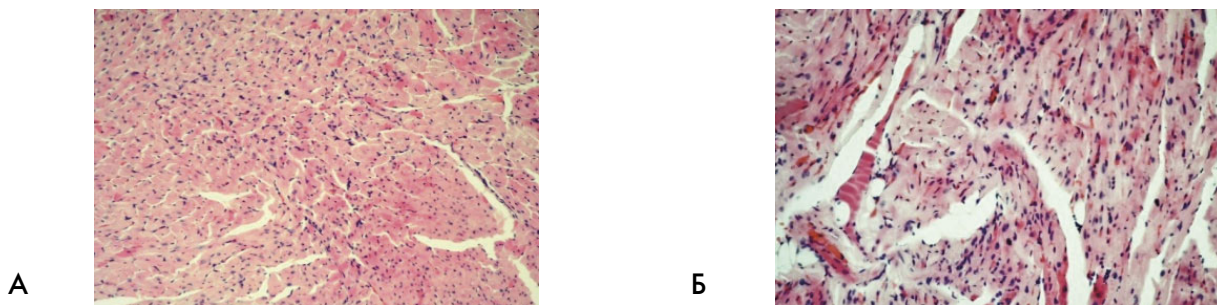


Рис. 3. Мікрофото гістологічних зрізів серця мишей лінії FVB/N контрольної групи. Світлова мікроскопія, забарвлення – гематоксилін-еозин (x400).

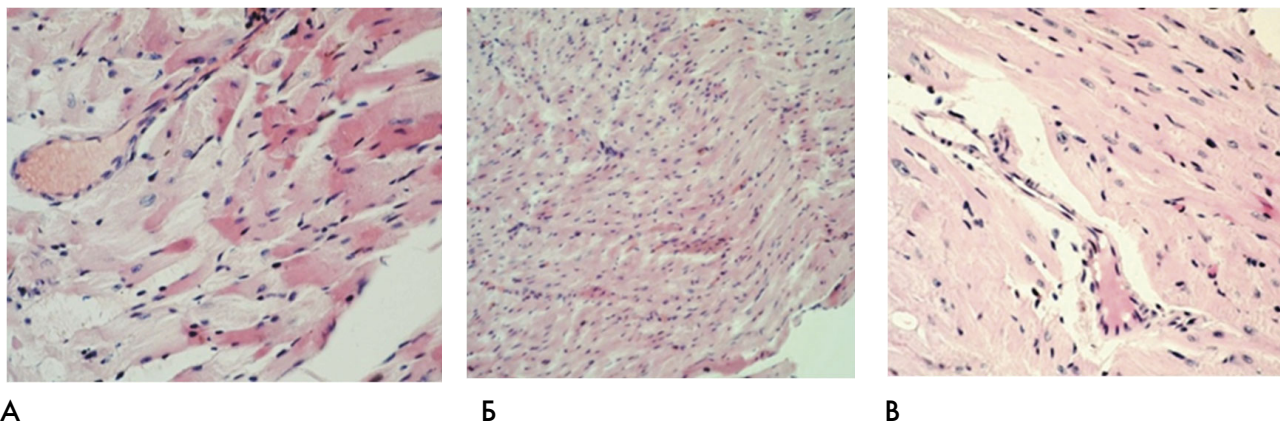


Рис. 4. Мікрофото гістологічних зрізів серця мишей лінії FVB/N після введення 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину. Світлова мікроскопія, забарвлення – гематоксилін-еозин (x400).

ОБГОВОРЕННЯ

Структурні зміни міокарда при експериментально індукованому паркінсонізмі та їх можливий зв'язок із клітинами імунної системи

Таким чином, за нашими даними, у дорослих мишей-самців лінії 129/Sv і FVB/N після введення нейротоксину МФТП спостерігаються структурні зміни кардіоміоцитів і коронарних судин, а також

з'являються ознаки запалення в міокарді, які значною мірою залежать від генотипу Н-2 тварин.

