

# ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЦНС ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЕЙ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА РАЗНОГО ПОЛА

Предтеченская Е.В., Сорокина И.В., Айдагулова С.В., Гузев А.К.

*Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,  
Лаборатория фармакологических исследований НИОХ СО РАН, Новосибирск*

**Цель исследования:** оценить динамику морфологических изменений ЦНС у экспериментальных животных разного пола с длительной купризоновой интоксикацией.

**Материалы и методы.** В опыте использовались самцы и самки мышей линии C57BL/6 (по 20 особей) нативные животные сходных характеристик. Купризоновая модель создавалась по известному протоколу. Длительность эксперимента – 12 нед. Первой точкой отсчета стало исследование на пике демиелинизации – 6 нед. Вторая точка отсчета – 12 нед. от начала купризоновой диеты.

Проведено гистологическое исследование образцов мозолистого тела с помощью трансмиссионной электронной микроскопии ультратонких срезов. На 37 и 84 дни воздействия купризона половина животных из каждой группы была выведена из эксперимента методом декапитации.

Изучение ультратонких срезов и получение электронограмм проводились при увеличении в 5000, 12000 30000 раз с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEM 1400 (Jeol, Япония) с цифровой камерой Veleta (EMSIS, Германия) и программным обеспечением iTEM (Jeol, Япония). При анализе электронограмм отсчитано по 300 аксонов в каждой группе.

Результаты гистологического исследования.

*Самки: первая точка – пик демиелинизации (6 недель)*

группе самок сформированы выраженные диффузные нарушения ультраструктуры миелина, олигодендроцитов и менее значительные признаки аксонопатии. Возле олигодендроцитов (ОДЦ), имеющих умеренные выраженные нарушения ультраструктурной организации цитоплазмы, наблюдается отек межклеточного мат-рикса и значительная деградация миелина вплоть до его полного отсутствия. Ряд ОДЦ демонстрирует полный распад с образованием конденсированных структур высокой электронной плотности, в окружении разрушенных ОДЦ наблюдается грубая демиелинизация с минимальной прослойкой миелина вокруг нормальных аксонов. Сохраненные в небольшом количестве миелинизированные аксоны сопровождаются неравномерным расслоением миелиновой оболочки и появлением мегамитохондрий в аксонах.

*Самки: вторая точка – хроническая демиелинизация (12 недель)*

группе самок с купризоновой интоксикацией сохраняются множественные участки клеточной гибели с наиболее выраженной демиелинизацией и валлеровой дегенерацией аксонов в данных зонах. Клеточные структуры проявляют признаки полного разрушения или явления конденсации органелл, что также свидетельствует о тяжелых дистрофических нарушениях, приводящих в дальнейшем к гибели. Наряду с этими дегенеративными нарушениями прослеживаются множественные участки с отсутствием патологических изменений или незначительными признаками отслойки миелина, а также интактные аксоны с тонкой миелиновой оболочкой, что можно расценивать как очаги спонтанной ремиелинизации. Аксоны без демиелинизации или с минимальными проявлениями соседствуют с полностью демиелинизированными или дегенерировавшими по валлерову типу аксонами, а также с участками, демонстрирующими признаки постепенного восстановления миелиновой оболочки (рис. 1).

Таким образом, у самок наибольшие морфологические изменения связаны с острейшей диффузной демиелинизацией, зарегистрированной на 6 нед. купризоновой диеты, в то время как на 12 нед. заметны признаки спонтанной ремиелинизации.

*Самцы: первая точка – пик демиелинизации (6 недель)*

Исследование в группе самцов с купризоновой интоксикацией на 6 неделе демонстрирует выраженные явления демиелинизации с явным нарушением ультраструктуры большого количества аксонов и участками валлеровой дегенерации. ОДЦ полиморфны, многие клетки со свободными рибосомами, что отражает повышение внутриклеточной регенерации. Аксоны, окружающие ОДЦ с подобными нарушениями, имеют более выраженные признаки повреждения миелина и аксонопатию.

*Самцы: вторая точка – хроническая демиелинизация (12 недель)*

Эта стадия купризоновой интоксикации у самцов смещает морфологическую картину в сторону тяжелых ультраструктурных поражений аксонов (аксонопатии) с множеством мелких митохондрий. Встречаются как слабо измененные миелиновые оболочки аксонов, так и аксоны в состоянии валлеровой дегенерации. Наиболее демонстративно для этой группы значительное увеличение количества астроцитов в мозолистом теле, что можно расценивать как распространенный астроглиоз. Астроциты часто располагаются рядом с сохраненными олигодендроцитами (рис. 2).

Для всех групп животных был проведен морфометрический анализ (табл. 1).

