

**ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА 1 НА ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ
ПРОЦЕССЫ В КУПРИЗОНОВОЙ МОДЕЛИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА**

Д.А. Федоришин

Научный руководитель: профессор, д.б.н. М.Ю. Ходанович
Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050
E-mail: khodanovich@mail.tsu.ru

**EFFECTS OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR 1 ON PATHOLOGIC PROCESS IN THE
CUPRIZONE MODEL OF MULTIPLE SCLEROSIS**

D.A. Fedorishin

Scientific Supervisor: Prof., Dr. M.Y. Khodanovich
Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050
E-mail: khodanovich@mail.tsu.ru

Abstract. *The study aimed to evaluate the effect of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) on the cuprizone-induced murine model of demyelination and accompanying astrogliosis. Demyelination was induced in 14 adult male mice by 0.3% cuprizone in drinking water. Five animals from the cuprizone-treated group received subcutaneous injections of IGF-1. Seven animals were used as a control group. The extent of demyelination was evaluated as a decrease of the size of the corpus callosum on T2-weighted images that were received using 11.7T animal MRI scanner. Brain sections were immunohistochemically stained for glial fibrillary acidic protein (GFAP), a marker of astrocytes. It was revealed the cuprizone caused extensive demyelination and astroglyosis. IGF-1 treatment restored the size of corpus callosum and the number of astrocytes in corpus callosum and anterior commissure to the control level.*

Введение. Одним из наиболее распространённых демиелинизирующих заболеваний является рассеянный склероз (РС). При этом препараты, действие которых направлено на стимулирование процесса ремиелинизации в настоящее время находятся лишь на стадии экспериментального тестирования. В данном исследовании была использована купризоновая модель РС, которая наряду с демиелинизацией, главным образом, мозолистого тела, характеризуется астроглиозом даже в условиях отсутствия аутоиммунных процессов [1]. Цель исследования заключалась в изучении перспективности применения инсулиноподобного фактора роста 1 (ИПФР-1) для снижения выраженности патологических процессов в мозге, вызванных введением купризона.

Материалы и методы. Объектом исследования были 3 группы мышей-самцов линии C57Bl/6j в возрасте 8 недель, полученные из питомника НИИОХ им. Н.Н. Ворожцова (г. Новосибирск) – «Контроль» (N=7), «Демиелинизация» (N=5) и «ИПФР-1» (N=7). Демиелинизацию в группах «Демиелинизация» и «ИПФР-1» вызывали хроническим пероральным введением водного раствора купризона 0,3 % в течение 53 дней. Животным группы «ИПФР-1» дважды в неделю подкожно вводили ИПФР-1, животные других групп получали инъекции физраствора. На 53-й день животным под 1.5-2% изофлурановым было проведено МРТ сканирование головного мозга на сверхвысокопольном томографе

BioSpec 117/16 USR (Bruker, Германия), получены T2-взвешенные изображения. Эвтаназию животных проводили под эфирным наркозом методом транскардиальной перфузии 4% параформальдегидом. Мозг извлекался, проводилась криопротекция в 10% и 20% растворах сахарозы и заморозка в парах жидкого азота. Для оценки астроглиоза срезы мозга толщиной 10 мкм на криотоме HM525 (ThermoScientific, Germany) в зоне +0.38 mm от bregma, которые затем окрашивались иммуногистохимически антителами, имеющими сродство к глиальному фибриллярному кисломому белку (GFAP), маркеру астроцитов. Микрофотографии срезов, полученные на микроскопе AxioImager Z2 (Carl Zeiss, Germany), и T2-взвешенные изображения обрабатывали с помощью программы ImageJ. На T2-взвешенных изображениях подсчитывали площадь мозолистого тела, которое обводили вручную. Для подсчета количества астроцитов были выбраны области мозолистого тела размером 200x200 мкм, а также передние комиссуры в пределах естественных границ. Статистическая обработка осуществлялась при помощи программы Statistica 8.0 с помощью дисперсионного анализа и критерия Манна-Уитни.

Результаты. На T2-взвешенных изображениях отмечено значительное уменьшение площади мозолистого тела в группе «Демиелинизация» по сравнению с группой контроля. Статистический анализ выявил значимое уменьшение размера мозолистого тела, вызванного введением купризона по сравнению с контрольной группой ($p < 0.001$). Введение ИПФР-1 на фоне купризонной интоксикации восстанавливало размер мозолистого тела до уровня контроля ($p > 0.05$).

