

Описание нейровоспалительного статуса ткани мозга с помощью количественного анализа характеристик 3D-изображений клеток микроглии

Мартьянова Е.К.^{1,2}, Тишкина А.О.¹

¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

²Московский физико-технический институт (государственный университет)

В последние годы нейровоспаление является предметом многих исследований в связи с его участием в качестве ключевого звена патогенеза разнообразных заболеваний ЦНС. Нейровоспаление является универсальной реакцией внутренней иммунной системы мозга на повреждения различного рода. Данный процесс является адаптивным, однако при слишком сильном или достаточно продолжительном воздействии он зачастую приводит к патологии.

Основной маркер нейровоспаления - активация микроглии. При активации морфология клеток микроглии существенно меняется от разветвленной формы с тонкими, множественными отростками до амебоподобной. Основываясь на этом свойстве, можно выделить несколько стадий активации, что позволит делать количественную оценку нейровоспалительного статуса ткани мозга. Существующие на сегодня методы оценки активации микроглии основаны лишь на подсчете числа клеток или измерении размера сомы, и являются слишком грубыми для распознавания различных стадий активации.

В данной работе представлен метод более тонкого количественного анализа морфологии микроглии. Срезы мозга иммуногистохимически окрашивали на маркер микроглиальных клеток (Iba-1), окрашивание выявляли с помощью вторичных антител, конъюгированных с флуоресцентной меткой (AlexaFluo). Для получения 3D-изображений микроглии проводили Z-стек съемку на флуоресцентном микроскопе (ZEISS AxioImager.2), оснащенном модулем структурированного освещения (ApoTome.2). После предварительной цифровой обработки изображений, производили 3D реконструкцию клеток с помощью программного обеспечения Fiji [3]. Для каждой реконструированной клетки были рассчитаны несколько параметров, описывающих морфологию, в том числе такие, как фрактальная размерность [2], форм-фактор и параметры, описывающие разветвленность клеток [1].

Описанный метод может быть применен для оценки нейровоспалительного статуса мозга животных в норме и при патологии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № № 15-34-21047 мол_а_вед.

Литература

1. *Ferreira T et al.* Neuronal morphometry directly from bitmap images. – Nature Methods. – 2014. – Vol. 11(10). – PP. 982-984.
2. *Karperien A et al.* Quantitating the subtleties of microglial morphology with fractal analysis. – Front Cellular Neuroscience. – 2013. – Vol. 7. – Article 3.
3. *Schindelin J et al.* Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. – Nature methods. – 2012. – Vol. 9(7). – PP. 676-682.