

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра физиологии человека и животных

ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВАЦИИ ЛИМФАТИЧЕСКОГО ТОКА В МОЗГЕ ОТ
ПРОНИЦАЕМОСТИ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 421 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Дуарте Торреса Эрика Николаса

Научный руководитель:

д.б.н, доцент



О.В Семячкина-Глушковская

Зав. кафедрой:

д.б.н, доцент



О.В Семячкина-Глушковская

Саратов 2019

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении двух веков существовала догма об отсутствии лимфатических сосудов в центральной нервной системе, несмотря на тот факт, что прозрачные сосуды в оболочках мозга под названием лимфатические были описаны еще в 18 веке итальянский анатом Паоло Масканьи [1-3]. Три века спустя две независимые группы подтвердили результаты, показанные Масканьи [4,5]. В своих исследованиях, которые были проведены на грызунах и на человеческом мозге, было четко продемонстрировано наличие сети лимфатических сосудов в твердой мозговой оболочке, которая обладает всеми признаками лимфатического эндотелия. Повторное открытие менингеальной лимфатической системы (МЛС) возобновило интерес к изучению её функций в мозге [6-14].

В других исследованиях показывают наличие МЛС не только в твердой мозговой оболочке, но и в самом внутреннем слое, в мягкой мозговой оболочке. Расположение лимфатических сосудов в этом слое сделало бы их ведущими участниками в системе дренажа мозга, поскольку непосредственный контакт с периваскулярным и субарахноидальным пространством мог бы помочь СМЖ легче дренироваться по МЛС [15,16].

Периферическая лимфатическая система играет решающую роль в дренаже жидкости и очистке различных тканей от отходов, вирусов, бактерий и токсичных белков. Однако понимание работы мозговой лимфатики до сих пор является открытой проблемой. Изучение взаимосвязи между МЛС и мозговыми жидкостями, включая их роль в дренировании, клиренсе и восстановлении гомеостаза в головном мозге, остается плохо изученными.

Недавно было показано, что МЛС играют важную роль в клиренсе от бета-амилоида при болезни Альцгеймера [11]. Следует отметить, что бета-амилоид был первоначально выделен из мозговых оболочек пациентов, страдающих от Альцгеймера. Считалось, что его накопления являются причиной заболевания [17]. В последних исследованиях было обнаружено, что открытие гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) у пациентов и крыс с болезнью

Альцгеймера даже без фармакологического лечения снижает накопление бета-амилоида в мозге, запускает нейронную пластичность и предотвращает дефицит памяти [18-21]. В соответствии с этими данными можно делать вывод, что, вероятно, открытие ГЭБ стимулирует клиренс от бета-амилоида по МЛС, что может объяснить терапевтические эффекты открытия ГЭБ у пациентов с болезнью Альцгеймера. В свете этих новых выводов предполагается взаимосвязь между проницаемостью ГЭБ и функциональными изменениями МЛС.

Для того, чтобы проверить эту гипотезу была поставлена цель изучить у здоровых самцов мышей изменения МЛС после открытия ГЭБ.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Проанализировать экстравазацию *Evans Blue*-альбумина (ЕВС) и FITC-декстрана из церебральных сосудов в ткани мозга при звуковом (незначительном) и фотодинамическом (сильном) повышении проницаемости ГЭБ с применением спектрофлуориметрического анализа и метода конфокальной микроскопии, соответственно.

2. Визуализировать клиренс тканей мозга от TRITC-декстрана по МЛС мягкой мозговой оболочки после открытия ГЭБ, вызванного фотодинамическим воздействием (ФДВ).

3. Пронаблюдать за изменениями в МЛС, находящихся в мягкой мозговой оболочке, с помощью иммуногистохимического анализа после легкого и значительного открытия ГЭБ, вызванного ПЗ и ФДВ соответственно.

4. Измерить объем спинномозговой жидкости, которая накапливается в цистерне магны после легкой и значительной фильтрации из ГЭБ

5. Пронаблюдать накопление жидкости вокруг сосудов головного мозга с использованием гистологического анализа.

Основная часть

Открытие присутствия лимфатических сосудов в мозговых оболочках, несомненно, является одним из самых важных обнаружений, сделанных за последние три года в научном сообществе, которое вызвало достаточно дискуссий и сомнений. Это частично объясняется трудностями, возникающими при воспроизведении результатов, технической сложностью, отсутствием широко признанных коммерческих маркеров для четкой идентификации лимфатических сосудов. Все это препятствует воспроизведению исследований и проверки научных данных в разных лабораториях.

