
**ЕФЕКТИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ МУЛЬТИПОТЕНТНИХ
МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН
ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ВІД МИШЕЙ
ІЗ РІЗНИМ ГАПЛОТИПОМ Н-2
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРКІНСОНІЗМІ**

Лабунець І. Ф., Пантелеймонова Т. М., Харкевич Ю. О.
DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-466-5-16>

ВСТУП

Хвороба Паркінсона (ХП) є досить поширеною у світі та Україні нейродегенеративною патологією центральної нервової системи (ЦНС), яка має тенденцію до неухильного зростання¹. Хоча це захворювання виявляють переважно у людей старше 60 років, на сьогодні його все частіше діагностують у віковий період активної працездатності людини, а саме 30–40 років. Доведено, що у розвитку морфофункціональних порушень при ХП/паркінсонізмі велике значення мають оксидативний стрес і нейрозапалення².

Серед нових перспективних підходів до терапії ХП/паркінсонізму заслуговує на увагу трансплантація мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин (ММСК) різного тканинного походження (жирова тканина, кістковий мозок, пуповина, тощо)³. Показано, що ММСК здатні до мультилінійного диференціювання, синтезу і секреції нейротрофічних факторів, трофічного впливу на ушкоджені органи і тканини, а також виявляють імуномодулюючі, антизапальні та

¹ . Sulzev D., Surmeiter D.J. Neuronal vulnerability, pathogenesis and Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013. V. 28. P. 715-724. DOI: 10.1002/mds.25095.

Karaban I.N., Shalenko O.V., Kryzhanovskiy S.A. Non-motor symptoms in clinical picture of the Parkinson's disease. *International neurological journal.* 2017. V. 1. P. 58-63. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.1.87.2017.96538>

² Guo J-D., Zhao X., Li Y. et al. Damage to dopaminergic neurons by oxidative stress in Parkinson's disease. *Int J Mol Med.* 2018. V. 41. P. 1817-1825. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3406.

Wang Q., Liu Y., Zhou J. Neuroinflammation in Parkinson's disease and its potential as therapeutic target. *Translat Neurodegenerat.* 2015. V. 4, №19. DOI: 10.1186/s40035-015-0042-0.

³ Li Zh., Cheung H-H. Stem cell-based therapies for Parkinson disease. *Int J Mol Sci.* 2020. V. 21, № 8060. DOI: 10.3390/ijms21218060

антиоксидантні властивості⁴. Особливу увагу дослідників і клініцистів привертають ММСК із жирової тканини (ЖТ), як одного із найбільш доступних і безпечних джерел. При цьому при патологічних станах використовують трансплантацію як сингенних, так і алогенних ММСК⁵.

Мета – порівняти вплив трансплантації ММСК-ЖТ від мишей-донорів ліній, які відрізняються гаплотипом за системою Н-2, на показники поведінки і оксидативного стресу в головному мозку мишей із експериментальною моделлю паркінсонізму.

1. Матеріали і методи

Тварини. Досліди проводили на мишах–самицях лінії 129/Sv (гаплотип Н-2b) і лінії FVB/N (гаплотип Н-2q) віком 5–6 міс (дорослі) із розплідника Інституту генетичної та регенеративної медицини Державної установи «Національний науковий центр «Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини Національної академії медичних наук України». Гаплотип за системою Н-2 є аналогом НЛА людини. Миші знаходились у стандартних умовах віварію при фіксованому світловому режимі 12:12 та вільному доступі до їжі та води *ad libitum*. Біологічний матеріал для дослідів отримували за допомогою декапітації мишей під ефірним наркозом у ранкові години доби. Усі експериментальні роботи виконували з дотриманням Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції по 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 та призводить до моторних порушень, схожих на симптоми ХП у

⁴ Wojtas E., Zachwieja A., Zwyrzykowska A. et al. The application of mesenchymal progenitor stem cells in the reduction of oxidative stress in animals. *Turk J Biol.* 2017. V. 41. P. 12-19. DOI: 10.3906/biy-1603-13.

Laroni A., Kerlego de Rosbo N., Uccelli A. Mesenchymal stem cells for the treatment of neurological diseases: immunoregulation beyond neuroprotection. *Immunology letter.* 2015. V. 168. P. 183-190. DOI: 10.1016/j.imlet.2015.08.007.

⁵ Choi E.W., Shin H.S., Park S.Y. et al. Characteristics of mouse adipose tissue-derived stem cells and therapeutic comparisons between syngeneic and allogeneic adipose tissue-derived stem cells transplantation in experimental autoimmune thyroiditis. *Cell transplantation.* 2014. V. 23. P. 873-887. DOI: 10.3727/096368913X664586.

Cunpa F.F., Martins L., Martin P. et al. A comparison of the reparative and angiogenic properties of mesenchymal stem cells derived from the bone marrow of Balb/c and C57Bl/6 mice in a model of limb ischemia. *Stem cell research & Therapy.* 2013. V. 4, № 86. DOI: 10.1186/scrt245.

