

## МЕХАНИЗМЫ ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

Поступил 22.09.09

В обзоре обобщены и проанализированы сведения литературы и собственные данные автора о клеточных и молекулярных механизмах, лежащих в основе такого демиелинизирующего заболевания, как рассеянный склероз. Обсуждаются механизмы иммунопатогенного процесса при рассеянном склерозе, участие микроглии и астроцитов в деструкции миелиновых оболочек и повреждении олигодендроцитов. Рассмотрены также экспериментальные модели, используемые для изучения процессов демиелинизации нервной ткани *in vitro* (культуры ткани) и *in vivo* (экспериментальный аллергический энцефаломиелит).

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** рассеянный склероз, демиелинизация, глия, модели демиелинизации *in vitro* и *in vivo*.

### ВВЕДЕНИЕ

Нарушение структуры компактного миелина и изменение метаболизма его компонентов являются важнейшими патогенетическими феноменами при ряде неврологических заболеваний, объединенных под термином “демиелинизирующие”. Изучение клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе подобных заболеваний, – одна из актуальнейших задач современной неврологии. К наиболее распространенным демиелинизирующим заболеваниям относится рассеянный склероз (РС). Клинические и патофизиологические характеристики РС были впервые описаны Шарко и сотр. еще в середине XIX в. В 1867 г. Вульпыен ввел в отношении данной патологии термин «склероз в виде рассеянных бляшек» (*sclerose en plaque disseminata*). Феноменом развития РС является деструкция миелина, покрывающего нервные волокна и их разветвления, в результате чего существенно нарушается распространение нервных импульсов. Несмотря на проведение многочисленных исследований и существенный прогресс в изучении РС, конкретные механизмы, лежащие в основе этого заболевания, пока остаются до конца не выясненными.

### КЛИНИКО-ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

РС – это прогрессирующее аутоиммунное заболевание ЦНС, характеризующееся локальной инфильтрацией Т-клеток и макрофагов в нервную ткань, локальными множественными участками воспаления в ней, активацией глии (астроцитов и микроглии), повреждением олигодендроцитов, интенсивной демиелинизацией нервных волокон, повреждением аксонов и выраженными неврологическими нарушениями [1, 2]. РС появляется преимущественно в молодом возрасте (20–40 лет). К основным клиническим проявлениям РС относятся двигательные нарушения: парезы, изменения тонуса мышц и др., атаксия, нистагм, интенционный тремор, скандированная речь, чувствительные (в том числе зрительные) и вегетативные (периодическое недержание мочи, запор, расстройство сексуальных функций) расстройства, нейропсихологический дефицит (расстройства памяти, внимания, мышления, эмоций), формирование депрессивного синдрома, снижение интеллекта и синдром постоянной усталости [3]. Данное заболевание имеет достаточно выраженный стадийный характер, т. е. его течение включает в себя периоды обострения (появление новых симптомов и ухудшение неврологического состояния), которые сменяются ремиссиями (уменьшение выраженности имевшихся симптомов или их регресс и явное улучшение неврологическо-

<sup>1</sup> Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).

Эл. почта: pta@biph.kiev.ua (Т. А. Пивнева).

го состояния). Согласно соотношению этих фаз, их интенсивности и длительности выделяют несколько типов течения РС [4, 5].

Несмотря на многочисленные исследования, проводившиеся в течение более чем 100 лет, этиология РС в настоящее время остается до конца не выясненной [6, 7]. Согласно наиболее распространенным современным представлениям, РС является мультифакторным заболеванием, причины которого можно условно разделить на внутренние и внешние. К внутренним относятся наличие определенной наследственной (иммуногенетической) склонности, аутоиммунных и гормональных (особенно стероидных) нарушений, к внешним – географические особенности места проживания. Не исключается, что в генезе РС существенную роль могут играть вирусные инфекции. Было показано, что потенциальными вирусными агентами могут быть при этом ретровирусы, вирусы кори, краснухи, герпеса, хотя полный их список еще не определен. Развитие заболевания также в определенной степени зависит от климатических условий, погоды, состава грунта и природных вод, а также содержания в них микроэлементов (в частности, цинка, кобальта, меди) [3, 8, 9].

В ходе гистологических исследований головного и спинного мозга пациентов, страдающих РС, в нервной ткани обнаруживались беспорядочно разбросанные различные по величине и форме розовато-серые и серые уплотненные участки, получившие название склеротических бляшек. При обострении РС, во время активной стадии демиелинизации, аксоны характеризуются выраженными повреждениями, тогда как в период ремиссии нарушения структуры аксонов проявляются в менее значительной степени [10]. Чаще всего бляшки локализуются в белом веществе головного и спинного мозга, а также в зрительных нервах. В зависимости от локализации большинства очагов демиелинизации в тех или иных отделах ЦНС традиционно выделяют три клинические формы РС – церебральную, спинальную и цереброспинальную [2].

