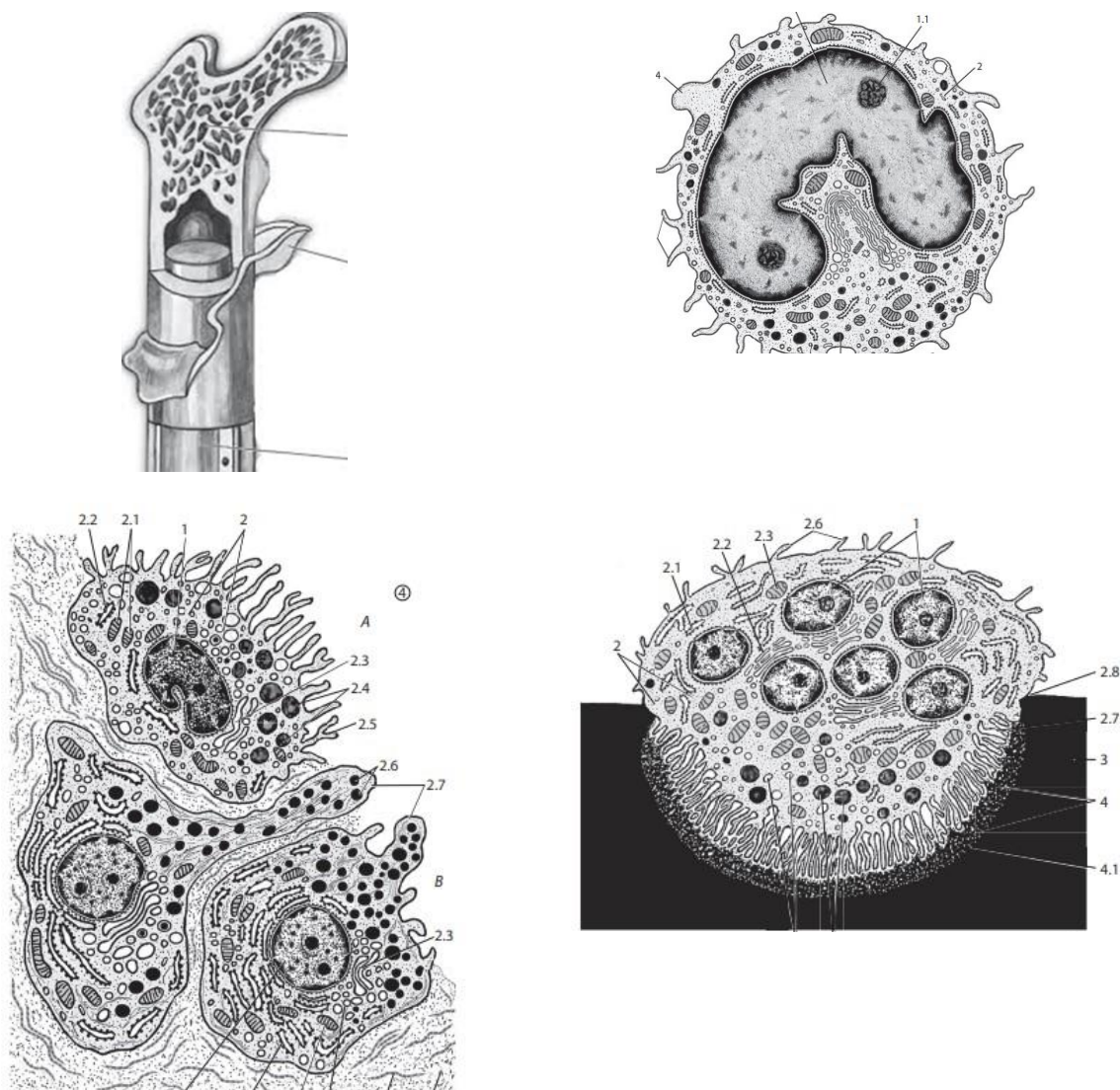


**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Северо-Осетинская
государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра биологии и гистологии



УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ ПО ГИСТОЛОГИИ

**МОНОНУКЛЕАРНО-ФАГОЦИТАРНАЯ СИСТЕМА. ОСОБЕННОСТИ
МОРФОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ КЛЕТОК**

Владикавказ, 2024

Пособие рекомендовано для самостоятельной работы студентов при изучении дисциплины «Гистология, эмбриология, цитология» специальностей 31.05.01. «Лечебное дело», 31.05.02. «Педиатрия», 31.05.03 «Стоматология», 32.05.01 «Медико-профилактическое дело». Издание направлено на формирование общекультурных, общепрофессиональных и профессиональных компетенций.

РЕЦЕНЗЕНТЫ: заведующий кафедрой патологической физиологии, доктор медицинских наук, профессор Джиев И.Г., заведующая кафедрой анатомии человека с топографической анатомией и оперативной хирургией, кандидат медицинских наук, доцент Тотоева О.Н.

Пособие составлено сотрудниками кафедры биологии и гистологии: ассистентом Саркисянц Л.О., профессором Бибаевой Л.В.

СОДЕРЖАНИЕ:

ГЛАВА I. ОНТОГЕНЕЗ КЛЕТОК МОНОНУКЛЕАРНО-ФАГОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ

- 1.1. ПРЕНАТАЛЬНЫЙ ОНТОГЕНЕЗ
- 1.2. ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ОНТОГЕНЕЗ

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК МОНОНУКЛЕАРНО-ФАГОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ

- 2.2. ОБЩАЯ МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОК СИСТЕМЫ
- 2.3. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК СИСТЕМЫ. M1/M2-ПАРАДИГМА АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ

ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА МАКРОФАГОВ ОТДЕЛЬНЫХ ОРГАНОВ

3.1. МАКРОФАГИ ЛЕГКИХ. АЛЬВЕОЛЯРНЫЕ МАКРОФАГИ (АМ)

- 3.1.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ АМ
- 3.1.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ АМ
- 3.1.3. МОРФОЛОГИЯ АМ
- 3.1.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АМ
- 3.1.5. РОЛЬ АМ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

3.2. МАКРОФАГИ ПЕЧЕНИ. КЛЕТКИ КУПФЕРА (КК)

- 3.2.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ КК
- 3.2.3. МОРФОЛОГИЯ КК
- 3.2.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КК
- 3.2.5. РОЛЬ КК В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

3.3. МАКРОФАГИ КОЖИ (АПК). КЛЕТКИ ЛАНГЕРГАНСА (КЛ)

- 3.3.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ КЛ
- 3.3.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ КЛЕТОК ЛАНГЕРГАНСА
- 3.3.3. МОРФОЛОГИЯ КЛ
- 3.3.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АПК

