

УДК УДК 571.27; 612.017.11; 616.858-008.6
DOI 10.17721/1728.2748.2022.88.41-46

Ж. Олійник, асп.,
Л. Сківка, д-р біол. наук, проф.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРИТОНЕАЛЬНИХ ФАГОЦИТІВ ЩУРІВ ІЗ 6-OHDA- ТА ЛПС-ІНДУКОВАНОЮ ХВОРОБОЮ ПАРКІНСОНА

Перитонеальні макрофаги (ПМ) належать до лімфоїдної тканини, асоційованої із сальником (OALT), яка має багато спільних рис з лімфоїдною тканиною, асоційованою зі слизовими оболонками (MALT). Однак біологічні характеристики цієї тканини ще повністю не з'ясовані. Результати значної кількості експериментальних досліджень переконливо ілюструють інтегративну роль OALT та ПМ у її складі у системному запаленні, яке є важливим компонентом патофізіології численних захворювань запальної етіології, до яких належить хвороба Паркінсона (ХП) – хронічне системне запальне захворювання, глибоке розуміння патофізіології якого необхідне для розробки методів його ранньої діагностики, профілактики та лікування. У роботі проведено порівняльну характеристику метаболічних та фенотипових показників ПМ у щурів з різними моделями ХП: індукованою інтрацеребральним уведенням 6-гідроксидофаміну (6-OHDA) та бактеріального ліпополісахариду (ЛПС). Розвиток ХП констатували за результатами поведінкових тестів. Фенотипово-функціональні властивості ПМ характеризували за їх фагоцитарною активністю, окислювальним метаболізмом та рівнем експресії маркерів про- та протизапальної поляризованої активації (CD 80/86 та CD 206, відповідно), які визначали методом проточної цитометрії. Розвиток ХП у тварин з обома моделями супроводжувався поведінковими розладами, більш виразними у тварин з ЛПС-індукованою моделлю. Фенотипово-функціональні характеристики ПМ тварин із 6-OHDA-індукованою ХП вказують на їх функціональне виснаження в результаті тривалого системного запального процесу. Функціональний стан ПМ у щурів з ЛПС-індукованою хворобою засвідчує їх участь у спонтанній резольуції системного запалення.

Ключові слова: хвороба Паркінсона, перитонеальні макрофаги, MALT, реактивні форми кисню, 6-OHDA, ЛПС.

Вступ. Хвороба Паркінсона (ХП) – системне хронічне запальне захворювання, що характеризується некоректним фолдингом альфа-синуклеїну і його патологічним накопиченням у дофамінергічних нейронах чорної субстанції та інших пов'язаних із нею нейронах [2]. Наразі ХП розглядається як мультифокальний нейродегенеративний процес, який впливає на численні нейронні структури, окрім *substantia nigra pars compacta*, зокрема й на ентеральну нервову систему [12]. Важливим компонентом патофізіології ХП є дисфункція імунної системи (порушення імунорегуляції і прозапальна активація імунітетів, послаблення патрульної функції клітин імунної системи і розвиток аутоімунних розладів тощо) [23, 8]. Ключову роль у локальному і системному запаленні в умовах розвитку ХП відіграють фагоцити різної локалізації. Встановлено, що клітини мікроглії (резидентні й рекрутовані фагоцити головного мозку) є центральними ефекторними клітинами нейрозапалення, циркулюючі фагоцити – важливими ефекторами системного запалення [18]. Доведеною, але найменш дослідженою є участь запальних процесів у лімфоїдній тканині, асоційованій зі слизовими оболонками (MALT) у розвитку ХП [11], на якій ґрунтується гіпотетична модель ініціювання ХП через вісь кишечник-мозок [4]. Згідно з цією моделлю ентеральне запалення, значною мірою опосередковане резидентними і рекрутованими фагоцитами, спричиняє накопичення альфа-синуклеїну в ентеральній нервовій системі і його транспорт до головного мозку. Прогресивне нейрозапалення, у свою чергу, супроводжується транспортом запальних медіаторів на периферію, зокрема й до MALT. Відомо, що гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) не є абсолютною перешкодою для взаємозв'язку мозку та периферичної імунної системи. З головного мозку відбувається транспорт біологічно активних медіаторів лімфатичними судинами ЦНС (глімфатична система [17]) у периферичні лімфовузли – назальні та глибокі шийні, які є частиною MALT [16]. Перитонеальні макрофаги (ПМ) належать до лімфоїдної тканини, асоційованої із сальником (Omentum-Associated Lymphoid Tissue, OALT), яка має багато спільних рис із MALT і бере активну участь в ініціюванні та контролі локальних і системних запальних процесів.