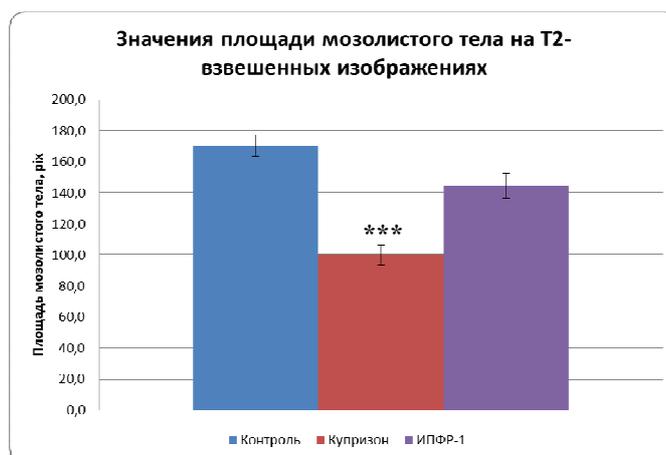


Рис. 1. – Размер мозолистого тела в группах «Контроль», «Демиелинизация» и «ИПФР-1». Столбцы отражают значение среднего ± стандартная ошибка среднего. Значимость различий относительно группы «Контроль»: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$.

В исследуемых структурах мозга животных группы «Демиелинизация» было обнаружено большое количество гипертрофированных астроцитов с большим количеством отростков, что свидетельствует о выраженной интоксикации купризоном. В группе «ИПФР-1» наблюдалось меньше гипертрофированных астроцитов, чем в группе «Демиелинизация». Статистический анализ выявил значимое увеличение количества астроцитов для группы «Демиелинизация» по сравнению с контрольной группой как в комиссурах ($p < 0.01$), так и мозолистом теле ($p < 0,01$). В то же время этот показатель не отличался от контроля для группы «ИПФР-1» ($p > 0.05$).

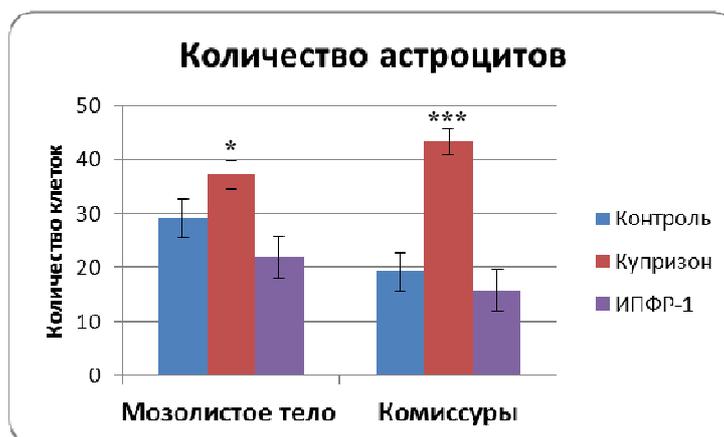


Рис. 2. – Различия в количестве астроцитов в мозолистом теле в группах «Контроль», «Демиелинизация» и «ИПФР-1». Столбцы отражают значение среднего \pm стандартная ошибка среднего. Значимость различий относительно группы «Контроль»: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$.

Известно, что ИПФР-1 обладает противовоспалительными свойствами и может повышать выживаемость и пролиферацию олигодендроцитов, способствуя ремиелинизации [2]. Предположительно, уменьшение количества активных астроцитов на фоне введения купризона, вызывающего астроглиоз, связано с нейропротективным и ремиелинизирующим действием ИПФР-1.

Заключение. Хроническая купризоновая интоксикация вызывала у мышей демиелинизацию, что выразилось в уменьшении размера мозолистого тела, а также увеличении количества астроцитов в мозолистом теле и передних комиссурах и изменении их морфологии. Введение ИПФР-1 на фоне купризоновой интоксикации оказывало позитивный эффект на демиелинизацию, увеличивая размер мозолистого тела до контрольных значений, и снижало вызванный купризоном астроглиоз в мозолистом теле и передних комиссурах.

Исследование проведено при финансовой поддержке РФФ (проект № 14-45-00040). Автор выражает благодарность сотрудникам НИИОХ им. Н.Н. Ворожцова СО РАН Сорокиной И.В. и Толстиковой Т.Г. за реализацию купризоновой модели рассеянного склероза, сотрудникам ИЦиГ СО РАН Акулову А.Е. и Ромащенко А.В. за проведение МРТ-исследования, сотрудникам лаборатории нейробиологии НИИ ББ ТГУ Немировичу-Данченко Н.М. и Глазачевой В.Ю. за помощь в проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kipp M. The cuprizone animal model: new insights into an old story / M. Kipp, T. Clarner, J. Dang et al. // Acta Neuropathologica. – 2009. – V. 6. – № 118. – P. 723–736.
2. Hsieh J. IGF-I instructs multipotent adult neural progenitor cells to become oligodendrocytes / J. Hsieh, J.B. Aimone, B.K. Kaspar // J. Cell Biol. – 2004. – V. 5. – № 164. – P. 111–122.