

## ЭПИПЛЕКСУСНЫЕ И ПАРЕНХИМАТОЗНЫЕ МАКРОФАГИ НЕРВНОЙ ТКАНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ УШИБЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ

Плехова Н.Г., Зиновьев С.В., Просекова Е.В., Радьков И.В.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Владивосток, Россия

**Резюме.** Нейровоспаление признается частью патогенеза при внутричерепной травме (ЧМТ), а именно при ушибе или сотрясении мозга. Учитывая высокое распространение ЧМТ в общей заболеваемости, возникает необходимость нозологической верификации нейровоспаления при диагностике легкой и средней степени тяжести. Исследование иммунной регуляции кровотока при ЧМТ, в том числе роли клеток Колмера в патогенезе нейровоспаления, находится на стадии сбора фактических данных и требует адекватного экспериментального изучения. Цель исследования: изучить состояние клеток Колмера сосудистых сплетений желудочков головного мозга при экспериментальном ушибе головного мозга легкой степени (УГМЛс). УГМЛс воспроизведен на крысах самцах Вистар с применением модели падающего груза весом 200 гр. Для оценки экспрессии рецептора CD45 клетками головного мозга (ГМ) проводилось иммуногистохимическое исследование. В острый период после УГМЛс в тканях ГМ отмечался спазм кровеносных сосудов и перичеселлюлярный отек. В паренхиме неокортекса и на поверхности сосудистых сплетений желудочков ГМ обнаружена экспрессия рецепторов цитодифференцировки CD45, характерных для гемопоэтического пула клеток. Эти данные указывают на участие эпиплексусных и паренхиматозных макрофагов в выраженном перичеселлюлярном отеке ГМ. На 8-й день эксперимента спазм кровеносных сосудов сохраняется, а перичеселлюлярный отек существенно ослабевает. Во всех отделах ГМ не выявляется инфильтрации лейкоцитами тканей и отсутствует экспрессия рецепторов CD45. Результаты нашего исследования подтверждают, что церебральный вазоспазм является тяжелым осложнением нейровоспаления после ушиба ГМ. Острое воспаление характеризуется последовательностью сосудистых изменений, проявляющихся развитием спазма сосудов, артериальной, венозной гиперемии и стаза. Венозная гиперемия характеризуется дальнейшим расширением сосудов, полнокровием ткани, феноменом краевого стояния лейкоцитов и их эмиграцией. Иннервация от подкорковых нейронов или локальных корковых интернейронов в отношении паренхиматозных артериол и корковых микрососудов, обеспечивает минимальный контакт и преимущественно нацелен на окружающие астроциты и др. В острый период УГМЛс воспалительный процесс подтверждается наличием в паренхиме и на поверхности эпендимы клеток Колмера с экспрессией рецепторов CD45. Это подтверждает воспалительные причины изменения тонуса пиаальных кровеносных сосудов, капилляров неокортекса и эпендимы, толщины субархноидального пространства. Другой причиной нейровоспаления является реакция астроцитов на травму ГМ.

**Ключевые слова:** нейровоспаление, ушиб головного мозга, макрофаги, эпиплексусные макрофаги, паренхиматозные макрофаги

### Адрес для переписки:

Плехова Наталья Геннадьевна  
ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный  
медицинский университет» Министерства  
здравоохранения РФ  
690002, Россия, г. Владивосток, пр. Острякова, 2.  
Тел.: 8 (914) 672-69-53.  
E-mail: Sinowev@mail.ru

### Address for correspondence:

Plekhova Natalia G.  
Pacific State Medical University  
690002, Russian Federation, Vladivostok, Ostryakov ave., 2.  
Phone: 7 (914) 672-69-53.  
E-mail: Sinowev@mail.ru

### Образец цитирования:

Н.Г. Плехова, С.В. Зиновьев, Е.В. Просекова,  
И.В. Радьков «Эпиплексусные и паренхиматозные  
макрофаги нервной ткани при экспериментальном  
ушибе головного мозга легкой степени» // Российский  
иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 2. С. 189-194.  
doi: 10.46235/1028-7221-1009-EPO

