

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-9-3-6

ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА НА ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6

Н. В. Кудряшов^{1,*}, А. А. Горбунов¹, С. Е. Миронов¹, Д. А. Тихонов¹,
Н. Б. Свиридкина², В. В. Тарасов¹, В. П. Фисенко¹

Изучено влияние хронического введения диметилсульфоксида (ДМСО) в дозах 0,024, 0,24 и 2,4 мг/кг на двигательную активность, тревожные реакции, компульсивно-подобное поведение и пространственную рабочую память мышей линии C56BL/6. Установлено, что применение ДМСО (2,4 мг/кг) в течение 28 дней приводит к увеличению периферической в 1,5 раза ($p < 0,01$) и общей двигательной активности мышей в 1,4 раза ($p < 0,05$), по сравнению с контролем в тесте “Открытое поле”. Введение ДМСО в дозах 0,24 и 0,024 мг/кг в течение 28 дней приводило к усилению тревожных реакций мышей — уменьшению обследований отверстий в 3,5 и 3,7 раза ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с животными контрольной группы в тесте “Открытое поле” ($p < 0,05$) и усилению компульсивно-подобного поведения — увеличению количества зарытых шариков в 2,7 и 2,3 раза ($p < 0,01$), соответственно, по сравнению с контролем в тесте “Закапывание шариков”. В то же время применение ДМСО во всех исследуемых дозах в течение 42 дней не вызывало изменений регистрируемых параметров у животных.

Ключевые слова: диметилсульфоксид; мыши; двигательная активность; тревожность; компульсивно-подобное поведение; пространственная рабочая память.

ВВЕДЕНИЕ

Диметилсульфоксид (ДМСО) — универсальный растворитель, широко применяемый в экспериментальных исследованиях, главным образом, для приготовления растворов гидрофобных веществ [19]. Идеальный растворитель должен быть биосовместимым, не изменять химическую структуру изучаемого вещества, не оказывать биологического действия *per se* [14]. Однако результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о наличии у ДМСО биологической активности. Установлено, что ДМСО изменяет электрофизиологическую активность пирамидных нейронов [19], ускоряет апоптоз и вызывает гибель нейронов гиппокампа [5], может изменять плотность дендритных шипиков в эксперименте [14]. Клиническое применение ДМСО, в качестве криоконсерванта при аллогенной трансплантации костного мозга и внутренних органов, также сопровождается развитием серьезных побочных эффектов: от нарушения деятельности дыхательной и сердечно-сосудистой систем [23] до комы, амнезии, судорог и паралича [2, 6, 8].

Эффекты ДМСО и механизмы их развития, по-видимому, зависят как от дозы, так и от продолжительности введения. Несмотря на то, что токсическое действие ДМСО *in vivo* установлено в концентрации 10 % и выше, данные об эффектах этого вещества в малых дозах весьма противоречивы [4, 14]. Полагают, что в

низких концентрациях ДМСО оказывает выраженное действие на ЦНС [14]. На генетической модели болезни Альцгеймера было установлено, что введение ДМСО приводило к улучшению пространственной памяти и анксиолитическому эффекту у мышей [14]. ДМСО также улучшал процесс обучения у крыс после хронической церебральной гипоперфузии [4]. В то же время в литературе отсутствуют данные о поведенческих эффектах ДМСО после хронического введения интактным животным.

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния хронического введения ДМСО в малых дозах (0,024, 0,24 и 2,4 мг/кг) на пространственную память, двигательную активность, тревожные реакции и компульсивно-подобное поведение мышей.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 80 самцах мышей инбредной линии C57BL/6 массой 23–25 г (питомник “Андреевка” ФГБУН “НЦБМТ” ФМБА России). Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественной суточной смене освещенности день/ночь, свободном доступе к воде и корму. Содержание животных соответствовало правилам Надлежащей лабораторной практики, утвержденной Приказом № 199н от 01.04.2016 г. Минздрава России. При проведении экспериментов были приняты меры, исключающие излишние физические страдания или повреждения животных.

