

ПРОЛАКТИН КАК ФАКТОР ПРОТЕКЦИИ ЦНС У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЕЙ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Гузев А.К., Предтеченская Е.В., Сорокина И.В., Айдагулова С.В.

*Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Лаборатория фармакологических исследований НИОХ СО РАН, г. Новосибирск*

Аннотация. Половые различия течения рассеянного склероза (РС), а также существенное изменение хода болезни во время беременности обуславливают интерес к исследованию влияния половых гормонов на патогенетические механизмы болезни, для чего существует ряд животных моделей. В настоящем исследовании изучено влияние метоклопрамид-индуцированной гиперпролактинемии на течение демиелинизации у мышей линии C57BL/6 разного пола в модели хронической купризоновой интоксикации.

В настоящем исследовании выявлено существенное влияние пролактина на течение купризоновой демиелинизации у самок и самцов при динамическом наблюдении в течение 12 нед эксперимента. Самки продемонстрировали умеренные обратимые изменения миелина на 6 нед. и незначительные дегенеративные изменения на 12 нед. У самцов выявлены аналогичные обратимые изменения на 6 неделе и процессы ремиелинизации на 12 неделе умеренной нейродегенерацией.

Цель исследования: оценить влияние пролактина на течение купризоновой демиелинизации как модели прогрессирующего рассеянного склероза у экспериментальных животных разного пола.

Материалы и методы. В опыте использовались самцы и самки мышей линии C57BL/6 (по 20 особей) нативные животные сходных характеристик. Купризоновая модель создавалась по известному протоколу [1-4]. Длительность эксперимента – 12 нед. Первой точкой отсчета стало исследование на пике демиелинизации – 6 нед. Вторая точка отсчета – 12 нед. от начала купризоновой диеты. Индукция гиперпролактинемии производилась путем подкожных инъекций метоклопрамида в область шеи в дозировке 125 мкг каждые два дня в течение 12 недель. Дозировка выработана на основе литературных данных для достижения концентраций пролактина, сходных с беременностью [5]. Начало введения метоклопрамида совпадало с началом приема купризоны животными.

Проведено гистологическое исследование образцов мозолистого тела с помощью трансмиссионной электронной микроскопии ультратонких срезов. На 37 и 84 дни воздействия купризоны половина животных из каждой группы была выведена из эксперимента методом декапитации.

Изучение ультратонких срезов и получение электронограмм проводились при увеличении в 5000, 12000–30000 раз с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEM 1400 (Jeol, Япония) с цифровой камерой Veleta (EMESIS, Германия) и программным обеспечением iTEM (Jeol, Япония). При анализе электронограмм проведен морфометрический анализ с подсчетом валлеровых дегенераций и демиелинизированных аксонов по аналогии с существующими вариантами морфометрии [6-8], отсчитано по 300 аксонов в каждой группе.

Результаты гистологического исследования.

Самки: первая точка – пик демиелинизации (6 недель). В группе самок наблюдается преимущественно сохранная ультраструктура миелина с низкой степенью повреждения, олигодендроцитов. Полиморфные олигодендроциты (ОДЦ) демонстрируют высокую электронную плотность матрикса и развитие белоксинтезирующих органелл, что свидетельствует об активных синтетических процессах. Общее количество демиелинизированных волокон низкое, отмечаются единичные аксоны с признаками валлеровой дегенерации.

Самки: вторая точка – хроническая демиелинизация (12 недель). На 12 неделе у самок наблюдаются в значительной мере сохранные миелиновые оболочки аксонов с наличием умеренного неравномерного контраста, свидетельствующего о частичном расслоении оболочек. В мозолистом теле определяется большое количество сохранных и погибших клеток. Также видны множественные очаги ремиелинизации, которые наблюдаются как неповрежденные аксоны с тонкой прослойкой миелина (рис. 1, А). Отмечаются также единичные участки валлеровой дегенерации (рис. 1, В). ОДЦ окружены аналогичными очагами ремиелинизации и демонстрируют повышенную электронную плотность матрикса, что свидетельствует об активных синтетических процессах (рис. 1, С).

