

УДК 616.832-004.2:616-092.9

Т.М. Воробьёва, А.В. Шляхова, Е.В. Веселовская

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

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДЕБЮТА РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА У КРЫС РАЗНОГО ПОЛА

Проведён сравнительный анализ двигательной активности у самок и самцов интактных крыс и с модельным рассеянным склерозом. На протяжении исследования по показателям Суок-теста интактные самки были активнее самцов, а в группе иммунизированных крыс половых различий в поведении не отмечалось. Показано, что предвестниками клинических признаков заболевания рассеянным склерозом у животных являются мотосенсорные и вестибулярные дисфункции, а также нарушения в эмоциональной сфере.

Ключевые слова: *двигательная активность, рассеянный склероз, половые различия.*

Рассеянный склероз является хронической патологией ЦНС, в основе которой лежат воспалительный процесс, прогрессирующая демиелинизация и повреждение аксонов. Заболевание характеризуется развитием многочисленных склеротических очагов преимущественно в белом веществе головного и спинного мозга, а также значительными функциональными нарушениями. Клиническими проявлениями рассеянного склероза являются нарушения в двигательной, координаторной, чувствительной сферах, расстройства зрения, слуха, а также изменения интеллекта [1]. Результаты клинических исследований подтверждают, что женщины болеют рассеянным склерозом в два раза чаще, чем мужчины [2, 3].

Целью данного исследования было изучить выраженность моторных нарушений при дебюте рассеянного склероза у крыс разного пола.

Материал и методы. Исследования проведены на 40 беспородных белых крысах (20 самок и 20 самцов), разделенных на опытные (с дебютом рассеянного склероза) и контрольные (интактные) группы по 10 особей. Для оценки половых различий поведения, моторных функций, а также эмоционального состояния животных применяли Суок-тест [4]. При тестировании крыс учитывали следующие показатели: латентный период вы-

хода из центральной зоны, ориентировочно-исследовательские реакции, горизонтальную активность, число переходов через центральную зону и соскальзываний задних лап, груминг, вегетативные проявления. Вычисляли среднее расстояние между остановками как отношение количества пройденных сегментов к количеству остановок. Кроме того, измеряли массу крыс и латентный период иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» [5]. Модель рассеянного склероза создавали путём индукции экспериментального аллергического энцефаломиелита посредством иммунизации аллогенными тканями головного (перивентрикулярная область, оливы) и спинного мозга в гомогенизированном виде в дозе 120 мг на одно животное с 0,2 мл полного адьюванта Фрейнда, подкожно в область шейных позвонков (во избежание развития локального очага воспаления на подушечках лап) [6]. Степень выраженности неврологических расстройств оценивали по шкале, предложенной Ю.Л. Житнухиным с соавт. [7]. Суок-тест и определение латентного периода иммобильности в указанном тесте «подвешивание за хвост» проводили на 7, 12, 16, 20 и 23-и сутки после введения антигенной смеси. Цифровые данные обрабатывали статистически с использованием непараметрических критериев Вилкоксона и Манна-Уитни.

© Т.М. Воробьёва, А.В. Шляхова, Е.В. Веселовская, 2012

Результаты и их обсуждение. При выполнении Суок-теста в поведении интактных самцов и самок крыс достоверных различий выявлено не было (рис. 1). Кроме того, животные не различались и по массе тела (рис. 2, А). Поскольку основным критерием формирования равноценных групп крыс (как интактных, так и с дебютом рассеянного склероза) служили показатели Суок-теста,

оказалось, что по показателям иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» самки обеих групп достоверно различались между собой (рис. 2, Б).

На 7-е сутки исследования интактные самки были более активны, чем иммунизированные антигенной смесью самки, что подтверждалось достоверным усилением исследовательской и горизонтальной активности.

