

УДК 612.67.018:612.017.4

DOI: 10.22141/2224-0713.4.98.2018.139434

Лабунец І.Ф.

ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины», г. Киев, Украина

Изменения эндокринной функции тимуса, макрофагов и Т-лимфоцитов головного мозга у мышей разного возраста после введения нейротоксина купризонна и цитокина

Резюме. Актуальность. Известно участие макрофагов и Т-лимфоцитов в повреждении нервных клеток головного мозга. Гормон тимуса тимулин проявляет иммуномодулирующие и противовоспалительные свойства. Возрастные изменения активности макрофагов, Т-лимфоцитов головного мозга и тимуса могут влиять на их ответ на действие токсических и регуляторных факторов. **Цель** — исследование изменений уровня в крови тимулина, количества макрофагов и Т-лимфоцитов в головном мозге молодых и стареющих мышей, получавших нейротоксин купризон и рекомбинантный лейкопения-ингибирующий фактор человека (rhLIF). **Материалы и методы.** Мыши линии 129/Sv получали с пищей ежедневно купризон в течение 3 недель. С 8-го дня купризонной диеты ежедневно вводили rhLIF в дозе 50 мг/кг. **Результаты.** Повышение уровня тимулина в крови через 7 дней приема купризонна более выражено у молодых мышей, чем у стареющих. Через 3 недели купризонной диеты уровень гормона снижался только у молодых мышей. Количество макрофагов в головном мозге молодых мышей повышалось уже через 7 дней приема купризонна, а у стареющих мышей — только через 3 недели. У мышей обеих возрастных групп с купризонной диетой (особенно у молодых) в головном мозге увеличивалось число Т-клеток. Инъекции rhLIF повышали уровень в крови тимулина и снижали количество Т-клеток в головном мозге молодых мышей, тогда как у стареющих мышей наблюдалось снижение количества макрофагов в головном мозге. **Выводы.** Влияние как купризонна, так и rhLIF на эндокринную функцию тимуса и количество макрофагов и Т-лимфоцитов в головном мозге мышей зависит от возраста.

Ключевые слова: тимулин; макрофаги и Т-клетки головного мозга; купризон; лейкопения-ингибирующий фактор; возраст

Введение

Одними из патогенетических факторов повреждений олигодендроцитов и нейронов при демиелинизирующих и нейродегенеративных заболеваниях являются реактивные радикалы и провоспалительные цитокины (туморнекротический фактор (TNF- α), интерферон-гамма (IFN- γ)), которые продуцируют активированные клетки микроглии/макрофаги [1]. Источником провоспалительных цитокинов также могут быть Т-лимфоциты, инфильтрирующие головной мозг при

этих патологиях [2]. Дифференцировка Т-лимфоцитов и активность их субпопуляций находятся под регулирующим влиянием одного из гормонов тимуса — высокоактивного тимулина [3, 4]. Противовоспалительный эффект тимулина у животных с экспериментальной моделью повреждения головного мозга связан с угнетением синтеза провоспалительных цитокинов [5].

С возрастом наблюдается активация клеток микроглии/макрофагов головного мозга, нарушается функционирование Т-клеточного и макрофагального зве-

ньев иммунной системы, снижается в крови уровень тимулина, что может отразиться на эффективности восстановления нейрогенеза после действия повреждающих факторов [6–10]. С возрастом в головном мозге также снижается экспрессия таких регуляторных факторов, как цитокины [11]. Известно важное значение цитокинов для репаративной регенерации структур центральной нервной системы (ЦНС) [11].

Лейкемия-ингибирующий фактор (LIF), как цитокин с нейротрофическими свойствами, влияет на рост нейтральных стволовых клеток (НСК), пролиферацию предшественников олигодендроцитов, регенераторный потенциал мотонейронов [12]. Ранее нами показано, что положительный эффект экзогенного рекомбинантного LIF человека (rhLIF) на поврежденную структуру нейронов ЦНС у мышей с экспериментальной токсической (купризоновой) моделью демиелинизации зависит от их возраста [10]. Исследование связи изменений макрофагов, Т-лимфоцитов в головном мозге и тимулина в крови мышей разного возраста в условиях влияния нейротоксина и LIF позволит установить возрастные особенности не только патогенетических факторов токсического повреждения нервных клеток, но и путей нейропротекторного влияния цитокина. Полученные результаты таких исследований в перспективе могут оказаться полезными при обосновании новых подходов к терапии демиелинизирующих заболеваний в стареющем организме. В связи с этим вызывает интерес рассеянный склероз, который в настоящее время все чаще встречается в возрасте старше 45 лет, имеет в основном токсическую и инфекционную природу и более тяжелое клиническое течение, чем у молодых людей [13, 14].