людини⁶. В експерименті МФТП (*Sigma*, США) вводили дорослим мишам лінії 129/Sv підшкірно (у ділянку ший) одноразово в дозі 30 мг/кг (розчинник нейротоксину – 0,9% розчин хлориду натрію). Нами раніше встановлено, що МФТП у такій дозі через 17 діб після введення ушкоджує більше 70% дофамінергічних нейронів чорної субстанції мишей цієї лінії⁷.

Виділення і культивування ММСК-ЖТ. Виділення, культивування та спрямоване диференціювання ММСК-ЖТ здійснювали за стандартними протоколами⁸. ММСК із підшкірної ЖТ мишей лінії 129/Sv (ММСК-ЖТ1) і мишей лінії FVB/N (ММСК-ЖТ2) отримували за допомогою подрібнення їх ЖТ в 0,1% розчині колагенази 1А. Отриману суміш ресуспендували, центрифугували, відбирали надосадову рідину, а утворений осад ресуспендували в поживному середовищі і переносили в культуральні флакони. Культивування проводили в поживному середовищі, яке містило 10% ембріональної телячої сироватки, 2 mM L-глутаміну, 100 Мод/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину. Культивування проводили при температурі +37°C та 5% вмісті CO₂.

Для введення експериментальним тваринам використовували ММСК-ЖТ 2-го пасажу. Відношення цих клітин до ММСК було визначено за відповідним імунофенотипом, а також здатністю диференціюватися в остеогенному та адипогенному напрямках, що відповідає мінімальним критеріям ММСК⁹. Клітини культури ЖТ 2-го пасажу експресували на поверхні маркерні антигени CD 117, CD73 і CD90 (більше 96%), але при цьому не експресували CD45 і CD34. Фенотипування культур клітин проводили з використанням моноклональних антитіл до мембранних антигенів миші, коньюгованих з флуорохромами, в робочій концентрації 0,5 мкг/млк (*Becton Dickinson*, США) з використанням сортера BD FACSAria (*Becton Dickinson*, США).

⁶ . Zeng X.S., Geng W.Sh., Jia J.J. Neurotoxin-induced animal models of Parkinson disease: pathogenic mechanism and assessment. *ASN Neuro*. 2018. V. 10. P. 1-15. DOI: 10.1177/175909/418777438.

Meredith G.E., Rademacher D.J. MPTP mouse models of Parkinson's disease: an update. *J Parkinsons Dis*. 2011. V. 1, № 1. P. 19-33. DOI: 10.3233/JPD-2011-11023.

⁷ . Labunets I.F. Behavioral features in the mice of various strains and sex with model of parkinsonism. *Fiziol Zh*. 2020. V. 66, № 1. P. 18-24. <https://doi.org/10.15407/fz66.01.018>

Labunets I.F., Utko N.A., Savosko S.I. et al. 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 journal*. 2020. V. 3, № 16. P. 7-15. DOI: 10.22141/2224-0713.16.3.2020.203444.

⁸ Prockop D.J., Phinney D.G., Bunnell B.A. Mesenchymal stem cells: method and protocols. *Totowa NJ: Humana Press*. 2008. V. 192.

⁹ Dominici M., LeBlanc K., Mueller I. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006. V. 8. P. 315-317. DOI: 10.1080/14653240600855905

ММСК від мишей-донорів лінії 129/Sv (ММСК-ЖТ1) або від мишей-донорів лінії FVB/N (ММСК-ЖТ2) 2-го пасажу вводили в хвостову вену мишей лінії 129/Sv одноразово у дозі 7×10^5 клітин в 50 мкл 0,9% хлориду натрію, через 17 діб після одноразової ін'єкції МФТП. Як вже зазначено раніше¹⁰; в цей період у мишей розвиваються виражені морфофункціональні зміни ЦНС. Контроль – одна ін'єкція 0,9% розчину хлориду натрію в хвостову вену мишей із моделлю паркінсонізму.

Експериментальні групи мишей. 1 – інтактна група мишей лінії 129/Sv; 2 – миші лінії 129/Sv, яким вводили МФТП і 0,9% розчин хлориду натрію (контрольна група); 3 – миші лінії 129/Sv, яким вводили МФТП і ММСК-ЖТ1; 4 – миші лінії 129/Sv, які отримували ін'єкції МФТП і ММСК-ЖТ2. У кожній експериментальній групі було по 10 особин. Дослідження у всіх експериментальних групах мишей проводили у терміни, які відповідають трьом тижням після трансплантації ММСК-ЖТ.

Функціональний стан ЦНС вивчали за показниками поведінки в тестах «відкрите поле», на ригідність і у «ротарод-тесті», як нами описано раніше¹¹. У тесті «відкрите поле» оцінювали горизонтальну рухову, вертикальну рухову, емоційну і орієнтовно-дослідницьку активності. Мишей всіх груп тестували впродовж 3 хв. «Ротарод-тест» (тест із барабаном, що обертається) дає змогу досліджувати координацію, рівновагу та м'язовий тонус мишей. Результати наводили у вигляді сумарного часу (секунда) утримання на валу при 10 об/хв і 20 об/хв.

Ригідність у тварин визначали по змінам довжини тіла (міліметр) та ходи. Для оцінки ходи стопи тварин обробляли нетоксичними розчинами фарб різного кольору і по відбиткам вимірювали довжину кроку, довжину і ширину стопи (міліметр). Довжина кроку є одним із показників зміни ходи тварин і її зменшення свідчить про порушення м'язової функції¹².