3.4. МАКРОФАГИ КОСТИ. ОСТЕОКЛАСТЫ

- 3.4.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ ОСТЕОКЛАСТОВ
- 3.4.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ ОСТЕОКЛАСТОВ
- 3.4.3. МОРФОЛОГИЯ ОСТЕОКЛАСТОВ
- 3.4.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ОСТЕОКЛАСТОВ
- 3.4.5. РОЛЬ ОСТЕОКЛАСТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

3.4.5.1. МОДЕЛИРОВАНИЕ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОСТИ

3.5. МАКРОФАГИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ. МИКРОГЛИЯ

- 3.5.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ ЦНС
- 3.5.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАКРОФАГОВ ЦНС
- 3.5.3. МОРФОЛОГИЯ МАКРОФАГОВ ЦНС
- 3.5.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ ЦНС
- 3.5.5. РОЛЬ МАКРОФАГОВ ЦНС В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

3.5.5.1. МИКРОГЛИЯ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА

3.5.5.2. МИКРОГЛИЯ И РАЗВИТИЕ БОЛЕВОГО СИНДРОМА

3.5.5.3. МИКРОГЛИЯ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

3.6. МАКРОФАГИ ПОЧЕК. МЕЗАНГИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ (МК)

- 3.6.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ МЕЗАНГИОЦИТОВ
- 3.6.2. МОРФОЛОГИЯ МЕЗАНГИОЦИТОВ
- 3.6.3. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЗАНГИОЦИТОВ
- 3.6.4. РОЛЬ МК В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ.

3.6.4.1. МК И ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ

3.7. МАКРОФАГИ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ

- 3.7.1. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1.3. МОРФОЛОГИЯ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1.5. РОЛЬ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ
 - 3.7.1.5.1. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС
 - 3.7.1.5.2. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ЦИРРОЗ ПЕЧЕНИ
 - 3.7.1.5.3. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ИНФАРКТ МИОКАРДА
 - 3.7.1.5.4. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И АТЕРОСКЛЕРОЗ
 - 3.7.1.5.5. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ОПУХОЛЕВЫЙ ПРОЦЕСС
 - 3.7.1.5.6. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ХРОНИЧЕСКИЙ СТРЕСС
 - 3.7.1А. МАКРОФАГИ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1А.1 ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1А.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАКРОФАГОВ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1А.3. МОРФОЛОГИЯ МАКРОФАГОВ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1А.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1Б. МАКРОФАГИ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1Б.1. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАКРОФАГОВ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.1Б.2. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ
 - 3.7.2. МАКРОФАГИ ТИМУСА
 - 3.7.2.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ ТИМУСА
 - 3.7.2.2. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ ТИМУСА
 - 3.7.2.3. РОЛЬ МАКРОФАГОВ ТИМУСА В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ
 - 3.7.2.3.1. МАКРОФАГИ ТИМУСА И ХРОНИЧЕСКИЙ СТРЕСС
- СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

ГЛАВА I. ОНТОГЕНЕЗ КЛЕТОК МОНОНУКЛЕАРНО-ФАГОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ

1.1. ПРЕНАТАЛЬНЫЙ ОНТОГЕНЕЗ

В связи с выдающимися достижениями в гематологии появились новые данные об онтогенезе макрофагов. Современные данные позволяют сделать вывод, что макрофаги млекопитающих развиваются как минимум из трех источников, которые соответствуют трем генерациям гемопоэтических стволовых клеток (Chazaud, 2014; Gomez Perdiguero et al., 2015; Perdiguero and Geissmann, 2016). Однако вклад каждой из этих генераций в состав окончательной популяции тканевых резидентных макрофагов, по мнению разных исследователей, различается (Ginhoux and Williams, 2016; Hoeffel et al., 2015; Soares-Da-Silva et al., 2021). В 2010-х годах были определены три модели, описывающие развитие резидентных макрофагов у млекопитающих (рис. 1).

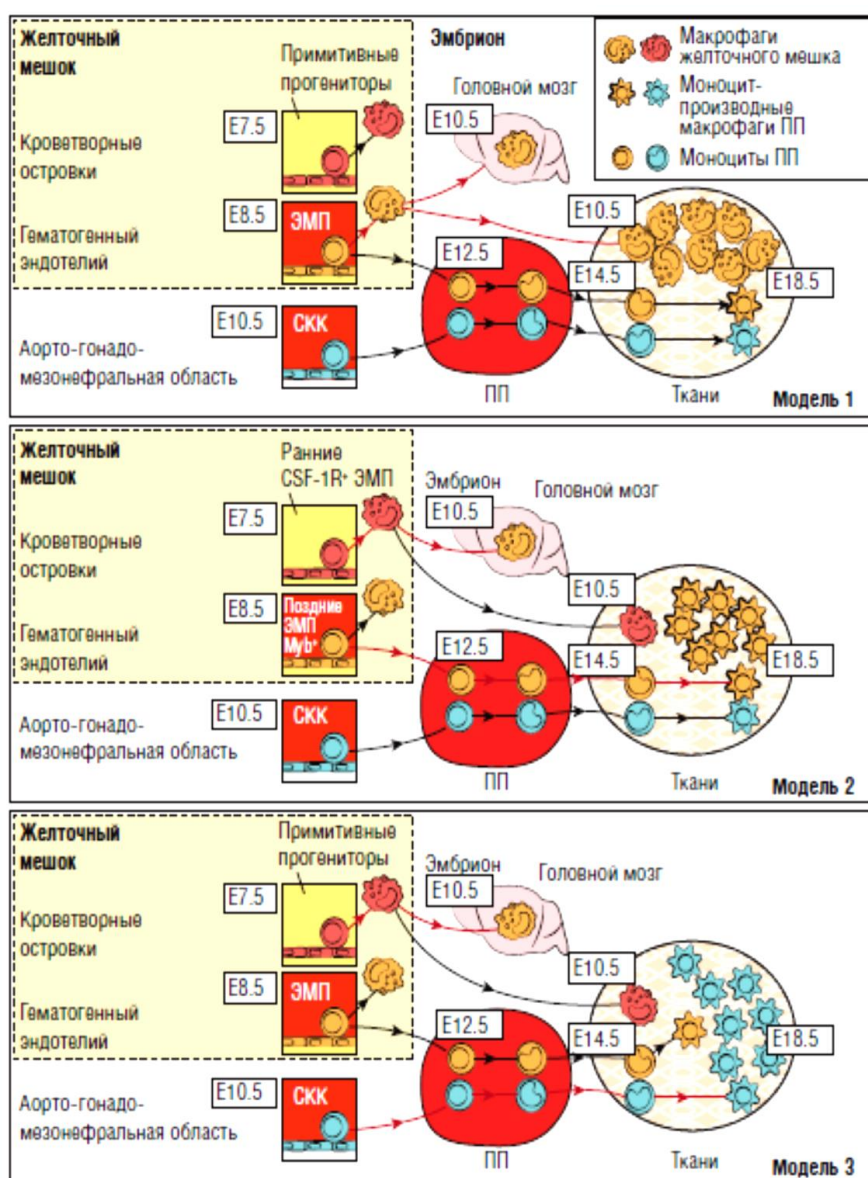


Рис. 1 Модели пренатального онтогенеза клеток мононуклеарно-фагоцитарной системы

Модель 1. В стенке желточного мешка формируется две порции прогениторных клеток: ранняя и поздняя. Ранняя порция прогениторных клеток (красные клетки) не