OALT тісно пов'язана із системною судинною мережею і взаємодіє з центральною нервовою системою і гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковою віссю [8]. Біологічні характеристики цієї тканини ще повністю не з'ясовані. Однак існують численні докази інтегративної ролі ПМ та інших клітин OALT у патофізіології запальних хвороб [15]. Дані літератури свідчать про те, що ПМ, подібно до інших позамозкових фагоцитів, залучені до розвитку системного запалення за умов розвитку синуклеїнопатії. Відомо, що функціональний стан периферичних фагоцитів (циркулюючих клітин та фагоцитів у складі MALT) динамічно змінюється у процесі прогресування ХП від прозапальної активації у період ініціювання системного запалення до метаболічного виснаження у період прогресування хвороби [7]. Дані стосовно функціонального стану ПМ у патофізіології ХП у літературі практично відсутні. Метою нашої роботи було порівняти функціональний стан ПМ у щурів з різними моделями ХП.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проведено на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар (220–250 г) розведення віварію ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Тварин утримували у стандартних умовах із вільним доступом до води та корму. Протокол дослідження був схвалений Комітетом з біоетики ННЦ "Інститут біології та медицини" відповідно до керівних принципів Закону про захист тварин. Усі процедури з тваринами проводилися відповідно до принципів гуманності, задекларованих у "Загальних принципах проведення експериментів на тваринах", затверджених І–ІІІ Національними конгресами з біоетики (Київ, 2001–2007 рр.) та відповідно до директиви Ради Європейського Союзу від 24 листопада 1986 р. про зближення законів, правил та адміністративних положень держав-членів щодо захисту тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (86/609/ЄЕС).

6-OHDA-індукований геміпаркінсонізм. У цьому експерименті використали тридцять щурів. Перед початком експерименту тварин рандомізували за вагою і розділяли на три групи (n = 10): I – інтактні, II – хібно оперовані, III – тварини із ХП, індукованою 6-гідроксидофаміном (6-OHDA) (6-OHDA-ХП). Анестезію тварин груп II

та III проводили нембуталом (50 мг/кг, внутрішньочеревно, "Sigma", США). Однобічні стереотаксичні ін'єкції проводили у стереотаксичному апараті (SEJ-4, Україна). Після анестезії тваринам групи III вводили внутрішньочеревно розчин паргіліну з розрахунку 40 мг/кг (Sigma, США), який пригнічує метаболічну конверсію 6-OHDA моноаміноксидазою, та дезипрамін з розрахунку 25 мг/кг (Sigma, США), який блокує захоплення нейротоксину норадренергічними нейронами [22]. Тваринам III групи вводили 12 мкг 6-OHDA, розчиненого у 4 мкл 0,1 % аскорбінової кислоти в ізотонічному розчині, у ліву латеральну висхідну ніжку пучка Гіса (2,2 мм каудально і 1,5 мм латерально від брегми згідно з координатами атласу) [20]. Нейротоксин вводили у тканину мозку зі швидкістю 1 мкл/хв (кожні 15 с). Інжектор залишали у місці ведення впродовж 5 хв, а потім повільно витягували, щоб забезпечити дифузії токсину та запобігти його рефлюксу. Хибно оперованим щурам вводили розчинник (0,1 % аскорбату в 0,9 %-му хлориді натрію) у тих самих координатах.

ЛПС-індукований геміпаркінсонізм. У цьому експерименті використали тридцять щурів. Перед початком експерименту тварин рандомізували за вагою і розділяли на три групи (n = 10): I – інтактні, II – хибно оперовані, III – уражені тварини із ХП, індукованою бактеріальним ліпополісахаридом (ЛПС-ХП). Анестезію щурів II та III груп проводили сумішшю кетаміну (75 мг/кг, розведеного у стерильній воді для ін'єкцій, Sigma, США) та 2 %-го ксилазину (400 мкл/кг, Alfasan International BV, Нідерланди). Тваринам III групи вводили 10 мкг ЛПС (Sigma, США) в об'ємі 2 мкл 0,9 %-го хлориду натрію у чорну субстанцію (AP = -5,3; ML = ±2,0; DV = -7,2) за Нобан [8]. ЛПС вводили в режимі, аналогічному режиму введення 6-OHDA. Хибно оперованим щурам вводили 0,9 %-й хлорид натрію у тих самих координатах.

Розвиток ХП констатували за результатами поведінкового тестування та оцінювання нейродегенерації у *substantia nigra pars compacta* методом напівкількісного імуногістохімічного визначення експресії тирозингідроксилази (ТГ), яка є маркером дофамінергічних нейронів [19]. Автопсію тварин проводили на 28 добу після операції.

Поведінкове тестування тварин. Як поведінкові тести використовували тест "відкрите поле" [14] та апоморфний тест [9] у модифікаціях, описаних раніше [19].

Оцінювання метаболічного профілю перитонеальних фагоцитів. Перитонеальні макрофаги отримували стерильно із черевної порожнини щурів без попередньої сенсibilізації згідно із протоколом Zhang et al [24]. Метаболічний профіль клітин оцінювали за фагоцитарною активністю та продукцією реактивних форм кисню. Фагоцитарну активність перитонеальних макрофагів досліджували методом проточної цитометрії з використанням як об'єкту фагоцитозу мічених ФІТЦ клітин *S. aureus* Wood 46 із колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології та імунології ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Для цього зразки крові інкубували при 37 °C протягом 30 хв із бактеріальними клітинами. Фагоцитоз зупиняли додаванням стоп-розчину (фосфатний буфер з 0,02 % етилендіамінтетраацетату та 0,04 % параформальдегіду). Дані представлені у вигляді

ді індексу фагоцитозу (ІФ) (середнє геометричне значення флуоресценції однієї фагоцитуючої клітини в аналізованій популяції, яке пропорційне кількості поглинутих мікроорганізмів). Окисний метаболізм фагоцитів досліджували з використанням 2'-дихлордигідрофлуоресцеїндіацетату (H2DCFDA, Invitrogen) [21]. Для стимуляції окисдативного метаболізму *in vitro* використовували форбол меристат ацетат (Sigma, США).