¹⁰ Labunets I.F., Utiko N.A., Savosko S.I. et al. 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 journal*. 2020. V. 3, № 16. P. 7-15. DOI: 10.22141/2224-0713.16.3.2020.203444.

¹¹ Labunets I.F. Behavioral features in the mice of various strains and sex with model of parkinsonism. *Fiziol Zh*. 2020. V. 66, № 1. P. 18-24. <https://doi.org/10.15407/fz66.01.018>

Labunets I.F., Utiko N.A., Savosko S.I. et al. 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 journal*. 2020. V. 3, № 16. P. 7-15. DOI: 10.22141/2224-0713.16.3.2020.203444.

¹² Fernagut P.O., Diguet E., Labattu B. et al. A simple method to measure stride length as an index of nigrostriatal dysfunction in mice. *J Neurosci Methods*. 2002. V. 113, № 2. P. 123-130. DOI: 10.1016/s0165-0270(01)00485-x.

Оцінка показників оксидативного стресу та антиоксидантного захисту головного мозку. Вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали в гомогенатах головного мозку по методу Uchiyama¹³, з незначними модифікаціями. Принцип методу полягає у визначенні інтенсивності забарвлення триметинового комплексу, що утворюється в ході реакції між МДА і тіобарбітуровою кислотою і має характерний спектр поглинання з максимумом при довжині хвилі 535 нм.

Активність антиоксидантних ферментів досліджували у супернатантах гомогенатів головного мозку спектрофотометричним методом (спектрофотометр *μQuant, Bio-Tek*, США), як нами описано раніше¹⁴. Активність супероксиддисмутази (СОД) оцінювали в умовних одиницях по її здатності пригнічувати реакцію аутоокиснення адреналіну в адренохром при *pH* 10,2 із розрахунку на 1 мг білка за 1 хв. Активність каталази визначали з кінетики руйнування H_2O_2 і виражали в мікромолях утилізованої H_2O_2 на 1 мг білка за 1 хв. Активність глутатіонпероксидази (ГП) і глутатіонредуктази (ГР) вимірювали за зменшенням NADPH у сполученій глутатіонредуктазній реакції з додаванням у реактивну суміш відповідних реагентів і виражали в наномолях окисненого NADPH на 1 мг білка за 1 хв. Вміст білка у головному мозку вимірювали за методом Лоурі. Всі реагенти – *Riedel-deHaën, Fluka*, Німеччина.

Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою критерію t Стьюдента. Різницю між досліджуваними показниками вважали вірогідною при значенні $P < 0,05$. Для статистичного аналізу отриманих результатів використовували програму Statistica 7.0 (*StatSoft Inc.*, США).

2. Результати та їх обговорення

2.1. Вплив трансплантації ММСК-ЖТ від мишей-донорів різного гаплотипу Н-2 на поведінку мишей лінії 129/Sv із МФТП-індукованою моделлю паркінсонізму

Встановлено, що у мишей лінії 129/Sv після введення МФТП (контрольна група) число пересічених квадратів, вертикальних стійок, заглядань у «нірки», довжина тіла і кроку менше, ніж у інтактних тварин, тоді як час утримання на валу – вище (табл. 1).

¹³ Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978. V. 86, № 1. P. 271-278. DOI: 10.1016/0003-2697(78)90342-1.

¹⁴ Labunets I.F., Utko N.A., Savosko S.I. et al. 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 journal.* 2020. V. 3, № 16. P. 7-15. DOI: 10.22141/2224-0713.16.3.2020.203444.

Після трансплантації ММСК-ЖТ1 мишам лінії 129/Sv із моделлю паркінсонізму значення показників довжини тіла і кроку суттєво збільшувались порівняно з показниками контрольної групи, причому довжина тіла – до значень інтактних тварин (табл. 1). Після введення мишам лінії 129/Sv із моделлю паркінсонізму ММСК-ЖТ2 спостерігалось суттєве збільшення тільки довжини тіла (табл. 1).

Таблиця 1

Показники поведінки у мишей експериментальних груп, $M \pm m$

Показник	Експериментальна група			
	Інтактна (n=10)	МФТП+ хлорид натрію (контроль)(n=10)	МФТП+ ММСК-ЖТ1 (n=10)	МФТП+ ММСК-ЖТ2 (n=10)
Число квадратів	57,2±5,1	19,3±3,2*	16,1±3,1*	15,2±2,1*
Число стійок	2,2±0,7	0,2±0,02*	0,3±0,1*	0,2±0,05*
Число болосів	2,0±0,4	1,3±0,3	1,5±0,4	1,2±0,3
Число заглядань у «шірки»	2,8±0,8	0,3±0,1*	0,4±0,1*	0,3±0,1*
Ротарод, с	252,4±22,2	429,1±23,3*	428,4±25,1*	473,5±30,2*
Довжина тіла, мм	98,2±1,8	90,1±1,1*	95,2±1,3#	95,1±1,4#
Довжина кроку, мм	55,1±4,2	32,1±3,1*	42,3±4,1*#	33,4±2,1*
Довжина стопи, мм	13,8±0,4	13,7±0,5	13,8±0,6	13,8±0,4
Ширина стопи, мм	8,0±0,2	8,1±0,1	8,0±0,2	8,1±0,3

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно з інтактною групою; # – $p < 0,05$ порівняно з групою контролю.