Диметилсульфоксид (АО “Татхимфармпрепараты”, Россия) вводили в режиме *ad libitum* путем добавления в питьевую воду до получения 0,01, 0,1 и 1 % раствора. Продолжительность применения составляла 28 и 42 дня. Животные контрольной группы получали питьевую воду. Эквивалентные дозы составляли 0,024,

¹ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, 119991, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 2, стр. 4.

² ФГБНУ “НИОПП”, Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.

* e-mail: kunvi@mail.ru

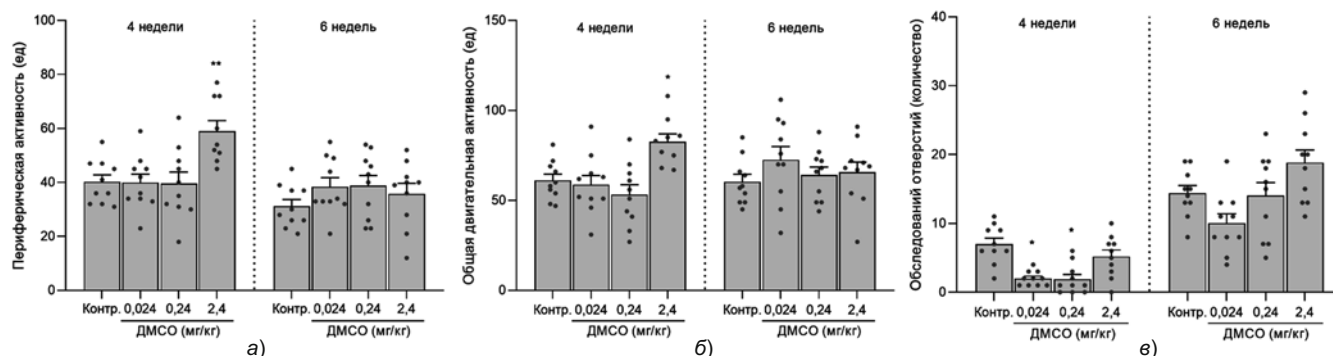


Рис. 1. Эффекты ДМСО в тесте “Открытое поле” у мышей линии C57BL/6: периферическая горизонтальная активность (а); общая двигательная активность (б); обследование отверстий (в).

Контр. — контроль; ДМСО — диметилсульфоксид; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, по сравнению с контролем. Данные представлены как $M \pm SEM$, $n = 9 - 10$ животных в группе.

0,24 и 2,4 мг/кг для 0,01, 0,1 и 1 % растворов ДМСО, соответственно. Выбор доз осуществляли в соответствии с ранее опубликованными данными о влиянии ДМСО по поведение мышей [14].

Тревожные реакции и исследовательскую активность мышей оценивали в тесте “Открытое поле”. Установка представляла собой арену круглой формы диаметром 63 см и стенками высотой 32 см (ООО “НПК Открытая Наука”, Россия). Перед помещением в установку мыши находились в темноте в течение 30 мин. Регистрировали периферическую и центральную горизонтальную активность, вертикальную активность, количество обследований отверстий в полу арены в течение 2 мин. Общую двигательную активность определяли суммированием всех видов двигательной активности [1]. После каждого животного арену очищали с помощью 70 % этилового спирта и бумажных полотенец.

Компульсивно-подобное поведение мышей оценивали в тесте “Закапывание шариков” [24].

Для оценки пространственной рабочей памяти использовали Y-лабиринт (ООО “НПК Открытая Наука”, Россия). Животное помещали в стартовый рукав и в течение 8 мин регистрировали последовательность посещения рукавов лабиринта. Спонтанное чередование определяли как последовательное посещение 3 разных рукавов лабиринта. Процент спонтанного чередования определяли по формуле:

$$\% \text{ чередования} = \frac{(\text{общее количество спонтанных чередований})}{(\text{количество посещенных рукавов} - 2)} \cdot 100 \%$$

В помещении поддерживали минимальный уровень шума и освещенность в 100 лк. После каждого животного арену очищали с помощью 70 % этилового спирта и бумажных полотенец [11].

