
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**НАРУШЕНИЕ МИЕЛИНИЗАЦИИ В СПИННОМ МОЗГЕ ТРАНСГЕННЫХ
МЫШЕЙ mSOD1 КАК ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ ПАТОГЕНЕЗА БОКОВОГО
АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА**

© 2025 г. О. В. Тяпкина^{1,2,*}, М. А. Мухамедьяров², Л. Ф. Нуруллин^{1,2}

¹Казанский институт биохимии и биофизики – Исследовательский центр “Казанский научный
центр Российской академии наук”, Казань, Россия

²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

*E-mail: anti-toxin@mail.ru

Поступила в редакцию 24.07.2025 г.

После доработки 22.08.2025 г.

Принята к публикации 22.08.2025 г.

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – заболевание, которое характеризуется прогрессирующей мышечной слабостью, атрофией, спастичностью, параличом, обусловленных дегенерацией и смертью мотонейронов головного и спинного мозга, и приводит к летальному исходу. Для изучения патогенеза БАС и способов его лечения широко применяются модельные животные, такие как мыши SOD1-G93A, экспрессирующие мутацию гена, кодирующего антиоксидантный фермент супероксиддисмутазу 1. Трансгенные мыши демонстрируют фенотипы заболевания, сходные с теми, что обнаруживаются у пациентов с БАС, выражающиеся в ухудшении двигательной функции, дегенерации мотонейронов в спинном мозге, стволе мозга и коре, приводящие к параличу задних конечностей и смерти. В настоящей работе с применением световой микроскопии оценивали площади поперечных серийных срезов поясничного утолщения спинного мозга, а также площади, занимаемые белым и серым веществами на этих срезах у мышей дикого типа WT и у трансгенных мышей mSOD1 на разных стадиях развития БАС. Выявленная редукция объема поясничного утолщения спинного мозга у трансгенных мышей обнаруживается уже на ранней досимптомной стадии заболевания и обусловлена уменьшением объемов как серого, так и белого веществ. Уменьшение количества нейронов серого вещества спинного мозга – характерный признак БАС, обусловленный гибелью этих клеток, было выявлено у трансгенных мышей только на симптомной стадии заболевания. С помощью флуоресцентной микроскопии установлено снижение интенсивности свечения специфичного красителя миелина флуоромиелина в белом веществе поясничного утолщения спинного мозга у трансгенных мышей, начиная с ранней досимптомной стадии. Выявленные морфологические изменения в поясничном отделе спинного мозга трансгенных мышей mSOD1 позволяют заключить, что уже на ранней досимптомной стадии БАС развиваются процессы демиелинизации, возникающие скорее всего в результате нарушения работы миелинообразующих клеток.

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз (БАС), гибель двигательных нейронов, демиелинизация, уменьшение объема поясничного утолщения спинного мозга

DOI: 10.7868/S2658655X25100049

ВВЕДЕНИЕ

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – заболевание, впервые описанное Жан-Мартен Шарко [1] и также известное как болезнь Лу Герига [2]. Основными характеристиками заболевания являются такие клинические проявления, как прогрессирующая мышечная слабость, атрофия, спастичность и фатальный паралич, обусловленные дегенерацией и смертью мотонейронов головного и спинного мозга [3]. Считается, что 90% случаев БАС являются спорадическими, а около 10% относятся к семейным формам, демонстрируя сходные патологические признаки, ведущие к летальному исходу, когда денервация развивается в диафрагме и дыхательных мышцах. Средний возраст начала БАС составляет от 51 до 66 лет, а возраст на момент постановки диагноза БАС составляет от 54 до 69 лет. Около 10% пациентов с БАС имеют форму с медленным прогрессированием заболевания, с продолжительностью жизни после постановки диагноза более 10 лет. Однако подавляющее большинство пациентов с БАС имеют среднюю продолжительность жизни от появления симптомов до смерти от 24 до 50 месяцев [4]. Одной из частых причин БАС является мутация гена, кодирующего антиоксидантный фермент супероксиддисмутазу 1 (Cu/Zn-SOD1) [2]. Считается, что мутация в гене *SOD1* вызывает неправильное сворачивание мутантного белка, которое может привести к его агрегации в мотонейронах и в глиальных клетках ЦНС [5]. Среди гипотез о механизме патогенеза мутантной *SOD1* с последующей нейродегенерацией, наблюдаемой при БАС, рассматриваются эксайтотоксичность глутамата, структурные и функциональные аномалии митохондрий, нарушение структуры аксонов или аксонального транспорта, а также окислительный стресс, опосредованный свободными радикалами. В то же время эти механизмы нейродегенерации рассматриваются как вторичные причины возникновения БАС [2]. Мутации гена *SOD1* являются хорошо охарактеризованной формой наследственного БАС, составляющей до 20% всех семейных форм и 1–2% всех случаев БАС [6]. Спорадическая, опосредованная мутацией *SOD1* и семейная форма БАС клинически неотличимы и поражают одни и те же нейроны [7], но даже внутри семейных форм время начала и продолжительность заболевания могут значительно различаться [8]. Среди первых проявлений БАС обычно выделяют слабость в конечностях при спинальном дебюте или затруднение речи либо глотания при бульбарном дебюте. От 58 до 82% пациентов с БАС имеют спинальное начало [4].

Наиболее используемой биологической моделью для изучения патогенеза БАС и способов его лечения являются трансгенные мыши *SOD1-G93A* (*B6SJL-Tg(SOD1*G93A)1Gur*), экспрессирующие мутацию в виде замены глицина на аланин в 93 кодоне гена с высоким количеством копий. Ген в нормальном состоянии отвечает за синтез цитозольного фермента Cu/Zn-SOD1. Трансгенные мыши характеризуются быстро прогрессирующим снижением двигательной функции, сопровождающейся дегенеративными изменениями в мотонейронах спинного мозга, ствола мозга и коры, которые приводят к параличу задних конечностей и к смерти, демонстрируя фенотипы, сходные с пациентами с БАС. Отличительными признаками заболевания в модели *SOD1-G93A* является гибель мотонейронов серого вещества спинного мозга, атрофия скелетных мышц, сопровождающиеся денервацией, воспалением и окислительным стрессом в результате токсического воздействия мутантного *SOD1* [9]. Патогистологические изменения в мотонейронах у этих мышей характеризуются вакуолизацией на ранних стадиях [10]. На терминальной стадии заболевания наблюдается значительная потеря мотонейронов поясничного и шейного отделов спинного мозга, денервация скелетных мышц и диафрагмы [11, 12].