участвует в формировании популяции органных макрофагов. Поздняя порция прогениторных клеток (желтые клетки) мигрирует в ЦНС, где дифференцируется в микроглию, и печень, где формирует фетальные моноциты, дифференцирующиеся в тканевые макрофаги большинства органов. Третья генерация кроветворных клеток (синие клетки), образуемая из мезенхимы аорто-гонадо-мезанефральной зоны, заселяет также печень и красный костный мозг, где формирует дефинитивные моноциты, которые дифференцируются в макрофаги слизистых оболочек пищеварительного тракта, а также тканевые макрофаги при воспалении в том или ином органе.

Модель 2. Из ранней генерации кроветворных прогениторных клеток желточного мешка (красные клетки) формируются только макрофаги ЦНС — микроглия, из поздней генерации кроветворных прогениторных клеток стенки желточного мешка (желтые клетки) после миграции в печень зародыша формируются фетальные моноциты, дающие начало практически всем резидентным макрофагам. Судьба третьей порции кроветворных клеток схожа с моделью 1 (синие клетки).

Модель 3. Судьба самой ранней порции кроветворных клеток желточного мешка сходна с моделью 1 и 2 (красные клетки). Вторая порция кроветворных клеток (желтые клетки) стенки желточного мешка практически не принимают участия в формировании популяции резидентных макрофагов. Третья порция кроветворных клеток (синие клетки), формирующихся в аорто-гонадо-мезанефральной зоне, формирует окончательный дефинитивный гемопоз сначала в печени и далее в красном костном мозге, при этом фетальные моноциты, формирующиеся в печени зародыша, дают начало всем популяциям резидентных макрофагов, за исключением микроглии.

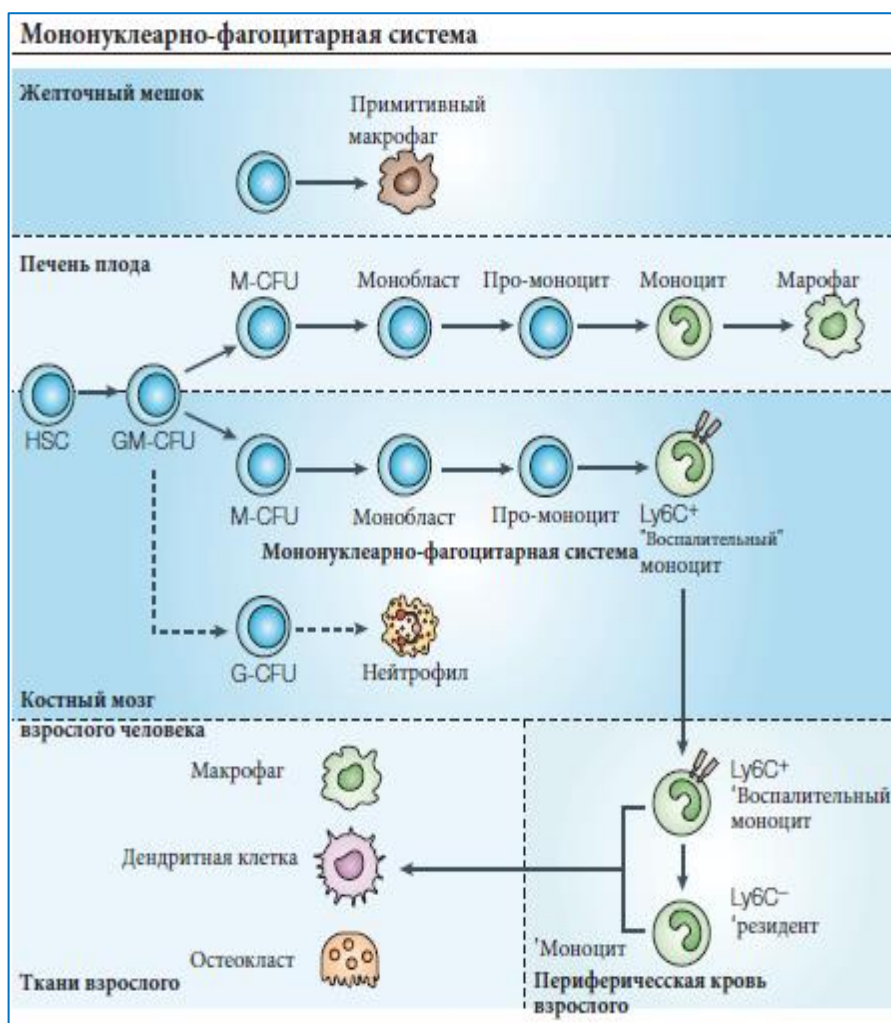


Рис. 2 Обобщенная схема пренатального онтогенеза клеток системы мононуклеарных фагоцитов

Стоит отметить, что у всех трех моделей есть сходные черты (рис. 2). Все они подчеркивают, что резидентные макрофаги возникли из предшественников в пренатальном периоде и далее в норме являются самоподдерживающимися популяциями, которые не зависят от костно-мозгового кроветворения, за некоторыми известными исключениями: макрофаги дермы и слизистых оболочек пищеварительного тракта (Chazaud, 2014). Различия во взглядах заключаются в оценке роли той или иной популяции крове творных клеток в формировании органных макрофагов.

Таким образом, популяция макрофагов большинства органов в пренатальном периоде складывается из потомков гемопоэтических клеток второй и/или третьей генерации. Однако в большинстве органов постепенно происходит уменьшение доли макрофагов, развивающихся из эритромиелоидных прогениторных клеток желточного мешка, и увеличение доли макрофагов, развивающихся из гемопоэтических клеток третьей генерации (Chazaud, 2014; Gomez Perdiguero et al., 2015; Perdiguier and Geissmann, 2016). Исключениями являются ЦНС, куда, вероятно, кроме макрофагов первой генерации, никакие другие макрофаги не проникают, а также печень и эпидермис, в которых в норме подавляющая численность органных макрофагов приходится на клетки Купфера и

Лангерганса соответственно, развивающиеся из второй генерации гемопоэтических клеток (Gomez Perdiguero et al., 2015; Perdiguero and Geissmann, 2016).

