

*Ерофеева Л. М., Сергеева С. П.*

**МОРФОЛОГИЯ ТИМУСА КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ  
СТРЕСС-УСТОЙЧИВОСТЬЮ И КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ СТАТУС  
ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО  
КРОВООБРАЩЕНИЯ**

*Московский государственный медико-стоматологический университет  
имени А. И. Евдокимова, Россия*

Одной из наиболее актуальных медико-социальных проблем является инсульт, или острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) в связи с тем, что во всем мире высока смертность и инвалидизация в результате этого заболевания. Усилия ученых направлены на поиск новых механизмов патогенеза, которые позволят улучшить диагностику и прогноз исхода заболевания, а главное

станут в дальнейшем мишенями терапевтического воздействия и позволят улучшить исход заболевания. Известно, что определенное место в патогенезе инсульта занимают неспецифические адаптивные реакции, которые развиваются за счет активации симпато-адреналовой системы и могут приводить к иммунодефициту. С первых минут инсульта нарастает проницаемость гемато-энцефалического барьера. Нейроспецифические белки попадают в кровь. На что логично ожидать ответ иммунной системы [1-4].

**Цель работы:** исследование изменений, происходящих в иммунной системе после инсульта в эксперименте у животных и у пациентов, перенесших это заболевание.

### **Материалы и методы**

Экспериментальная часть работы выполнялась в НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН. Эксперименты проведены на крысах-самцах Вистар. Были выявлены 2 субпопуляции животных согласно их восприимчивости к эмоциональному стрессу, которую определяли по поведению животных в тесте «Открытое поле». Всего 108 животных. Далее случайным образом были сформированы группы контроля (интактные животные), группа животных, которым моделировали внутримозговое кровоизлияние (ВМК) и группа животных, которые перед операцией по моделированию подвергались эмоциональному стрессорному воздействию с использованием модели агрессивного-конфликтного поведения при 24-часовой фиксации крыс за хвосты. Животных выводили из эксперимента на 1, 3 и 7 сутки. В каждую подгруппу входили по 6 животных, что позволило получить статистически достоверные результаты. Перед этим по специальным шкалам оценивали уровень неврологического дефекта. Клиническая часть исследования включала изучение показателей иммунной системы в образцах периферической крови пациентов с инсультом на 1, 7 и 21 сутки. У пациентов без инсульта, группы контроля, исследования проводились однократно. Проводили фенотипирование субпопуляций лимфоцитов методом проточной цитофлюориметрии с использованием моноклональных антител. Концентрацию цитокинов, нейроспецифического белка S100 $\beta$  и антимитохондриальных антител определяли методом ИФА с использованием стандартных тест-систем.

### **Результаты и обсуждение**

Исследование уровня неврологического дефекта животных показало наличие у них неврологического дефекта, причем в большей степени он был выражен у предрасположенных к эмоциональному стрессу крыс. Тест асимметричного использования передних конечностей показал, что животные реже используют паретичную конечность в качестве опоры. Таким образом, видно, что использованный метод моделирования инсульта дает стабильный результат. Исследование индекса соотношения массы тимуса к массе тела крысы показало, что экспериментальное ВМК является стрессорным воздействием. Причем прогностически устойчивые к эмоциональному стрессу животные реагируют с меньшим изменением массы тимуса. В тимусе крыс после экспериментального ВМК выявлены изменения в соотношении коркового и мозгового вещества, что наиболее наглядно отражают изменения корково-мозгового индекса. Этот показатель достоверно уменьшался во всех экспериментальных группах. Объемная доля капсулы