Вертикальную активность оценивали с помощью модифицированной методики, применяемой для изучения апоморфиновой стереотипии [15]. Установка представляла собой 12 цилиндров (55 × 19 × 22 см) со стенками из прутьев (ООО “НПК Открытая Наука”,

Россия). Внутренний диаметр пола цилиндра — 11,5 см, высота прутьев (стенок) — 13 см. Животных помещали в цилиндры на 30 мин, один раз в 2 мин проводили оценку вертикальной активности в баллах 0–4, где 0 баллов соответствовало положению всех 4 лап животного на полу цилиндра, а 4 балла — на прутьях [15].

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Inc. USA). Проверка результатов на нормальность распределения осуществляли по критерию Шапиро — Уилка, после чего данные были представлены в виде $M \pm SEM$. Отличия между группами определяли по методу двухфакторного (вещество × продолжительность введения) дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим множественным сравнением по критерию Тьюки. Результаты считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние хронического введения ДМСО на тревожные реакции и исследовательскую активность мышей. Периферическая горизонтальная активность животных контрольной группы после 4 недель введения составляла $40,2 \pm 2,6$, в центральной части установки — $12,0 \pm 1,3$, вертикальная активность — $8,9 \pm 1,0$, общая двигательная активность — $61,1 \pm 3,4$, обследования отверстий — $7,0 \pm 1,0$. После 6 недель — периферическая активность $31,2 \pm 2,5$, центральная — $24,0 \pm 2,9$, вертикальная — $4,8 \pm 1,0$, общая двигательная активность — $60,4 \pm 4,1$, обследования отверстий — $14,0 \pm 1,0$. Введение ДМСО в дозах 0,24 и 0,024 мг/кг в течение 28 дней приводило к уменьшению количества обследований отверстий в 3,5 и 3,7 раз ($p < 0,05$), соответственно (рис. 1). В то время как применение ДМСО в дозе 2,4 мг/кг в течение того же времени вызывало увеличение горизонтальной периферической и общей двигательной активности в 1,5 ($p < 0,01$) и 1,4 ($p < 0,05$) раза, соответственно. Применение изучаемого соединения во всех исследуемых

дозах в течение 42 дней не приводило к значимым изменениям регистрируемых параметров.

Увеличение двигательной активности мышей после 28-дневного введения ДМСО в дозе 2,4 мг/кг может быть отчасти связано с его способностью блокировать NMDA-рецепторы [14], что также согласуется с увеличением двигательной активности мышей после введения МК-801 и кетамина — антагонистов этих рецепторов [16, 25].

В то же время 28-, но не 42-дневное, введение ДМСО в дозах 0,024 и 0,24 мг/кг сопровождалось уменьшением обследований отверстий без изменения общей двигательной активности. По-видимому, этот эффект свидетельствует об усилении тревожности мышей и обусловлен, с одной стороны, способностью ДМСО в малых дозах стимулировать NMDA-рецепторы [21], а с другой — подавлять активность ГАМКА-рецепторов [12]. Это предположение подкрепляется данными об аналогичном эффекте антагонистов бензодиазепиновых рецепторов в тесте “Обследование отверстий” [18].

Влияние хронического введения ДМСО на компульсивно-подобное поведение мышей. Животные контрольной группы закапывали $6,0 \pm 1,0$ и $9,0 \pm 1,0$ шариков после 4- и 6-недельного введения, соответственно (рис. 2). Введение ДМСО в дозах 0,024 и 0,24 мг/кг в течение 28 дней приводило к увеличению этого параметра в 2,7 и 2,3 раза, соответственно ($p < 0,01$), что свидетельствует об усилении компульсивно-подобного поведения мышей линии C57BL/6. Применение ДМСО во всех исследуемых дозах в течение 42 дней не приводило к изменению этого поведения мышей.

Усиление компульсивно-подобного поведения мышей наблюдали только после 28-дневного введения ДМСО, что согласуется с усилением тревожности мышей в тесте “Открытое поле” и также, по-видимому, обусловлено стимуляцией NMDA-рецепторов и повышением внеклеточной концентрации глутамата [3, 21, 26].

