

ДИНАМИКА СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МИЕЛИНА ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЛОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС

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: kisell.alena@gmail.com

DYNAMICS OF MYELIN CONTENT DECREASE IN THE RAT STROKE MODEL

A.A. Kisel

Scientific Supervisor: Prof., Dr. Sc. M.Yu. Khodanovich
Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina ave, 36, 634050
E-mail: kisell.alena@gmail.com

Abstract. *A majority of studies were usually focused on neuronal death after brain ischemia, however, stroke affects all cell types including oligodendrocytes that form myelin sheath in the CNS. Our study is focused on the changes of myelin content in ischemic core and neighbor structures in early terms (1, 3 and 10 days) after stroke. Stroke modeled with middle cerebral artery occlusion (MCAo) in 15 male rats that were divided in three groups by time-points after operation. Brain sections were histologically stained with Luxol Fast Blue (LFB) for myelin quantification. The significant demyelination was found in the ischemic core, corpus callosum, anterior commissure, whereas myelin content was increased in caudoputamen, internal capsule and piriform cortex compared with the contralateral hemisphere. The motor cortex showed a significant increase of myelin content on the 1st day and a significant decrease on the 3rd and 10th days after MCAo. These results suggest stroke influences myelination not only in ischemic core but also in distant structures.*

Введение. Сосудистые заболевания мозга занимают второе место среди ведущих причин смертности после ишемической болезни сердца [1]. Основное внимание при изучении ишемического инсульта уделяется его влиянию на нейроны, в то же время это заболевание поражает абсолютно все типы клеток мозга, в том числе и олигодендроциты, формирующие миелиновую оболочку - компонент, крайне важный для нормального функционирования нервной системы. Целью данного исследования было изучение изменения степени миелинизации различных структур белого и серого вещества после моделирования локальной ишемии головного мозга.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводился на 15 половозрелых самцах крыс линии *Sprague-Dawley* (масса 250-270 г). Модель ишемического инсульта создавалась путем обратимой окклюзии срединной церебральной артерии (*middle cerebral artery occlusion, MCAo*) [2]. В левую внутреннюю сонную артерию вводился нейлоновый филамент с силиконовым наконечником (*Docol, USA*), который перекрывал кровоток в *MCA*. Ишемический эпизод начинался с момента введения филамента к *MCA* и продолжался 1 час, после чего филамент извлекался. Операция осуществлялась под изофлурановым наркозом (1,5-2% изофлуран в кислороде). Температура тела животного в течение операции поддерживалась на уровне $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. После операции животные были случайным образом

поделены на три экспериментальные группы: 1 сутки, 3 суток и 10 суток. По истечении указанного срока животным под эфирным наркозом проводилась транскардиальная перфузия 4% параформальдегидом. Мозг извлекался, проводилась криопротекция в 10% и 20% растворах сахарозы и заморозка в парах жидкого азота.

Для оценки миелинизации после моделирования ишемического инсульта получали срезы мозга толщиной 10 мкм на криотоме *HM525 (Termoscientific, Germany)*, которые затем окрашивались красителем *Luxol Fast Blue (LFB)* для выявления миелина. Микрофотографии срезов, полученные на микроскопе *Axiolmager Z2 (Carl Zeiss, Germany)*, обрабатывали с помощью программы *ImageJ*. Для исследования были определены несколько структур белого (мозолистое тело *corpus callosum, cc*; передняя комиссура *commissura anterior, ca*; внутренняя капсула *internal capsula, ic*) и серого (стриатум *caudoputamen, cp*; дорзальная (моторная) кора *cortex dorsalis, cxd*; вентральная (пириформная) кора *cortex ventralis, cxv*; таламус *thalamus, thal*) вещества, а также зона ишемического поражения (*lesion, L*), для каждой из которых были выбраны регионы интереса (*region of interest, ROI*), в пределах которых оценивалась оптическая плотность (ОП) окрашивания *LFB*, нормированная по фону. В качестве контроля использовали контралатеральное полушарие, ОП которого принимали за 100%. Статистическая обработка данных проводилась в программе *STATISTICA 10*, значимость различий между полушариями оценивали с помощью критерия χ^2 , статистически значимыми принимали различия с $p < 0,05$.

Результаты. Результаты представлены на рисунках 1 и 2. Как и ожидалось, ишемия привела к снижению содержания миелина в самом очаге поражения ($p < 0,001$) на всех сроках наблюдения, однако при этом ОП *LFB* в зоне *cp*, прилегающей к зоне поражения, значимо увеличилась в 1 сутки после моделирования инсульта.

