

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК КОЛМЕРА У КРЫС ЛИНИИ SHR  
ПОСЛЕ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

© 2021 г. О. В. Кирик<sup>1, \*</sup>, Д. Л. Цыба<sup>1</sup>, О. С. Алексеева<sup>1, 3</sup>, М. Э. Колпакова<sup>2</sup>,  
А. А. Яковлева<sup>2</sup>, Д. Э. Коржевский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,  
Научно-образовательный институт биомедицины, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова  
Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: olga\_kirik@mail.ru

Поступила в редакцию 05.10.2020 г.

После доработки 05.11.2020 г.

Принята к публикации 05.11.2020 г.

Клетки Колмера (эпилепсусные макрофаги) являются наименее изученной популяцией среди фагоцитирующих клеток в головном мозге млекопитающих. В настоящей работе изучена реакция этих клеток на ишемическое повреждение головного мозга, вызванное непродолжительным прекращением кровотока в бассейне средней мозговой артерии. В работе были использованы крысы спонтанно гипертензивной линии SHR и нормотензивной линии WKY. Клетки Колмера нормотензивных животных линии WKY имели небольшой объем перинуклеарной цитоплазмы с концентрацией белка Iba-1 в кортикальном слое и характерные тонкие, иногда извитые отростки. Умеренная активация, вызванная повышенным артериальным давлением, у контрольных крыс линии SHR сопровождалась увеличением объема перинуклеарной цитоплазмы и появлением многочисленных прямых тонких отростков. Дальнейшая активация, вызванная ишемией, приводила к исчезновению отростков и приобретению клетками округлой формы. Данные структурные перестройки сопровождались исчезновением градиента концентрации белка Iba-1 в цитоплазме. Также в рамках выполненного исследования была впервые обнаружена внутриядерная аккумуляция цитоплазматического белка Iba-1 в клетках Колмера, независимая от их активации, указывающая на полифункциональность данного белка в клетке. Полученные результаты свидетельствуют о вовлечении клеток Колмера в реакции головного мозга на повреждение.

**Ключевые слова:** клетки Колмера, крысы SHR, ишемия, головной мозг

**DOI:** 10.31857/S0869813921010052

Клетки Колмера или поверхностные клетки сосудистых сплетений желудочков (эпилепсусные клетки) головного мозга представляют собой особую популяцию фагоцитирующих клеток головного мозга млекопитающих и человека, которые в отличие от микроглии, происходящей из желточного мешка [1], имеют костномозговое происхождение [2]. Зрелые клетки Колмера по своей ультраструктуре напоминают клетки амeboидной микроглии [3, 4], они распластываются по апикальной поверхности эпителиоцитов сосудистого сплетения (Choroid plexus – ChPl) [5] и являются важным компонентом гематоликворного барьера [2]. Их основная функ-

ция состоит в утилизации посторонних веществ, попадающих в цереброспинальную жидкость при нарушении барьерной системы головного мозга, что может иметь место при различных повреждающих воздействиях и патологических процессах [5–7]. Существует мнение, что эти клетки фагоцитируют фрагменты цитоплазмы эпителиальных клеток ChPI, содержащие не утилизируемые вещества и поврежденные органеллы [3, 8]. Одной из причин, вызывающих нарушение барьерной системы мозга, может стать ишемическое повреждение, вызванное нарушением кровотока. Оно приводит к деструктивным изменениям нервной ткани и развитию локального воспаления [9, 10], в реализации которого принимают участие все популяции фагоцитирующих клеток головного мозга. Эти клетки могут рассматриваться как предполагаемые мишени для терапевтического вмешательства, направленного на увеличение нейропротекторного потенциала и уменьшение нейровоспаления. Существует большое количество данных, касающихся реакции микроглии на ишемический инсульт [11], тогда как данные о реакции клеток Колмера остаются немногочисленными [6, 12]. При формировании ишемического очага происходит нарушение гематоэнцефалического барьера, и в кровь выделяются факторы, обозначаемые как DAMP (damage associated molecular patterns). Попадая через кровеносные сосуды ChPI в цереброспинальную жидкость, они оказывают влияние на клетки Колмера, что приводит к усилению воспалительной реакции [13]. В связи с этим клетки Колмера следует рассматривать как важную составляющую в развитии нейровоспалительного процесса.