научные Статьи

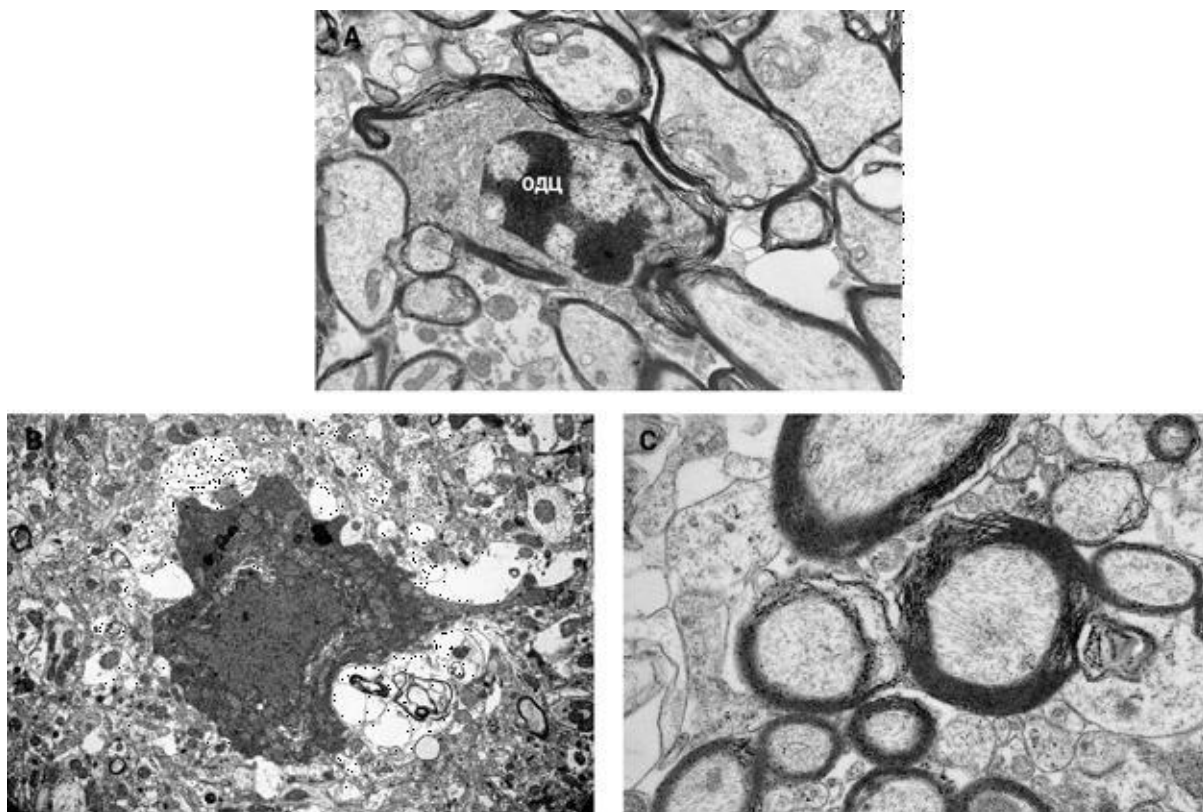


Рис. 1

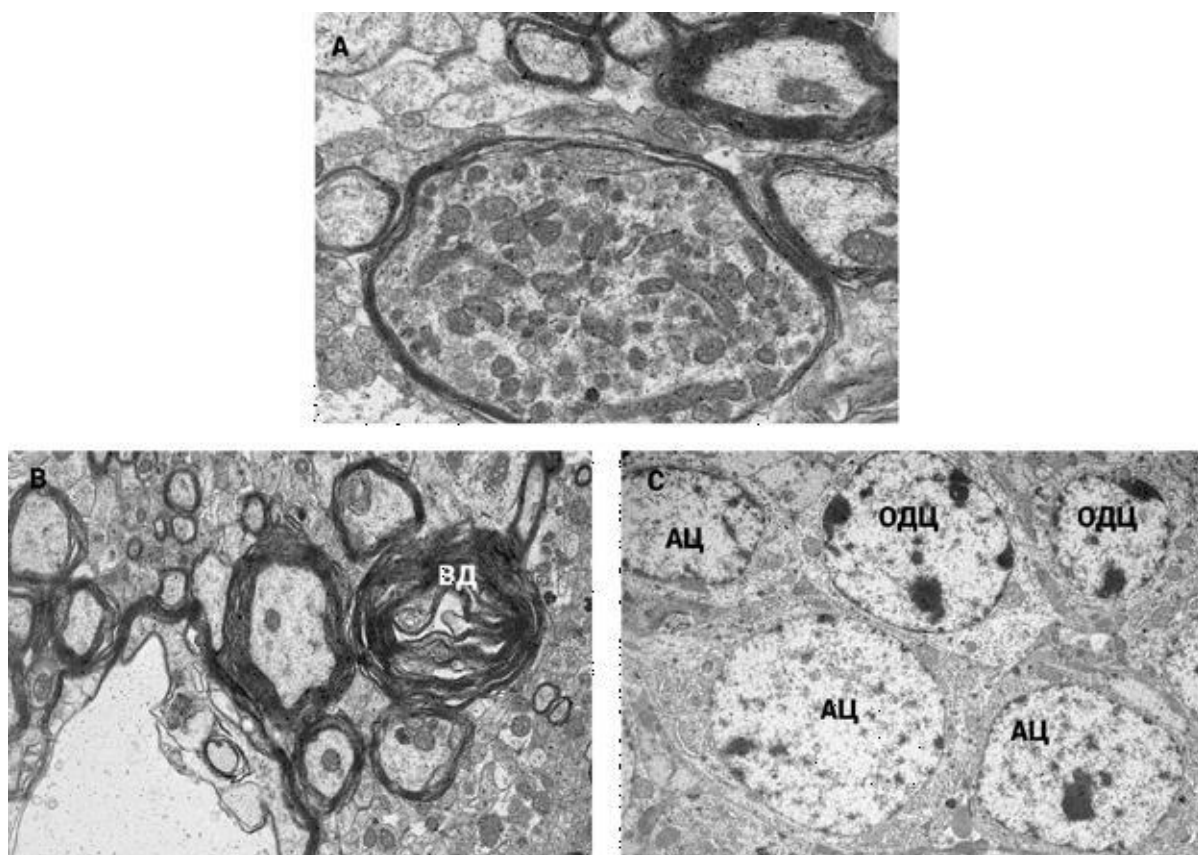


Рис. 2

Таблица 1

Количество демиелинизированных аксонов в поле зрения (ув. 5000)			
Самки		Самцы	
Интakтный контроль	2,33±0,43	Интakтный контроль	2,64±0,84
Купризон, 6 недель	59,46±2,84	Купризон, 6 недель	48,96±3,96
Купризон, 12 недель	18,71±2,10	Купризон, 12 недель	41,15±3,02
Количество аксональных дегенераций в поле зрения			
Самки		Самцы	
Интakтный контроль	0,32±0,09	Интakтный контроль	0,29±0,11
Купризон, 6 недель	0,52±0,15	Купризон, 6 недель	0,13±0,07
Купризон, 12 недель	2,19±0,28	Купризон, 12 недель	1,08±0,20

Таким образом, длительная купризоновая интоксикация у самок демонстрирует тяжелую демиелинизацию в острой стадии с умеренными признаками аксонопатии, а также восстановление структуры ОДЦ и миелина (спонтанная ремиелинизация) к 12 неделе. У самцов признаки валлеровой дегенерации с поражением миелина и аксонов прослеживаются как в остром периоде, так и на этапе хронической демиелинизации, однако наиболее заметным является процесс диффузного астроглиоза, что дает основание говорить как о классической нейродегенерации, так и об аккомпанирующем ненейрональном дегенеративном процессе.

#### Литература

- Hibbits N. Astrogliosis during acute and chronic cuprizone demyelination and implications for remyelination. / N. Hibbits, J. Yo-shino, T. Q. Le, and R. C. Armstrong // ASN Neuro. – 2012. – vol.4 – №6. – P.393–408.