Цель: провести сравнительный анализ изменений уровня в крови тимулина и количества макрофагов и Т-лимфоцитов в головном мозге мышей разного возраста, получавших нейротоксин купризон и инъекции LIF.

Материалы и методы

Животные. Работу выполняли на мышах-самках линии 129/Sv (генотип H-2b) в возрасте 3–5 мес. ($n = 32$) и 15–17 мес. ($n = 32$), полученных из вивария ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины». Мыши находились в стандартных условиях вивария при фиксированном световом режиме 12 : 12. Биологический материал получали в утренние часы под эфирным наркозом. Все работы проводили с соблюдением Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и другой научной целью (Страсбург, 1986), а также Закона Украины «О защите животных от жестокого поведения» (от 21.02.2006 г.).

Модели. Для воспроизведения экспериментальной токсической модели рассеянного склероза у мышей использовали нейротоксин купризон [бис(циклогексанон)-оксальдигидразон] (Sigma, США). Купризон — это медный хелатор, который в первую очередь повреждает митохондрии зрелых олигоден-

дроцитов, вызывая их апоптоз [15]. Общими чертами экспериментальной купризониндуцированной модели рассеянного склероза и варианта этого заболевания у человека, связанного с первичной олигодендропатией (III–IV тип патологического повреждения при рассеянном склерозе), являются [15]: а) первичное поражение зрелых олигодендроцитов, их гибель и, как результат, демиелинизация аксонов нейронов; б) инфилтрат в области поврежденных содержит в основном клетки микроглии/макрофаги и в меньшей степени Т-лимфоциты; в) набухание аксонов с гиперполяризацией нейрофиламентов; г) оксидативный стресс и усиление продукции провоспалительных цитокинов в головном мозге; д) демиелинизация мозолистого тела, гиппокампа, базальных ганглиев вызывает развитие характерных двигательных, когнитивных и эмоциональных проявлений; е) возможность развития острой и хронической демиелинизации, а также ремиелинизации; ж) защитный эффект половых гормонов при данной патологии; з) отсутствует повреждение миелина аутоиммунного характера.

Экспериментальные группы. Купризон давали мышам возрастных групп 3–5 мес. (молодые) и 15–17 мес. (стареющие) по адаптированной нами схеме, позволяющей получить у них не только демиелинизирующий, но и нейродегенеративный эффекты: из расчета 0,2 % от суточного корма, ежедневно, в течение трех недель [16].

В экспериментах использовали rhLIF, методика получения которого и оценки биологической активности были описаны ранее [10]. RhLIF вводили опытным мышам разного возраста по разработанной нами ранее схеме: с 8-го дня приема купризона, внутривентриально, одна инъекция ежедневно, по 50 мкг/кг [17]. Контрольные группы мышей получали купризон и инъекции 0,9% раствора хлорида натрия. Исследования проводили через 7 и 21 день после начала приема купризона. В работе также использовали интактных мышей, находящихся на обычном рационе вивария.

Методы. Эндокринную функцию тимуса оценивали по уровню тимулина в сыворотке крови [4]. Метод основан на восстановлении тимическим гормоном чувствительности спонтанных розеткообразующих клеток селезенки молодых тимэктомированных мышей к азатиоприну (Sigma, США). Результаты выражали в виде \log_2 титра гормона.

При фенотипировании клеток головного мозга использовали моноклональные антитела (МАТ) к CD3 и CD4, конъюгированные с флюорохромами (Becton Dickinson, США). Согласно рекомендациям фирмы-производителя к гомогенату головного мозга ($2 \cdot 10^5$ клеток/50 мкл) добавляли соответствующие МАТ в разведении 1 : 50. Измерения проводили на лазерном проточном цитофлюориметре-сортере BD FACSAria (Becton Dickinson, США) с помощью программы BD FACS Diva 6.1.

При оценке функционального состояния макрофагов клеточную суспензию адгезированных к пластику клеток головного мозга культивировали с суспензией латекса в течение 45 мин при 37 °C и 5% CO₂ [10, 18].

Затем эти клетки фиксировали и окрашивали по Романовскому — Гимзе. В световом микроскопе подсчитывали не менее 200 макрофагов и определяли фагоцитарное число (количество частиц латекса, поглощенное одним макрофагом) и фагоцитарный индекс (процент фагоцитирующих клеток).

Лейкоцитарную формулу периферической крови оценивали общепринятым методом [18].

Статистический анализ результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента [19]. Различие между исследуемыми показателями считали статистически достоверным при значении $P < 0,05$.

Результаты

Макрофаги и Т-лимфоциты в головном мозге мышей разного возраста после введения купризон и rhLIF.