Оцінювання фенотипового профілю перитонеальних фагоцитів. Фенотиповий профіль фагоцитів характеризували за експресією маркерів функціональної зрілості та метаболічної поляризації (CD206, CD80 та CD86), які визначали методом проточної цитометрії з використанням моноклональних антитіл відповідної специфічності, мічених флуоресцентними барвниками (Abcam, Becton Dickinson).

Статистичний аналіз. Усі дані представлені як середнє ± стандартне відхилення. Статистичні відмінності були розраховані з використанням дисперсійного аналізу ANOVA з апостеріорним критерієм Тьюкі для множинних порівнянь і двостороннім t-тестом та непараметричним U-критерієм Манна-Уїтні для одиночних порівнянь. Критерій χ^2 використовували для якісних даних. Відмінності вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. 6-OHDA- і LPS-індуковані тваринні моделі ХП найбільш широко використовуються для вивчення патофізіології захворювання та пошуку терапевтичних мішеней. Обидві моделі належать до так званих патогенетичних (на відміну від генетичних), відмінними рисами яких є розвиток нейрозапалення та моторні розлади. Однак ці моделі відрізняються за механізмами індукції ХП і кожна з них має свої переваги та недоліки. 6-OHDA-індукована модель частіше використовується для розробки фармацевтичних препаратів для симптоматичного лікування ХП, оскільки найбільшою мірою відтворює моторні й немоторні симптоми хвороби. Внутрішньомозкова ін'єкція токсину 6-OHDA призводить до загибелі дофамінергічних нейронів та виснаження дофаміну у стріатумі, а також рухової дисфункції, подібної до такої у пацієнтів із ХП. Основною проблемою більшості моделей ХП на основі токсинів, таких як 6-OHDA-ХП, є їхній гострий характер, який відрізняється від повільного клінічного перебігу ХП [1, 10]. ЛПС-індукована модель найкраще відтворює запальний компонент патогенезу ХП і тому найчастіше використовується у дослідженнях, спрямованих на вивчення локального і системного запалення, асоційованого із хворобою. ЛПС індукує активацію клітин мікроглії, які вивільняють прозапальні та нейротоксичні медіатори, викликаючи пошкодження нейронів, які, у свою чергу, виділяють сигнали ушкодження і активують клітини мікроглії. ЛПС викликає повільно прогресуючу нейротоксичність, більш властиву картині захворювання у пацієнтів [3]. З огляду на вищезазначене ми висловили припущення про те, що вияв запального процесу в OALT може відрізнятися у різних за механізмом індукції моделях, обраних для дослідження. Розвиток ХП у тварин з обома моделями засвідчили результати оцінювання поведінкової активності та рівня руйнування дофамінергічних нейронів (табл. 1).

Таблиця 1. Критерії розвитку ХП у тварин з 6-OHDA- та ЛПС-індукованими моделями за результатами поведінкового тестування

Модель	Результати поведінкових тестів					
	Апоморфіновий тест, швидкість контралатеральної ротації, об/хв		Тест "відкрите поле", % від показника хібно оперованих тварин			
	8 доба після операції	15 доба після операції	Загальна пройдена дистанція	Кількість вертикальних підйомів	Кількість актів грумінгу	Кількість актів дефекації
6-OHDA-ХП	7,6 ± 3,8	8,5 ± 3,3	64,1 ± 6,2	41,0 ± 7,7	73,0 ± 8,9	65,7 ± 8,2
ЛПС-ХП	0,6 ± 0,4*	0,8 ± 0,6*	61,4 ± 8,1	69,8 ± 11,4*	99,0 ± 12,4	80,9 ± 5,9*

Примітка. * – $p \leq 0,05$ порівняно з аналогічним показником у тварин з 6-OHDA-ХП.

У тварин з обома моделями зареєстровано прогресивне посилення контралатеральної ротації в апоморфіновому тесті, більш виразне у тварин з 6-OHDA-ХП, що вказує на більш виразний прогресуючий дефіцит дофаміну у тварин з цією моделлю і узгоджується з даними Eidson et al., 2017 [5] стосовно більш повільного прогресивного формування дефіциту дофаміну у тварин з ЛПС-індукованою моделлю за умов інтранігрального введення ендотоксину. Інтрацеребральні інфузії ЛПС зазвичай проводяться у чорну субстанцію (інтранігрально) або у ділянку смугастого тіла (інтрас-тріатально). Інтранігральна інфузія ЛПС спричиняє механічну травму, асоційовану з помірним неспецифічним запаленням, що є одним з недоліків ЛПС-ХП. Однак нами був обраний саме цей спосіб введення

препарату, зважаючи на його більшу, порівняно з інтрас-тріатальним введенням, ефективність в індукції моторних розладів у тварин [9]. Когнітивні порушення за результатами тесту "відкрите поле" також були де-що більш виразними у моделі 6-OHDA-ХП.

Аналіз фенотипового та функціонального профілю перитонеальних фагоцитів виявив їх відхилення від контролю у тварин з обома моделями ХП, що вказує на залучення OALT у розвиток системного запалення, асоційованого з експериментальним геміпаркінсонізмом.