Работа, выполненная двумя группами ученых, является основой для изучения менингеальной лимфатики. Луво и соавторы, используя специальные хирургические методы для удаления мозговых оболочек как у людей, так и у мышей, а также маркеры лимфатических сосудов показали, что его расположение находится в субарахноидальном пространстве вдоль венозных синусов. Аспелунд и соавторы, также получили аналогичные результаты, но в этот раз *in vivo* с использованием технологии истончения костей черепа для визуализации сосудов мозга с помощью двухфотонной микроскопии. Эта работа показала, что только в районе поперечного синуса головного мозга имеется наличие клапанов, а размер и разветвление лимфатических сосудов выше, чем в других областях мозга.

Кроме того, обеим рабочим группам удалось показать функциональную взаимосвязь лимфатики, представленной как в оболочках мозга, так и на периферии.

Аспелунд и соавторы, на модели трансгенных мышей K14-VEGFR3-IgTG, у которых не развиваются лимфатические сосуды, продемонстрировал накопление красителя в глубоком лимфоузле после введения его в паренхиму головного мозга. Это означает, что он выполняет функцию первой анатомической «станции» выхода спинномозговой жидкости из мозга. Лигатура в лимфатических сосудах в верхней части глубокого

лимфатического узла приводит к накоплению красителя в мозговой ткани, препятствуя его выходу из церебральной паренхимы.

Вышеперечисленные данные свидетельствуют о тесной взаимосвязи между менингеальными и периферическими лимфатическими сосудами.

Материалы исследования

В эксперименте использовали 256 взрослых особей белых беспородных мышей с диапазоном веса 20 – 25 г. Животных содержали в стандартных лабораторных условиях с доступом к пище и воде *ad libitum*. Все процедуры выполнялись в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных». Протокол эксперимента был утвержден Комитетом по уходу и использованию лабораторных животных при Саратовском государственном университете (Протокол № 7, 07.02.2018). Животных разделили на три группы:

- 1) контрольную - интактные взрослые особи (n=82)
- 2) группу ФДВ, включает мышей, обработанных методом ФДВ для открытия ГЭБ (n=82)
- 3) группу ПЗ, включает мышей, обработанных повторным звуком для открытия ГЭБ (n=82)

Дополнительно были еще 2 группы для проверки влияния анестезии на продукцию СМЖ:

- 1) Группа кетамин и ксилазина (n= 5)
- 2) Группа изофлурана (n=5)

Мыши содержали при 25 ± 2 ° С, 55% влажности и 12/12 часовом цикле свет/темнота.

Методы исследования

Протокол фотодинамического воздействия [12]

Мыши были анестезированы 2% изофлураном при 1 л / мин N_2O/O_2 – 70:30 и фиксированы в стереотаксической рамке. ФДВ проводили через 30

минут после внутривенного введения 5-аминолевулиновой кислоты (5-ALA, ALASENS, Niopik Inc., Россия, 20 мг / кг). Эпикраниум был обнажен теменно-затылочным разрезом по средней линии кожи. С использованием микрохирургического метода надкостница была отеснена назад, и бипариетальные парасагиттальные трепанации в форме пазов (2 × 2 мм) были выполнены с помощью микродрели (Craniotome Drill, Aesculap Inc, Пенсильвания, США), сопровождаемой непрерывным орошением с солевым раствором, чтобы предотвратить нагрев ткани. Особое внимание было уделено тому, чтобы избежать проникновения твердой мозговой оболочки.

Для облучения был использован мощный красный светодиод непрерывного действия (XPeBRD-L1-0000-00901, CREE, Inc., Дарем, Северная Каролина, США), он излучает выходную мощность до 1 Вт с максимальной длиной волны 635 нм, есть возможность контролировать плотность мощности излучаемого света в диапазоне 20-200 мВт/см² с шагом 10 мВт/см². Спектральная ширина излучаемого света при полной ширине на половине максимума (FWHM) интенсивности составляла 30 нм.

Мышинный мозг был облучен при постоянной плотности мощности 40 мВт/см² и времени воздействия 375 с, что позволит добиться световой дозы 15 Дж/см². Нагревание ткани головного мозга, вызванное воздействием света, контролировалось с помощью регистратора данных термопары (Pico Technology, USB TC-08, Cambridgeshire, UK). Повышение температуры не превышало 2°C выше базальной температуры мозга (28°C) для выбранной дозы облучения.