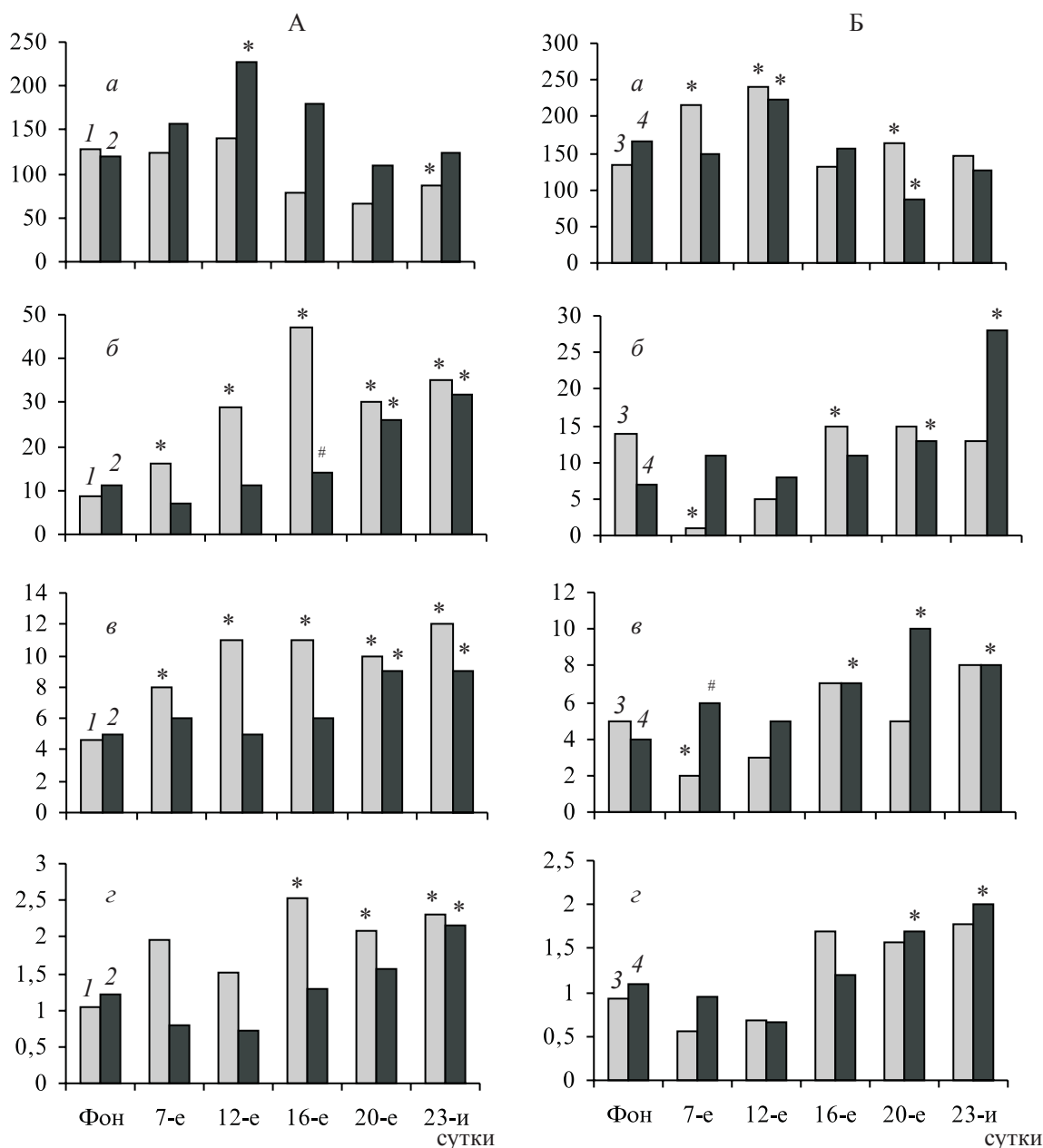


Рис. 1. Динамика показателей Суок-теста у самок контрольной (1) и опытной (2) групп (А) и самцов контрольной (3) и опытной (4) групп (Б):
a – латентный период выхода из центральной зоны, *б* – горизонтальная активность, *в* – исследовательская активность, *г* – среднее расстояние между остановками.
 $p < 0,05$; * по сравнению с фоном, # – по сравнению с контрольной группой

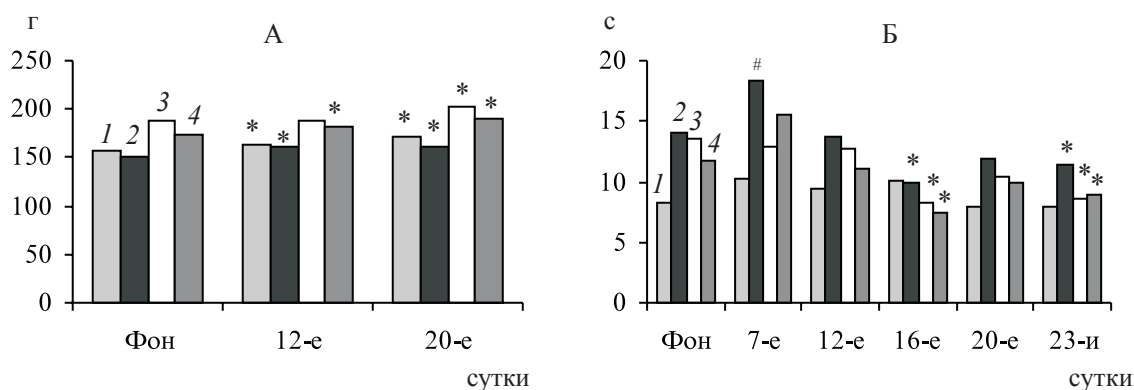


Рис. 2. Изменения массы (А) и латентного периода иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» (Б) у самок контрольной (1) и опытной (2) групп и самцов контрольной (3) и опытной (4) групп. $p < 0,05$; * по сравнению с фоном, # по сравнению с контрольной группой