ПМ тварин із 6-OHDA-ХП характеризувалися майже вдвічі вищим фагоцитарним індексом порівняно з інтактними і ХО тваринами (рис. 1А) і незначним зниженням утворення реактивних форм кисню при збереженні метаболічного резерву цієї функції (рис. 1Б).

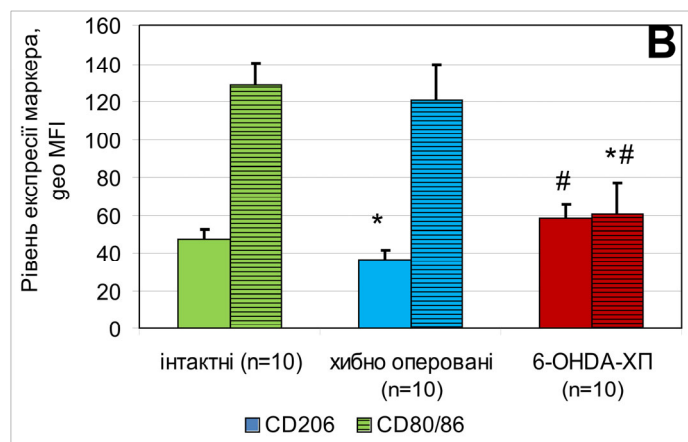
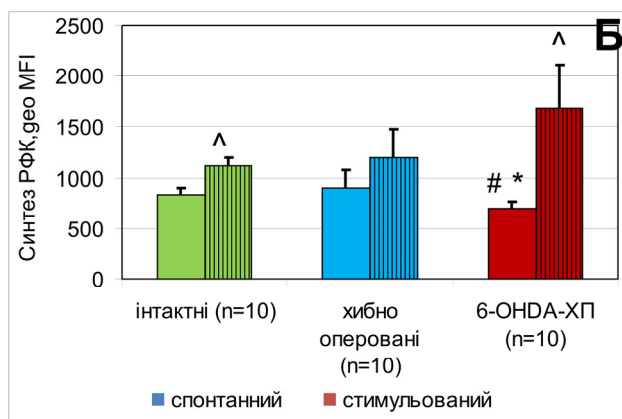
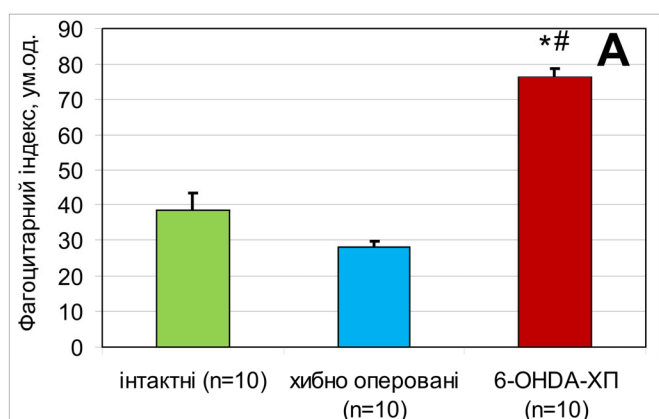


Рис. 1. Функціонально-фенотипові характеристики перитонеальних макрофагів у щурів із 6-OHDA-індукованою хворобою Паркінсона

Примітка. * – $p \leq 0,05$ порівняно з інтактними тваринами; # – $p \leq 0,05$ порівняно із ХО тваринами; ^ – $p \leq 0,05$ порівняно з нестимульованими клітинами відповідного варіанта дослідження.

На рис. 1 та 2: А – фагоцитарний індекс (geoMFI – середня геометрична інтенсивність флуоресценції, пропорційна кількості поглинутих мікроорганізмів одним фагоцитом); Б – синтез реактивних форм кисню (geoMFI – середня геометрична інтенсивність флуоресценції, значення якого пропорційне концентрації генерованих одним фагоцитом аналізованої популяції активних форм кисню), стимуляцію оксидативного метаболізму проводили форбол меристат ацетатом (див. "Матеріали і методи"); В – рівень експресії фенотипових маркерів (geoMFI – середня геометрична інтенсивність флуоресценції мітки моноклональних антитіл проти аналізованих кластерів диференціювання в аналізованій популяції).

Посилення ендоцитарної функції фагоцитів характерне для їх залучення у процеси ефероцитозу, властиві завершенню запалення [13]. Зниження оксидативного метаболізму за умов збереження його резерву свідчить на користь функціонального зсуву фагоцитів до протизапального M2 профілю [6, 13]. Фенотиповою особливістю цих клітин було статистично достовірне зниження рівня експресії CD 80/86 – фенотипового маркера прозапальної активованої поляризації фагоцитів – порівняно з інта-

кними та ХО щурами. У сукупності такі фенотипово-функціональні характеристики вказують на помірний M2 функціональний зсув, характерний для залучення фагоцитів у репаративні та регенеративні процеси. В такому випадку це може свідчити про спонтанну регенерацію у тварин із 6-OHDA-ХП, зокрема спонтанне завершення системного запалення, які описані в літературі [1].

