

І. Ф. Лабунець, Н. О. Мельник, І. А. Кузьміна, О. В. Под’яченко, Г. М. Бутенко

Державна установа “Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України”, 04114 Київ

ВПЛИВ НЕЙРОТОКСИНУ “КУПРИЗОН” НА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ТА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ НЕЙРОНІВ ГОЛОВНОГО ТА СПИННОГО МОЗКУ У МИШЕЙ

Досліджено вплив демієлінізуючого препарату “Купризон” на поведінкову активність (тест “відкрите поле”) і стан нейронів кори головного і поперекового відділу спинного мозку дорослих мишей ліній C57Bl/6, 129/Sv і FVB. У піддослідних мишей всіх ліній спостерігається пригнічення поведінкової активності, прояви та інтенсивність якої мають міжлінійні відмінності. Встановлено більш виражений пригнічуючий вплив купризону на більшість поведінкових реакцій у мишей лінії 129/Sv (істотне зниження горизонтальної рухової і емоційної активності, “норкового” рефлексу у 4,5 рази). При морфологічних дослідженнях у сірій речовині головного і спинного мозку мишей всіх піддослідних груп виявлено структурно змінені нейрони; при цьому у мишей лінії 129/Sv ушкодження нейронів найбільш інтенсивні. У цих мишей частка незмінених нейронів, нейронів з помірними (реактивними) і вираженими (деструктивними) змінами була, відповідно, в головному мозку 2 %, 35 %, 63 % (при нормі 88 %, 12 %, 0 %), а у спинному мозку — 0 %, 6 %, 94 % (при нормі 93 %, 7 %, 0 %). Обговорюється можливість використання купризону для моделювання нейродегенерації і порушень поведінки при вивченні патогенезу розсіяного склерозу.

Ключові слова: купризон, нейрони головного і спинного мозку мишей, поведінкові реакції, демієлінізація, ремієлінізація.

Відомо, що при демієлінізуючих захворюваннях центральної та периферичної нервової системи людини основним патоморфологічним проявом є руйнування мієлінової оболонки нервових волокон і, як результат, порушення проведення нервових імпульсів і рухової активності [12, 17, 20].

До числа найбільш розповсюджених демієлінізуючих захворювань центральної нервової системи (ЦНС), які уражують переважно людей молодого віку, належить розсіяний склероз [16, 20]. Подальше поглиблене вивчення патогенезу розсіяного склерозу та пошук нових терапевтичних підходів потребують застосування *in vivo* адекватних експериментальних моделей цього захворювання [17]. Останнім часом закордонними авторами широко використовується токсична купризонова мо-

дель, яка поряд із такою визнаною моделлю розсіяного склерозу, як експериментальний алергічний енцефаломієліт (ЕАЕ), може використовуватись для дослідження механізмів демієлінізації та ремієлінізації [15, 23, 30]. Встановлено, що у мишей, які вживали купризон, прояви ураження ЦНС мають риси, подібні до розсіяного склерозу людини [30].

Купризон [біс(циклогексанон)-оксалдигідрозу] — це мідний хелатор, який у тварин (миші різних ліній, щури популяції Вістар) при пероральному введенні виявляє вибірково токсичну дію на зрілі олігодендроцити, що продукують мієлін [25, 30]. При цьому пригнічення активності цитохромоксидази, моноаміноксидази у мітохондріях олігодендроцитів супроводжується їх апоптозом і, як

Г. М. Бутенко — директор інституту, акад. НАМН України

Лабораторія експериментального моделювання

І. Ф. Лабунець — зав. лаб., д.м.н. (irina_Labunets@ukr.net)

Н. О. Мельник — с.н.с., д.м.н.

І. А. Кузьміна — с.н.с., к.б.н.

О. В. Под’яченко — м.н.с.

© І. Ф. Лабунець, Н. О. Мельник, І. А. Кузьміна, О. В. Под’яченко, Г. М. Бутенко, 2014.

результат, демієлінізацією аксонів нейронів. Спостерігається також активація мікроглії головного мозку із посиленням продукції таких прозапальних цитокинів як тумор-некротичний фактор альфа і гама-інтерферон, які є патогенетичною ланкою розвитку розсіяного склерозу.