© Плехова Н.Г. и соавт., 2021

### For citation:

N.G. Plekhova, S.V. Zinoviev, E.V. Prosekova, I.V. Radkov  
“Epilexus phagocytes of nervous tissue in experimental brain  
contusion”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 2, pp. 189-194.  
doi: 10.46235/1028-7221-1009-EPO  
DOI: 10.46235/1028-7221-1009-EPO

## EPIPLEXUS PHAGOCYTES OF NERVOUS TISSUE IN EXPERIMENTAL BRAIN CONTUSION

Plekhova N.G., Zinoviev S.V., Prosekova E.V., Radkov I.V.

*Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation*

**Abstract.** Neuroinflammation is known to participate in pathogenesis of intracranial brain injury (TBI), e.g., brain contusion or concussion. In view of high overall prevalence of these conditions, there is a need for nosological verification of the mild- and moderate-severity neuroinflammation. Our research in immune regulation of blood flow in TBI, including a role of Kolmer cells in pathogenesis of neuroinflammation, is now at the stage of collecting research data and requires adequate experimental study. Purpose of our study was as follows: to assess the state of Kolmer cells in vascular plexus of brain ventricles in experimental model of mild traumatic brain contusion (mTBC). mTBC was reproduced in male Wistar rats using a model of a falling load weighing 200 g. Immunohistochemical study was performed in order to assess CD45 receptor expression on the brain cells. During acute period after mTBC, we observed constriction of blood vessels and pericellular edema of the brain tissues. Expression of CD45 cytodifferentiation receptors markers characteristic of the hematopoietic cell pools was found in parenchymal areas of neocortex and on the surface of choroid plexuses in brain ventricles. These data suggest participation of epiplexus and parenchymal macrophages in the pronounced pericellular edema of the brain. On the 8<sup>th</sup> day of observation, the spasm of the blood vessels persists, along with significantly weaker pericellular edema. In all the brain sections, leukocyte infiltration of tissues was not seen, and there was no expression of CD45 receptors, whereas increased number and size of nucleoli was found in the neurons. The results of our study confirm the role of cerebral vasospasm as a severe complication of neuroinflammation developing after mTBI. Acute inflammation is characterized by a series of vascular changes, manifesting by development of vasospasm, arterial, venous hyperemia and stasis. Venous hyperemia is characterized by further vasodilation, tissue plethora, the phenomenon of the marginal leukocyte stasis and their emigration, along with increased exudation processes. Innervation from subcortical neurons or local cortical interneurons to parenchymal arterioles and cortical microvessels provides minimal contact and predominantly targets the surrounding astrocytes and other cells. During acute period of mTBC, the inflammatory process is confirmed by the presence in parenchyma and on the surface of ependymal Kolmer cells and by expression of CD45 receptors. This finding points to inflammatory reasons for altered tone of pial blood vessels, capillaries of neocortex and ependymal areas, and changed depth of subarachnoid space. Response of astrocytes to the brain trauma could be another factor of neuroinflammation.

*Keywords: neuroinflammation, brain contusion, macrophages, epiplexus, phagocytes*

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) головного мозга (ГМ) является причиной воспаления органов центральной нервной системы при ряде заболеваний, таких как энцефалит и спинальный архноидит [5, 10]. Также выделяют интракраниальные осложнения ЧМТ воспалительного генеза [5]. Нейровоспаление признается частью патогенеза при внутричерепной травме, а именно при ушибе или сотрясении мозга [10]. Учитывая высокое распространение ЧМТ в общей заболеваемости, возникает необходимость нозологической верификации нейровоспаления при диагностике легкой и средней степени тяжести. Изменение тонуса и проницаемости кровеносных сосудов головного мозга (ГМ) это важный компонент воспалительного процесса. В оболочках ГМ присутствуют ноцицепторы и механорецепторные системы, которые отсутствуют в составе белого