1.2. ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ОНТОГЕНЕЗ

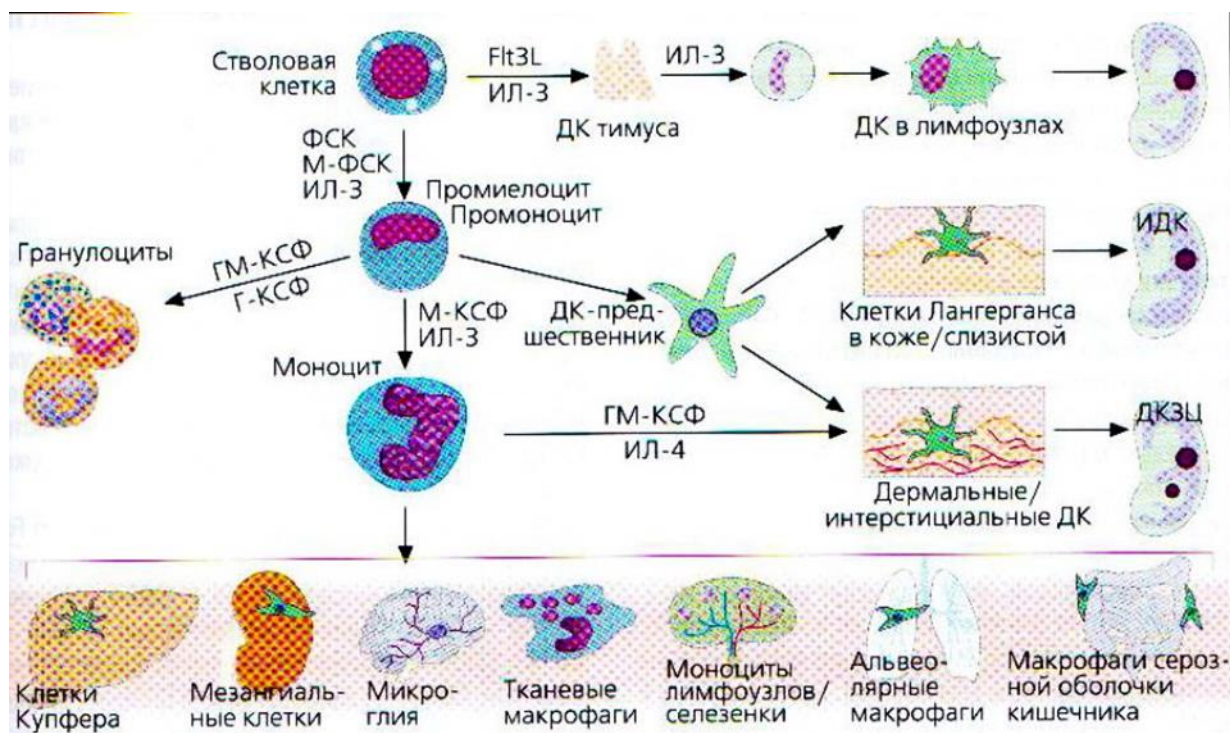


Рис. 3 Общая схема дифференцировки фагоцитов из СКК

В постнатальном периоде макрофаги большинства органов представляют собой гетерогенную популяцию, состоящую из потомков гемопоэтических клеток печени зародыша и красного костного мозга (рис. 3). Однако существуют исключения: печень содержит макрофаги, ведущие свое происхождение из гемопоэтических клеток печени зародыша, а макрофаги дермы кожи и слизистой оболочки кишечника представлены в основном клетками костномозгового происхождения.

Вместе с тем, общеизвестный факт, что циркулирующие моноциты являются центральным источником пополнения пула тканевых макрофагов, недавно был поставлен под сомнение. В 2012 г. в Science впервые появилась публикация Кристиана Шульца и его научной группы. Авторами было вновь исследовано происхождение макрофагов и установлено, что некоторые макрофаги развиваются у эмбриона до появления первых гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) миелоидного происхождения. Показано, что фактор транскрипции *Mub*, необходимый для развития ГСК, всех моноцитов и макрофагов с фенотипом *CD11b^{high}* не требуется для развития макрофагов желточного мешка и их потомков – эмбриональных макрофагов ряда органов и тканей, из которых образуются клетки Купфера в печени, АМ, эпидермальные клетки Лангерганса, клетки микроглии, которые могут сохраняться и у взрослых мышей независимо от ГСК. Эти результаты свидетельствуют о наличии линии тканевых макрофагов, которые происходят из желточного мешка в эмбриогенезе и генетически отличаются от потомков ГСК.

Макрофаги, образовавшиеся из моноцитов в периферических тканях, находятся в неактивном состоянии, которое характеризуется низким потреблением кислорода, низкой скоростью синтеза белка и умеренной продукцией цитокинов. Однако резидентные макрофаги могут быстро реагировать на действие стимулов окружающей среды путем существенного изменения характера экспрессии генов. Активация макрофагов, к примеру,

при повреждении ткани и развитии воспаления, сопровождается секрецией цитокинов, хемокинов и других медиаторов воспаления, которые, в свою очередь, способствуют привлечению новых макрофагов для реализации эффекторной фазы иммунного ответа.

Как указывалось выше, выделяют два типа активированных макрофагов: M1 (провоспалительный фенотип) и M2 (иммуномодулирующий и тканевый ремоделирующий фенотип). Такое обозначение аналогично классификации активированных Т-лимфоцитов на Т-хелперы 1-го (Th1) и 2-го (Th2) типов и в некоторой степени подчеркивает связь макрофагов определенного фенотипа с реализацией соответствующего типа адаптивного иммунного ответа. В 2014 г. P.J. Murray и соавт. предложили номенклатуру макрофагов и представили методические рекомендации по их культивированию и воспроизведению дифференцировки M1- и M2-субпопуляций в лабораторных условиях *in vitro*. Однако классификация макрофагов, несомненно, нуждается в дальнейшей доработке.

