

Авторы:

Строгонова Валерия Викторовна

студентка

Мальцева Александра Сергеевна

студентка

ГБОУ ВО «Первый Московский государственный
медицинский университет им. И.М. Сеченова»

Минздрава России

г. Москва

DOI 10.21661/r-119320

РЕПРОГРАММИРОВАНИЕ МАКРОФАГОВ – НОВАЯ ВОЗМОЖНОСТЬ УПРАВЛЕНИЯ ИММУННЫМ ОТВЕТОМ

***Аннотация:** макрофаги играют одну из ключевых ролей в реализации иммунного ответа. Было доказано, что в зависимости от микроокружения эти клетки способны приобретать провоспалительный M1 или противовоспалительный M2 фенотип (этот феномен был назван континуум или фенотипическая пластичность). На основе этого факта учеными ведутся поиски факторов репрограммирования макрофагов (ФРМ), которые позволят управлять их иммунным ответом. В данной статье освещены некоторые исследования по данному вопросу.*

***Ключевые слова:** макрофаги, фенотипы макрофагов, репрограммирование, поляризация, факторы репрограммирования макрофагов.*

Макрофаги являются одними из ключевых клеток системы врожденного иммунитета, участвуют в запуске и реализации реакций системы приобретенного иммунитета. Их количество составляет до 10–15% от всей популяции клеток в каждом органе. Макрофаги обладают пластичным фенотипом, который позволяет им, в зависимости от условий окружающей среды, перепрограммировать в нужную сторону свои защитные и секреторные ответы. На основе этого и появилась идея репрограммирования макрофагов. Открытие учеными конкретных

факторов репрограммирования макрофагов (ФРМ) поможет в коррекции иммунного ответа и в лечении многих заболеваний. Эти данные можно будет использовать, например, для устранения последствий инсульта путем направления поляризации макрофагов в сторону M2 фенотипа; для лечения опухолей, направляя макрофаги в сторону M1 фенотипа; при воспалительных заболеваниях легких [2–4].

В литературе можно встретить довольно подробное описание функциональных и морфологических характеристик фенотипов макрофагов. Так, M1 макрофаги представляют собой клетки округлой формы, продуцирующие большое количество провоспалительных цитокинов (IL-12, IL-18, TNF- α и воспалительный белок макрофагов 1 α (MIP-1 α)), значительное количество NO и активные формы кислорода. Этот фенотип ассоциирован с иммунным ответом Т хелперов 1-го типа. Активируя антибластомные механизмы M1 макрофаги участвуют в противоопухолевом иммунитете. Стимулами для активации макрофагов по M1 пути являются: Th 1 цитокины; различные микроорганизмы, цитомегаловирус; патоген-ассоциированные молекулярные комплексы; белки теплового шока, бокс 1 высокомолекулярной группы (HMGB1); компоненты внеклеточного матрикса [1; 3].

Макрофаги M2 являются противовоспалительными, они ассоциированы с иммунным ответом Т хелперов 2-го типа. M2 макрофаги имеют фибробластоподобную форму клетки, продуцируют большое количество противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10 и значительно меньше АФК и NO, чем M1. M2 макрофаги регулируют активность воспалительной реакции, участвуют в репарации тканей, поврежденных при воспалении, способствуют ангиогенезу и опухолевому росту. Стимулами для поляризации макрофагов по M2 пути являются: Th2 цитокины; иммунокомплексы в сочетании с ИЛ-1Р, TGF-Р, ИЛ-10; агонисты PPAR-g (рецептор, активирующий пролиферацию пероксисом, гамма); глюкокортикоиды; витамин D3; апоптотические клетки; иногда внутриклеточные патогены. Многие исследователи подразделяют M2 макрофаги на: M2a, M2b

и M2c фенотипы. M2a и M2b макрофаги активируют Th2 реакции. M2a макрофаги привлекают эозинофилов, участвуют в росте соединительной ткани и в ликвидации гельминтозов. M2b макрофаги регулируют и подавляют иммунные и воспалительные реакции. Появлению макрофагов M2a способствуют IL-4, IL-13. Активация макрофагов по M2b фенотипу происходит под воздействием иммунных комплексов в сочетании с ЛПС или IL-1 β . Макрофаги M2c обладают большим количеством сходств с M1 макрофагами, но экспрессируют противовоспалительный цитокин IL-10. Активируются M2c макрофаги под воздействием IL-10, TGF- β , глюкокортикоидов. Этот фенотип макрофагов участвует в синтезе и моделировании межклеточного матрикса [1; 3]. Учеными были отмечены различия в фагоцитарной способности разных типов макрофагов. По отношению к латексным шарикам и частицам зимозана фагоцитоз M2 макрофагов эффективнее, чем M1. Но по отношению к *Staphylococcus aureus* тот же параметр выше у макрофагов фенотипа M1. Также в M1 и M2 макрофагах различается регуляция процесса фагоцитоза при туберкулезной инфекции. Но из этих данных не может последовать какого-либо вывода, так как сравниваемые фагоцитируемые объекты разной природы вещества. Довольно противоречивые результаты были получены и при оценки миграционной способности этих клеток. Наблюдаются различия между фенотипами макрофагов и в предупреждении репликации вируса иммунодефицита человека, так M1 макрофаги предупреждают репликацию на преинтегративных стадиях, а M2 макрофаги – на постинтегративных [4].