Разом з тим, все більше дослідників вважають розсіяний склероз нейродегенеративним захворюванням [14, 36]. Зокрема, показано, що стан нейронів ЦНС є діагностичною ознакою демієлінуючого процесу [14]. Ушкодження нейронів, у свою чергу, може сприяти порушенню структури та функціонування відростків цих клітин і формуванню таких неврологічних симптомів, характерних для розсіяного склерозу людини, як зміни пам'яті, емоцій, інтелекту, вегетативні розлади, тощо [20]. Результати наших морфологічних досліджень на моделі ЕАЕ вказують на те, що у тварин, одночасно із демієлінізацією головного та спинного мозку, відбуваються деструктивні зміни тіл нейронів [12]. Проте у тварин можливість зв'язку змін поведінкових реакцій з ушкодженням нейронів ЦНС за умов вживання купризону залишається практично не дослідженою [27].

Відповідно до сучасних уявлень, розсіяний склероз є мультифакторним захворюванням, для розвитку якого мають значення як екзогенні (персистуюча вірусна інфекція, екологічні та кліматичні чинники), так і ендогенні (спадкова схильність, аутоімунні та гормональні, особливо стероїдні, порушення, стресові впливи) фактори [16, 17, 24]. Показано зміни чутливості мишей до впливу купризону залежно від їх лінії, проявом чого є різна демієлінізуюча доза препарату, ушкодження ним певних ділянок головного мозку та вираженість змін функції статевих і надниркових залоз [30].

Мета нашої роботи — оцінити та порівняти вплив купризону на особливості поведінкових реакцій і стан нейронів сірої речовини головного і спинного мозку у мишей різних ліній.

Матеріал та методи. Робота виконана на самцях дорослих інбредних мишей (4-4,5 міс) лінії *C57Bl/6* (генотип $H-2^b$), *FVB* “дикого типу” (генотип $H-2^a$), *129/Sv* (генотип $H-2^b$) із розплідника ДУ “Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України”. Підстави для вибору тварин були такі: миші лінії *C57Bl/6* найбільш широко використовуються в експериментах із купризоною демієлінізацією, *FVB* є чутливими до деяких типів вірусів і характеризуються віковими змінами функції надниркових залоз, *129/Sv* є стійкими до деяких стресових впливів і високочутливими до дії статевих гормонів [2, 23, 30, 31]. Крім того, миші цих ліній застосовуються у трансгенних технологіях, що може бути корисним для подальших досліджень [35].

Тварини знаходилися у стандартних умовах віварію при світловому режимі 12:12. Біологічний матеріал для досліджень брали у тварин під ефірним наркозом. Усі роботи з експериментальними тваринами проводили з дотриманням Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” (від 21.02.2006 р.), “Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою”, а також принципів біоетики та норм біологічної безпеки [19].

Миші піддослідних груп ($n = 24$) отримували купризон (*Sigma-Aldrich*, Німеччина) з їжею (із розрахунку 0,2 % від добового корму), щоденно, протягом трьох тижнів. Встановлено, що вже при такій тривалості вживання препарату у мишей спостерігається демієлінізація в ЦНС [30]. Групи контрольних тварин ($n = 15$) були на звичайному раціоні віварію. Всіх тварин зважували до і через 7, 14, 21 днів від початку прийому купризону. Показано, що втрата маси тіла є одним із проявів токсичного впливу купризону на організм тварин [30].

Для вивчення у тварин поведінкових реакцій використовували тест “відкритого поля”, який є одним із адекватних критеріїв оцінки рухових порушень при використанні нейротоксинів, у тому числі купризону [27]. Цей тест також дає змогу оцінити дослідницьку і емоційну активність тварин [1, 5]. Процедура тестування полягала в наступному: тварину поміщали в “Квадратне відкрите поле”, яке являє собою камеру з високими бортами ($60 \times 60 \times 60$ см). Для візуальної реєстрації горизонтальної рухової активності експериментальних тварин підлогу було розкреслено на 16 квадратів. У місцях перетинань ліній секторів у підлозі є отвори (9 штук) для оцінки заглядань у норки — “норковий” рефлекс. Ця ознака разом із вертикальною руховою активністю (підйом на задні лапи з опорою і без опори на стінку) характеризує дослідницьку діяльність тварин. Емоційну поведінку тварин (стан тривожності) оцінювали числом фекальних болюсів. Високий рівень дефекації вказує на тривожність тварини, її занепокоєння, страх. Як підкреслюють автори, миші є адекватним модельним об'єктом для вивчення емоційної поведінки та її порушень, оскільки нейрохімічні та молекулярні механізми, які є в їх основі, аналогічні тим, що є у людини [1, 26].