Несмотря на то что многие годы дегенерация двигательных нейронов, преимущественно “больших”, и их аксонов, иннервирующих скелетные мышцы, рассматривалась как основной фактор развития БАС [13], было показано, что поражаются и другие типы клеток, включая глиальные клетки, астроциты и микроглия [13–18]. В то же

время было показано, что уже на ранних стадиях БАС до появления первых клинических симптомов возникают патологические изменения в белом веществе ЦНС, более серьезные, чем в мотонейронах [19, 20]. У трансгенных мышей mSOD-G93A с использованием магнитно-резонансной микроскопии было выявлено значительное уменьшение объемов некоторых областей головного мозга и общего объема спинного мозга за счет уменьшения объемов как серого, так и белого веществ [21].

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день данные указывают на то, что развитие БАС у человека и модельных трансгенных животных сопровождается атрофией нервной ткани головного и спинного мозга, тесно связано с нарушениями морфологии и функционирования не только мотонейронов, но и олигодендроглии [22]. При этом остаются нерешенными вопросы – на какой стадии развития заболевания могут возникать морфологические изменения в сером и/или в белом веществе и насколько эти изменения связаны с гибелью нейронов и/или дегенерацией миелина.

Целью настоящего исследования явилось выявление морфологических особенностей в поясничном отделе спинного мозга у трансгенных мышей mSOD1 на разных стадиях развития БАС. В связи с этим было проведено морфометрическое исследование площадей поперечных срезов спинного мозга мышей, дифференциальный анализ площадей, занимаемых серым и белым веществами, подсчет количества тел нервных клеток и исследование интенсивности свечения флуоромиелина в поясничном утолщении спинного мозга у мышей mSOD1 на ранней и поздней досимптомных стадиях развития БАС, у животных с выраженными симптомами, а также у мышей дикого типа, составляющих контрольную группу.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве модельных объектов БАС были использованы трансгенные мыши с генотипом B6SJL-Tg(SOD1*G93A)1Gur. У таких мышей в возрасте 6–7 месяцев регистрируются классические признаки БАС в виде паралича одной или более конечностей, а продолжительность жизни не превышает 2 месяцев после выявления симптомов заболевания [23]. Трансгенные мыши mSOD1 были закуплены в Питомнике лабораторных животных филиала Института биоорганической химии РАН (Россия). Степень проявления клинических признаков БАС у мышей mSOD1 оценивали путем визуального наблюдения за их движениями во время свободного поведения в клетке и в пробе при подвешивании за хвост.

Эксперименты были выполнены на половозрелых мышах четырех групп: 1-я группа – WT животные дикого типа, использовавшиеся в качестве контроля (возраст 2–8 месяцев, $n = 6$); 2-я группа – мыши mSOD1-PRESYMP1 на ранней стадии заболевания, внешние проявления симптомов отсутствуют (возраст 2 месяца, $n = 4$); 3-я группа – мыши mSOD1-PRESYMP2, находящиеся на поздней досимптомной стадии, без внешних проявлений симптомов заболевания (возраст 3–4 месяца, $n = 4$); 4-я группа – мыши mSOD1-SYMP с выраженными проявлениями симптомов БАС (возраст 8 месяцев, $n = 4$). Животных подбирали с одинаковой массой тела, которая составила 23–25 г, поскольку она является наиболее важным критерием для морфологических исследований.

Для проведения морфометрии спинного мозга мышей погружали в глубокий наркоз путем внутрибрюшинного введения хлоралгидрата (80 мг/мл, Sigma, США) из расчета 0.4 мл на 100 г массы тела животного. Затем внутрисердечно перфузировали 4%-ным раствором параформальдегида, приготовленным на фосфатно-солевом буфере (NaCl 137 mM; KCl 2.7 mM; $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 10 mM; pH 7.2; Sigma). Выделенный поясничный отдел спинного мозга инкубировали в растворе 4%-ного параформальдегида в течение 12 ч при температуре 4 °C. Затем помещали в 30%-ный раствор сахарозы

на 24 ч. На криостате Microm HM 560 (Thermo Fisher Scientific, США) готовили свободноплавающие серийные поперечные срезы толщиной 20 мкм. Для морфометрического анализа собирали каждый десятый из серии поперечных срезов поясничного расширения. Нарезку начинали с точки увеличения поясничного отдела спинного мозга как контрольной, так и экспериментальных групп мышей.

Для оценки площадей поперечных срезов и площадей серого и белого веществ, а также подсчета количества клеток свободноплавающие срезы окрашивали метиленовым синим (по общепринятому протоколу). Все полученные срезы монтировали на стеклах с полилизинным покрытием (Thermo Fisher Scientific) и заключали в синтетическую монтирующую среду ImmuMount (Thermo Fisher Scientific). Затем получали изображения с помощью микроскопа Axio Lab.A1 (Carl Zeiss, Германия), оснащенного цифровой камерой AxioCam HRC (Carl Zeiss), используя объективы 4× и 40×. Оцифрованные изображения поперечных срезов спинного мозга анализировали в программе ImageJ (NIH, США). Области интереса (серое и белое вещество) были очерчены при помощи инструмента свободного выделения.

Количество тел нейронов у контрольных и трансгенных мышей подсчитывали в на площади 0.4 мм² в передних рогах серого вещества на поперечных срезах поясничного отдела спинного мозга. Степень миелинизации поясничного отдела спинного мозга оценивали путем измерения интенсивности флуоресценции на поперечных срезах, окрашенных миелиноспецифическим флуоресцентным красителем флуоромиелином FluoroMyelin Red (FMR) (Molecular Probes, США). FMR широко применяется для визуализации миелина на срезах мозга, в том числе на химически фиксированной ткани [24]. Согласно рекомендованному протоколу производителя, окрашивание FMR проводилось следующим образом: свободноплавающие срезы спинного мозга инкубировали в течение 20 мин при комнатной температуре в фосфатно-буферном растворе, содержащем краситель в разведении 1 : 300, с последующей промывкой длительностью 30 мин [25]. После окрашивания все полученные срезы размещали на предметных стеклах с полилизинным покрытием и заключали в среду ImmuMount. Изображения микропрепаратов получали на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 MP (Leica Microsystems, США). Использовали масляно-иммерсионный объектив 10×. На полученных изображениях поперечных срезов поясничного отдела спинного мозга анализировали интенсивность флуоресцентного свечения с применением программы ImageJ. Анализ интенсивности флуоресценции проводили на области размером 1024 × 1024 пикселей на одном срезе, по 8 срезов для каждого животного. Интенсивность свечения оценивали относительно базового уровня.