Влияние хронического введения ДМСО на пространственную рабочую память мышей. Уровень спонтанного чередования животных контрольной группы составлял $63,0 \pm 3,6$ и $58,1 \pm 3,8$ % после 4- и 6-недельного введения, соответственно. Введение ДМСО во всех исследуемых дозах в течение 28 и 42 дней не приводило к изменению этого параметра и не оказывало влияния на пространственную рабочую память мышей линии C57BL/6.

Влияние хронического введения ДМСО на вертикальную активность мышей. Вертикальная активность животных контрольной группы составляла $10,8 \pm 1,8$ баллов. Введение ДМСО во всех исследуемых дозах в течение 28 и 42 дней не влияло на вертикальную активность мышей линии C57BL/6.

В представленной работе было впервые обнаружено, что системное хроническое введение ДМСО в малых дозах приводит к изменению двигательной активности, тревожных реакций и компульсивно-подобного поведения интактных мышей линии C57BL/6. По-видимому, выявленные эффекты обусловлены способно-

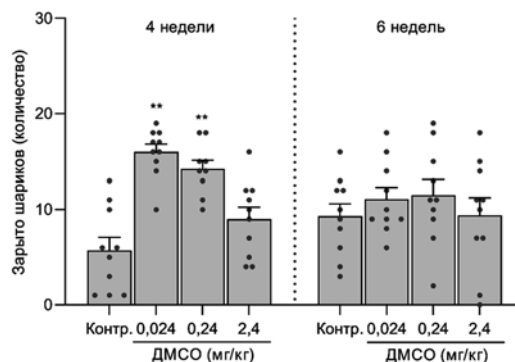


Рис. 2. Эффекты ДМСО в тесте “Закапывание шариков” у мышей линии C57BL/6.

Контр. — контроль; ДМСО — диметилсульфоксид; ** $p < 0,01$, по сравнению с контролем. Данные представлены как $M \pm SEM$, $n = 9 - 10$ животных в группе.

стью ДМСО в низких дозах вызывать нейрохимические и электрофизиологические изменения, которые, в свою очередь, могут приводить к нарушению синаптической пластичности [14, 19].

Отсутствие влияния 42-дневного введения ДМСО на изучаемые параметры подчеркивает зависимость центральных эффектов ДМСО от дозы и продолжительности введения. По-видимому, эти эффекты связаны не только с нейрохимическими изменениями, но и с морфологическими нарушениями — влиянием ДМСО на миелиновую оболочку [10, 17]. Подобный механизм мог бы объяснить зависимость биологического действия ДМСО от временного аспекта. На ранних сроках введения (28-дневное введение) процессы демиелинизации, вызванные ДМСО, могут сопровождаться поведенческими нарушениями, отражающими поражение различных структур ЦНС. В частности, установлено, что поражение коры и ствола головного мозга при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите также приводят к усилению компульсивно-подобного поведения мышей [9]. Кроме того, выявлено, что введение купризона, применяемого для моделирования демиелинизации, в течение 7 дней приводило к уменьшению количества олигодендроцитов и увеличению двигательной активности мышей C57BL/6 без влияния на пространственную рабочую память [27]. Это согласуется с аналогичным влиянием ДМСО на олигодендроциты [13] и полученными в представленной работе результатами. В то же время активация компенсаторных механизмов, связанных с ремиелинизацией [7, 20], может обуславливать отсутствие поведенческих нарушений на более поздних сроках введения ДМСО (42-дневное введение). Тем не менее, эти предположения требуют дальнейшего изучения свойств ДМСО.

ВЫВОДЫ

1. ДМСО (2,4 мг/кг, 28 дней) у мышей линии C57BL/6 вызывает увеличение периферической горизонтальной и общей двигательной активности в тесте

“Открытое поле” в 1,5 ($p < 0,01$) и 1,4 раза ($p < 0,05$), соответственно.