При вивченні поведінки мишей реєстрували протягом 3 хв число перетнутих квадратів, вертикальних стійок, заглядань у норки та фекальних болюсів. Поведінкові реакції оцінювали до і через три тижні вживання купризону або звичайного корму.

Для морфологічних досліджень ЦНС у мишей використовували забарвлення гістологічних зрізів

головного (кора) та спинного (поперековий відділ) мозку толюдиновим синім (за Нісслем) [8, 12]. Цей барвник вибірково зв'язується з мембранними структурами, що дозволяє за допомогою світлової мікроскопії діагностувати стан ядра та цитоплазми нейронів, а саме хроматофільної субстанції. Проводили стандартну обробку досліджуваного матеріалу ЦНС: зневоднення, ущільнення та заливку у суміш парафіну з воском. З отриманих парафінових блоків на автоматичному роторному мікромомі виготовлювали гістологічні зрізи товщиною 5-7 мкм.

При морфометричному аналізі (через три тижні вживання купризону) визначали відсоток незмінених нейронів і нейронів з помірними та вираженими структурними змінами. Виявлені порушення спостерігались у зміні форми тіла та ядра нейрона, особливостей розміщення хроматофільної речовини [22, 28]. Помірні зміни нейронів є реакцією на ушкодження і характеризувались зміщенням ядерця до ядерної оболонки та збільшенням розмірів ядра. Цитоплазма тіл нейронів була гіпохромною, хроматофільна речовина не визначалась. Виразені зміни нейронів є деструктивними [3, 9] і характеризувались зменшенням розмірів ядра, контури якого мали неправильну форму, ядерце не візуалізувалося. Розміри перикаріонів значно зменшувались і були гіперхромними.

При статистичному аналізі результатів використовували *t*-критерій Стьюдента [7].

Результати та їх обговорення. Встановлено, що після завершення прийому купризону миші всіх досліджуваних ліній втрачали масу тіла (табл. 1), що узгоджується з даним літератури [30]. Маса тіла мишей контрольних груп в аналогічні строки спостереження істотно не змінювалася.

Таблиця 1

Вплив вживання купризону на масу тіла мишей різних ліній, z ($M \pm m$)

Лінія мишей	Термін дослідження, доба			
	вихідний стан	7	14	21
FVB (n = 8)	22,13 ± 0,23	17,40 ± 0,45*	17,98 ± 0,91*	17,93 ± 0,83*
129/Sv (n = 8)	20,63 ± 0,30	16,68 ± 1,12*	16,70 ± 1,10*	15,95 ± 0,42*
C57Bl/6 (n = 8)	19,40 ± 0,47	18,70 ± 0,15	17,03 ± 0,58*#	15,00 ± 0,45*#α

Примітки: * — $P < 0,05$ порівняно з вихідним станом, # — $P < 0,05$ порівняно із 7-ю добою, α — $P < 0,05$ порівняно із 14-ю добою.

Поведінкові реакції мишей. У мишей різних ліній відзначаються певні відмінності проявів вихідної поведінки: горизонтальної та вертикальної рухової активності, орієнтовно-дослідницької ді-

яльності та емоційної активності (рис. 1). Після вживання купризону у мишей всіх ліній відбувалось пригнічення практично всіх досліджуваних поведінкових реакцій, прояви та інтенсивність яких мали міжлінійні особливості (див. рис. 1).

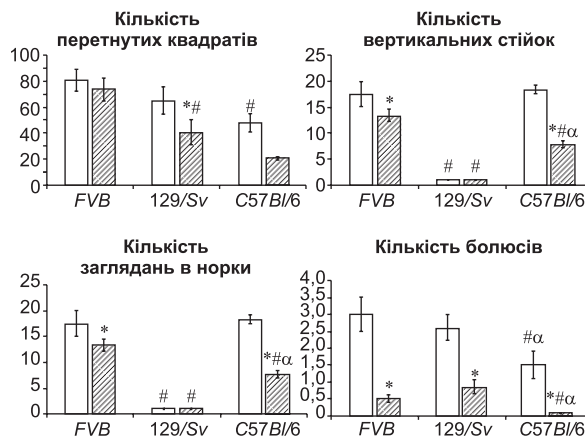


Рис. 1. Вплив 3-тижневого вживання купризону на поведінкові реакції у мишей різних ліній у тесті "відкрите поле": □ — до вживання купризону, ▨ — після вживання купризону. * — $P < 0,05$ порівняно з до вживання купризону; # — $P < 0,05$ порівняно з відповідною групою FVB; α — $P < 0,05$ порівняно з відповідною групою 129/Sv.