Таким образом, стадия пиковой демиелинизации с гиперпролактинемией у самок демонстрирует практически полную сохранность миелиновых оболочек, а изменения на стадии хронической демиелинизации (12 нед.) незначительны и преимущественно представляют собой обратимые явления с выраженными восстановительными процессами.

Самцы: первая точка – пик демиелинизации (6 недель). На стадии 6 недель в группе самцов с гиперпролактинемией наблюдается значительная демиелинизация с участками сохранного миелина. В то же время, тяжелых ультраструктурных поражений и значимых признаков клеточной гибели или аксональной дегенерации не наблюдается. Виден также выраженный полиморфизм олигодендроцитов с разной электронной плотностью цитоплазматического матрикса – от электронно-прозрачного до темного. Обнаруживаются также очаги ремиелинизации, а также почти полностью демиелинизированные аксоны без признаков внутренних ультраструктурных нарушений.

Самцы: вторая точка – хроническая демиелинизация (12 недель). На данной стадии у самцов наблюдаются признаки восстановления миелиновой оболочки с умеренными патологическими элементами. Видны множест-

научные Статьи

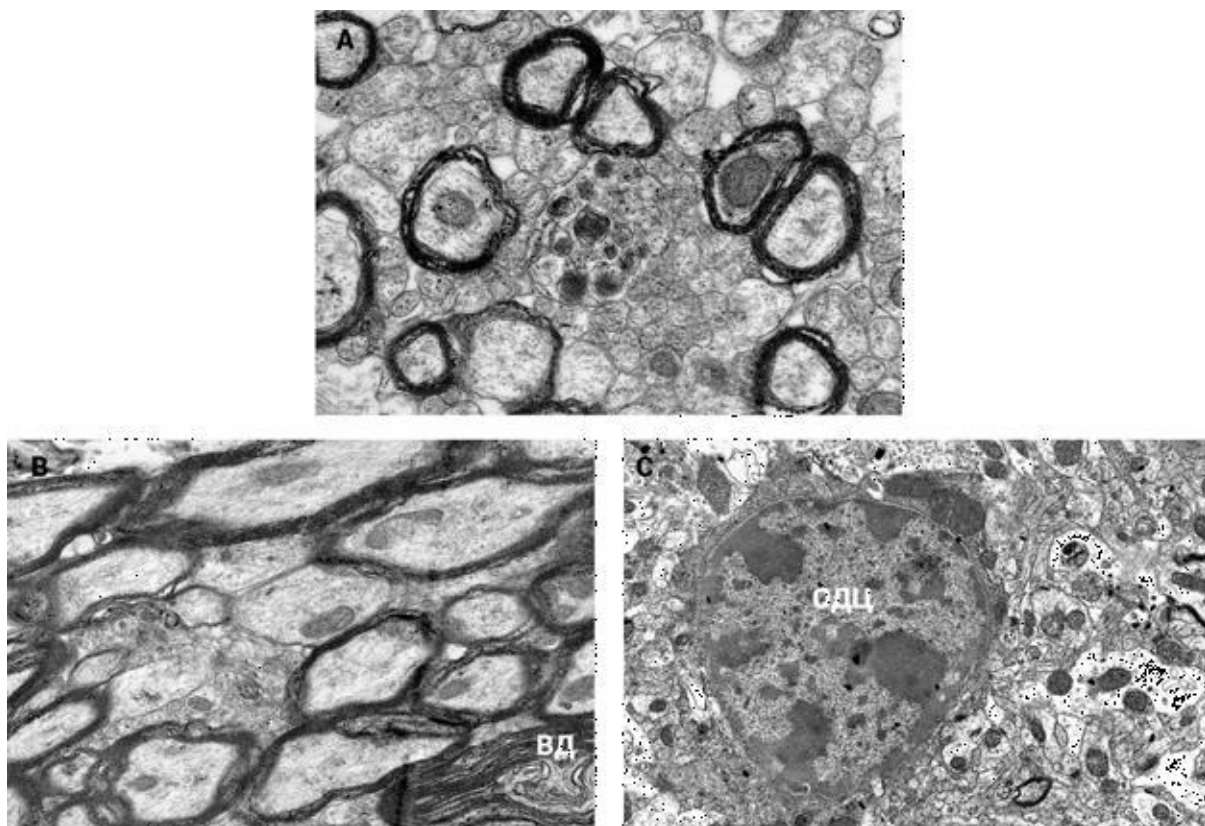


Рис. 1

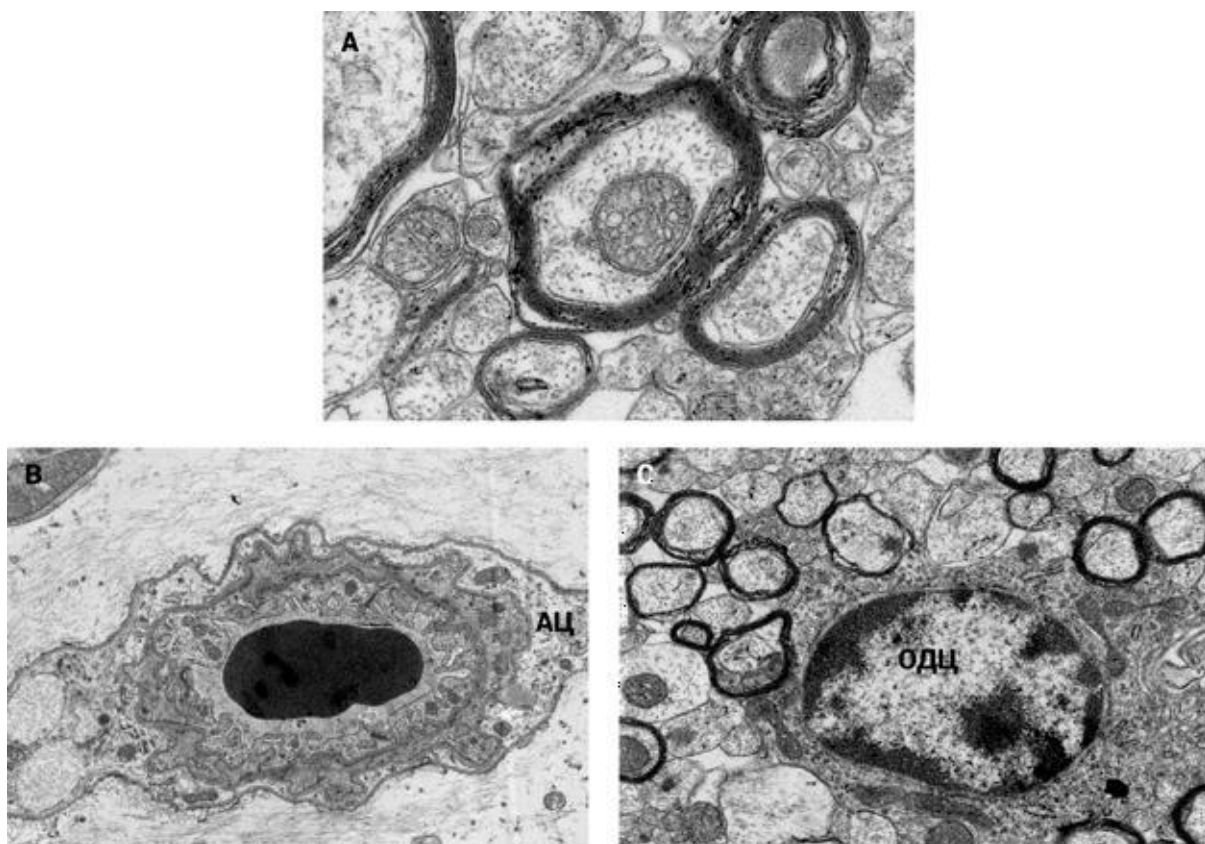


Рис. 2

венные очаги ремиелинизации, соседствующие с аксонами с умеренно поврежденной или интактной миелиновой оболочкой и незначительными ультраструктурными нарушениями (рис. 2, А). Были также обнаружены участки интактного гематоэнцефалического барьера с периваскулярным отеком с сохраненными астроцитами без признаков поражения (рис. 2, В). ОДЦ демонстрировали умеренное повышение электронной плотности и были окружены аксоны с нормальным, умеренно расслоившимся или восстанавливающимся миелином (рис. 2, С).

