

науково-практичної Internet конференції, до Всесвітнього дня анатомії, Харків, 14 жовтня 2020 р., ст. 48.

5. Камінський Р. Ф., Дзевульська І. В. Гіпергомоцистеїнемія – як один із основних тригерів серцево-судинної патології. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвячена пам'яті члена-кориспандента НАМН України, д. мед. н., професора Ю. Б. Чайковського, Київ, 8–9 червня 2023р. С 116.

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-401-6-16>

**THE NEUROTOXIN EFFECTS ON BONE MARROW  
PROGENITOR CELLS FOR GRANULOCYTES-MACROPHAGES,  
PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES, AND BRAIN  
MACROPHAGES IN MICE**

**ВПЛИВ НЕЙРОТОКСИНУ НА КЛІТИНИ-ПОПЕРЕДНИКИ  
ГРАНУЛОЦИТІВ-МАКРОФАГІВ КІСТКОВОГО МОЗКУ,  
МОНОЦИТИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ТА МАКРОФАГИ  
ГОЛОВНОГО МОЗКУ МИШЕЙ**

**Labunets I. F.**

*Doctor of Medical Sciences,  
Senior Research Officer,  
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 National Academy of Medical  
Sciences of Ukraine”  
Kyiv, Ukraine*

**Лабунець І. Ф.**

*доктор медичних наук,  
старший науковий співробітник,  
завідувачка лабораторії  
експериментального моделювання  
відділу клітинних та тканинних  
технологій  
Інституту генетичної  
та регенеративної медицини,  
ДУ «Національний науковий центр  
«Інститут кардіології, клінічної  
та регенеративної медицини  
імені академіка М. Д. Стражеска  
Національної академії медичних  
наук України»  
м. Київ, Україна*

Розсіяний склероз – одне із найбільш розповсюджених демієлінізуючих захворювань центральної нервової системи, яке зустрічається не тільки в молодому віці, але й у людей старше 45 років [1]. На цей час доведено, що розсіяний склероз є також нейродегенеративною

патологією. Патогенетичні ланки деструкції нейронів і мієліна при розсіяному склерозі можуть бути пов'язані з продуктами окисного стресу і нейрозапалення [2]. Зокрема, показано, що такі клітини нейрозапалення, як макрофаги, продукують вільні радикали і цілий спектр прозапальних цитокінів з ушкоджуючим впливом. Разом з тим, рівні формування змін кількості макрофагів за умов дії нейротоксичних чинників залишаються недостатньо вивченими.

**Мета** – оцінити зміни у кістковому мозку кількості клітин-попередників макрофагів, моноцитів у периферичній крові та макрофагів у головному мозку мишей різного віку із токсичною моделлю демієлінізації та нейродегенерації.

#### **Матеріали та методи.**

*Тварини.* Дослідження проводили на мишах лінії 129/Sv (генотип H-2b, n=36) віком 5–6 міс (дорослі) та 13–15 міс (старіючі). Тварини знаходилися при фіксованому світловому режимі (12:12) та вільному доступі до води та їжі. Біологічний матеріал отримували після декапітації мишей під ефірним наркозом у ранковий час доби (9.00–10.00). Усі роботи з експериментальними тваринами виконували з дотриманням законодавства та принципів «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, що використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986).

*Експериментальні групи.* В роботі використовували токсичну купризову модель демієлінізації і нейродегенерації [3]. Дорослі та старіючі миші дослідних груп отримували нейротоксин купризон [бис(циклогексанон)-оксальдигидразон] (*Sigma-Aldrich*, Німеччина) з їжею (із розрахунку 0,2% маси чистої речовини від добового корму) щоденно, впродовж трьох тижнів. Інтактні миші різного віку були на звичайному раціоні віварію (контрольні групи).

*Клітини кісткового мозку* отримували шляхом його вимивання з стегнових кісток мишей живильним середовищем RPMI-1640.

*Кількість клітин-попередників для гранулоцитарно-макрофагальних колоній (КУК-ГМ)* визначали в напіврідких агарових культурах [4].  $3 \times 10^5$  клітин кісткового мозку культивували в поживному середовищі McCoу з добавками впродовж 9 діб при  $+37^\circ\text{C}$  у зволоженій газовій суміші, яка складалась із 5%  $\text{CO}_2$  та 95% кімнатного повітря. На 9 добу культивування підраховували кількість колоній, що складались не менше як із 50 клітин, та перераховували на загальну кількість ядровмісних клітин кісткового мозку стегнової кістки.

*Кількість моноцитів у периферичній крові (%)* підраховували загальноприйнятим методом у мазках, які фарбували за Романовським-Гімза.