Полученные результаты представлены как средние значения исследуемых параметров и их стандартные ошибки ($M \pm S.E.$). Данные интенсивности флуоресценции представлены в относительных единицах (о. е.). Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе Excel (Microsoft Corporation, США) с использованием U-критерия Манна–Уитни и критерия Краскела–Уоллиса при уровне достоверности $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительный морфометрический анализ общей площади и площадей, занимаемых белым и серым веществами на поперечных срезах поясничного отдела спинного мозга WT-мышей и трансгенных мышей mSOD1 на разных стадиях развития БАС, продемонстрировал редукцию поясничного утолщения у всех трансгенных животных по сравнению с контрольными. Так, у контрольных WT-мышей средние значения общей площади поперечных срезов спинного мозга составили 3.40 ± 0.10 мм², площади серого и белого вещества – 1.72 ± 0.08 и 1.67 ± 0.10 мм² соответственно. При этом

соотношение площади белого вещества к площади серого вещества 0.97 ± 0.01 . У мышей mSOD1-PRESYMP1 на ранней досимптомной стадии БАС средние значения общей площади срезов поясничного отдела спинного мозга составили $2.30 \pm 0.26 \text{ мм}^2$, а площадей серого и белого веществ – 1.25 ± 0.13 и $1.05 \pm 0.12 \text{ мм}^2$ соответственно. Соотношение площади белого вещества к площади серого вещества составило 0.84 ± 0.02 . В группе мышей mSOD1-PRESYMP2 на поздней досимптомной стадии заболевания общая площадь составила $2.68 \pm 0.1 \text{ мм}^2$, а площади серого и белого веществ – 1.39 ± 0.03 и $1.29 \pm 0.1 \text{ мм}^2$ соответственно. При этом соотношение площадей белого вещества к серому – 0.92 ± 0.02 . У мышей mSOD1-SYMP, находящихся на симптомной стадии БАС с выраженными клиническими проявлениями, средние значения общей площади поперечных срезов спинного мозга составили $2.34 \pm 0.09 \text{ мм}^2$, площади серого и белого веществ – 1.04 ± 0.06 и $1.30 \pm 0.03 \text{ мм}^2$ соответственно. Соотношение площади белого вещества к площади серого составило 1.35 ± 0.05 (рис. 1a, b).

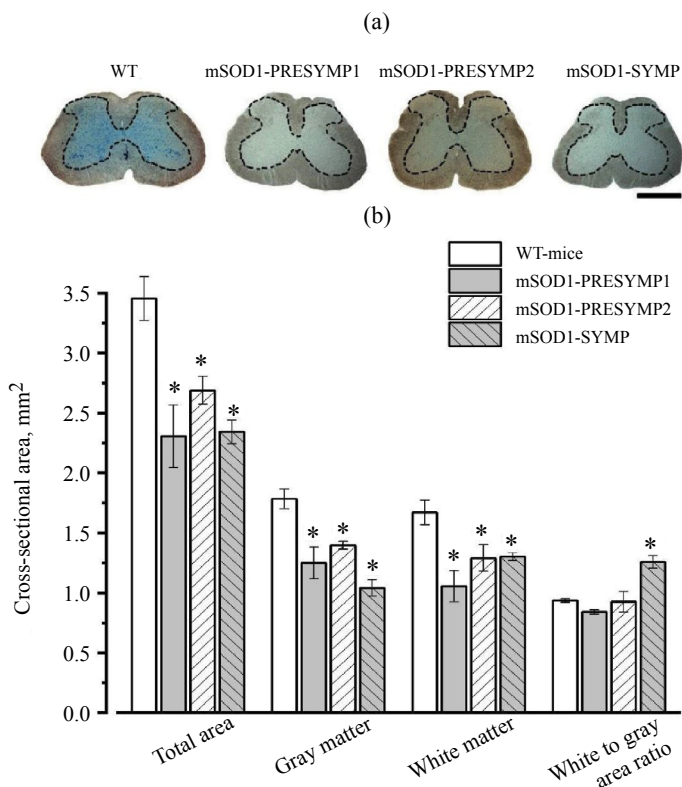


Рис. 1. Динамика изменений общей площади и площадей, занимаемых белым и серым веществами на поперечных срезах поясничного отдела спинного мозга, а также соотношение площадей белого к серому веществу у трансгенных мышей на разных стадиях БАС. (a) – Репрезентативное изображение окрашенных метиленовым синим поперечных срезов поясничного отдела спинного мозга мышей в исследуемых группах. Черной штриховой обозначена граница серого и белого веществ. Масштабный отрезок 1 мм. (b) – Абсолютные значения общей площади, площадей серого, белого веществ и их соотношения в поясничном утолщении спинного мозга мышей исследуемых групп. Белая заливка – контрольные WT-мыши; серая заливка – трансгенные на ранней досимптомной стадии БАС mSOD1-PRESYMP1; белая заливка и косая штриховка – трансгенные на поздней досимптомной стадии БАС mSOD1-PRESYMP2; серая заливка и косая штриховка – трансгенные на симптомной стадии БАС mSOD1-SYMP. * – обозначена достоверность различий по сравнению с контролем при $p < 0.05$ (U-критерий Манна–Уитни).

Сравнительный статистический анализ результатов, полученных у трансгенных мышей mSOD1 и мышей дикого типа, выявил достоверное уменьшение средних значений общей площади поперечных срезов поясничного утолщения спинного мозга: у mSOD1-PRESYMP1 на 32%, мышей у mSOD1-PRESYMP2 на поздней досимптомной стадии – на 21% и у мышей mSOD1-SYMP с выраженными клиническими проявлениями БАС – на 31%. Таким образом, у трансгенных мышей уже на ранней досимптомной стадии БАС уменьшается объем поясничного утолщения спинного мозга. При этом редукция объема белого вещества выражена существеннее, чем серого вещества у мышей на ранней досимптомной стадии БАС, поскольку средние значения площади белого вещества уменьшились на 37%, а серого на 27%. Напротив, у мышей на симптомной стадии заболевания значительно уменьшался объем серого вещества (средние значения площади серого вещества уменьшились на 40%), чем белого (средние значения площади белого вещества уменьшились на 22%). При этом на 39% возрастало значение соотношения средней площади белого вещества к площади серого. У мышей на поздней досимптомной стадии уровень уменьшения средних значений площадей, занимаемых белым и серым веществами, был практически одинаковым (на 23% и 19% соответственно).

Полученные результаты ставят вопрос: что вносит вклад в редукцию объемов поясничного утолщения спинного мозга у трансгенных мышей – нейроны и/или миелин? Для выявления состояния миелина и возможного влияния этих изменений в формирование редукции поясничного утолщения был проведен сравнительный анализ интенсивности флуоресценции FMR в белом веществе на поперечных срезах поясничного отдела спинного мозга WT-мышей и трансгенных мышей mSOD1 на разных стадиях развития БАС. Так, в контрольной группе мышей интенсивность свечения FMR составила 124.5 ± 15.5 о.е., у мышей mSOD1-PRESYMP1 – 76.1 ± 5.8 , у мышей mSOD1-PRESYMP2 – 66.1 ± 4.5 , у мышей mSOD1-SYMP – 65.5 ± 10.4 о.е. Таким образом, сравнительный анализ интенсивности свечения FMR на препаратах поперечных срезов поясничного отдела спинного мозга мышей дикого типа и трансгенных мышей mSOD1 показал достоверное уменьшение флуоресценции уже на ранней досимптомной стадии БАС на 39%. У мышей на поздней досимптомной и симптомной стадиях БАС интенсивность свечения FMR снижалась на 47% (рис. 2а, б).

Для выяснения вклада дегенерации нейронов в формирование редукции объема поясничного утолщения спинного мозга провели сравнительный анализ количества тел нервных клеток в сером веществе на поперечных срезах у WT-мышей и трансгенных мышей mSOD1 на разных стадиях развития БАС. Подсчет количества тел нейронов в передних рогах серого вещества поясничного отдела спинного мозга у мышей контрольной группы выявил 1283 ± 57 клеток, в группе мышей mSOD1-PRESYMP1 – 1053 ± 93 , у мышей mSOD1-PRESYMP2 – 1032 ± 108 и у мышей mSOD1-SYMP – 664 ± 134 клеток (рис. 3а, б). Сравнительный анализ количества клеток в сером веществе поясничного отдела спинного мозга мышей в исследуемых группах обнаружил достоверное уменьшение по сравнению с контролем на 48% у трансгенных мышей mSOD1 только на симптомной стадии БАС.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Долгое время БАС рассматривался как нейродегенеративное немиелинизирующее заболевание [20], при котором в первую очередь поражаются двигательные нейроны коры головного мозга, ствола мозга и переднего рога спинного мозга [13, 26]. Само название “боковой амиотрофический склероз” отражает избирательность дегенеративного процесса, затрагивающего мотонейроны; “боковой” – потому что особенно уязвимы для дегенерации двигательные нейроны и их аксоны, формирующие

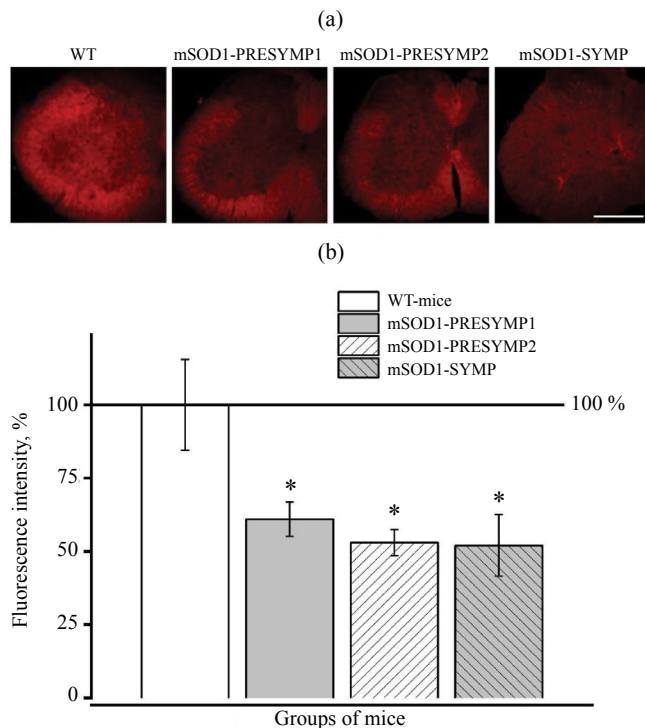


Рис. 2. Снижение интенсивности свечения FMR на поперечных срезах поясничного отдела спинного мозга у трансгенных мышей на разных стадиях БАС. (а) – Репрезентативное изображение окрашенных FMR поперечных срезов поясничного отдела спинного мозга мышей в исследуемых группах. Масштабный отрезок 500 мкм. (б) – Относительные изменения интенсивности флуоресценции FMR в поясничном утолщении спинного мозга мышей в исследуемых группах. Белая заливка – контрольные WT-мыши; серая заливка – трансгенные на ранней досимптомной стадии БАС mSOD1-PRESYMP1; белая заливка и косая штриховка – трансгенные на поздней досимптомной стадии БАС mSOD1-PRESYMP2; серая заливка и косая штриховка – трансгенные на симптомной стадии БАС mSOD1-SYMP. * – обозначена достоверность различий по сравнению с контролем при $p < 0.05$ (U-критерий Манна–Уитни).

кортикоспинальные тракты; “амиотрофия” – слово, происходящее от греческого и обозначающее нарушение трофики мышц; “склероз” относится к наблюдаемому в области кортикоспинального тракта спинного мозга глиоза, регистрируемого у пациентов при вскрытии [27]. Показано, что одним из патомеханизмов заболевания является активации аномальных сигнальных путей запрограммированной гибели клеток в двигательных нейронах, ведущая к дегенерации и гибели. Клинические проявления БАС, такие как мышечная слабость, атрофия, спастичность, фасцикуляции и паралич, начинают проявляться только на стадии, когда мотонейроны головного и спинного мозга подвержены дегенеративным процессам [3]. Поражение двигательных структур у человека приводит к нарушению способности контролировать движения мышц и к локомоторной дисфункции, что также наблюдается у “модельных” экспериментальных животных. В настоящем исследовании показано, что у трансгенных мышей B6SJL-Tg(SOD1*G93A)1Gur, экспрессирующих мутантный ген человека *mSOD1* на всех стадиях БАС, средние значения площадей поперечных срезов поясничного утолщения спинного мозга достоверно снижены по сравнению с мышами дикого типа. Поскольку проводилась оценка каждого десятого среза, можно заключить, что у мышей mSOD1 уменьшается объем поясничного утолщения. Дифференциальный анализ

