
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**КОРРЕКЦИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ
ПАРАМЕТРОВ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧЕРЕПНОМОЗГОВОЙ
ТРАВМЕ ПРЕПАРАТОМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ
К КОМПОНЕНТУ С3 КОМПЛЕМЕНТА**

© 2023 г. Н. Б. Серебряная^{1, *}, Е. Е. Фомичева¹, С. Н. Шанин¹, Т. А. Филатенкова¹,
А. В. Жахов², К. А. Некрасова³, А. М. Ищенко²

¹*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

²*НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия*

³*НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия*

**E-mail: serebr@gmail.com*

Поступила в редакцию 14.03.2023 г.

После доработки 15.04.2023 г.

Принята к публикации 18.04.2023 г.

После черепно-мозговой травмы (ЧМТ) в ЦНС развивается воспаление, активным участником которого является система комплемента. Активированные фрагменты комплемента инициируют воспаление, а в дальнейшем существенно влияют на процессы репарации и регенерации. Цель работы – уменьшить нейроиммунные нарушения после экспериментальной ЧМТ путем блокирования избыточного воспаления на ранних этапах травматической болезни моноклональными антителами к С3-компоненту комплемента. Работа выполнена на 65 крысах-самцах породы Wistar с использованием модели “падающего груза”. Для коррекции нейровоспаления вводили препарат рекомбинантного моноклонального антитела 3A8, специфичного к неопределяемому С3-компоненту комплемента крысы, блокирующего активацию альтернативного пути комплемента (вводили в/в в дозе 100 мг/кг массы). Как препарат сравнения использован препарат рекомбинантного рецепторного антагониста интерлейкина-1 человека (rIL-1RA), который вводили п/к в дозе 50 мг/кг массы тела. Оба препарата вводили однократно через 30 мин после ЧМТ (режим 1) или 24 ч после ЧМТ (режим 2). Исследовали уровни кортикостерона в крови, цитотоксическую и пролиферативную активность лимфоцитов и поведенческие реакции в тесте “крестообразный лабиринт”. Полученные данные свидетельствуют о том, что на 7-е сут после ЧМТ у крыс, получавших антитела 3A8 в режиме 1, уменьшилась посттравматическая потеря массы тела, повысилась цитотоксическая активность спленоцитов и их пролиферативная активность, а также увеличилась двигательная и исследовательская активности при существенном снижении уровня тревожности. Введение rIL-1RA в указанных режимах, как и совместное использование обоих препаратов, не имело существенного влияния на изученные параметры.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, комплемент, rIL-1RA, поведение, кортикостерон, спленоциты

DOI: 10.31857/S0869813923050084, **EDN:** XRBINO

ВВЕДЕНИЕ

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) характеризуется первичным повреждением мозга в результате прямого травматического воздействия, включающего повреждение нейронов, аксонов и глиальных клеток, а также разрывы кровеносных сосудов, вызывающие кровоизлияние и последующую гипоксию [1]. Повреждение вызывает нарушение гематоэнцефалического барьера, а изменения в кровоснабжении приводят к митохондриальному и последующему нарушению выработки энергии, высвобождению нейротрансмиттеров и свободных радикалов, активации и инфльтрации иммунных клеток, апоптозу и высвобождению цитокинов [2, 3]. В этот период инициируется вторичное повреждение головного мозга [4], опосредованное нейровоспалением, вызванным в значительной степени неадекватными/неэффективными защитными реакциями организма [5].

Последствия ЧМТ в существенной степени зависят от выраженности и длительности нейровоспаления. Они могут проявляться как изменение личности, когнитивные проблемы, нарушения двигательных функций, иммунной дисфункции, а в ряде случаев приводят к развитию эпилепсии и нейродегенерации [6–8].

Важной частью развивающейся воспалительной реакции в ЦНС является активация каскада комплемента в поврежденном мозге [9], которая повышает степень активации клеток микроглии и астроглии. В ЦНС глиальные клетки и нейроны конститутивно экспрессируют белки классического и альтернативного пути комплемента [10, 11], а также рецепторы для продуктов активации C3- и C5-компонентов (анафилатоксинов): C3aR и C5aR [12–14]. Воспаление идет главным образом через сигналинг по оси C5a–C5aR, в то время как ответ на взаимодействие C3a со своим специфическим рецептором является более сложным. Кроме того, при травматическом повреждении в условиях разрыва гемато-энцефалического и гематоликворного барьеров наблюдается дополнительный массивный приток сывороточных белков системы комплемента, формируя “петлю усиления” нейровоспаления [15, 16].

На животных моделях ЧМТ показано, что активация C3-компонента запускает устойчивый механизм активации микроглии и астроцитов, снижая плотность дендритов и синапсов, ингибируя репаративную миграцию нейробластов через несколько недель после ЧМТ [17]. На нейронах вблизи участка, поврежденного при ЧМТ, локализованы компоненты C3d и C9, это указывает на то, что эти нейроны являются мишенями для комплемента [18]. Экспериментальное блокирование всех путей активации комплемента или только альтернативного пути обеспечивает значительное улучшение по широкому ряду показателей посттравматического восстановления, что указывает на ключевую роль альтернативного пути в развитии хронической патологии после ЧМТ [16].

Необходимо отметить, что в ЦНС система комплемента участвует также в репарации, защите и регенерации резидентных клеток [19]. Сравнение мышей с заблокированным геном C3 и контрольных мышей, подвергшихся ишемическому инсульту, выявило значительное снижение нейрогенеза в субвентрикулярной зоне у мышей с нулевым уровнем C3 через 7 дней после повреждения [20]. Известно, что после повреждения ЦНС астроциты продуцируют NGF (Nerve growth factor) в ответ на анафилатоксины C3a и C5a, а также интерлейкин-1 β [21, 22]. В присутствии C3a продукция NGF увеличивается [23], что способствует выживанию нейронов, их прорастанию и регенерации [24]. Приведенные данные свидетельствуют, что активация комплемента в ЦНС может иметь как повреждающие, так и нейропротекторные эффекты. По-видимому, как и в случае других регуляторов, вовлечение активированных компонентов комплемента в регуляцию разнонаправленных процессов может зависеть от их концентрации и контекста (стадии воспалительной реакции и присутствия других регуляторов). Можно

предположить, что на ранних этапах посттравматического периода ЧМТ использование различных иммуномодулирующих подходов, связанных с угнетением активности комплемента, применением противовоспалительных цитокинов, например, рецепторного антагониста IL-1 (IL-1RA) может быть целесообразно для противодействия избыточному нейровоспалению.