Одним из факторов риска развития цереброваскулярной болезни является артериальная гипертензия, что необходимо учитывать при моделировании соответствующей патологии на лабораторных животных. Особого внимания в этом контексте заслуживает линия крыс SHR (Spontaneously Hypertensive Rats), полученная в 1963 г. японскими учеными [14]. Стойкое повышение артериального давления у крыс этой линии может достигать 200 мм рт. ст. уже в возрасте 12 нед., что связано с нарушением функции нескольких генов, участвующих в регуляции артериального давления [15]. В качестве контроля к крысам линии SHR, как правило, используют нормотензивную линию WKY (Wistar–Kyoto), поскольку крысы линии SHR были выведены на основе животных линии Wistar–Kyoto [14].

Целью настоящего исследования стало изучение структурных и цитохимических характеристик клеток Колмера сосудистых сплетений боковых желудочков головного мозга интактных крыс линии SHR и крыс линии SHR, перенесших 30-минутную фокальную ишемию.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены на спонтанно гипертензивных крысах-самцах линии SHR в возрасте 10–12 нед. (АД 165–185 мм рт. ст.,  $n = 10$ ). Содержание животных и экспериментальные манипуляции осуществляли с учетом “Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных” (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР) и Федерального Закона РФ “О защите животных от жестокого обращения” от 01.01.1997 г., Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренного варианта 2000 г. План работы одобрен Локальным этическим комитетом ФГБНУ “ИЭМ” (протокол № 3/19 от 25.04.2019 г.). Индукцию ишемии проводили при помощи эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии под общей анестезией (тиопентал натрия, 60 мг/кг) [16]. Продолжительность нарушения кровотока в бассейне левой средней мозговой артерии в каждом случае составляла 30 мин, а время реперфузии — 48 ч. Контролем служил головной мозг интактных животных линии SHR (артериальное давление 165–185 мм рт. ст.,  $n = 3$ ), в качестве дополнительного контроля, позволяющего оценить возможный вклад гипертензии в

полученные на крысах SHR результаты, использовали головной мозг крыс линии WKY (артериальное давление 105–115 мм рт. ст.,  $n = 3$ ). Всего в анализе участвовало 16 животных. Животные были получены из биокolleкции Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Животных выводили из эксперимента с помощью передозировки тиопентала натрия. Головной мозг извлекали с сохранением мягкой мозговой и паутинной оболочек, фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [17], обезжировали и заливали в парафин обычным способом. Морфологическому исследованию подвергали фронтальные срезы конечного мозга ( $-0.66 \text{ мм} \pm 0.06 \text{ мм}$  по отношению к бремге согласно анатомического атласу [18]). В качестве обзорной нейростологической окраски была использована окраска крезильовым фиолетовым по Нисслю.

В качестве цитоспецифического маркера клеток Колмера был выбран белок Iba-1, который является общим маркером для клеток микроглии и всех моноклеарных фагоцитов [19]. Для иммуногистохимического выявления Iba-1 использовали первичные кроличьи поликлональные антитела к Iba-1 в разведении 1 : 600 (Biocare Medical, США). В качестве вторичных реагентов для выявления иммуноглобулинов кролика использовали реагент HRP Conjugate из набора reveal Polyvalent HRP DAB Detection System (Spring Bioscience, США). Пероксидазную метку выявляли с использованием диаминобензидинового хромогена (DAB+; Dako, Дания). После постановки иммуногистохимических реакций часть срезов докрашивали гематоксилином.

При проведении иммунофлуоресцентных реакций для выявления Iba-1 с одновременной подкраской ядер использовали первичные козы поликлональные антитела к Iba-1 в разведении 1 : 600 (Abscam, Великобритания). В качестве вторичного реагента для выявления иммуноглобулинов козы использовали кроличьи поликлональные антитела, конъюгированные с флуорохромом Cy3 (Sigma, США), которые, в свою очередь, выявляли с помощью реагента HRP Conjugate из набора reveal Polyvalent HRP DAB Detection System (Spring Bioscience, США) и стрептавидина, конъюгированного с флуорохромом Cy3, в который был добавлен ядерный флуоресцентный краситель SYTOX Green (0.5 мкмоль) из набора Select FX (Invitrogen, США).

Анализ препаратов проводили с помощью лазерного конфокального микроскопа LSM 800 (Zeiss, Германия), оснащенного системой Airyscan.