В експериментальних дослідженнях показана можливість безпосередньої кардіотоксичності МФТП, яка проявлялася в першу добу після його ін'єкції та призводила до загибелі мишей [17]. Відсутність загибелі мишей лінії 129/Sv і FVB/N у першу добу експерименту дала нам змогу оцінити опосередкований вплив МФТП на міокард через 18

Таблиця 1

Порівняльна характеристика основних ознак змін структурних елементів міокарда у дорослих мишей-самців різних ліній після введення нейротоксину 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину

Показник	Лінія 129/Sv	Лінія FVB/N
<i>Кардіоміоцити</i>		
Контрактура міофібрил	+	–
Набряк ядер та цитоплазми	+	–
Деструкція білків у цитоплазмі	+	–
Загибель клітин	+	+
Жирова тканина (заміщення кардіоміоцитів)	+	+
Зони склерозу на місці загибелі кардіоміоцитів	+	–
<i>Кровоносні судини</i>		
Деструктивні зміни в стінці судин	+	–
Гемоліз еритроцитів та їх стаз	+	+
Жирова емболія	–	+
Білки плазми в просвіті судин	+	+
<i>Інтерстиціальна тканина</i>		
Набряк міжклітинного простору (периваскулярний набряк)	+	–
Лімфоцитарна інфільтрація (периваскулярний простір)	+	++
Макрофагальна інфільтрація (периваскулярний простір)	+	поодинокі клітини
Наявність фібробластів в інтерстиції та збільшення їх кількості	+	+

+ – наявність ознак змін показника; ++ – виражені зміни показника; – відсутність ознак змін показника.

Таблиця 2

Вміст Т-лімфоцитів, макрофагів та активність мієлопероксидази в головному мозку мишей-самців різних ліній із токсичною моделлю паркінсонізму, $M \pm m$

Показник	Лінія 129/Sv		Лінія FVB/N	
	Контроль	МФТП	Контроль	МФТП
CD3+, %	1,9±0,2	1,8±0,3	3,5±0,2#	4,6±0,3*#
CD3-11b+, %	0,21±0,03	0,21±0,04	0,81±0,05#	0,72±0,05#
CD3+11b+, %	0,08±0,01	0,13±0,02*	0,31±0,03#	0,58±0,05*#
Мієлопероксидаза, ОД/г	7,2±0,7	9,6±0,8*	9,0±0,8	8,5±0,7

Різниця показників статистично значуща ($p < 0,05$) порівняно з: * – групою контролю; # – мишами лінії 129/Sv. МФТП – 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин.

діб після його введення. Так, у мишей із МФТП-моделлю паркінсонізму виявлена інфільтрація периваскулярного простору міокарда клітинами імунної системи, а саме лімфоцитами та макрофагами. Відомо, що продукти синтезу цих клітин (прозапальні цитокіни, вільні радикали тощо) ушкоджують структуру міокарда [6, 7]. У клініко-експериментальних дослідженнях автори показали наявність зв'язку між вираженістю запально-фібротичного ураження міокарда й активації імуннопатологічних реакцій [22, 23]. Нами при експериментально індукованому паркінсонізмі також виявлено збіг деяких проявів змін структури міокарда, і крім того, його інфільтрації клітинами імунної системи. Так, у дослідних мишей лінії 129/Sv більш виражені зміни структури міокарда порівняно з мишами лінії FVB/N спостерігались на тлі його інфільтрації не тільки лімфоцитами, а й макрофагами.

Дослідники визначили, що серед лімфоцитів, які інфільтрують міокард при патологічних станах, можуть бути Т-лімфоцити [6]. Цілком можливо, що в міокард мишей досліджуваних ліній на тлі дії нейротоксину МФТП мігрують саме Т-лімфоцити із тимуса, оскільки, за нашими даними, у таких тварин маса та клітинність тимуса суттєво зменшувалися [15]. Роль макрофагів при розвитку ушкоджень міокарда неоднозначна (від запального до ремодельовального ефекту) і значною мірою визначається міграцією моноцитів із крові в міокард, а також балансом субпопуляцій макрофагів із різним фенотипом [7, 24]. Можна припустити, що при експериментально індукованому паркінсонізмі макрофаги в міокарді мишей мають моноцитарне походження і беруть участь у локальному запальному процесі, оскільки в дослідних мишей лінії 129/Sv розвивалися деструктивні зміни стінки кровоносних судин міокарда і, як нами раніше показано, суттєво зменшувався вміст попередників гранулоцитів-макрофагів у кістковому мозку і моноцитів у крові [25].