Так, істотне зниження горизонтальної рухової активності спостерігалось у мишей ліній 129/Sv і C57Bl/6 (відповідно, у 1,6 та 2,3 рази), вертикальної — у мишей ліній FVB і C57Bl/6 (відповідно, у 1,3 і 2,4 рази), "норкового" рефлексу — у мишей ліній 129/Sv і C57Bl/6 (відповідно, у 4,5 і 2,3 рази), емоційної активності — у мишей всіх ліній, особливо FVB і 129/Sv (відповідно, у 6 та 3,3 рази).

За даними літератури, інбредні лінії мишей істотно відрізняються за поведінковими реакціями, що частково можна пояснити відмінностями їх нейрохімічного та ендокринного балансу [1, 18]. Можна припустити існування подібних відмінностей і за умов вживання купризону і, як результат, наявність міжлінійних відмінностей поведінки у мишей.

За нашими даними, миші лінії C57Bl/6 є чутливими не лише до пригнічуючого впливу купризону на рухову активність [27], але й на всі інші прояви поведінки. Разом з тим, при порівнянні поведінкових реакцій у мишей цієї лінії та лінії 129/Sv виявилось, що в останніх купризон більш виражено пригнічує орієнтовно-дослідницьку та емоційну поведінку. Найменший пригнічуючий вплив препарату на поведінку виявлено у мишей лінії FVB. Ми не виключаємо можливості того, що ефект купризону буде досягнутий при збільшенні його

разової дози та тривалості вживання, що показано авторами у піддослідних мишей при дослідженні показників інших функцій організму [30].

Виявлені зміни поведінкових реакцій у мишей різних ліній, які вживали купризон, стали підґрунтям для проведення подальших морфологічних досліджень ЦНС.

Морфологічні зміни головного та спинного мозку у мишей. У наших попередніх експериментальних дослідженнях на моделі ЕАЕ була виявлена залежність демієлінізації стовбура головного мозку, мозочка та поперекового відділу спинного мозку від функціонального стану нейронів [11, 13]. За даними літератури відомо, що у мишей різних ліній, які вживали купризон впродовж 3-4 тижнів, відбувається демієлінізація таких ділянок головного мозку, як мозолисте тіло, мозочок, гіпокамп, кора, а також білої речовини спинного мозку [30].

У проведених нами морфологічних дослідженнях встановлено, що у мишей всіх ліній, які отримували купризон, у сірій речовині головного та спинного мозку виявляються структурно змінені нейрони; при цьому у мишей лінії 129/Sv зміни найбільш виражені (рис. 2, 3) [10].

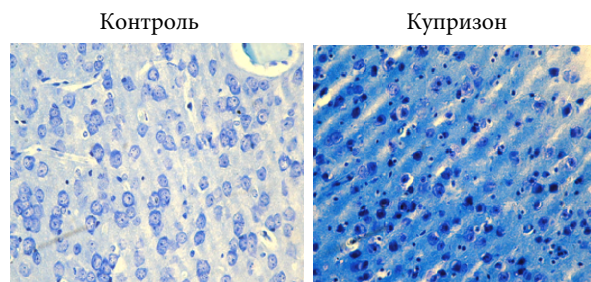


Рис. 2. Вплив 3-тижневого вживання купризону на стан нейронів кори головного мозку мишей лінії 129/Sv (толуїдиновий синій, $\times 400$). Пояснення у тексті.