Нами установлено, что количество и активность макрофагов в головном мозге молодых мышей через 7 дней приема купризон выше, чем у интактных животных, и остаются повышенными через 3 недели эксперимента (рис. 1, табл. 1, 2). У мышей в возрасте 15–17 мес. количество активных макрофагов повышается только через 3 недели приема купризон (табл. 1). После инъекций rhLIF значения исследуемых показателей не изменяются у молодых мышей, однако снижаются у мышей в возрасте 15–17 мес.

По данным Guillemin и Brew [20], при повреждении головного мозга одним из источников макрофагов могут быть моноциты периферической крови, о чем свидетельствует снижение их количества в этих условиях. Нами не обнаружено существенных изменений коли-

чества циркулирующих моноцитов у молодых мышей через 3 недели приема купризон. Мы не исключаем возможности изменений значений показателя в ранние сроки действия нейротоксина (через 7 дней). У мышей в возрасте 15–17 мес. через 3 недели приема купризон количество моноцитов в периферической крови меньше, чем в интактной группе. После введения rhLIF значения показателя не изменяются у молодых опытных мышей и повышаются до уровня интактной группы у мышей старшего возраста.

У мышей обеих возрастных групп через 3 недели приема купризон количество клеток с фенотипом $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD3^+4^+$ выше, чем у интактных мышей ($p < 0,05$), при этом изменения значений показателя выражены сильнее у молодых животных (табл. 2). Так, у опытных мышей в возрасте 3–5 мес. число $CD3^+$ -клеток выше в 2,7 раза, а у мышей в возрасте 15–17 мес. — в 1,9 раза по сравнению с группами интактных мышей. Более значительное повышение числа $CD4^+$ -клеток у молодых мышей с купризонной диетой приводит к появлению возрастной разницы между значениями показателя (табл. 2). У молодых мышей после инъекций rhLIF количество клеток с фенотипом $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD3^+4^+$ существенно снижается, однако остается выше, чем в интактной группе. У мышей старшего возраста после инъекций цитокина мы не наблюдали изменений числа клеток с указанным выше фенотипом.

Эндокринная функция тимуса у мышей разного возраста, получавших купризон и rhLIF. Нами установлено, что у молодых мышей через 7 дней приема купри-

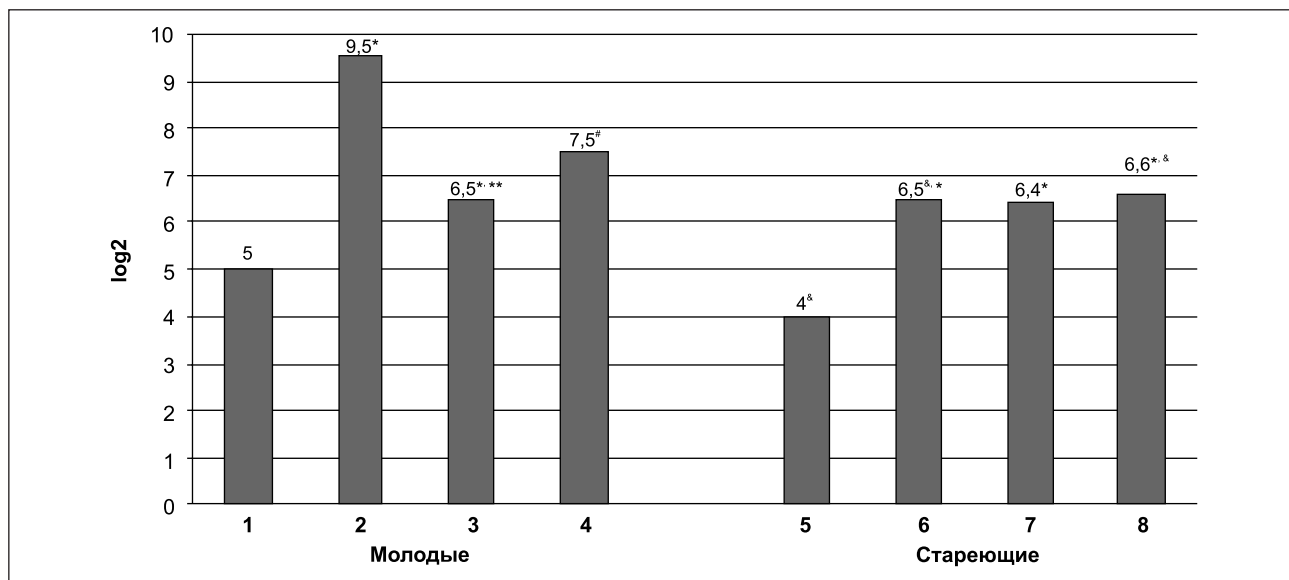


Рисунок 1. Уровень тимулина в крови молодых (3–5 мес.) и стареющих (15–17 мес.) мышей, получавших купризон и рекомбинантный лейкомиа-ингибирующий фактор человека, $M \pm m$