и серого вещества, что затрудняет оценку механизмов нейровоспаления при ЧМТ [1, 8]. При нарушении кровотока в результате различных причин, в том числе ЧМТ, возникают деструктивные изменения нервной ткани с развитием локального воспаления, в реализации которого принимают участие все популяции фагоцитирующих клеток ГМ [10]. К последним, относятся поверхностные клетки сосудистых сплетений желудочков (эпиплексусные клетки, клетки Колмера), которые являются особой популяцией фагоцитов и отличаются от микроглии, происходящей из желточного мешка, костномозговым генезисом. Эти клетки фагоцитируют фрагменты цитоплазмы эпителиоцитов сосудистого сплетения, содержащие не утилизируемые вещества и поврежденные органеллы [4, 9]. Исследование иммунной регуляции кровотока при ЧМТ, в том

числе роли клеток Колмера в патогенезе нейровоспаления, находится на стадии сбора фактических данных и требует адекватного экспериментального изучения.

**Цель исследования** – изучить состояние клеток Колмера сосудистых сплетений желудочков головного мозга при экспериментальном ушибе головного мозга легкой степени.

## Материалы и методы

Эксперимент проводили на половозрелых крысах-самцах Wistar (200–250 г) в соответствии с положениями Хельсинкской декларации и рекомендациями Директивы Европейского сообщества (86/609 Г.С), дизайн исследования одобрен междисциплинарным этическим комитетом ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России (№ 3 от 20.09.2017 г.). Животные были распределены на 2 группы: 1 – контрольная, интактные животные (n = 10); 2 – животные с моделированием ЛЧМТ (n = 30) на 1-е сут (n = 10), 8-е (n = 10), 14-е (n = 10). Все потенциально болезненные вмешательства в проводимых экспериментах, а также эвтаназия осуществлялись под комбинированным инъекционным наркозом: золетил 0,003 мг/г (Virbac, Франция), ксиланит 0,008 мг/г (ЗАО «НИТА-ФАРМ», г. Саратов), раствор атропина сульфат 0,1% – 0,01 мл на 100 г. Для воспроизведения ушиба головного мозга легкой степени (УГМЛс) использовали модифицированную

модель падающего груза “weight-drop model” [2], адаптированную для взрослых крыс. Для нанесения УГМЛс применяли установку, включающую штатив с направляющей падение груза (масса 200 г) трубкой, который падает с высоты 1 м на затылочную область головы животного. Для гистологического исследования образцы головного мозга фиксировали в 4%-ном забуференном формалине, готовили микропрепараты по классической технологии с последующим окрашиванием по Нисслию и гематоксилин-эозином. Для иммуногистохимического исследования использовали неконъюгированные поликлональные кроличьи антитела к крысиному антигену CD45 (Invitrogen, США; 1:200). В качестве вторичных антител применяли поликлональные стрептовидиновые, конъюгированные с пероксидазой, и хромогенный субстрат для их выявления диаминобензидин (Spring Bio-Science Corporation, США). Препараты оценивали с помощью микроскопа CX41, оснащенного цифровой камерой (Olympus, Япония). Морфометрическую обработку изображений осуществляли с помощью программы NIS-Elements Imaging Software (Nikon, Japan). Статистический анализ результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft, США). Все значения представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего ( $M \pm m$ ). Данные по группам проанализированы с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА МАРКЕРОВ УШИБА ГОЛОВНОГО МОЗГА ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ**

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF MARKERS OF MILD BRAIN CONTUSION