2. ДМСО (0,024 и 0,24 мг/кг, 28 дней) приводит к усилению тревожных реакций мышей линии C57BL/6 – уменьшению обследований отверстий в тесте “Открытое поле” в 3,5 и 3,7 раза ($p < 0,05$), соответственно.

3. ДМСО (0,024 и 0,24 мг/кг, 28 дней) приводит к усилению компульсивно-подобного поведения мышей линии C57BL/6 — увеличению количества зарытых шариков в тесте “Закапывание шариков” в 2,7 и 2,3 раза ($p < 0,01$), соответственно.

4. ДМСО во всех исследованных дозах не влияет на пространственную рабочую память и вертикальную активность мышей линии C57BL/6 в тестах “У-лабиринт” и “Вертикальная активность”.

5. Увеличение длительности применения ДМСО (во всех исследуемых дозах) до 42 дней нивелировало влияние этого вещества на тревожные реакции, двигательную активность и компульсивно-подобное поведение мышей линии C57BL/6 в тестах “Открытое поле” и “Закапывание шариков”.

Источники финансирования

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 22-25-00075.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Шимширт, Т. С. Калинина, Т. А. Воронина, *Рос. био-терапевт. журн.*, **11**(1), 45 – 46 (2012).
2. D. Bauwens, P. Hantson, P. F. Laterre, et al., *Leuk. Lymphoma*, **46**(11), 1671 – 1674 (2005); doi: 10.1080 / 10428190500235611.
3. K. Chakrabarty, S. Bhattacharyya, R. Christopher, S. Khanna, *Neuropsychopharmacol.*, **30**(9), 1735 – 1740 (2005); doi: 10.1038 / sj.npp. 1300733.
4. E. Farkas, A. Inostitoris, F. Domoki, et al., *Brain Res.*, **1008**(2), 252 – 260 (2004); doi: 10.1016 / j.brainres.2004.02.037.
5. J. L. Hanslick, K. Lau, K. K. Noguchi, et al., *Neurobiol. Dis.*, **34**(1), 1 – 10 (2009); doi: 10.1016 / j.nbd.2008.11.006.
6. O. Hequet, C. Dumontet, A. El Jaafari-Corbin, et al., *Bone Marrow Transplant.*, **29**(6), 544 (2002); doi: 10.1038 / sj.bmt.1703383.
7. J. M. Hillis, J. Davies, M. V. Mundim, et al., *J. Neuroinflammation*, **13**(1), 190 (2016); doi: 10.1186 / s12974-016-0651-2.
8. R. Hoyt, J. Szer, A. Grigg, *Bone Marrow Transplant.*, **25**(12), 1285 – 1287 (2000); doi: 10.1038 / sj.bmt.1702443.
9. R. Kant, S. Pasi, A. Surolia, *Front. Immunol.*, **9**, 2508 (2018); doi: 10.3389 / fimmu.2018.02508.
10. D. A. Kirschner, D. L. Caspar, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**(9), 3513 – 3517 (1975); doi: 10.1073 / pnas.72.9.3513.
11. A. K. Kraeuter, P. C. Guest, Z. Sarnyai, *Methods Mol. Biol.*, **1916**, 105 – 111 (2019); doi: 10.1007 / 978-1-4939-8994-2 10.
12. M. Nakahiro, O. Arakawa, T. Narahashi, et al., *Neurosci. Lett.*, **138**(1), 5 – 8 (1992); doi: 10.1016 / 0304-3940(92)90459-k.
13. A. O’Sullivan, S. Lange, P. Rotheneichner, et al., *Front. Neurosci.*, **13**, 1242 (2019); doi: 10.3389 / ffnins.2019.01242.
14. L. Penazzi, J. Lorengel, F. Sundermann, et al., *Neuropharmacol.*, **113**(Pt A), 434 – 444 (2017); doi: 10.1016 / j.neuropharm.2016.10.020.
15. P. Protais, J. Costentin, J. C. Schwartz, *Psychopharmacol. (Berl.)*, **50**(1), 1 – 6 (1976); doi: 10.1007 / BF00634146.
16. J. S. Silvestre, R. Nadal, M. Pallares, N. Ferre, *Depress. Anxiety*, **5**(1), 29 – 33 (1997).
17. S. L. Sutrina, N. F. Lue, G. L. Chen, W. W. Chen, *Biochim. Biophys. Acta*, **923**(3), 451 – 462 (1987); doi: 10.1016 / 0304-4165(87)90054-7.
18. H. Takeda, M. Tsuji, T. Matsumiya, *Eur. J. Pharmacol.*, **350**(1), 21 – 29 (1998); doi: 10.1016 / s0014-2999(98)00223-4.
19. F. Tamagnini, S. Scullion, J. T. Brown, A. D. Randall, *PLoS One*, **9**(3), e92557 (2014); doi: 10.1371 / journal.pone.0092557.
20. L. Torre-Fuentes, L. Moreno-Jimenez, V. Pytel, et al., *Neurologia (Engl. Ed.)*, **35**(1), 32 – 39 (2020); doi: 10.1016 / j.nrl.2017.07.002.
21. N. A. Tsvyetylnska, R. H. Hill, S. Grillner, *J. Neurophysiol.*, **94**(6), 3951 – 3960 (2005); doi: 10.1152 / jn.00201.2005.
22. P. Windrum, T. C. Morris, *Bone Marrow Transplant.*, **31**(4), 315 (2003); doi: 10.1038 / sj.bmt.1703848.
23. P. Windrum, T. C. Morris, M. B. Drake, et al., *Bone Marrow Transplant.*, **36**(7), 601 – 603 (2005); doi: 10.1038 / sj.bmt.1705100.
24. J. M. Witkin, *Curr. Protoc. Neurosci.*, Chapter 9: Unit 9.30 (2008); doi: 10.1002 / 0471142301.ns0930s45.
25. A. V. Yarkov, T. C. Der, J. N. Joyce, *Eur. J. Pharmacol.*, **627**(1 – 3), 167 – 172 (2010); doi: 10.1016 / j.ejphar.2009.10.068.
26. C. Yuan, J. Gao, J. Guo, et al., *PLoS One*, **9**(9), e107447 (2014); doi: 10.1371 / journal.pone.0107447.
27. H. Zhang, Y. Zhang, H. Xu, et al., *Neurosci. Bull.*, **29**(5), 633 – 641 (2013); doi: 10.1007 / s12264-013-1369-0.

