



Формування експериментального аутоімунного енцефаломієліту у потомства чутливих і стійких до його індукції щурів як моделі «сімейних» форм розсіяного склерозу

В. В. Гейко
О. Г. Берченко
С. В. Утевська

Державна установа
 «Інститут неврології,
 психіатрії та наркології
 НАМН України», Харків
 61068, Україна

Гейко



Валентина Василівна
 vvgeiko@gmail.com

З використанням 142 нелінійних білих щурів обох статей проведено аналіз сприйнятливості та стійкості щодо індукції експериментального аутоімунного енцефаломієліту (ЕАЕ) і тяжкості його клінічного перебігу залежно від материнської та батьківської ліній спадкової обтяженості. Показано, що рівень захворюваності самок не залежить від типу спадкової обтяженості, а підвищена чутливість до розвитку ЕАЕ у самців пов'язана з обтяженістю за лінією батька. Результати дослідження свідчать про можливість реалістичного моделювання «сімейних» форм експериментального розсіяного склерозу на основі селекції тварин-плідників за ознакою чутливості та стійкості щодо індукції ЕАЕ з використанням нелінійних лабораторних щурів.

Ключові слова: експериментальний аутоімунний енцефаломієліт, статеві особливості, тип спадкової обтяженості, рівень захворюваності, тяжкість перебігу ЕАЕ.

Для цитування: Гейко В. В., Берченко О. Г., Утевська С. В. Формування експериментального аутоімунного енцефаломієліту у потомства чутливих і стійких до його індукції щурів як моделі «сімейних» форм розсіяного склерозу // Журнал Національної академії медичних наук України. – 2019. – Т. 25, № 1. – С. 21–24.

Створення і застосування експериментальних моделей патологічних станів з використанням лабораторних тварин є не лише ефективним методом вивчення етіології та патогенезу різноманітних захворювань, а й надає можливість виявлення факторів ризику і предикторів розвитку, що сприяє розробці адекватних підходів до їх лікування та профілактики. Сьогодні вважається доведеним існування біологічної схильності до розсіяного склерозу (РС), який є захворюванням полігенної природи з високою генетичною гетерогенністю [8]. Відомо, що родичі хворих на РС характеризуються більш високим, на відміну від популяції в цілому, ризиком його розвитку [7, 18], до того ж величина цього ризику корелює зі ступенем спорідненості, батьківським походженням генів і статтю пацієнта [9, 13, 17, 20].

Одним із факторів ризику РС є біологічні особливості людей і тварин, зумовлені генами, пов'язаними з основним комплексом гістосумісності II типу [14, 21], які також відіграють вирішальну роль у контролі сприйнятливості щодо індукції експериментального аутоімунного енцефаломієліту (ЕАЕ) у різноманітних ліній лабораторних щурів [11, 15]. Проте досить висока вартість лінійних тварин може обмежувати можливість експериментальних досліджень, тому моделювання різноманітних аспектів формування демієлінізуючих порушень, у тому числі сімейних форм РС з ви-

користанням безпородних щурів становить теоретичний та практичний інтерес.

Беручи до уваги мультифакторіальну природу РС, розвиток якого зумовлений взаємодією екзогенних впливів [4, 19] і особливостей структури та експресії генів [7, 5], визначення факторів ризику і створення комплексних моделей біологічної схильності щодо розвитку аутоімунної демієлінізуючої патології є актуальною задачею неврологічних досліджень. Тим паче на фоні вдосконалення сучасних терапевтичних стратегій, що дають можливість підтримувати задовільну якість життя і поширюють можливості реалізації репродуктивних функцій у хворих на РС, все більшої актуальності набуває проблема ролі хронічного захворювання батьків у забезпеченні ризику його розвитку у дітей. Це підкреслює важливість фундаментальних досліджень «сімейних» форм РС для ідентифікації та прогнозування ризиків розвитку захворювання в обтяженого потомства.