Функціонально-фенотипові характеристики ПМ у тварин із ЛПС-ХП дещо відрізнялися від таких у щурів з токсин-індукованою моделлю хвороби. Показники фагоцитарної активності були на рівні інтактних щурів і достовірно нижчими за такі у хворобно оперованих тварин (рис. 2А). Синтез РФК був достовірно нижчим у тварин із ЛПС-ХП порівняно з інтактними і ХО тваринами. При цьому фенотип ПМ у тварин із цією моделлю характеризувався підвищеним рівнем експресії CD 80/86. У сукупності такі метаболічні й фенотипові характеристики ПМ можуть вказувати на метаболічне виснаження (пригнічений оксидативний метаболізм) в результаті тривалої запальної активації (надекспресія CD 80/86 на 28 добу після ініціювання хвороби).

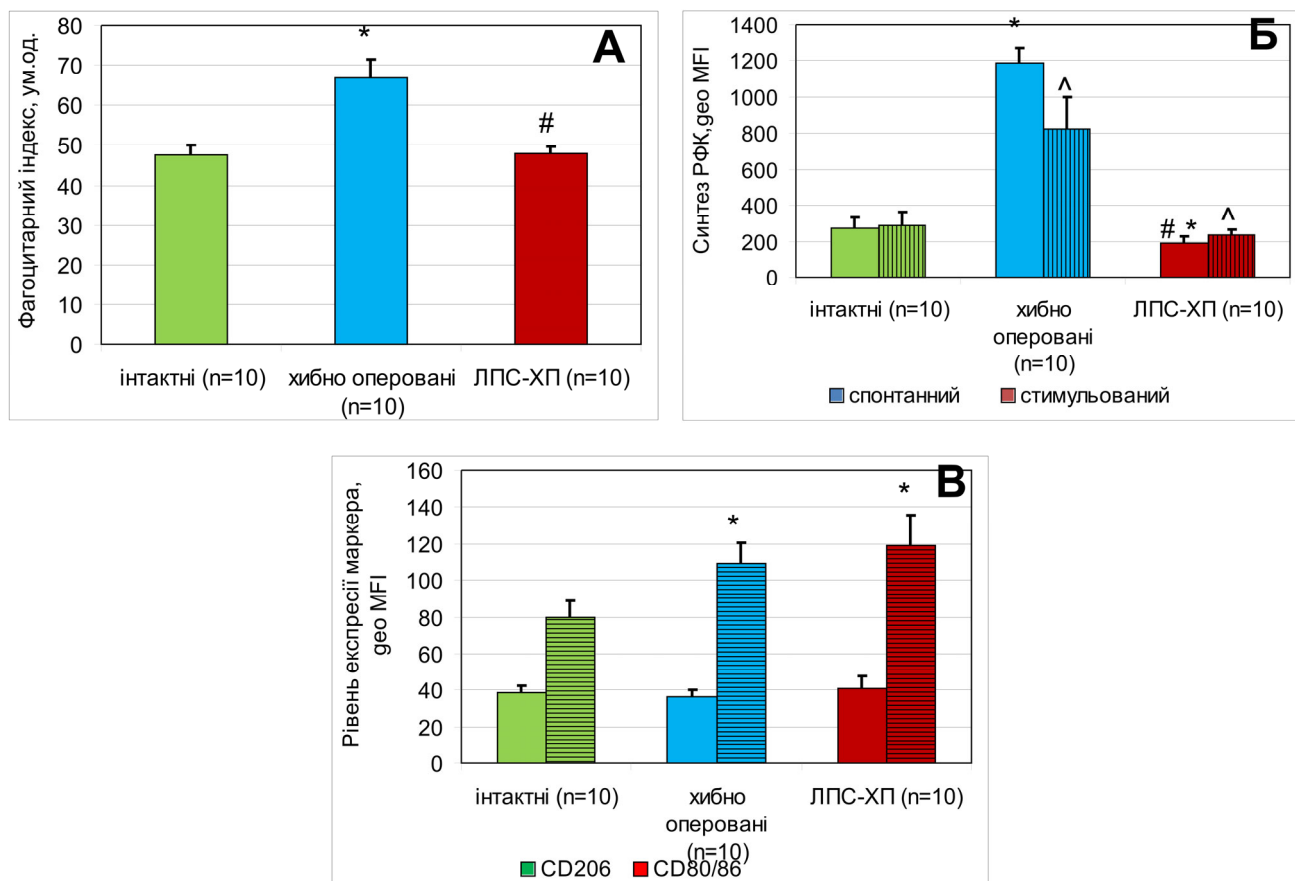


Рис. 2. Функціонально-фенотипові характеристики перитонеальних макрофагів у щурів із ЛПС-індукованою хворобою Паркінсона

Примітка. * – $p \leq 0,05$ порівняно з інтактними тваринами; # – $p \leq 0,05$ порівняно з ХО тваринами; ^ – $p \leq 0,05$ порівняно з нестимульованими клітинами відповідного варіанта дослідження.

Слід зазначити, що у ПМ ХО тварин зареєстровано значне посилення фагоцитарної активності, оксидативного метаболізму (за відсутності метаболічного резерву цієї функції) і експресії CD 80/86 порівняно з інтактними тваринами. Це може бути наслідком потужної пролон-

гованої прозапальної дії засобів для анестезії, які вводилися внутрішньочеревно.

