

МЕТОД ОДНОВРЕМЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК И СКОПЛЕНИЙ АМИЛОИДА НА СВЕТООПТИЧЕСКОМ УРОВНЕ

© 2021 г. О. И. Носова¹ *, В. В. Гусельникова¹, Д. Э. Коржевский¹

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, 197376 Россия

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

Поступила в редакцию 30.06.2021 г.

После доработки 13.07.2021 г.

Принята к публикации 22.07.2021 г.

Тесная пространственная взаимосвязь клеток глии (астроглии и микроглии) с амилоидными бляшками является одним из гистопатологических проявлений болезни Альцгеймера. Цель работы состояла в разработке простого и информативного метода для одновременного выявления амилоидных бляшек и клеток глии, основанного на сочетании гистохимического метода выявления амилоида и нефлуоресцентных иммуногистохимических методов выявления глиальных клеток. Материалом для исследования служили образцы коры головного мозга пожилых людей ($n = 8$) и образцы головного мозга трансгенных мышей линии 5×FAD ($n = 6$). Суть предложенного методического подхода состоит в постановке иммуногистохимической реакции на маркерный белок микроглии или астроглии с последующим окрашиванием срезов фталоцианиновым красителем альциановым синим. Предложенный подход характеризуется простотой и хорошей воспроизводимостью, позволяя выявлять ассоциацию клеток глии с амилоидными бляшками. Было отмечено, что постановка иммуногистохимической реакции на кальций-связывающий белок Iba-1 (маркер микроглии) и глиальный фибриллярный кислый белок GFAP (маркер астроглии) позволяет наиболее эффективно идентифицировать микроглиоциты и астроциты соответственно, а также подходит для оценки функционального статуса этих клеток. Последующая подкраска срезов альциановым синим по отработанному протоколу позволяет получить высокую интенсивность окраски амилоида, делая амилоидные бляшки хорошо различимыми. По сравнению с альтернативной методикой одновременного выявления клеток глии и амилоидных бляшек, предполагающей постановку двойной иммунофлуоресцентной реакции, разработанный метод прост в реализации и требует наличия только светового микроскопа, что делает его доступным большинству научно-исследовательских и клинико-диагностических лабораторий.

Ключевые слова: амилоидные бляшки, астроциты, микроглия, иммуногистохимия, болезнь Альцгеймера

DOI: 10.31857/S0041377121060092

Селективная идентификация глиальных клеток — астроцитов и микроглиоцитов — затруднительна при использовании классических методов гистологической окраски. Использование современных иммуногистохимических методик позволяет достаточно полно выявлять эти клеточные популяции и дает возможность оценить их функциональное состояние при моделировании патологических процессов. Одним из интенсивно исследуемых патологических процессов является болезнь Альцгеймера (БА) — прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, которое сопровождается снижением когнитивных функций и потерей памяти (Mucke, 2009; Acosta et al., 2017). Основными гистопатологическими признаками, регистрируемыми в головном мозге при развитии БА, являются внутриклеточные нейрофибрилярные клубки, состоящие из гиперфосфорилированного

тау-белка, и амилоидные бляшки, представляющие собой внеклеточные отложения бета-амилоидных фибрилл (Acosta et al., 2017). Механизм формирования амилоидных отложений, участие глиальных клеток в формировании амилоидных бляшек и потенциальные возможности резорбции амилоида являются актуальными направлениями в изучении данного заболевания, для анализа патогенеза которого разработаны и используются различные экспериментальные модели (Stepanichev et al., 2006; Chumakov et al., 2012; LaFerla, Green, 2012).

В последнее время все более очевидной становится ключевая роль глии в развитии и прогрессировании БА. При этом представления о функциях клеток глии при развитии БА продолжают оставаться противоречивыми (Olabarria et al., 2010; Condello et al., 2015; Kelly et al., 2018; Habib et al., 2020). Многими исследователями отмечается тесная пространственная взаимосвязь клеток астроглии и микроглии с амилоидными бляшками при БА (Rodríguez-Arellano et al.,

Принятые сокращения: БА — болезнь Альцгеймера; GFAP — глиальный фибриллярный кислый белок.