Следует отметить, что активное поведение интактных самок сохранялось до конца исследования (см. рис. 1, А). У самок с дебютом рассеянного склероза выявлено достоверное повышение количества замираний по сравнению с интактными самками и количества соскальзываний задних лап с шеста в сравнении с фоном. У самцов с дебютом рассеянного склероза показатели исследовательской активности и вегетативных реакций были достоверно выше, чем у интактных самцов. Последние достоверно медленнее выходили из центральной зоны, чем до иммунизации, снижали горизонтальную и исследовательскую активность (рис. 1, Б).

На 12-е сутки после введения антигенной смеси животные обеих опытных групп (2-й и 4-й) были малоактивны, что привело к достоверному повышению латентного периода выхода их из центральной зоны до максимальных значений при низкой горизонтальной и исследовательской активности, в то время как самки контрольной группы (1-й и 3-й) были более активными и подвижными (рис. 1). На 16-е сутки после иммунизации у самцов с дебютом рассеянного склероза наблюдали достоверное усиление ориентировочно-исследовательских реакций и увеличение количества соскальзываний задних лап с шеста по сравнению с фоном, а вегетативных проявлений – по сравнению с интактной группой; у самок с дебютом рассеянного склероза отмечали снижение горизонтальной активности в сравнении с интактной группой (рис. 1). Кроме того, как у самцов, так и у самок с дебютом рассеянного склероза до-

стоверно увеличилась выраженность реакции замиранья. На 20-е сутки после иммунизации у самцов с дебютом рассеянного склероза на фоне максимально выраженной исследовательской активности снижался латентный период выхода из центральной зоны, усиливалась горизонтальная активность, увеличивалось среднее расстояние между остановками, и такое поведение у самцов данной группы сохранялось до конца наблюдений. У самок с дебютом рассеянного склероза в этот период отмечалось только усиление поисковой активности и груминга, и только в конце исследования (23-и сутки) – достоверное повышение горизонтальной и исследовательской активности и, как следствие, увеличение среднего расстояния между остановками (рис. 1, А). Следует отметить, что на 20-е – 23-и сутки после иммунизации двигательная и исследовательская активность самок интактной группы и с дебютом рассеянного склероза не различались, в то время как самцы с дебютом рассеянного склероза были гораздо активнее интактных (рис. 1, Б).

На протяжении исследования у животных как интактных, так и опытных групп увеличивалась масса тела (рис. 2, А). Латентный период иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» на 7-е сутки после иммунизации и у самок, и у самцов с дебютом рассеянного склероза имели тенденцию к повышению, при этом у самок по-прежнему сохранялись достоверные различия между показателями контрольной и опытной групп (рис. 2, Б). Следует отметить, что в этот период наблюде-

ния при выполнении указанного теста у всех крыс отмечались судорожные подёргивания задними конечностями и вращательные движения туловища, в дальнейшем таких реакций не наблюдалось.

На 12-е сутки после иммунизации латентный период иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» возвращался к исходным значениям, а на 16-е сутки отмечалось дальнейшее понижение данного показателя у самок с дебютом рассеянного склероза и у самцов обеих групп. В конце эксперимента (23-и сутки после иммунизации) у самок с дебютом рассеянного склероза и самцов обеих групп латентный период в тесте «подвешивание за хвост» уменьшался (рис. 2, Б). Следует отметить, что на 12-е сутки после введения антигенной смеси как у самок, так и у самцов (по одному случаю) отмечали проявление мышечной слабости. У 60 % самцов на 16-е сутки наблюдались атаксия, снижение тонуса хвоста, у 70 % самок подобные изменения были выявлены на 20-е сутки. Такие неврологические расстройства (1 балл по шкале [7]) к окончанию эксперимента сохранялись только у 30 % самцов, у самок они отсутствовали.

Таким образом, результаты проведённых исследований показали, что уже на 7-е сутки после введения антигенной смеси по показателям Суок-теста в поведении самок с дебютом рассеянного склероза достоверно увеличивалось количество замираний и соскальзываний задних лап с шеста по сравнению с фоном, что согласуется с данными [6] и позволяет сделать вывод о коротком латентном периоде развития болезни у самок. У самцов с рассеянным склерозом в этот период наблюдений на фоне усиления исследовательской активности по сравнению с самцами интактной группы нарушений вестибуломоторных функций не отмечалось. Однако латентный период иммобильности в тесте «подвешивание за хвост» увеличивался как у самок, так и у самцов, что возможно было первым симптомом развития рассеянного склероза у животных. На 12-е сутки после