Висновок. Наші результати підтверджують недавні клінічні спостереження щодо порушення функцій ПМ, включаючи вивільнення цитокінів і фагоцитоз, у пацієн-

тів із синуклеїнопатіями, такими як ХП. Фенотипові й функціональні відхилення від контролю ПМ тварин з експериментальним геміпаркінсонізмом засвідчують відтворення в експериментальних моделях залучення OALT у патофізіологію ХП. Встановлено зниження функції ПМ у щурів із ЛПС-ХП, яке є характерним для клінічного перебігу хвороби.

Список використаних джерел

1. Animal models of Parkinson's disease: limits and relevance to neuroprotection studies / E. Bezard, Z. Yue, D. Kirik et al. // *Mov Disord.* – 2013. – Vol. 28, № 1. – P. 61–70. – <https://doi.org/10.1002/mds.25108>
2. Microglia-specific overexpression of α -synuclein leads to severe dopaminergic neurodegeneration by phagocytic exhaustion and oxidative toxicity / S. Bido, S. Muggeo, L. Massimino et al. // *Nat Commun.* – 2021. – № 12. – P. 6237. – <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26519-x>
3. Lipopolysaccharide animal models of Parkinson's disease: Recent progress and relevance to clinical disease / I. Deng, F. Corrigan, G. Zhai et al. // *Brain Behav Immun Health.* – 2020. – № 4. – P. 100060. – <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100060>
4. Dogra N. The Gut-Brain Axis: Two Ways Signaling in Parkinson's Disease // N. Dogra, R. J. Mani, D. P. Katare // *Cell Mol Neurobiol.* – 2021. – Vol. 42, № 2. – P. 315–332. – <https://doi.org/10.1007/s10571-021-01066-7>
5. Candidate inflammatory biomarkers display unique relationships with α -synuclein and correlate with measures of disease severity in subjects with Parkinson's disease / L. N. Eidson, G. T. Kannarkat, C. J. Barnum et al. // *J. Neuroinflammation.* – 2017. – Vol. 14, № 1. – P. 164. – <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0935-1>
6. Edholm E. S. Evolutionary Aspects of Macrophages Polarization / E. S. Edholm, K. H. Rhoo, J. Robert // *Results Probl Cell Differ.* – 2017. – Vol. 62. – P. 3–22. – https://doi.org/10.1007/978-3-319-54090-0_1
7. Elevated Alpha-Synuclein Impairs Innate Immune Cell Function and Provides a Potential Peripheral Biomarker for Parkinson's Disease / S. J. Gardai, W. Mao, B. Schüle et al. // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol. 8, № 8. – e71634. – <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071634>
8. Harms A. S. Periphery and brain, innate and adaptive immunity in Parkinson's disease / A. S. Harms, S. A. Ferreira, M. Romero-Ramos // *Acta Neuropathol.* – 2021. – Vol. 141, № 4. – P. 527–545. – <https://doi.org/10.1007/s00401-021-02268-5>
9. Further characterisation of the LPS model of Parkinson's disease: a comparison of intra-nigral and intra-striatal lipopolysaccharide administration on motor function, microgliosis and nigrostriatalneurodegeneration in the rat / D. B. Hoban, E. Connaughton, C. Connaughton et al. // *Brain Behav Immun.* – 2013. – Vol. 27, № 1. – P. 91–100. – <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2012.10.001>
10. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice / R. Iancu, P. Mohapel, P. Brundin et al. // *Behav Brain Res.* – 2005. – Vol. 162, № 1. – P. 1–10. – <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.02.023>
11. Association of chronic and acute inflammation of the mucosa-associated lymphoid tissue with psychiatric disorders and suicidal behavior / J. Isung, K. Isomura, C. Almqvist et al. // *Translational psychiatry.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 227. – <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0568-5>
12. The Gut-Brain Axis and Its Relation to Parkinson's Disease: A Review / E. M. Klann, U. Dissanayake, A. Gurrall et al. // *Front Aging Neurosci.* – 2022. – № 13. – doi: 10.3389/fnagi.2021.782082
13. Kourtellis I. Phagocytosis of Apoptotic Cells in Resolution of Inflammation / I. Kourtellis, G. Hajishengallis, T. Chavakis // *Front Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 553. – <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00553>
14. The impact of fageon emotional and cognitive behaviours triggered by experimental neuropathy in rats / H. Leite-Almeida, L. Almeida-Torres, A. R. Mesquita et al. // *Pain.* – 2009. – Vol. 144, № 1–2. – P. 57–65. – doi: 10.1016/j.pain.2009.02.02
15. The Peritoneal Macrophages in Inflammatory Diseases and Abdominal Cancers / T. Liu, F. Liu, L. W. Peng et al. // *Oncol Res.* – 2018. Vol. 26, № 5. – P. 817–826. – <https://doi.org/10.3727/096504017X15130753659625>
16. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels / A. Louveau, I. Smirnov, T. Keyes et al. // *Nature.* – 2015. – № 523. – P. 337–341. – <https://doi.org/10.1038/nature14433>
17. Glymphatic System as a Gateway to Connect Neurodegeneration From Periphery to CNS / G. Natale, F. Limanaqi, C. L. Busceti et al. // *Front. Neurosci.* – 2021. – № 15. – 639140. – <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.639140>
18. The role of innate immunity and inflammation in Parkinson's disease / M. Öberg, I. Fabrik, D. Fabrikova et al. // *Scand J. Immunol.* – 2021. – Vol. 93, № 5. – E13022. – <https://doi.org/10.1111/sji.13022>
19. Functional changes in peripheral phagocytes in rats with lps-induced parkinson's disease / Z. Olynyk, A. Marynchenko, M. Rudyk et al. // *Mugla Journal of Science and Technology.* – 2021. – Vol. 7, № 2. P. 73–78. – <https://doi.org/10.22531/muglajsci.957174>
20. Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos and C. Watson. – 6th Edition. – San Diego : Academic Press, 2007.
21. Sex-based difference sinphagocyte metabolic profile in rats with monosodium glutamate-induced obesity / M. P. Rudyk, V. V. Pozur, D. O. Voieikova et al. // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 5419. – <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23664-0>
22. Pharmacoprotective influences on different links of the mechanism underlying 6-hydroxydopamine-induced degeneration of nigro-striatal dopaminergic neurons / S. A. Talanov, N. N. Oleshko, M. N. Tkachenko et al. // *Neurophysiology.* – 2006. – Vol. 38, № 2. – P. 128–133.
23. Parkinson disease and the immune system – associations, mechanisms and therapeutics / E. K. Tan, Y. X. Chao, A. West et al. // *Nat. Rev. Neurol.* – 2020. – № 16. – P. 303–318. – <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0344-4>
24. Zhang X. The isolation and characterization of murine macrophages / X. Zhang, R. Goncalves, D. M. Mosser // *Curr. Protoc. Immunol.* – 2008. – Chapter 14: Unit 14.1. – <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1401s83>

