

Эффективный иммуномодулятор лактоферрин способствует восстановлению nigrostriatalной системы мышей после острого воздействия МФТП

Копеева М.Ю., Черепов А.Б., Зарайская И.Ю.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт».
123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1

An effective immunomodulator lactoferrin contributes to the restoration of the nigrostriatal system in mice after acute exposure to MPTP

Kopeeva M.Yu., Cherepov A.B., Zaraiskaya I.Yu.

National Research Center «Kurchatov Institute»,
Ploshchad Akademika Kurchatova 1, Moscow 123182, Russian Federation

Болезнь Паркинсона (БП), прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся дегенерацией дофаминергических нейронов в черной субстанции (ЧС) и истощением дофамина (ДА) в стриатуме. Заболевание сопровождается изменением иммунологического статуса, что может быть связано с нарушением ДА-ергической регуляции функций иммунной системы. У больных отмечен низкий уровень общего числа Т- и В- лимфоцитов, снижена их функциональная активность, повышен уровень макрофагов, в микроглии головного мозга выявлены процессы воспалительного характера [1]. Нейродегенерация, индуцированная нейротоксином МФТП у мышей, является одной из наиболее широко используемых моделей БП. МФТП избирательно разрушает ДА-ергические нейроны nigrostriatalной системы, приводя также к снижению митогенной активности Т-лимфоцитов и угнетению способности к иммунному ответу.

Лактоферрин (Лф) — многофункциональный глобулярный гликопротеин. Он активно исследуется в экспериментальных патологических моделях заболеваний человека в качестве иммуномодулирующего, радиопротекторного агента [2], белка, способного ослабить прогрессирование нейродегенеративных заболеваний и стимулировать нейрорегенерацию [3]. Лф может как положительно, так и отрицательно влиять на клетки иммунной системы и клетки, участвующие в реакции воспаления. Показано, что экзогенный Лф подавляет экспрессию некоторых провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли и интерлейкины -1 β и -6), активирует экспрессию противовоспалительных факторов (Ил-4 и Ил-10) [4].

Целью исследования стало изучение влияния Лф на поведение мышей и экспрессию тирозингидроксилазы

(ТГ) в nigrostriatalной системе мозга животных на модели МФТП-индуцированной гибели нейронов.

Материалы и методы. В работе был использован Лф, выделенный из женского молозива (ООО «Лактобио», Москва). Исследование было проведено на 5-месячных самцах мышей линии C57BL/6. Животных в случайном порядке разделили на группы: Контроль, МФТП и МФТП+Лф. Нейротоксин (40 мг/кг) вводили однократно подкожно [3]. Группе Контроль был введен 0,9% раствор NaCl в эквивалентном объеме. Лф (4,0 мг/животное, внутривентриально) вводили за 24 и 3 часа до МФТП. Экстрапирамидные нарушения оценивали до инъекций и через 60 мин, 120 мин, 1, 2, 7 и 28 дней после введения МФТП/NaCl с помощью тестов «Открытое поле» (ОП) и ротарод, анализа длины шага. Структурный дефицит оценивали по количеству тирозингидроксилазы (ТГ) - позитивных клеток в ЧС и плотности ТГ-позитивных волокон в стриатуме. На 2-й или 28-й день после введения МФТП/NaCl животных транскраниально перфузировали, извлекали головной мозг, готовили серийные фронтальные срезы, проводили иммуногистохимический анализ. Для выявления корреляционной взаимосвязи между параметрами рассчитывали коэффициент корреляции рангов Спирмена.

Результаты. В группе МФТП на 7-й день после введения нейротоксина наблюдали снижение массы тела. Прирост массы в этой группе был ниже по сравнению с контрольной группой на 7-й, 14-й и 21-й день ($p < 0,05$), а на 28-й день и по сравнению с группой МФТП+Лф ($p < 0,01$, $p < 0,05$, соответственно). В течение всего эксперимента не наблюдали различий в приросте массы между группами Контроль и МФТП+Лф. Это свидетельствует об уменьшении системного токсического действия на фоне терапии Лф.

У мышей, получивших МФТП, наблюдали значительное нарушение координации движений (в тесте ротарод, $p < 0,01$) и уменьшение средней длины шага ($p < 0,01$) в первые двое суток после инъекции. Предварительное введение Лф не оказало существенного влияния на оцениваемые параметры. Восстановление координации движений и средней длины шага наблюдали в обеих группах, получивших нейротоксин, на 7-й день. Общий пройденный путь в ОП уменьшился как в группе МФТП ($p < 0,01$), так и в МФТП+Лф ($p < 0,01$) по сравнению с контролем через 60 и 120 мин после введения нейротоксина. На более поздних сроках тестирования различий по этому параметру между группами не наблюдали. На 2-й день в обеих группах, получивших МФТП, количество стоек в ОП было меньше, чем в контроле ($p < 0,01$). На 7-й день в группе МФТП+Лф наблюдали увеличение этого показателя до уровня контроля, чего не произошло в группе МФТП ($p < 0,05$). На 28-й день различий по этому параметру между группами выявлено не было. Таким образом, введение Лф способствовало восстановлению исследовательского поведения мышей, нарушенного нейротоксином.