Морфометрические измерения проводились в программе ImageJ [20], статистическая обработка данных была проведена с использованием языка программирования R в среде для разработки RStudio (США). Нормальность распределения признаков оценивали с помощью формального критерия Шапиро–Уилка. Для оценки равенства дисперсий признака использовали F-критерий Фишера. Оценку значимости различий между группами проводили с использованием двухвыборочного *t*-теста Стьюдента, внутригрупповые сравнения зависимых признаков оценивали с помощью парного *t*-теста Стьюдента. При несоблюдении условия нормальности распределения признака использовали непараметрические критерии Манна–Уитни и Вилкоксона соответственно. Данные представлены в виде  $X \pm \sigma$  (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение), различия расценивались как статистически значимые при  $p < 0.05$ . Для оценки влияния степени ишемического повреждения на степень расширения желудочка был проведен дисперсионный анализ ANOVA и пост-хок тест Тьюки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

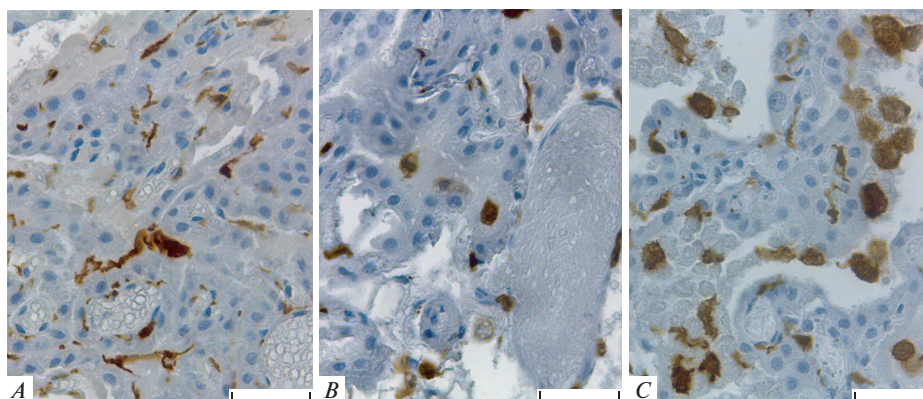
Анализ препаратов, окрашенных крезильовым фиолетовым по Нисслю, показал, что у контрольных животных линий WKY и SHR в ткани мозга отсутствовали признаки дистрофических и нейродегенеративных процессов. Желудочки мозга крыс гипертензивной линии SHR не имели достоверных морфологических признаков гидроцефалии. Площади желудочков мозга крыс линии SHR не имели достоверных отличий от площади соответствующих желудочков мозга крыс линии WKY

( $p > 0.05$ ). Площади желудочков правого и левого полушарий у контрольных животных линий SHR и WKY также не имели достоверных отличий между собой ( $p > 0.05$ ). Кровеносные сосуды ChPI не были расширены ни в одной из контрольных групп.

У экспериментальных животных линии SHR через 48 ч после односторонней ишемии очаги повреждения локализовались в стриатуме и/или базолатеральной области левого полушария, не затрагивая эпендиму и субэпендимную область. В зависимости от локализации очага ишемии и степени деструкции ткани различали три варианта повреждения: незначительное локальное повреждение нейронов, которое затрагивало только стриатум ( $n = 4$ ); умеренное локальное повреждение нейронов, которое затрагивало стриатум и близлежащие структуры без очаговой деструкции нервной ткани ( $n = 4$ ); ишемический инфаркт части левого полушария, сопровождающийся очаговой некротической деструкцией ткани и развитием воспалительной реакции ( $n = 2$ ). Кровеносные сосуды в ткани мозга и ChPI ишемизированного полушария во всех случаях были расширены. Измерение площади желудочков на срезах мозга показало, что площади правых (контрлатеральных) желудочков экспериментальных животных линии SHR и контрольных животных имеют достоверные отличия ( $p < 0.05$ ). Однако сравнение площадей левых (ипсилатеральных) желудочков экспериментальных животных линии SHR с левыми желудочками контрольных животных таких отличий не выявило ( $p > 0.05$ ). Площади желудочков правого и левого полушария у экспериментальных животных линии SHR имели достоверные отличия между собой ( $p < 0.05$ ). При оценке влияния степени повреждения на площадь желудочков было показано, что площадь контрлатерального желудочка значительно изменяется при наиболее выраженном повреждении ( $F = 0.51, p = 0.005$ ).

Клетки Колмера при окраске крезильовым фиолетовым отчетливо не выявлялись. В противоположность окраске крезильовым фиолетовым при постановке иммуногистохимической реакции на белок Iba-1, клетки Колмера идентифицировались отчетливо. Они выглядели как яркоокрашенные Iba-1-иммунопозитивные (Iba-1-ИП) клетки на поверхности неокрашенного эпителия ворсинок ChPI (рис. 1). Кроме клеток Колмера Iba-1-ИП реакция регистрировалась в клетках, не связанных с ChPI, а находящихся в составе цереброспинальной жидкости. Часть этих Iba-1-ИП клеток располагалась в непосредственной связи с эпендимой (супраэпендимные клетки). У контрольных крыс линии WKY клетки Колмера имели уплощенную форму, и на фронтальных срезах обнаруживались преимущественно участки цитоплазмы и крупные отростки – цитоподии. Ядра клеток редко попадали в плоскость среза (рис. 1A). У контрольной группы крыс линии SHR часть клеток Колмера имела округлую форму (рис. 1B). Также встречались Iba-1-ИП клетки в цереброспинальной жидкости. Достоверных различий в количестве этих клеток между двумя контрольными группами линий SHR и WKY выявлено не было. Помимо клеток Колмера у контрольных животных линий WKY и SHR Iba-1-ИП структурами в ткани мозга были клетки типичной разветвленной микроглии, субэпендимные микроглиоциты и отдельные периваскулярные клетки (периваскулярные макрофаги).