Примечания: группы мышей: 1, 5 — интактные; 2, 6 — получавшие купризон в течение 7 дней; 3, 7 — получавшие купризон в течение 3 недель; 4, 8 — получавшие 3-недельный курс купризон и инъекции rhLIF; в каждой группе восемь животных; * — достоверность различий с параметрами интактных мышей по критерию Стьюдента, $p < 0,05$; ** — достоверность различий с параметрами через 7 дней приема купризон по критерию Стьюдента, $p < 0,05$; # — достоверность различий с параметрами через 3 недели приема купризон по критерию Стьюдента, $p < 0,05$; & — достоверность различий с параметрами возрастной группы 3–5 мес. по критерию Стьюдента, $p < 0,05$.

Таблица 1. Показатели состояния макрофагов в головном мозге и количества моноцитов в периферической крови мышей экспериментальных групп, $M \pm m$

Экспериментальная группа	Фагоцитарный индекс, %	Фагоцитарное число, усл.ед.	Моноциты, %
3–5 мес.			
Интактные	89,12 ± 1,72	3,57 ± 0,16	10,66 ± 3,30
Купризон 7 дней	95,20 ± 0,86*	4,75 ± 0,21*	–
Купризон 3 недели	94,66 ± 1,67*	3,44 ± 0,71	12,80 ± 2,11
Купризон + rhLIF	94,31 ± 1,60*	3,68 ± 0,32**	13,30 ± 3,11
15–17 мес.			
Интактные	84,51 ± 0,90 ^а	4,32 ± 0,59 ^а	14,00 ± 2,24
Купризон 7 дней	86,20 ± 1,20 ^а	4,50 ± 0,29	–
Купризон 3 недели	97,51 ± 0,89*,**	5,65 ± 0,10*,**,&	8,33 ± 1,58*
Купризон + rhLIF	91,66 ± 2,11*,**,#	3,93 ± 0,08 [#]	15,50 ± 4,41

Примечания: в каждой группе восемь животных; * – достоверность различий с параметрами интактных мышей по критерию Стьюдента, $p < 0,05$; ** – достоверность различий с параметрами через 7 дней приема купризона по критерию Стьюдента, $p < 0,05$; # – достоверность различий с параметрами через 3 недели приема купризона по критерию Стьюдента, $p < 0,05$; & – достоверность различий с параметрами возрастной группы 3–5 мес. по критерию Стьюдента, $p < 0,05$.

зона уровень тимулина в крови в 16 раз выше ($p < 0,05$), чем в интактной группе (рис. 1). Через 3 недели его значения уменьшаются по сравнению с 7-дневным сроком ($p < 0,05$), однако по-прежнему существенно превышают таковые у интактной группы. Уровень тимулина в крови мышей в возрасте 15–17 мес. через 7 дней приема купризона в 4 раза выше, чем в интактной группе ($p < 0,05$), и практически остается таковым через 3 недели исследований (рис. 1).

Уровень тимулина в крови молодых мышей, получающих купризон вместе с инъекциями rhLIF, выше, чем в группе только с купризоном ($p < 0,05$), но у мышей старшего возраста различий между значениями показателя этих экспериментальных групп не обнаружено ($p > 0,05$).

Итак, особенности изменений количества Т-лимфоцитов и макрофагов в головном мозге,

уровня тимулина в крови мышей, получавших нейротоксин купризон и rhLIF, зависят от возраста мышей.

Обсуждение

Иммунные клетки головного мозга и нейродегенерация. В наших работах, а также в исследованиях других авторов показано, что у молодых животных, получавших купризон, изменения структуры олигодендроцитов и нейронов головного мозга связаны с развитием оксидативного стресса, снижением активности антиоксидантных ферментов и повышением продукции провоспалительных цитокинов клетками микроглии/макрофагами [10, 15]. В этом эксперименте нами установлена связь между длительностью активации макрофагов в головном мозге опытных мышей и выраженностью изменений структуры нейронов ЦНС (умеренные

Таблица 2. Количество клеток с фенотипом $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD3^+4^+$ в головном мозге мышей экспериментальных групп, $M \pm m$

Экспериментальная группа	$CD3^+$, %	$CD4^+$, %	$CD3^+4^+$, %
3–5 мес.			
Интактные	0,7 ± 0,1	2,80 ± 0,59	0,40 ± 0,11
Купризон	1,90 ± 0,18*	32,40 ± 4,77*	1,76 ± 0,23*
Купризон + rhLIF	1,24 ± 0,20*,#	17,43 ± 2,47*,#	1,23 ± 0,20*,#
15–17 мес.			
Интактные	1,20 ± 0,20 ^а	2,20 ± 0,19	0,20 ± 0,03
Купризон	2,30 ± 0,39*	19,34 ± 3,50*,&	1,14 ± 0,20*,&
Купризон + rhLIF	1,91 ± 0,20*,&	18,40 ± 3,91*	0,96 ± 0,30*

Примечания: в каждой группе восемь животных; * – достоверность различий с параметрами интактных мышей по критерию Стьюдента, $p < 0,05$; # – достоверность различий с параметрами через 3 недели приема купризона по критерию Стьюдента, $p < 0,05$; & – достоверность различий с параметрами возрастной группы 3–5 мес. по критерию Стьюдента, $p < 0,05$.

