



Т.М. ВОРОБЬЄВА,
А.В. ШЛЯХОВА, Е.В. ВЕСЕЛОВСКАЯ

ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии
НАМН Украины», Харьков

Влияние предшествующей беременности и родов на течение экспериментального энцефаломиелимита у крыс

Цель — исследовать влияние беременности и родов на этологические, эмоциональные показатели и двигательную активность крыс в условиях моделирования рассеянного склероза.

Материалы и методы. Исследования проведены на 20 самках нелинейных белых крыс. Животные, иммунизированные энцефалитогенной смесью, были распределены на две равные экспериментальные группы. Во 2-ю группу вошли самки после родов. Поведение в Суок-тесте, латентный период иммобильности, степень выраженности неврологических расстройств и воспаления задних конечностей регистрировали в исходном состоянии, через 7, 14, 21 и 28 суток после моделирования рассеянного склероза. У самок 2-й группы исследования проводили также через 2 суток после родов.

Результаты. У самок 1-й группы в течение эксперимента снижались уровень тревожности и двигательная активность, что свидетельствует об эмоциональных нарушениях, связанных с развитием болезни, и их трансформации в тревожно-депрессивное состояние. У самок 2-й группы к окончанию эксперимента уровень активности приближался к исходным значениям на фоне сохраняющегося относительно высокого показателя тревожности. Это свидетельствует о более быстром восстановлении физического состояния и сохраняющейся напряженности эмоциональной сферы у крыс после родов, что, возможно, связано с реализацией материнского инстинкта, направленного на сохранение здорового потомства и, соответственно, на продление рода.

Выводы. Исследование двигательной активности, уровня тревожности, эмоционального состояния, неврологических нарушений показало, что предшествующая беременность и роды не усугубляют течение экспериментального рассеянного склероза у крыс.

Ключевые слова: экспериментальный рассеянный склероз, двигательная активность, уровень тревожности, эмоциональные нарушения, беременность.

Проблема взаимосвязи рассеянного склероза (РС) и беременности является весьма актуальной, поскольку имеет не только медицинские, но и социально-этические аспекты. Известно, что РС чаще страдают женщины, преимущественно детородного возраста [1]. По данным литературы, РС не оказывает негативного влияния на течение беременности и родов: частота бесплодия, невынашиваемости беременности, токсикозов и осложнений в родах при данном заболевании достоверно не отличается от этих показателей в общей популяции [4, 8, 11]. Лишь в единичных случаях при

выраженном неврологическом дефиците могут наблюдаться осложнения в родах, приводящие к асфиксии плода. Показано также, что беременность не только не является фактором риска развития РС, но и оказывает благоприятное влияние на прогноз заболевания. Так, частота заболеваемости РС у бездетных женщин в 2,5 раза выше, чем у женщин, имеющих двух детей и более. Кроме того, РС реже приобретает прогрессивное течение после беременности по сравнению с нерожавшими женщинами, а тяжелая инвалидизация у них наступает через более длительный срок [10]. N. Gatson и соавт. [12] считают, что во время беременности симптомы РС ослабевают, беременность более эффективно сдерживает РС, чем лю-

© Т.М. Воробьева, А.В. Шляхова, О.В. Веселовська, 2013

бые лекарства, применяющиеся для его лечения. Это можно пояснить изменениями в работе иммунной системы, гормональными сдвигами [12, 14], а также изменениями пластичности мозга, которые происходят во время беременности [13].

По данным ряда авторов [6, 15], риск развития обострения значительно повышается в 1-й год после родов. Активизация демиелинизирующего процесса отмечена и по данным МРТ. При этом обострения после родов протекают намного тяжелее, чем до беременности. Однако в общей сложности в течение беременности и 1 года после родов частота обострений остается прежней, риск обострений в течение года после аборта возрастает в той же степени, что и после родов [9].

Поскольку в литературе нет единого мнения о влиянии беременности и родов на течение РС, экспериментальные исследования этой проблемы представляют интерес и являются актуальными.

Цель работы — исследовать влияние беременности и родов на этологические, эмоциональные показатели и двигательную активность крыс в условиях моделирования рассеянного склероза.

Материалы и методы

Исследования проведены на 20 самках нелинейных белых крыс с массой тела 200—230 г. Все эксперименты проводили согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей. Животных содержали при естественном световом режиме и свободном доступе к воде и корму. Самки, иммунизированные энцефалитогенной смесью, были распределены на две равные экспериментальные группы. Во 2-ю группу вошли самки после родов.

