



І. Ф. ЛАБУНЕЦЬ

ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», Київ

## Можливості та перспективи використання токсичної купризонової моделі демієлінізації *in vivo* та *in vitro* в експериментальній і клінічній неврології (огляд літератури та власні дослідження)

Наведено дані літератури та результати досліджень лабораторії експериментального моделювання Інституту генетичної та регенеративної медицини НАМН України щодо ефективності використання токсичної купризонової моделі демієлінізації *in vivo* та *in vitro* для вивчення її патогенетичних чинників (імунних, ендокринних, оксидативного стресу), значення віку, статі, лінії тварин, а також для пошуку засобів із ремієлінізуювальним/нейропротекторним ефектом. Наведено переваги купризонової моделі демієлінізації перед іншими експериментальними моделями. На власному прикладі оцінки ремієлінізуювального ефекту цитокінів (лейкемія-інгібіторний фактор) і гормонів (мелатонін) показано перспективність використання купризонової моделі демієлінізації *in vitro* для скринінгу ремієлінізуювальних чинників. Обґрунтовано можливість застосування експериментальної купризонової моделі при вивченні інших патологій нервової системи.

**Ключові слова:** експериментальні моделі демієлінізації, нейротоксин купризон, купризонова модель демієлінізації *in vivo* та *in vitro*, ремієлінізація, чинники демієлінізації та ремієлінізації.

Розсіяний склероз — одне із найпоширеніших демієлінізуювальних захворювань центральної нервової системи (ЦНС), яке є мультифакторним, прогресивним і характеризується моторними, сенсорними, емоційними, вегетативними та когнітивними порушеннями [7, 8, 15, 18]. Це захворювання уражує осіб працездатного віку (переважно молодих), призводячи до їх інвалідизації, тому має соціально-економічне значення.

При демієлінізуювальних захворюваннях основним патоморфологічним виявом є руйнування мієлінової оболонки нервових волокон. Тому дослідження механізмів розвитку демієлінізації та пошук медикаментозних засобів із ремієлінізуювальним впливом — актуальне завдання неврології,

вирішення якого можливе при застосуванні адекватних експериментальних моделей цієї патології.

### Моделі індукції демієлінізації *in vivo*

Є низка підходів до індукції демієлінізації *in vivo*, зокрема модель експериментального алергійного енцефаломієліту (ЕАЕ), вірус- та токсин-індуковані моделі [22]. Модель ЕАЕ відтворюють переважно шляхом введення тваринам енцефалітогенної суміші (емульсія головного або спинного мозку дорослих щурів та повний ад'ювант Фрейнда) і широко використовують для вивчення імунних механізмів розвитку демієлінізації [13, 16]. Використання в експерименті вірусних та токсичних моделей демієлінізації дає змогу вивчати її інфекційну і токсичну природу. Модель мишачого енцефаломієліту Теелера передбачає ін'єкцію одноланцюгової РНК

© І. Ф. Лабунець, 2018

у ЦНС, унаслідок цього відбувається імуноопосередкована загибель олігодендроцитів [22]. Шляхом моделювання загибелі олігодендроцитів за допомогою локального введення токсинів бромистого етидію або лізолетицину можна відтворити демієлінізацію у певних ділянках ЦНС [22].

Серед експериментальних моделей демієлінізації *in vivo* привертає увагу токсична купризонова модель. Відомо, що нейротоксин купризон [біс(циклогексанон)-оксалдигідрозон] — це мідний хелатор, який при пероральному використанні первинно вибірково ушкоджує мідьвмісні ферменти (зокрема цитохромоксидазу, моноамінооксидазу), мітохондрій зрілих олігодендроцитів та спричиняє апоптоз останніх. У головному мозку спостерігається раннє та виражене пригнічення експресії мієлінасоційованого глікопротеїну (MAG) мРНК з його ранньою втратою [19, 24, 32]. При цьому ушкодження мієліну не має аутоімунного характеру. Як результат, відбувається демієлінізація аксонів нейронів і розвиваються порушення поведінки. Крім того, після вживання купризону в головному мозку тварин відбувається активація мікроглії з посиленням продукції прозапальних цитокінів (фактор некрозу пухлини  $\alpha$  та інтерферон- $\gamma$ ) і виникає оксидативний стрес [19, 32]. Ушкодження в головному мозку не є перивенозними, а інфільтрат у зоні ушкодження містить переважно клітини мікроглії/макрофаги, меншою мірою — Т-лімфоцити [19, 32, 35].