иммунизации у животных опытных групп повышался латентный период выхода из центральной зоны в Суок-тесте, что сочеталось (в единичных случаях) с проявлением мышечной слабости. У самцов с дебютом рассеянного склероза сопряжённое повышение количества замираний и соскальзываний задних лап наблюдалось на 16-е сутки, что свидетельствует о более поздних сроках развития заболевания (у самок такие изменения показателей наблюдали уже на 7-е сутки). В этот же период у самцов проявлялись клинические признаки болезни в виде нарушений координации движений, снижения тонуса хвоста, которые у отдельных животных сохранялись до окончания эксперимента. У самок, несмотря на раннее выявление нарушений двигательных функций по показателям Суок-теста, неврологическая симптоматика проявлялась на более поздних сроках и была кратковременной. Интересно отметить постепенную активацию в первую очередь ориентировочно-исследовательского поведения, которая проявлялась у самцов на 16-е, а у самок на 20-е сутки после иммунизации, а затем и двигательных функций при проведении Суок-теста, что, по-видимому, свидетельствовало о нормализации физического состояния животных до наблюдающегося у интактных животных.

Выводы

1. В контрольных группах на протяжении всего периода исследований по показателям Суок-теста самки были более активны, чем самцы: они быстрее выходили из центральной зоны, проявляли более высокую горизонтальную и ориентировочно-исследовательскую активность.

2. В опытных группах после иммунизации антигенной смесью половые различия в поведении между животными по показателям Суок-теста не выявлены.

3. Предвестниками клинических признаков заболевания рассеянным склерозом у животных являлись мотосенсорные и вестибулярные дисфункции, а также нарушения в эмоциональной сфере.

Список литературы

1. *Віничук С. М.* Лікарєві про розсіяний склероз / С. М. Віничук // Нова медицина. – 2002. – № 2. – С. 20–29.

2. Превентивна терапія розсіяного склерозу: критерії призначення, перспективи використання / Н. П. Волошина, Т. С. Міщенко, Т. І. Негрич [та ін.] // Укр. неврол. журн. – 2007. – № 4. – С. 4–10.

3. Гендерные особенности преморбидного анамнеза и дебютов при прогрессирующих типах течения рассеянного склероза / Н. П. Волошина, Т. В. Негреба, Л. П. Терещенко [и др.] // Укр. вісник психоневрології. – 2011. – Т. 19, вып. 2 (67). – С. 13–16.

4. *Калуев А. В.* Суок-тест – новая поведенческая модель тревоги / А. В. Калуев, П. Туохимаа // Нейронауки. – 2005. – № 1. – С. 17–23.

5. *Лоскутова Л. В.* Сверхмалые дозы антител к белку S100 и пептиду дельта-сна: эффективность при депрессивно-тревожном состоянии у крыс / Л. В. Лоскутова, М. Б. Штарк, О. И. Эпштейн // Бюл. эксперим. биол. и мед. Приложение. – 2003. – С. 24–26.

6. Нейробиологические критерии оптимальной модели рассеянного склероза в эксперименте / П. В. Волошин, Т. М. Воробьева, Н. П. Волошина [и др.] // Укр. неврол. журнал. – 2004. – Вып. 12, № 1. – С. 48–55.

7. *Житнухин Ю. Л.* Особенности динамики циркулирующих и экспрессируемых цитокинов при индукции экспериментального аллергического энцефаломиелита / Ю. Л. Житнухин, И. Н. Абдурасулова, Е. А. Тарасова // Мед. иммунология. – 2008. – Т. 10, № 2–3. – С. 193–202.

Т.М. Воробйова, А.В. Шляхова, О.В. Веселовська

МОДЕЛЮВАННЯ ДЕБЮТУ РОЗСІЯНОГО СКЛЕРОЗУ У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

Проведено порівняльний аналіз рухової активності у самок і самців інтактних щурів і з модельним розсіяним склерозом. Протягом дослідження за показниками Суок-тесту інтактні самки були більш активними, ніж самці, а в групі після імунізації статевих відмінностей в поведінці тварин не відмічено. Показано, що провісниками клінічних ознак захворювання на розсіяний склероз у тварин були мотосенсорні й вестибулярні дисфункції, а також порушення в емоційній сфері.

Ключові слова: рухова активність, розсіяний склероз, статеві відмінності.

Т.М. Vorobjova, A.V. Shlyachova, E.V. Veselovskaya

MODELLING OF MULTIPLE SCLEROSIS DEBUT IN RATS OF DIFFERENT SEXES

The comparative analysis of motor activity has been conducted in female and male intact rats with the model of multiple sclerosis. Intact females were more active in Suok-test conditions than male ones. The sexual differences in the behavior between the animals were not observed after immunization. Motosensory and vestibular dysfunctions as well as emotional sphere disorders were the first clinical signs of the experimental multiple sclerosis.

Key words: motor activity, multiple sclerosis, sexual differences.

Поступила 01.03.12