Для оценки различий в поведении, моторных функциях, а также в эмоциональном состоянии животных применяли Суок-тест (поведенческая модель тревоги), основанный на тестировании животного на 3-метровом горизонтальном шесте шириной 6 см, приподнятом на высоту 25 см и разделенном на равные 15-сантиметровые сегменты. В начале тестирования животное помещали в центр шеста, который с двумя прилегающими сегментами образовывал центральную зону [7]. При тестировании крыс учитывали следующие показатели: латентный период выхода из центральной зоны, ориентировочно-исследовательские реакции (число исследовательских заглядываний вниз, направленные в стороны движения головой при вытянутом положении тела, принюхивание), горизонтальную активность (число пересеченных квадратов), число остановок, латентный период первого перехода и число переходов через центральную зону. Вычисляли среднее расстояние между остановками как отношение количества пройденных квадра-

тов к количеству остановок, уровень тревожности — как отношение горизонтальной активности к количеству пересечений центральной зоны (чем ниже значение показателя, тем выше уровень тревожности). В процессе эксперимента измеряли латентный период иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» [3].

В качестве реалистичной модели РС индуцировали экспериментальный аллергический энцефаломиелит посредством иммунизации животных энцефалитогенной смесью, состоящей из гомогенизированных тканей спинного мозга (в дозе 55—60 мг на 100 г массы тела животного) с добавлением полного адьюванта Фрейнда (в дозе 0,2 мл на одно животное) подкожно в подушечки задних лапок [3].

Степень выраженности неврологических расстройств оценивали по шкале, предложенной Ю.Л. Житнухиным и соавт.: 0 баллов — отсутствие клинических проявлений, 1 балл — мышечная слабость, атаксия, парезы хвоста, 2 балла — стойкие парезы лап, 3 балла — паралич задних конечностей, 4 балла — тремор, нистагм, гиперкинезы, судороги, гипотермия, агональное состояние, 5 баллов — смерть [5].

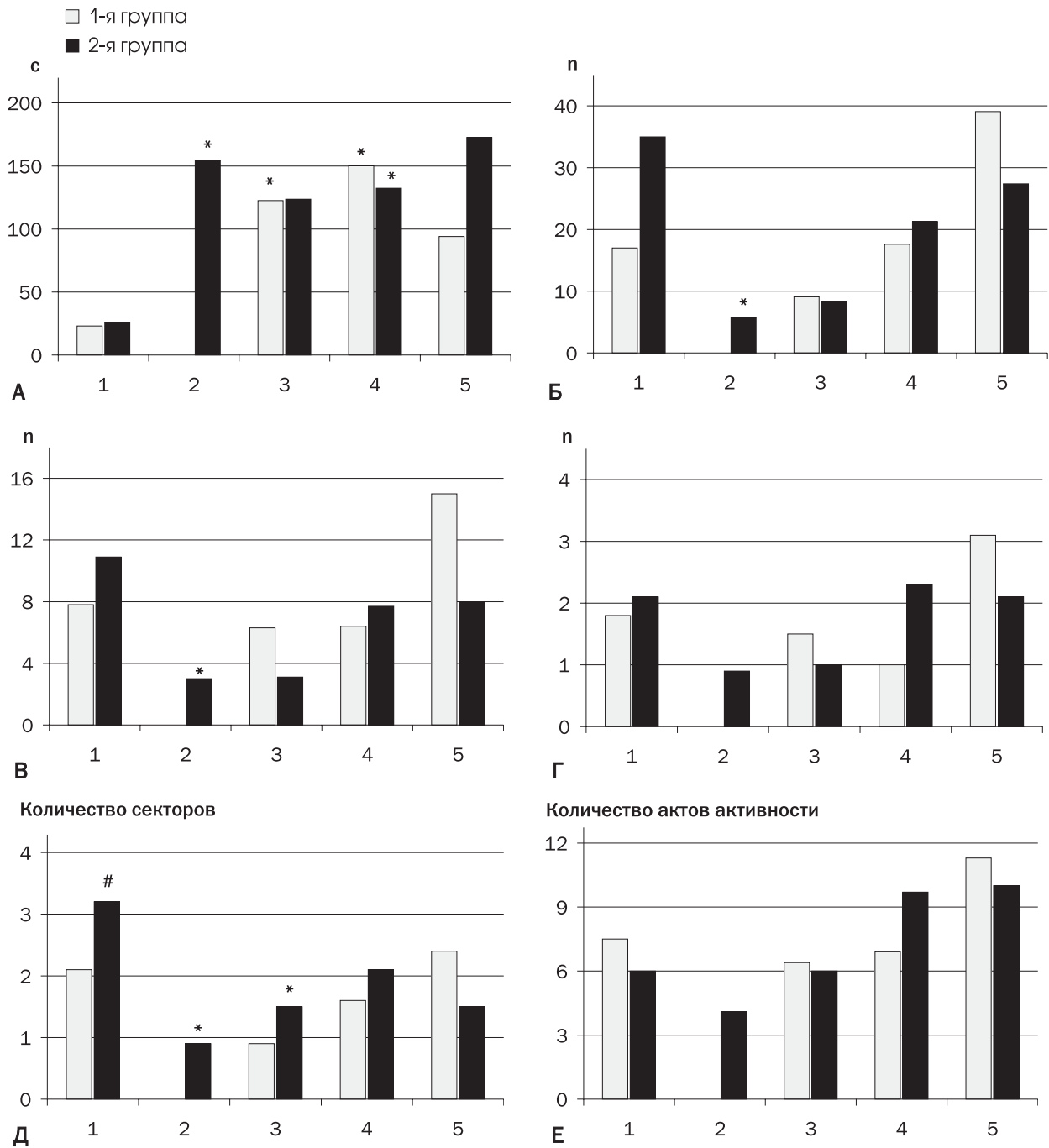
Степень выраженности воспаления задних конечностей животных в местах введения энцефалитогенной смеси оценивали следующим образом: отсутствие воспаления, слабо выраженное, умеренно выраженное и сильно выраженное воспаление.

