

УДК 577.29

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ И ПРОГРАММНЫХ МЕТОДОВ 2D И 3D АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ АСТРОЦИТОВ

© 2021 г. О. И. Носова¹*, Д. А. Суфиева¹, Д. Э. Коржевский¹

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, 197376 Россия

*E-mail: nosova@neuro.nnov.ru

Поступила в редакцию 10.09.2020 г.

После доработки 24.09.2020 г.

Принята к публикации 25.09.2020 г.

Цель работы состояла в изучении возможностей двухмерного и трехмерного количественного анализа структурно-функционального состояния астроцитов на примере изображений, полученных при двойной иммуноцитохимической реакции на астроцитарные маркеры GFAP и GLT-1, с применением свободно распространяемого программного обеспечения. Материалом для исследования служил мозг половозрелых самцов крыс линии Вистар ($n = 5$). В работе продемонстрировано, что современные методы двухмерного и трехмерного анализа с помощью общедоступного программного обеспечения расширяют возможности получения качественной и количественной информации о структурно-функциональном состоянии таких сложноорганизованных объектов, как астроциты центральной нервной системы, а также обеспечивает уровень стандартизации данных, необходимый для сопоставления результатов исследований, полученных разными научными группами.

Ключевые слова: астроциты, ImageJ, иммуногистохимия, конфокальная лазерная микроскопия, количественный анализ, морфометрия

DOI: 10.31857/S0041377121010077

Функционирование головного мозга зависит от взаимодействия двух основных типов клеток: нейронов и клеток глии (Verkhatsky et al., 2014). Нарушение этого взаимодействия происходит при нейродегенеративных заболеваниях, таких как эпилепсия, болезнь Альцгеймера и других, следствием которых является снижение когнитивных функций, потеря памяти, психические расстройства (Hancock et al., 2014; Rodríguez-Arellano et al., 2016; Verkhatsky et al., 2016). В настоящее время в мировой литературной базе накапливается все больше данных о ключевой роли астроцитов в патогенезе этих заболеваний (Baber, Haghghat, 2010; Bernardinelli et al., 2014; Pekny, Pekna, 2014; Sukhorukova et al., 2015). Понимание механизмов вовлечения астроцитов в формирование и развитие массовой гибели нейронов может стать ключом к эффективной терапии нейродегенеративных заболеваний. В контексте этого становится актуальным применение современных подходов, позволяющих получать дополнительную информацию о структурно-функциональном состоянии астроцитов — важнейших клеток нейроглии.

Принятые сокращения: GFAP — глиальный фибриллярный кислый белок; GLT-1 — астроцитарные транспортеры глутамата.

В последние десятилетия наблюдается стремительное развитие методов флуоресцентной и конфокальной микроскопии (Ведяйкин и др., 2019; Jonkman et al., 2020). Методы, созданные на основе флуоресцентной микроскопии, стали незаменимыми в клеточных и молекулярно-биологических исследованиях. Эти подходы позволяют получать изображения с более высоким разрешением, чем традиционная световая микроскопия, что также открывает новые возможности для применения современных методов количественного анализа изображений. Кроме того, появляется все больше инструментов, позволяющих осуществлять объективную оценку изображений, основанную на количественных подходах не только в двухмерном пространстве (Costes et al., 2004; Bolte, Cordelieres, 2006; Lagache et al., 2015), но и в трехмерном (Zinchuk, Grossenbacher-Zinchuk, 2009; Adler, Parmryd, 2010; Zinchuk et al., 2013; Rizk et al., 2014; Heck et al., 2015; Kraus et al., 2017). Чтобы визуализировать, обрабатывать и анализировать эти типы данных, необходимо использовать соответствующее программное обеспечение. Существуют коммерческие пакеты, такие как Amira (Thermo Fisher Scientific, USA), Imaris (Bitplane, Switzerland), Velocity (PerkinElmer, UK) и др. Эти программы представляют собой дорогостоящее программное обеспе-