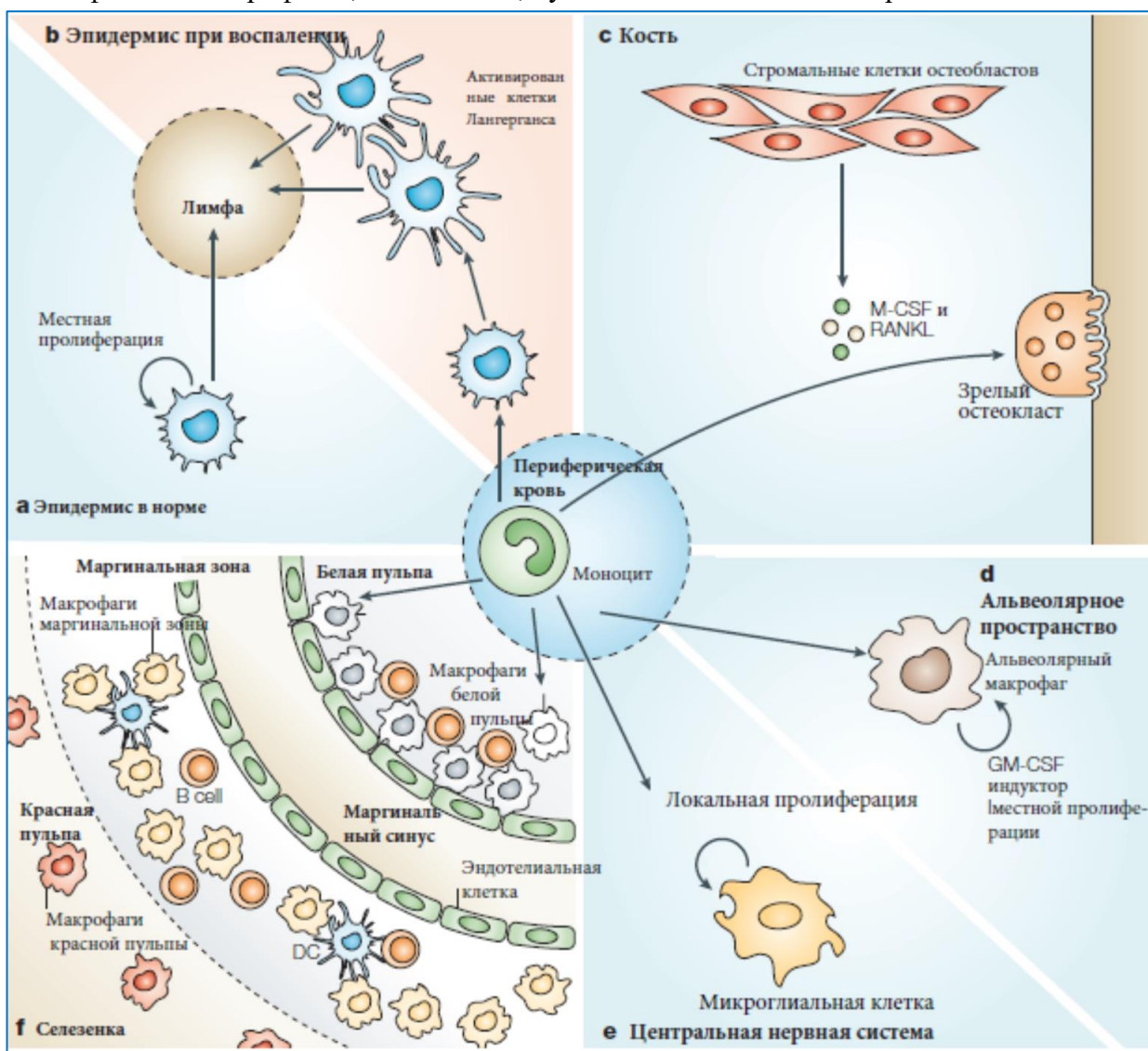


Рис. 4 Происхождение зрелых клеток мононуклеарно-фагоцитарной системы

Важность циркулирующих предшественников в репопуляции макрофагов, проживающих в тканях, и популяций дендритных клеток (DC) до конца не изучена. Кроме того, природа предшественника — то есть, является ли он моноцитом периферической крови или циркулирующим в крови предшественником, передающимся по наследству, —

неясна. В случае клеток Лангерганса локальная пролиферация в нормальном эпидермисе (а) достаточна для поддержания количества клеток Лангерганса без необходимости пополнения за счет циркулирующих предшественников; однако после воспаления (в) зависимое от СС-хемокинового рецептора 2 (CCR2) поступление предшественников в эпидермис позволяет репопулировать популяции, проживающие в тканях.

Считается, что в кости (с) циркулирующие предшественники рекрутируются на поверхность кости, где — под влиянием колониестимулирующего фактора макрофагов (M-CSF) и лиганда-активатора рецептора ядерного фактора kB (RANKL) - они дифференцируются в зрелые остеокласты, которые являются многоядерная и рассасывающаяся кость. В легких (d) альвеолярные макрофаги могут сохраняться в течение длительного времени за счет местной пролиферации; однако эксперименты по трансплантации костного мозга показывают, что переносимые кровью предшественники могут повторно заселяться и делиться в легких. В центральной нервной системе (е) микроглия также поддерживается за счет местной пролиферации после начальной эмбриональной фазы, которая заполняет центральную нервную систему, но моноциты периферической крови также вносят свой вклад в этот пул. В селезенке (f) наблюдается выраженная гетерогенность макрофагов: макрофаги красной пульпы, белой пульпы, маргинальной зоны и металлофильные макрофаги занимают определенные анатомические ниши. Показана упрощенная схема, на которой также указаны В-клетки, ДК и эндотелиальные клетки (рис. 4). В настоящее время считается, что макрофаги селезенки пополняются за счет эмиграции из пула циркулирующих моноцитов и локальной пролиферации. GM-CSF, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор.

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК МОНОНУКЛЕАРНО-ФАГОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ

2.2. ОБЩАЯ МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОК СИСТЕМЫ

Макрофаги – это гетерогенная клеточная популяция. Макрофаг имеет неправильную, звездчатую, многоотростчатую форму, складки и микроворсинки на поверхности клеток, обилие эндоцитозных микровезикул, первичных и вторичных лизосом (рис. 5). Округлое или эллипсоидное ядро расположено центрально, гетерохроматин локализован под ядерной оболочкой. Структурные особенности клетки во многом зависят от ее органной и тканевой принадлежности, а также от функционального статуса.

Так, для клеток Купфера характерен гликокаликс, альвеолярные макрофаги содержат ламеллярные (сурфактантные) тельца, хорошо развитый комплекс Гольджи, шероховатый эндоплазматический ретикулум и множество митохондрий, в то время как в клетках микроглии митохондрии немногочисленны.

В цитоплазме перитонеальных и альвеолярных макрофагов присутствует большое количество липидных телец, содержащих субстраты и ферменты генерации простагландинов. Адгезирующие и движущиеся макрофаги формируют короткоживущие, содержащие актин структуры – подосомы – в виде плотной центральной части с радиально отходящими от них микрофиламентами. Подосомы могут сливаться, формируя структуры более высокого порядка – розетки, которые эффективно разрушают белки подлежащего внеклеточного матрикса.