### **МЕХАНИЗМЫ ИММУНОПАТОГЕННОГО ПРОЦЕССА ПРИ РС, УЧАСТИЕ МИКРОГЛИИ И АСТРОЦИТОВ В ДЕСТРУКЦИИ МИЕЛИНОВЫХ ОБОЛОЧЕК И ПОВРЕЖДЕНИИ ОЛИГОДЕНДРОЦИТОВ**

Известно, что в нормальных условиях гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) непроницаем для кле-

ток крови. В настоящее время принято считать, что ключевым моментом в появлении характерного воспаления и развитии демиелинизации при РС является инфильтрация тканей ЦНС Т-клетками, проходящими через ГЭБ. Полагают, что этот процесс может инициироваться попаданием вирусных или бактериальных факторов в нервную ткань и появлением их белков на мембранах олигодендроцитов и миелиновых оболочках [5, 11, 12]. Последующий аутоиммунный ответ направлен против миелиновых антигенов, что приводит к нарушениям в системе распознавания последних [3, 6]. Экспонированные на поверхности антигенпрезентирующих клеток белки вирусов/бактерий вызывают первичную активацию циркулирующих в кровеносной системе аутореактивных Т-клеток. Последние, в частности  $CD4^+$  и  $CD8^+$ , на ранних стадиях развития РС локально аккумулируются вокруг маленьких венул. Затем Т-лимфоциты пролиферируют и экспрессируют молекулы клеточной адгезии и цитокины, способствующие повреждению ГЭБ и аномальному повышению его проницаемости. Таким образом, связанные с эндотелиальными клетками молекулы адгезии при участии металлопротеиназ внеклеточного матрикса (МВМ) способствуют прохождению Т-клеток, В-клеток, плазматических клеток и активированных макрофагов через базальную мембрану ГЭБ в ЦНС. Далее Т-клетки уже в присутствии местных аутоантигенов провоцируют развитие рассеянных периваскулярных очагов воспаления ЦНС [13]. Синтезируемые Т-клетками провоспалительные цитокины (интерлейкин 2, лимфотоксин,  $\gamma$ -интерферон, фактор некроза опухолей – TNF- $\alpha$ ) способствуют продолжающемуся усилению проницаемости ГЭБ. В связи с этим присутствующие в крови В-клетки и антитела еще более интенсивно мигрируют в ЦНС и посредством активации системы комплемента формируют мембраноатакующие комплексы, повреждающие миелин и олигодендроциты [13, 14]. Кроме того, цитокины запускают процессы активации клеток микроглии, макрофагов и астроцитов [3, 13]. В ответ микроглиальные клетки секретируют воспалительные цитокины, МВМ и повышенное количество свободных радикалов. Дополнительно в роли антигенпрезентирующих клеток в ЦНС часто выступает микроглия, что усиливает развитие патологического иммунного ответа при РС [15]. Астроциты также приобретают свойства иммуноэффекторных клеток, продуцирующих ряд цитокинов, антигенов, молекул клеточной адгезии и иммуномодуляторов. Следовательно, микро-

глия и астроциты совместно формируют в мозговой ткани аномальный иммунный ответ [16–18]. Кроме того, активированные астроциты пролиферируют и гипертрофируются. Содержание в них глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ) резко повышается, что связано с образованием пограничных рубцов вокруг очагов демиелинизации [19]. Вследствие описанных выше локальных аутоиммунных ответов и местного сосудистого воспаления миелिनные оболочки подвергаются деструкции, а олигодендроциты повреждаются, что обуславливает демиелинизацию и дегенерацию собственно аксонов с последующим формированием склеротических бляшек. Поврежденный миелин, в свою очередь, фагоцитируется и уничтожается активированными микроглией, астроцитами и проникшими в ЦНС макрофагами [20, 21].

Периваскулярная инфильтрация воспалительных клеток в ЦНС основана на их адгезии к эндотелиальным клеткам и последующей миграции через ГЭБ [22]. Описан ряд молекул клеточной адгезии, вовлеченных в этот процесс. Так, при РС отмечены высокие уровни экспрессии эндотелиальными клетками внутриклеточных молекул адгезии (ICAM-1) и молекулы клеточной адгезии сосудов (VCAM-1), а также селектина E [5, 23]. Молекулы адгезии могут связываться через мембранные рецепторы – такие, как функционально связанный антиген лимфоцитов (LFA-1), антиген макрофагов 1 (MAC-1) и очень поздний интегрин (VLA-4), с лимфоцитами, мононуклеарными и периваскулярными воспалительными клетками [24]. После этого указанные клетки демонстрируют повышенную адгезию к нормальным эндотелиальным клеткам [25]. Следовательно, молекулы адгезии играют важную роль при взаимодействии клеток двух групп – инфильтрующих воспалительных, с одной стороны, и эндотелиальных – с другой. Кроме того, ICAM-1 экспрессируется на астроцитах, локализованных внутри очагов воспаления и вокруг них [26], а VCAM-1 и LFA-1 обнаруживаются на поверхности мембран микроглиальных клеток [27]. Это предполагает существенный вклад глиальных клеток всех типов в инициацию, развитие и завершение воспалительного процесса в ЦНС [28], а также участие данных единиц в презентации антигенов, активации Т-клеток и взаимодействии их с внеклеточным матриксом [29]. Показано, что локальное иммунное микроокружение, в частности цитокины, влияют на появление каскадов молекул клеточной адгезии (ICAM-1, ICAM-3, VCAM-1, E-селектины) и на их экспрессию [30].

Точная физиологическая роль этих молекул еще исследуется, но уже ясно, что количественные изменения их содержания коррелируют с развитием РС и они могут использоваться как маркеры течения указанного заболевания [30, 31].

Небольшие по размерам молекул белки-хемокины относятся к цитокинам-хемоаттрактантам, которые секретируются лейкоцитами, клетками микроглии, астроцитами и некоторыми другими единицами. Активация секреции хемокинов происходит в условиях их связывания с соответствующими рецепторами, имеющимися на мембранах лейкоцитов всех типов, макрофагов и микроглии [32–34]. В данном случае существует корреляция между интенсивностью морфологических изменений, вызванных воспалительным процессом при РС, и уровнем экспрессии хемокинов разными клетками. В частности, при РС эндотелиальные клетки синтезируют MCP-3, активированные периваскулярные Т-клетки – RANTES, макрофаги – MIP-1 $\beta$ , астроциты – RANTES, MCP-1,2,3, MIP-1 $\beta$ , а микроглия – MIP-1 $\beta$  [35–37]. Хемокины опосредуют гуморальные и клеточные иммунные реакции и могут способствовать усилению и распространению воспалительной реакции и процесса демиелинизации [38, 39].