После ишемии подавляющее большинство клеток Колмера приобретало округлую форму (рис. 1C). Их количество увеличивалось как в ChPI поврежденного, так и контрлатерального полушария. Количество Iba-1-ИП клеток в цереброспинальной жидкости желудочков ишемизированного и контрлатерального полушарий тоже увеличивалось ( $p < 0.05$ ). Часть этих клеток располагалась вблизи эпендимы. Наряду с указанными изменениями регистрировали и изменения состояния микроглиальных клеток. Iba-1-ИП клетки типичной разветвленной микроглии встречались в контрлатеральном полушарии и областях, отдаленных от очага повреждения. В ишемизированном полушарии Iba-1-ИП микроглиоциты имели характерные морфологические признаки активации: крупное тело клетки с короткими и



**Рис. 1.** Клетки Колмера сосудистого сплетения боковых желудочков головного мозга. *A* – контрольное животное нормотензивной линии Wistar–Kyoto; *B* – контрольное животное гипертензивной линии SHR (Spontaneously Hypertensive Rats); *C* – крыса гипертензивной линии SHR через 48 ч после 30-минутной окклюзии левой средней мозговой артерии. Иммуногистохимическая реакция на белок Iba-1 (коричневый цвет). Ядра подкрашены гематоксилином (синий цвет). Масштабный отрезок равен 40 мкм.

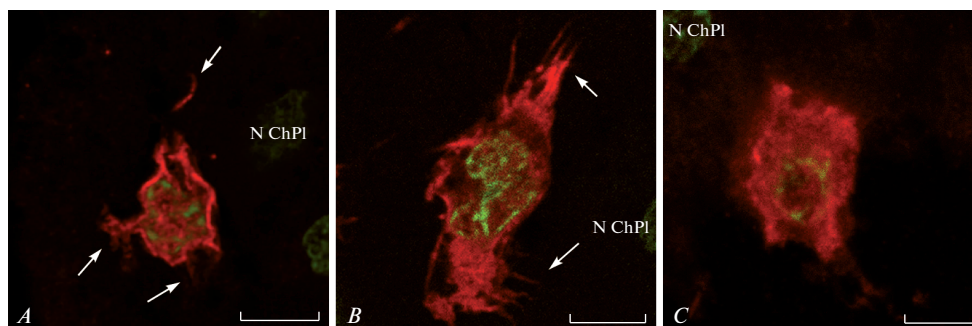
**Fig. 1.** Kolmer cells of the choroid plexus of the lateral ventricles of the brain. *A* – control animal of normotensive Wistar–Kyoto line; *B* – control animal of hypertensive SHR (Spontaneously Hypertensive Rats) line; *C* – rat of hypertensive SHR line 48 h after 30 min of the left middle cerebral artery occlusion. Immunohistochemical reaction for Iba-1 protein, visualisation with DAB+ chromogen (brown), tint by hematoxylin (blue). Scale bar – 40  $\mu$ m.

толстыми отростками, что соответствовало характерным чертам амебоидных микроглиоцитов. Вблизи очага повреждения встречались преимущественно амебоидные микроглиоциты. Субэпендимные микроглиоциты в ишемизированном полушарии также имели морфологические признаки активации.