Название маркеров Name of markers	Контроль. Интактные животные Control. Intact animal	1-е сутки после УГМЛс 1 <sup>st</sup> day after mTBC	8-е сутки после УГМЛс 8 <sup>th</sup> day after mTBC
Диаметр прекапилляров, мкм Precapillary diameter, $\mu\text{m}$	9,40±0,51	6,7±0,3**	7,50±0,34*
Диаметр капилляров, мкм Capillary diameter, $\mu\text{m}$	4,960±0,051	3,700±0,021**	4,00±0,05**
Диаметр посткапилляров, мкм Postcapillary diameter, $\mu\text{m}$	8,500±0,161	6,20±0,12**	7,40±0,14**
% гипохромных нейронов % of hypochromic neurons	5,200±0,583	40,40±1,53***	25,800±4,538*
% гиперхромных нейронов % of hyperchromic neurons	5,000±0,548	40,60±,52***	27,20±6,65***
% нормохромных нейронов % of normochromic neurons	89,800±0,917	19,00±11,38***	47,05±98,70***

Примечание. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – в сравнении с контрольной группой.

Note. \*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.05$ , in comparison with the control group.

## Результаты и обсуждение

При воспроизведении УГМЛс у животных отсутствовали летальные исходы и существенные двигательные расстройства. В острый период УГМЛс при микроскопическом исследовании ГМ в 70% случаев у животных в просвете третьего и боковых желудочков обнаружена десквамация эпендимоцитов с резко выраженным полнокровием и кровоизлияниями при диапедезе эритроцитов в полость желудочков. Это указывало на высокий риск развития кровоизлияний в желудочках ГМ при выбранном режиме моделирования ЧМТ. В острый период УГМЛс (до 3 суток) при исследовании некортекса отмечалась гипохромия и пикноз клеток нервной ткани, что указывало на их дистрофические изменения. По апикальной поверхности сосудистого сплетения эпендимы обнаружены уплощенные отростчатые эпиплексусные макрофагальные клетки Колмера. Эти данные указывают на иммунную составляющую патогенеза УГМЛс. В области перипеллюлярного и периваскулярного отека нервной ткани наблюдались CD45 позитивные клетки, характеризующие наличие паренхиматозных макрофагов гемопоэтического генеза. Также при исследовании хореидальной полоски боковых и третьего желудочков ГМ выявлены признаки экспрессии иммунных маркеров нейровоспаления. В ГМ контрольной и на 8-й день экспериментальной группы животных признаки экспрессии CD45 и лейкоцитарная инфильтрация его оболочек отсутствовали. Увеличение толщины субархноидального пространства и спадение просвета пиальных кровеносных сосудов с ишемизацией кортикального отдела микроциркуляторного русла ГМ у травмированных животных сохранялись длительный период наблюдения, тогда как количество нормохромных нейронов постепенно восстанавливалось. Обсуждение.

Результаты нашего исследования подтверждают, что церебральный вазоспазм является тяжелым осложнением нейровоспаления после ушиба головного мозга [6]. Причем, острое воспаление

характеризуется последовательностью сосудистых изменений, проявляющихся развитием спазма сосудов, артериальной, венозной гиперемии и стаза. Венозная гиперемия характеризуется дальнейшим расширением сосудов, полнокровием ткани, феноменом краевого стояния лейкоцитов и их эмиграцией с усилением процессов экссудации [9]. Иннервация от подкорковых нейронов или локальных корковых интернейронов в отношении паренхиматозных артериол и корковых микрососудов, к сожалению, обеспечивает минимальный контакт и преимущественно нацелен на окружающие астроциты [7].

## Заключение

Нами получены данные наличия на апикальной поверхности эпителиоцитов сосудистого сплетения CD45 позитивных клеток, округлой или звездчатой формы с длинными отростками, которые характеризуются как клетки Колмера [4, 9]. Причем, в результате травматического воздействия в ГМ отмечалась активация указанных клеток, которая сопровождалась увеличением их числа и приобретением округлой формы для эффективного фагоцитоза. Подобная активация клеток Колмера отмечается при наличии нейровоспалительной реакции, последствием которой является увеличение объема желудочков мозга [4, 9]. Достоверная динамика показателей альтерации нейронов и глии и наличие перипеллюлярного отека после ушиба головного мозга является одной из структурно-функциональных причин активации паренхиматозных макрофагов (микроглии) ГМ, тогда как функция эпиплексусных макрофагов (клетки Колмера) в настоящий момент остается недостаточно изученной [4, 9]. Наши данные показателя толщины субархноидального пространства модуляция процесса секреции и динамики ликвора после ушиба вызывает активацию эпиплексусных макрофагов, что, на наш взгляд, является одним из маркеров формирования нейровоспаления в тканях ГМ. Другой причиной нейровоспаления является реакция астроцитов на травму ГМ [3].