Структурной особенностью макрофагов является выраженный лизосомальный аппарат, представленный большим количеством лизосом и фагосом, находящихся в цитоплазме. Особенностью гистиоцитов является наличие на их поверхности многочисленных складок, инвагинаций и псевдоподий, необходимых для миграции клеток и фагоцитоза. Макрофаги, образовавшиеся из моноцитов в периферических тканях, находятся в неактивном состоянии, которое характеризуется низким потреблением кислорода, низкой скоростью синтеза белка и умеренной продукцией цитокинов.

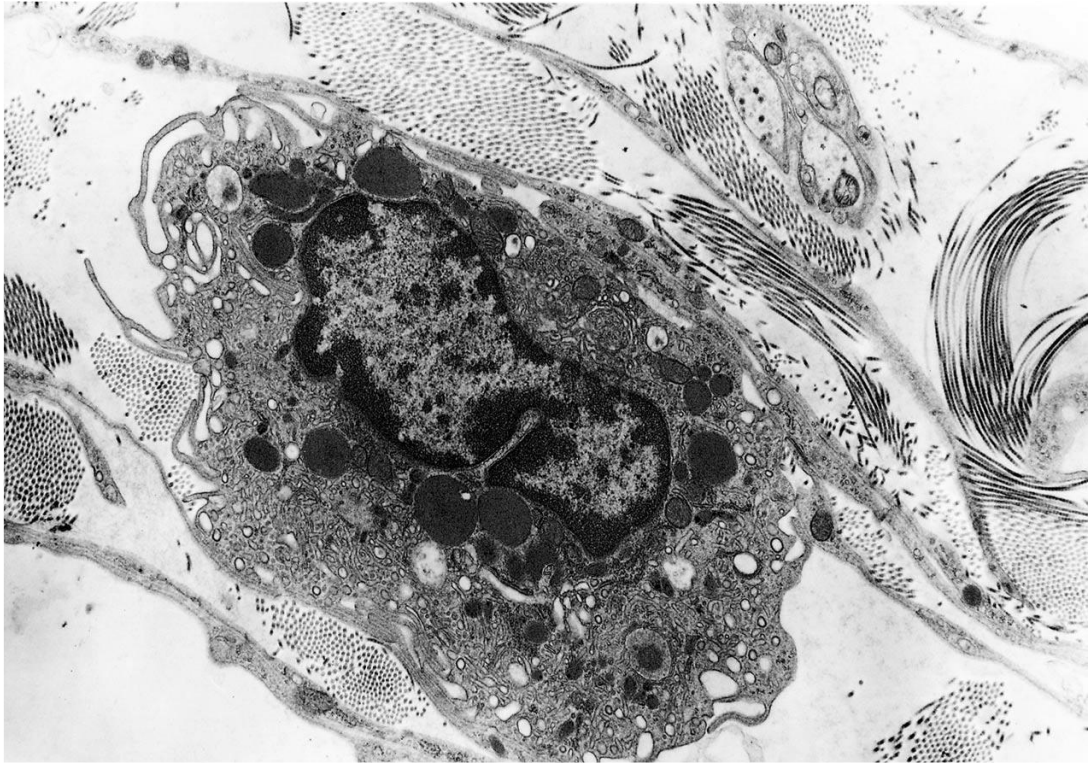


Рис. 5 Электроннограмма строения макрофага

2.2. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК СИСТЕМЫ. M1/M2-ПАРАДИГМА АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ

Общими признаками, характерными для клеток системы мононуклеарных фагоцитов, является развитие их из моноцитов костного мозга, способность к фагоцитозу и пиноцитозу и представлению антигенов Т- и В-лимфоцитам. Кроме того, они могут продуцировать целый ряд биологически активных веществ, которые оказывают регулирующее влияние на функциональную активность лимфоцитов и других клеток.

При этом известно, что моноциты периферической крови функционально неоднородны и обладают различным эффекторным потенциалом. В тканях моноциты трансформируются в макрофаги. При этом точно неизвестно, как соотносятся между собой субпопуляции моноцитов и макрофагов. Предполагается, что за счет классических моноцитов пополняется пул резидентных макрофагов, промежуточные клетки дифференцируются в дендритные клетки миелоидного происхождения, а неклассические моноциты – в провоспалительные макрофаги.

Функциональный фенотип моноцитов и макрофагов пластичен и определяется экспрессией поверхностных рецепторов и профилем образуемых цитокинов (экспрессия генов цитокинов, содержание цитокинов внутри клетки и уровень их секреции во внеклеточную среду), активацией ядерных транскрипционных факторов сигнальных путей, природой антигена, его иммуногенностью, локальным цитокиновым статусом микроокружения клеток. Рецепторы являются ключевыми в функциональном отношении мембранными молекулами моноцитов/макрофагов.

Резидентные макрофаги могут быстро реагировать на действие стимулов окружающей среды путем существенного изменения характера экспрессии генов. Активация макрофагов, к примеру, при повреждении ткани и развитии воспаления, сопровождается секрецией цитокинов, хемокинов и других медиаторов воспаления, которые, в свою очередь, способствуют привлечению новых макрофагов для реализации эффекторной фазы иммунного ответа.

Макрофаг – ключевая антигенпрезентирующая клетка врожденного иммунитета, которая при классической активации поддерживает течение острого и хронического воспалительного Т-клеточного иммунного ответа, одновременно осуществляя эффекторную функцию (M1-макрофаги). Однако в случае альтернативной активации и приобретения макрофагами толерогенного фенотипа (M2, или M2-like-макрофаги) происходит их функциональная перестройка, и они, блокируя передачу активационного сигнала внутрь Т-клетки, начинают выполнять иммуносупрессорную функцию, способствуют фиброгенезу, пролиферативным процессам и регенерации тканей.

Таким образом, макрофаги различных субпопуляций обладают разнонаправленными эффектами. С одной стороны, они участвуют в процессах, связанных с деструкцией тканей в очаге воспаления при выполнении эффекторной функции, с другой – выполняя регенераторную функцию, участвуют в процессах заживления. Макрофаги (Mф) играют важную роль в защите от патогенов, поддержании тканевого гомеостаза (элиминации стареющих, опухолевых и поврежденных клеток) и процессах заживления. Разнообразные биологические эффекты Mф, которые в ряде случаев имеют оппозитную направленность, обусловлены высокой функциональной гетерогенностью этих клеток.

