

Методы обработки изображений для анализа морфологии астроцитов

Научный руководитель – Браже Алексей Рудольфович

Максимов Ярослав Михайлович

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биофизики, Москва, Россия

E-mail: yaroslavmax@mail.ru

Астроциты участвуют в регуляции синаптогенеза, обеспечении работы и пластичности синапсов, а также выполняют трофическую функцию и задействованы в нейро-сосудистом сопряжении. В настоящее время становится понятным, что астроциты морфологически пластичны, их структура меняется вместе с локальным состоянием нервной ткани, что наблюдается, например, при развитии эпилепсии, ишемии и даже на фоне циркадных ритмов. В случаях периодического большого выброса нейромедиатора в пространство синаптической щели астроциты не размножаются, но увеличивается количество ветвлений отростков клеток, на которых происходит реабсорбция нейромедиаторов и высвобождение сигнальных молекул самими астроцитами[2]. Также увеличение охвата поверхностью упрощает выполнение трофической функции. Изменения структуры могут затронуть такие параметры как количество и размеры отростков разного уровня, характер ветвления, анизотропия пространственного домена, занимаемого астроцитом.

Для изучения морфологии астроцитов применяется анализ их изображений, полученных из окрашенных срезов гиппокампа мышей, с применением конфокального микроскопа. Для визуализации клеток применяется окрашивание флуоресцентными красителями семейства Alexa, вводимыми через патч-пипетку, а также иммуногистохимическое окрашивание. Трёхмерные изображения представляют собой стопки (z-стеки) по ~ 70 фотографий размером 512×512 пикселей с шагом около $0.1-0.2$ мкм/пиксель по осям X, Y и ~ 2 мкм/плоскость по оси Z. При анализе используются подходы, совмещающие традиционный анализ по Шоллю (подсчет количества отростков на разном расстоянии то сомы)[1] и многомасштабный структурный анализ изображений, основанный на расчете матриц Гессе[3]. Для облегчения сегментации отростков астроцита используется анизотропная диффузионная фильтрация в каждом изображении, после чего производится проекция всего стека вдоль оси Z на плоскость. Далее рассчитываются структурные показатели как функция расстояния до тела клетки. Кроме этого, оценивается общая форма астроцитарного домена и поляриность расположения сомы относительно границ клетки.

В результате тестирования метода выявлены изменения в количестве и размерах астроцитарных отростков гиппокампа мышей в зависимости от особенностей диеты и в пилокарпиновой модели эпилепсии. Так астроциты мышей, живших на диете с ограничением калорий, имели большее ветвление и, предположительно, больший астроцитарный охват синапсов, а также больший охват кровеносных сосудов для усиления трофической функции.

Источники и литература

- 1) O'Neill KM1, Akum BF2, Dhawan ST2, Kwon M2, Langhammer CG2, Firestein BL2. (2015) Assessing effects on dendritic arborization using novel Sholl analyses. *Front Cell Neurosci.* Jul 30;9:285.eCollection 2015.
- 2) Verkhratsky A, Nedergaard M. *Physiology of Astroglia.* *Physiol Rev* 98: 239–389, 2018. Published December 13, 2017