*Імунофенотипування клітин головного мозку за CD11b (Mac-1) маркером* проводили за допомогою моноклональних антитіл до мембранних антигенів миші, кон'югованих з флуорохромами (BD Bioscience, USA): CD11b–флуоресцеїнізоціонат-кон'юговані антитіла (кат. № 557396). Робоча концентрація моноклональних антитіл була 0,5 мкг/мл. Вимірювання проводили на лазерному проточному цитофлюориметрі-сортері BD FACSAria (Becton Dickinson, США) за допомогою програми BD FACS Diva 6.1.

При статистичній обробці результатів використовували t-критерій Стьюдента. Результати представлені у вигляді середнього арифметичного та похибки середнього ( $M \pm m$ ).

**Результати та їх обговорення.** *Клітини-попередники для гранулоцитарно-макрофагальних колоній у кістковому мозку експериментальних груп мишей.* Встановлено, що кількість ядровмісних клітин у кістковому мозку дорослих мишей контрольної та дослідної груп була  $18,6 \pm 1,7 (x10^6)$  та  $12,0 \pm 1,9 (x10^6)$  ( $p < 0,05$ ), відповідно; у старіючих мишей контрольної та дослідної груп  $30,0 \pm 3,2 (x10^6)$  та  $15,2 \pm 1,4 (x10^6)$  ( $p < 0,05$ ), відповідно.

Відносна кількість КУК-ГМ у кістковому мозку контрольних і дослідних мишей обох вікових груп істотно не відрізнялась ( $p > 0,05$ ). Абсолютна кількість КУК-ГМ у кістковому мозку дорослих і старіючих дослідних мишей ( $164,0 \pm 20,70$  і  $429,0 \pm 54,25$ , відповідно) була істотно менше ( $p < 0,05$ ) порівняно з дорослими і старіючими тваринами контрольних груп ( $271,0 \pm 25,8$  і  $711,0 \pm 45,3$ , відповідно).

*Моноцити периферичної крові у тварин експериментальних груп.* У дорослих і старіючих інтактних мишей вміст моноцитів у периферичній крові був  $29,1 \pm 2,0\%$  і  $21,5 \pm 1,3\%$ , тоді як у дорослих і старіючих мишей, які отримували нейротоксин, значення показника істотно зменшувались ( $p < 0,05$ ) і складали відповідно  $20,2 \pm 1,6\%$  і  $15,3 \pm 1,1\%$ .

*Макрофаги головного мозку мишей експериментальних груп.* Відомо, що кількість макрофагів у головному мозку може підвищуватись за рахунок циркулюючих моноцитів, які походять із прогеніторних клітин – кістковомозкових КУК-ГМ [5].

Нами встановлено, що кількість CD11b+ клітин в головному мозку дорослих і старіючих мишей дослідних груп ( $1,8 \pm 0,1\%$  і  $0,7 \pm 0,1\%$ , відповідно) вище ( $p < 0,05$ ), ніж у дорослих і старіючих мишей контрольних груп ( $1,3 \pm 0,1\%$  та  $0,4 \pm 0,1\%$ , відповідно).

За нашими даними, у дорослих і старіючих мишей, які отримували купризон впродовж трьох тижнів, істотно зростає вміст ушкоджених нейронів у головному мозку і спостерігається порушення поведінкових реакцій [3]. Важливо, що виявлені нами раніше структурні зміни

в головному мозку мишей із купризоною дієтою узгоджуються з отриманим в даному дослідженні результатом щодо зростання вмісту макрофагів в головному мозку таких тварин.

**Висновки.** Таким чином, у дорослих і старіючих мишей із купризоною дієтою падіння кількості КУК-ГМ у кістковому мозку співпадало зі зростанням числа макрофагів в головному мозку. Тобто, один із можливих шляхів впливу нейротоксину купризону на вміст цих клітин нейрозапалення в головному мозку мишей різного віку реалізується через зміни функціонального стану кісткового мозку.

### Література:

1. Vaughn, G. B., Jakimovski, D., Weinstock-Guttman, B. Epidemiology and treatment of multiple sclerosis in elderly populations. *Nat Rev Neurol*. 2019. Vol.15. P. 329–342. doi: 10.1038/s41582-019-0183-3

2. Absinta M., Maric D., Gharagozloo M., Garton T., Smith M. D., Jin J. et al. A lymphocyte-microglia-astrocyte axis in chronic active multiple sclerosis. *Nature*. 2021. Vol. 597. P. 709–714. doi: 10.1038/s41586-021-03892-7

3. 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; 17:1131130. <https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1131130>

4. Bradley T. R., and Metcalf, D. The growth of mouse bone marrow cell in vitro. *Aust J Exp Biol Med Sci*. 1966. Vol. 44. P. 287–299. doi: 10.1038/icb.1966.28

5. Zhao Y., Zou W., Du J., Zhao Y. The origins and homeostasis of monocytes and tissue-resident macrophages in physiological situation. *J Cell Physiol*. 2018. Vol. 233. P. 6425–6439. doi: 10.1002/jcp.26461