У всех самок исследовали поведение в Суок-тесте, а также измеряли латентный период иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» в исходном состоянии, через 7, 14, 21 и 28 суток после иммунизации энцефалитогенными тканями головного и спинного мозга. В эти же сроки после иммунизации определяли степень выраженности неврологических расстройств и воспаления задних конечностей. У самок 2-й группы исследования проводили также через двое суток после родов.

Результаты обрабатывали статистически с помощью программы Excel и пакета статистических программ Statistica 6.0 с использованием непараметрических t-критерия Вилкоксона и критерия Манна—Уитни, определяли средние значения и ошибку среднего.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что в исходном состоянии при выполнении Суок-теста достоверных различий в поведении между самками двух групп не было, хотя самки 2-й группы демонстрировали более высокую ориентировочно-исследовательскую, горизонтальную активность, быстрее выходили из условной центральной зоны, совершали большее количество остановок и переходов через центральную зону, а также проходили достоверно большее количество квадратов за один



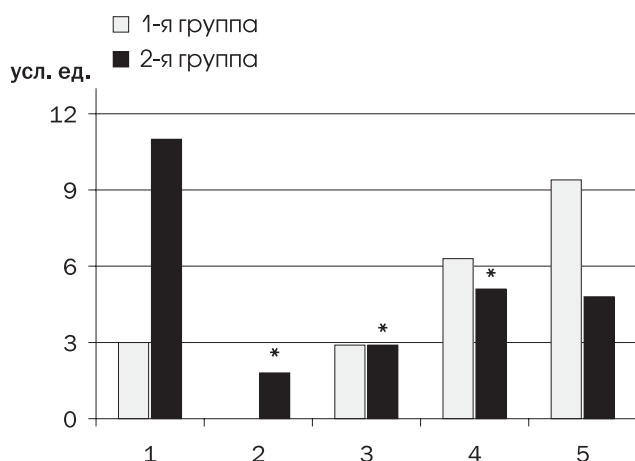
1 — исходные значения; 2 — 2-е сутки после родов; 3—5 — 7, 14, 21-е сутки после иммунизации соответственно.
 * $p \leq 0,05$ по сравнению с исходными значениями, # $p \leq 0,05$ по сравнению с 1-й группой.

Рис. 1. Динамика показателей Суок-теста у самок двух групп крыс: А — латентный период выхода из центральной зоны; Б — горизонтальная активность; В — количество остановок; Г — количество переходов через центральную зону; Д — среднее расстояние между остановками; Е — исследовательская активность

переход при движении по шесту (среднее расстояние) (рис. 1). Кроме того, у самок этой группы был выше уровень тревожности (рис. 2).