Зачастую в тканях присутствует нестандартные популяции макрофагов. Например, при развитии злокачественных опухолей были обнаружены макрофаги M1 / M2 фенотипа. Аналогичного фенотипа макрофаги встречаются и при стрептококковой инфекции. У такого типа клеток повышена экспрессия генов, кодирующих металлотионины, супероксиддисмутазу-2 и тиоредоксин редуктазу (они являются ловушками активных форм кислорода и принимают участие в детоксикации свободных радикалов). Также усилена экспрессия эндосомальной простагландин синтазы-2, которая может способствовать выработке воспали-

тельных простагландинов. Наблюдается усиленная экспрессия цитопротективных молекул которые возможно, способствуют поддержанию гомеостаза при стрептококковой инфекции. Встречаются макрофаги с несоответствием фенотипа и вырабатываемых ими цитокинов. Так, в жировой ткани при ожирении были описаны макрофаги с M2 фенотипом, но вырабатывающие большое количество провоспалительных цитокинов, которые могут приводить к развитию инсулинорезистентности. При инфицировании цитомегаловирусом были обнаружены макрофаги M1 фенотипа, однако выделяемые ими цитокины, соответствовали смешанному фенотипу M1/ M2. Появление таких форм макрофагов наверняка также обусловлено особенностями их микроокружения [3].

На данный момент уже выяснено что некоторые ФРМ находятся в сыворотке крови. Группой ученых была выдвинута гипотеза о том, что с помощью изменения концентрации сыворотки можно влиять на поляризацию макрофагов. Эксперименты проводились на культуре перитонеальных макрофагов, выделенных от мышей линии C57BL/6 и BALB/c, которые имеют генетически детерминированный M1 и M2 фенотип макрофагов, соответственно. Проводили культивирование трех пулов клеток при различных концентрациях сыворотки (пул 0 – при нормальной концентрации 10%; пул 1 – в отсутствие сыворотки; пул 2 – при повышенной концентрации 20%). Затем оценивали функциональную активность (для этого добавляли ЛПС) и морфологические характеристики клеток. Результатом стало то, что ни у C57BL/6, ни у BALB/c макрофагов, культивируемых в среде, содержащей 20% сыворотки, не изменилась не стимулированная продукция NO, но снизилась способность к генерации NO в ответ на ЛПС. Эти изменения предположительно отражают процесс репрограммирования макрофагов в сторону M2 фенотипа. Культивирование макрофагов в отсутствие сыворотки, повысило базальную продукцию NO как макрофагов C57BL/6, так и BALB/c, а также привело к существенному увеличению способность макрофагов обеих линий к генерации NO в ответ на ЛПС. Эти изменения указывают на процесс репрограммирования макрофагов в сторону M1 фенотипа. Морфологические изменения были сопоставимы с функциональными. Для макрофагов мышей линий

C57BL/6 и BALB/c увеличение сыворотки с 0 до 20% приводило к увеличению клеток с фибробластоподобной формой с 20 до 51%. Что подтверждает предположение о репрограммировании макрофагов в сторону M2. И наоборот, снижение содержания сыворотки с 20 до 0% приводит к увеличению клеток округлой формы с 49 до 80%, что позволяет сделать предположение о репрограммировании макрофагов в сторону M1 фенотипа. Также было отмечено, что во всех случаях продукция NO макрофагами C57BL/6 была выше, чем макрофагами BALB/c, что объясняется генетической склонностью макрофагов C57BL/6 к проявлению M1 фенотипа, а BALB/c – M2 фенотипа. На основании полученных данных выдвинутая учеными гипотеза была подтверждена. Но назвать какой-то конкретный ФРМ исследователям так и не удалось. Есть предположение, что использование в экспериментах блокирующих антител может помочь разобраться в роли различных цитокинов в данном процессе [1; 5].

Во многих источниках литературы описывается роль белка сурфактантного белка D (SP-D) в программировании фенотипа макрофагов. Этот белок влияет на секреторную активность защитного белка HSP70. Отсутствие гена SP-D у мышей в ряде экспериментов приводило к увеличению продукции IL-12, индуцированной ЛПС, в M1 фенотипе и не повлияло на продукцию этого интерлейкина в M0 и M2 фенотипах. ЛПС-индуцированная продукция IL-10 была снижена в M0 и M2 фенотипах, и не изменилась в M1 фенотипе макрофагов SP-D (-/-) мышей по сравнению с нормальными макрофагами тех же фенотипов. Удаление гена SP-D привело к тому, что ЛПС-индуцированный синтез HSP70 в M0 фенотипе был незначительно выше, в M1 фенотипе практически не изменялся, а в M2 фенотипе был более чем в 2 раза увеличен по сравнению с соответствующим фенотипом макрофагов нормальных мышей. На основании полученных данных исследователи предполагают, что повышение синтеза HSP70 в M2 фенотипе макрофагов SP-D (-/-) мышей обусловлено снижением продукции IL-10[4; 5].