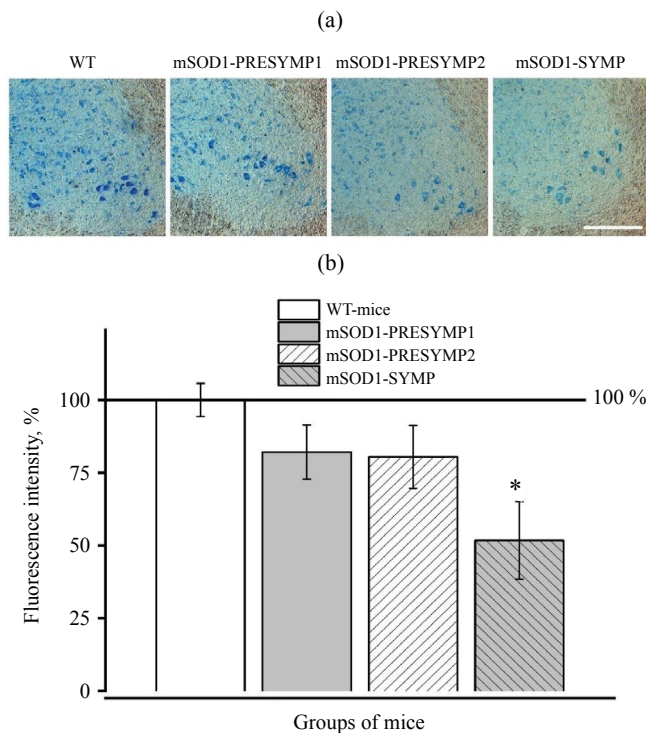


Рис. 3. Изменения количества тел нейронов в сером веществе на поперечных срезах поясничного отдела спинного мозга у мышей на разных стадиях БАС. (a) – Репрезентативное изображение окрашенных метиленовым синим поперечных срезов поясничного отдела спинного мозга в исследуемых группах. Масштабный отрезок 200 мкм. (b) – Относительные изменения количества тел нейронов в сером веществе на поперечных срезах поясничного отдела спинного мозга мышей в исследуемых группах. Белая заливка – контрольные WT-мыши; серая заливка – трансгенные на ранней досимптомной стадии БАС mSOD1-PRESYMP1; белая заливка и косая штриховка – трансгенные на поздней досимптомной стадии БАС mSOD1-PRESYMP2; серая заливка и косая штриховка – трансгенные на симптомной стадии БАС mSOD1-SYMP. * – обозначена достоверность различий по сравнению с контролем при $p < 0.05$ (U-критерий Манна–Уитни).

площадей, занимаемых серым и белым веществами, обнаружил уменьшение их средних значений у трансгенных мышей во всех группах мышей mSOD1 по сравнению с мышами контрольной группы. Выявленное уменьшение объемов серого и белого веществ в поясничном отделе спинного мозга мышей на симптомной стадии БАС согласуется с результатами, полученными группой авторов с помощью магнитной резонансной микроскопии на фиксированном спинном мозге [21]. Аналогичные результаты были получены у пациентов *in vivo* с диагнозом “болезнь двигательных нейронов”, в том числе с БАС [28]. Уменьшение площади, занимаемой серым веществом, обусловлено генерализованным поражением нейронов на симптомной стадии заболевания как у людей, так и у мышей mSOD1 [11–13]. В настоящем исследовании у трансгенных мышей mSOD1 на симптомной стадии БАС количество нервных клеток уменьшилось почти в 2 раза. В группах мышей mSOD1-PRESYMP1 и mSOD1-PRESYMP2 отсутствовали изменения количества нервных клеток. Поскольку нами не проводилась идентификация типов нейронов (α -, β -, γ -нейроны, интернейроны), а подсчитывалось общее количество тел нейронов, расположенных на площади 0.4 мм^2 в передних рогах серого вещества на поперечных срезах поясничного отдела спинного мозга, мы

не можем ответить, какие конкретно клетки подверглись гибели. Однако имеющиеся данные литературы показывают, что на терминальной стадии БАС у человека и мышей гибели подвержены не только α -мотонейроны, но также β -, γ -мотонейроны и интернейроны [13, 29–31].

Интересным оказался факт уменьшения объема серого и белого веществ в поясничном утолщении спинного мозга у мышей mSOD1 на ранней досимптомной и на поздней досимптомной стадиях. Если на терминальной стадии БАС уменьшение объема поясничного утолщения у мышей можно объяснить сопровождающей заболеванием нейродегенерацией, общей амiotрофией и потерей общей массы тела до 40% [32], то на ранней и поздней досимптомных стадиях этого не наблюдается [33], в связи с чем данный феномен требует дальнейшего изучения.

БАС, в первую очередь, считался заболеванием серого вещества. Однако существуют данные об изменениях и в белом веществе ЦНС. Показано, что в спинном мозге, кроме пирамидных путей, подвергаются повреждению как восходящие, так и нисходящие пути, причем выраженность патологических изменений в белом веществе носит более существенный характер, чем в двигательных нейронах [34], и их проявления регистрируются на ранних стадиях БАС, до появления клинических симптомов [20, 35]. Кроме того, показаны изменения периферического миелина вдоль аксонов двигательных нейронов [36]. В настоящем исследовании мы обнаружили на экспериментальной модели мышей mSOD1 уменьшение объема белого вещества уже на ранней досимптомной стадии заболевания. Белое вещество спинного мозга образовано миелинизированными и немиелинизированными аксонами нервных клеток. Миелинизированные оболочки и большая протяженность аксонов мотонейронов являются одной из существенных морфологических особенностей этих клеток. Миелиновую оболочку создают мембраны клеток олигодендроглии, обертывающих в несколько спиралевидных компактно упакованных слоев аксон нервной клетки. Миелин подразделяют на компактный и некомпактный, а также миелин олигодендроцитов и шванновских клеток, различающихся по ряду биохимических и морфологических особенностей, позволяющих выполнять определенные специфические функции в центральной и периферической нервной системах [37, 38]. Благодаря наличию миелина скорость проведения потенциала действия по нерву увеличивается в десятки раз [39]. Кроме того, взаимодействие между миелином и аксоном обеспечивает нормальную организацию цитоскелета аксона и поддержание жизнедеятельности нервных клеток [40].

В нашем исследовании окрашивание FMR поперечных срезов поясничного утолщения спинного мозга выявило существенное снижение интенсивности свечения, свидетельствующее о снижении степени миелинизации. С помощью данного красителя было показано прогрессирующее снижение миелина на срезах спинного мозга мышей с удаленным TDP-43, в исследовании физиологических функций этого белка в глии, присутствие агрегатов которого является патологическим признаком TDP-43-ассоциированного БАС и лобно-височной деменции [41].

Дисфункция олигодендроцитов рассматривается в последнее время как один из ключевых факторов, опосредующих развитие БАС [42]. Показано, что в спинном мозге у пациентов с БАС и у мышей с моделью БАС регистрируются признаки нарушения структуры миелина до начала дебюта заболевания [22], в связи с чем обсуждается SOD1-зависимая гибель олигодендроцитов, приводящая к гибели мотонейронов [43]. Олигодендроциты и клетки Шванна необходимы не только для формирования миелиновых оболочек аксонов, обеспечивающих ускоренное проведение потенциала действия по аксону, но и для метаболической поддержки мотонейронов и их аксонов, вследствие чего дегенеративные процессы в олигодендроглии могут индуцировать смерть мотонейронов при БАС [43, 44]. Например, у SOD1-G93A мышей при электрофизиологическом исследовании седалищного нерва было показано снижение скорости проведения по нерву и увеличение латентного периода уже на 20-е