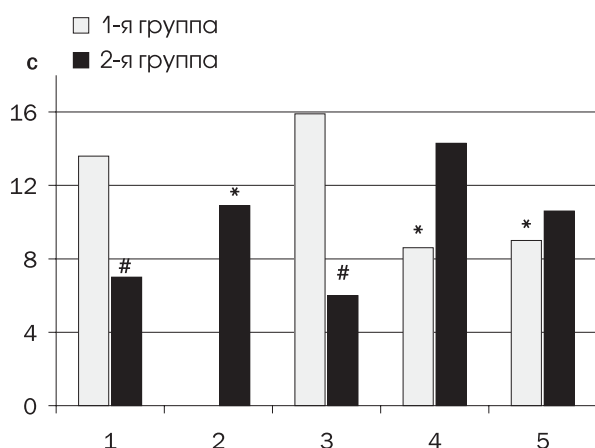
На 2-е сутки после родов 40 % самок 2-й группы значительно позже, чем в исходном состоянии, выходили из центральной зоны и пересекали лишь несколько секторов, а остальные сидели не-

подвижно и изредка проявляли ориентировочно-исследовательские реакции. Такое поведение самок было обусловлено снижением двигательной активности, что выражалось в достоверном изменении исследуемых показателей: повышении латентного периода выхода из центральной зоны, снижении горизонтальной активности, умень-



1 — исходные значения; 2 — 2-е сутки после родов; 3—5 — 7, 14, 21-е сутки после иммунизации соответственно. * $p \leq 0,05$ по сравнению с исходными значениями.

Рис. 2. Динамика уровня тревожности у самок крыс двух групп



1 — исходные значения; 2 — 2-е сутки после родов; 3—5 — 7, 14, 21-е сутки после иммунизации соответственно. * $p \leq 0,05$ по сравнению с исходными значениями, # $p \leq 0,05$ по сравнению с 1-й группой.

Рис. 3. Динамика латентного периода иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» у самок крыс двух групп

шении количества остановок и квадратов при движении по шесту за один переход (среднее расстояние), снижении двигательной активности на фоне повышения тревожности (по показателям уровень тревожности и латентный период перехода через центр) (см. рис. 1, 2). На 7—14-е сутки крысы обеих групп с экспериментальным РС имели одинаково невысокую двигательную активность и так же, как и в исходном состоянии, не имели различий по показателям Суок-теста. В этот период тревожно-эмоциональный фон всех самок с экспериментальным РС также был на одном уровне (см. рис. 2). На

14-е сутки после иммунизации у самок обеих групп отмечали появление неврологических расстройств в виде мышечной слабости и атонии хвоста (1 балл по шкале [14]) у одной крысы в 1-й группе и у двух — во 2-й. Во 2-й группе у одной самки наблюдали паралич задних конечностей, нарушение тазовых функций (3 балла). Несмотря на паралич, крыса продолжала ухаживать за своими детенышами, однако ее потомство отставало в развитии от детенышей других самок в группе. К 18-м суткам эта крыса погибла. В конце эксперимента крысы 1-й группы стали более активными, чем в предыдущие дни исследования. Они быстрее выходили из центральной зоны и пересекали большее количество квадратов, а следовательно, чаще делали остановки и имели большее количество квадратов, пройденных за один переход, у них снижлся уровень тревожности по сравнению с самками 2-й группы (см. рис. 1, 2). Однако в этот период у 70 % самок 1-й группы наблюдали атаксию, снижение тонуса хвоста (1 балл).

У самок 2-й группы на 21-е сутки двигательные функции по показателям Суок-теста не изменялись и оставались на уровне 14-х суток исследования (рис. 3). У 30 % крыс этой группы наблюдали мышечную слабость (1 балл), у одной — нарушение координации движений (2 балла), у одной — паралич задних конечностей, нарушение тазовых функций (3 балла). У тех крыс, у которых на 14-е сутки отмечали мышечную слабость, на 21-е сутки неврологические расстройства отсутствовали.