повреждения нейронов через 7 дней приема купризона и деструктивные — через 3 недели) [10, 17].

По мнению Praet и соавторов [15], для развития повреждений нервных клеток важно не только увеличение числа активированных клеток микроглии/макрофагов, но и их взаимодействие с Т-лимфоцитами. В норме количество Т-лимфоцитов в головном мозге молодых животных незначительно, однако существенно повышается при его патологии [2]. При этом прохождении Т-лимфоцитов через гематоэнцефалический барьер способствуют провоспалительные цитокины (TNF- α , IFN- γ , интерлейкин-1 β), которые продуцируют клетки активированной микроглии и макрофаги [2]. Указанные выше цитокины усиливают экспрессию адгезивных молекул на микроваскулярных эндотелиальных клетках. Мы не исключаем того, что повышение активности макрофагов у молодых мышей в ранний период действия купризона способствует последующему увеличению в головном мозге числа CD3⁺-Т-клеток.

Нами установлено, что в головном мозге молодых мышей с купризоновой диетой растет также число CD4⁺-клеток. Известно, что маркер CD4 свойственен не только Т-хелперам, но и моноцитам, макрофагам [21]. Вместе с тем повышение в головном мозге молодых опытных мышей числа CD3⁺4⁺-клеток дает нам основание говорить о повышении под влиянием купризона количества Т-хелперов. По данным Kang и соавторов [21], Т-хелперы (Th17) играют роль в усилении купризониндуцированной демиелинизации в результате продукции IL-17, который стимулирует синтез провоспалительных цитокинов астроцитами [21].

Возрастные изменения самих нервных клеток, макрофагов и Т-лимфоцитов головного мозга могут отличаться на их реакции на действие повреждающих факторов.

Так, с возрастом снижаются нейрогенез и число незрелых нейронов в головном мозге, повышаются количество Т-лимфоцитов, активность клеток микроглии, проницаемость гематоэнцефалического барьера и экспрессия астроцитами адгезивных молекул ICAM-1 (intercellular adhesion molecule) и хемокинов (MCP-1 — monocyte chemotactic protein 1, MIP-1 α — macrophage inflammatory protein 1 α) [6, 7, 10]. В нашем эксперименте показано, что для мышей в возрасте 15–17 мес. характерна отсроченная активация макрофагов головного мозга под влиянием купризона. По-видимому, такая реакция макрофагов у стареющих мышей может быть одной из причин менее выраженного повышения у них числа CD3⁺-клеток и нарушений структуры нейронов ЦНС по сравнению с молодыми животными. Действительно, нами установлено, что после приема купризона в головном мозге стареющих мышей число нейронов с деструктивными изменениями в 2 раза меньше, чем у молодых животных [10]. опыты Xu и соавторов [22] на стареющих животных с моделью воспалительной нагрузки подтвердили важность первоначальной активации клеток микроглии/макрофагов для последующей инфильтрации головного мозга Т-клетками.

Нами также показано значение возраста для особенностей изменений количества макрофагов и Т-лимфоцитов после введения rhLIF. Так, в головном мозге молодых опытных мышей, получающих цитокин, снижается количество CD3⁺-, CD4⁺- и CD3⁺4⁺-клеток. Известна способность LIF уменьшать образование Th17 и замедлять развитие экспериментального рассеянного склероза [23]. Хотя после инъекций rhLIF количество макрофагов в головном мозге молодых опытных мышей оставалось повышенным, изменения структуры нейронов были положительными [10]. Мы не исключаем возможности смены под влиянием цитокина фенотипа макрофагов с провоспалительного на противовоспалительный, регенераторный. В исследованиях Praet и соавторов [15] показана такая возможность у молодых мышей с купризоновой диетой. В реализации нейропротекторного эффекта LIF важно также его стимулирующее влияние на образование олигодендроцитов и синтез ими миелина, дифференцировку НСК в нейрональном направлении, антиоксидантное и антиапоптотическое действие [10–12, 24].