сутки постнатального развития [45], что может быть связано с острой и хронической денервацией и реиннервацией пораженных мышц, а также с демиелинизацией аксонов, с достижением максимальной степени нарушений на поздней стадии заболевания [46]. Анализ миелина в спинном мозге трансгенных крыс SOD1-G93A выявил ультраструктурную дезорганизацию миелина, наблюдаемую уже на 60-й день постнатального развития у крыс на бессимптомной стадии заболевания с последующим прогрессированием у животных с клиническими признаками БАС [20]. SAGE-анализ спинного мозга мышей SOD1-G93A на предсимптомной стадии выявил изменения экспрессии генов, участвующих в различных биологических процессах, в том числе в процессах миелинизации [47]. Протеомное профилирование, проведенное на экзосомах, полученных из мозга трансгенных мышей SOD1-G93A, выявило существенное снижение миелин-олигодендроцитарного гликопротеина (MOG) по сравнению с экзосомами, полученными от нетрансгенных животных [48]. Демиелинизация, а также снижение экспрессии генов, связанных с миелином, включая основной белок миелина (MBP), Olig1 и Olig2, наблюдались на модели БАС у собак, экспрессирующих мутантный SOD1 [49]. Нарушение миелинизации, с одной стороны, может быть обусловлено потерей олигодендроцитов в спинном мозге, возникающее у мышей SOD1-G93A до появления симптомов заболевания [20, 22, 43]. Однако снижение количества олигодендроцитов компенсируется усиленной пролиферацией клеток предшественников, не достигающих зрелости и не способных к выполнению своих функций, в том числе к образованию миелина, а также трофической поддержки мотонейронов [46, 50]. С другой стороны, дегенерация миелина может формироваться вследствие усиления процессов окисления липидов и белков, выявляемого у пациентов и на животных моделях БАС [51, 52].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный морфометрический анализ площадей поперечных срезов поясничного отдела спинного мозга мышей mSOD1 с модельным заболеванием БАС продемонстрировал уменьшение средних значений уже на ранней досимптомной стадии. Редукция объема поясничного утолщения обусловлена уменьшением объемов серого и белого веществ спинного мозга. Причем одним из механизмов уменьшения белого вещества связан с изменениями процессов миелинизации аксонов в поясничном утолщении спинного мозга, выявленными на ранней, поздней досимптомных, а также на симптомной стадиях развития заболевания. Уменьшение объема серого вещества на симптомной стадии БАС связано с потерей нейронов. Для выяснения механизмов обнаруженного уменьшения объема серого вещества у животных на ранней и поздней досимптомных стадиях заболевания требуются дополнительные исследования. Хотя за последние годы понимание этиопатогенеза БАС значительно расширилось, однако все еще остаются серьезные пробелы, требующие дальнейшего изучения.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (О. В. Т., М. А. М., Л. Ф. Н.), сбор данных (О. В. Т. и Л. Ф. Н.), обработка данных (О. В. Т. и Л. Ф. Н.), написание и редактирование манускрипта (О. В. Т., М. А. М., Л. Ф. Н.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального исследовательского центра Казанского научного центра РАН, а также в рамках плановой темы Казанского государственного медицинского университета.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике Казанского научного центра РАН (протокол № 23/5 от 12.05.2023 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Duyckaerts C, Maisonobe T, Hauw JJ, Seilhean D* (2021) Charcot identifies and illustrates amyotrophic lateral sclerosis. *Free Neuropathol* 2: 12.
<https://doi.org/10.17879/freeneuropathology-2021-3323>
2. *Zarei S, Carr K, Reiley L, Diaz K, Guerra O, Altamirano PF, Pagani W, Lodin D, Orozco G, Chinea A* (2015) A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis. *Surg Neurol Int* 6: 171.
<https://doi.org/10.4103/2152-7806.169561>
3. *Grad LI, Rouleau GA, Ravits J, Cashman NR* (2017) Clinical Spectrum of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *Cold Spring Harb Perspect Med* 7: a024117.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a024117>
4. *Longinetti E, Fang F* (2019) Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: An update of recent literature. *Curr Opin Neurol* 32: 771–776.
<https://doi.org/10.1097/wco.0000000000000730>
5. *Forsberg K, Andersen PM, Marklund SL, Brännström T* (2011) Glial nuclear aggregates of superoxide dismutase-1 are regularly present in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol* 121: 623–634.
<https://doi.org/10.1007/s00401-011-0805-3>
6. *Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, Donaldson D, Goto J, O'Regan JP, Deng HX, Rahmani Z, Krizus A, McKenna-Yasek D, Cayabyab A, Gaston SM, Berger R, Tanzi RE, Halperin JJ, Herzfeldt B, Van den Bergh R, Hung WY, Bird T, Deng G, Mulder DW, Smyth C, Laing NG, Soriano E, Pericak-Vance MA, Haines J, Rouleau GA, Gusella JS, Horvitz HR, Brown RH Jr* (1993) Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 362: 59–62.
<https://doi.org/10.1038/362059a0>
7. *Ferraiuolo L, Kirby J, Grierson AJ, Sendtner M, Shaw PJ* (2011) Molecular pathways of motor neuron injury in amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurol* 7: 616–630.
<https://doi.org/10.1038/nrneurol.2011.152>
8. *Boillée S, Vande Velde C, Cleveland DW* (2006) ALS: A disease of motor neurons and their nonneuronal neighbors. *Neuron* 52: 39–59.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.09.018>
9. *Lee AJB, Kittel TE, Kim RB, Bach TN, Zhang T, Mitchell CS* (2023) Comparing therapeutic modulators of the SOD1 G93A Amyotrophic Lateral Sclerosis mouse pathophysiology. *Front Neurosci* 16: 1111763.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1111763>
10. *Mourelatos Z, Gonatas NK, Stieber A, Gurney ME, Dal Canto MC* (1996) The Golgi apparatus of spinal cord motor neurons in transgenic mice expressing mutant Cu,Zn superoxide dismutase becomes fragmented in early, preclinical stages of the disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 5472–5477.
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.11.5472>