Выделяют как минимум два типа макрофагов с про- и противовоспалительной активностью, которые соответственно обозначены как M1- и M2-клетки. Первые, обладая

выраженной цитотоксической, антимикробной и антипролиферативной активностью, опосредованной продукцией активных метаболитов кислорода и азота, а также провоспалительных цитокинов, играют важную роль в защите от внутриклеточных патогенов и элиминации опухолевых клеток, однако избыточная активность M1 может проявляться тканедеструктивным эффектом. Вторые, напротив, играют важную роль в ограничении воспалительного иммунного ответа и стимуляции репаративных процессов, тем не менее повышенная активность M2 сопряжена с развитием иммуносупрессии, которая, как правило, обнаруживается при гестации или опухолевом росте. Исследования на мышах показали, что функциональный тип Mф во многом определяется

условиями активации. Миграция макрофагов направляется хемокинами: CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL13, CCL15, CCL19, CXCL10, CXCL12; факторами роста VEGF, PDGF, TGF- β ; фрагментами системы комплемента; гистамином; белками гранул полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ); фосфолипидами и их производными.

Если классический фенотип активированных M1-макрофагов хорошо описан в литературе, то данные относительно клеток с фенотипом M2 достаточно противоречивы. Часто альтернативно активированные M2-макрофаги разделяют на три субпопуляции: M2a, M2b и M2c ().

Таблица 1 Характеристика субпопуляций моноцитов крови и макрофагов

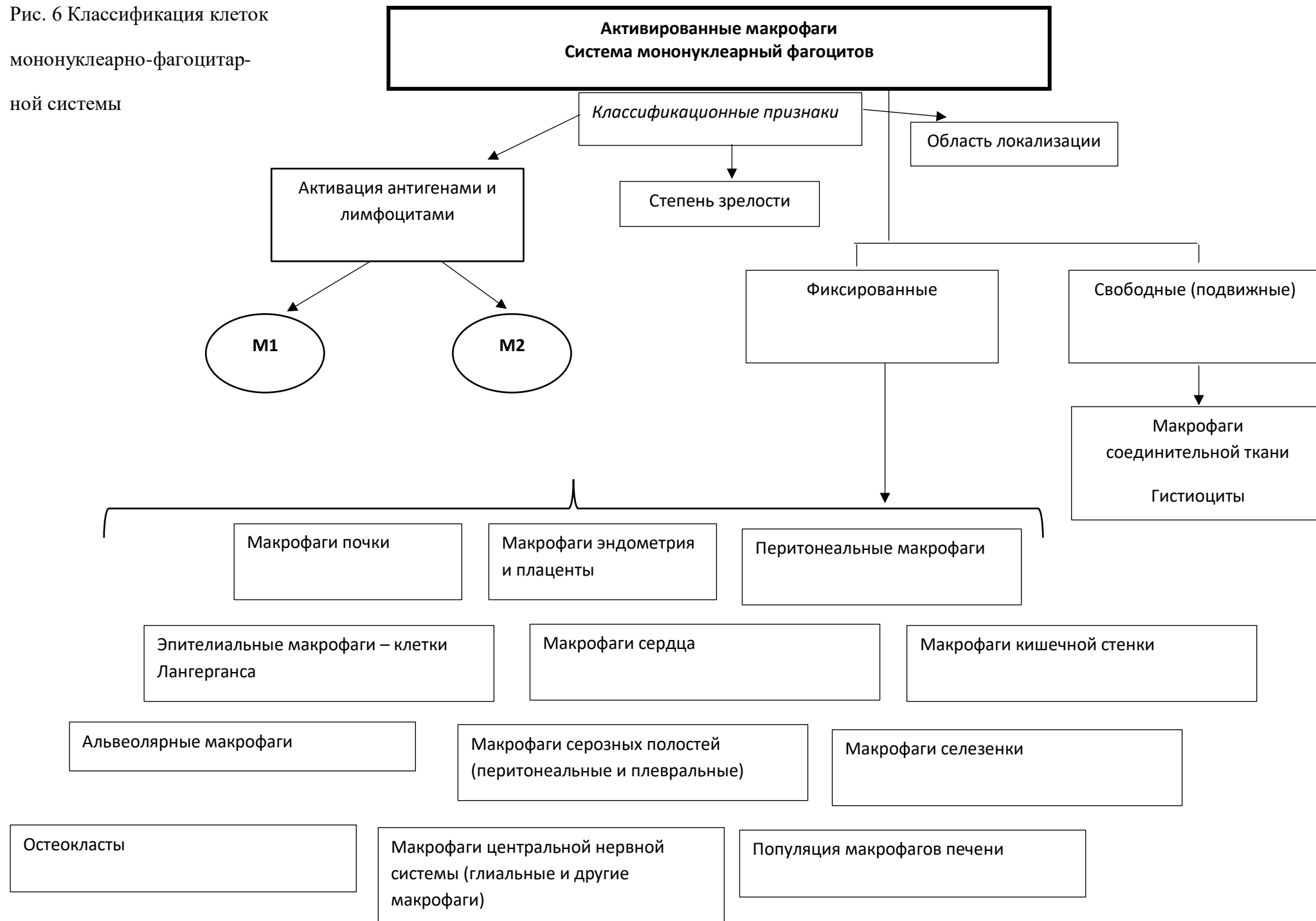
Моноциты периферической крови			
Субпопуляции	Классические CD14⁺⁺CD16⁻	Промежуточные CD14⁺⁺CD16⁺	Неклассические CD14⁺CD16⁺⁺
Продукты секреции	Интерлейкины (IL): 6, IL-8, IL-10	IL-8 и чуть меньше IL-1 β , IL-6;	преимущественно IL-1 β , IL-8, фактор некроза опухоли (TNF) α и в меньшей степени IL-6.
Функции	Предназначены для фагоцитоза	Иммунорегуляторная функция и взаимодействие с Т-лимфоцитами,	Обладающие высоким аффинитетом к эндотелию и получившие название «патрулирующих»
Потомки, направления дифференцировки	Резидентные макрофаги	Дендритные клетки миелоидного происхождения	Провоспалительные макрофаги
Макрофаги – производные моноцитов			
Популяции	M1	M2	

Фенотип	Провоспалительный фенотип	иммуномодулирующий и тканевый ремоделирующий
Факторы активации, приводящие к поляризации их созревания в направлении определенного фенотипа (факторы дифференцировки)	Интерфероном (IFN) γ , продуцируемым активированными CD4+ лимфоцитами и натуральными киллерами (NK), а также другими провоспалительными медиаторами, такими как TNF α и бактериальный липополисахарид (LPS) липополисахарид в сочетании с ИФН- γ , гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора ГМ-КСФ, который индуцирует созревание M1	CCL18, IL-4, IL-10 и трансформирующий фактор роста (TGF) β , активация ИЛ-4/ИЛ-13, иммунных комплексов, дексаметазона, витамина D3, макрофагального колониестимулирующего фактора (M-КСФ)
Гуморальные продукты	активные формы кислорода, азота и провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, TNF α), характеризуются низкой секрецией IL-10.	CCL18 –это белок, принадлежащий к семейству CC-хемокинов- их специфическим маркером и секреторным продуктом, TGF β , низкой продукцией IL-12 и IL-23
Функции	индуцируют Th1-ответ и обеспечивают защиту от внутриклеточных патогенов и опухолевых клеток Как правило, M1-макрофаги отличаются выработанной цитотоксической, антимикробной и ан-	Традиционно иммуносупрессорную активность M2 связывают со сниженной продукцией провоспалительных и повышенной генерацией противовоспалительных цитокинов.