Поступила 01.09.22

THE EFFECT OF DIMETHYL SULFOXIDE ON THE BEHAVIOR OF C57BL/6 MICE

N. V. Kudryashov^{1,*}, A. A. Gorbunov¹, S. E. Mironov¹, D. A. Tikhonov¹,
N. B. Sviridkina², V. V. Tarasov¹, V. P. Fisenko¹

¹ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 2 – 4 Bolshaya Pirogovskaya ul., Moscow, 119991 Russia

² Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltijskaya ul., Moscow, 125315 Russia

* e-mail: kunvi@mail.ru

The effect of chronic treatment with dimethyl sulfoxide (DMSO) at doses of 0.024, 0.24 or 2.4 mg/kg on the locomotor activity, anxiety responses, compulsive-like behavior, and spatial working memory of C57BL/6 mice was studied. It is shown that 28-day treatment with DMSO (2.4 mg/kg) leads to a 1.5-fold increase in the peripheral activity ($p < 0.01$) and a 1.4-fold increase in the total distance traveled ($p < 0.05$) of mice in the open field test. Moreover, 28-day treatment with DMSO at doses of 0.024 and 0.24 mg/kg led to an increase in anxiety responses, i.e., to a 3.5- and 3.7-fold decrease, respectively, in hole inspections ($p < 0.05$) in the open field test compared to the control. DMSO at the same doses also led to an increase of compulsive-like behavior, i.e., to a 2.7- and 2.3-fold increase in the number of marbles buried in the marble burying test. However, the use of DMSO for 42 days at all doses under consideration had no effect on the studied set of parameters.

Keywords: dimethyl sulfoxide; mice; locomotor activity; anxiety responses; compulsive-like behavior; spatial working memory.