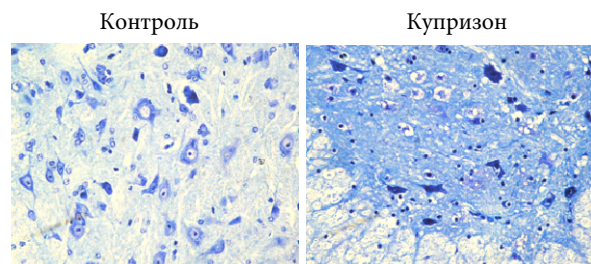


Рис. 3. Вплив 3-тижневого вживання купризону на стан нейронів поперекового відділу спинного мозку мишей лінії 129/Sv (толуїдиновий синій, $\times 400$). Пояснення у тексті.

Якщо у контрольних мишей лінії 129/Sv нейрони сірої речовини головного мозку у деяких

випадках мають збільшені розміри ядер (див. рис. 2), що вказує на фізіологічну активність цих клітин, то у мишей цієї лінії, які одержували купризон, практично всі нейрони у полі зору мають виражені зміни апоптотичного характеру — інтенсивно забарвлене ядро, ядерце не визначається, розміри перикаріону і ядра значно зменшені (див. рис. 2).

У контрольних мишей лінії 129/Sv нейрони сірої речовини поперекового відділу спинного мозку мають зміни реактивного характеру, що зумовлено фізіологічним станом даних клітин (див. рис. 3). У мишей цієї лінії, які одержували купризон, нейрони мають зміни деструктивного характеру: характерне інтенсивно забарвлене ядро, ядерце не визначається, розміри перикаріону та ядра значно зменшені; частина нейронів є інтенсивно гіперхромними, що вказує на початок апоптотичного процесу в цих клітинах (див. рис. 3).

При морфометричному аналізі встановлено, що структурні зміни нейронів сірої речовини головного та спинного мозку мишей досліджуваних ліній, які отримували купризон, мають різний характер — від реактивних (помірних) до виражених (деструктивних) (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив 3-тижневого вживання купризону на частоту виявлення морфологічних змін тіл нейронів сірої речовини головного та спинного мозку мишей, %

Група	Незмінені нейрони,	Помірні зміни	Виражені зміни
Кора головного мозку			
<i>C57Bl/6</i>			
контроль	94	6	0
купризон	57	43	0
<i>FVB</i>			
контроль	93	7	0
купризон	44	56	0
<i>129/Sv</i>			
контроль	88	12	0
купризон	2	35	63
Поперековий відділ спинного мозку			
<i>C57Bl/6</i>			
контроль	94	6	0
купризон	82	18	0
<i>FVB</i>			
контроль	95	5	0
купризон	42	58	0
<i>129/Sv</i>			
контроль	93	7	0
купризон	0	6	94

Відсоткові співвідношення нейронів із різними структурними змінами мають міжлінійні особливості (див. табл. 2). Так, у мишей ліній *C57Bl/6* і *FVB* підвищується лише відсоток нейронів із помірними структурними змінами, що, скоріше за все, свідчить

про активацію синтетичних процесів у відповідь на ушкодження [12, 22, 28]. Ряд авторів відзначають збільшення та набряк ядер при незначних пошкодженнях нейронів, що, на їх думку, пов'язано з компенсаторною реакцією нейрона, спрямованою на збільшення площі поверхні ядра [4, 29]. Це необхідно для синтезу групи білків, що беруть участь у відновленні пошкоджених структур нейрона.

Ознакою синтетичної активності нейрона є також зміна стану ядерця. При активації синтетичних процесів воно збільшується у розмірах і змінює свою локалізацію, зміщуючись до ядерної оболонки [21]. Хроматоліз у більшості випадків вказує на активацію білкового синтезу для власних потреб клітини. За умов хроматолізу нейрон за своєю функціональною активністю та синтетичними процесами ніби повертається до стану нейробласта [8]. Частина нейронів із помірними змінами спостерігається у ділянках ЦНС контрольних тварин, що узгоджується з даними літератури: незначна частина нейронів у інтактних тварин перебуває у стані функціональної активності [28].

Отже, ряд ознак, які були визначені у перикарионах з помірними змінами (збільшення розмірів ядра, зміщення ядерця до ядерної оболонки та хроматоліз) дозволяють зробити висновок щодо активації відновлювальних процесів у нейронах ЦНС мишей ліній C57Bl/6 і FVB через три тижні вживання купризону. Не виключено, що у мишей цих ліній ушкодження нейронів відбувалось у більш ранні строки і випереджало формування демієлінізації, яка, за даними літератури, принаймні у мишей лінії C57Bl/6, розвивається через три тижні прийому купризону з найбільшими її проявами через 5 тижнів вживання препарату [30].