Для всех групп животных был проведен морфометрический анализ (табл. 1).

Таблица 1

Результаты морфометрического анализа

Количество демиелинизированных аксонов в поле зрения (ув. 5000)

Самки		Самцы	
Интактный контроль	2,33±0,43	Интактный контроль	2,64±0,84
Купризон + гиперпролактинемия,		Купризон + гиперпролактинемия,	
6 недель	19,87±1,50	6 недель	20,54±2,32
Купризон + гиперпролактинемия,		Купризон + гиперпролактинемия,	
12 недель	4,24±0,31	12 недель	26,24±2,39
Количество аксональных дегенераций в поле зрения			
Самки		Самцы	
Интактный контроль	0,32±0,09	Интактный контроль	0,29±0,11
Купризон + гиперпролактинемия,		Купризон + гиперпролактинемия,	
6 недель	0,10±0,07	6 недель	0,36±0,17
Купризон + гиперпролактинемия,		Купризон + гиперпролактинемия,	
12 недель	0,43±0,08	12 недель	0,43±0,13

Таким образом, длительная купризоновая интоксикация с одновременным воздействием индуцированной гиперпролактинемии у самок в значительной мере предохраняет миелиновые оболочки от разрушения, де-монстрируя картину, близкую к интактному контролю даже на поздней стадии хронической демиелинизации.

самцов повреждения миелина выражены сильнее, однако протективный эффект наблюдается в значительной степени. Помимо этого, в группах обоих полов наблюдаются выраженные активные синтетические процессы в олигодендроцитах, в то время как участки нейродегенерации и пораженных участков миелина незначительны, что подтверждает гипотезу о выраженном протективном эффекте пролактина как от стандартной нейродегенерации, так и от глиоза, а также о стимулирующем влиянии пролактина на репаративные и синтетические процессы в микроокружении миелина.

Литература

- Hibbits N. Astrogliosis during acute and chronic cuprizone demyelination and implications for remyelination / N. Hibbits, J. Yoshino, T. Q. Le, and R. C. Armstrong // ASN Neuro – 2012. – vol. 4 – №6 – P.393–408.
- Hibbits N. Cuprizone demyelination of the corpus callosum in mice correlates with altered social interaction and impaired bilateral sensorimotor coordination / N. Hibbits, R. Pannu, T. J. Wu, and R. C. Armstrong // ASN Neuro. – 2009. – vol. 1. – №3. – P.153–164.
- Armstrong R. C. Endogenous Cell Repair of Chronic Demyelination / R. C. Armstrong, T. Q. Le, N. C. Flint, A. C. Vana, and Y.-X. Zhou // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 2006. – vol. 65. – №3. – P.245–256.
- Skripuletz T. Cortical Demyelination Is Prominent in the Murine Cuprizone Model and Is Strain-Dependent / T. Skripuletz et al. // Am. J. Pathol. – 2008. – vol. 172. – №4. – P.1053–1061.
- Verna C. Efeito da hiperprolactinemia induzida pela metoclopramida na curvatura de camundongos / C. Verna et al. // “Arq. Bras. Oftalmol. – 2006. – vol. 69. -№ 5. – P. 645–649.
- Kramann N. Laquinimod prevents cuprizone-induced demyelination independent of Toll-like receptor signaling / N. Kramann, L. Menken, L. Hayardeny, U.-K. Hanisch, W. Brück // Neurol. – Neuroimmunol. Neuroinflammation. – 2016. – vol. 3 – №3 – P.e233.
- Bruck W.. Reduced astrocytic NF-kB activation by laquinimod protects from cuprizone-induced demyelination / W. Bruck et al. // Acta Neuropathol. – 2012. – vol. 124. – №3. – P.411–424.
- Bando Y. Abnormal morphology of myelin and axon pathology in murine models of multiple sclerosis / Y. Bando et al. // Neurochem. Int. – 2015. – vol. 81. – P.16–27.