МВМ, синтезируемые при РС активированными Т-клетками, моноцитами, астроцитами и микроглией, способствуют инвазии воспалительных клеток в ЦНС в результате повреждения базальной мембраны ГЭБ и внеклеточного матрикса [13, 40]. Кроме того, МВМ способны расщеплять мембраносвязанные воспалительные цитокины, в частности фактор некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), а также принимать непосредственное участие в разрушении миелина [41, 42].

Установлено, что при РС синтезируется весьма широкий спектр цитокинов, среди которых – интерлейкины-1–4, -6, -10 и -12, TNF- $\alpha$ , интерфероны  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , трансформирующий фактор роста (TGF), а также хемокины [43, 44]. Так, TNF- $\alpha$  опосредует процесс повреждения миелина и олигодендроцитов, ведущий к демиелинизации, а также усиливает астроглиоз. Интерлейкин-1 индуцирует пролиферацию астроцитов и опосредует повреждение ГЭБ. В целом часть упомянутых цитокинов обуславливают прогрессирование заболевания (провоспалительные цитокины – интерлейкины-1и -8, TNF- $\alpha$ ), тогда как другая часть способствуют наступлению ремиссии (противовоспалительные цитокины – интерлейкин-6, TGF). Некоторые из них в зависимости от микроокружения могут выступать в обоих качествах (интерлейкин-6) [44].

Как обнаружено [45], при развитии РС вследствие нарушения процесса перекисного окисления липидов образуются повышенные количества свободных радикалов, что способствует некрозу клеток, лизису мембран и интенсивному повреждению миелина и олигодендроцитов.

Уже упоминалось, что в ходе демиелинизации количество TNF- $\alpha$  в нервной ткани возрастает, а данный фактор обладает способностью активировать синтез оксида азота. Это, в свою очередь, приводит к аномальному повышению содержания оксида азота и реализации его токсического действия (прежде всего на олигодендроциты) [18, 46].

Таким образом, весьма многочисленные и разнообразные реакции, которые в случае развития РС инициируются или патологически усиливаются в клетках ЦНС (прежде всего в глиальных и иммунокомпетентных клетках), приводят к появлению очагов воспаления и демиелинизации аксонов.

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ УСЛОВИЙ РС IN VITRO: ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ В КУЛЬТУРЕ НЕРВНОЙ ТКАНИ**

Для исследования клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе развития РС, а также в целях разработки в перспективе мер предупреждения и лечения указанного заболевания используются ряд моделей. В экспериментах *in vitro* это диссоциированная, ротационная и органотипическая культуры нервной ткани, а в опытах *in vivo* – воспроизведение экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ). Культивирование нервной ткани позволяет непосредственно изучать закономерности нейрогистогенеза, взаимодействия нервных и глиальных клеток, механизмы образования клеточных контактов и процесс миелогенеза [47–49]. Основным преимуществом культуры ткани и клеток является возможность прямого прижизненного изучения нейронов и глии с использованием микроскопических и электрофизиологических методов исследования [50]. Культивирование нервных и глиальных клеток позволяет проследить динамику их морфологических и функциональных изменений в процессе развития и под воздействием добавляемых в питательную среду биологически активных веществ; при этом возможно применение большинства современных гистологических,

иммуноцитохимических и ультраструктурных методов анализа [48, 51].

Первичные культуры могут быть собственно тканевыми (органотипическими, в которых сохраняются архитектура клеточных элементов и организация межклеточных связей) [52], диссоциированными [47, 49] или агрегированными, сформированными в результате объединения (реагрегации) диссоциированных структур [53].

Для изучения свойств конкретных клеток успешно используются чистые культуры клеток того или иного типа (астроцитов, нейронов, олигодендроцитов и др.) различных видов животных, в частности мышей, крыс, песчанок [54, 55]. Для выращивания *in vitro* можно применять образцы тканей практически всех отделов нервной системы [56, 57]. Ткань для культивирования можно брать как у эмбрионов, так и на ранних стадиях постнатального развития (на первый–седьмой день после рождения) животных [58]. Тканевые культуры позволяют производить анализ факторов морфогенеза. В диссоциированных и агрегированных культурах можно изучать механизмы гистогенеза нервной ткани, рост и дифференцировку нервных и глиальных клеток, а также процессы реагрегации диссоциированных клеток и образования нервной ткани с помощью методов электрофизиологии, молекулярной биологии, гистологии, фармакологии и др. При этом возможность четкой идентификации исследуемых клеток, обеспечивающая однородность их выборок, позволяет адекватно применять различные методы статистической обработки.

В наших работах по изучению процессов миелинизации и демиелинизации наиболее целесообразным было использование диссоциированной культуры тканей мозжечка новорожденных крыс. Такой подход позволял исследовать этапы процесса миелогенеза и прямого действия демиелинизирующих факторов (сывороток крови пациентов с РС на разных стадиях заболевания), а также применять вещества, которые корректируют или же уменьшают разрушительное действие демиелинизирующих агентов [47].

### **ЭАЭ – МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ IN VIVO**

Результаты исследования и анализа состояния демиелинизации в нервной системе у животных показали, что для ЭАЭ – аутоиммунного демиелинизирующего заболевания, индуцированного в ЦНС

животных в эксперименте, также характерны воспаление нервной ткани и демиелинизация, наблюдаемые при РС у людей [59]. В связи с этим в настоящее время ЭАЭ рассматривают как заболевание, феноменология и патогенез которого наиболее сходны с таковыми РС. Поэтому ЭАЭ считают оптимальной моделью *in vivo* для изучения механизмов деструктивных процессов, характерных для РС.