Вместе с тем у стареющих мышей снижение доли патологических нейронов после инъекций rhLIF было менее существенным, чем у молодых животных [10]. Это может быть связано не только с особенностями баланса макрофагов и Т-лимфоцитов в головном мозге таких мышей, но и с возрастными изменениями нейрогенеза и чувствительности нервных клеток к действию регуляторных факторов [6].

Гормоны тимуса и иммунные клетки головного мозга. Активация эндокринной функции тимуса у мышей экспериментальных групп разного возраста — одно из важных звеньев изменений баланса макрофагов и Т-лимфоцитов в головном мозге. Так, у молодых мышей через 7 дней приема купризона наблюдался одновременный рост уровня тимулина в крови и количества активных макрофагов в головном мозге, а через 3 недели — уменьшение значений этих показателей. Показано влияние тимулина на структуры головного мозга и функционирование макрофагов [5, 25]. Снижение уровня тимулина в крови молодых мышей после 3-недельного приема купризона, скорее всего, связано с его повреждающим действием на клетки тимуса и повышением в крови уровня глюкокортикоидов, способных угнетать эндокринную функцию тимуса [9, 26, 27].

У стареющих мышей в ранний период действия купризона менее значительный рост уровня тимулина сочетался с отсутствием изменений количества активных макрофагов в головном мозге, тогда как повышение последних через 3 недели приема нейротоксина наблюдалось на фоне не снижающейся под действием последнего функции тимуса. Особенности изменений уровня тимулина у опытных стареющих мышей можно объяснить возрастным нарушением эндокринной функции тимуса, а также снижением количества и/или аффинитета рецепторов к глюкокортикоидам в железе [9].

Возрастные различия изменений эндокринной функции тимуса проявляются и в условиях введения rhLIF опытным мышам. Повышение под влиянием цитокина уровня тимулина в крови молодых мышей, скорее всего, связано со снижением концентрации в крови глюкокортикоидов, тогда как отсутствие его изменений в крови стареющих мышей — с возрастными изменениями чувствительности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы к влиянию регуляторных факторов (цитокинов) [10, 28].

Таким образом, возрастные особенности взаимоотношений количества активных макрофагов и Т-лимфоцитов в головном мозге мышей, с одной стороны, и уровня тимулина в крови — с другой могут способствовать развитию возрастных различий в нарушении структуры нейронов головного мозга в условиях как действия нейротоксина купризона, так и влияния цитокина (LIF). Представляется перспективным изучение возможности применения биологически активных факторов тимуса у стареющих животных с купризонной моделью рассеянного склероза.

Выводы

1. При экспериментальной купризониндуцированной модели рассеянного склероза баланс клеточных провоспалительных факторов (макрофаги и Т-лимфоциты головного мозга) и противовоспалительных факторов (тимулин в крови) имеет возрастные особенности. Так, повышение числа CD3⁺-, CD4⁺- и CD3⁺CD4⁺-клеток в головном мозге и уровня тимулина в крови стареющих мышей, получавших купризон, менее выражено, чем у молодых животных, а активация макрофагов имеет отсроченный характер.

2. Влияние экзогенного rhLIF на исследуемые показатели у мышей с купризонной диетой зависит от возраста: у молодых мышей — снижение количества Т-лимфоцитов в головном мозге и повышение уровня в крови тимулина, а у стареющих мышей — снижение количества активных макрофагов в головном мозге.

3. Эффективность нейропротекторной терапии демиелинизирующей и нейродегенеративной патологии нервной системы (рассеянный склероз) с использованием LIF различается у животных разного возраста.

Благодарность: к.б.н. А.Е. Родниченко за помощь при проведении исследований и к.б.н. С.Е. Рымарь за любезно предоставленный цитокин.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии какого-либо конфликта интересов при подготовке данной статьи.

Список литературы

1. Абдурасулова И.Н., Клименко В.М. Роль иммунных и глиальных клеток в процессах нейродегенерации // *Мед. академ. журнал.* — 2011. — 11(1). — С. 12-29.
2. Gonzalez H., Pacheco R. T-cell-mediated regulation of neuroinflammation involved in neurodegenerative diseases // *J. Neuroinflammation.* — 2014. — 11(201). — 11 p.

3. Csaba G. The immunoendocrine thymus as a pacemaker of lifespan // *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* — 2016. — 63(2). — P. 139-158.

4. Bach J.F., Bach M.A., Blanot D. et al. Thymic serum factor (FTS) // *Bull. Inst. Pasteur (Paris).* — 1978. — 76. — P. 325-398.

5. Haddad J.J., Hanbali L.H. The anti-inflammatory and immunomodulatory activity of thymulin peptide is NF- κ B dependent and involves the downregulation of I κ B- α // *Am. J. Med. Biol. Res.* — 2013. — 1(2). — P. 41-49.