- Hibbits N. Cuprizone demyelination of the corpus callosum in mice correlates with altered social interaction and impaired bilateral sensorimotor coordination.” / N. Hibbits, R. Pannu, T. J. Wu, and R. C. Armstrong // ASN Neuro.- 2009. – vol.1. – №3. – P.153–164.
- Armstrong R. C. Endogenous Cell Repair of Chronic Demyelination” / R. C. Armstrong, T. Q. Le, N. C. Flint, A. C. Vana, and Y.-X. Zhou // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 2006. – vol.65. – №3. – P.245–256.
- Skipuletz T. Cortical Demyelination Is Prominent in the Murine Cuprizone Model and Is Strain-Dependent / T. Skipuletz et al. // Am. J. Pathol. – 2008. – vol.172 – №4. – P.1053–1061.
- Kramann N. Laquinimod prevents cuprizone-induced demyelination independent of Toll-like receptor signaling / N. Kramann, L. Menken, L. Hayardeny, U.-K. Hanisch, and W. Brück, Neurol. // Neuroimmunol. Neuroinflammation. – 2016. – vol.3. – №3. P.е233.
- Bruck W. Reduced astrocytic NF-κB activation by laquinimod protects from cuprizone-induced demyelination / W. Brück et al. // Acta Neuropathol. -2012. – vol.124. – №3. – P. 411–424.
- 7, Bando Y. Abnormal morphology of myelin and axon pathology in murine models of multiple sclerosis / Y. Bando et al. // Neurochem. Int. – 2015. – vol.81. – P.16–27.