Шляхом змін дози купризону *in vivo* і використання мишей певної лінії, статі та віку вдається отримати демієлінізувальні ушкодження відповідних ділянок головного мозку (мозолисте тіло, мозочок, гіпокамп, кора) [23, 27, 36]. Крім того, змінюючи тривалість прийому купризону (від 3—6 до 12 тиж) можна відтворити гостру або хронічну демієлінізацію цього органа, а також ремієлінізацію, яка зазвичай відбувається впродовж 6 тиж після завершення вживання цього нейротоксину [27]. Посилення демієлінізації і збільшення тривалості періоду ремієлінізації можна досягти, використовуючи купризон разом з рапаміцином [34]. Саме тому купризонова модель є важливою для дослідження чинників, які впливають як на демієлінізацію, так і на ремієлінізацію в структурах ЦНС. Ця модель також дає змогу досліджувати механізми демієлінізації у спинному мозку, яка може виникнути незалежно від ушкодження головного мозку [25].

За даними деяких дослідників, патологічні зміни в нервовій системі у тварин із купризоновою моделлю демієлінізації нагадують деякі вияви демієлінізувальної патології у людини (зокрема розсіяний склероз) [19, 30, 32, 35]. На їх думку, купризонова модель може бути ще одним варіантом експериментальних моделей для вивчення механізмів демієлінізації.

У лабораторії експериментального моделювання Інституту генетичної та регенеративної медицини (ІГРМ) уперше в Україні було відтворено купри-

зонову модель демієлінізації *in vivo*, застосування якої при експериментальних дослідженнях упродовж 2014—2018 рр. дало змогу отримати нові результати:

1. Виявлено не лише демієлінізувальний ефект, а і токсичний вплив купризону на структуру нейронів ЦНС (кора головного мозку, клітини Пуркіньє мозочка, поперековий відділ спинного мозку) молодих мишей [2, 5, 11]. Отримані дані дали змогу виявити нові ланки патогенезу демієлінізувальної патології і є підґрунтям для пошуку нейропротекторних засобів.

2. Установлено узгодженість між ступенем порушень структури нейронів ЦНС і руховою, емоційною та дослідницькою активністю молодих мишей із купризоновою дієтою [5, 11].

3. Визначено найбільш і найменш чутливі до токсичного впливу купризону на нервові клітини лінії молодих самців та самиць мишей (129/Sv, FVB/N, C57Bl/6) [5, 11], що дає змогу досліджувати значення генетичних і гендерних чинників для розвитку демієлінізації та нейродегенерації.

4. Показано, що розвиток морфофункціональних порушень ЦНС відбувається на ранніх строках дії купризону, що дало змогу обґрунтувати ефективну схему застосування низки нейропротекторних засобів [3, 9, 29].

5. Визначено патогенетичні чинники впливу купризону на розвиток структурних змін ЦНС у молодих мишей, зокрема це імунні чинники (Т-лімфоцити, макрофаги) та оксидативний стрес (баланс між рівнями малонового діальдегіду та антиоксидантних ферментів) [3, 4, 29].

6. Показано значення порушень ендокринної функції центрального органа імунітету — тимуса — для розвитку змін імунних чинників у головному мозку мишей, які отримували купризон, а також важливість підвищення вмісту тимічного гормону для реалізації впливу нейропротекторних засобів у таких тварин [1, 3].

7. Установлено нейропротекторний вплив цитокінів (лейкемія-інгібіторний фактор, LIF, інтерлейкін-10) та гормонів (мелатонін) у мишей із купризоновою моделлю демієлінізації, який значною мірою пов'язаний зі зміною активності тимуса, імунних чинників та антиоксидантного захисту [1, 3, 6, 29]. Ці дані є підґрунтям для вивчення клітинних та ендокринних механізмів відновлення порушеної структури ЦНС, а також для пошуку нових лікарських засобів і біотехнологічних підходів до клітинної терапії демієлінізувальної патології. Нині для патогенетичної терапії останньої (зокрема розсіяного склерозу) використовують різні препарати (інтерферони, цитостатики, моноклональні антитіла, препарати, які поліпшують кровотік тощо) [17].

8. Визначення вікових особливостей змін патогенетичних чинників демієлінізації та нейродегенерації за умов дії купризону, а також застосування цитокінів і гормонів [1, 29] може бути підґрунтям

при розробленні підходів до терапії зазначених ушкоджень в організмах різного віку.

Отже, результати проведених нами експериментальних досліджень на відтвореній купризонової моделі демієлінізації *in vivo* дали змогу не лише підтвердити ефективність використання цієї моделі при вивченні механізмів демієлінізації в ЦНС, а й отримати нові дані щодо патогенетичних чинників розвитку структурних змін у нервовій системі, а також механізмів нейропротекторного ефекту деяких цитокінів і гормонів.

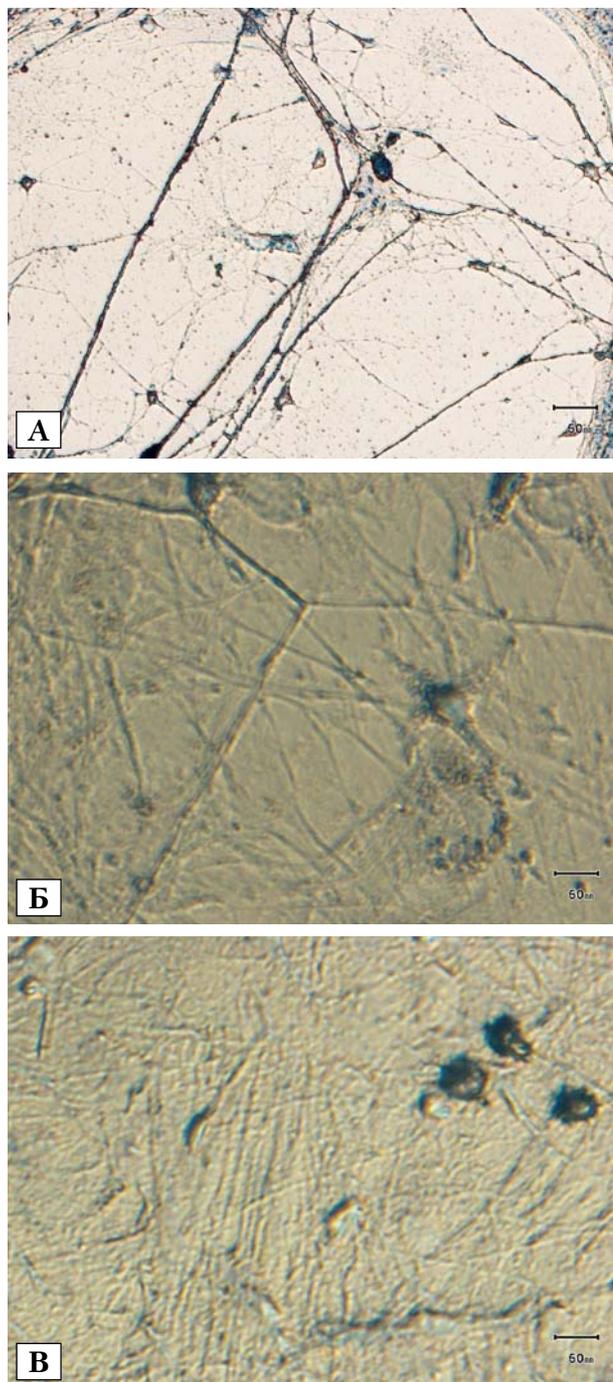
### Моделі індукції демієлінізації *in vitro*

Останнім часом велику увагу приділяють моделям створення патологій нервової системи *in vitro*, що дає змогу не лише вивчати закономірності нейрогенезу, взаємодії нервових і гліальних клітин, механізми змін мієлінізації, а й оцінювати динаміку морфологічних та функціональних змін культури нервової тканини в процесі її розвитку, внаслідок дії біологічно активних речовин, медикаментозних засобів, ушкоджувальних чинників, а також речовин, які зменшують дію останніх [12, 20, 26]. Крім того, ці моделі дають змогу зменшити кількість тварин для експериментальних досліджень. Однак моделі патології нервової системи *in vitro* не дають змогу оцінювати внутрішньосистемні та міжсистемні регуляторні впливи, які досліджують у системі *in vivo* [31].

Відомі декілька способів моделювання ушкоджень мієлогенезу *in vitro*, а саме шляхом додавання до: а) дисоційованої культури клітин мозочка новонароджених щурів сироватки крові пацієнтів із розсіяним склерозом у стадії загострення або сироватки крові кролів із ЕАЕ за наявності комплекменту, б) культури нервових клітин спинного мозку вірусу Тейлора, в) культури зрізів мозочка лізолецитину або антитіл до MAG, г) культури нервових клітин нейротоксину купризону [13, 21, 26]. Усі моделі дають змогу оцінити вміст олігодендроцитів або їх попередників у культурі клітин головного мозку за допомогою методів імуноцитохімії, імуногістохімії, вивчити ультраструктуру цих клітин з використанням електронної та конфокальної мікроскопії. Перевагами купризонової моделі демієлінізації *in vitro* є можливість урахувати дозу токсичної речовини, а отже, визначити дозозалежні зміни вмісту клітин, які продукують мієлін, у культурі, а також запобігти етичним проблемам при використанні ушкоджувального чинника.

Одним із підходів до посилення/прискорення ремієлінізації демієлінізованих аксонів нейронів у культурі нервових клітин є використання *in vitro* різних препаратів та біологічно активних речовин [13, 26, 31], зокрема препаратів для лікування розсіяного склерозу (фінголімод), чинників з ремієлінізуювальним ефектом (17- $\beta$ -естрадіол, форсколін, фактор росту фібробластів- $\beta$ , LIF, ретиноева кислота, трийодтиронін, екстракт з гриба *Hericium erinaceus* тощо). Відомий спосіб підвищення *in vitro*

кількості олігодендроцитів та нейронів шляхом нанесення нейральних стовбурових клітин, які продукують ростові чинники і цитокіни, на органотипову культуру ушкодженого гіпоксією гіпокампа [28]. Для оцінки ремієлінізуювального ефекту зазначених засобів використовують високовартісні методи імуногістохімії, імуноцитохімії та електронної мікроскопії.



**Рисунок.** Дисоційована культура клітин мозочка новонароджених мишей (26-та доба культивування): А — контрольна культура (без токсину); Б — із використанням купризону в дозі 25 мкмоль (часткова демієлінізація); В — із використанням купризону в дозі 500 мкмоль (повна демієлінізація). Фарбування суданом чорним В. Зб. 200 (10, 14)

У лабораторії експериментального моделювання ІГРМ уперше в Україні було відпрацьовано токсичну купризонову модель демієлінізації *in vitro* [10, 14]. При відтворенні цієї моделі використовували простий доступний маловитратний інформативний спосіб оцінки стану мієлінізації аксонів нейронів. Дві ушкоджувальні дози нейротоксину купризону (25 і 500 мкмоль) додавали до дисоційованої культури клітин мозочка новонароджених мишей лінії FVB/N. Стан мієлінізації оцінювали шляхом гістохімічного дослідження (фарбування суданом чорним В). Унаслідок внесення в культуру клітин мозочка купризону в дозі 25 або 500 мкмоль спостерігали відповідно часткову або повну демієлінізацію аксонів нейронів мозочка порівняно з контрольною культурою (без токсину) (рисунк). Отже, використаний нами підхід дає змогу доступно оцінювати дозозалежний демієлінізувальний ефект нейротоксину купризону.