Отже, наведені вище дані свідчать про можливість участі інфільтруючих міокард клітин імунної системи (Т-лімфоцити, макрофаги) в ушкоджувальному впливі МФТП на його структуру.

Необхідно також зазначити, що в нашому дослідженні миші не тільки дослідних груп, яким вводили нейротоксин, а й контрольних груп мали деякі відмінності в структурі міокарда залежно від їх генотипу Н-2. Можна припустити щодо важливості метаболічних процесів у міокарді та стану імунної системи як передумов для подальшого розвитку різних проявів ушкоджень цього органу за умов впливу етіологічних чинників паркінсонізму токсичної природи.

Імунні механізми морфофункціональних змін головного мозку при експериментально індукованому паркінсонізмі

Ще один можливий шлях реалізації ушкоджувального впливу МФТП на міокард може бути опосередкований структурними і функціональними змінами нейронів головного мозку, які контролюють функціональний стан серцево-судинної системи [11]. Так, за даними авторів, у дорослих мишей вже через 7 днів після введення цього нейротоксину спостерігається підвищення артеріального тиску і частоти серцевих скорочень, змінюється варіабельність серцевого ритму [11]. При цьому зміни показників функцій серцево-судинної системи корелювали зі зменшенням кількості дофамінергічних нейронів не тільки в чорній субстанції середнього мозку, а й у довгастому мозку, а також із падінням у ньому і в крові вмісту катехоламінів (дофамін, норадреналін, адреналін).

У розвитку морфофункціональних порушень ЦНС при ХП доведена участь Т-лімфоцитів і макрофагів, які інфільтрують головний мозок; при цьому Т-лімфоцити взаємодіють з клітинами мікроглії/макрофагами [26]. Щодо макрофагів головного мозку при ХП/паркінсонізмі, то вони можуть мати як прозапальний М1, так і протизапальний М2 фенотип і, відповідно, відрізнятися функціонально [27]. У нашому дослідженні виявлено зміни балансу Т-лімфоцитів і макрофагів у головному мозку мишей із МФТП-моделлю паркінсонізму залежно від їх генотипу Н-2. Так, у мишей лінії FVB/N кількість Т-лімфоцитів і активованих макрофагів більша, ніж у контролі, тоді як у мишей лінії 129/Sv – тільки активованих макрофагів. Нам не вдалося визначити імунофенотип макрофагів у головному мозку дослідних мишей, але оцінка у них активності внутрішньоклітинної МПО дала змогу зробити припущення щодо нього. Відомо, що внутрішньоклітинна мієлопероксидаза є прозапальним ферментом і одним із маркерів запального процесу, активність якої позитивно корелює із вмістом клітин гранулоцитарно-макрофагального ряду (нейтрофільні гранулоцити), які інфільтрують головний мозок мишей [20]. Оскільки після введення МФТП активність МПО у головному мозку мишей лінії 129/Sv була вища, ніж у контролі, то ймовірно, що запалення в цьому органі може бути пов'язане переважно з активністю макрофагів, тоді як у мишей лінії FVB/N (у яких активність ферменту не змінювалася) переважно з Т-лімфоцитами. Із даних літератури відомо про значення відмінностей у змінах балансу Т-лімфоцитів і макрофагів та спектра синтезованих ними цитокінів у головному мозку мишей різних ліній із нейродегенеративною патологією для

розвитку особливостей функціональних порушень ЦНС у таких тварин [28].

ВИСНОВКИ

1. Нейротоксин 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин, який відтворює ознаки паркінсонізму у дорослих самців мишей, призводить до ушкоджень міокарда, характер і вираженість яких значною мірою залежать від генотипу Н-2 тварин і

особливостей накопичення клітин імунної системи в цьому органі.