В одной из работ было отмечено влияние SP-D на продукцию Th1 и Th2 цитокинов в зависимости от фенотипа макрофагов. Так, в ЛПС-стимулированном нативном M0 фенотипе SP-D (-/-) макрофагов за счет снижения продукции

Th2 цитокинов IL-10 и IL-13, баланс цитокинов сдвигается в сторону Th1 цитокинов. В M1 фенотипе отсутствие SP-D оказывает разнонаправленный эффект на разные Th1 и Th2 цитокины. А в M2 фенотипе баланс Th1/Th2 сдвигается в сторону Th2, за счет усиления продукции Th2 цитокинов [5].

Также в поляризации макрофагов определенную роль играет внутриклеточный фермент SH2-содержащей инозитол-5'-фосфатаза (SHIP). К такому выводу ученые пришли на основании ряда экспериментов, в ходе которых было отмечено, что у нокаутных по SHIP мышей, наблюдается отклонение в сторону M2 фенотипа макрофагов [3; 5].

В некоторых источниках литературы встречается информация о том, что АМФ-зависимая протеинкиназа (АМФК) способна репрограммировать макрофаги по противовоспалительному M2 фенотипу. Такие данные появились в ходе ряда экспериментов, где учеными было отмечено, что стимуляция макрофагов противовоспалительными цитокинами приводит к быстрой активации АМФК, а стимуляция ЛПС приводит к ее отключению. Торможение экспрессии АМФК приводит к значительному повышению концентрации мРНК ЛПС-индуцированных цитокинов (TNF- α , IL-6 и COX-2). При трансфекции макрофагов конститутивно активной АМФК происходило снижение продукции IL-6 и TNF- α и увеличение продукции IL-10. Кроме того, АМФК усиливает активизацию Akt (сопровождающуюся торможением киназы гликоген-синтетазы β и активацией CREB (белок, связывающийся с цАМФ-зависимым элементом)) и уменьшает деактивацию I κ B- α , [3].

В одной из работ доказана роль NF κ B в поляризации макрофагов по M1 фенотипу. Такой вывод был сделан на основании того, что у мышинных макрофагов M2 фенотипа, выделенных из опухоли, наблюдалась пониженная активность NF κ B (из-за повышенной ядерной экспрессии p50 NF κ B ингибиторного гомодимера). Классические активаторы (ЛПС, CD40L, TNF- α и IL-1 β) слабо активируют эти макрофаги [3; 5].

Также учеными было отмечено, что низкодозовое лазерное влияние способствует повышению экспрессии M1-хемокинов и провоспалительных цитокинов

макрофагами. На основании этого авторы предполагают, что подобное воздействие может быть применено при аллергических болезнях (но не при аутоиммунных процессах) [4].

Вывод: репрограммирование макрофагов является довольно новым, но весьма перспективным направлением. Нерациональное бесконтрольное применение антибиотиков является причиной появления армии антибиотикорезистентных штаммов, что не оставляет надежд в борьбе с микробной агрессией. Учитывая индивидуальные особенности организма и совершенно разные степени проявлений воспалительного процесса, появляется возможность управлять макрофагальной активностью. Возможно – это новая «постантибиотиковая» или «безантибиотиковая» эпоха. По представленным данным можно также заключить, что предшествующие состояния также важны для реализации воспалительного процесса и завершения. На данный момент в литературе еще довольно мало конкретной информации по данному вопросу. Но специалистами активно ведутся исследования в этом направлении. Проанализировав современные данные, можно заключить, что в скором времени появится более подробная информация о конкретных механизмах репрограммирования и ФРМ. И будут составлены схемы лечения с использованием этих методов.

Список литературы

1. Круглов С.В. Репрограммирование механизмов синтеза оксида азота у М1 и М2 фенотипов перитонеальных макрофагов мышей *in vitro* в присутствии разных концентраций сыворотки / С.В. Круглов, С.В. Лямина, Т.Ю. Веденикин [и др.] // Медицинская иммунология. – 2012. – №1–2. – С. 127–132.
2. Лямина С.В. Репрограммирование альвеолярных макрофагов – новая возможность управления иммунным ответом / С.В. Лямина, С.В. Круглов, С.В. Калиш [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2011. – №4 (40). – С. 42–46.
3. Лямина С.В. Поляризация макрофагов в современной концепции формирования иммунного ответа / С.В. Лямина, И.Ю. Малышев // Фундаментальные исследования. – 2014. – №10. – С. 930–935.

4. Сахаров В.Н. Роль различных фенотипов макрофагов в развитии заболеваний человека / В.Н. Сахаров, П.Ф. Литвицкий // Актуальные вопросы патофизиологии. – 2015. – №1. – С. 26–31.

5. Сумина В.П. Репрограммирование клеточных ответов макрофагов: возможности управления воспалительным процессом / В.П. Сумина, А.В. Гагиева, М.И. Диденко // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – №3 (18). – С. 92–95.