В обеих группах самок с экспериментальным РС были крысы, которые не имели клинически выраженной неврологической симптоматики на протяжении всего исследования (3 самки в 1-й группе и 2 — во 2-й). Однако у всех иммунизированных самок развивались локальные умеренные и слабо выраженные воспалительные процессы в области введения энцефалитогенной смеси, которые сохранялись к 21-м суткам исследования.

Исходные значения латентного периода иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» имели достоверные отличия между группами: самки 2-й группы значительно быстрее выполняли данный тест, причем такая разница в величине латентного периода иммобильности сохранялась и на 7-е сутки после родов. На 14—21-е сутки наблюдений значения данного показателя имели противоположную направленность: у крыс 1-й группы латентный период иммобильности был ниже, чем у крыс 2-й группы и ниже исходных значений, у самок 2-й группы отмечали удлинение периода иммобильности на 14-е сутки и некоторое уменьшение — на 21-е (см. рис. 3).

Согласно полученным результатам (см. рис. 1, 2), у самок с экспериментальным РС (1-я группа) в течение всего периода наблюдения снижались уровни тревожности и двигательной активности,

что, возможно, свидетельствует об эмоциональных нарушениях, связанных с развитием «болезни», и их трансформации в депрессивноподобное состояние. Эти данные согласуются с результатами клинических исследований, в которых показано, что личностная и эмоциональная дезадаптация у женщин, больных РС, проявляется тревожно-фобическими и депрессивными переживаниями [2]. У крыс 2-й группы к 21-м суткам исследования двигательная активность повышалась до исходного уровня (до родов) на фоне относительно высокого уровня ориентировочно-исследовательской активности и тревожности. Это свидетельствует о более быстром восстановлении фи-

зического состояния и сохраняющейся напряженности эмоциональной сферы у крыс после родов, что, возможно, связано с реализацией материнского инстинкта, направленного на сохранение здорового потомства и, следовательно, на продление рода.

Выводы

Исследование двигательной активности, уровня тревожности, эмоционального состояния, неврологических нарушений показало, что предшествующая беременность и роды не усугубляют течение экспериментального рассеянного склероза у крыс.

Литература

1. Волошина Н.П., Негреба Т.В., Терещенко Л.П. и др. Гендерные особенности преморбидного анамнеза и дебютов при прогрессирующих типах течения рассеянного склероза // Укр. вісник психоневр.— 2011.— Т. 19, вип. 2 (67).— С. 13—16.
2. Волошина Н.П., Негреба Т.В., Левченко И.Л. и др. Гендерные особенности разных типов течения рассеянного склероза // Укр. вісник психоневрології.— 2012.— Т. 20, вип. 3 (72).— С. 84.
3. Воробьева Т.М., Веселовская Е.В., Шляхова А.В. Моделирование дебюта рассеянного склероза у крыс разного пола // Эксперим. и клин. мед.— 2012.— № 2 (55).— С. 14—18.
4. Гусев Е.И., Бойко А.Н., Завалишин И.А. Рассеянный склероз. М.: Реал Тайм, 2011.— 520 с.
5. Житнухин Ю.Л., Абдурасулова И.Н., Тарасова Е.А. и др. Особенности динамики циркулирующих и экспрессируемых цитокинов при индукции экспериментального аллергического энцефаломиелита // Мед. иммунол.— 2008.— Т. 10, № 2—3.— С. 193—202.
6. Завалишин И.А., Захарова М.Н., Переседова А.В. Рассеянный склероз и беременность // Медико-социальные аспекты рассеянного склероза.— СПб, 2001.— С. 35—36.
7. Калув А.В., Туохимаа П. Суок-тест — новая поведенческая модель тревоги // Нейронауки.— 2005.— № 1.— С. 17—23.
8. Рассеянный склероз. Диагностика, лечение, специалисты / Под ред. И.Д. Столярова, А.Н. Бойко.— СПб: Элби, 2008.— 320 с.
9. Тотолян Н.А. Как беременность влияет на течение рассеянного склероза и лечение? // Новая мед. энцикл.— 2000.— № 5—6.— С. 32—38.
10. Chen Y.H., Lin H.L., Lin H.C. Does multiple sclerosis increase risk of adverse pregnancy outcomes? A population-based study // Mult. Scler.— 2009.— Vol. 15.— P. 606—612.
11. Finkelsztejn A., Brooks J., Paschoal F., Fragoso Y. What can we really tell women with multiple sclerosis regarding pregnancy? A systematic review and meta-analysis of the literature // BJOG.— 2011.— Vol. 118.— P. 790—797.
12. Gatson NaTosha N., Williams J.L., Powell N.D. et al. Induction of pregnancy during established EAE halts progression of CNS autoimmune injury via pregnancy-specific serum factors // J. Neuroimmunol.— 2011.— N 230.— P. 105—113.
13. Gregg C., Shikar V., Larsen P. et al. Matter plasticity and enhanced remyelination in the maternal CNS // J. Neurosci.— 2007.— Vol. 27 (8).— P. 1812—1823.
14. Gregg C. Pregnancy, prolactin and white matter regeneration // J. Neurol. Sci.— 2009.— N 285.— P. 22—27.
15. Hutchinson M. Улучшает или ухудшает беременность рассеянный склероз? // Рассеянный склероз. Клинические аспекты и спорные вопросы / Под ред. А. Томпсона, К. Полмана, Р. Холфельда.— СПб: Политехника, 2001.— С. 150—155.