Отже, у мишей лінії 129/Sv під впливом нейротоксину МФТП спостерігались моторні та немоторні порушення поведінки. Трансплантація ММСК-ЖТ поліпшила показники поведінки мишей із моделлю паркінсонізму; при цьому ефект від трансплантованих сингенних клітин був вище, ніж від алогенних.

2.2. Вплив трансплантації ММСК-ЖТ від мишей-донорів різного гаплотипу Н-2 на показники оксидативного стресу в головному мозку мишей лінії 129/Sv із МФТП-індукованою моделлю паркінсонізму

Встановлено, що у мишей лінії 129/Sv під впливом МФТП вміст МДА в головному мозку зростав порівняно з інтактними тваринами і не змінювався після введення ММСК-ЖТ1 або ММСК-ЖТ2 (табл. 2).

Таблиця 2

Показники оксидативного стресу в головному мозку мишей експериментальних груп, М±m

Показник	Експериментальна група			
	Інтактна (n=10)	МФТП+ хлорид натрію (контроль) (n=10)	МФТП+ ММСК-ЖТ1 (n=10)	МФТП+ ММСК-ЖТ2 (n=10)
Малоновый діальдегід (нмоль/мг)	1,6±0,1	2,3±0,2*	2,5±0,3*	2,46±0,1*
Супероксид-дисмутаза (од/мг.хв)	13,5±0,3	12,5±0,2*	15,9±0,5*#	15,8±0,4*#
Каталаза (мкмоль/мг.хв)	2,7±0,1	2,8±0,2	2,6±0,1	2,6±0,2
Глутатіон-пероксидаза (нмоль/мг.хв)	7,5±0,5	7,4±0,4	6,9±0,3	6,5±0,5
Глутатіон-редуктаза (нмоль/мг.хв)	18,9±1,2	21,4±1,4	23,3±1,5*	15,5±2,3#&

Примітки: * – $p < 0,05$ порівняно інтактною групою; # – $p < 0,05$ порівняно з групою контролю; & – $p < 0,05$ порівняно з групою, що отримувала ММСК-ЖТ1.

Активність СОД у головному мозку мишей контрольної групи суттєво зменшувалась порівняно з інтактними тваринами, тоді як після введення ММСК-ЖТ1 і ММСК-ЖТ2 ставала вище, ніж у тварин інтактної та контрольної груп (табл. 2). Активність ГР у головному мозку мишей, яким вводили ММСК-ЖТ1 суттєво вище, ніж у інтактних тварин (табл. 2). Після введення ММСК-ЖТ2 активність ГР була менше, ніж в групі мишей із ММСК-ЖТ1.

Отже, в головному мозку мишей лінії 129/Sv із МФТП-моделлю паркінсонізму зростання вмісту МДА спостерігалось на тлі падіння активності СОД. Після трансплантації ММСК-ЖТ активність деяких антиоксидантних ферментів зростала; при цьому для проявів ефекту трансплантованих клітин мав значення гаплотип Н-2 мишей-донорів.

Обговорення

Вплив МФТП на поведінку, фактори оксидативного стресу і антиоксидантного захисту в головному мозку мишей лінії 129/Sv.

У нашому експерименті дослідження проводили на токсичній МФТП-моделі паркінсонізму. Нами та іншими авторами встановлено, що одноразова ін'єкція нейротоксину МФТП у дозі 30 мг/кг дозволяє відтворити у мишей пізню стадію цієї патології, яка характеризується суттєвими ушкодженнями структури нейронів чорної субстанції та інших відділів головного мозку, а також моторними і немоторними

змінами поведінки¹⁵. Ми наразі підтвердили, що у мишей під впливом МФТП спостерігаються значні зміни рухової, дослідницької активності та м'язового тонуca.

Відомо, що важливою патогенетичною ланкою морфофункціональних ушкоджень головного мозку при ХП/паркінсонізмі є оксидативний стрес, який розвивається на тлі падіння активності антиоксидантних ферментів¹⁶. При цьому показано, що одним із чинників оксидативного стресу, який призводить до таких ушкоджень, є МДА. Останній утворюється в результаті пероксидації поліненасичених жирних кислот і здатен вступати в реакцію з нуклеїновими кислотами, фосфоліпідами і амінокислотами. Нами встановлено, що після введення МФТП вміст МДА у головному мозку мишей суттєво зростає; при цьому зміни співпадали зі значним падінням активності СОД.

За даними літератури, токсична дія МФТП на нейрони чорної субстанції та інших відділів головного мозку також може бути опосередкована продуктами таких клітин нейрозапалення, як активовані клітини мікроглії/макрофаги і Т-лімфоцити¹⁷. Зокрема, показано ушкоджуючий вплив на нейрони ЦНС прозапальних цитокінів (TNF alpha, IL beta, IFN gamma), які синтезують клітини активованої мікроглії/макрофаги. Нами раніше встановлено, що у головному мозку мишей із МФТП-моделлю паркінсонізму частка макрофагів суттєво зростає¹⁸.