Целью настоящего исследования было изучение возможности противодействия развитию нейроиммунных нарушений, появляющихся у животных после экспериментальной ЧМТ, путем блокирования избыточного воспаления на ранних этапах травматической болезни моноклональными антителами к С3-компоненту комплемента, препаратом рекомбинантного цитокина IL-1RA или при одновременном введении обоих препаратов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 65 крысах-самцах породы Wistar массой 280–330 г, возраст 18–22 недели. Животных содержали в условиях вивария при комнатной температуре с 12-часовым циклом свет/темнота, свободным доступом к воде и пище, на стандартной диете в соответствии с нормами содержания лабораторных животных. Все процедуры с животными проводились в одно и то же время. В качестве модели механической травмы головного мозга использовали модель “падающего груза”, также известную как “модель ударного ускорения” в собственной модификации, вызывающую в основном диффузное повреждение мозга: груз массой 115 г падал с высоты 120 см для нанесения травмы средней тяжести в центр теменной части головы животного. Падение груза направлялось при помощи цилиндрической трубы с внутренним диаметром 20 мм, которая была жестко закреплена на штативе двумя держателями и центрирована над головой крысы. Расстояние между концом трубы и головой животного составляло 7 см [25]. Падающий груз представляет собой металлический полый стержень диаметром 16 мм и плоской ударной поверхностью (площадь ударной поверхности около 2 см²). Наркотизированное животное помещалось на мягкой поролоновой прокладке толщиной 3 см, голова крысы была защищена металлической пластиной, которая за счет фиксирующих ее резинок прижимала голову животного к поролону в нужном для экспериментаторов положении. Таким образом, животное было защищено от переломов свода черепа, и удар падающим грузом вызывал ударное ускорение, достаточное для повреждения ткани головного мозга. О степени повреждения головного мозга судили по развитию клонических, тонических судорог в первые минуты посттравматического периода, увеличению времени выхода из наркоза по сравнению с интактными животными (236 ± 42 с у травмированных животных, против 108 ± 17 с у интактных), снижению двигательной и исследовательской активности в первые часы после травмы, снижению массы тела травмированных крыс в последующие дни наблюдения.

Перед нанесением травмы животные получали наркоз: ингаляцию эфира осуществляли путем загрузки лабораторных животных в стеклянную емкость (эксикатор) с притертой крышкой объемом 3.0 л – со стандартной дозой эфира (1 мл на 1.0 л воздуха) [26].

Системный (внутривенный) путь введения и временное окно инъекции выбирались на основании нарушения гематоэнцефалического барьера в течение первых 24 ч после травмы [27, 28]. Это создает “временное окно” для достижения интратекального компартмента периферически вводимым соединениям и проявления фармакологических эффектов в ЦНС [29–31].

В эксперименте использовано рекомбинантное антитело 3A8, специфичное к неидетерминанте С3-компонента комплемента крысы, которое обладало способ-

ностью блокировать активацию альтернативного пути комплемента [32]. Препарат, содержащий 100 мг антитела 3A8, и вспомогательные компоненты (натрия хлорид 18.8 мг, натрия дигидрофосфата дигидрат 6.64 мг, натрия гидрофосфатадодекагидрат 2.68 мг, полисорбат-80 0.2 мг, динатрияэдетат 0.36 мг, сахароза 20 мг) был лиофилизирован. Перед использованием препарат регидратировали добавлением 1 мл дистиллированной воды и вводили внутривенно однократно в дозе 100 мг/кг массы через 30 мин после ЧМТ (режим 1) или 24 ч после ЧМТ (режим 2).

Рекомбинантный рецепторный антагонист интерлейкина-1 человека — IL-1ra — (Регистрационное удостоверение, ЛСР-007452/10-300710) вводили подкожно в дозе 50 мг/кг массы тела животного в 0.5 мл изотонического раствора NaCl через 30 мин после ЧМТ (режим 1) или 24 ч после ЧМТ (режим 2).

Отдельной группе животных после ЧМТ вводили оба препарата одновременно в тех же дозах и тем же путем через 30 мин после ЧМТ (режим 1), или через 24 ч после ЧМТ (режим 2).

Контрольные животные получали изотонический раствор NaCl в те же сроки.

Отбор материала для исследования осуществлялся на 7-е сут после ЧМТ, так как ранее нами было показано, что именно к этому сроку у животных развиваются максимальные нарушения различных параметров [33].

В ходе проведения исследования были сформированы следующие экспериментальные группы:

1. Контрольные животные;
2. Животные, перенесшие ЧМТ (группа ЧМТ);
3. Животные, перенесшие ЧМТ, получавшие антитела к C3 компоненту комплемента (группа C3A8);
4. Животные, перенесшие ЧМТ, получавшие препарат рецепторного антагониста IL-1 (группа IL-1Ra);
5. Животные, перенесшие ЧМТ, получавшие оба препарата (группа C3A8 + IL-1Ra).

В каждой серии экспериментов в каждой обозначенной группе животных было по 7 крыс.

Определение гемолитической активности комплемента по альтернативному пути: для оценки гемолитической активности комплемента по альтернативному пути животных выводили из эксперимента путем мгновенной декапитации, собирали кровь в пробирки с воронкой. Пробы крови для анализов отбирали дозатором, далее осаждали и собирали сыворотку. В качестве мишени для комплемент-зависимого лизиса использовали эритроциты кролика в соответствии с методом, описанным [34]. Цельную кровь кролика смешивали с раствором Олсвера (30 mM цитратный буфер pH 6.1, содержащий 71 mM NaCl и 110 mM глюкозы) в соотношении 9 : 1 и хранили не более 5 дней при температуре 4°C. Перед использованием из цельной крови выделяли эритроциты, отмывали на центрифуге K-23D при 400 g в течение 10 мин в GVB/Mg-ЭГТА (4.5 mM натрий-барбиталовый буфер, содержащий 0.15 M NaCl, 10 mM Mg-ЭГТА, 0.05% желатин; pH 7.4) и использовали для анализа в конечной концентрации 10^8 эритроцитов/мл. Сыворотку разводили буфером GVB/Mg-ЭГТА в 100 раз. Эритроциты смешивали с сывороткой крови (конечная концентрация сыворотки при изучении альтернативного пути — 5%) анализируемых образцов и инкубировали 30 мин при температуре 37°C. По окончании инкубации реакцию останавливали добавлением ледяного PBS в соотношении 7.5 : 1. В качестве положительного контроля (100%-ный лизис эритроцитов) использовали образцы, в которых на последнем этапе добавляли дистиллированную воду. Пробы центрифугировали при 500 g в течение 5 мин при комнатной температуре, и затем в супернатантах определяли гемоглобин: отбирали по 200 мкл супернатантов в планшеты.

Оптическую плотность гемоглобин-содержащих супернатантов измеряли на спектрофотометре при длине волны 414 нм. Гемолитическую активность компонента (ГАК) рассчитывали по формуле:

$$\text{ГАК} = \frac{\text{OD}_{414}(\text{образца})}{\text{OD}_{414}(\text{положит. контр})} \times 100\%.$$

Функциональную активность лимфоцитов оценивали по показателям естественной цитотоксичности и пролиферативной активности спленоцитов.

Определение концентрации кортикостерона в крови животных проводилось с помощью наборов для иммуноферментного анализа фирмы DRG Diagnostic (Германия) согласно протоколу, предложенному фирмой-производителем. Кровь после мгновенной декапитации собирали из поврежденных сосудов шеи в пробирки с помощью воронки и выделяли сыворотку путем центрифугирования при температуре 4–6°C.

Определение цитотоксической активности спленоцитов. Выделенные из селезенки и отмые спленоциты разводили в среде RPMI-1640 с добавлением 10% инактивированной фетальной сыворотки (“Биолот”, Санкт-Петербург). Клетки (1×10^5 /мл) использовали для определения пролиферативной и цитотоксической активности. В качестве мишеней (2×10^4 кл./лунку) для определения специфической цитотоксичности спленоцитов крыс использовали клетки эритромиелолейкоза человека К-562 (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург), которые поддерживали *in vitro* в среде RPMI-1640 с добавлением 10% фетальной сыворотки, 2 мМ глюкозы, 1.2 мМ HEPES (pH 7.3), 1.2% глюкозы и 0.08 мг/мл гентамицина (Sigma).