Использование методов конфокальной лазерной микроскопии показало, что мелкогранулярный продукт реакции (белок Iba-1) присутствует в цитоплазме и ядре клетки Колмера (рис. 2). В клетках Колмера контрольных животных линии WKY белок Iba-1 концентрировался преимущественно в кортикальном слое цитоплазмы (рис. 2*A*). У контрольных крыс линии SHR в клетках округлой и овальной формы не наблюдалось градиента концентрации белка Iba-1 в цитоплазме, увеличивался объем перинуклеарной цитоплазмы, хорошо визуализировались небольшие неветвящиеся тонкие отростки, напоминающие филоподии (рис. 2*B*). У крыс экспериментальной группы линии SHR Iba-1-ИП клетки были округлой или овальной формы с большим объемом перинуклеарной цитоплазмы, без отростков или с небольшими цитоплазматическими выростами. При этом белок Iba-1 распределялся в цитоплазме более равномерно, чем в контроле (рис. 2*C*). Форма ядер клеток Колмера характеризовалась полиморфностью от простых округлых до бобовидных и многолопастных форм (рис. 2). Также было отмечено присутствие белка Iba-1 в ядре клетки. При этом накопление белка в ядре не совпадало с внутриядерными скоплениями гетерохроматина.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные свидетельствуют о том, что Iba-1-ИП клетки на поверхности эпителия ворсинок ChPI действительно являются клетками Колмера, которые



**Рис. 2.** Клетки Колмера на поверхности эпителия сосудистого сплетения боковых желудочков головного мозга. *A* – контрольное животное нормотензивной линии Wistar–Kyoto; *B* – контрольное животное гипертензивной линии SHR (Spontaneously Hypertensive Rats); *C* – крыса гипертензивной линии SHR через 48 ч после 30-минутной окклюзии левой средней мозговой артерии. N ChPl – ядра эпителиоцитов сосудистого сплетения. Стрелками указаны отростки клеток.

Иммуногистохимическая реакция на белок Iba-1 (визуализация с помощью флуорохрома Cy3, красный цвет). Ядра подкрашены SYTOX Green, зеленый цвет.

Конфокальная лазерная микроскопия. Конфокальный лазерный микроскоп LSM 800 (Zeiss, Германия), Объектив Plan-Apochromat 63×/1.40 oil DIC M27. Одиночный оптический срез толщиной 0.2 мкм. Масштабный отрезок равен 5 мкм.

**Fig. 2.** Kolmer cells on the surface of the choroid plexus epithelium of the lateral ventricles of the brain. *A* – control animal of the normotensive line Wistar–Kyoto; *B* – control animal of the hypertensive SHR line; *C* – rat of hypertensive SHR line 48 h after 30 min of the left middle cerebral artery occlusion. N ChPl – nuclei of choroid plexus epithelial cells. The arrows point to the cell processes.

Immunohistochemical reaction for Iba-1 protein, visualisation with Cy3 fluorochrome (red). Nuclei are stained with SYTOX Green (green).

Confocal laser microscopy. Confocal laser microscope LSM 800 (Zeiss, Germany), objective Plan-Apochromat 63×/1.40 oil DIC M27. Single optical section 0.2 μm thick.

Scale bar – 5 μm.

согласно немногочисленным данным характеризуются как клетки округлой или звездчатой формы с длинными отростками [4, 5]. Ишемическое воздействие вызывает их активацию, которая сопровождается исчезновением отростков и приобретением клетками округлой формы. Эти изменения, вероятно, необходимы для более эффективного фагоцитоза, в реализации которого принято считать важным участие белка Iba-1 [18, 21, 22]. У контрольных крыс линии SHR на поверхности ChPl также встречаются отдельные активированные формы клеток Колмера, которые отсутствуют у контрольных животных линии WKY, что может быть связано с меньшей устойчивостью гематоликворного барьера на фоне артериальной гипертензии. В пользу этого предположения свидетельствуют данные о повышении проницаемости гематоликворного барьера у крыс линии SHR [23]. При активации часть клеток Колмера может открепляться от эпителия ChPl, с током cerebrospinalной жидкости разноситься по всему объему желудочка и попадать в другие ликвороносные пространства. По-видимому, некоторые из этих клеток способны прикрепляться к поверхности энделиоцитов и участвовать вместе с ними в формировании ликворозэнцефалического барьера. Исходя из этого предположения, все перечисленные клетки составляют единую популяцию. Однако это предположение может оказаться и ошибочным, поскольку существуют данные о миграции амeboидных микроглиоцитов из ткани мозга в полость желудочка и далее до сосудистого сплетения [24], то есть часть внутрижелудочковых клеток может иметь родство с микроглиоцитами.

Активацию клеток Колмера некоторые авторы связывают с развитием нейровоспалительной реакции, последствием которой является увеличение объема желудочков мозга [25]. В нашем исследовании у ишемизированных животных линии SHR было зарегистрировано увеличение площади желудочков, но во всех случаях это желудочки контрлатерального, а не ипсилатерального (в котором происходило нарушение кровотока) полушария. Отсутствие увеличения ипсилатерального желудочка, скорее всего, связано с сохраняющимся выраженным отеком ипсилатерального полушария и, как следствие, сдавливанием желудочка.