Применяются два следующих способа индукции ЭАЭ: иммунизация животного энцефалитогенной эмульсией нервной ткани или ее очищенными компонентами с добавлением адъюванта Фроинда либо других иммунных стимуляторов (коклюшный токсин) или же инъекция суспензии Т-клеток, активированных путем введения миелина [59–61]. В первом случае используется энцефалитогенная эмульсия, содержащая в себе один из следующих агентов: гомогенат ткани ЦНС *en masse*, суспензию очищенного миелина, его отдельные протеиновые компоненты (например, основной белок миелина, протеолипидный протеин или протеин Фолча–Лис и миелин-олигодендроцитарный гликопротеин) либо продукты гидролиза (пептиды) миелиновых белков [62]. Во втором случае используют ткани селезенки и лимфатических узлов животных, иммунизированных компонентами миелина. После этого Т-клетки изолируют, активируют энцефалитогенным антигеном в присутствии антигенпрезентирующих клеток *in vitro*, и суспензию этих клеток вводят внутривенно подопытному животному [15]. Достоинством последнего способа является возможность более адекватного анализа секреции воспалительных хемокинов, цитокинов и медиаторов, опосредующих аутоиммунные реакции в организме при РС и ЭАЭ [33]. Распространенными методами введения антигенов или Т-клеток являются внутрикожные инъекции в подушечки стоп, основание хвоста и область грудины, а также подкожные и внутрибрюшинные инъекции в область спины и шеи [63].

Клиническая картина и степень демиелинизации при ЭАЭ существенно различаются у отдельных видов животных (следует упомянуть, что для индукции развития ЭАЭ преимущественно используют крыс) и зависят от генетических факторов, применяемых антигенов, состава адъюванта Фроинда (полный или неполный) и дополнительных стимуляторов, вида животного, способа индукции ЭАЭ [64]. Отмечена различная чувствительность к индукции данной патологии даже у отдельных линий

одного и того же вида животных. Наиболее характерными неврологическими симптомами при развитии ЭАЭ являются спастические парезы разной степени тяжести и параличи задних и (затем) передних конечностей, атония хвоста, общая вялость, потеря веса и аппетита. Неврологические симптомы ЭАЭ обычно проявляются у животных в течение двух-трех недель после введения энцефалитогенного материала. Однако в этом отношении существуют широкие вариации, которые зависят от вида и возраста животного, а также от состава и количества введенных антигенных веществ. В основном указанные симптомы могут нарастать в течение нескольких дней (обычно до недели). После этого состояние животного остается примерно стабильным на протяжении одной или нескольких недель. Затем неврологические расстройства постепенно сглаживаются, и обычно наступает более или менее полное выздоровление. В то же время у части животных довольно быстро могут нарастать очень тяжелые симптомы поражения ЦНС, и при наличии резких двигательных расстройств, нарушении функций тазовых органов, тремора тела и головы такие экземпляры гибнут. У большинства животных в условиях ЭАЭ селективность поражения ЦНС достаточно высока [59].

Степень повреждения миелина и олигодендроцитов определяется выбором как антигена, так и метода индукции ЭАЭ. Так, при введении животным основного белка миелина или специфичных Т-клеток могут преобладать воспалительная реакция и повреждение аксонов спинного мозга. Одновременная инъекция Т-клеток и миелин-олигодендроцитарного гликопротеина обычно способствует развитию выраженной демиелинизации [65]. В случае использования в качестве антигена миелин-олигодендроцитарного гликопротеина, во-первых, можно наблюдать практически весь спектр клеточных реакций и изменений при РС. Во-вторых, эти повреждения обнаруживаются и в зрительных нервах, и в головном и спинном мозгу [33, 66, 67]. Степень повреждения аксонов при ЭАЭ, как и при РС, зависит от стадии заболевания. В случае острого ЭАЭ дегенерация аксонов нарастает в течение начального периода и наиболее ярко выражена на его пиковой стадии. При хронической форме ЭАЭ аксоны повреждаются в относительно незначительной степени [10].

К основным проявлениям ЭАЭ, как и РС, относятся нарушение проницаемости ГЭБ и его функциональное ослабление, периваскулярная воспалительная инфильтрация в ЦНС, развитие процесса

демиелинизации, повреждение олигодендроцитов и аксонов, локальная активация глиальных клеток [68]. Активированные Т-клетки (CD4<sup>+</sup>), другие лимфоциты и макрофаги мигрируют в ЦНС через поврежденный ГЭБ. Продукция лимфоцитами и глиальными клетками воспалительных факторов обуславливает формирование очагов воспаления, демиелинизацию и фагоцитоз остатков миелина [69]. Так, например, на ранних стадиях острой формы ЭАЭ воспалительные цитокины [70] и хемокины [40, 71] могут инициировать токсический эффект в отношении олигодендроцитов, возможно, опосредуемый действием TNF- $\alpha$  или свободных радикалов; повышение уровня последних обусловлено избыточной активностью NO-синтазы [72]. Также, как и при РС, в условиях развития ЭАЭ цитокины могут быть отнесены к провоспалительным (TNF- $\alpha$ , интерлейкины 1 и 2,  $\gamma$ -интерферон) и противовоспалительным (интерлейкины 4 и 10, TGF), т. е. способствующим либо развитию заболевания, либо выздоровлению или ремиссии. Проникающие в ткани ЦНС макрофаги могут фагоцитировать миелин и синтезировать ряд факторов, потенциально опасных для миелиновых оболочек [73]. Например, оксид азота и TNF- $\alpha$  способны обуславливать эффекты быстрого повреждения миелина [74] и олигодендроцитов [44]. TNF- $\alpha$  может также участвовать в активации микроглиальных клеток [75].

Одним из первых ответов ЦНС на развитие аутоиммунного воспаления в ее тканях является реакция предшественников олигодендроцитов. На начальной стадии ЭАЭ наблюдаются пролиферация этих клеток, их дифференциация и, в конце концов, превращение в миелинсинтезирующие клетки [76]. Данный процесс регулируется физиологическими факторами, причем часть эффектов являются сложными. Некоторые из подобных факторов могут способствовать, например, пролиферации и в то же время ингибировать дифференциацию и созревание олигодендроцитов. Поэтому подробное выяснение вне- и внутриклеточных факторов, влияющих на указанные процессы, в соответствующих экспериментальных исследованиях является очень важным и перспективным [77].

Реакции астроцитов и микроглии зависят от стадии течения ЭАЭ и в общем являются трехфазными. На первой, начальной, стадии микроглиальные клетки активируются, пролиферируют и локализуются вокруг воспаленных клеточных агрегатов, тогда как астроциты не демонстрируют выраженной реакции. Во время второй, пиковой, стадии микро-

глия продолжает пролиферировать, но теперь очаги воспаления окружены также отростками активированных астроцитов, формирующих плотный рубец вокруг поврежденных участков. На последней стадии, фазе восстановления, остаточные воспалительные клеточные агрегаты характеризуются микроглиальным и астроцитарным глиозом с формированием плотных астроциклических рубцов. Очевидно, активность клеток микроглии в целом способствует усилению воспалительного процесса в ЦНС, тогда как астроциты содействуют его подавлению [78]. Активированные глиальные клетки обоих типов и проникшие в ЦНС макрофаги продуцируют и высвобождают ряд физиологических факторов. Так, при действии цитокинов (в частности,  $\gamma$ -интерферона) и микроглии/макрофаги, и астроциты синтезируют фибриллярный фактор роста (FGF), который может стимулировать пролиферацию микроглии [43]. Кроме того, FGF может взаимодействовать с инсулиноподобным фактором роста (IGF), выделяемым реактивными астроцитами в условиях демиелинизации, и опосредовать повреждение олигодендроцитов, так как именно эти клетки обладают рецепторами к IGF [79]. С другой стороны, выявлено, что FGF стимулирует пролиферацию предшественников олигодендроцитов и астроцитов, ускоряет их созревание, а также способствует восстановлению миелиновых оболочек, хотя и не совсем компактных [80].

Таким образом, на сегодняшний день можно выделить следующие основные способы моделирования процесса демиелинизации *in vivo* и *in vitro*. Применение различных культур нервной ткани в условиях *in vitro* позволяет исследовать этапы процесса миелогенеза, а также прямого действия демиелинизирующих и корректирующих факторов на элементы нервной ткани. Моделирование демиелинизирующего заболевания (ЭАЭ) у животных *in vivo* путем введения энцефалитогенных смесей различного состава дает возможность исследовать механизмы индукции и регуляции аутоиммунных реакций и действия лечебных препаратов, которые применяются в дальнейшем при лечении и профилактике РС, а также других неврологических и иммунозависимых болезней [33].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на большой объем полученных экспериментальных данных о природе РС, механизмы процесса демиелинизации пока полностью не выясне-

ны. Этот процесс рассматривается как результат комбинированного влияния многих причин (часто взаимодействующих), что существенно осложняет их последствия. Опыт лечения РС с применением иммуноспецифической терапии вызывает определенную неудовлетворенность, поскольку такое лечение, даже если оно начато на ранней стадии, часто не является достаточным для того, чтобы полностью контролировать каскад событий в ЦНС, связанный с развитием РС. Естественно, что дальнейшее изучение молекулярных механизмов процессов демиелинизации тесно связано с использованием известных и разработкой новых, более адекватных экспериментальных моделей процесса демиелинизации и (что особенно важно) апробацией новых препаратов, влияющих на процессы ремиелинизации и обеспечивающих стабилизацию состояния миелинизированных волокон.

Т. А. Півнева<sup>1</sup>

#### МЕХАНИЗМИ ДЕМИЕЛІНІЗАЦІЇ ПРИ РОЗСІЯНОМУ СКЛЕРОЗІ

<sup>1</sup> Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

#### Резюме

В огляді узагальнені та проаналізовані відомості літератури та власні дані автора про клітинні та молекулярні механізми, що лежать в основі такого демієлінізуючого захворювання, як розсіяний склероз. Обговорюються механізми імунопатогенного процесу при розсіяному склерозі, участь мікроглії та астроцитів у деструкції мієлінових оболонок і пошкодженні олігодендроцитів. Розглянуті також експериментальні моделі, котрі використовуються для вивчення процесів демієлінізації нервової тканини *in vitro* (культури тканини) та *in vivo* (експериментальний алергічний енцефаломієліт).