## Список литературы / References

1. Мотавкин П.А., Черток В.М. Иннервация мозга // Тихоокеанский медицинский журнал, 2008. Т. 3, № 33. С. 11-23. [Motavkin P.A., Chertok V.M. Brain innervation. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2008, Vol. 3, no. 33, pp. 11-23. (In Russ.)]
2. Радьков И.В., Плехова Н.Г., Дюйзен И.В., Зиновьев С.В., Барышев А.Н. Способ моделирования ушиба головного мозга легкой степени. Патент РФ № 2725287С1. 2020. Бюл. № 19. [Radkov I.V., Plekhova N.G., Dyuzhen I.V., Zinovyev S.V., Baryshev A.N. Method for simulating brain contusion of mild degree. Patent RU 2725287 C1, 2020, Bull. No. 19.]
3. Радьков И.В., Плехова Н.Г., Зиновьев С.В., Шуматов В.Б. Клетки врожденного иммунитета в патогенезе черепно-мозговой травмы // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 2. С. 480-482. [Radkov I.V., Plekhova N.G., Zinoviev S.V., Shumatov V.B. The innate immunity cells in the pathogenesis of

traumatic brain injury. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13, no. 2, pp. 480-482. (In Russ.)]

4. Brioschi S., Yingyue Zhou Y., Marco M. Brain Parenchymal and extraparenchymal macrophages in development, homeostasis, and disease. *J. Immunol.*, 2020, Vol. 204, no. 2, pp. 294-305.

5. Gean A.D., Fischbein N.J. Head trauma. *Neuroimaging Clin. N. Am.*, 2010, Vol. 20, no. 4, pp. 527-556.

6. Loret J.E., Zemmoura I., Daumas-Duport B., Buffenoir K., Paulus J., Hame O. Delayed post traumatic vasospasm leading to ischemia in a patient with mild traumatic brain injury. *J. Neurol. Disord. Stroke*, 2013, Vol. 1, no. 2, pp. 10-14.

7. Perretti M., Ahluwalia A. The microcirculation and inflammation: site of action for glucocorticoids. *Microcirculation*, 2000, Vol. 7, no. 3, pp. 147-161.

8. Petzold G.C., Murthy V.N. Role of astrocytes in neurovascular coupling. *Neuron*, 2011, Vol. 71, no. 5, pp. 782-797.

9. Wan Y., Hua Y., Garton H.J.L., Novakovic N., Keep R.F., Xi G. Activation of epileptus macrophages in hydrocephalus caused by subarachnoid hemorrhage and thrombin. *CNS Neurosci. Ther.*, Vol. 25, no 10, pp. 1134-1141.

10. Wofford K.L., Loane D.J., Cullen D.K. Acute drivers of neuroinflammation in traumatic brain injury. *Neural Regen. Res.*, 2019, Vol. 14, pp. 1481-1489.

---

**Авторы:**

**Плехова Н.Г.** — д.б.н., заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

**Зиновьев С.В.** — к.м.н., старший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

---

**Authors:**

**Plekhova N.G.**, PhD, MD (Biology), Head, Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

**Zinoviev S.V.**, PhD (Medicine), Senior Researcher, Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

**Просекова Е.В.** — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

**Prosekova E.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Department of Clinical Laboratory Diagnostics, General and Clinical Immunology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

**Радьков И.В.** — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Владивосток, Россия

**Radkov I.V.**, Junior Researcher, Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

---

Поступила 20.05.2021  
Принята к печати 17.06.2021

---

Received 20.05.2021  
Accepted 17.06.2021