На відтвореній купризоновій моделі демієлінізації *in vitro* нами також була показана можливість оцінювати гістохімічним методом стан ремієлінізації ушкоджених купризоном нервових волокон мозочка під впливом біологічно активних речовин із ремієлінізувальною дією [3, 33]. На прикладі цитокінів (LIF) і гормонів (мелатонін) — відповідно чинники мікрооточення та макрооточення для нервових клітин — показано, що після внесення їх у культуру клітин мозочка, попередньо оброблену купризоном, відбувається повна ремієлінізація аксонів нейронів. Ремієлінізувальний ефект мелатоніну і LIF узгоджується зі збільшенням у культурі кількості нервових клітин, вмісту зрілих олігодендроцитів (Olig2<sup>+</sup>-клітини), який був суттєво зменшений під впливом нейротоксину.

Отже, відтворена в лабораторії експериментального моделювання купризонова модель демієлінізації *in vitro* дає змогу вивчати чинники, які посилюють/прискорюють демієлінізацію, а також здійснювати пошук медикаментозних засобів із ремієлінізувальним ефектом.

Конфлікту інтересів немає.

Однчасне використання нами при проведенні експериментальних досліджень купризонової моделі демієлінізації *in vivo* та *in vitro* дало змогу отримати найповнішу інформацію щодо механізмів та ступеня розвитку патологічних змін у ЦНС. Про необхідність застосування експериментальних моделей патології нервової системи *in vivo* як фінального етапу доклінічних досліджень медикаментозних засобів після використання моделей *in vitro* також свідчать результати досліджень інших авторів [20].

### Перспективи використання купризонової моделі в експериментальній та клінічній неврології

Оскільки купризонова модель демієлінізації є доступною, інформативною, адекватною для дослідження механізмів розвитку гострої та хронічної демієлінізації, патофізіології апоптозу олігодендроцитів, ремієлінізації, нейродегенерації, а також розробки нових доклінічних ремієлінізувальних/нейропротекторних засобів, її використання може бути перспективним у таких напрямках:

- у поєднанні з іншими експериментальними моделями демієлінізації при дослідженні патогенетичних чинників цієї патології, оцінці механізмів дії терапевтичних засобів та їх ефективності;
- при дослідженні інших патологій нервової системи [32]. Зокрема показано, що використання купризону у відповідних дозах і за певної тривалості прийому дає змогу отримати структурні ушкодження ділянок головного мозку і розвиток у них нейрохімічних змін, які значною мірою нагадують патологічні зміни при шизофренії та епілепсії.

Таким чином, купризонова модель демієлінізації є важливим інструментом для фундаментальних і прикладних досліджень в експериментальній неврології. Крім того, отримані експериментальні результати з певною мірою вірогідності можуть бути підґрунтям для розробки вдосконалених терапевтичних підходів у клінічній неврології.

### Література

1. Лабунец І. Ф. Изменения эндокринной функции тимуса, макрофагов и Т-лимфоцитов головного мозга у мышей разного возраста после введения нейротоксина купризона и цитокина // Междунар. неврол. журн. — 2018. — № 4 (98). — С. 155—161.
2. Лабунец І. Ф., Мельник Н. А., Кузьминова І. А. Изменения поведенческих реакций и структуры нейронов центральной нервной системы у мышей при купризоновой модели демиелинизации // Интер-медикал. — 2014. — № 5. — С. 25—31.
3. Лабунец І. Ф., Родниченко А. Е., Утко Н. А. и др. Нейропротекторное влияние мелатонина при экспериментальных моделях патологии нервной системы // Тези доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині» (9—10 листопада 2017 р., Київ, Україна) // Клітинна та органна трансплантологія. — 2017. — Т. 5(2), дод. — С. 41—42.
4. Лабунец І. Ф., Таланов С. А., Родниченко А. Е. и др. Изучение