С использованием конфокальной лазерной микроскопии нам удалось показать более равномерное распределение белка Iba-1 в цитоплазме клеток, имеющих признаки активации, у гипертензивных животных линии SHR. Это может быть связано с увеличением его концентрации за счет продолжающегося синтеза [26, 27]. Благодаря цитоплазматической локализации белка Iba-1 хорошо визуализируются отростки клеток, которые исчезают у клеток Колмера при постишемической активации, но сохраняются у контрольных крыс как линии WKY, так и линии SHR. Ранее в исследованиях экспрессии микроглиального маркера Iba-1 у нормотензивных крыс реакции клеток Колмера не изучались [26–27 и др.].

Интересным является факт присутствия Iba-1 в ядрах всех клеток Колмера независимо от их функционального состояния. Ранее нами было показано наличие крупных скоплений Iba-1 в ядрах микроглиоцитов у человека [28, 29]. У крыс линии Вистар в микроглиоцитах стриатума были обнаружены мелкие внутриядерные гранулы [30]. Как и в случае с микроглиоцитами, в рамках настоящего исследования не удастся определить взаимосвязь между гранулами белка и скоплением гетерохроматина. Причины локализации цитоплазматического белка Iba-1, участвующего в фагоцитозе, в ядре в настоящее время остаются невыясненными. Существующие косвенные данные о влиянии белка Iba-1 на транскрипционную активность клетки [31–33], что свидетельствует в пользу полифункциональности данного белка, который может выполнять в ядре роль транскрипционного фактора.

Таким образом, гипертензия и ишемическое повреждение вызывают активацию клеток Колмера, которая сопровождается исчезновением отростков и увеличением размеров тела клетки. Полученные факты указывают на непосредственную вовлеченность клеток Колмера в реакции головного мозга на ишемическое и гемодинамическое повреждение. В рамках выполненного исследования была впервые обнаружена внутриядерная аккумуляция связанного с фагоцитозом цитоплазматического белка Iba-1 в клетках Колмера, которая наблюдается вне зависимости от их функционального состояния (активации).

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят д. м. н., проф. Лобова Г.И. заведующего лабораторией физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем Института физиологии им. И.П. Павлова РАН за консультацию и оказанную помощь в измерении артериального давления исследуемых животных.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Институт экспериментальной медицины” и государственного задания Научно-образовательного института биомедицины (лаборатория патофизиологии) Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова” Министерства здравоохранения Российской Федерации.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При проведении исследования были соблюдены все применимые международные принципы использования животных. Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБНУ “ИЭМ” (протокол № 3/19 от 25.04.2019 г.).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Alekseeva O.S., Kirik O.V., Gilerovich E.G., Korzhevskii D.E.* Microglia of the Brain: Origin, Structure, Functions. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 55: 257–268. 2019.
2. *Goldmann T., Wieghofer P., Jordao M.J., Prutek F., Hagemeyer N., Frenzel K., Amann L., Staszewski O., Kierdorf K., Krueger M., Locatelli G., Hochgerner H., Zeiser R., Epelman S., Geissmann F., Priller J., Rossi F.M.V., Bechmann I., Kerschensteiner M., Linnarsson S., Jung S., Prinz M.* Origin, fate and dynamics of macrophages at central nervous system interfaces. *Nat. Immunol.* 17(7): 797–805. 2016.
3. *Ling E.A.* Ultrastructure and origin of epilexus cells in the telencephalic choroid plexus of postnatal rats studied by intravenous injection of carbon particles. *J. Anat.* 129(3): 479–492. 1979.
4. *Tamega O.J., Tirapelli L.F., Petroni S.* Scanning electron microscopy study of the choroid plexus in the monkey (*Cebus apella apella*). *Arq. Neuropsiquiatr.* 58(3B): 820–825. 2000.
5. *Wan Y., Hua Y., Garton H.J.L., Novakovic N., Keep R.F., Xi G.* Activation of epilexus macrophages in hydrocephalus caused by subarachnoid hemorrhage and thrombin. *CNS Neurosci. Ther.* 25(10): 1134–1141. 2019.
6. *Коржевский Д.Э.* Сосудистое сплетение головного мозга и структурная организация гематоликворного барьера у человека. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2(1): 5–14. 2003. [*Korzhevskii D.E.* Choroid plexus and structural organization of blood-CSF barrier in human. *Regional Blood Circulation and Microcircul.* 2(1): 5–14. 2003. (In Russ)].
7. *Maxwell W.L., Hardy I.G., Watt C., McGadey J., Graham D.I., Adams J.H., Gennarellie T.A.* Changes in the choroid plexus, responses by intrinsic epilexus cells and recruitment from monocytes after experimental head acceleration injury in the non-human primate. *Acta Neuropathol.* 84(1): 78–84. 1992.
8. *Peters A., Swan R.C.* The choroid plexus of the mature and aging rat: the choroidal epithelium. *Anat. Rec.* 194(3): 325–353. 1979.
9. *Chamorro A., Meisel A., Planas A.M., Urra X., van de Beek D., Veltkamp R.* The immunology of acute stroke. *Nat. Rev. Neurol.* 8(7): 401–410. 2012.
10. *Iadecola C., Anrather J.* The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat. Med.* 17(7): 796–808. 2011.
11. *Xiong X.Y., Liu L., Yang Q.W.* Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke. *Prog. Neurobiol.* 142: 23–44. 2016.
12. *Pedragosa J., Salas-Perdomo A., Gallizioli M., Cugota R., Miro-Mur F., Brianso F., Justicia C., Perez-Asensio F., Marquez-Kisinousky L., Urra X., Gieryng A., Kaminska B., Chamorro A., Planas A.M.* CNS-border associated macrophages respond to acute ischemic stroke attracting granulocytes and promoting vascular leakage. *Acta Neuropathol. Commun.* 6(1): 76. 2018.
13. *Joukal M., Klusakova I., Solar P., Kuklova A., Dubovy P.* Cellular reactions of the choroid plexus induced by peripheral nerve injury. *Neurosci. Lett.* 628: 73–77. 2016.
14. *Okamoto K., Aoki K.* Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.* 27: 282–293. 1963.
15. *Журавлев Д.А.* Модели артериальной гипертензии. Спонтанно-гипертензивные крысы. Артериальная гипертензия. 15(6): 721–723. 2009. [*Zhuravlyov D.A.* Hypertension models. spontaneously hypertensive rats. *Arterial Hypertension.* 15(6): 721–723. 2009. (In Russ)].
16. *Korzhevskii D.E., Kirik O.V., Baisa A.E., Vlasov T.D.* Simulation of unilateral ischemic injury to the striatal neurons inflicted by short-term occlusion of the middle cerebral artery. *Bull. Exp. Biol. Med.* 147(2): 255–256. 2009.
17. *Korzhevskii D.E., Sukhorukova E.G., Kirik O.V., Grigorev I.P.* Immunohistochemical demonstration of specific antigens in the human brain fixed in zinc-ethanol-formaldehyde. *Eur. J. Histochem.* 59(3): 233–237. 2015.
18. *Paxinos G., Watson Ch.* The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Fourth Edition. San Diego. Acad. Press. 1998.



