МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Том 4. Биология и фундаментальная медицина

Сборник научных трудов
XVIII Международной конференции студентов, аспирантов
и молодых ученых

27–30 апреля 2021 г.

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

Volume 4. Biology and fundamental medicine

Abstracts

XVIII International Conference of students, graduate students
and young scientists

April 27–30, 2021

ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Национальный исследовательский Томский государственный университет

ТГАСУ

ТУСУР TUSUR UNIVERSITY
Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники

ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Томск 2021

УДК 616.8-005

НЕИНВАЗИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ НА МОДЕЛИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У КРЫС

М.С. Кудабаева, А.А. Кисель
Научный руководитель: профессор, д.б.н М.Ю. Ходанович
Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050
E-mail: kmsra08@gmail.com

NONINVASIVE STUDY OF REGENERATIVE PROCESSES IN THE BRAIN ISCHEMIA MODEL IN RATS

M.S. Kudabaeva, A.A. Kisel
Scientific Supervisor: Prof., Dr. M.Yu. Khodanovich
Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050
E-mail: kmsra08@gmail.com

Abstract. *The regenerative process mechanisms of the nervous system after brain ischemia remain unclear and request new research approach for detailed and reliable observation. In the present study recent noninvasive technique, fast macromolecular proton fraction (MPF) mapping, was compared with immunohistochemistry to assess recovery of the brain regions that were damaged by ischemia in rat focal ischemia model (MCAO). The present study revealed regions with dramatic decrease of MPF intensity in the striatum of rats after MCAO from the first day after ischemia to the fifty-sixth day (the last timepoint). Immunohistochemical analysis of this regions have shown neuronal and myelin loss, but the number of neuronal and glial progenitors increased in comparison with control group. Comparison of MPF maps and micrographs have revealed exact correspondence between the border of glial scar, which limits the place of nerve cell death, and regions of active neuronal progenitors migration with the regions of hypointensity on the MPF maps. The results provide histolocical validation of MPF as a noninvasive technique for monitoring of regenerative processes in the regions of neuronal and myelin loss after ischemia.*

Введение. Ишемический инсульт является одной из лидирующих причин смертности и инвалидизации населения по всему миру. Ишемическое повреждение мозга приводит к гибели клеток нервной ткани. Восстановление утраченных нервных клеток является длительным и сложным процессом и остается до сих пор слабо изученным. Для детального и достоверного исследования регенерации нервной ткани необходимо создание новых неинвазивных методов мониторинга, позволяющих локализовать зоны протекания восстановительных процессов, оценить их скорость и временные рамки. В данном исследовании изучалась применимость нового метода магнитно-резонансной диагностики, метода быстрого картирования макромолекулярной протонной фракции (МПФ) [1], для выявления восстановления мозга после ишемического инсульта.

Материалы и методы. Исследование проводилось на крысах-самцах линии Вистар (n = 6) проводилось моделирование локальной ишемии головного мозга путем временной окклюзии срединной церебральной артерии силиконовым филаментом (Doccol, USA), модель MCAO [2]. Животные были

исследованы на МРТ-сканере с напряженностью поля 7 Тесла (ClinScan; Bruker BioSpin, Germany) в нескольких временных точках до (в день операции) и после (1, 3, 5, 7, 14, 21, 31, 42, 56 сутки) инсульта с применением метода МПФ. Животные выводились из эксперимента путем транскраниальной перфузии и ткани мозга замораживались после криопротекции в парах азота для последующего иммуногистохимического анализа. Отличие показателей зоны ишемического поражения по сравнению с симметричными структурами здорового полушария были оценены с использованием взвешенного t-критерия Стьюдента для зависимых выборок.

Результаты. В ходе анализа МПФ-карт была выявлена зона гипоинтенсивности в стриатуме крыс, которая сохранялась на всех временных точках исследования после моделирования ишемии. Иммуногистохимическогое окрашивание данной области на белок зрелых нейронов NeuN выявил колоссальное снижение нейронов ($p<0,05$), достигающее сокращение нейрональной популяции на 94 % (рис. 1: А, Г), окрашивание на белок MBP показал значительное сокращение площади ($p<0,05$) поперечного сечения волокон белого вещества до 80% (рис. 1: А, Д), окрашивание на белок GFAP показал значительное увеличение количества астроцитов ($p<0,05$) и выявил границы глиального шрама, совпадающие с зоной гипоинтенсивности на МПФ. По окраске на белок DCX было выявлено повышение плотности ($p<0,05$) мигрирующих нейробластов из субвентрикулярной зоны латеральных желудочков до 17% (рис. 1: А, Е). Превышение плотности нейробластов было выше контрольных значений во всех исследуемых зонах, но в зоне демиелинизации была наибольшей и превысила уровень контроля в 17 раз. Помимо увеличения плотности нейробластов происходило отклонение пути миграции от следования вдоль паровентрикулярной зоны латеральных желудочков, свойственное здоровым животным. При этом степень отклонения миграции была пропорциональна площади демиелинизации видимой на картах МПФ. К 56 суткам нейробласты уже достигали отдаленных участков от зоны SVZ на всей площади региона демиелинизации. В зоне демиелинизации происходит увеличение количества предшественников олигодендроциитов ($p<0,05$) и изменение их морфологии (рис. 1: А, Ж). Происходит увеличение объема тела клетки, увеличение их отростков, как видно по расположению белка NG2 в цитоплазме клетки.