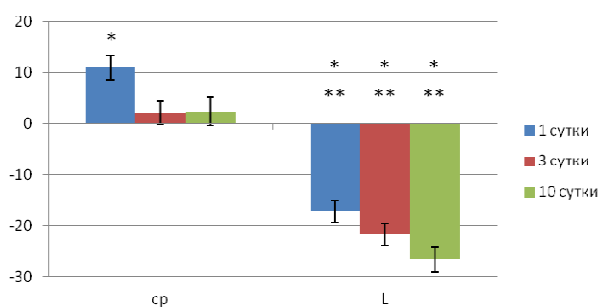


Рис. 1. Изменения миелинизации в зоне ишемического поражения (*lesion, L*) и в *caudoputamen* пораженного полушария (*cp*) относительно контрольного полушария, выраженные в процентах. Средние \pm стандартная ошибка среднего. Значимые различия между полушариями: * - $p < 0,05$, *** - $p < 0,001$

В структурах, не затронутых ишемией напрямую, также наблюдались изменения миелинизации (Рис. 2). Для структур белого вещества на 1 сутки наблюдалось значительное снижение содержания миелина в *cc* и *ca*, которое сохранялось в *cc* и на 3 сутки. На 10 суток в этих структурах изменений не наблюдалось, однако в *ic*, наиболее отдаленной от зоны инсульта, содержание миелина значимо увеличивалось (Рис. 2).

В структурах серого вещества, за исключением *thal* (наиболее удаленной от зоны ишемического поражения структуры), наблюдается как повышение миелинизации (*cxd* на 1 сутки, $p<0,05$; и *cxv* на 1 и 3 сутки после операции, $p<0,01$ и $p<0,001$ соответственно), так и снижение этого показателя (*cxd* на 3 и 10 сутки, $p<0,01$ и $p<0,05$ соответственно) относительно контроля (Рис. 2). Очевидно, изменения степени миелинизации структуры с течением времени может говорить о перераспределении миеллина после ишемического воздействия. Причем в структурах серого вещества скорость и/или величина этого перераспределения могут быть более выражены за счет большего содержания воды.

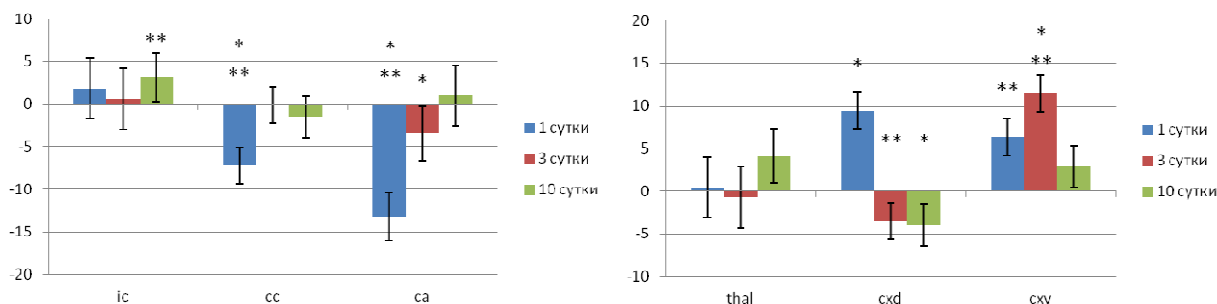


Рис. 2. Изменения миелинизации структур белого (слева) и серого (справа) вещества вне зоны ишемического поражения после моделирования ишемического инсульта относительно контрольного полушария, выраженные в процентах. Обозначения: внутренняя капсула (*ic*), мозолистое тело (*cc*), передняя комиссура (*ca*), таламус (*thal*), дорзальная (моторная) кора (*cxd*), вентральная (пириформная) кора (*cxv*). Средние \pm стандартная ошибка среднего. Статистическая значимость различий между полушариями: * - $p<0,05$, ** - $p<0,01$, *** - $p<0,001$

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в различных структурах головного мозга, даже не попавших под прямое действие ишемии, происходят изменения степени миелинизации, величина и направленность которых зависит от разных факторов: удаленность от очага ишемии, исходная степень миелинизации (белое или серое вещество). Возможными причинами этого может служить плотность вещества в конкретной структуре, процентное содержание воды, а также другие, менее очевидные факторы.

Благодарность. Автор выражает благодарность Аточину Д.Н. за помощь в реализации модели ишемического инсульта, Мустафиной Л.Р. за проведение гистологического окрашивания тканей. Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-45-00040).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 10 ведущих причин смерти в мире: информ. бюл. ВОЗ № 310. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/ru/>. - 4.10.2016.
2. Jackman, K., Kunz, A., Iadecola, C. Modeling Focal Cerebral Ischemia In Vivo. Neurodegeneration: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology. - NY: Springer Science+Business Media, LLC, 2011. – pp. 195-209.