Відповідно до цього доцільним є моделювання «сімейних» форм експериментального РС на основі селекції тварин-плідників за ознакою чутливості та стійкості до індукції ЕАЕ і подальшого спарювання для отримання потомства з обтяженою спадковістю. Метою дослідження було вивчення рівня захворюваності й тяжкості клінічного перебігу ЕАЕ у щурів різної статі залежно від типу спадкової обтяженості з урахуванням материнської та батьківської ліній.

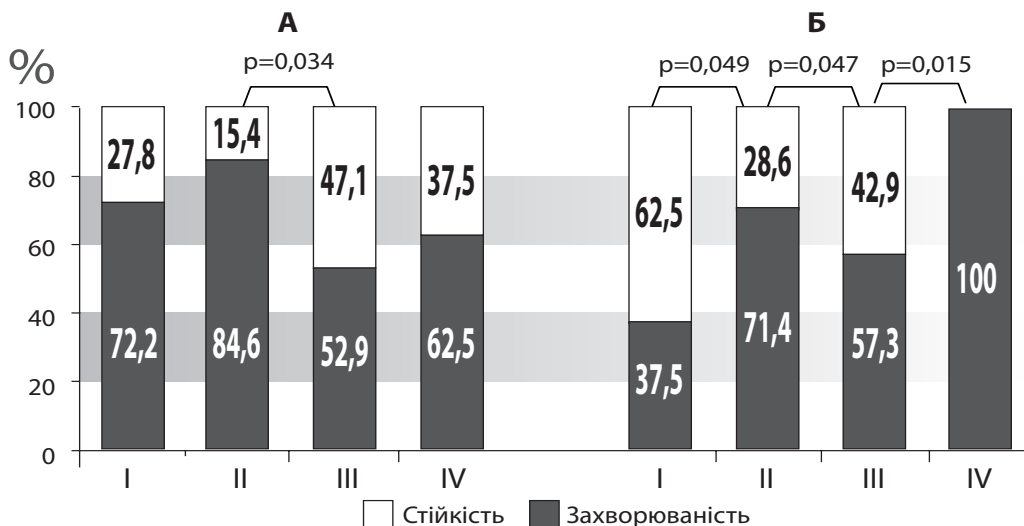


Рис. 1. Статеві особливості рівня захворюваності потомства залежно від типу спадкової обтяженості

Умовні позначення:
А – самки, Б – самці.

I група – потомство стійких щурів;
II – потомство самки і самця, що хворіли;
III – обтяженість за материнською лінією;
IV – обтяженість за батьківською лінією.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

Усі процедури з експериментальними тваринами схвалені Комісією з питань етики і деонтології ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України» та виконані відповідно до «Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» (№ 249 від 01.03.2012), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006).

Робота виконана з використанням 142 імунізованих нелінійних лабораторних білих щурів репродуктивного віку (від 4 до 7 місяців), серед яких 30 плідників потомства. Дослідження впливу спадкової обтяженості на чутливість до індукції ЕАЕ проводилося в 4 групах дослідних тварин: I група (18♂, 16♀) – потомство стійких щурів; II група (13♂, 14♀) – потомство самки і самця, що хворіли (тотальна сімейна обтяженість); III група (17♂, 14♀) – обтяженість за материнською лінією (самка, що хворіла, та стійкий самець); IV група (10♂, 10♀) – обтяженість за батьківською лінією (стійка самка та самець, що хворів).

Експериментальний аутоімунний енцефаломієліт індукували внаслідок одноразової імунізації щурів енцефалітогенною сумішшю, яку готували екстерге з гомогенату тканин алогенного спинного мозку з повним ад'ювантом Фрейнда («Sigma-Aldrich», США) в дозі 55 мг на 100 г маси тіла тварини з інокуляцією підшкірно у підшовні поверхні задніх кінцівок. День інокуляції антигена вважався нульовим днем експерименту. Оцінку неврологічного статусу здійснювали на основі реєстрації

часу (добы) появи перших ознак захворювання, його тривалості з урахуванням збереженості та редукції неврологічної симптоматики.

Тяжкість перебігу ЕАЕ щодня оцінювали за 6-бальною шкалою на основі обчислення індивідуальних клінічних індексів виразності та поширення неврологічних порушень у вигляді зниження м'язового тону, розвитку атаксії, парезів і паралічів кінцівок і хвоста, дисфункції тазових органів та дихальної мускулатури, тремору, тонічних і клонічних судом, бокового положення та ін.

Повну відсутність неврологічних відхилень при збереженні вихідної маси тіла приймали за 0 балів; помірно виражені порушення, зміну тону хвоста, втрату маси тіла до 5 % – 1 бал; м'язову слабкість, атаксію, зниження ваги від 5 до 10 % – 2 бали; геміпарези кінцівок, порушення координації рухів, зниження ваги від 10 до 15 % – 3 бали; параліч задніх кінцівок, порушення функцій тазових органів, зниження маси тіла від 15 до 20 % – 4 бали; загальне виснаження із втратою ваги більш як 20 %, бокове положення, агональний стан – 5 балів; летальний кінець – 6 балів.

У кожній групі обчислювали абсолютну та відносну кількість тварин, що захворіли, і представленість тяжких форм (більш як 2,5 бала) перебігу ЕАЕ.

Статистичну обробку результатів дослідження для визначення вірогідності відмінностей між групами порівняння проводили із застосуванням програми «Excel» і непараметричного t-критерію Стьюдента, пакету програм «Statgraph» і «Statistica 8.0» (критерій Фішера).

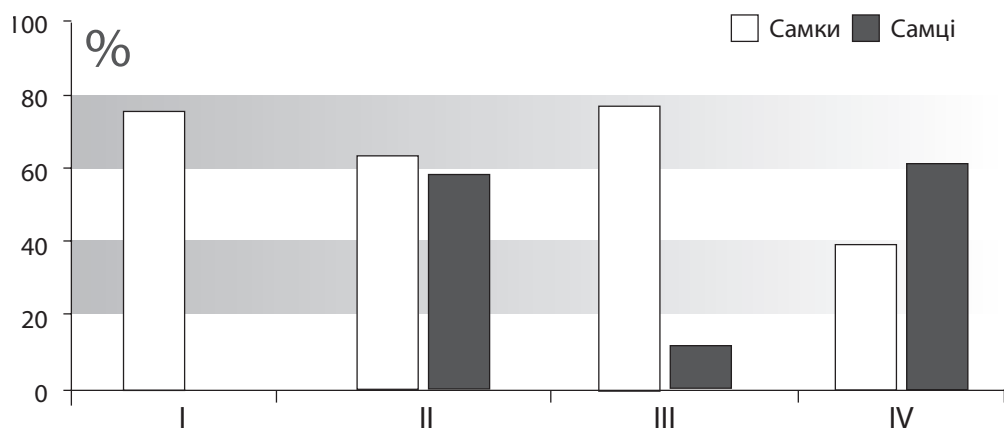


Рис. 2. Представленість тяжких форм перебігу ЕАЕ (від 2,6 до 6,0 балів) у нащадків залежно від типу спадкової обтяженості.

Умовні позначення:

I група – потомство стійких щурів; II група – потомство самки і самця, що хворіли;
III група – обтяженість за материнською лінією;
IV група – обтяженість за батьківською лінією.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз рівня захворюваності самок не виявив вірогідних відмінностей між потомством стійких щодо індукції ЕАЕ плідників (I група) та залежності від типу спадкової обтяженості (рис. 1, А). Порівняно з цим групі відмінності захворюваності самців – нащадків стійких тварин (I група) і тих, що хворіли (II група), досягали рівня вірогідної значущості ($p = 0,049$), характеризуючись у IV групі (обтяженість за лінією батька) максимальною представленістю чутливих до індукції ЕАЕ щурів (рис. 1, Б).

Звертаючи увагу на те, що серед хворих на РС переважають жінки, отримані результати, вочевидь, свідчать про більш виражену чутливість самок щодо провокуючих факторів. У даному випадку – до введення аутологічних антигенів ЦНС за стандартних умов моделювання ЕАЕ, що, ймовірно, пов'язано з біологічними особливостями жіночого організму.