6. Hamilton L.K., Joppe S.E., Cochard L., Fernandes K.J. Aging and neurogenesis in the adult forebrain: what we have learned and where we should go from here // *Eur. J. Neurosci.* — 2013. — 37. — P. 1976-1986.

7. Moraga A., Pradillo J.M., Garcia-Culebras A. et al. Aging increases microglial proliferation, delays cell migration, and decreases cortical neurogenesis after focal ischemia // *JNI.* — 2015. — 12, 87. — P. 12. — DOI: 10.1186/s12974-015-0314-8.

8. Gemechu J.M., Bentivoglio M. T cell recruitment in the brain during normal aging // *Front. Cell. Neurosci.* — 2012. — 6. — 6 (Article 38). — P. 5.

9. Labunets I. Pineal gland and rhythms of immune system in aging. Experimental study. LAP LAMBERT Acad Publ: Saarbrücken, 2012. — 132 p.

10. Labunets I.F., Melnyk N.O., Rodnichenko A.E. et al. Cuprizone-Induced Disorders of Central Nervous System Neurons, Behavioral Reactions, Brain Activity of Macrophages and Antioxidant Enzymes in the Mice of Different Ages: Role of Leukemia Inhibitory Factor in their Improvement // *J. Aging Geriatr. Med.* — 2017. — 1(2). — P. 8. — DOI: 10.4172/AGM.1000104.

11. Gudi V., Gingele S., Skripuletz Th., Stangel M. Glial response during cuprizone-induced de- and remyelination in the CNS: lessons learned // *Front. Cell. Neurosci.* — 2014. — 8 (Article 73). — 24 p.

12. Ostasov P., Houdek Z., Cendelin J., Kralickova M. Role of leukemia inhibitory factor in the nervous system and its pathology // *Rev. Neurosci.* — 2015. — 26(4). — P. 443-459.

13. Міщенко Е.С., Шульга О.Д., Бобрик Н.В., Шульга Л.А. Розсіяний склероз: глобальні перспективи // *Укр. мед. часопис.* — 2014. — 101(3). — С. 84-87.

14. Ismailov M.G., Shevchenko P.P., Yaschenko I.A. Multiple sclerosis and debut in the elderly // *Adv. Curr. Nat. Sci.* — 2014. — 6. — P. 122-123.

15. Praet J., Guglielmetti C., Berneman Z. et al. Cellular and molecular neuropathology of the cuprizone mouse model: Clinical relevance for multiple sclerosis // *J. Neurobiorev.* — 2014. — 47. — P. 485-505.

16. Лабунець І.Ф., Мельник Н.О., Кузьміна І.А., Бутенко Г.М. Патент України на корисну модель № 94458 u (UA), МПК G09B 23/28 «Спосіб моделювання структурних змін нейронів центральної нервової системи при демієлінізуючих захворюваннях» (2006.01). Опубл. 10.11.2014; Бюл. № 21. — 3 с.

17. Лабунець І.Ф., Мельник Н.О., Римар С.Ю. Патент України на корисну модель № 104976 (UA), МПК G09B23/28 «Спосіб моделювання регенерації ушкоджених нейронів головного мозку при нейродегенеративних захворюваннях». Опубл. 25.02.2016; Бюл. № 4. — 4 с.

18. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / Під ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.

19. Лакін Г.Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1990. — 350 с.

20. Guillemin G.J., Brew B.J. Microglial, macrophages, perivascular macrophages, and pericytes: a review of function and identification // *J. Leukoc. Biol.* — 2004. — 75. — P. 288-239.

21. Kang Z., Liu L., Spangler R. et al. IL-17-induced Act1-mediated signaling is critical for cuprizone-induced demyelination // *J. Neurosci.* — 2012. — 32(4). — P. 8284-8292.

22. Xu Y.-Zh., Nygard M., Krister Kristensson K, Bentivoglio M. Regulation of cytokine signaling and T-cell recruitment in the aging mouse brain in response to central inflammatory challenge // *Brain. Behav. Immun.* — 2010. — 24. — P. 138-152.

23. Cao W., Yang Y., Wang Zh. et al. Leukemia inhibitory factor inhibits T helper 17 cell differentiation and confers treatment effects of neural progenitor cell therapy in autoimmune disease // *Immunity.* — 2011. — 35. — P. 273-284.

24. Buono K.D., Vadlamuri D., Gan Q., Levison S.W. Leukemia inhibitory factor is essential for subventricular zone neural stem cell and progenitor homeostasis as revealed by a novel flow cytometric analysis // *Dev. Neurosci.* — 2012. — 34(5). — P. 449-462.

25. Лобунець І.Ф., Родниченко А.Е., Васильев Р.Г. Способность клеток-предшественниц гранулоцитов и макрофагов костного мозга мышей разных линий к образованию колоний *in vitro* при изменении содержания тимулина в организме и в культуре клеток // *Гены & клетки.* — 2017. — 12(2). — С. 97-103.