19. Korzhevskii D.E., Kirik O.V. Brain microglia and microglial markers. *Neurosci. Behav. Physiol.* 46(3): 284–290. 2016.
20. Abramoff M.D., Magalhaes P.J., Ram S.J. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics Internat.* 11(7): 36–42. 2004.
21. Ohsawa K., Imai Y., Kanazawa H., Sasaki Y., Kohsaka S. Involvement of Iba1 in membrane ruffling and phagocytosis of macrophages/microglia. *J. Cell Sci.* 133(17): 3073–3084. 2000.
22. Ohsawa K., Imai Y., Sasaki Y., Kohsaka S. Microglia/macrophages-specific protein Iba1 binds to fimbriin and enhances its actin-bundling activity. *J. Neurochem.* 88(4): 844–856. 2004.
23. Al-Sarraf H., Philip L. Effect of hypertension on the integrity of blood brain and blood CSF barriers, cerebral blood flow and CSF secretion in the rat. *Brain Res.* 975(1–2): 179–188. 2003.
24. Ling E.A., Tseng C.Y., Wong W.C. An electron microscopical study of the epileptus and supracerebellar cells in the prenatal rat brain following a maternal injection of 6-aminonicotinamide. *J. Anat.* 140: 119–129. 1985.
25. Gu C., Hao X., Li J., Hua Y., Keep R.F., Xi G. Effects of minocycline on epileptus macrophage activation, choroid plexus injury and hydrocephalus development in spontaneous hypertensive rats. *J. Cerebr. Blood Flow Metab.* 39(10): 1936–1948. 2019.
26. Patel A.R., Ritzel R., McCullough L.D., Liu F. Microglia and ischemic stroke: a double-edged sword. *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* 5(2): 73–90. 2013.
27. Ito D., Tanaka K., Suzuki S., Dembo T., Fukuuchi Y. Enhanced expression of Iba1, ionized calcium-binding adapter molecule 1, after transient focal cerebral ischemia in rat brain. *Stroke.* 32(5): 1208–1215. 2001.
28. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Сухорукова Е.Г., Сырцова М.А. Микроглия черного вещества головного мозга человека. *Мед. акад. журн.* 14(4): 68–72. 2014. [Korzhevskii D.E., Kirik O.V., Sukhorukova E.G., Syrszova M.A. Microglia of the human substantia nigra. *Med. Acad. J.* 14(4): 68–72. 2014. (In Russ)].
29. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Алексеева О.С., Сухорукова Е.Г., Сырцова М.А. Внутриядерное накопление белка Iba-1 в микроглиоцитах головного мозга человека. *Морфология.* 149(2): 73–76. 2016. [Korzhevskii D.E., Kirik O.V., Alekseeva O.S., Sukhorukova E.G., Syrszova M.A. Intranuclear accumulation of Iba-1 protein in microglial cells in the human brain. *Neurosci. Behav. Physiol.* 47(4): 435–437. 2017. (In Russ)].
30. Коржевский Д.Э., Григорьев И.П., Гусельникова В.В., Колос Е.А., Петрова Е.С., Кирик О.В., Суфиева Д.А., Разенкова В.А., Антипова М.В., Черныш М.В. Иммуногистохимические маркеры для нейробиологии. *Мед. акад. журн.* 19(4): 7–24. 2019. [Korzhevskii D.E., Grigor'ev I.P., Gusevnikova V.V., Kolos E.A., Petrova E.S., Kirik O.V., Sufieva D.A., Razenkova V.A., Antipova M.V., Chernysh M.V. Immunohistochemical markers for neurobiology. *Med. Acad. J.* 19(4): 7–24. 2019. (In Russ)].
31. Schulze J.O., Quedenau C., Roske Y. Structural and functional characterization of human Iba proteins. *FEBS J.* 275(18): 4627–4640. 2008.
32. Berglund L.M., Kotova O., Osmark P., Grufman H., Xing C., Lydrup M.L., Goncalves I., Autieri M.V., Gomez M.F. NFAT regulates the expression of AIF-1 and IRT-1: yin and yang splice variants of neointima formation and atherosclerosis. *Cardiovasc. Res.* 93(3): 414–423. 2012.
33. Subramaniam P.S., Green M.M., Larkin J., Torres B.A., Johnson H.M. Nuclear translocation of IFN-gamma is an intrinsic requirement for its biologic activity and can be driven by a heterologous nuclear localization sequence. *J. Interferon Cytokine Res.* 21(11): 951–959. 2001.