Протокол звукового приложения

Для получения звука (100 дБ, 370 Гц) использовался преобразователь звука (100 дБ, 7А, 12 В, ПАО «Авто ВАЗ», Тольятти, Россия). Уровень звука измеряли непосредственно в клетке животных с животными с помощью измерителя уровня звука (Мегеон 92130, -Россия). Длительность звука в прерывистом режиме составляла 2 часа: 60 с – звук и 60 с – пауза. Открытие

ГЭБ по звуку было проведено у бодрствующих мышей, свободно передвигающихся в клетке.

Оценка проницаемости ГЭБ

Для того, чтобы проанализировать проницаемость ГЭБ в корковой области для молекул с высокой молекулярной массой, были использованы два метода:

- 1) Спектрофлуориметрический анализ экстравазации комплекса ЕВ-альбумин 68,5 кДа;
- 2) Конфокальная визуализация экстравазации FITC-декстрана 70 кДа [67-69].

Мышей помещали на нагревательную платформу для поддержания температуры тела на всех этапах экспериментов. 1 ч после ПЗ/ФДВ вмешательства, ЕВС вводили в хвостовую вену под наркозом (2% изофлурана при 1 л / мин N_2O/O_2 - 70:30). Он циркулировал в крови в течение 30 мин в соответствии с рекомендованным протоколом [69]. В конце времени циркуляции мышей убивали декапитацией, их мозг быстро собирали и помещали на лед (во время сбора крови антикоагуляция не использовалась).

Подробный протокол выделения и визуализации комплекса синего альбумина Эванса был опубликован Wang et al. [69]. Вкратце, образцы крови были центрифугированы при $10.000\times g$ (в течение 20 минут). Перед удалением головного мозга, мозг был перфузирован с 0,9% физиологическим раствором, чтобы вымыть оставшийся краситель в мозговых сосудах. Изолированный мозг разрезали на маленькие кусочки и инкубировали с 0,9% физиологическим раствором (1: 3) в течение 60 минут, чтобы удалить растворимые вещества. Затем растворы были центрифугированы при $10.000\times g$ в течение 10 минут для осаждения нерастворенных частей. Супернатанты, которые содержали плазму или растворенные вещества головного мозга, были обработаны 50% трихлоруксусной кислотой - ТСА (1: 3). Повторно образцы центрифугировали при $10.000\times g$ в течение 20 минут для удаления выпавших в осадок молекул. Конечные супернатанты были инкубированы в 95% этаноле для увеличения

оптических сигналов для спектрофлуориметрического анализа (620 нм / 680 нм, Agilent Cary Eclipse, Agilent, США). Была создана стандартная калибровочная кривая для расчета концентрации ЕВС (мкг на г тканей).

Через 1 ч после вмешательства ПЗ/ФДВ, FITC-декстран вводили внутривенно (4 мг / 25 г мыши, 0,5% раствор в 0,9% физиологическом растворе, Sigma) и ждали 2 минуты. Затем мыши были обезглавливаны, далее мозги быстро извлекали и фиксированы в 4% параформальдегиде в течение 24 часов, после чего делали срезы толщиной 50 мкм на вибраторе (Leica VT 1000S Microsystem, Германия) и анализированы с помощью конфокального микроскопа TCS SP5 (Leica-microsystems, Германия). Были получены приблизительно 8–12 срезов на одно животное из областей коры и подкорка (исключая гипоталамус и сосудистое сплетение), которые после анализировались.

Количественную оценку проницаемости ГЭБ для FITC-декстрана проводили микроскопическим методом на конфокальном микроскопе Leica SP-8 с фотографическими изображениями и последующей обработкой фотографий в программе ImageJ v1.43 (США). Общая площадь флуоресцентной интенсивности FITC-декстрана была считана с 10 полей зрения. Все измерения были статистически обработаны, стандартное отклонение не превышает 3%.

Гистологический анализ тканей головного мозга

После экспериментов все мыши были декапитированы спустя 1 ч после открытия ГЭБ с ПЗ или ФДВ. Образцы мозга фиксировались в 10% забуференном нейтральном формалине, затем были помещены в парафин, разрезаны (4 мкм) и окрашены гематоксилином и эозином. Гистологические срезы были оценены с помощью световой микроскопии с использованием системы медицинского анализа цифровых изображений Mikrovizor μ Vizo-103 (ЛОМО, Россия).