Заключение. Полученные данные показали, что в зоне гипоинтенсивности МПФ происходит значительное увеличение клеток со специфичными маркерами, связанными с процессами восстановления. Увеличение NG2-клеток в зоне демиелинизации и изменение их морфологии свидетельствует о подготовке зоны поражения к ремиелинизации [3], а взаимодействие астроцитов и нейробластов необходимо для миграции будущих нейронов и подготовки среды для их развития. Сопоставление гистологических данных и карт МПФ показало соответствие границ глиального шрама, который ограничивает место гибели нервных клеток (потеря Neun+клеток и сокрашение MBP+площади), и зоны миграции нейробластов с зонами гипоинтенсивности на картах МПФ, что свидетельствует о возможности применения метода МПФ для локализации зоны ишемического поражения и зоны активного восстановления. Таким образом, метод быстрого картирования макромолекулярной протонной фракции является методом магнитной резонансной томографии, обладающим большим потенциалом для прогнозирования восстановления мозга после инсульта.

Обработка тканей, анализ МРТ данных, подготовка публикации проводились при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-315-90119). МРТ сканирование животных проводилось за счет средств грантов РНФ (проекты № 18-15-00229, 19-75-20142).

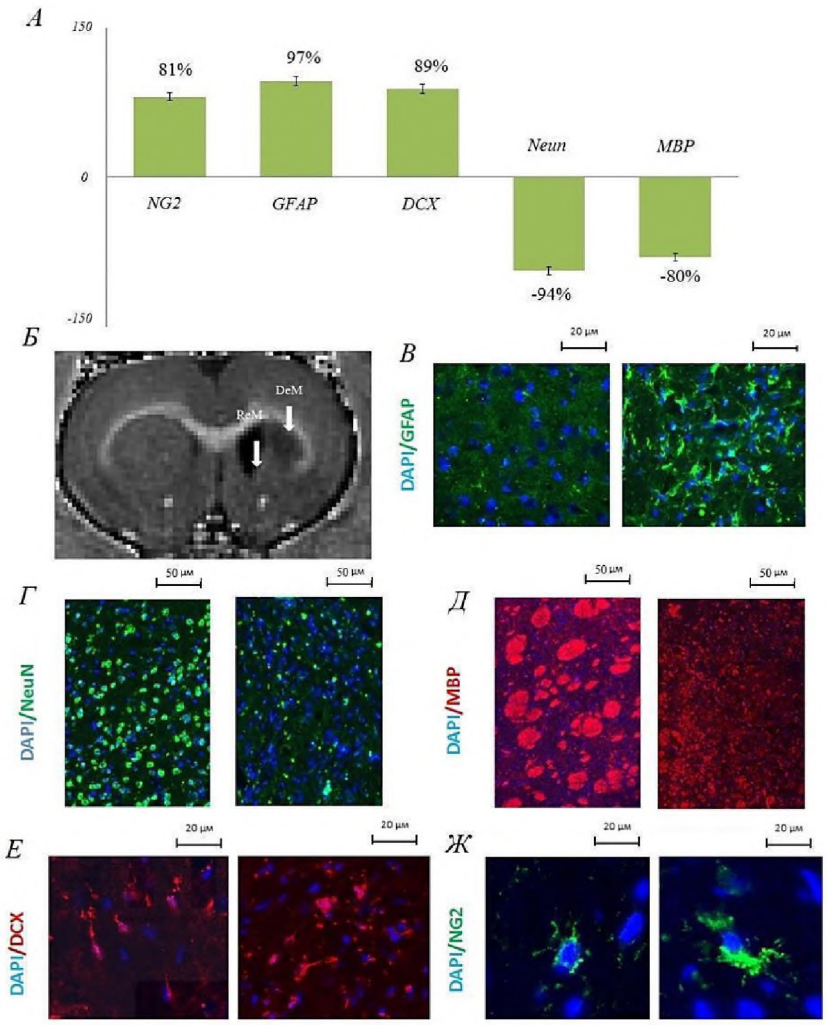

Рис. 1. Сравнение ишемизированного и контрольного полушарий мозга крыс в зоне демиелинизации. ***А*** *- процентные изменения иммуногистохимических показателей относительно контрольного полушария.* ***Б*** *- расположение анализируемых зон на картах МПФ (ReM – зона ремиелинизации, DeM – зона демиелинизации на ипсилатеральном полушарии).* ***В, Г, Д, Е, Ж*** *– морфологические изменения, идентифицируемые при применении иммуногистохимических маркеров (контралатеральное полушарие всегда слева).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Naumova A. V. et al. High-resolution three dementional macromolecular proton fraction mapping for quantitative neuroanatomical imaging of the rodent brain in ultra-high magnetic fields // NeuroImage. -2016. – V. 147. – P. 985–993.
2. Longa E. Z. et all.. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats // Stroke. -1989.- V. 20(1). – P. 84-91.
3. Khodanovich M Yu. et all. Quantitative assessment of demyelination in ischemic stroke in vivo using macromolecular proton fraction mapping // J Cereb Blood Flow Metab. – 2018. – V. 0(00). P. 1–13.