Підвищена захворюваність (до 100 %) нащадків-самців, обтяжених за батьківською лінією, поряд з її зменшеними значеннями (57,1 %) у групі від матерів, що хворіли ($p = 0,015$), певно, вказує на вагомий внесок спадкової обтяженості у забезпечення ризику розвитку експериментального РС у потомства чоловічої статі. А той факт, що лише 37,5 % самців із потомства стійких до індукції ЕАЕ тварин характеризуються схильністю до його розвитку, підтверджує припущення щодо підвищеного генетичного ризику за батьківською лінією.

На користь цього свідчать дослідження молекулярних механізмів епігенетичної спадковості [6, 12] та отримані нами раніше дані про статеві особливості середовищної і спадкової складових ризику експериментального РС [2], в яких показано важливе значення епігенетичних впливів матері, що хворіла, у період внутрішньоутробного розвитку на схильність до формування демієлінізуючої патології у її потомства жіночого роду, на відміну від самців, для яких характерним є пе-

реважання власне генетичного компонента, тобто обтяженої спадковості.

Тяжкість перебігу аутоімунної демієлінізуючої патології за представленістю тяжких і дуже тяжких форм (від 2,6 до 6,0 бала) залежно від статевої належності та хвороби плідників у самочок характеризувалася найменш вираженими проявами демієлінізуючих порушень у групі потомства від батька, що хворів (IV група) (рис. 2).

Беручи до уваги відсутність єдиної думки стосовно фенотипічної експресії «сімейних» і спорадичних випадків РС [1, 16], такі результати не суперечать даним про м'якший, доброякісний перебіг «сімейних» форм захворювання [3, 10].

Разом із цим, заслуговують на увагу дані про мінімально виражену тяжкість перебігу ЕАЕ у самців, не обтяжених за батьківською лінією (I і III групи), а її представленість у II і IV групах, очевидно, пов'язана з обтяженістю за лінією батька.

Таким чином, на основі аналізу сприйнятливості та стійкості щодо індукції ЕАЕ, а також гетерогенності клінічного перебігу його «сімейних» форм у тварин різної статі показано суттєву роль самця-плідника у забезпеченні схильності до розвитку ЕАЕ у потомства чоловічого роду. Її реалізація за стандартних умов моделювання ЕАЕ шляхом активної імунізації антигенами ЦНС характеризується статевими особливостями: у самок – пріоритетним значенням середовищного компонента, а у самців – переважанням власне генетичної складової.