Сбор СМЖ из цистерны магна

Мышей держали под ингаляционной анестезией 2% изофлураном при 1 л / мин N_2O/O_2 - 70:30. Кожа шеи и головы была выбрита. Мышь затем была помещена на стереотаксический инструмент. Хирургическое место было стерилизовано 70% этанолом, и сагиттальный разрез кожи был сделан ниже затылка. Подкожная ткань и мышцы были отделены щипцами. Мышь была положена так, что голова образовала угол приблизительно 135° с телом. Стекланную капиллярную трубку (боросиликатное стекло, В100-75-10, внутренний диаметр около 0,3 мм) вставляли в цистерну магна через твердую мозговую оболочку, латерально к задней спинной артерии без какого-либо разреза в этой области. После описанных манипуляций собирали СМЖ, текущую в капиллярную трубку, которая была подключена к полиэтиленовому катетеру (наконечник PE-10, Scientific Commodities Inc., Лейк-Хавасу-Сити, Аризона), а другой конец катетера был подключен к Гамильтону (25 мкл с 34- G игла, Bonaduz, Швейцария) для измерения объема СМЖ. Полученный образец не был загрязнен эритроцитами.

Объем СМЖ зависит от метода открытия ГЭБ. Средний объем жидкости составлял около 9 мкл (3-15 мкл). Вся процедура занимала 10 минут на мышь, включая анестезию.

Сбор СМЖ проводился в контрольной группе, которая включает мышей с интактным ГЭБ, и через 1 ч после применения ПЗ/ФДВ. После сбора СМЖ мыши были усыплены передозировкой диоксида углерода (ZoonLab GmbH, Германия).

Чтобы избежать влияния анестезии на продукцию СМЖ, было проведено исследование изменения объема СМЖ у нормальных мышей ($n = 5$ в каждой группе) через 1 ч после введения кетамина (100 мг / кг) и ксилазин (10 мг / кг) в 1-й группе или после использования изофлурана (2% изофлуран при 1 л / мин N_2O / O_2 - 70:30) во 2-й группе. Не были обнаружены какие-либо изменения в объеме СМЖ, собранного из цистерны магна между двумя группами ($3,9 \pm 0,3$ мкл против $3,4 \pm 0,7$ мкл).

Иммуногистохимическая визуализация менингеальной лимфатической системы

Для визуализации менингеальной лимфатической системы использовался протокол для иммуногистохимического (ИГХ) анализа с маркерами LYVE1 (eBioscience, Сан-Диего, США). Образцы тканей фиксировали формальдегидом и после обычной обработки помещали в парафиновый блок. Затем образцы разрезали на срезы размером от 3 до 5 мкм; срезы были прикреплены к предметным стеклам из поли-L-лизина; высушены при 37°C в течение 24 часов. последовательно инкубировали в ксилоле (три раза по 3 минуты каждый), 96% этаноле (три раза по 3 минуты каждый), 80% этаноле (два раза по 3 минуты каждый) и дистиллированной воде (три раза по 3 минуты каждый).

Реакцию ИГХ визуализировали с помощью набора REVEAL-BiotinFree Polyvalent diaminobenzidine (Spring Bioscience). Эндогенные пероксидазы блокировали путем добавления 0,3% перекиси водорода к срезам в течение 10 минут с их последующей промывкой в физиологическом растворе с фосфатным буфером (PBS). Извлечение антигена проводили с использованием микроволновой печи в этилендиаминтетрауксусном кислом буфере pH 9.0. Неспецифическое окрашивание фона блокировали в PBS, содержащем 0,5% бычьего сывороточного альбумина и 0,5% казеина в течение 10 минут, после чего срезы промывали в PBS на 5 мин.

Далее срезы инкубировали во влажной камере с разведенным анти-LYVE1 (eBioscience, Сан-Диего, США; 1: 1000) в течение 1 часа при комнатной температуре. После этого промывали срезы в PBS и инкубировали с антикроличьим иммуноглобулином козы в течение 15 минут, снова промывали в PBS. Затем контрастно окрашивали гематоксилином в течение 1 минуты, снова промывали водой, дегидратировали в градуированных спиртах (три раза, 3 мин каждый), а затем в ксилоле (три раза по 3 минуты каждый) и наконец, встраивали в канадский бальзам.