Определение пролиферативной активности спленоцитов в реакции бласттрансформации. Интенсивность пролиферации спленоцитов крыс оценивали по реакции бласттрансформации лимфоцитов селезенки при добавлении к пробам лектина Конканавалина А и рекомбинантного IL-1 β (препарат Беталейкин ГосНИИ Особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург), и антитела к С3-компоненту компонента (производства ГосНИИ Особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург).

Изучение поведенческих реакций животных. Регистрация поведенческих реакций животных после ЧМТ проводилась в тесте “крестообразный лабиринт” [35]. Регистрировали и анализировали с использованием программного обеспечения Video-Mot 2 (TSESystems, Германия) двигательную активность, учитывая общую длину пробега. Исследовательская активность животных изучалась по параметрам времени нахождения в центре и открытых рукавах лабиринта, количеству свисаний с рукавов и вертикальных стоек. Оценка эмоционального состояния животных (тревожность) проводилась по количеству актов фризинга (замирания) и груминга. Длительность регистрации поведения каждого животного в тесте составляла 5 мин.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 20.0. Количественные показатели оценивались на соответствие нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка. Результаты представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение; либо, в случае ассиметричного распределения, в виде Me [Min; Max], где Me – выборочная медиана, Min и Max – минимальное и максимальное значения. При сравнении показателей в экспериментальных группах с показателями контрольных животных, либо животных, не получавших лечения, использовали t -критерий Стьюдента для независимых выборок. В случае несоответствия нормальному распределению использовали U -критерий Манна–Уитни. Для учета множественных сравнений применяли поправку Холма–Бонферрони. Различия сравниваемых параметров считали значимыми при $p < 0.05$.

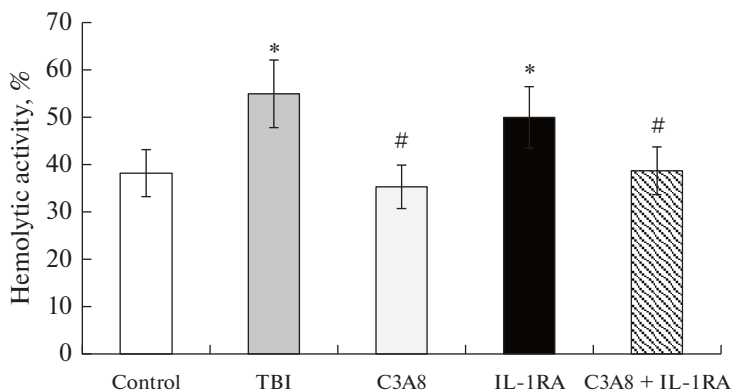


Рис. 1. Гемолитическая активность комплемента сыворотки крови крыс на 7-е сут после ЧМТ и введения препаратов антител к C3 компоненту комплемента (C3A8) и рецепторного антагониста IL-1 (IL-1RA) ($M \pm SD$). * — $p < 0.05$ по сравнению с показателем у контрольных животных. # — $p < 0.05$ по сравнению с показателем у травмированных животных.

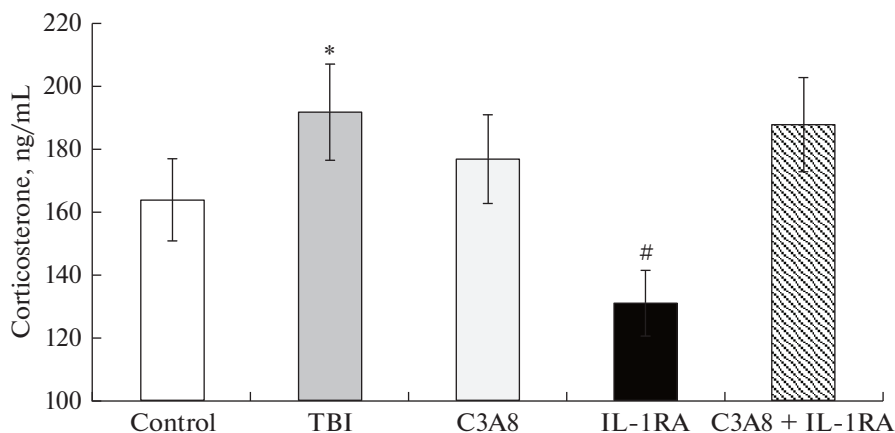


Рис. 2. Изменения концентрации кортикостерона в сыворотке крови крыс на 7-е сут после ЧМТ ($M \pm SD$). * — $p < 0.05$ по сравнению с показателем у контрольных животных. # — $p < 0.05$ по сравнению с показателем у травмированных животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты введения препаратов в режиме 1 (через 30 мин после ЧМТ) представлены на рис. 1–5 и табл. 1.

О влиянии ЧМТ и препаратов C3A8 и IL-1RA на активность системы комплемента судили по его гемолитической активности в тесте АН50. Представленные на рис. 1 данные свидетельствуют, что активность комплемента по альтернативному пути была повышена на 7-е сут после ЧМТ у травмированных животных, а введение препарата C3A8 самостоятельно или совместно с IL-1RA снижало ее до уровня контрольных животных.

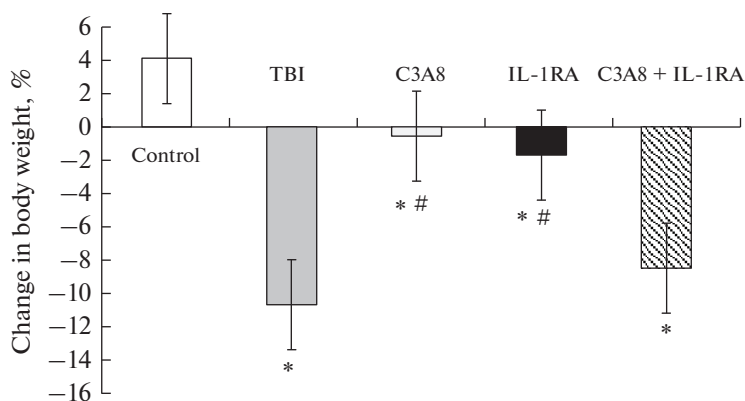


Рис. 3. Изменения массы тела крыс на 7-е сут после ЧМТ ($M \pm SD$). * – $p < 0.05$ по сравнению с показателем у контрольных животных. # – $p < 0.05$ по сравнению с показателем у травмированных животных.