- в эксперименте влияния цитокинов и гормонов на отдельные звенья патогенеза нейродегенеративных заболеваний как возможный путь к повышению эффективности клеточной терапии // 36. тез наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Трансплантація — сьогодні, минуле та майбутнє» (7 листопада 2014 р., м. Київ). — К., 2014. — С. 28.
5. Лабунец І. Ф., Мельник Н. О., Кузьминова І. А. та ін. Вплив нейротоксину «купризон» на поведінкові реакції та морфофункціональні зміни нейронів головного та спинного мозку у мишей // Журн. НАМН України. — 2014. — Т. 20 (4). — С. 402—408.
  6. Лабунец І. Ф., Мельник Н. О., Родниченко А. Е. та ін. Вплив рекомбінантного інтерлейкіна-10 людини на структуру нейронів центральної нервової системи та поведінкові реакції у мишей із купризоновою моделлю розсіяного склерозу // Тези доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині» (9—10 листопада 2017 р., Київ) // Клітинна та органна трансплантологія. — 2017. — Т. 5(2), дод. — С. 240—241.

7. Міщенко Е. С., Шульга О. Д., Бобрик Н. В. та ін. Розсіяний склероз: глобальні перспективи // Укр. мед. часопис. — 2014. — Т. 101 (3). — С. 84—87.
8. Негрич Т. І., Сорокін Б. В., Євтушенко С. К. Від вірогідної діагностики до ефективної терапії розсіяного склерозу // Міжнар. неврол. журн. — 2012. — № 3 (49). — С. 152—158.
9. Патент України на корисну модель № 104976 (UA). Номер заявки у 2015 09252. Спосіб моделювання регенерації ушкоджених нейронів головного мозку при нейродегенеративних захворюваннях / Лабунець І. Ф., Мельник Н. О., Римар С. Ю. — Опубл. 25.02.2016. — Бюл. № 4. — 4 с.
10. Патент України на корисну модель № 125486 (UA). Номер заявки у 2017 12275 від 12.12.2017 р. G01N 33/50 (2006.01). Спосіб оцінки демієлінізації аксонів нейронів при моделюванні *in vitro* ушкоджень клітин головного мозку, зокрема мозочка / Лабунець І. Ф., Родніченко А. Є. — Опубл. 10.05.2018. — Бюл. № 9. — 3 с.
11. Патент України на корисну модель № 94458 у UA Реєстраційний номер заявки у 2014 06622. — МПК G09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання структурних змін нейронів центральної нервової системи при демієлінізуючих захворюваннях / Лабунець І. Ф., Мельник Н. О., Кузьміна І. А., Бутенко Г. М. — Опубл. 10.11.2014. — Бюл. № 21. — 3 с.
12. Пивнева Т. А. Механізми демієлінізації при розсіяному склерозі // Нейрофізіол. — 2009. — Т. 41 (5). — С. 429—437.
13. Пивнева Т. А. Морфофункціональний стан гліальних клітин при експериментальних впливах, що індукують нейродегенерацію: Дис. ...-ра біол. наук. — К., 2010. — 328 с.
14. Родніченко А. Є. Відтворення токсичної купризонової моделі демієлінізації в системі *in vitro* // Клітинна та органна трансплантологія. — 2018. — Т. 6 (1). — С. 86—92.
15. Соколова Л. І., Сепиханова М. М. Сравнительный анализ эффективности дифференцированного лечения рассеянного склероза у пациентов разного возраста // 36. науч. праць співроб. НМАПО імені П. Л. Шупика. — 2014. — Т. 23 (2). — С. 289—298.
16. Цимбалюк В. І., Касяненко Ю. А. Особливості моделювання та перебігу експериментального алергійного енцефаломієліту // Укр. нейрохір. журн. — 2005. — № 1. — С. 45—50.
17. Черненко М. Є., Вовк В. І. Розсіяний склероз: сучасні підходи до патогенетичної терапії // Міжнарод. мед. журнал. — 2015. — № 1. — С. 58—62.
18. Чуприна Г. М. Розсіяний склероз: Клініко-патогенетичні характеристики та терапевтичні підходи з урахуванням коморбідності. Дис. ...-ра мед. наук за спеціальністю 14.01.15 «Неврологія» / Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. — К., 2017. — 409 с.
19. Acs P., Kalman B. Pathogenesis of multiple sclerosis: what can we learn from the cuprizone model // *Methods Mol. Biol.* — 2012. — Vol. 900. — P. 403—431. doi: 10.1007/978-1-60761-720-4-20.