2. Існують відмінності у змінах маркерів запалення (Т-лімфоцити, активовані макрофаги, активність мієлопероксидази) в головному мозку мишей різного генотипу Н-2 із токсичною моделлю паркінсонізму.

3. Експериментальна токсична модель паркінсонізму може бути корисною для відтворення структурних ушкоджень міокарда при цій патології ЦНС за участі клітин імунної системи.

Конфлікту інтересів немає.

Дослідження виконане за підтримки НАМН України, тема 0121U111586 «Визначення ролі генетичних факторів у розвитку патології нервової системи та функціонуванні стовбурових клітин в експерименті»

Участь авторів: концепція і проєкт дослідження, аналіз результатів, оформлення статті – І.Л.; морфологічні дослідження – П.К.; імунофенотипування клітин – В.К.; біохімічні дослідження – Т.Д.; моделювання паркінсонізму – Т.П.

Література

- Karaban IN, Shalenko OV, Kryzhanovskiy SA. Non-motor symptoms in clinical picture of the Parkinson's disease. International neurological journal. 2017 Jan;1:58-63. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.1.87.2017.96538>
- Simon DK, Tanner CM, Brundin P. Parkinson disease epidemiology, pathology, genetics and pathophysiology. Clin Geriatr. 2020 Feb;36(1):1-12. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2019.08.002>
- Grosu L, Grosu AI, Crisan D, Zlibut A, Perju-Dumbrava L. Parkinson's disease and cardiovascular involvement: Edifying insights. Biomedical reports. 2023 Feb;18(25):1-8. <https://doi.org/10.3892/br.2023.1607>
- Potashkin J, Huang X, Becker C, Chen H, Foltynie Th, Marras C. Understanding the links between cardiovascular disease and Parkinson's disease. Mov Disord. 2020 Jan;35(1):55-74. <https://doi.org/10.1002/mds.27836>
- Cunca-Bermejo L, Almela A, Navarro-Zaragora J, Ferababdez Villalba E, Gonzalez-Cuello AM, Laorden ML, Herrero MT. Cardiac changes in Parkinson's disease: Lessons from clinical and experimental evidence. Int J Mol Sci. 2021 Dec;22:13488. <https://doi.org/10.3390/ijms222413488>
- Stephenson E, Savvatis K, Mohiddin SA, Marelli-Berg M. T-cell immunity in myocardial inflammation: pathogenic role and therapeutic manipulation. British Journal of Pharmacology. 2017 Sep;174:3914-3925. <https://doi.org/10.1111/bph.13613>
- Chen R, Zhang H, Tang B, Luo Y, Yang Y, Zhong X, Chen S, Xu X, Huang Sh, Liu C. Macrophages in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and therapeutic targets. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2024 May;9:130. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01840-1>
- Dalton KR, Kidd CJ, Hack N. Toxin Induced Parkinsonism and Hospitalization Related Adverse Outcome Mitigation for Parkinson's Disease: A Comprehensive Review. J. Clin. Med. 2023 Jan;12:1074. <https://doi.org/10.3390/jcm12031074>
- Albakri A. Toxin-induced cardiomyopathy: A review and pooled analysis of pathophysiology, diagnosis and clinical management. Res Rev Insights. 2019 Feb;3:1-21. <https://doi.org/10.15761/RRI.1000150>
- Putiy YV, Fuchko OL, Vaschenko NM, Rozova KV. Formation of ultrastructural adaptive reactions in body tissues under experimental parkinsonism. Physiological J. 2023 Dec;69(3):74-82. <https://doi.org/10.15407/fz69.03.074>. Ukrainian.
- Liu X, Wei B, Bi Q, Sun Q, Li L, He J, Weng Y, Zhang S, Mao G, Bao Y, Wan S, Shen X, Yan J, Shi P. MPTP-induced impairment of cardiovascular function. Neurotox Res. 2020 Jun;38:27-37. <https://doi.org/10.1007/s12640-020-00182-4>
- Labunets IF, Panteleymonova TM, Utko NO, Kyryk VM, Savosko SI, Litoshenko ZL. Changes in the number of macrophages, T-lymphocytes, activity of antioxidant enzymes in the brain, behavior and structure of the central nervous system neurons in adult and aging mice of different strains with the MPTP-induced model of parkinsonism. International Neurological J. 2023 Dec;19(4):119-128. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.19.4.2023.1010>. Ukrainian.
- Kannarkat GT, Cook DA, Lee JK, Chang J, Chung J, Sandy E, Paul KC, Ritz B, Bronstein J, Factor SA, Boss JM, Tansey MG. Common genetic variant association with altered HLA expression synergy with pyrethroid exposure and risk for Parkinson's disease: an observational and case control study. Parkinson's disease. 2015 Apr;1:15002. <https://doi.org/10.1038/npjparkd.2015.2>
- Lomakovskiy OM, Minchenko ZM, Havrylenko TI, Pidhajna OA. Immunogenetic features of the HLA system in patients with early and late development of coronary heart disease and previous myocardial infarction. J Rheumatology. 2021 Dec;86(4):80-87. <https://doi.org/10.32471/rheumatology.2707-6970.86.16547> Ukrainian.
- Labunets IF, Rodnichenko A. The state of the immune and endocrine systems in mice with different H-2 haplotypes and its potential relationship with the manifestations of experimental parkinsonism. Physiological J. 2024 Nov;70(3):42-50. <https://doi.org/10.15407/fz70.03.042>. Ukrainian.
- Labunets IF, Utko NA, Savosko S, Panteleymonova TN, Butenko GM. Changes in nigral neuronal structure, indices of antioxidant protection of the brain and behavior in mice of different age with MPTP parkinsonism model. International Neurological J. 2020 Nov;16(3):7-15. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.16.3.2020.203444>. Ukrainian.
- Zeng XS, Geng WS, Jia JJ. Neurotoxin-induced animal models of Parkinson disease: pathogenic mechanism and assess-

- ment. *ASN Neuro*. 2018 Jan;10(1). <https://doi.org/10.1177/1759091418777438>.
18. Kyryk V, Ustymenko A, Klymenko P, Tsupkyov O. Development and Validation of a Lipopolysaccharide-Induced Myocardial Inflammation Model in Mice for Preclinical Research on Stem Cell-based Therapy. *Anti Aging East Eur*. 2024 Nov;3(4):221-232. <https://doi.org/10.56543/aaeeu.2024.3.4.09>. Ukrainian.
 19. Prysiazhniuk AI, Rudyk MP, Chervinska TM, Dovbynychuk TV, Opeida IV, Skivka LM, Tolstanova GM. Role of peripheral dopaminergic system in the pathogenesis of experimental colitis in rats. *Ukr Biochem*. 2017 Oct;89(4):56-67. <https://doi.org/10.15407/ubj;89.04.056>. Ukrainian.
 20. Pulli B, Ali M, Forghani R, Schob S, Hsieh KL, Wojtkiewicz G, Linnoila JJ, Chen JW. Measuring myeloperoxidase activity in biological samples. *PLoS One*. 2013 Jul 5;8(7):e67976. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067976>
 21. Jones GLA, Sang E, Goldard C, Mortishire-Smith C, Sweatman BC, Haselden JN, Davies K, Grace AA, Clarke K, Griffin J-L. A functional analysis of mouse model of cardiac disease through metabolic profiling. *JBC*. 2005;280(9):7530-7539. <https://doi.org/10.1074/jbc.M410200200>
 22. Boykiv AB. Changes in humoral immunity in animals with adrenal cardiomyopathy during different types of inflammatory reactions. *Bulletin of Scientific Res*. 2008 Nov;3:60-63. Ukrainian.
 23. Kovalenko VM, Nesukay EG, Talaieva TV, Sychov OS, Cherniuk SV, Kirichenko RM, Tretiak IV. Features of the debut of acute myocarditis in patients after COVID-19 infection. *World Med and Biology*. 2023 Aug;2(84):87-92. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-2-84-87-92> Ukrainian.
 24. Prevete N, Sorriento D. The Role of Macrophages in Cardiac Function and Disease. *J Mol Pathol*. 2023 Oct;4:318-332. <https://doi.org/10.3390/jmp4040026>
 25. Labunets I, Rodnichenko A, Savosko S, Pivneva T. Reaction of different cell types of the brain on neurotoxin cuprizone and hormone melatonin treatment in young and aging mice. *Front Cell Neurosci*. 2023 Apr;17:1131130. <https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1131130>
 26. Appel H, Beers R, Henkel S. The T cell-microglial dialogue in Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis: are we listening? *Trends Immunol*. 2010 Jan;31(1):7-17. <https://doi.org/10.1016/j.it.2009.09.003>
 27. Frosch M, Amann L, Prinz M. CNS-associated macrophages shape the inflammatory response in a mouse model of Parkinson's disease. *Nat Commun*. 2023 Jun;14(1):3753. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39061-9>
 28. Kim HAh, Whittle SC, Lee S, Chu HX, Zhang ShR, Wei Z, Arumugam TV, Vinh A, Drummond GR, Sobey CHG. Brain immune cell composition and functional outcome after cerebral ischemia: comparison of two mouse strains. *Front Cell Neurosci*. 2014;8. Article 365 <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00365>