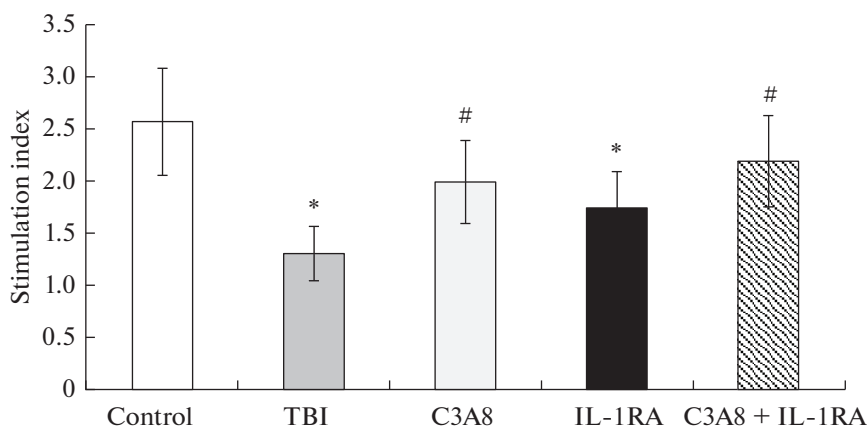


Рис. 4. Пролиферативная активность спленцитов крыс на 7-е сут после ЧМТ ($M \pm SD$). * – $p < 0.05$ по сравнению с показателем у контрольных животных. # – $p < 0.05$ по сравнению с показателем у травмированных животных.

ЧМТ явилась существенным стрессогенным событием, о чем свидетельствуют повышение уровня кортикостерона в крови травмированных животных (рис. 2). Существенных изменений уровня кортикостерона в группах животных, получавших СЗА8, мы не обнаружили, при том что после введения рецепторного антагониста IL-1 уровень кортикостерона был ниже, чем у травмированных нелеченых крыс.

В изученных группах животных наибольшее снижение массы наблюдалось у травмированных крыс (рис. 3), в то время как минимальная потеря массы к 7-му дню после травмы отмечена у крыс, пролеченных СЗА8 и препаратом IL-1RA в течение 30 мин после ЧМТ. Совместное введение одновременно двух препаратов в ранний посттравматический период не повлияло существенно на снижение массы тела.

Пролиферативная активность спленцитов и цитотоксичность естественных киллеров существенно снижалась у травмированных нелеченых животных (рис. 4,

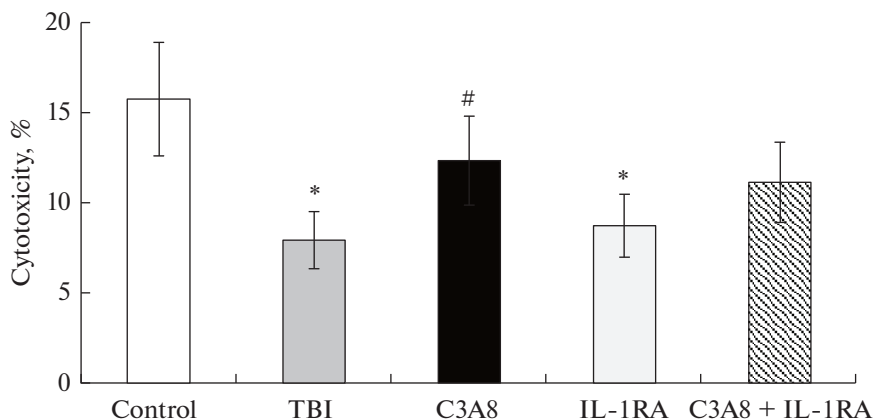


Рис. 5. Цитотоксическая активность ЕК-клеток крыс на 7-е сут после ЧМТ ($M \pm SD$). * — $p < 0.05$ по сравнению с показателем у контрольных животных. # — $p < 0.05$ по сравнению с показателем у травмированных животных.

рис. 5), однако введение препарата С3А8 самостоятельно или совместно с IL-1RA усиливало пролиферативную активность, приближая ее к показателям контрольных животных (рис. 4). При этом цитотоксическая активность ЕК-клеток корректировалась при введении только препарата С3А8 в указанном режиме.

Изучение поведенческих реакций, проведенных в тесте “крестообразный лабиринт”, показало, что двигательная активность крыс на 7-е сут после ЧМТ существенно снизилась по сравнению с этим показателем у контрольных животных (табл. 1). В группе крыс, получавших только С3А8, двигательная активность восстанавливалась и не отличалась от этого показателя у контрольных животных. В группах сравнения, получавших препарат рецепторного антагониста IL-1 и комплекс С3А8 + IL-1RA, двигательная активность животных не улучшалась.

Исследовательская активность животных изучалась по параметрам времени нахождения в центре и открытых рукавах лабиринта, количеству свисаний с рукавов и вертикальных стоек. На 7-й день после травмы показатели исследовательской активности у травмированных нелеченых животных не отличались существенно от кон-

Таблица 1. Поведение крыс в крестообразном лабиринте на 7-й день после ЧМТ и введения препаратов антител С3А8 и rIL-1RA, Ме [Min; Max]

Экспериментальные группы ($n = 7$ в каждой группе)	Двигательная активность (длина пробега, м)	Паттерны активного, поискового поведения		Паттерн тревоги (фризинг + гриминг, шт.)
		свисания, стойки, шт.	открытый рукав, центр лабиринта, с	
Контроль	2.02 [1.77; 2.12]	18.5 [12; 29]	62.0 [51; 95]	2.0 [1; 4]
ЧМТ	1.81 [1.38; 1.95]*	19.5 [16; 29]	47.0 [26; 73]	6.0 [4; 11]*
С3А8	2.11 [2.04; 2.15] [#]	20.0 [10; 27]	104.5 [79; 121]* [#]	2.5 [1; 4] [#]
IL-1RA	1.51 [1.18; 1.89]*	10.0 [5; 12]* [#]	21.5 [13; 36]* [#]	8.0 [5; 10]*
С3А8 + IL-1RA	1.70 [1.46; 1.97]*	10.5 [9; 18]	38.0 [19; 117]	3.0 [1; 4] [#]

* — $p < 0.05$ по сравнению с показателем у контрольных животных. [#] — $p < 0.05$ по сравнению с показателем у травмированных животных.

трольных, однако после введения крысам СЗА8 исследовательская активность была выше по параметрам времени нахождения в центре и в открытых рукавах, чем у контрольных животных. Интересно, что введение препарата IL-1RA снижало показатели исследовательской активности, тогда как его совместное применение с СЗА8 не изменяло эти поведенческие параметры по сравнению с контрольными животными.

Оценка эмоционального состояния животных по количеству актов фризинга и груминга показала, что тревожность крыс существенно возрастала на 7-й день после травмы. У крыс, пролеченных СЗА8, тревожность достоверно снижалась. Введение препарата IL-1RA не снижало показателя тревожности (он не отличался существенно от показателя травмированных животных), тогда как при совместном применении IL-1RA с СЗА8 показатель тревожности был существенно ниже, чем у травмированных крыс.

При введении препаратов в режиме 2 (через 24 ч после ЧМТ) большинство параметров, изученных в данном исследовании, не показали достоверных изменений по сравнению с параметрами травмированных нелеченых животных. Только гемолитическая активность комплемента к 7-му дню после травмы была существенно ниже у крыс, пролеченных СЗА8 в режиме 2, чем у нелеченых крыс после ЧМТ (38.3 ± 10.8 vs. 53.3 ± 4.7 соответственно, $p < 0.05$), и не отличалась от таковой при введении СЗА8 в режиме 1 (48.4 ± 8.3 vs. 53.3 ± 5.78 ; $p > 0.05$). При введении препарата IL-1RA и при совместном введении СЗА8 и IL-1RA достоверных изменений исследованных параметров по сравнению с нелечеными животными не выявлено.

Представленные данные позволяют заключить, что однократная инъекция антител СЗА8 в кратчайший срок после травмы (30 мин) позволила на 7-й день после травмы (период наиболее выраженных нарушений) существенно снизить гемолитическую активность комплемента при активации по альтернативному пути, уменьшить посттравматическую потерю массы тела крыс. При этом естественная цитотоксичность спленоцитов и их пролиферативная активность была существенно более высокой. Также поведенческие реакции у животных, пролеченных СЗА8, были более физиологичными: сохранялась высокая двигательная и исследовательская активности при более низком уровне тревожности. Однако при введении препарата СЗА8 в более поздний срок (через 24 ч после ЧМТ) подобного позитивного эффекта не наблюдалось.

Однократное введение препарата IL-1RA снизило уровень кортикостерона на 7-й день после травмы, позволило существенно снизить посттравматическую потерю массы тела животных, но не повлияло на функциональную активность лимфоцитов (по результатам тестов РБТЛ и определения NK-активности) и поведенческие характеристики. Интересно, что одновременное использование обоих препаратов не усиливало их действия ни в одном из изученных тестов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное ранее морфологическое исследование ткани мозга после ЧМТ в использованной нами экспериментальной модели показало, что доля метаболически неактивных тканей вплоть до 14-го дня после ЧМТ достигает 18–20% на срезах коры головного мозга, доля клеток с поврежденной ДНК достигает 31–38%, причем существенно поэтапно изменяется и степень активации микроглии. [36]. Развившееся в результате “ударного ускорения” диффузное повреждение ткани мозга индуцирует защитную воспалительную реакцию, как общую, так и нейровоспаление, что связано с повышенной продукцией про- и противовоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин IL-6, IL-1, IL-8, IL-10 и фактор некроза опухоли-альфа (TNF α) [37]. В частности, IL-1 β активирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось, индуцируя стресс-реакцию. [38]. Ранее показано, что ЧМТ является сильным стрессогенным фактором, а переносимый стресс связан с резкими

колебаниями кортикостерона [39] и потерей массы тела [40]. Полученные в настоящем исследовании данные об уровне кортикостерона на 7-й день после травмы свидетельствуют, что после ЧМТ его уровень был существенно повышен (рис. 2), но после введения препарата IL-1RA в режиме 1 этот показатель был снижен, что соответствует представлениям о решающей роли цитокинов семейства IL-1 в индукции стресс-реакции. Введение препарата СЗА8 в режимах 1 и 2 не повлияло на уровень кортикостерона на 7-й день после травмы, что связано с другими задействованными противовоспалительными реакциями. Так, известно, что снижение массы тела у травмированных животных обусловлено системной катаболической реакцией, которая истощает как жировую, так и мышечную массу и обусловлена существенным повышением уровня провоспалительных цитокинов, таких как TNF, IL-1 α , IL-6 [41]. Учитывая эту закономерность, можно утверждать, что существенно меньшее снижение массы тела у крыс, получавших СЗА8 и gIL-1RA, по сравнению с нелечеными травмированными животными свидетельствует о подавлении у них активности воспалительного процесса после ЧМТ. Однако иммунотропное действие изучаемых препаратов, оцененное по их влиянию на функциональное состояние периферических лимфоцитов/спленоцитов, было различным. Так, препарат СЗА8, вводимый в режиме 1, позволил сохранить высокую пролиферативную активность спленоцитов и цитотоксичность естественных киллеров, тогда как препарат gIL-1RA не имел такого действия.

Система комплемента, наряду с цитокинами, активируется при ЧМТ и является важным компонентом воспалительного/противовоспалительного ответа [15]. Современные протеомные и транскриптомные исследования показали, что ЧМТ повышает экспрессию генов белков, задействованных во всех путях активации комплемента [42]. Причем в развитии острой фазы ЧМТ особенно вовлечены ген и белок C3 [43]. Используя масс-спектрометрию, выявили, что среди 32 белков, резко и хронически активируемых в сыворотке пациентов с тяжелой ЧМТ, было 5 белков системы комплемента, включая центральный компонент C3 [44]. Протеомные данные показали, что у грызунов именно компонент C3 является узловым белком в кортикальных сетях межбелковых взаимодействий на стадии потери массы тела после ЧМТ [45]. Раскрывая механизмы влияния комплемента на развитие нейровоспаления, определили, что астроциты, индуцируемые активированной микроглией, секретируют комплемент C3 [46]. В свою очередь C3, активируясь, опсонизирует нейроны и синапсы, что вызывает вторичное повреждение и снижение когнитивных функций как в острой, так и в хронической фазах после ЧМТ [46].

В соответствии с этими патогенетическими механизмами несколько исследований на животных показали, что ингибирование комплемента после ЧМТ оказывает нейропротекторное действие и улучшает результаты в поведенческих тестах и гистологическую картину мозга [47–49]. В частности, при блокировании альтернативного пути активации комплемента у мышей, лишенных фактора В (fB^{-/-}), после ЧМТ снижается потеря нейронов с сопутствующим усилением экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 и подавлением проапоптотического рецептора Fas по сравнению с контрольными животными [50].

Полученные нами данные подтверждают эффективность ингибирования альтернативного пути комплемента препаратом СЗА8 для уменьшения неврологических нарушений, выявляемых в поведенческих тестах (а именно повышение двигательной и исследовательской активности при существенном снижении уровня тревожности) в случае раннего (через 30 мин после ЧМТ) введения препарата.

Необходимо отметить, что отсутствие выраженного позитивного эффекта при введении препарата gIL-1RA не свидетельствует о его неэффективности. Ранее нами получены убедительные данные о нейропротективном действии данного препарата (по результатам измерения потери массы тела, поведенческих тестов, гистоло-

гических исследований ткани мозга, функциональной активности спленоцитов и уровню кортизола) при другой схеме введения (подкожное введение в дозе 50 мг/кг массы тела животного в 0.5 мл изотонического раствора NaCl через 1 ч после ЧМТ и еще дважды в течение последующих двух суток, всего три инъекции) [51]. Эти результаты позволяли рассчитывать, что совместное введение препаратов С3А8 и rIL-1RA может обеспечить синергичный эффект за счет активации различных противовоспалительных механизмов, индуцируемых обоими препаратами. Однако полученные результаты свидетельствуют о том, что в использованных нами режимах 1 и 2 такой эффект не достигается. В совокупности, полученные нами данные свидетельствуют, что ингибирование комплемента препаратом С3А8 может давать позитивные терапевтические эффекты при использовании в ранний период после ЧМТ.

Перспективными могут быть дальнейшие исследования для изучения возможных эффектов препарата при его повторных введениях в течение длительного периода, так как недавние исследования показали продолжающуюся активацию комплемента до 6 мес. после ЧМТ и продолжающееся снижение когнитивных функций, которое было обратимым при ингибировании комплемента даже при введении ингибитора через 2 мес. после травмы [46, 52]. Поскольку в патогенезе ЧМТ активно участвуют и классический, и лектиновый пути, ведутся изучения ингибитора компонента С4 [15] и С1-ингибитора, оба воздействия приводят к ингибированию как классического, так и лектинового пути [53].

Возможно, что более комплексный подход, позволяющий регулировать различные пути активации комплемента в разные сроки после ЧМТ, позволит достигать клинически значимых результатов, не допуская развития тяжелых посттравматических нарушений и заболеваний у лиц, перенесших серьезную ЧМТ.

ВЫВОДЫ

1. Однократное введение через 30 мин после ЧМТ (режим 1) препарата моноклонального антитела 3А8 (С3А8), блокирующего активацию комплемента по альтернативному пути, позволило на 7-й день после травмы снизить гемолитическую активность комплемента в тесте АН50, уменьшить посттравматическую потерю массы тела, повысить естественную цитотоксичность лимфоцитов и их пролиферативную активность, а также усилить двигательную и исследовательскую активности при существенном снижении уровня тревожности у животных.

2. Введение препарата С3А8 через сутки после ЧМТ (режим 2) снижало уровень активности комплемента в тесте АН50, но не приводило к позитивным изменениям функциональной активности лимфоцитов и коррекции в поведенческих тестах.

3. Однократное в режиме 1 и 2 введение препарата rIL-1RA или его совместное использование с препаратом С3А8 в обоих исследованных режимах не улучшало состояние травмированных крыс по результатам всех исследованных параметров.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты проводили в соответствии с Национальным стандартом РФ ГОСТ Р-53434-2009 “Принципы надлежащей лабораторной практики” и Приказом Минздрава РФ от 01.04.16 г. № 199н “Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики”. Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии ФГБНУ “Институт экспериментальной медицины” (протокол 6/20 от 21.10.2020 г.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в соответствии с плановыми исследованиями по теме FGWG-2022-0007 “Исследование молекулярно-клеточных механизмов нейроиммунных взаимодействий и по-

иск новых подходов для создания корректоров нарушений на основе пептидов системы врожденного иммунитета”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с опубликованием этой статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Н.Б.С. — идея работы, общее руководство, обсуждение, написание и редактирование статьи. Е.Е.Ф. — сбор данных в эксперименте, обработка данных, написание и редактирование статьи. С.Н.Ш. — сбор данных в эксперименте, обработка данных, написание статьи. Т.А.Ф. — сбор и обработка данных, написание статьи. А.М.И. — идея, обоснование порядка экспериментов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность к.б.н., с.н.с. отдела общей патологии патофизиологии Института экспериментальной медицины Жарковой Марии Сергеевне за помощь в обработке и оформлении материала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Maas AI, Stocchetti N, Bullock R* (2008) Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *Lancet Neurol* 7(8): 28–41.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70164-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70164-9)
2. *Allan SM, Rothwell NJ* (2001) Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* 2(10): 734–744.
<https://doi.org/10.1038/35094583>
3. *Barkhoudarian G, Hovda DA, Giza CC* (2016) The Molecular Pathophysiology of Concussive Brain Injury — an Update. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 27(2): 373–393.
<https://doi.org/10.1016/j.pmr.2016.01.003>
4. *Patterson ZR, Holahan MR* (2012) Understanding the neuroinflammatory response following concussion to develop treatment strategies. *Front Cell Neurosci* 6: 58.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2012.00058>
5. *Van Erp IAM, Michailidou I, van Essen TA, van der Jagt M, Moojen W, Peul WC, Baas F, Fluiter K Tackling* (2022) Neuroinflammation After Traumatic Brain Injury: Complement Inhibition as a Therapy for Secondary Injury. *Neurotherapeutics* 12.
<https://doi.org/10.1007/s13311-022-01306-8>
6. *McAllister TW* (2011) Neurobiological consequences of traumatic brain injury. *Dialogues Clin Neurosci* 13(3): 287–300.
<https://doi.org/10.31887/DCNS.2011.13.2/tmcallister>
7. *Graham NS, Sharp DJ* (2019) Understanding neurodegeneration after traumatic brain injury: from mechanisms to clinical trials in dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 90 (11): 1221–1233.
<https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-317557>
8. *Chen M, Edwards SR, Reutens DC* (2020) Complement in the Development of Post-Traumatic Epilepsy: Prospects for Drug Repurposing. *J Neurotrauma* 37(5): 692–705.
<https://doi.org/10.1089/neu.2019.6942>
9. *Azouvi P, Arnould A, Dromer E, Vallat-Azouvi C.* (2017) Neuropsychology of traumatic brain injury: An expert overview. *Rev Neurol (Paris)* 173(7–8): 461–472.
<https://doi.org/10.1016/j.neurol.2017.07.006>
10. *Gasque P, Ischenko A, Legoeud J, Mauger C, Schouft MT, Fontaine M* (1993) Expression of the complement classical pathway by human glioma in culture. A model for complement expression by nerve cells. *J Biol Chem* 268: 25068–25074.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)74572-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)74572-4)
11. *Barnum SR* (1995) Complement biosynthesis in the central nervous system. *Crit Rev Oral Biol Med* 6: 132–146.
<https://doi.org/10.1177/10454411950060020301>
12. *Gasque P, Singhrao SK, Neal JW, Gotze O, Morgan B* (1997) Expression of the receptor for complement C5a (CD88) is up-regulated on reactive astrocytes, microglia, and endothelial cells in the inflamed human central nervous system. *Am J Pathol* 150: 31–41.
13. *Ischenko A, Sayah S, Patte C, Andreev S, Gasque P, Schouft MT, Vaudry H, Fontaine M* (1998) Expression of a functional anaphylatoxin C3a receptor by astrocytes. *J Neurochem* 71(6):