11. *Mohajeri MH, Figlewicz DA, Bohn MC* (1998) Selective loss of alpha motoneurons innervating the medial gastrocnemius muscle in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol* 150: 329–336.
<https://doi.org/10.1006/exnr.1998.6758>
12. *Gadamski R, Chrapusta SJ, Wojda R, Grieb P* (2006) Morphological changes and selective loss of motoneurons in the lumbar part of the spinal cord in a rat model of familial amyotrophic lateral sclerosis (fALS). *Folia Neuropathol* 44: 154–161.
13. *Ragagnin AMG, Shadfar S, Vidal M, Jamali MS, Atkin JD* (2019) Motor Neuron Susceptibility in ALS/FTD. *Front Neurosci* 13: 532.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00532>
14. *Clement AM, Nguyen MD, Roberts EA, Garcia ML, Boillée S, Rule M, McMahon AP, Doucette W, Siwek D, Ferrante RJ, Brown RH Jr, Julien JP, Goldstein LS, Cleveland DW* (2003) Wild-type nonneuronal cells extend survival of SOD1 mutant motor neurons in ALS mice. *Science* 302: 113–117.
<https://doi.org/10.1126/science.1086071>
15. *Yamanaka K, Chun SJ, Boillee S, Fujimori-Tonou N, Yamashita H, Gutmann DH, Takahashi R, Misawa H, Cleveland DW* (2008) Astrocytes as determinants of disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 11: 251–253.
<https://doi.org/10.1038/nn2047>
16. *Wootz H, Fitzsimons-Kantamneni E, Larhammar M, Rotterman TM, Enjin A, Patra K, André E, Van Zundert B, Kullander K, Alvarez FJ* (2013) Alterations in the motor neuron-renshaw cell circuit in the Sod1(G93A) mouse model. *J Comp Neurol* 521: 1449–1469.
<https://doi.org/10.1002/cne.23266>
17. *Kim J, Hughes EG, Shetty AS, Arlotta P, Goff LA, Bergles DE, Brown SP* (2017) Changes in the Excitability of Neocortical Neurons in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis Are Not Specific to Corticospinal Neurons and Are Modulated by Advancing Disease. *J Neurosci* 37: 9037–9053.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.0811-17.2017>
18. *Vaughan SK, Sutherland NM, Zhang S, Hatzipetros T, Vieira F, Valdez G* (2018) The ALS-inducing factors, TDP43^{A315T} and SOD1^{G93A}, directly affect and sensitize sensory neurons to stress. *Sci Rep* 8: 16582.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-34510-8>
19. *Neumann M, Kwong LK, Truax AC, Vanmassenhove B, Kretzschmar HA, Van Deerlin VM, Clark CM, Grossman M, Miller BL, Trojanowski JQ, Lee VM* (2007) TDP-43-positive white matter pathology in frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-positive inclusions. *J Neuropathol Exp Neurol* 66: 177–183.
<https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000248554.45456.58>
20. *Niebroj-Dobosz I, Rafałowska J, Fidziańska A, Gadamski R, Grieb P* (2007) Myelin composition of spinal cord in a model of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in SOD1G93A transgenic rats. *Folia Neuropathol* 45: 236–241.
<https://www.termedia.pl/Myelin-composition-of-spinal-cord-in-a-model-of-amyotrophic-lateral-sclerosis-ALS-in-SOD1-G93A-transgenic-rats,20,9578,1,1.html>
21. *Petrik MS, Wilson JM, Grant SC, Blackband SJ, Tabata RC, Shan X, Krieger C, Shaw CA* (2007) Magnetic resonance microscopy and immunohistochemistry of the CNS of the mutant SOD murine model of ALS reveals widespread neural deficits. *Neuromolecular Med* 9: 216–229.
<https://doi.org/10.1007/s12017-007-8002-1>
22. *Kang SH, Li Y, Fukaya M, Lorenzini I, Cleveland DW, Ostrow LW, Rothstein JD, Bergles DE* (2013) Degeneration and impaired regeneration of gray matter oligodendrocytes in amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 16: 571–579.
<https://doi.org/10.1038/nn.3357>
23. *Heiman-Patterson TD, Deitch JS, Blankenhorn EP, Erwin KL, Perreault MJ, Alexander BK, Byers N, Toman I, Alexander GM* (2005) Background and gender effects on survival in the TgN(SOD1-G93A)1Gur mouse model of ALS. *J Neurol Sci* 236: 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2005.02.006>
24. *Monsma PC, Brown A* (2012) FluoroMyelin™ Red is a bright, photostable and non-toxic fluorescent stain for live imaging of myelin. *J Neurosci Methods* 209: 344–350.
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2012.06.015>

25. Wang W, Kang S, Coto Hernández I, Jowett N (2019) A Rapid Protocol for Intraoperative Assessment of Peripheral Nerve Myelinated Axon Count and Its Application to Cross-Facial Nerve Grafting. *Plast Reconstr Surg* 143: 771–778.
<https://doi.org/10.1097/prs.0000000000005338>
26. Zhou T, Ahmad TK, Gozda K, Truong J, Kong J, Namaka M (2017) Implications of white matter damage in amyotrophic lateral sclerosis (Review). *Mol Med Rep* 16: 4379–4392.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7186>
27. Martin LJ, Price AC, Kaiser A, Shaikh AY, Liu Z (2000) Mechanisms for neuronal degeneration in amyotrophic lateral sclerosis and in models of motor neuron death (Review). *Int J Mol Med* 5: 3–13.
<https://doi.org/10.3892/ijmm.5.1.3>
28. Olney NT, Bischof A, Rosen H, Caverzasi E, Stern WA, Lomen-Hoerth C, Miller BL, Henry RG, Papinutto N (2018) Measurement of spinal cord atrophy using phase sensitive inversion recovery (PSIR) imaging in motor neuron disease. *PLoS One* 13: e0208255.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208255>
29. Stephens B, Guiloff RJ, Navarrete R, Newman P, Nikhar N, Lewis P (2006) Widespread loss of neuronal populations in the spinal ventral horn in sporadic motor neuron disease. A morphometric study. *J Neurol Sci* 244: 41–58.
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2005.12.003>
30. Crabé R, Aimond F, Gosset P, Scamps F, Raoul C (2020) How Degeneration of Cells Surrounding Motoneurons Contributes to Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cells* 9: 2550.
<https://doi.org/10.3390/cells9122550>
31. Zakharova MN, Abramova AA (2022) Lower and upper motor neuron involvement and their impact on disease prognosis in amyotrophic lateral sclerosis. *Neural Regen Res* 17: 65–73.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.314289>
32. Guo YS, Wu DX, Wu HR, Wu SY, Yang C, Li B, Bu H, Zhang YS, Li CY (2009) Sensory involvement in the SOD1-G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Mol Med* 41: 140–150.
<https://doi.org/10.3858/emm.2009.41.3.017>
33. Lev N, Barhum Y, Lotan I, Steiner I, Offen D (2015) DJ-1 knockout augments disease severity and shortens survival in a mouse model of ALS. *PLoS One* 10: e0117190.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117190>
34. Rafałowska J, Dzięwulska D (1996) White matter injury in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Folia Neuropathol* 34: 87–91.
<https://europepmc.org/article/MED/8791897>
35. Li J, Zhang L, Chu Y, Namaka M, Deng B, Kong J, Bi X (2016) Astrocytes in Oligodendrocyte Lineage Development and White Matter Pathology. *Front Cell Neurosci* 10: 119.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00119>
36. Perrie WT, Lee GT, Curtis EM, Sparke J, Buller JR, Rossi ML (1993) Changes in the myelinated axons of femoral nerve in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neural Transm Suppl* 39: 223–233.
<https://europepmc.org/article/med/8360662>
37. Jahn O, Tenzer S, Werner HB (2009) Myelin proteomics: Molecular anatomy of an insulating sheath. *Mol Neurobiol* 40: 55–72.
<https://doi.org/10.1007/s12035-009-8071-2>
38. Patzig J, Jahn O, Tenzer S, Wichert SP, de Monasterio-Schrader P, Rosfa S, Kuharev J, Yan K, Bormuth I, Bremer J, Aguzzi A, Orfaniotou F, Hesse D, Schwab MH, Möbius W, Nave KA, Werner HB (2011) Quantitative and integrative proteome analysis of peripheral nerve myelin identifies novel myelin proteins and candidate neuropathy loci. *J Neurosci* 31: 16369–16386.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.4016-11.2011>
39. Stiefel KM, Torben-Nielsen B, Coggan JS (2013) Proposed evolutionary changes in the role of myelin. *Front Neurosci* 7: 202.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00202>
40. Saito S, Kidd GJ, Trapp BD, Dawson TM, Bredt DS, Wilson DA, Traystman RJ, Snyder SH, Hanley DF (1994) Rat spinal cord neurons contain nitric oxide synthase. *Neuroscience* 59: 447–56.
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90608-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90608-4)