20. Baraterio A., Fernandes A. Temporal oligodendrocyte lineage progression: *in vitro* models of proliferation, differentiation and myelination // *Biochimica et Biophysica Acta.* — 2014. — Vol. 1843. — P. 1917—1929.
21. Cammer W. The neurotoxicant, cuprizone, retards the differentiation of oligodendrocytes *in vitro* // *J. Neurological Sciences.* — 1999. — Vol. 168. — P. 116—120.
22. Denic A., Johnsonb A. J., Bieber A. J. et al. The relevance of animal models in multiple sclerosis research // *Pathophysiol.* — 2011. — Vol. 18. — P. 21—29. doi:10.1016/j.pathophys.2010.04.004.
23. Doucette Jiao R., Nazarali A. J. Age-related and cuprizone-induced changes in myelin and transcription factor gene expression and in oligodendrocyte cell densities in the rostral corpus callosum of mice // *Cell. Mol. Neurobiol.* — 2010. — Vol. 30. — P. 607—629. doi: 10.1007/s10571-009-9486-z.
24. Gudi V., Gingele S., Skripuletz Th. et al. Glial response during cuprizone-induced de- and remyelination in the CNS: lessons learned // *Front. Cell. Neurosci.* — 2014. — N 8 (Article 73). — 24 p. doi: 10.3389/fncel.2014.00073.
25. Herder V., Hansmann F., Stangel M. et al. Lack of cuprizone-induced demyelination in the murine spinal cord despite oligodendroglial alterations substantiates the concept of site-specific susceptibilities of the central neurons system // *Neuropathology and Applied Neurobiology.* — 2011. — Vol. 37. — P. 676—684.
26. Jarjour A.A., Zhang H., Bauer N. et al. *In vitro* modeling of central nervous system myelination and remyelination // *Glia.* — 2012. — Vol. 60. — P. 1—12. doi: 10.1002/glia.21231.
27. Kipp M., Clarner T., Dang J. et al. The cuprizone animal model; new insights into an old story // *Acta Neuropathol.* — 2009. — Vol. 118. — P. 723—736. doi: 10.1007/s00401-009-0591-3.
28. Kopach O., Rybachuk O., Krotov V. et al. Maturation of neural stem cells and integration into hippocampal circuits: functional study in post-ischemia *in situ* // *J. Cell. Sci.* — 2018. — Vol. 131 (4). — 35 p. doi: 10.1242/jcs.210989.
29. Labunets I. F., Melnyk N. O., Rodnichenko A. E. et al. Cuprizone-induced disorders of central nervous system neurons, behavioral reactions, brain activity of macrophages and antioxidant enzymes in the mice of different ages: Role of Leukemia Inhibitory Factor in their improvement // *J. Aging Geriatr. Med.* — 2017. — Vol. 1 (2). — 8 p. doi: 10.4172/AGM.1000104.
30. Lucchinetto C., Bruck W., Parisi J. et al. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination // *Ann. Neurol.* — 2000. — Vol. 55. — P. 458—468.
31. Merrill J. E. *In vivo* and *in vitro* pharmacological models to assess demyelination and remyelination // *Neuropsychopharmacol. Reviews.* — 2009. — Vol. 34. — P. 55—73.
32. Praet J., Guglielmetti C., Berneman Z. et al. Cellular and molecular neuropathology of the cuprizone mouse model: Clinical relevance for multiple sclerosis // *J. Neurobiol.* — 2014. — Vol. 47. — P. 485—505. doi: 10.1016/j.neurobiol.2014.10.004.
33. Rodnichenko A., Utiko N., Labunets I. *In vitro* cuprizone model as a tool to study remyelination factors // 11th FENS Forum of neuroscience (7—11 July 2018, Berlin, Germany). Abstract number F18—0774.
34. Sachs H. Y., Bercery K. K., Popescu D. C. et al. A new model of cuprizone-mediated demyelination/remyelination // *ASN Neuro.* — 2014. — P. 1—16. doi: 10.1177/1759091414551955.
35. Serra-de-Oliveira N., Boilesen S. N., Prado de França Carvalho C. et al. Behavioural changes observed in demyelination model shares similarities with white matter abnormalities in humans // *Behav. Brain Res.* — 2015. — Vol. 287. — P. 265—275.
36. Zhen W., Liu A., Lu J. et al. Wang J. An alternative cuprizone-induced demyelination and remyelination mouse model // *ASN Neuro.* — 2017. — July-August. — P. 1—9.

І. Ф. ЛАБУНЕЦЬ

ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины», Киев

## **Возможности и перспективы использования токсичной купризоновой модели демиелинизации *in vivo* и *in vitro* в экспериментальной и клинической неврологии (обзор литературы и собственные исследования)**

Приведены данные литературы и результаты исследований лаборатории экспериментального моделирования Института генетической и регенеративной медицины НАМН Украины относительно эффективности использования токсической купризоновой модели демиелинизации *in vivo* и *in vitro* для изучения ее

патогенетических факторов (иммунных, эндокринных, оксидативного стресса), значения возраста, пола, линии животных, а также для поиска средств с ремиелинизирующим/нейропротекторным эффектом. Описаны преимущества купризоновой модели демиелинизации над другими экспериментальными моделями. На собственном примере оценки ремиелинизирующего эффекта цитокинов (лейкемия-ингибиторный фактор) и гормонов (мелатонин) показана перспективность использования купризоновой модели демиелинизации *in vitro* для скрининга ремиелинизирующих факторов. Обоснована возможность применения экспериментальной купризоновой модели при изучении других патологий нервной системы.

**Ключевые слова:** экспериментальные модели демиелинизации, нейротоксин купризон, купризоновая модель демиелинизации *in vivo* и *in vitro*, ремиелинизация, факторы демиелинизации и ремиелинизации.

I. F. LABUNETS

SI «Institute of Genetic and Regenerative Medicine of NAMS of Ukraine», Kyiv

### **Possibilities and prospects of the application of the *in vivo* and *in vitro* toxic cuprizone model for demyelination in experimental and clinical neurology (literature review and own research results)**

In this article, literature data and research findings obtained from the Experimental modeling laboratory of Institute of Genetic and Regenerative medicine are shown. This review testifies the effectiveness of using the *in vivo* and *in vitro* toxic cuprizone model for demyelination with the purpose of studying the pathogenic factors which include the immune, endocrine and oxidative stress factors associated with age, sex and strains of animals, as well as finding remyelinating/neuroprotective remedies. The advantages of the cuprizone model for demyelination over other experimental models are also described. Using, as an example the effectiveness of our application of cytokines (leukemia inhibitory factor) and hormones (melatonin) with the remyelinating effects we show the promise of the *in vitro* demyelination cuprizone model for screening the remyelinating factors. The possibilities of using the experimental cuprizone model for studying other pathologies of the nervous system are justified.

**Key words:** experimental models of demyelination, neurotoxin cuprizone, *in vivo* and *in vitro* cuprizone model for demyelination, remyelination, factors of demyelination and remyelination.