и междольковой соединительной ткани достоверно увеличивалась во все сроки эксперимента за счет отека и разрыхления. В них видны тучные клетки. Реакция микрососудистого русла тимуса характеризовалась застойными явлениями и диapedезом, отмечались также периваскулярный и интерстициальный отеки. Описанные явления указывают на системность реакции. По данным литературы стресс-синдром выражается иммуносупрессией, за счет ослабления Т-клеточного звена иммунитета. Уменьшение количества лимфоцитов в тимусе мы наблюдали во все сроки эксперимента. Характер изменений клеточного состава в тимусе у предрасположенных и устойчивых к эмоциональному стрессу крыс аналогичен, отмечается лишь разная степень выраженности этих изменений. Вместе с тем отмечалось увеличение количества blastов и больших лимфоцитов в подкапсулярной зоне и в целом в корковом веществе на фоне уменьшения доли митотически делящихся клеток. Что свидетельствует о стимуляции процессов иммиграции предшественников Т-лимфоцитов из костного мозга в подкапсулярную зону тимуса, об активации этапов дифференцировки Т-лимфоцитов. Увеличивается функциональная активность тимуса. В мозговом веществе тимуса так же наблюдается уменьшение плотности распределения лимфоцитов, видна обнаженная строма с набухшими эпителиоретикулоцитами. Таким образом, на фоне инволютивных изменений в тимусе, отчетливо прослеживались и признаки увеличения его функциональной активности. Это позволило нам выдвинуть гипотезу о том, что в патогенезе острого нарушения мозгового кровообращения значимое место занимают иммунные и стресс-реализующие механизмы, которые тесно взаимосвязаны между собой. С целью подтверждения этой гипотезы была проведена клиническая часть работы. При изучении динамики относительного и абсолютного содержания лимфоцитов в периферической крови у пациентов после инсульта выявлено уменьшение данных показателей, что соответствовало экспериментальным данным. При этом достоверно увеличивалось относительное содержание активированных CD3-HLA DR+ лимфоцитов. Относительный дефицит супрессорных влияний наблюдался у всех пациентов с ОНМК. В пользу такого вывода свидетельствует повышение иммунорегуляторного индекса (отношение содержания CD4+ к CD8+ лимфоцитов в периферической крови) после инсульта. Таким образом, на фоне иммунодефицита наблюдается активация механизмов аутоаллергии.

Проведено иммунофенотипирование лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD16+, HLA DR+ в периферической крови с помощью проточной цитофлуориметрии, а так же определение содержания нейроспецифического белка S100β в периферической крови, оценка тяжести неврологического дефицита с использованием стандартной шкалы NIHSS на 1, 7 и 21 сутки после ОНМК у 20 пациентов в условиях неврологического стационара. Установлено достоверное снижение абсолютного числа лимфоцитов периферической крови (в основном за счет CD3+  $p = 0,0087$ ) в зависимости от тяжести неврологического дефицита и концентрации S100β в периферической крови, что говорит в пользу развития неспецифической адаптационной реакции. Выявлено снижение абсолютного числа Т-супрессоров, при их стабильном относительном содержании, а так же повышение относительного содержания Т-хелперов (CD4+  $p = 0,09$ ). Отмечено уменьшение абсо-

лютного и относительного содержания В-лимфоцитов (CD20+  $p = 0,034; 0,1$ ). Снижалось число естественных киллеров (CD16+  $p = 0,02$ ). В зависимости от времени после первоначального падения абсолютного числа лимфоцитов отмечалась тенденция к их увеличению и восстановлению к 21 суткам до уровня группы контроля, состоявшей из 5 человек, никогда не переносивших ОНМК, не имеющих нарушений в системе иммунитета. Причем, увеличивалось содержание Т-хелперов ( $p = 0,04$ ) и Т-киллеров ( $p = 0,06$ ), эффекторов клеточного иммунного ответа. Отмечена динамика изменения концентрации S100 $\beta$  во времени, ее прямая зависимость от тяжести неврологического дефицита и выраженности изменений показателей клеточного иммунного статуса. Таким образом, выявленные изменения свидетельствуют в пользу снижения аутоотолерантности, обусловленной срывом иммуносупрессии, что приводит к системной аутоиммунной патологии. Однако, поскольку процесс разворачивается на фоне сниженного общего тонуса иммунной системы, аутоиммунные проявления, в клинических условиях маскируемые интеркуррентными заболеваниями, ослаблены.

#### **Выводы:**

1. В патогенезе острого нарушения мозгового кровообращения значимое место занимают иммунные и стресс-реализующие механизмы, которые тесно взаимосвязаны между собой.

2. При ОНМК на фоне общей депрессии иммунной системы, вызванной активацией стресс-реализующих механизмов, развиваются аутоиммунные процессы. Они направлены как на нейроспецифические белки, так и на неспецифические продукты деструкции клеток.

3. Результаты исследования указывают на необходимость учета показателей иммунной системы при диагностике и лечении пациентов с острым нарушением мозгового кровообращения.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. *Иммунные механизмы в развитии геморрагического инсульта* / М. Р. Сапин [и др.] // Вестник российской АМН. М. : Медицина, 2008. № 11. С. 47–49.

2. *Морфологические характеристики тимуса крыс Вистар в условиях экспериментального внутримозгового кровоизлияния* / С. П. Сергеева [и др.] // Морфология. СПб. : Эскулап, 2010. Т. 137, № 2. С. 35–38.

3. *Immunomodulation Strategies for Preventing Vascular Disease of the Brain and Heart* / J. Hallenbeck [et al.] // Stroke. 2006. N 37. P. 3035–3042.

4. *A Novel Immune-Based Therapy for Stroke Induces Neuroprotection and Supports Neurogenesis* / Y. Ziv [et al.] // Stroke. 2007. N 38 (part 2). P. 774–782.