Отже, після введення нейротоксину МФТП виражені зміни поведінки у мишей спостерігаються на тлі дисбалансу факторів оксидативного стресу і антиоксидантного захисту головного мозку.

¹⁵ Zeng X.S., Geng W.Sh., Jia J.J. Neurotoxin-induced animal models of Parkinson disease: pathogenic mechanism and assessment. *ASN Neuro*. 2018. V. 10. P. 1-15. DOI: 10.1177/175909/418777438.

Meredith G.E., Rademacher D.J. MPTP mouse models of Parkinson's disease: an update. *J Parkinsons Dis*. 2011. V. 1, № 1. P. 19-33. DOI: 10.3233/JPD-2011-11023.

Labunets I.F. Behavioral features in the mice of various strains and sex with model of parkinsonism. *Fiziol Zh*. 2020. V. 66, № 1. P. 18-24. <https://doi.org/10.15407/fz66.01.018>

Labunets I.F., Utko N.A., Savosko S.I. et al. 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 journal*. 2020. V. 3, № 16. P. 7-15. DOI: 10.22141/2224-0713.16.3.2020.203444.

¹⁶ . Guo J-D., Zhao X., Li Y. et al. Damage to dopaminergic neurons by oxidative stress in Parkinson's disease. *Int J Mol Med*. 2018. V. 41. P. 1817-1825. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3406.

¹⁷ Wang Q., Liu Y., Zhou J. Neuroinflammation in Parkinson's disease and its potential as therapeutic target. *Translat Neurodegenerat*. 2015. V. 4, №19. DOI: 10.1186/s40035-015-0042-0.

¹⁸ I.F., Panteleymonova T.M., Utko N.O. et al. 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 Journal*. 2023. Vol. 19, №. 4. P. 119-128. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.19.4.2023.1010>

Ефекти трансплантації ММСК-ЖТ від донорів із різним галотипом H-2 при експериментальному МФТП-індукованому паркінсонізмі.

На цей час одним із перспективних підходів до терапії порушень функціонального стану ЦНС при ХП/паркінсонізмі є трансплантація ММСК-ЖТ¹⁹. Ефекти трансплантації клітин можуть залежати від генотипу їх донора²⁰. З метою порівняльної оцінки нейропротекторного ефекту ММСК-ЖТ від мишей-донорів із різним генотипом ми вводили мишам лінії 129/Sv клітини від мишей тієї ж лінії або лінії FVB/N. ММСК-ЖТ трансплантували через 17 днів після ін'єкції МФТП, тобто на тлі вже значних морфофункціональних порушень ЦНС.

Нами виявлені певні позитивні зміни рухової активності мишей із МФТП-моделлю паркінсонізму, які були більш вираженими після трансплантації сингенних, а не алогенних ММСК-ЖТ. Наші результати щодо позитивного впливу ММСК-ЖТ на функціональний стан ЦНС дослідних мишей узгоджуються з даними інших авторів, які показали аналогічну спрямованість змін поведінки у мишей із МФТП-моделлю паркінсонізму після введення таких клітин²¹. При цьому авторами встановлено, що у мишей із паркінсонізмом поліпшення моторної активності співпадало з підвищенням числа дофамінергічних нейронів у чорній субстанції, а також експресії нейротрофічних (BDNF, GDNF) і хоумінг (SDF) факторів у головному мозку.

Серед шляхів позитивного впливу ММСК-ЖТ при патології ЦНС велике значення мають антиоксидантний і антизапальний ефекти цих

¹⁹ Li K., Li X., Shi G. et al. Effectiveness and mechanisms of adipose-derived stem cell therapy in animal models of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Translat Neurodegenerat.* 2021. V. 10, № 14. DOI: 10.1186/s40035-021-00238-1

²⁰ Choi E.W., Shin H.S., Park S.Y. et al. Characteristics of mouse adipose tissue-derived stem cells and therapeutic comparisons between syngenic and allogeneic adipose tissue-derived stem cells transplantation in experimental autoimmune thyroiditis. *Cell transplantation.* 2014. V. 23. P. 873-887. DOI: 10.3727/096368913X664586.

Cunpa F.F., Martins L., Martin P. et al. A comparison of the reparative and angiogenic properties of mesenchymal stem cells derived from the bone marrow of Balb/c and C57Bl/6 mice in a model of limb ischemia. *Stem cell research & Therapy.* 2013. V. 4, № 86. DOI: 10.1186/s12924-013-0024-5.

²¹ Park H., Chang K.A. Therapeutic Potential of Repeated Intravenous Transplantation of Human Adipose-Derived Stem Cells in Subchronic MPTP-induced Parkinson's Disease Mouse Model. *Int J Mol Sci.* 2020. V. 21, № 8129. DOI: 10.3390/ijms21218129.

Chi K., Fu R-H., Huang Yu-Ch. et al. Adipose-derived Stem Cells Stimulated with n-Butylidenephthalide Exhibit Therapeutic Effects in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Cell Transplantation.* 2018. V. 27. P. 456-470. DOI: 10.1177/0963689718757408

клітин²². Зокрема, Wojtas і співавтори²³ вважають, що трансплантація ММСК за таких умов може бути іноваційним підходом до поліпшення балансу факторів оксидативного стресу і антиоксидантного захисту головного мозку. Є докази того, що антиоксидантний ефект ММСК при патології ЦНС пов'язаний зі зменшення вмісту реактивних радикалів і підвищенням експресії деяких антиоксидантних ферментів у головному мозку²⁴. У нашій роботі встановлено, що в головному мозку мишей із МФТП-моделлю паркінсонізму активність СОД і ГР суттєво зростає після трансплантації сингенних ММСК-ЖТ; під впливом алогенних ММСК-ЖТ спостерігалась активація тільки СОД.

Звертає на увагу факт відсутності впливу ММСК-ЖТ на підвищений вміст МДА в головному мозку мишей із моделлю паркінсонізму. Оскільки при нейродегенеративній патології в головному мозку також суттєво зростає вміст ROS (reactive oxygen species), який можна зменшити за допомогою трансплантації ММСК²⁵, не виключено, що в нашій роботі позитивний ефект трансплантації ММСК-ЖТ на активність антиоксидантних ферментів проявився на тлі падіння вмісту ROS.

Антизапальний ефект трансплантованих ММСК-ЖТ у мишей із моделлю паркінсонізму може бути пов'язаний із пригніченням активації клітин мікроглії в головному мозку і захисті дофамінергічних нейронів від апоптозу²⁶.

²² Wojtas E., Zachwieja A., Zwyrzykowska A. et al. The application of mesenchymal progenitor stem cells in the reduction of oxidative stress in animals. *Turk J Biol.* 2017. V. 41. P. 12-19. DOI: 10.3906/biy-1603-13.

Angeloni C., Gatti M., Prata C. et al. Role of mesenchymal stem cells in counteracting oxidative stress-related neurodegeneration. *Int J Mol Sci.* 2020. V. 21, № 3299. DOI: 10.3390/ijms21093299.

Munoz M.F., Arguelles S., Medina R. et al. Adipose-derived stem cells decreased microglia activation and protected dopaminergic loss in rat lipopolysaccharide model. *J Cell Physiol.* 2019. V. 234. P. 13762-13772. DOI: 10.1002/jcp.28055.

²³ Wojtas E., Zachwieja A., Zwyrzykowska A. et al. The application of mesenchymal progenitor stem cells in the reduction of oxidative stress in animals. *Turk J Biol.* 2017. V. 41. P. 12-19. DOI: 10.3906/biy-1603-13.

²⁴ Wojtas E., Zachwieja A., Zwyrzykowska A. et al. The application of mesenchymal progenitor stem cells in the reduction of oxidative stress in animals. *Turk J Biol.* 2017. V. 41. P. 12-19. DOI: 10.3906/biy-1603-13

Angeloni C., Gatti M., Prata C. et al. Role of mesenchymal stem cells in counteracting oxidative stress-related neurodegeneration. *Int J Mol Sci.* 2020. V. 21, № 3299. DOI: 10.3390/ijms21093299.

²⁵ Chierchia A., Chirico N., Boeri L. et al. Secretome released from hydrogel-embedded adipose mesenchymal stem cells protects against the Parkinson's disease related toxin 6-hydroxydopamine. *Eur J Pharm Biopharm.* 2017. V. 121. P. 113-120. DOI: 10.1016/j.ejpb.2017.09.014.

²⁶ Munoz M.F., Arguelles S., Medina R. et al. Adipose-derived stem cells decreased microglia activation and protected dopaminergic loss in rat lipopolysaccharide model. *J Cell Physiol.* 2019. V. 234. P. 13762-13772. DOI: 10.1002/jcp.28055.

Отже, позитивний ефект ММСК-ЖТ від мишей-донорів лінії 129/Sv на рухову активність мишей із МФТП-моделлю паркінсонізму співпадає зі значною активацією антиоксидантних ферментів (СОД і ГР) у головному мозку. Менш виражений вплив ММСК-ЖТ від мишей-донорів лінії FVB/N на поведінку дослідних тварин спостерігається на тлі активації лише СОД. Зменшення виразності терапевтичного ефекту трансплантованих алогенних ММСК-ЖТ частково можна пояснити особливостями їх біологічних властивостей. Зокрема, у мишей лінії 129/Sv і FVB/N є відмінності проліферативного потенціалу ММСК, спектру продукованих ними цитокінів, стану рецепторного апарату на клітинах і відповіді на регуляторні впливи²⁷.

Таким чином, гаплотип Н-2 донорів ММСК-ЖТ має значення для ефективності їх впливу на поведінку і активність антиоксидантних ферментів у головному мозку мишей-реципієнтів із МФТП-моделлю паркінсонізму.

ВИСНОВКИ

1. У мишей лінії 129/Sv із МФТП-моделлю паркінсонізму спостерігається порушення моторних і немоторних поведінкових реакцій, підвищення в головному мозку вмісту малонового діальдегіду та падіння активності антиоксидантних ферментів.

2. Трансплантація мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин із жирової тканини від мишей-донорів лінії 129/Sv (сингенні клітини) приводить до підвищення рухової функції та активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутаза, глутатіонредуктаза) у головному мозку мишей із моделлю паркінсонізму.

3. Трансплантація мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин із жирової тканини від мишей-донорів лінії FVB/N (алогенні клітини) приводить до менш виражених, ніж від мишей-донорів лінії 129/Sv, позитивних змін поведінки і стану антиоксидантного захисту головного мозку мишей із паркінсонізмом (активація тільки супероксиддисмутази).

4. Особливості проявів терапевтичного ефекту трансплантованих ММСК-ЖТ від донорів із різним гаплотипом Н-2 можуть бути підґрунтям для розробки індивідуалізованих підходів до клітинної терапії паркінсонізму

²⁷Лабунець І.Ф., Родніченко А.Є. Стан імунної та ендокринної систем у мишей із різним гаплотипом Н-2 та його потенційний зв'язок із проявами експериментального паркінсонізму. *Фізіологічний журнал*. 2024. Т. 70, № 3. С. 42-50. <https://doi.org/10.15407/fz70.03.042>

АНОТАЦІЯ

Трансплантація мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини (ММСК-ЖТ) при хворобі Паркінсона / паркінсонізмі є перспективним напрямком в терапії цієї патології. Ефект трансплантації клітин може залежати від генотипу донора.

Мета роботи – порівняти вплив трансплантації ММСК-ЖТ від мишей-донорів ліній, які відрізняються гаплотипом за системою Н-2, на показники поведінки і оксидативного стресу в головному мозку мишей із експериментальною моделлю паркінсонізму.

Методи. Мишам лінії 129/Sv (гаплотип Н-2b) віком 5-6 міс (дорослі) одноразово вводили нейротоксин 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин (МФТП), а через 17 діб – у хвостову вену ММСК-ЖТ від дорослих мишей-донорів лінії 129/Sv або дорослих мишей-донорів лінії FVB/N (гаплотип Н-2q) у дозі 700 тис. клітин. Оцінювали показники поведінки в тестах «відкрите поле», на ригідність і ротарод тести; в головному мозку вимірювали вміст малонового діальдегіду (МДА), активність антиоксидантних ферментів. Дослідження проводили через три тижні після трансплантації ММСК-ЖТ.

Результати. У мишей лінії 129/Sv після введення МФТП число квадратів, стійок, довжина тіла і кроку суттєво менше, ніж в інтактній групі, а м'язовий тонус вище; в головному мозку зростає вміст МДА і падає активність супероксиддисмутази (СОД). Після трансплантації мишам із моделлю паркінсонізму ММСК-ЖТ від мишей-донорів лінії 129/Sv (сингенні клітини) показники довжини тіла і кроку суттєво підвищуються, проте не до рівня інтактних мишей; у головному мозку зростає активність СОД і глутатіонредуктази. Після введення ММСК-ЖТ від мишей-донорів лінії FVB/N (алогенні клітини) спостерігається суттєве збільшення тільки довжини тіла і активності СОД в головному мозку мишей із моделлю паркінсонізму.

Висновки. Позитивний ефект трансплантації ММСК-ЖТ на поведінку і стан антиоксидантного захисту головного мозку мишей із МФТП-моделлю паркінсонізму залежать від гаплотипу Н-2 донора і більш виражений при трансплантації сингенних клітин. Результати можуть бути підґрунтям для розробки індивідуалізованих підходів до клітинної терапії паркінсонізму.

Література

1. Sulzev D., Surmeiter D.J. Neuronal vulnerability, pathogenests and Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013. V. 28. P. 715-724. DOI: 10.1002/mds.25095.

2. Karaban I.N., Shalenko O.V., Kryzhanovskiy S.A. Non-motor symptoms in clinical picture of the Parkinson's disease. *International*

neurological journal. 2017. V.1. P. 58-63. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.1.87.2017.96538>

3. Guo J-D., Zhao X., Li Y. et al. Damage to dopaminergic neurons by oxidative stress in Parkinson's disease. *Int J Mol Med*. 2018. V. 41. P. 1817-1825. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3406.

4. Wang Q., Liu Y., Zhou J. Neuroinflammation in Parkinson's disease and its potential as therapeutic target. *Translat Neurodegenerat*. 2015. V. 4, № 19. DOI: 10.1186/s40035-015-0042-0.

5. Li Zh., Cheung H-H. Stem cell-based therapies for Parkinson disease. *Int J Mol Sci*. 2020. V. 21, № 8060. DOI: 10.3390/ijms21218060.

6. Wojtas E., Zachwieja A., Zwyrzykowska A. et al. The application of mesenchymal progenitor stem cells in the reduction of oxidative stress in animals. *Turk J Biol*. 2017. V. 41. P. 12-19. DOI: 10.3906/biy-1603-13.

7. Laroni A., Kerlego de Rosbo N., Uccelli A. Mesenchymal stem cells for the treatment of neurological diseases: immunoregulation beyond neuroprotection. *Immunology letter*. 2015. V. 168. P. 183-190. DOI: 10.1016/j.imlet.2015.08.007.

8. Choi E.W., Shin H.S., Park S.Y. et al. Characteristics of mouse adipose tissue-derived stem cells and therapeutic comparisons between syngeneic and allogeneic adipose tissue-derived stem cells transplantation in experimental autoimmune thyroiditis. *Cell transplantation*. 2014. V. 23. P. 873-887. DOI: 10.3727/096368913X664586.