Протокол для изучения клиренса TRITC-декстрана через менингеальную лимфатическую систему после его пересечения через открытый ГЭБ

Экспериментальная процедура была следующей, через 1 ч после ФДВ животным внутривенно вводили TRITC-декстран 70 кДа (1 мг / 25 г мыши, 0,5% раствор в 0,9% физиологическом растворе, Sigma-Aldrich, St. Louis, США) и ждали в течение 15 минут. Данное время было выбрано, чтобы успела пройти экстравазация TRITC-декстрана (обычно это занимает всего 2 минуты) и для его очистки из паренхимы мозга в менингеальные лимфатические сосуды.

Для маркировки менингеальной лимфатической системы после введения TRITC-декстрана мышам в цистерну magna вводилось 5 мкл Alexa488 с конъюгированными анти-LYVE-1 антителами (ALY7, eBioscience, Сан-Диего, США). После декапитации мозг животного быстро убирали и фиксировали в 4% PFA в течение 24 часов. Спустя сутки разрезали их на срезы толщины 50 мкм на вибраторе (микросистема Leica VT 1000S) и анализировали с помощью конфокального микроскопа (Olympus FV10i-W, Olympus, Japan). Приблизительно 10 срезов на животное были визуализированы.

Статистический анализ

Результаты были представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего. Отличия от исходного уровня в той же группе были оценены с помощью теста Вилкоксона. Межгрупповые различия оценивались с использованием теста Манна-Уитни и ANOVA-2 (последующий анализ с ранговым тестом Дункана). Уровни значимости были установлены на уровне $p < 0,05$ для всех анализов.

Результаты

Изменения в менингеальных лимфатических сосудах мягкой мозговой оболочки после открытия ГЭБ

На рисунке 1, В и Б показывают типичные примеры легкого и значительного открытия ГЭБ для FITC-декстрана 70 кДа. рисунок 1 Г показывает количественную оценку проницаемости ГЭБ для FITC-декстрана.

Оба метода открытия ГЭБ вызывали утечку ЕВС, что сопровождалось повышением уровня красителя в тканях головного мозга ($8,07 \pm 0,01$ мкг/г тканей, $p < 0,001$ в группе ПЗ и $19,71 \pm 0,03$ мкг/г тканей, $p < 0,001$ в группе ФДВ по сравнению с $0,85 \pm 0,01$ мкг/г тканей в контрольной группе). Таким образом, уровень ЕВС в тканях мозга после ФДВ-открытия ГЭБ был в 2,5 раза выше по сравнению с ПЗ-открытием ГЭБ.

Данные ИГХ показали, что после открытия ГЭБ (через 1 ч после применения ПЗ или ФДВ) некоторые менингеальные лимфатические сосуды были расширены. Сильнее это выражалось в ФДВ группе (рисунок 1 Ё) по сравнению с ПЗ группой (рисунок 1 Е) ($14,31 \pm 0,07$ мкм в группе ФДВ и $10,02 \pm 0,04$ мкм. $P < 0,001$ в группе ПЗ против $5,73 \pm 0,03$ мкм в контрольной группе; $p < 0,001$ - между группами и $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой).

