

КЛЕТКИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

© 2019 г. И. В. Радьков, Н. Г. Плехова*, С. В. Зиновьев,
В. Б. Шуматов

*E-mail: pl_nat@hotmail.com

ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет
Минздрава РФ, Владивосток, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 11.03.2019

При экспериментальном моделировании черепно-мозговой травмы (ЧМТ) в тканях головного мозга проведено комплексное иммуногистохимическое исследование количественного содержания клеток врожденного иммунитета, экспрессирующих рецепторы CD45, CD14, CD16, CD11b и F4/80. Установлено, что количество CD16/11 позитивных макрофагов субпопуляции M1 увеличивалась в микроглии на 2-й день после ЧМТ и значительно повышалась до 8 суток. В мозолистом теле и ипсилатеральной области полосатого тела экспрессия CD16/11b также достигла максимума через 8 дней после ЧМТ и коррелировала с увеличением позитивной реакции на наличие эндотелиального антигена SMI71. Показаны существенные структурные преобразования нервной ткани при ЧМТ, и, сопряженный с нарушением проницаемости гематоэнцефалическим барьером, выход в нее периферических иммунных клеток. Доказаны дизрегуляторные изменения нейроиммунных связей при ЧМТ.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, клетки врожденного иммунитета, нейроиммунные связи

DOI: 10.31857/S102872210006937-5

Адрес: 690002 Владивосток, ул. Острякова д. 4, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Плехова Наталья Геннадьевна.
Тел.: 8 962 339 63 91 (моб.)

E-mail: pl_nat@hotmail.com

Авторы:

Плехова Н. Г., д.б.н., заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

Радьков И. В., аспирант Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

Зиновьев С. В., к.м.н., с.н.с. Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

Шуматов В. Б., д.м.н., профессор, ректор ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия.

Патологическое изменение головного мозга при черепно-мозговой травме (ЧМТ) разграничено во времени на две фазы: первичная или начальная, и ее последующая – вторичная, при которой развивается комплексный каскад патофизиологических и нейрохимических реакций.

Традиционно, считается, что центральная нервная система, отграниченная гематоэнцефалическим барьером (ГМБ), относится к органам иммунных привилегий. Тем не менее, в последние десятилетия установлено, что при травмах и воспалении иммунные клетки крови способны преодолевать ГМБ и проникать в паренхиму мозга [1]. Также мозг содержит популяцию собственных резидентных клеток врожденного иммунитета (микроглия и астроциты), которая при повреждении подвергается заметному пополнению, размножению и активации. На настоящий момент до конца не ясна роль периферических клеток врожденного иммунитета в развитии воспаления головного мозга при ЧМТ.

Цель исследования: провести иммуногистохимический структурный анализ состояния головного мозга (ГМ) при экспериментальной черепно-мозговой травме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили на половозрелых крысах-самцах Wistar, (150–200 г), дизайн исследования одобрен междисциплинар-

ным этическим комитетом ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России (№ 9 от 18.10.2017). ЧМТ воспроизводили, используя модель «падающего груза», в динамике (2 ч, 1, 2, 8 и 14 дней) проводили иммуногистохимическое исследование ГМ. Для выявления локализации иммунных клеток использовали моноклональные антитела крысы к рецепторам CD11b, CD14, CD16, CD45, F4/80 (Abcam, США) в разведении 1:200, в качестве вторичных антител применяли поликлональные антитела к IgG мыши, меченные пероксидазой и Alexa Fluore 488, и для оценки проницаемости ГМБ – антитела против эндотелиального антигена SMI71, меченные Alexa Fluore 594. Препараты оценивали с помощью микроскопа NikonTi (Япония), оснащенного цифровой камерой Zyla USB3.05.5MP (Andor, Англия). Морфометрическую обработку полученных изображений проводили с помощью программы NIS-Elements (Nikon).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При гистологическом исследовании ГМ животных с ЧМТ легкой степени отмечено отсутствие грубых морфологических изменений структуры, тогда как при средней и тяжелой степени травмы в менингеальной оболочке обнаруживалось наличие полнокровных расширенных сосудов с периваскулярным отеком и кровоизлияние в желудочки, что указывало на распространение ударного импульса в глубокие слои мозга. Анализ структуры популяции иммунокомпетентных клеток микроглии проводился в коре, стриатуме и мозолистом теле в месте нанесения ЧМТ и в контралатеральных регионах, по наличию позитивной реакции на присутствие CD45, CD14, CD11b, CD16 и F4/80-ассоциированных маркерных белков. Установлено, что экспрессия маркеров CD16/11b, которые характерны для субпопуляции макрофагов M1, увеличивалась в микроглии на 2-й день после ЧМТ и значительно повышалась до 8-го дня наблюдения. Интересно, что количество таких клеток в микроглии контралатеральной области через 8 сут. после ЧМТ была выше, чем у контрольных крыс. В мозолистом теле и ипсилатеральной области полосатого тела экспрессия CD16/11b достигла максимума через 8 дней после ЧМТ, что коррелировало с увеличением позитивной реакции на наличие эндотелиального антигена SMI71, обнаруживаемого в ГМБ. Данный маркер обладает высокой информативностью для оценки состояния ГМБ, т.к. известно, что разрушение нейронов и астроцитов ведет к снижению его реактив-