- 2487–2496.
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.71062487.x>
14. *Farkas I, Baranyi L, Takahashi MA, Liposits Zs, Yamamoto T, Okada H* (1998) A neuronal C5a receptor and an associated apoptotic signal transduction pathway J Physiol 507(Pt 3): 679–687.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1998.679bs.x>
 15. *Hammad A, Westacott L, Zaben M* (2018) The role of the complement system in traumatic brain injury: a review. J Neuroinflammat 15(1): 24.
<https://doi.org/10.1186/s12974-018-1066-z>
 16. *Fumagalli S, Perego C, Pischiutta F, Zanier ER, De Simoni M-G* (2015) The ischemic environment drives microglia and macrophage function. Front Neurol 6: 81.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2015.00081>
 17. *Alawieh A, Langley EF, Weber S, Adkins D, Tomlinson S* (2018) Identifying the Role of Complement in Triggering Neuroinflammation after Traumatic Brain Injury. J Neurosci 38(10): 2519–2532.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2197-17.2018>
 18. *Bellander BM, von Holst H, Fredman P, Svensson M* (1996) Activation of the complement cascade and increase of clusterin in the brain following a cortical contusion in the adult rat. J Neurosurg 85(3): 468–475.
<https://doi.org/10.3171/jns.1996.85.3.0468>
 19. *Rutkowski MJ, Sughrue ME, Kane AJ, Mills SA, Fang S, Parsa AT* (2010) Complement and the central nervous system: emerging roles in development, protection and regeneration. Immunol Cell Biol 88: 781–786.
<https://doi.org/10.1038/icb.2010.48>
 20. *Rahpeymai Y, Hietala MA, Wilhelmsson U, Fotheringham A, Davies I, Nilsson A-K, Zwirner J, Wetsel RA, Gerard C, Pekny M, Pekna M* (2006) Complement: a novel factor in basal and ischemia-induced neurogenesis. EMBO J 25: 1364–1374.
<https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601004>
 21. *Oderfeld-Nowak B, Bacia A, Grdkowska M, Fusco M, Vantini G, Leon A, Aloe L* (1992) In vivo activated brain astrocytes may produce and secrete nerve growth factor-like molecules. Neurochem Int 21: 455–4561.
[https://doi.org/10.1016/0197-0186\(92\)90197-y](https://doi.org/10.1016/0197-0186(92)90197-y)
 22. *Jauneau A, Ischenko A, Chatagner A, Benard M, Chan P, Schouft M, Patte C, Vaudry H, M* (2006) Interleukin-1 β and anaphylatoxins exert a synergistic effect on NGF expression by astrocytes. J Neuroinflammat 3: 8.
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-3-8>
 23. *Heese K, Hock C, Otten U* (1998) Inflammatory signals induce neurotrophin expression in human microglial cells. J Neurochem 70: 699–707.
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.70020699.x>
 24. *Ramirez JJ, Caldwell JL, Majure M, Wessner DR, Klein RL, Meyer EM, King MA* (2003) Adeno-associated virus vector expressing nerve growth factor enhances cholinergic axonal sprouting after cortical injury in rats. J Neurosci 23: 2797–2803.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-07-02797.2003>
 25. *Шанин СН, Фомичева ЕЕ, Филатенкова ТА, Серебряная НБ* (2018) Коррекция нарушений нейроиммунных взаимодействий при экспериментальной черепно-мозговой травме препаратом рекомбинантного интерлейкина-2. Мед иммунол 20(2): 171–178. [*Shanin SN, Fomicheva EE, Filatenkova TA, Serebryanaya NB* (2018) Correction of disorders of neuroimmune interactions in experimental traumatic brain injury with a drug of recombinant interleukin-2. Med Immunol 20(2): 171–178. (In Russ)].
<https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-2-171-178>
 26. *Якубовский АП, Жмайлик РР* (2015) Метод проведения эфирного наркоза по закрытому контуру в эксперименте. Смоленск мед альманах № 1. [*Yakubovsky AP, Zhmaylik RR* (2015) Method of conducting ether anesthesia on a closed circuit in an experiment. Smolensk Med Almanac № 1. (In Russ)].
 27. *Chen Y, Constantini S, Trembovler V, Weinstock M, Shohami E* (1996) An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. J Neurotrauma 13: 557–568.
<https://doi.org/10.1089/neu.1996.13.557>
 28. *Stahel PF, Shohami E, Younis FM, Kariya K, Otto VI, Lenzlinger PM, Grosjean MB, Eugster HP, Trentz O, Kossmann T, Morganti-Kossmann MC* (2000) Experimental closed head injury: analysis of neurological outcome, blood-brain barrier dysfunction, intracranial neutrophil infiltration, and neuronal cell death in mice deficient in genes for pro-inflammatory cytokines. J Cereb Blood Flow Metab 20: 369–380.
<https://doi.org/10.1097/00004647-200002000-00019>
 29. *Leinhase I, Schmidt OI, Thurman JM, Hossini AM, Rozanski M, Taha ME, Scheffler A, John T, Smith WR, Holers VM, Stahel PF* (2006) Pharmacological complement inhibition at the C3 convertase level promotes neuronal survival, neuroprotective intracerebral gene expression, and

- neurological outcome after traumatic brain injury. *Exp Neurol* 199: 454–464.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.01.033>
30. *Yatsiv I, Grigoriadis N, Simeonidou C, Stahel PF, Schmidt OI, Alexandrovitch AG, Tsender J, Shohami E* (2005) Erythropoietin is neuroprotective, improves functional recovery, and reduces neuronal apoptosis and inflammation in a rodent model of experimental closed head injury. *FASEB J* 19: 1701–1703.
<https://doi.org/10.1096/fj.05-3907fje>
 31. *Yatsiv I, Morganti-Kossmann MC, Perez D, Dinarello CA, Novick D, Rubinstein M, Otto VI, Rancan M, Kossmann T, Redaelli CA, Trentz O, Shohami E, Stahel PF* (2002) Elevated intracranial IL-18 in humans and mice after traumatic brain injury and evidence of neuroprotective effects of IL-18-binding protein after experimental closed head injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 22: 971–978.
<https://doi.org/10.1097/00004647-200208000-00008>
 32. *Горбунов НП, Жахов АВ, Трофимов АВ, Некрасова КА, Родин СВ, Атанесян ЕА, Карабанова ЕА, Захаров МС, Симбирцев АС, Ищенко АМ* (2019) Комплемент при патологиях, возможность коррекции с помощью нового гуманизированного антитела, блокирующего альтернативный путь. *Рос иммунол журн* 22(2–2): 754–756. [*Gorbunov NP, Zhakhov AV, Trofimov AV, Nekrasova KA, Rodin SV, Atanesyan EA, Karabanova EA, Zakharov MS, Simbirtsev AS, Ishchenko AM* (2019) Complement in pathologies, the possibility of correction with a new humanized antibody that blocks an alternative pathway. *Russ Immunol J* 22(2–2): 754–756. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S102872210006712-8>
 33. *Фомичева ЕЕ, Шанин СН, Филатенкова ТА, Серебряная НБ* (2020) IL-2 как регулятор уровней стресс-гормонов и нейротропного фактора BDNF при экспериментальной черепно-мозговой травме. *Мед иммунол* 22(4): 647–656. [*Fomicheva EE, Shanin SN, Filatenkova TA, Serebryanaya NB* (2020) IL-2 as a regulator of stress hormones and neurotropic factor BDNF in experimental traumatic brain injury. *Med Immunol* 22(4): 647–656. (In Russ)].
<https://doi.org/10.15789/1563-0625-IAR-1973>
 34. *Joiner KA, Hawiger A, Gelfand J* (1983) A study of optimal reaction conditions for an assay of the human alternative complement pathway. *Am J Clin Pathol* 79: 65–72.
<https://doi.org/10.1093/ajcp/79.1.65>
 35. *Буреш Я, Бурешова О, Хьюстон ДП* (1991) Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Ред. АС Батуев. М. Высш. шк. [*Buresh Ya, Bureshova O, Houston DP* (1991) Methods and basic experiments to study the brain and behavior. Ed. AC Batuev. M. Higher School. (In Russ)].
 36. *Дмитриенко ЕВ, Акимото Н, Наое С, Нода М, Рыбакина ЕГ, Корнева ЕА* (2013) Иммунная система мозга и черепно-мозговая травма: попытки коррекции. *Мед акад журн* 13(4): 7–19. [*Dmitrienko EV, Akimoto N, Naoe S, Noda M, Rybakina EG, Korneva EA* (2013) Immune system of the brain and traumatic brain injury: attempts at correction. *Med Acad J* 13(4): 7–19. (In Russ)].
 37. *Rodney T, Osier N, Gill J* (2018) Pro- and anti-inflammatory biomarkers and traumatic brain injury outcomes: A review. *Cytokine* 110: 248–256.
<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.01.012>
 38. *Simi A, Tsakiri N, Wang P, Rothwell N* (2007) Interleukin-1 and inflammatory neurodegeneration. *Biochem Soc Trans* 35(5): 1122–1126.
<https://doi.org/10.1042/BST0351122>
 39. *Фомичева ЕЕ, Шанин СН, Филатенкова ТА, Серебряная НБ* (2019) Коррекция стресс-индуцированных гормональных изменений введением rIL-2 при экспериментальной черепно-мозговой травме. *Мед акад журн* 19(1S): 199–200. [*Fomicheva EE, Shanin SN, Filatenkova TA, Serebryanaya NB* (2019) Correction of stress-induced hormonal changes by the introduction of rIL-2 in experimental traumatic brain injury. *Med Acad J* 19(1S): 199–200. (In Russ)].
<https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-2-171-178>
 40. *Scherer JJ, Holmes PV, Harris RB* (2011) The importance of corticosterone in mediating restraint-induced weight loss in rats. *Physiol Behav* 102(2): 225–233.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.11.014>
 41. *Муралева НА* (2019) Влияние хронического стресса на массу тела и иммунных органов экспериментальных животных раннего возраста. *Волгоградск науч-мед журн* 64(4): 3. [*Muraeva NA* (2019) Influence of chronic stress on body weight and immune organs of experimental animals of early age. *Volgograd J Med Scient Res* 64(4): 3. (In Russ)].
 42. *Toutonji A, Mandava M, Guglietta S, Tomlinson S* (2021) Chronic complement dysregulation drives neuroinflammation after traumatic brain injury: a transcriptomic study. *Acta Neuropathol Commun* 9(1): 126.
<https://doi.org/10.1186/s40478-021-01226-2>
 43. *Wang H, Chen J, Gao C, Chen W, Chen G, Zhang M, Luo C, Wang T, Chen X, Tao L* (2021) TMT-based proteomics analysis to screen potential biomarkers of acute-phase TBI in rats. *Life Sci* 264: 118631.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118631>
 44. *Bao W, He F, Yu L, Gao J, Meng F, Ding Y, Zou H, Luo B* (2018) Complement cascade on severe traumatic brain injury patients at the chronic unconscious stage: implication for pathogenesis.