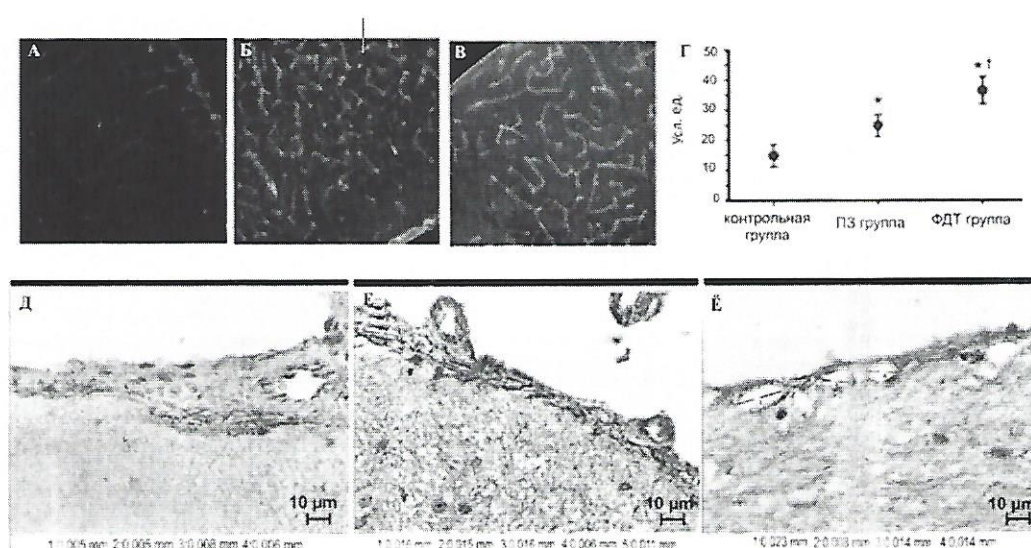


Рисунок 1 - Конфокальная визуализация экстравазации FITC-декстрана и ИГХ анализ МЛС до и после открытия ГЭБ

Клиренс от ТРИТС-декстрана по МЛС после его пересечения через открытый ГЭБ

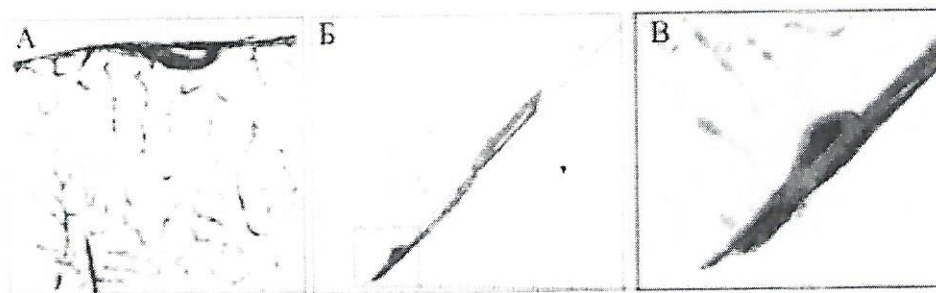


Рисунок 2 - Конфокальная визуализация клиренса MLV от TRITC-декстрана после ФДВ-индуцированного открытия ВВВ

Рисунок 2 показывает пример конфокальной визуализации МЛС до (А) и через 1 ч после (В) открытия с применением ГЭБ. В контрольной группе ТРИТС-декстран присутствовал только в головных микрососудах (красный цвет) и никогда не наблюдался в МЛС (зеленый цвет). После открытия ГЭБ с помощью ФДВ, трассер заполнил некоторые МЛС в мягкой мозговой оболочке, доказывая клиренс ТРИТС-декстрана по МЛС после его пересечения открытого ГЭБ. Присутствие ТРИТС-декстрана в МЛС наблюдалось у всех мышей (7 из 7) из группы ФДВ и 5 из 7 мышей из группы ПЗ. Одно из возможных объяснений состоит в том, что для этой группы 15 минут было недостаточно для клиренса ТРИТС-декстрана.

Открытие ГЭБ связано с накоплением мозговой жидкости в цистерне магна и периваскулярном пространстве

На рисунке 3, А-Б - морфологическая визуализация тканей головного мозга до (А) и после (В и Б) открытия ГЭБ по ПЗ и ФДВ соответственно, значительное накопление жидкости вокруг сосудов головного мозга наблюдалось в ФДВ-группе, но не в ПЗ-группе.