Результати дослідження дають підстави розглядати ЕАЕ з використанням нелінійних лабораторних білих щурів як реалістичну модель для вивчення різноманітних аспектів сімейних форм РС у групах підвищеного ризику розвитку аутоімунної демієлінізуючої патології з метою виявлення нових, пов'язаних із РС біомаркерів і предикторів для оцінки їхнього прогностичного значення у потомства з обтяженим «сімейним» анамнезом.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Бойко А., Фаворова О., Кулакова О., Гусев Е.* Эпидемиология и этиология рассеянного склероза // Рассеянный склероз. – М.: Реал Тайм, 2011. – С. 7–43.
2. *Гейко В.* Сопоставительный анализ модификационной (обусловленной внутриутробным влиянием) и генетической составляющих предрасположенности к развитию аутоиммунной демиелинизирующей патологии у крыс разного пола, наследственно отягощенных РС по материнской линии // Укр. вісник психоневрології. – 2015. – Т. 23, № 1 (82). – С. 29–31.
3. *Коробко Д., Малкова Н., Булатова Е. и др.* Влияние генетических факторов на фенотипическую экспрессию рассеянного склероза // Журнал неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова. – 2013. – № 2. – С. 10–16.
4. *Ascherio A., Munger K.* Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors // Ann. Neurology. – 2007. – Vol. 61. – P. 504–513.
5. *Bustamante M., Morcillo-Suárez C., Malhotra S. et al.* Pharmacogenomic study in patients with multiple sclerosis: Responders and nonresponders to IFN- β // Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm. – 2015. – Vol. 2, no. 5. – P. 154–160. – doi: 10.1212/NXI.0000000000000154.
6. *Chao M., Ramagopalan S., Herrera B. et al.* Epigenetics in multiple sclerosis susceptibility: difference in transgenerational risk localize to the major histocompatibility complex // Hum. Mol. Genet. – 2009. – Vol. 18. – P. 261–266. – doi: 10.1093/hmg/ddn353.
7. *Cotsapas C., Voight B., Rossin E. et al.* Pervasive sharing of genetic effects in autoimmune disease // PLoS Genet. – 2011. – Vol. 7, no. 8. – P. 1002254–1002262. – doi: 10.1371/journal.pgen.1002254.
8. *Dyment D., Ebers G., Sadovnick A.* Genetics of multiple sclerosis // Lancet Neurol. – 2004. – Vol. 3, no. 2. – P. 104–110.
9. *Ebers G., Sadovnick A., Dyment D. et al.* Parent-of-origin effect in multiple sclerosis: observations in half-siblings // The Lancet. – 2004. – Vol. 363. – P. 1773–1774.
10. *Esposito F., Guaschino C., Sorosina M. et al.* Impact of MS genetic loci on familial aggregation, clinical phenotype, and disease prediction // Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm. – 2015. – Vol. 2, no. 4. – P. e129. – doi: 10.1212/NXI.0000000000000129.
11. *Günter E., Walter L.* The major histocompatibility complex of the rat (*Rattus norvegicus*) // Immunogenetics. – 2001. – Vol. 53. – P. 520–542.
12. *Handel A., Ebers G., Ramagopalan S.* Epigenetics: molecular mechanisms and implications for disease // Trends. – 2009. – Vol. 16, no. 1. – P. 7–16. – doi: 10.1016/j.molmed.2009.11.003.
13. *Hoppenbrouwers I., Liu F., Aulchenko Y. et al.* Maternal transmission of multiple sclerosis in a Dutch population // Arch. Neurol. – 2008. – Vol. 65, no. 3. – P. 345–348. – doi: 10.1001/archneurol.2007.63.
14. *Kockum I., Leslie S., Lill C. et al.* Class II HLA interactions modulate genetic risk for multiple sclerosis // Nat. Genet. – 2015. – Vol. 47, no. 10. – P. 1107–1113. – doi: 10.1038/ng.3395.
15. *Madsen L., Andersson E., Jansson L. et al.* A humanized model for multiple sclerosis using HLA-DR2 and a human T-cell receptor // Nat. Genet. – 1999. – Vol. 23, no. 3. – P. 343–347.

16. *Tipirneni A., Weinstock-Guttman B., Ramanathan M. et al.* MRI characteristics of familial and sporadic multiple sclerosis patients // *Multiple Sclerosis Journal*. – 2013. – Vol. 19, no. 9. – P. 1145–1152. – <https://doi.org/10.1177/1352458512469697>.

17. *Ramagopalan S., Sadovnick A.* Genetics and epidemiology of multiple sclerosis // In: *Primer on multiple sclerosis* / ed. by B. S. Giesser. – New York: Oxford University Press, 2011. – P. 15–29.

18. *Sawcer S., Hellenthal G., Pirinen M. et al.* Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis // *Nature*. – 2011. – Vol. 476, no. 7359. – P. 214–229. – doi: 10.1038/nature10251.

19. *Simon K., Munger K., Ascherio A.* XVI European Charcot Foundation Lecture: nutrition and environment, can MS be prevented? // *J. Neurol. Sci.* – 2011. – Vol. 311, no. 1–2. – P. 1–8. – doi: 10.1016/j.jns.2011.09.009.

20. *Willer C., Dymant D., Risch N. et al.* Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 2003. – Vol. 100, no. 22. – P. 12877–12882.