Reference

1. Bezard E., Yue Z., Kirik D., Spillantini M. G. Animal models of Parkinson's disease: limits and relevance to neuroprotection studies. *MovDisord.* 2013; 28(1):61-70. <https://doi.org/10.1002/mds.25108>
2. Bido S., Muggeo S., Massimino L. et al. Microglia-specific overexpression of α -synuclein leads to severe dopaminergic neurodegeneration by phagocytic exhaustion and oxidative toxicity. *NatCommun.* 2021; 12, 6237. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26519-x>
3. Deng I., Corrigan F., Zhai G., Zhou X. F., Bobrovskaya L. Lipopolysaccharide animal models of Parkinson's disease: Recent progress and relevance to clinical disease. *Brain Behav Immun Health.* 2020; 18;4:100060. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100060>
4. Dogra N., Mani R. J., Katare D. P. The Gut-Brain Axis: Two Ways Signaling in Parkinson's Disease. *Cell MolNeurobiol.* 2021; 42(2): 315-332. <https://doi.org/10.1007/s10571-021-01066-7>
5. Eidson L. N., Kannarkat G. T., Barnum C. J., Chang J., Chung J., Caspell-Garcia C., Taylor P., Mollenhauer B., Schlossmacher M. G., Ereshefsky L., Yen M., Kopil C., Frasier M., Marek K., Hertzberg V. S., Tansey M. G. Candidate inflammatory biomarkers display unique relationships with α -synuclein and correlate with measures of disease severity in subjects with Parkinson's disease. *J. Neuroinflammation.* 2017; 14(1):164. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0935-1>
6. Edholm E. S., Rhoo K. H., & Robert J. Evolutionary Aspects of Macrophages Polarization. Results and problems in cell differentiation. 2017; 62, 3–22. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54090-0_1
7. Gardai S. J., Mao W., Schüle B., Babcock M. C., Schoebel S., Lorenzana C., Alexander J., Kim S., Glick H., Hilton K. J., Fitzgerald J. K., Buttini M., Chiou S., Mc Conlogue L., Anderson J., Schenk D., Bard F., Langston J. W., Yednock T., Johnston J. Elevated Alpha-Synuclein Impairs Innate Immune Cell Function and Provides a Potential Peripheral Biomarker for Parkinson's Disease. 2013; PLoS ONE, 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071634>
8. Harms A. S., Ferreira S. A., Romero-Ramos M. Periphery and brain, innate and adaptive immunity in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 2021; 141(4):527-545. <https://doi.org/10.1007/s00401-021-02268-5>
9. Hoban D. B., Connaughton E., Connaughton C., Hogan G., Thornton C., Mulcahy P., Moloney T. C., Dowd E. Further characterisation of the LPS model of Parkinson's disease: a comparison of intra-nigral and intra-striatal lipopolysaccharide administration on motor function, microgliosis and nigrostriatalneurodegeneration in the rat. *BrainBehavImmun.* 2013; 27(1):91-100. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.10.001>
10. Iancu R., Mohapel P., Brundin P., Paul G. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. *Behav Brain Res.* 2005; 162(1):1-10. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.02.023>
11. Isung J., Isomura K., Almqvist C., Lichtenstein P., Larsson H., Wester T., Rück C., Fernándezdelacruz L., Sidorchuk A., Mataix-Cols D. Association of chronic and acute inflammation of the mucosa-associated lymphoid tissue with psychiatric disorders and suicidal behavior. *Translational psychiatry.* 2019; 9(1), 227. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0568-5>
12. Klann E. M., Dissanayake U., Gurrall A., Farrer M., Shukla A. W., Ramirez-Zamora A., Mai V., Vedam-Mai V. The Gut-Brain Axis and Its Relation to Parkinson's Disease: A Review. *Front Aging Neurosci.* 2022; 13:782082. doi: 10.3389/fnagi.2021.782082.
13. Kourtellis I., Hajishengallis G., & Chavakis T. Phagocytosis of Apoptotic Cells in Resolution of Inflammation. *Frontiers in immunology.* 2020; 11: 553. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00553>
14. Leite-Almeida H., Almeida-Torres L., Mesquita A. R., Pertovaara A., Sousa N., Cerqueira J. J., Almeida A. The impact of age one motional and cognitive behaviour triggered by experimental neuropathy in rats. *Pain.* 2009; 144(1-2):57-65. doi: 10.1016/j.pain.2009.02.02
15. Liu T., Liu F., Peng L. W., Chang L., Jiang Y. M. The Peritoneal Macrophages in Inflammatory Diseases and Abdominal Cancers. *Oncol Res.* 2018 Jun 11; 26(5):817-826. <https://doi.org/10.3727/096504017X15130753659625>
16. Louveau A., Smirnov I., Keyes T. et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature.* 2015; 523, 337–341. <https://doi.org/10.1038/nature14432>
17. Natale G., Limanaqi F., Busceti C. L., Mastroiacovo F., Nicoletti F., Puglisi-Allegra S., Fornai F. Glymphatic Systems a Gate way to Connect