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. T. J. Murray, "The history of multiply sclerosis," in: *Multiply Sclerosis: Diagnosis, Medical Management, and Rehabilitation*, Demos Medical, New York (2000).
2. J. Zajicek, "The epidemiology of multiple sclerosis," *J. Neurol.*, **254**, No. 12, 1742 (2007).
3. С. М. Винничук, О. А. Мяловицкая, *Рассеянный склероз*, Комполис, Киев (2001).
4. A. Bar-Or, E. M. L. Oliveira, D. E. Anderson, et al., "Molecular pathogenesis of multiple sclerosis," *J. Neuroimmunol.*, **100**, Nos. 1/2, 252-259 (1999).
5. Y. Galboiz and A. Miller, "Immunological indicators of disease activity and prognosis in multiple sclerosis," *Current Opin. Neurol.*, **15**, No. 3, 233-237 (2002).
6. J. Antel and D. Arnold, "Multiply sclerosis," in: *Neuroglia*, Oxford Univ. Publ., New York (2005).
7. S. Sawcer, P. N. Goodfellow, and A. Compston, "The genetic analysis of multiple sclerosis," *Trends Gen.*, **13**, No. 6, 234-239 (1997).
8. C. C. C. Bernard and N. K. de Rosbo, "Multiple sclerosis: an autoimmune disease of multifactorial etiology," *Current Opin. Immunol.*, **4**, No. 6, 760-765 (1992).
9. А. П. Хохлов, Ю. Н. Савченко, "Миєлін і молекулярні основи процесу демієлінізації", *Журн. невропатології і психіатрії ім. С. С. Корсакова*, **90**, № 8, 104-109 (1990).
10. B. Kornek, M. K. Storch, R. Weissert, et al., "Multiple sclerosis and chronic autoimmune encephalomyelitis: a comparative quantitative study of axonal injury in active, inactive, and remyelinated lesions," *Am. J. Pathol.*, **157**, No. 1, 267-276 (2000).
11. B. C. Kieseier, M. K. Storch, J. J. Archelos, et al., "Effector pathways in immune mediated central nervous system demyelination," *Current Opin. Neurol.*, **12**, No. 3, 323-336 (1999).
12. B.-G. Xiao and H. Link, "Antigen-specific T cells in autoimmune diseases with a focus on multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis," *Cell. Mol. Life Sci.*, **56**, Nos. 1/2, 5-21 (1999).
13. B. C. Kieseier, T. Seifert, G. Giovannoni, et al., "Matrix metalloproteinases in inflammatory demyelination: targets for treatment," *Neurology*, **53**, No. 1, 20-25 (1999).
14. B. P. Morgan, P. Gasque, S. Singhrao, et al., "The role of complement in disorders of the nervous system," *Immunopharmacology*, **38**, Nos. 1/2, 43-50 (1997).
15. E. N. Benveniste, "Role of macrophages/microglia in multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis," *J. Mol. Med.*, **75**, No. 3, 165-173 (1997).
16. A. Chan, W. W. Tourtellotte, R. Rudick, et al., "Phagocytosis of apoptotic inflammatory cells by microglia and modulation by different cytokines: mechanism for removal of apoptotic cells in the inflamed nervous system," *Glia*, **33**, No. 1, 87-95 (2001).
17. Y. Dong and E. N. Benveniste, "Immune function of astrocytes," *Glia*, **36**, No. 2, 180-190 (2001).
18. И. А. Завалишин, М. Н. Захарова, Л. Ш. Аскарлова и др., "Современные тенденции в изучении патогенеза демиелинизирующих заболеваний", *Журн. невропатології і психіатрії ім. С. С. Корсакова*, **97**, № 5, 64-67 (1997).
19. M. E. Hatten, R. K. H. Liem, M. L. Shelanski, et al., "Astroglia in CNS injury," *Glia*, **4**, No. 2, 233-243 (1991).
20. U. Slobodov, F. Reichert, R. Mirski, et al., "Distinct inflammatory stimuli induce different patterns of myelin phagocytosis and degradation in recruited macrophages," *Exp. Neurol.*, **167**, No. 2, 401-409 (2001).
21. M. E. Smith, "Phagocytosis of myelin in demyelinating disease: a review," *Neurochem. Res.*, **24**, No. 2, 261-268 (1999).
22. T. A. Springer, "Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm," *Cell*, **76**, No. 2, 301-314 (1994).
23. B. Cannella and C. S. Raine, "The adhesion molecule and cytokine profile of multiple sclerosis lesions," *Ann. Neurol.*, **37**, No. 4, 424-435 (1995).