МФТП индуцировал потерю ДА-ергических нейронов в компактной части ЧС и ДА-ергических волокон в стриатуме. На 2-й день после его введения в обеих группах количество ТГ+ клеток в ЧС и оптическая плотность ТГ-специфического окрашивания в стриатуме были меньше по сравнению с контролем ($p < 0,05$). В группе МФТП потеря ТГ+ нейронов была необратимой, а оптическая плотность ТГ-специфического окрашивания в стриатуме на 28-й день была ниже как по сравнению с контролем ($p < 0,01$), так и с группой МФТП+Лф ($p < 0,05$). Лф способствовал ускоренному восстановлению функциональной активности клеток nigrostriальной системы мозга мышей после острого воздействия нейротоксина. Оно проявлялось в увеличении количества ТГ+ клеток в ЧС с 36% до 53% и оптической плотности ТГ+ волокон в стриатуме с 33% до 92% (относительно контрольных животных).

В группе МФТП была выявлена положительная корреляция между расстоянием, пройденным мышами в ОП через 60 и 120 мин и в 1-й и 2-й дни после введения нейротоксина, и степенью структурно-функциональных изменений в nigrostriальной системе (количеством ТН+ нейронов в ЧС, оптической плотностью ТН+ волокон в стриатуме) на 28-й день ($r = 0,90$, $p = 0,042$). Также в этой группе была выявлена положительная корреляция между временем удержания животного на барабане в тесте ротарод через 60 и 120 мин и в 1-й день после

введения МФТП, и степенью структурно-функциональных изменений в nigrostriальной системе на 28-й день ($r = 0,89$, $0,87$ и $0,90$, соответственно; $p = 0,050$). Таким образом, в данной модели представляется возможным прогнозировать степень структурно-функциональных изменений в целевом органе на 28-й день по поведению животных на ранних сроках после введения нейротоксина. В группах Контроль и МФТП+Лф подобных корреляционных зависимостей не наблюдали.

Заключение. Наши данные свидетельствуют о том, что предварительное введение Лф привело к значительному уменьшению степени тяжести поражения нервной системы, индуцированного МФТП. Мы предполагаем, что применение Лф обусловило также коррекцию иммунологического статуса животных. Это необходимо проверить на модели БП при хронической схеме введения МФТП мышам с оценкой иммунологических показателей. В наших предыдущих исследованиях было показано, что в нейрональных культурах в условиях стимуляции Лф усиливает экспрессию транскрипционного фактора *c-Fos*, являющегося маркером нейрональной активности и долговременной пластичности [5]. Мы предполагаем, что Лф активирует процессы восстановления пластических ресурсов нейронов, временно утративших способность к синтезу ДА. Также Лф может стимулировать вовлечение резервных нейронов, находящихся в состоянии физиологического покоя, в синтез ДА. Полученные результаты свидетельствуют о возможности потенциального использования Лф в качестве перспективного терапевтического средства при лечении нейродегенеративных заболеваний.

Список литературы

1. Крыжановский Г.Н. *Актуальные проблемы нейроиммунопатологии: Руководство*. М: Издательство Гениус Медиа, 2012. 424 с.
2. Копаева М.Ю., Алчинова И.Б., Нестеренко М.В., Черепов А.Б., Зарайская И.Ю., Карганов М.Ю. Лактоферрин положительно влияет на динамику восстановления физиологических и поведенческих показателей мышей при остром гамма-облучении. *Патогенез*. 2020; 18(1): 29–33. DOI: 10.25557/2310-0435.2020.01.29-33
3. Копаева М.Ю., Черепов А.В., Nesterenko M.V., Zarayskaya I.Y. Pretreatment with human lactoferrin had a positive effect on the dynamics of mouse nigrostriatal system recovery after acute MPTP exposure. *Biology*. 2021; 10(1): 24. DOI: 10.3390/biology10010024
4. Legrand D., Ellass E., Carpentier M., Mazurier J. Lactoferrin: a modulator of immune and inflammatory responses. *Cell. Mol. Life Sci*. 2005; 62(22): 2549–2559. DOI: 10.1007/s00018-005-5370-2
5. Копаева М.Ю., Азиева А.М., Черепов А.Б., Нестеренко М.В., Зарайская И.Ю. Лактоферрин человека усиливает экспрессию транскрипционного фактора *c-Fos* в нейрональных культурах в условиях стимуляции. *Патогенез*. 2021; 19(1): 74–78. DOI: 10.25557/2310-0435.2021.01.74-78