Morphological characteristics of the myocardium against the background of the altered content of the immune cells in the brain in mice of different strains with experimental parkinsonism

I.F. Labunets^{1,3}, P.P. Klymenko^{1,3}, V.M. Kyryk^{1,3}, T.V. Dovbynychuk^{1,2}, T.M. Panteleymonova^{1,3}

¹ Institute of Genetic and Regenerative Medicine, National Scientific Center «M.D. Strazhesko Institute of Cardiology, Clinical and Regenerative Medicine of NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

² Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine; National scientific center «Institute of biology and medicine», Kyiv, Ukraine

³ D.F. Chebotarev State Institute of Gerontology of NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The aim – to investigate the features of structural changes in the myocardium in mice of different H-2 genotypes (human HLA analogue) with an experimental toxic model of parkinsonism against the background of changes in the content of lymphocytes and macrophages in the brain.

Materials and methods. Adult (6-7 months of age) male mice of the FVB/N (genotype H-2q) and 129/Sv (genotype H-2b) strains were injected once with the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) at a dose of 30 mg/kg (research groups) or 0.9 % sodium chloride solution (control groups). In 18 days after injections, histological examination of the myocardium, immunophenotyping of brain cells for markers CD3 and CD11b were performed in mice of all experimental groups as well as the activity of intracellular myeloperoxidase (MPO) as a marker of the brain inflammatory process was assessed.

Results and discussion. After the administration of MPTP in the myocardium of the 129/Sv mice strain we have observed death of the cardiomyocytes with the appearance of adipose tissue and areas of sclerosis, the development of inflammation with signs of lymphocytic and macrophage infiltration as well as activation of fibroblasts and destructive changes in the blood vessel wall with the destruction of the endothelial cell monolayer. After MPTP administration in the myocardium of FVB/N mice strain we have observed cardiomyocyte death, accumulation of lymphocytes and fibroblasts and areas of fat embolism in the blood vessels. In mice of the 129/Sv strain, which were MPTP injected, the content of CD3+CD11b+ cells has been higher than in the control group mice. In research group of the FVB/N mice, the content of not only CD3+CD11b+ cells, but also CD3+ cells has exceeded the values of the indicators in the control animal group. After the injection of MPTP, the activity of MPO in the brain of the 129/Sv mice has been significantly higher than in control animals, but did not change in mice of the FVB/N strain.

Conclusions. In mice with a toxic model of parkinsonism, we have observed the myocardial damage, the manifestations and severity of which largely depended on the H-2 genotype of animals and peculiarities of accumulation of the immune system cells in this organ. We have established the differences in the balance of neuro-inflammatory marker cells (T lymphocytes, macrophages) as well as in the activity of the inflammatory marker MPO in the brain of research mice with different genotypes H-2. The experimental toxic model of parkinsonism may be useful for studying the development of combined myocardial pathology in parkinsonism involving immune system cells.

Key words: Structure of myocardium, neurotoxin MPTP, parkinsonism, T-lymphocytes, macrophages, mice of different H-2 genotypes.