9. Cunpa F.F., Martins L., Martin P. et al. A comparison of the reparative and angiogenic properties of mesenchymal stem cells derived from the bone marrow of Balb/c and C57Bl/6 mice in a model of limb ischemia. *Stem cell research & Therapy*. 2013. V. 4, № 86. DOI: 10.1186/scrt245.

10. Zeng X.S., Geng W.Sh., Jia J.J. Neurotoxin-induced animal models of Parkinson disease: pathogenic mechanism and assessment. *ASN Neuro*. 2018. V. 10. P. 1-15. DOI: 10.1177/175909/418777438.

11. Meredith G.E., Rademacher D.J. MPTP mouse models of Parkinson's disease: an update. *J Parkinsons Dis*. 2011. V. 1, № 1. P. 19-33. DOI: 10.3233/JPD-2011-11023.

12. Labunets I.F. Behavioral features in the mice of various strains and sex with model of parkinsonism. *Fiziol Zh*. 2020. V. 66, № 1. P. 18-24. <https://doi.org/10.15407/fz66.01.018>

13. Labunets I.F., Utko N.A., Savosko S.I. et al. 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 journal*. 2020. V. 3, № 16. P. 7-15. DOI: 10.22141/2224-0713.16.3.2020.203444.

14. Prockop D.J., Phinney D.G., Bunnell B.A. Mesenchymal stem cells: method and protocols. *Totowa NJ: Humana Press*. 2008. V. 192.

15. Dominici M., LeBlanc K., Mueller I. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International society for cellular therapy position statement. *Cytoterapy*. 2006. V. 8. P. 315-317. DOI: 10.1080/14653240600855905

16. Fernagut P.O., Diguët E., Labattu B. et al. A simple method to measure stride length as an index of nigrostriatal dysfunction in mice. *J Neurosci Methods*. 2002. V. 113, № 2. P. 123-130. DOI: 10.1016/s0165-0270(01)00485-x.

17. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978. V. 86, № 1. P. 271-278. DOI: 10.1016/0003-2697(78)90342-1.

18. Labunets I.F., Panteleymonova T.M., Utko N.O. et al. 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 Journal*. 2023. Vol.19, №. 4. P. 119-128. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.19.4.2023.1010>

19. Li K., Li X., Shi G. et al. Effectiveness and mechanisms of adipose-derived stem cell therapy in animal models of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Translat Neurodegenerat*. 2021. V. 10, № 14. DOI: 10.1186/s40035-021-00238-1.

20. Park H., Chang K.A. Therapeutic Potential of Repeated Intravenous Transplantation of Human Adipose-Derived Stem Cells in Subchronic MPTP-induced Parkinson's Disease Mouse Model. *Int J Mol Sci*. 2020. V. 21, № 8129. DOI: 10.3390/ijms21218129.

21. Chi K., Fu R-H., Huang Yu-Ch. et al. Adipose-derived Stem Cells Stimulated with n-Butylidenephthalide Exhibit Therapeutic Effects in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Cell Transplantation*. 2018. V. 27. P. 456-470. DOI: 10.1177/0963689718757408.

22. Angeloni C., Gatti M., Prata C. et al. Role of mesenchymal stem cells in counteracting oxidative stress-related neurodegeneration. *Int J Mol Sci*. 2020. V. 21, № 3299. DOI: 10.3390/ijms21093299.

23. Munoz M.F., Arguelles S., Medina R. et al. Adipose-derived stem cells decreased microglia activation and protected dopaminergic loss in rat lipopolysaccharide model. *J Cell Physiol*. 2019. V. 234. P. 13762-13772. DOI: 10.1002/jcp.28055.

24. Chierchia A., Chirico N., Boeri L. et al. Secretome released from hydrogel-embedded adipose mesenchymal stem cells protects against the Parkinson's disease related toxin 6-hydroxydopamine. *Eur J Pharm Biopharm*. 2017. V. 121. P. 113-120. DOI: 10.1016/j.ejpb.2017.09.014.

25. Лабунець І.Ф., Родніченко А.Є. Стан імунної та ендокринної систем у мишей із різним гаплотипом Н-2 та його потенційний зв'язок із

проявами експериментального паркінсонізму. *Фізіологічний журнал*. 2024. Т. 70, № 3. С. 42-50. <https://doi.org/10.15407/fz70.03.042>

Information about the authors:

Labunets Irina Fedorivna,

<https://orcid.org/0009-0000-3854-0959>

Doctor of Medical Sciences,

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”

5, Sviatoslava Khorobroho ave., Kyiv, 03151, Ukraine

Panteleymonova Tetiana Mykolayivna,

<https://orcid.org/0000-0002-3606-5805>

Senior Research Scientist, 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”

5, Sviatoslava Khorobroho ave., Kyiv, 03151, Ukraine

Kharkevych Yuriy Oleksandrovysh,

<https://orcid.org/0000-0002-7877-8272>

Leading Research Scientist, 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”

5, Sviatoslava Khorobroho ave., Kyiv, 03151, Ukraine