24. S. J. Lee and E. N. Benveniste, "Adhesion molecule expression and regulation on cells of the central nervous," *J. Neuroimmunol.*, **98**, No. 2, 77-88 (1999).
25. A. Svenningsson, G. K. Hansson, O. Andersen, et al., "Adhesion molecule expression on cerebrospinal fluid T lymphocytes: evidence for common recruitment mechanisms in multiple sclerosis, aseptic meningitis, and normal controls," *Ann. Neurol.*, **34**, No. 2, 155-161 (1993).
26. R. A. Sobel, M. E. Mitchell, and G. Fondren, "Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in cellular immune reactions in the human central nervous system," *Am. J. Pathol.*, **136**, No. 6, 1309-1316 (1990).
27. C. F. Brosnan, B. Cannella, L. Batistini, et al., "Cytokine localization in multiple sclerosis lesions: correlation with adhesion molecule expression and reactive nitrogen species," *Neurology*, **45**, Suppl. 6, S16-S21 (1995).
28. J. J. Archelos and H. P. Hartung, "The role of adhesion molecules in multiple sclerosis: biology, pathogenesis and therapeutic implications," *Mol. Med. Today*, **3**, No. 7, 310-321 (1997).
29. N. K. Damle, K. Klussman, G. Leytze, et al., "Costimulation of T lymphocytes with integrin ligands intercellular adhesion molecule-1 or vascular cell adhesion molecule-1 induces functional expression of CTLA-4, a second receptor for B7," *J. Immunol.*, **152**, No. 6, 2686-2697 (1994).
30. H. P. Hartung, J. J. Archelos, J. Zielasek, et al., "Circulating adhesion molecules and inflammatory mediators in demyelination: a review," *Neurology*, **45**, Suppl. 6, S22-S32 (1995).
31. H. P. Hartung, K. Reiners, J. J. Archelos, et al., "Circulating adhesion molecules and tumor necrosis factor receptor in multiple sclerosis: correlation with magnetic resonance imaging," *Ann. Neurol.*, **38**, No. 2, 186-193 (1995).
32. B. T. Fife, G. B. Huffnagel, W. A. Kuziel, et al., "Chemokine receptor 2 is critical for induction of experimental autoimmune encephalomyelitis," *J. Exp. Med.*, **192**, No. 6, 899-905 (2000).
33. R. Gold, H.-P. Hartung, and K. V. Toyka, "Animal models for autoimmune demyelinating disorders of the nervous system," *Mol. Med. Today*, **6**, No. 2, 88-91 (2000).
34. T. L. Sorensen, M. Tani, J. Jensen, et al., "Expression of specific chemokines and chemokine receptors in the central nervous system of multiple sclerosis patients," *J. Clin. Invest.*, **103**, No. 6, 807-815 (1999).
35. J. Hvas, C. McLean, J. Justesen, et al., "Perivascular T cells express the pro-inflammatory chemokine RANTES mRNA in multiple sclerosis lesions," *Scand. J. Immunol.*, **46**, No. 2, 195-203 (1997).
36. C. McManus, J. W. Berman, F. M. Brett, et al., "MCP-1, MCP-2 and MCP-3 expression in multiple sclerosis lesions: an immunohistochemical and *in situ* hybridization study," *J. Neuroimmunol.*, **86**, No. 1, 20-29 (1998).
37. P. Van Der Voorn, J. Tekstra, R. H. Beelen, et al., "Expression of MCP-1 by reactive astrocytes in demyelinating multiple sclerosis lesions," *Am. J. Pathol.*, **154**, No. 1, 45-51 (1999).
38. A. D. Luster, "Chemokines-chemotactic cytokines that mediate inflammation," *New Engl. J. Med.*, **338**, No. 7, 436-445 (1998).
39. S. G. Ward, K. Bacon, and J. Westwick, "Chemokines and T lymphocytes: more than an attraction," *Immunity*, **9**, No. 1, 1-11 (1998).
40. L. Izikson, R. S. Klein, I. F. Charo, et al., "Resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis in mice lacking the CCchemokine receptor (CCR)2," *J. Exp. Med.*, **192**, No. 7, 1075-1080 (2000).
41. D. C. Anthony, K. M. Miller, S. Fearn, et al., "Matrix metalloproteinase expression in an experimentally-induced DTH model of multiple sclerosis in the rat CNS," *J. Neuroimmunol.*, **87**, Nos. 1/2, 62-72 (1998).
42. R. A. Black, C. T. Rauch, C. J. Kozlosky, et al., "A metalloproteinase disintegrin that releases tumor-necrosis factor-alpha from cells," *Nature*, **385**, No. 6618, 729-733 (1997).
43. E. Ambrosini and F. Aloisi, "Chemokines and glial cells: a complex network in the central nervous system," *Neurochem. Res.*, **29**, No. 5, 1017-1038 (2004).
44. J. E. Merrill and E. N. Benveniste, "Cytokines in inflammatory brain lesions: helpful and harmful," *Trends Neurosci.*, **19**, No. 8, 331-338 (1996).
45. R. Brett and M. G. Rumsby, "Evidence of free radical damage in the central nervous system of guinea-pigs at the prolonged acute and early relapse stages of chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis," *Neurochem. Int.*, **23**, No. 1, 35-44 (1993).
46. B. Mitrovic, L. J. Ignarro, H. V. Vinters, et al., "Nitric oxide induces necrotic but not apoptotic cell death in oligodendrocytes," *Neuroscience*, **65**, No. 2, 531-539 (1995).
47. Т. А. Пивнева, Е. В. Колотушкина, Н. А. Мельник, "Механизмы процесса демиелинизации и его моделирование", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **31**, № 6, 497-509 (1999).
48. G. A. Roth, V. Spada, K. Hamill, et al., "Insulin-like growth factor I increases myelination and inhibits demyelination in cultured organotypic nerve tissue," *Brain Res. Dev. Brain Res.*, **88**, No. 1, 102-108 (1995).
49. Г. Г. Скибо, Л. М. Коваль, *Структурные закономерности развития нейронов в условиях культивирования*, Наук. думка, Киев (1992).
50. N. J. Abbott, "Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability," *J. Anat.*, **200**, No. 6, 629-638 (2002).
51. В. П. Божкова, П. Д. Брежестовский, В. П. Буравлев и др., *Руководство по культивированию нервной ткани: Методы, Техника, Проблемы*, Наука, Москва (1988).
52. L. M. Notterpek and L. H. Rome, "Functional evidence for the role of axolemma in CNS myelination," *Neuron*, **13**, No. 2, 473-485 (1994).
53. B. D. Trapp, H. D. Webster, D. Johnson, et al., "Myelin formation in rotation-mediated aggregating cell cultures: immunocytochemical, electron microscopic, and biochemical observations," *J. Neurosci.*, **2**, No. 7, 986-993 (1982).
54. L. Hertz, L. Peng, and J. C. Lai, "Functional studies in cultured astrocytes," *Methods*, **16**, No. 3, 293-310 (1998).
55. R. C. Melcangi, M. Ballabio, M. Magnaghi, et al., "Metabolism of steroids in pure cultures of neurons and glial cells: role of intracellular signalling," *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **53**, Nos. 1/6, 331-336 (1995).
56. D. D. Murphy and S. B. Andrews, "Culture models for the study of estradiol-induced synaptic plasticity," *J. Neurocytol.*, **29**, Nos. 5/6, 411-417 (2000).
57. S. Raval-Fernandez and L. H. Rome, "Role of axonal components during myelination," *Microsc. Res. Tech.*, **41**, No. 5, 379-392 (1998).
58. N. Ben-Ari, V. Tseeb, D. Ragozzino, et al., "Gamma-