Т.М. ВОРОБІЙОВА, А.В. ШЛЯХОВА, О.В. ВЕСЕЛОВСЬКА

ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», Харків

Вплив попередньої вагітності та пологів на перебіг експериментального розсіяного склерозу в щурів

Мета — дослідити вплив вагітності та пологів на етологічні та емоційні показники і рухову активність щурів в умовах моделювання розсіяного склерозу.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на 20 самках нелінійних білих щурів. Тварин, імунізованих енцефалітогенною сумішшю, було розподілено на дві рівні групи. До другої групи ввійшли самки після пологів. Поведінку в Суок-тесті, латентний період іммобільності, ступінь виявів неврологічних розладів і запалення задніх кінцівок реєстрували у початковому стані, через 7, 14, 21 та 28 діб після моделювання розсіяного склерозу. У самок 2-ї групи дослідження проводили також через 2 доби після пологів.

Результати. У самок 1-ї групи протягом експерименту знижувалися рівень тривожності та рухова активність, що свідчить про емоційні порушення, пов'язані з розвитком хвороби, та їх трансформацію у тривожно-депресивний стан. У самок 2-ї групи після закінчення експерименту рівень активності був близьким до вихідних значень на тлі збереження відносно високого показника тривожності. Це свідчить про швидке відновлення фі-

зичного стану та напруження, яке зберігається в емоційній сфері у самок після пологів, що, можливо, пов'язано з реалізацією материнського інстинкту, спрямованого на збереження здорового потомства і, відповідно, продовження роду.

Висновки. Дослідження рухової активності, рівня тривожності, емоційного стану, неврологічних порушень показало, що попередня вагітність та пологи не погіршують перебіг експериментального розсіяного склерозу в щурів.

Ключові слова: експериментальний розсіяний склероз, рухова активність, рівень тривожності, емоційні порушення, вагітність.

T.M. VOROBYOVA, A.V. SHLAKHOVA, E.V. VESELOVSKAJA
Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of NAMS of Ukraine, Kharkiv

The influence of previous pregnancy and labor on the course of experimental multiple sclerosis in rats

Objective – to study the influence of pregnancy and labor on ethological, emotional parameters and motor activity of the rats under the condition of multiple sclerosis modeling.

Methods and subjects. The study was carried out in 20 female nonlinear white rats that were separated into two equal groups: the first contained rats immunized with encephalitogenic mixture, the second contained rats after labor. Their behavior according to Suok-test, the latent immobility period, the severity of neurological disorders and the inflammation of hind limbs were registered in the initial state within 7, 14, 21 and 28 days after the modeling of multiple sclerosis. Moreover, in second group females were examined within 2 days after the labor.

Results. During the experiment in the first group females the level of anxiety and physical activity were reduced, this indicated emotional disorders associated with the development of the «disease» and their transformation into anxiety-depressive state. At the end of experiment in second group females the activity level was close to the original values against the background of relatively high anxiety rate, which indicated quick restoration of the physical state and stress which was present in emotional sphere in rats after the labor. The increasing anxiety in this group of females with multiple sclerosis perhaps is explained by the implementation of maternal instinct and care about offspring.

Conclusions. The study of motor activity, level of anxiety, emotional state, neurological disorders revealed that the previous pregnancy and labor didn't aggravate the course of experimental multiple sclerosis in rats.

Key words: experimental multiple sclerosis, motor activity, level of anxiety, emotional disorders, pregnancy.