Значні ушкодження нейронів, що характеризують апоптоз, ми спостерігали у головному та спинному мозку піддослідних мишей лінії 129/Sv, що свідчить про більш глибокі їх патологічні зміни. У літературі є дані щодо можливих механізмів апоптозу не тільки зрілих олігодендроцитів, але і нейронів у ділянках демієлінізації кори головного мозку тварин із ЕАЕ [33, 34]. Вважають, що дегенерація нейронів може мати відношення або слідувати за активацією

мікроглії, яка секретиє прозапальні цитокіни [23]. Має також значення розвиток оксидативного стресу в нервовій системі. Ми не виключаємо можливості існування таких механізмів і при купризонній моделі демієлінізації, оскільки подібні структурні зміни в нервовій системі показані на деяких лініях піддослідних мишей [23, 30, 32].

Отже, отримані результати свідчать про те, що у мишей, які отримували купризон, спостерігаються структурні зміни в нейронах головного та спинного мозку з найбільшим ушкодженням нейронів у мишей лінії 129/Sv. Це, можливо, пов'язано з особливостями їх нейрохімічного та ендокринного балансу, що буде предметом наших подальших досліджень.

За результатами морфологічних досліджень можна вважати, що купризонна модель демієлінізації, як і модель ЕАЕ, також може характеризуватись як нейродегенеративна. Отже, на ній можна вивчати чинники, які впливають як на демієлінізацію, так і на прояви нейродегенерації.

Результати морфологічних досліджень у мишей у значній мірі узгоджуються з даними оцінки поведінкових реакцій, що пов'язано з фізіологічними характеристиками тих відділів ЦНС, які були досліджені в даній роботі [6]. Так, у забезпеченні рухової активності мотонейрони спинного мозку взаємодіють із рядом структур головного мозку, зокрема корою. Наслідками порушень функціонування кори головного мозку можуть бути як зміни горизонтальної, так і вертикальної рухової активності. Крім того, кора головного мозку, поряд із гіпоталамусом і структурами лімбічної системи, є важливим компонентом формування емоційних проявів поведінкових реакцій. Зазначені вище дані літератури дають нам змогу вважати, що прояви рухових порушень та емоційної поведінки, які розвиваються за умов прийому купризону, є результатом не тільки демієлінізації ЦНС [30, 37], але й пов'язані з ушкодженням нейронів головного та спинного мозку.

Отже, купризонна модель демієлінізації є також адекватною експериментальною моделлю нейродегенерації та порушень поведінки, а тому може бути корисною при вивченні патогенезу розсіяного склерозу і обґрунтуванні підходів до його терапії.

Список використаної літератури

1. Амикишичева А. В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // Вестник ВОГиС. — 2009. — 13, № 3. — С. 529-542.
2. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: в 2 т. — СПб.: Наука, 2008. — Т. 2. — 434 с.
3. Белецкий В. К. Морфологический анализ физиологических и патологических реакций нейронов // Морфологическое выражение реактивности нервной системы в нормальных и патологических условиях. — Баку, 1967. — С. 134-135.
4. Бродский В. Я., Арефьева А. М., Кузнецова Л. П. О деструктивной фазе физиологической регенерации нейрона // Цитология. — 1966. — № 8. — С. 662-664.
5. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. — М.: Высшая школа, 1991. — 399 с.

6. Ганонг В. Ф. Физиология людини. — Львів: БаК, 2002. — 784 с.
7. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. — М.: Практика, 1999. — 334 с.
8. Жаботинский Ю. М. Реактивные процессы в центральной нервной системе в норме и патологии // Морфологическое выражение реактивности нервной системы в нормальных и патологических условиях. — Баку, 1967. — С. 129-130.
9. Жаботинский Ю. М. Нормальная и патологическая морфология нейронов. — Л.: Медицина, 1965. — 323 с.
10. Лабунець І. Ф., Мельник Н. О., Кузьміна І. А., Бутенко Г. М. Спосіб моделювання структурних змін нейронів центральної нервової системи при демієлінізуючих захворюваннях: Патент № 94458 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01). — № u 2014 06622. — Опубл. 10.11.2014. Бюл. № 21.
11. Лисяний Н. И., Маркова О. В., Бельская Л. Н. Применение нейральных стволовых клеток для лечения демиелинизирующих заболеваний // Нейрогенная дифференцировка стволовых клеток. — К., 2005. — С. 228-255.
12. Мельник Н. О. Морфометричні показники нейронів Пуркін'є при демієлінізації, після лазерного опромінення та використання препарату “Ребіф” // Медицина сьогодні і завтра. — 2004. — № 2. — С. 47-49.
13. Мельник Н. О. Структура деяких органів нервової та імунної систем за умов демієлінізації та ремієлінізації: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — К., 2005. — 38 с.
14. Мельник Н. О., Чайковський Ю. Б. Структурні особливості нейронів стовбура головного мозку та спинного мозку при демієлінізації та після використання препарату “Ребіф” // Тавричеський мед.-біол. вестник. — 2004. — 7, № 4. — С. 86-88.
15. Негрич Т. І. Характеристика деструктивних процесів при розсіяному склерозі: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Харків, 2004. — 36 с.
16. Нижегородова Д. Б., Эберль М., Зафранская М. М. Современные аспекты иммунопатогенеза рассеянного склероза // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2005. — № 2. — С. 44-55.
17. Пивнева Т. А. Механизмы демиелинизации при рассеянном склерозе // Нейрофизиология. — 2009. — 41, № 5. — С. 429-437.
18. Пишель И. Н., Дубилей Т. А., Рушкевич Ю. Е. Полиморфизм возрастных иммунологических, эндокринных и нейрохимических изменений у мышей разных линий // Пробл. старения и долголетия. — 2006. — 15, № 4. — С. 310-318.
19. Резніков О. Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. — 2003. — 8, № 1. — С. 142-145.
20. Суслина З. А., Завалишин И. А. Рассеянный склероз: от представлений о патогенезе к лечению // Неврологический вестник. — 2010. — 1. — С. 6-8.
21. Ярыгин Н. Е., Ярыгин В. Н. Патологические и приспособительные изменения нейрона. — М.: Медицина, 1973. — 191 с.
22. Яценко В. П. Морфология и реактивные изменения афферентных нейронов сенсорного ганглия в онтогенезе: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Киев, 1989. — 34 с.
23. Acs P., Kalman B. Pathogenesis of multiple sclerosis: what can we learn from the cuprizone model // Methods Mol Biol. — 2012. — 900. — P. 403-431.
24. Barcellos L. F., Oksenberg J. R., Green A. J. et al. Multiple Sclerosis Genetics Group. Genetic basis for clinical expression in multiple sclerosis // Brain. — 2002. — 125, № 1. — P. 150-158.
25. Basoglu H., Boylu N. T., Kose H. Cuprizone-induced demyelination in Wistar rats; electrophysiological and histological assessment // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. — 2013. — 17, № 20. — P. 2711-2717.
26. Fisch G. S. Animal models and human neuropsychiatric disorders // Behav. Genet. — 2007. — 37, № 1. — P. 1-10.
27. Franco-Pons N., Torrente M., Colomina M. T., Vilella E. Behavioral deficits in the cuprizone-induced murine model of demyelination/remyelination // Toxicol. Lett. — 2007. — 30, № 3. — P. 205-213.
28. Friede R. L., Samorajski T. Axon caliber related to neurofilaments and microtubules in sciatic nerve fibers of rats and mice // Anat. Res. — 1970. — 167, № 4. — P. 379-387.
29. Hyden H. The neuron // The Cell. — 1960. — 4. — P. 215-323.
30. Kipp M. I., Clarner T., Dang J. et al. The cuprizone animal model: new insights into an old story // Acta Neuropathol. — 2009. — 118, № 6. — P. 723-736.
31. Mahler J. F., Stokes W., Mann P. C. et al. Spontaneous lesions in aging FVB/N mice // Toxicol. Pathol. — 1996. — 24, № 6. — P. 710-716.
32. Pasquini L. A., Calatayud C. A., Bertone Uña A. L. et al. The neurotoxic effect of cuprizone on oligodendrocytes depends on the presence of pro-inflammatory cytokines secreted by microglia // Neurochem. Res. — 2007. — 32, № 2. — P. 279-292.
33. Peterson J. W., Bö L., Mörk S. et al. Transected neurites, apoptotic neurones, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis // Ann. Neurol. — 2001. — 50, № 33. — P. 389-400.
34. Peterson J. W., Bö L., Mörk S. et al. VCAM-1 positive microglia target oligodendrocytes at the border of multiple sclerosis lesions // J. Neuropathol. Exp. Neurol. — 2002. — 61, № 6. — P. 539-546.
35. Silvestroff L., Bartucci S., Soto E. et al. Cuprizone-induced demyelination in CNP:GFP transgenic mice // J. Comp. Neurol. — 2010. — 518, № 12. — P. 2261-2283.
36. Wegner C., Esiri M. M., Chance S. A. et al. Neurocortical neuronal, synaptic and glial loss in multiple sclerosis // Neurology. — 2006. — 67, № 6. — P. 960-967.
37. Xu H., Yang H. J., Zhang Y. et al. Behavioral and neurobiological changes in C57Bl/6 mice exposed to cuprizone // Behav. Neurosci. — 2009. — 123, № 2. — P. 418-429.

Одержано 10.08.2014

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОТОКСИНА “КУПРИЗОН” НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО И СПИННОГО МОЗГА У МЫШЕЙ

И. Ф. Лабунец, Н. О. Мельник, И. А. Кузьминова, О. В. Подъяченко, Г. М. Бутенко

Государственное учреждение “Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины”, 04114 Киев

Исследовано влияние нейротоксина “Купризон” на поведенческую активность (тест “открытое поле”) и состояние нейронов коры головного и поясничного отдела спинного мозга взрослых мышей линий C57Bl/6, 129/Sv и FVB. У подопытных мышей всех линий наблюдается угнетение поведенческой активности, проявления и интенсивность которой имеют межлинейные отличия. Установлено более выраженное угнетающее влияние купризона на большинство поведенческих реакций у мышей линии 129/Sv (снижение горизонтальной двигательной, эмоциональной активности и “норкового” рефлекса в 4,5 раза). При морфологических исследованиях в сером веществе головного и спинного мозга мышей всех подопытных групп выявлены структурно измененные нейроны; при этом у мышей линии 129/Sv повреждения нейронов наиболее интенсивные. У этих мышей доля неизмененных нейронов, нейронов с умеренными (реактивными) и выраженными (деструктивными) изменениями была, соответственно, в головном мозге 2 %, 35 %, 63 % (при норме 88 %, 12 %, 0 %), а в спинном мозге — 0 %, 6 %, 94 % (при норме 93 %, 7 %, 0 %). Обсуждается возможность использования купризона для моделирования нейродегенерации и нарушений поведения при изучении патогенеза рассеянного склероза.

EFFECT OF NEUROTOXIN “CUPRIZONE” ON BEHAVIORAL REACTIONS AND MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF CEREBRAL AND SPINAL CORD NEURONS IN MICE

I. F. Labunets, N. O. Melnyk, I. A. Kuzminova, O. V. Pod'iachenko, G. M. Butenko

State Institution “Institute of Genetic and Regenerative Medicine NAMS Ukraine”, 04114 Kyiv

The effect of neurotoxin “Cuprizon” on behavioral activity (“open field” test) and on structure of neurons of cerebral cortex and lumbar part of spinal cord was studied in adult C57Bl/6, 129/Sv, FVB mice. Behavioral activity was inhibited in experimental mice of all strains, its manifestations and intensity having inter-strain differences. Revealed was a more marked inhibiting effect of cuprizon on the majority of behavioral reactions in 129/Sv mice (essential decrease of horizontal motor and emotional activity, and 4.5-fold decrease of “hole” reflex). The results of morphological investigations revealed structurally modified neurons in the gray matter of the brain and spinal cord of all experimental groups of mice, but in 129/Sv mice the damage of neurons was more intensive. The share of intact neurons and neurons with moderate (reactive) and marked (destructive) changes in these mice was 2 %, 35 %, 63 % in the brain (in normal 88 %, 12 %, 0 %), and in the spinal cord — 0 %, 6 %, 94 % (in normal 93 %, 7 %, 0 %), respectively. The possibility of using cuprizon for modeling neurodegeneration and disturbance of behavior in the study of pathogenesis of multiple sclerosis is discussed.