ности [2]. Действительно, в первые 2 дня после нанесения ЧМТ легкой степени отмечалось существенное снижение позитивной реакции на наличие SMI71-позитивных микрососудов и, напротив, на 8 и 14 день эксперимента количество таких микрососудов значительно возрастало ($p=0,01$). Сравнительный анализ количества клеток, экспрессирующих F4/80 и CD45 в одних и тех же участках коры ГМ позволяет разграничить резидентные макрофаги от клеток моноцитарного происхождения (периферических). Установлено, что в коре ГМ контрольных животных отмечалось превалирование макрофагов с низкой экспрессией CD45, тогда как при нанесении ЧМТ отмечалось повышенное содержание CD45-позитивных клеток. Эти данные указывают на увеличение количества периферических клеток при травме мозга. Причем, увеличение количества CD45 и F4/80 даблпозитивных клеток коррелировало со степенью тяжести наносимой животным ЧМТ, и локализация таких макрофагов обнаруживалась, преимущественно, в месте геморрагического ушиба. Таким образом, логично заключение, что в случае тяжелой травмы причиной увеличения количества периферических иммунных клеток является пермобилизация ГМБ и нарушение его целостности. Тогда как при легкой ЧМТ не совсем понятно, почему происходит данное явление. Можно предположить, что возникающая первичная альтерация нейронов и астроцитов, которая сопровождается снижением позитивной реакции на наличие эндотелиального антигена SMI71, и высвобождающиеся при этом из них медиаторы являются хемоаттрактантами, способствующими увеличению числа макрофагов моноцитарного происхождения. Полученные данные доказывают существенные структурные преобразования нервной ткани при экспериментальной ЧМТ, а сопряженный с нарушением проницаемости ГМБ, выход в нее периферических иммунных клеток указывает на дисрегуляторные изменения нейроиммунных связей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Hellewell S. C., Morganti-Kossmann M. C.* Guilty molecules, guilty minds? The conflicting roles of the innate immune response to traumatic brain injury. *Mediators Inflamm.* 2012, 2012: 356494.
2. *Pop V., Sorensen D. W., Kamper J. E., Ajao D. O., Murphy M. P., Head E., Hartman R. E., Badaut J.* Early brain injury alters the blood-brain barrier phenotype in parallel with β -amyloid and cognitive changes in adulthood // *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013 Feb; 33(2): 205–14

THE INNATE IMMUNITY CELLS IN THE PATHOGENESIS OF TRAUMATIC BRAIN INJURY

© 2019 I. V. Radkov, N. G. Plekhova*, S. V. Zinoviev, V. B. Shumatov

*E-mail: pl_nat@hotmail.com

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 11.03.2019

The content of innate immunity cells expressing CD45, CD14, CD16, CD11b and F4 / 80 receptors brain in experimental modeling of traumatic brain injury (TBI) was studied. It was established that the number of CD16/11b positive macrophages of the M1 subpopulation increased in microgy on the 2nd day after TBI and significantly enlarged up to 8 days. In the corpus callosum and the ipsilateral area of the striatum, CD16/11b expressed cells also peaked 8 days after TBI and correlated with an increase in the positive response to the presence of the endothelial antigen SMI71. Significant structural transformations of the nervous tissue and the output of peripheral immune cells, coupled with impaired permeability by the blood-brain barrier, were shown. The disturbance of regulatory changes neuroimmune connections in TBI was proved.

Key words: traumatic brain injury, innate immunity cells, neuroimmune connections

Authors:

Plekhova N. G., ✉ Dr, Head of the Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok Russia.

E-mail: pl_nat@hotmail.com;

Radkov I. V., Post- Graduate Student, Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia;

Zinoviev S. V., PhD, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia;

Shumatov V. B., Dr, professor, rector, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia.