

Исследование миграции нейтрофилов по кровеносным и лимфатическим сосудам, ассоциированным с легкими мышей, в процессе воспаления, индуцированного грибом *Aspergillus fumigatus*

Научный руководитель – Шевченко Марина Александровна

Смирнова Анастасия Олеговна

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: liliumanstist@gmail.com

Пространственный аспект взаимодействия клеток врожденной иммунной системы в организме хозяина имеет большое значение. Исследования последних лет показали, что диссеминация многих патогенов происходит при участии лимфатической системы. Более того, нейтрофилы - основные медиаторы противомикробного ответа - подавляют распространение патогена в ближайшем к месту проникновения лимфоузле [1]. При этом на модели заражения бактериями *Mycobacterium* была показана способность нейтрофилов мигрировать вместе с патогеном с лимфой [2], тогда как в случае инфицирования *Staphylococcus* миграция нейтрофилов по лимфатическим сосудам почти не наблюдалась [1].

Целью данного исследования было проследить миграцию нейтрофилов по лимфатическим и кровеносным сосудам в процессе развития и разрешения иммунного ответа на условно-патогенный грибок *A. fumigatus*.

Мышам орофарингеально вводили споры гриба, предварительно конъюгированные с Alexa700. В различные промежутки времени после ингаляции выделяли тотальные препараты дыхательных путей, а затем иммуногистохимически окрашивали. Для определения нейтрофилов препараты инкубировали с крысиными anti-Ly6G. Сосуды определяли окрашиванием с применением anti-CD31 козы, а лимфатические капилляры выделяли среди них при помощи anti-Lyve-1 кролика. Далее применяли смесь вторичных антител осла: против иммуноглобулинов крысы с флуоресцентной меткой Alexa488, козы с Alexa555 и кролика с Alexa647. Для визуализации клеток эпителия и гладкой мускулатуры образцов использовали Phalloidin-Atto425. Ядра окрашивали Hoechst33342. Одновременную визуализацию осуществляли на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе Zeiss 780.

Были идентифицированы единичные нейтрофилы в лимфатических сосудах как в острой фазе воспаления (6-24 часа после введения спор), так и на этапе его разрешения. Детальный анализ показал присутствие нейтрофилов на люминальной стороне эндотелия в непосредственной близости от эндотелиальных клеток. При исследовании препаратов бронхов мышей в острой фазе воспаления наблюдалась массовая миграция нейтрофилов по кровеносным сосудам, в то время как на стадии разрешения воспаления таких событий практически не наблюдалась.

Таким образом, было показано присутствие нейтрофилов в ассоциированных с дыхательными путями лимфатических капиллярах при воспалительном процессе, вызванном грибом *A. fumigatus*.

Источники и литература

- 1) Bogoslawski A., Butcher E. C., Kubes P. Neutrophils recruited through high endothelial venules of the lymph nodes via PNA_d intercept disseminating *Staphylococcus aureus* // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2018. T. 115. No. 10. С. 2449-2454.

- 2) Abadie V., Badell E., Douillard P., Ensergueix D., Leenen P.J.M., Tanguy M., Fiette L., Saeland S., Gicquel B., Winter N. Neutrophils rapidly migrate via lymphatics after *Mycobacterium bovis* BCG intradermal vaccination and shuttle live bacilli to the draining lymph nodes // *Blood*. 2005. No 5 (106). C. 1843-1850.