- Expert Rev Mol Diagn 18: 761–766.
<https://doi.org/10.1080/14737159.2018.1471985>
45. Wang J, Hou Y, Zhang L, Liu M, Zhao J, Zhang Z, Ma Y, Hou W (2021) Estrogen Attenuates Traumatic Brain Injury by Inhibiting the Activation of Microglia and Astrocyte-Mediated Neuroinflammatory Responses. *Mol Neurobiol* 58(3): 1052–1061.
<https://doi.org/10.1007/s12035-020-02171-2>
 46. Alawieh A, Chalhoub R, Mallah K, Langley EF, York M, Broome H, Couch C, Adkins D, Tomlinson S (2021) Complement drives synaptic degeneration and progressive cognitive decline in the chronic phase after traumatic brain injury. *J Neurosci* 41(8): 1830–1843.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1734-20.2020>
 47. Rich MC, Keene CN, Neher MD, Johnson K, Yu Z-X, Ganivet A, Holers VM, Stahel PF (2016) Site-targeted complement inhibition by a complement receptor 2-conjugated inhibitor (mTT30) ameliorates post-injury neuropathology in mouse brains. *Neurosci Lett* 617: 188–194.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.02.025>
 48. Mercurio D, Oggioni M, Fumagalli S, Lynch NJ, Roscher S, Minuta D, Perego C, Ippati S, Wallis R, Schwaebler WJ, De Simoni M-G (2020) Targeted deletions of complement lectin pathway genes improve outcome in traumatic brain injury, with MASP-2 playing a major role. *Acta Neuropathol Commun* 8: 174.
<https://doi.org/10.1186/s40478-020-01041-1>
 49. Fluiter K, Oppenhuizen AL, Morgan BP, Baas F, Ramaglia V (2014) Inhibition of the membrane attack complex of the complement system reduces secondary neuroaxonal loss and promotes neurologic recovery after traumatic brain injury in mice. *J Immunol* 192: 2339–2348.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1302793>
 50. Leinhardt I, Holers VM, Thurman JM, Harhausen D, Schmidt OI, Pietzcker M, Taha ME, Rittirsch D, Huber-Lang M, Smith WR, Ward PA, Stahel PF (2006) Reduced neuronal cell death after experimental brain injury in mice lacking a functional alternative pathway of complement activation. *BMC Neurosci* 7: 55.
<https://doi.org/10.1186/1471-2202-7-55>
 51. Фомичева ЕЕ, Шанин СН, Филатенкова ТА, Новикова НС, Дятлова АС, Ищенко АМ, Серебряная НБ (2022) Коррекция нарушений поведенческих реакций и состояния микроглии рекомбинантным рецепторным антагонистом рецептора ИЛ-1 при экспериментальной ЧМТ. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 108(10): 1264–1278. [Fomicheva EE, Shanin SN, Filatenkova TA, Novikova NS, Dyatlova AS, Ishchenko AM, Serebryanaya NB (2022) Correction of behavioral disorders and microglial state with a recombinant IL-1 receptor antagonist in experimental TBI. *Russ J Physiol* 108(10): 1264–1278. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/50869813922100077>
 52. Mallah K, Couch C, Alshareef M, Borucki D, Yang X, Alawieh A, Tomlinson S (2021) Complement mediates neuroinflammation and cognitive decline at extended chronic time points after traumatic brain injury. *Acta Neuropathol Commun* 9: 72.
<https://doi.org/10.1186/s40478-021-01179-6>
 53. Longhi L, Perego C, Ortolano F, Zanier ER, Bianchi P, Stocchetti N, McIntosh TK, De Simoni MG (2009) C1-inhibitor attenuates neurobehavioral deficits and reduces contusion volume after controlled cortical impact brain injury in mice. *Crit Care Med* 37: 659–665.
<https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e318195998a>

Correction of Immunological and Behavioral Parameters of Rats with Experimental Traumatic Brain Injury with a Preparation of Monoclonal Antibodies to the C3 Component of Complement

N. B. Serebryanaya^{a,*}, E. E. Fomicheva^a, S. N. Shanin^a,
 T. A. Filatenkova^a, A. V. Zhakhov^b, K. A. Nekrasova^c, and A. M. Ishchenko^b

^aInstitute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

^bSaint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

^cState Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia

*e-mail: serebr@gmail.com

After traumatic brain injury (TBI), inflammation develops in the CNS, an active participant in which is the complement system. Activated complement fragments initiate inflammation, and subsequently significantly affect the processes of repair and regeneration. The aim of the work is to reduce neuroimmune disorders after experimental TBI by blocking excessive inflammation in the early stages of traumatic disease with monoclonal antibodies to the C3 component of complement. The work was carried out on 65 male Wistar

rats using the “falling weight” model. To correct neuroinflammation, a preparation of a recombinant monoclonal antibody 3A8, specific for the C3 neodeterminant of the rat complement component, blocking the activation of the alternative complement pathway was administered (i.v., 100 mg/kg). As a reference drug, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist (rIL-1RA) was used, which was administered s.c. (dose of 50 mg/kg). Both drugs were administered once after 30 min of TBI (mode 1) or 24 hours after TBI (mode 2). We studied the levels of corticosterone in the blood, the cytotoxic and proliferative activity of lymphocytes, and behavioral responses in the “plus maze” test. The obtained data indicate that on the 7th day after TBI in rats treated with 3A8 antibodies in mode 1, post-traumatic weight loss was decreased, the natural cytotoxicity of splenocytes and their proliferative activity were increased, and motor and exploratory activity were increased with a significant decrease in the level of anxiety. The introduction of rIL-1RA in these regimens, as well as the combined use of both drugs, did not have a significant effect on the studied parameters.

Keywords: traumatic brain injury, complement system, rIL-1RA, behavior, corticosterone, splenocytes