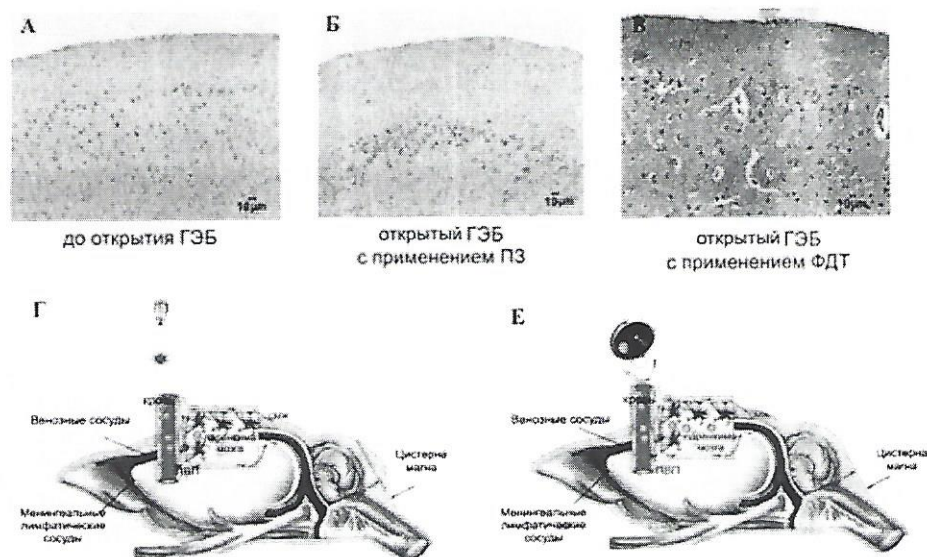


Рисунок 3 - Гистологический анализ тканей головного мозга и схематическое изображение изменений объема мозговых жидкостей в цистерне магна при открытии ГЭБ с применением ФДВ и ПЗ

На рисунке 3, А-В - морфологическая визуализация тканей головного мозга до (А) и после (В и Б) открытия ГЭБ по ПЗ и ФДВ соответственно, значительное накопление жидкости вокруг сосудов головного мозга наблюдалось в ФДВ-группе, но не в ПЗ-группе; Г и Е схематично показывают увеличение объема мозговой жидкости в цистерне магна после открытия ГЭБ, которое более выражено в случае значительного открытия ГЭБ в ФДВ-группе (Г) по сравнению с умеренным открытием ГЭБ в ПЗ-группе (Е). Стрелки показывают возможное направление мозговых жидкостей от места открытия ГЭБ через ПВП в субарахноидальное пространство и впоследствии в МЛС [14].

Таблица 1 – Собранный объем мозговых жидкости из цистерны магна до и после открытия ГЭБ

Группа	Объем мозговых жидкости
Контроль	3.3 ± 0.3 мкл
ПЗ	5.3 ± 0.8 мкл*
ФДВ	15.1 ± 0.7 мкл**

Примечание - * - различия достоверны ($p < 0,05$); ** - ($p < 0,001$) относительно контроля

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результатом, полученным в ходе исследования, является доказательство физиологической взаимосвязи, которая поддерживает открытие ГЭБ и функциональные изменения в МЛС. Лимфатические сосуды, расположенные в мягкой мозговой оболочке, расширяются во время открытия ГЭБ; более выраженные результаты наблюдаются при использовании ФДВ из-за более значительного увеличения проницаемости, тогда как среднее открытие, вызванное методом ПЗ, не приводит к такому же ответу. Расширение МЛС связано с их дренажной функцией, это позволяет проходить большему объему жидкости в лимфатическое внутрисосудистое пространство из паренхимы, что не только приводит к восстановлению гомеостаза жидкости в головном мозге, но также осуществляет процесс клиренса и дренирования внеклеточной жидкости вместе с веществами, которые являются продуктами клеточного метаболизма мозга.

Эти результаты открывают новые фундаментальные знания о физиологии менингеальной лимфатики и дают важную информацию для понимания путей восстановления гомеостаза мозга после событий, связанных с нарушением ГЭБ. По результатам вполне понятно, что описанные методы открытия ГЭБ являются новыми стратегиями для стимуляции функции МЛС как терапевтического инструмента в лечении неврологических заболеваний, связанных с накоплением внеклеточной жидкости, метаболитов и токсинов в паренхиме головного мозга. Это исследование может помочь объяснить результаты, полученные в работах других групп ученых, которые предполагают, что ГЭБ уменьшает отложение бета-амилоида в паренхиме мозга и предотвращает ухудшение памяти у пациентов с болезнью Альцгеймера.

ВЫВОДЫ

1. Звуковое воздействие (100 дБ, 370 Гц, длительность 2 часа: 60 сек – звук и 60 сек - пауза) оказывало менее сильное повышение проницаемости ГЭБ к красителю Evans Blue по сравнению с фотодинамическими эффектами;
2. Диаметр менингеальных сосудов изменяется в соответствии со степенью повышения проницаемости ГЭБ: более сильное изменение ГЭБ при фотодинамических эффектах приводит к более выраженному увеличению диаметра менингеальных лимфатических сосудов, чем при звуковом воздействии на ГЭБ;
3. Открытие ГЭБ сопровождается увеличением объема спинномозговой жидкости в цистерне magna, что более выражено в случаях сильного повышения проницаемости ГЭБ по сравнению со слабыми изменениями в барьерной функции мозга;
4. Открытие ГЭБ сопровождается немедленным очищением тканей мозга от соединений, проникающих через открытый ГЭБ, по менингеальным лимфатическим сосудам.