26. Urbach-Ross D., Kusnecov A.W. Effects of acute and repeated exposure to lipopolysaccharide on cytokine and corticosterone production during remyelination // *Brain Behav. Immun.* — 2007. — 21(7). — P. 962-974.

27. Savino W., Mendes-da-Cruz D.A., Lepletier A., Dardenne M. Hormonal control of T-cell development in health and disease // *Nat. Rev. Endocrinol.* — Advance online publication 6 October 2015. doi: 10.1038/nrend.2015.168. — 15 p.

28. Auernhammer C.J., Melmed S. Leukemia-inhibitory factor — neuro-immune modulator of endocrine function // *Endocr. Rev.* — 2000. — 21(3). — P. 313-345.

Получено 13.03.2018 ■

Лобунець І.Ф.

ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», м. Київ, Україна

Зміни ендокринної функції тимуса, макрофагів і Т-лімфоцитів головного мозку в мишей різного віку після введення нейротоксину купризону і цитокіну

Резюме. Актуальність. Відома участь макрофагів і Т-лімфоцитів в ушкодженні нервових клітин головного мозку. Гормон тимуса тимулін виявляє імуномодулюючі й антизапальні властивості. Вікові зміни активності макрофагів, Т-лімфоцитів головного мозку та тимуса можуть впливати на їх відповідь на дію токсичних та регуляторних факторів. **Мета** — дослідження змін рівня в крові тимуліну та кількості макрофагів і Т-лімфоцитів у головному мозку молодих і старіючих мишей, яким вводили нейротоксин купризон і рекомбінантний лейкоїя-інгібіторний фактор людини (rhLIF). **Матеріали та методи.** Миші лінії 129/Sv отримували з їжею щоденно купризон упродовж 3 тижнів. З 8-ї доби купризонної дієти щоденно вводили rhLIF у дозі 50 мг/кг. **Результати.** Підвищення рівня в крові тимуліну через 7 днів прийому купризону інтенсивніше в молодих мишей, ніж у

старіючих. Через 3 тижні купризонної дієти рівень гормона зменшувався тільки в молодих мишей. Кількість макрофагів у головному мозку молодих мишей збільшувалась вже через 7 днів прийому купризону, а у старіючих — тільки через 3 тижні. У мишей обох вікових груп із купризонною дієтою (особливо в молодих) збільшувалась кількість Т-клітин у головному мозку. Ін'єкції rhLIF підвищували рівень у крові тимуліну і зменшували кількість Т-клітин у головному мозку молодих мишей, тоді як у старіючих мишей спостерігалось зменшення кількості макрофагів у головному мозку. **Висновки.** Дія як купризону, так і rhLIF на ендокринну функцію тимуса та кількість макрофагів і Т-лімфоцитів у головному мозку мишей залежить від віку.

Ключові слова: тимулін; макрофаги і Т-клітини головного мозку; купризон; лейкоїя-інгібіторний фактор; вік

I.F. Labunets

State Institute of Genetic and Regenerative Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Changes of thymic endocrine function, brain macrophages and T-lymphocytes in mice of different ages after administration of neurotoxin cuprizone and cytokine

Abstract. Background. Macrophages and T-lymphocytes are well known to be involved in the damage to the brain nervous cells. Thymic hormone thymulin exhibits immunomodulatory and anti-inflammatory effects. The age-related changes in the activity of brain macrophages, T-lymphocytes and thymus can affect their response to the toxic and regulatory factors. The purpose was to study the changes in blood thymulin level and amount of brain macrophages and T-lymphocytes in young and aged mice after administration of neurotoxin cuprizone and recombinant human leukemia inhibitory factor (rhLIF). **Materials and methods.** The 129/Sv mice received cuprizone with food daily for 3 weeks. From day 8 of cuprizone diet, the rhLIF was injected daily (50 µg/kg). **Results.** Increase of blood thymulin level after 7-day cuprizone diet was more significant in

young versus aged mice. Hormone level decreased after 3-week cuprizone treatment only in young mice. After 7 days, the number of brain macrophages in young mice increased, while in aged mice — only after 3 weeks. In cuprizone-treated mice of both age groups (especially in young), the number of brain T-cells increased. RhLIF injections increased blood thymulin level and decreased the number of brain T-cells in young cuprizone-treated mice, while number of brain macrophages decreased only in aged mice. **Conclusions.** The effect of both cuprizone and rhLIF on thymic endocrine function and the number of brain macrophages and T-lymphocytes in mice is age-dependent.

Keywords: thymulin; brain macrophages and T-cells; cuprizone; leukemia-inhibitory factor; age