- Aminobutyric acid (GABA): a fast excitatory transmitter which may regulate the development of hippocampal neurones in early postnatal life," *Prog. Brain Res.*, **102**, 261-273 (1994).
59. E. Zapryanova, O. S. Sotnikov, S. S. Sergeeva, et al., "Axon reactions precede demyelination in experimental models of multiple sclerosis," *Neurosci. Behav. Physiol.*, **34**, No. 4, 337-342 (2004).
  60. A. M. Baker, M. C. Grekova, and J. R. Richert, "EAE susceptibility in FVB mice," *J. Neurosci. Res.*, **61**, No. 2, 140-145 (2000).
  61. A. Ben-Nun, I. Mendel, and N. Kerlero de Rosbo, "Immunomodulation of murine experimental autoimmune encephalomyelitis by pertussis toxin: the protective activity, but not the disease-enhancing activity, can be attributed to the nontoxic B-oligomer," *Proc. Ass. Am. Physicians.*, **109**, No. 2, 120-125 (1997).
  62. I. Mendel, N. Kerlero de Rosbo, and A. Ben-Nun, "The autoimmune reactivity to myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) in multiple sclerosis is potentially pathogenic: effect of copolymer 1 on MOG-induced disease," *J. Neurol.*, **243**, Suppl. 1, S14-S22 (1996).
  63. Ю. М. Жаботинский, В. И. Иоффе, *Экспериментальные аллергические демиелинизирующие заболевания нервной системы*, Медицина, Ленинград (1975).
  64. E. Gunther, H. Odenthal, and W. Wechsler, "Association between susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis and the major histocompatibility system in congenic rat strains," *Clin. Exp. Immunol.*, **32**, No. 3, 429-434 (1978).
  65. M. K. Storch, A. Sterferl, U. Brehm, et al., "Autoimmunity to myelin oligodendrocyte glycoprotein in rats mimics the spectrum of multiple sclerosis pathology," *Brain Pathol.*, **8**, No. 4, 681-694 (1998).
  66. R. Gold, H.-P. Hartung, and H. Lassmann, "T-cell apoptosis in autoimmune diseases: termination of inflammation in the nervous system and other sites with specialized immune-defense mechanisms," *Trends Neurosci.*, **20**, No. 9, 399-404 (1997).
  67. P. Hjelmstrom, A. E. Juedes, J. Fjell, et al., "B-cell-deficient mice develop experimental allergic encephalomyelitis with demyelination after myelin oligodendrocyte glycoprotein sensitization," *J. Immunol.*, **161**, No. 9, 4480-4483 (1998).
  68. H. Lassmann, "Models of multiple sclerosis: new insights into pathophysiology and repair," *Current Opin. Neurol.*, **21**, No. 3, 242-247 (2008).
  69. G. L. Boccaccio and L. Steinman, "Multiple sclerosis: from a myelin point of view," *J. Neurosci. Res.*, **45**, No. 6, 647-654 (1996).
  70. B. Kalman and F. D. Lublin, "Cytokine therapy," in: *Immunotherapy in Neuroimmunologic Diseases*, Martin Dunitz, London (1998).
  71. R. M. Ransohoff, "Chemokines in neurological disease models: correlation between chemokine expression patterns and inflammatory pathology," *J. Leukoc. Biol.*, **62**, No. 5, 645-652 (1997).
  72. M. Ding, M. Zhang, J. L. Wong, et al., "Antisense knockdown of inducible nitric oxide synthase inhibits induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL/J mice," *J. Immunol.*, **160**, No. 6, 2560-2564 (1998).
  73. M. P. Pender, "Demyelination and neurological signs in experimental allergic encephalomyelitis," *J. Neuroimmunol.*, **15**, No. 1, 11-24 (1987).
  74. K. W. Selmaj and C. S. Raine, "Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage *in vitro*," *Ann. Neurol.*, **23**, No. 4, 339-346 (1988).
  75. J. Bauer, I. Huitinga, W. Zhao, et al., "The role of macrophages, perivascular cells, and microglial cells in the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis," *Glia*, **15**, No. 4, 437-446 (1995).
  76. M. Mayer-Proschel, M. S. Rao, and M. Noble, "Progenitor cells of the central nerve system: a boon for clinical neuroscience," *J. NIH Res.*, **9**, 31-36 (1997).
  77. J. A. Kawszak, M. M. Mathisen, J. A. Drazba, et al., "Digitized image analysis reveals diffuse abnormalities in normal-appearing white matter during acute experimental autoimmune encephalomyelitis," *J. Neurosci. Res.*, **54**, No. 3, 364-372 (1998).
  78. Y. Matsumoto, K. Ohmori, and M. Fujiwara, "Microglial and astroglial reactions to inflammatory lesions of experimental autoimmune encephalomyelitis in the rat central nervous system," *J. Neuroimmunol.*, **37**, Nos. 1/2, 23-33 (1992).
  79. X. Liu, D.-L. Yao, C. A. Bondy, et al., "Insulin-like growth factor I treatment reduces clinical deficits and lesion severity in acute demyelinating experimental autoimmune encephalomyelitis," *Mult. Scler.*, **1**, No. 1, 2-9 (1995).
  80. C. Fressinaud and J. M. Vallat, "Basic fibroblast growth factor improves recovery after chemically induced breakdown of myelin-like membranes in pure oligodendrocyte cultures," *J. Neurosci. Res.*, **38**, No. 2, 202-213 (1994).