41. Wang J, Ho WY, Lim K, Feng J, Tucker-Kellogg G, Nave KA, Ling SC (2018) Cell-autonomous requirement of TDP-43, an ALS/FTD signature protein, for oligodendrocyte survival and myelination. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 115: E10941–E10950.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1809821115>
42. Raffaele S, Boccazzi M, Fumagalli M (2021) Oligodendrocyte Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *Cells* 10: 565.
<https://doi.org/10.3390/cells10030565>
43. Kim S, Chung AY, Na JE, Lee SJ, Jeong SH, Kim E, Sun W, Rhyu IJ, Park HC (2019) Myelin degeneration induced by mutant superoxide dismutase 1 accumulation promotes amyotrophic lateral sclerosis. *Glia* 67: 1910–1921.
<https://doi.org/10.1002/glia.23669>
44. Philips T, Rothstein JD (2017) Oligodendroglia: Metabolic supporters of neurons. *J Clin Invest* 127: 3271–3280.
<https://doi.org/10.1172/jci90610>
45. Alves CJ, de Santana LP, dos Santos AJ, de Oliveira GP, Duobles T, Scorisa JM, Martins RS, Maximino JR, Chadi G (2011) Early motor and electrophysiological changes in transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis and gender differences on clinical outcome. *Brain Res* 1394: 90–104.
46. Traiffort E, Morisset-Lopez S, Moussaed M, Zahaf A (2021) Defective Oligodendroglial Lineage and Demyelination in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Int J Mol Sci* 22: 3426.
<https://doi.org/10.3390/ijms22073426>
47. Guipponi M, Li QX, Hyde L, Beissbarth T, Smyth GK, Masters CL, Scott HS (2010) SAGE analysis of genes differentially expressed in presymptomatic TgSOD1G93A transgenic mice identified cellular processes involved in early stage of ALS pathology. *J Mol Neurosci* 41: 172–182.
<https://doi.org/10.1007/s12031-009-9317-1>
48. Silverman JM, Christy D, Shyu CC, Moon KM, Fernando S, Gidden Z, Cowan CM, Ban Y, Stacey RG, Grad LI, McAlary L, Mackenzie IR, Foster LJ, Cashman NR (2019) CNS-derived extracellular vesicles from superoxide dismutase 1 (SOD1)G93A ALS mice originate from astrocytes and neurons and carry misfolded SOD1. *J Biol Chem* 294: 3744–3759.
<https://doi.org/10.1074/jbc.ra118.004825>
49. Golubczyk D, Malysz-Cymborska I, Kalkowski L, Janowski M, Coates JR, Wojtkiewicz J, Maksymowicz W, Walczak P (2019) The Role of Glia in Canine Degenerative Myelopathy: Relevance to Human Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Mol Neurobiol* 56: 5740–5748.
<https://doi.org/10.1007/s12035-019-1488-3>
50. Magnus T, Carmen J, Deleon J, Xue H, Pardo AC, Lepore AC, Mattson MP, Rao MS, Maragakis NJ (2008) Adult glial precursor proliferation in mutant SOD1G93A mice. *Glia* 56: 200–208.
<https://doi.org/10.1002/glia.20604>
51. Andrus PK, Fleck TJ, Gurney ME, Hall ED (1998) Protein oxidative damage in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem* 71: 2041–2048.
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.71052041.x>
52. Cunha-Oliveira T, Montezinho L, Mendes C, Firuzi O, Saso L, Oliveira PJ, Silva FSG (2020) Oxidative Stress in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Pathophysiology and Opportunities for Pharmacological Intervention. *Oxid Med Cell Longev* 2020: 5021694.
<https://doi.org/10.1155/2020/5021694>

Disorder of Myelinization in the Spinal Cord of Transgenic mSOD1 Mice as One of the Mechanisms Pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis

O. V. Tyapkina^{a, b, *}, M. A. Mukhamedyarov^b, and L. F. Nurullin^{a, b}

^a*Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia*

^b*Kazan State Medical University, Kazan, Russia*

**e-mail: anti-toxin@mail.ru*

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a disease characterized by progressive muscle weakness, atrophy, spasticity, paralysis caused by degeneration and death of motor neurons in the brain and spinal cord, leading to death. Model animals such as SOD1-G93A mice expressing a human mutation of the gene encoding the antioxidant enzyme superoxide dismutase 1 are widely used to study the pathogenesis of ALS and its treatment. Transgenic mice exhibit disease phenotypes similar to ALS patients, expressed in motor function impairment, motor neuron degeneration in the spinal cord, brainstem, and cortex, leading to paralysis of the hind limbs and death. In the present work, the areas of transverse serial sections of the lumbar enlargement of the spinal cord, as well as the areas occupied by white and gray matter in these sections were estimated using light microscopy in wild-type WT mice and transgenic mSOD1 mice at different stages of ALS development. The revealed reduction in the volume of the lumbar enlargement of the spinal cord in transgenic mice is detected already at the early presymptomatic stage of the disease and is due to a decrease in the volumes of both gray and white matter. A decrease in the number of neurons in the gray matter of the spinal cord, a characteristic sign of ALS caused by the death of these cells, was detected in transgenic mice only at the symptomatic stage of the disease. Using fluorescence microscopy, a decrease in the fluorescence intensity of fluoromyelin, a specific myelin dye, in the white matter of the lumbar enlargement of the spinal cord in transgenic mice was established starting from the early presymptomatic stage. The revealed morphological changes in the lumbar spinal cord of transgenic mSOD1 mice allow us to conclude that already at the early pre-symptomatic stage of ALS, demyelination processes develop, most likely arising as a result of disruption of the functioning of myelin-forming cells.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis (ALS), death of motor neurons, demyelination, decrease in the volume of the lumbar thickening of the spinal cord