#### Alterations in Kolmer Cells in SHR Line Rats after Brain Ischemia

O. V. Kirik<sup>a, \*</sup>, D. L. Tsyba<sup>a</sup>, O. S. Alekseeva<sup>a, c</sup>, M. E. Kolpakova<sup>b</sup>,  
A. A. Jakovleva<sup>b</sup>, and D. E. Korzhevskii<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

<sup>b</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

<sup>c</sup>Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

\*e-mail: olga\_kirik@mail.ru

Kolmer cells (epileptus macrophages) are the least studied population of phagocytic cells in the mammalian brain. In the present work, we studied the response of these cells to high blood pressure and ischemic brain injury caused by a short middle cerebral artery occlusion. We used spontaneously hypertensive SHR and normotensive WKY rats. Kolmer cells of normotensive WKY animals had a small volume of perinuclear cytoplasm with a cortical concentration of Iba-1 protein. These cells had characteristic thin, some-

times tortuous processes. Moderate activation due to high blood pressure in SHR rats was accompanied by an increase in the perinuclear cytoplasm volume and the appearance of numerous straight thin processes. Further activation caused by ischemia led to the disappearance of processes and the cells became round. The structural rearrangements were accompanied by the disappearance of the Iba-1 protein concentration gradient in the cytoplasm. Also, the intranuclear accumulation of the cytoplasmic Iba-1 protein in Kolmer cells was first discovered, independent of their activation. That indicates the polyfunctionality of this protein in the cell. The obtained results point to the involvement of Kolmer cells in the brain's response to injury.

*Keywords:* Kolmer cells, SHR rats, ischemia, brain

ЦИТИРОВАТЬ:

Кирик О.В., Цыба Д.Л., Алексеева О.С., Колпакова М.Э., Яковлева А.А., Коржевский Д.Э. Изменения клеток колмера у крыс линии shr после ишемии головного мозга. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(2): 177–186. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010052

TO CITE THIS ARTICLE:

Kirik O.V., Tsyba D.L., Alekseeva O.S., Kolpakova M.E., Jakovleva A.A., Korzhevskii D.E. Alterations in kolmer cells in shr line rats after brain ischemia. Russian Journal of Physiology. 107(2): 177–186. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010052