21. *Yates R., Esiri M., Palace J. et al.* The influence of HLA-DRB1-15 on motor cortical pathology in multiple sclerosis // *Neuropathology Appl. Neurobiology*. – 2015. – Vol. 41, no. 3. – P. 371–384. – doi: 10.1111/nan.12165.



INFORMATION ABOUT AUTHORS

LABORATORY OF NEUROPHYSIOLOGY,
IMMUNOLOGY AND BIOCHEMISTRY

Olha H. Berchenko, Dr. Sci. (Biology), Prof., Head of the Laboratory

Valentyna V. Heyko, Cand. Sci. (Biology), Leading Laboratory Researcher

Svitlana V. Utevska, Junior Research Fellow



ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

ЛАБОРАТОРІЯ НЕЙРОФІЗІОЛОГІЇ,
ІМУНОЛОГІЇ ТА БІОХІМІЇ

Берченко Ольга Григорівна – завідувачка лабораторією, д.б.н., проф.;

Гейко Валентина Василівна – провідний науковий співробітник, к.б.н.

Утевська Світлана Володимирівна – молодший науковий співробітник



SUMMARY

A study of experimental autoimmune encephalomyelitis in posterity of rats sensitive and resistant to its induction as a model of «family» forms of multiple sclerosis

Valentyna V. Heyko, **Olha H. Berchenko**,
Svitlana V. Utevska

Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the NAMSU, the Academy of Medical Sciences of Ukraine, 46 Acad. Pavlov St., Kharkiv 61068, Ukraine

An analysis of the susceptibility and resistance to induction of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) and the severity of its clinical course, depending on the mother's and father's lines of hereditary aggravations, was performed using 142 non-linear white rats of both sexes. It was demonstrated that the level of incidence in females does not depend on the type of hereditary aggravation, while the increased sensitivity to the development of EAE in males is associated with an aggravation along the paternal line. The results of the study evidence to the possibility of feasible modeling of the «family» forms of experimental multiple sclerosis based on the breeding of animal-producers on the basis of sensitivity and resistance to induction of EAE using non-linear laboratory rats.

Key words: experimental autoimmune encephalomyelitis, sexual features, type of hereditary aggravation, level of incidence, severity of clinical course of EAE.

For citation: Heyko VV, Berchenko OH, Utevska SV. A study of experimental autoimmune encephalomyelitis in posterity of rats sensitive and resistant to its induction as a model of «family» forms of multiple sclerosis. *Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine*. 2019;25(1):21–24 (In Ukr.).



Valentyna V. Heyko
vvgeiko@gmail.com



РЕЗЮМЕ

Формирование экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита у потомства чувствительных и устойчивых к его индукции крыс в качестве модели «семейных» форм рассеянного склероза

Гейко В. В., **Берченко О. Г.**, **Утевская С. В.**

Государственное учреждение «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», ул. Академика Павлова, 46, Харьков 61068, Украина

С использованием 142 нелинейных белых крыс обоего пола проведен анализ восприимчивости и устойчивости к индукции экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЭАЭ) и тяжести его клинического течения в зависимости от материнской и отцовской линий наследственной отягощенности. Показано, что уровень заболеваемости самок не зависит от типа наследственной отягощенности, а повышенная чувствительность к развитию ЭАЭ у самцов связана с отягощенностью по линии отца. Результаты исследования свидетельствуют о возможности реалистического моделирования «семейных» форм экспериментального рассеянного склероза на основе селекции животных-производителей по признаку чувствительности и устойчивости к индукции ЭАЭ с использованием нелинейных лабораторных крыс.

Ключевые слова: экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, половые особенности, тип наследственной отягощенности, уровень заболеваемости, тяжесть течения ЭАЭ.

Для цитирования: Гейко В. В., Берченко О. Г., Утевская С. В. Формирование экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита у потомства чувствительных и устойчивых к его индукции крыс в качестве модели «семейных» форм рассеянного склероза // *Журнал Национальной академии медицинских наук Украины*. – 2019. – Т. 25, № 1. – С. 21–24.