Neurodegeneration From Periphery to CNS. Front. Neurosci. 2021; 15:639140. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.639140>

18. Öberg M., Fabrik I., Fabrikova D., Zehetner N., Härtlova A. The role of innate immunity and inflammation in Parkinson's disease. Scand J Immunol. 2021; 93(5):e13022. <https://doi.org/10.1111/sji.13022>

19. Oliynyk Z., Marynchenko A., Rudyk M., Dovbynychuk T., Dzyubenko N., Tolstanova G. Functional changes in peripheral phagocytes in rats with LPS-induced parkinson's disease. Mugla Journal of Science and Technology. 2021; 7 (2), 73-78. <https://doi.org/10.22531/muglajsci.957174>

20. Paxinos G. And Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 6th Edition, San Diego: Academic Press. 2007; 456 p.

21. Rudyk M. P., Pozur V. V., Voieikova D. O., Hurmach Y. V., Khranovska N. M., Skachkova O. V., Svyatetska V. M., Fedorchuk O. G., Skivka L. M., Berehova T. V., Ostapchenko L. I. Sex-based differences in phagocyte metabolic profile in rats with monosodium glutamate-induced obesity. Sci Rep. 2018; 8(1):5419. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23664-0>

22. Talanov S. A., Oleshko N. N., Tkachenko M. N., Sagach V. F. Pharmacoprotective influences on different links of the mechanism underlying 6-hydroxydopamine-induced degeneration of nigro-striatal dopaminergic neurons. Neurophysiology. 2006; 38 (2): 128-133.

23. Tan E. K., Chao Y. X., West A. et al. Parkinson disease and the immune system — associations, mechanisms and therapeutics. Nat Rev Neurol 2020; 16: 303–318. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0344-4>.

24. Zhang X., Goncalves R., Mosser D. M. The isolation and characterization of murine macrophages. Curr Protoc Immunol. 2008; Chapter 14:Unit 14.1. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1401s83>

Надійшла до редколегії 7.03.2022

Отримано виправлений варіант 7.04.2022

Підписано до друку 7.04.2022

Received in the editorial 7.03.2022

Received version on 7.04.2022

Signed in the press on 7.04.2022

Zh. Oliynyk, PhD,

L. Skivka, Dr. Sci., prof.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF PERITONEAL PHAGOCYTES IN RATS WITH 6-OHDA- AND LPS-INDUCED PARKINSON'S DISEASE

Peritoneal macrophages (PMs) refer to omentum-associated lymphoid tissue (OALT), which shares many features with mucosal-associated lymphoid tissue (MALT). However, the biological characteristics of this tissue have not yet been fully elucidated. The results of a significant amount of experimental data convincingly illustrate the integrative role of OALT and PM in its composition, in systemic inflammation, which is an important component of the pathophysiology of numerous diseases of inflammatory etiology. Such pathologies include Parkinson's disease (PD), a chronic systemic inflammatory disease, a deep understanding of the pathophysiology of which is necessary for the development of methods for its early diagnosis, prevention, and treatment. In this work, we compared the metabolic and phenotypic parameters of PM in rats with different models of PD: induced by intracerebral administration of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) and bacterial lipopolysaccharide (LPS). The development of PD was ascertained by the results of behavioral tests. The phenotypic and functional properties of PM were characterized by their phagocytic activity, oxidative metabolism, and the level of expression of markers of pro- and anti-inflammatory polarized activation (CD80/86 and CD206, respectively), which were determined by flow cytometry. The development of PD in animals with both models was accompanied by behavioral disorders, which were more pronounced in animals with the LPS-induced model. The phenotypic and functional characteristics of the PM of animals with 6-OHDA-induced PD indicate their functional exhaustion as a result of a prolonged systemic inflammatory process. The functional state of the PM in rats with LPS-induced disease indicates their involvement in the spontaneous resolution of systemic inflammation.

Keywords: Parkinson's disease, peritoneal macrophages, MALT, reactive oxygen species, 6-OHDA, LPS.