	<p>типролиферативной активностью, опосредованной продукцией эффекторных молекул (активные формы кислорода и азота) и воспалительных цитокинов</p>			
Субпопуляции M2-макрофагов	M2a	M2b	M2c	
Факторы активации	IL-4 или IL-13	иммунных комплексов в сочетании с IL-1 β или LPS,	IL-10, TGF β или глюкокортикоидов.	
Функции	Активация реакций Th2-зависимого иммунного ответа, роль в противогельминтном иммунном ответе, пролиферации соединительной ткани и заживлении ран при повреждении гельминтами, способствуют	Участвуют в регуляции (подавлении) иммунновоспалительных процессов, способствуют активации Th2-зависимых реакций	активируют синтез межклеточного матрикса и участвуют в ремоделировании тканей	

	привлечени ю эозинофил ов в очаг поражения паразитами (возможно, за счет выделения лейкотриен а В4)		
--	---	--	--

Рис. 6 Классификация клеток
мононуклеарно-фагоцитар-
ной системы



ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА МАКРОФАГОВ ОТДЕЛЬНЫХ ОРГАНОВ

3.1. МАКРОФАГИ ЛЕГКИХ. АЛЬВЕОЛЯРНЫЕ МАКРОФАГИ (АМ)

3.1.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ АМ

Популяция легочных макрофагов включает:

- альвеолярные макрофаги,
- макрофаги воздухоносных путей, находящиеся в крупных и мелких бронхах,
- и интерстициальные макрофаги.

Другие авторы делят легочные макрофаги на альвеолярные, макрофаги легочной ткани и макрофаги бронхоассоциированной легочной ткани.

Г.Б. Федосеев и Р.К. Браун с соавторами, учитывая способность макрофагов к миграции, указывают, что все перечисленные группы макрофагов являются альвеолярными макрофагами, мигрировавшими в различные участки легких. Есть мнения, что кроме альвеолярных макрофагов в лёгком присутствуют макрофаги, находящиеся в дыхательных путях, тканевые макрофаги, внутрисосудистые и плевральные.

По данным ряда авторов в норме в 1 грамме легочной ткани число макрофагов составляет $6,4 \times 10^5$. Свободные альвеолярные макрофаги лежат в гипофазе сурфактанта и плотно прилегают к альвеолярному эпителию, формируя дополнительную клеточную выстилку альвеол. В бронхах макрофаги обычно занимают ниши между реснитчатыми клетками и примыкающими сторонами столбчатых эпителиоцитов. Макрофаги, распластаваясь на эпителии, протягивают свои отростки в межэпителиальные щели.

Большая часть макрофагов в интерстиции легкого представляет собой самостоятельную популяцию, отличающуюся по многим структурным и функциональным свойствам от альвеолярных макрофагов.

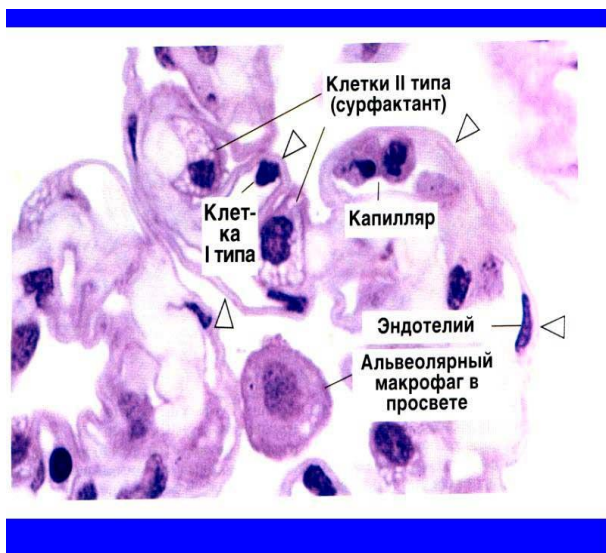


Рис. 7 Макрофаги легкого

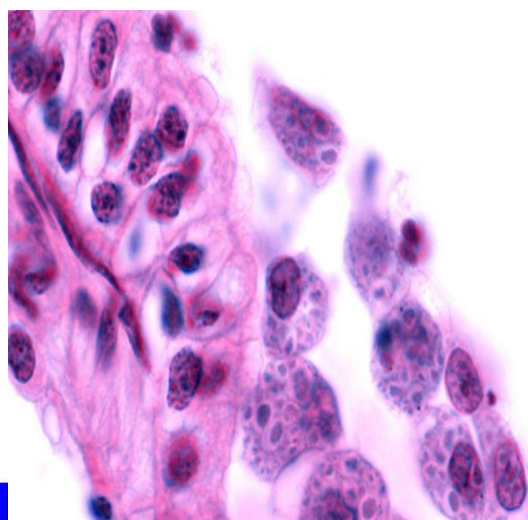


Рис. 8 Макрофаги бронхиолы

В норме на альвеолярные макрофаги приходится 65–95% всех клеток, которые получают при бронхоальвеолярном лаваже.

Альвеолярные макрофаги составляют примерно 3–5% всех клеток нормального легкого, однако они играют исключительно важную роль в поддержании гомеостаза в этом органе и защитных реакциях всего организма.

В нормальном легком человека содержится очень крупная (около 20×10^9) популяция альвеолярных макрофагов. Их активность и численность возрастают при ряде заболеваний и повреждений легких. У курильщиков, например, концентрация этих клеток в бронхоальвеолярном лаваже в 4–6 раз превышает нормальную, однако их активность существенно снижена.

Альвеолярные макрофаги являются основными клеточными элементами, которые часто обнаруживаются на цитологических мазках спонтанно выделяемой мокроты или материала, полученного путем диагностического промывания бронхов и альвеол пациентов — бронхоальвеолярного лаважа. Оба указанных метода отличаются от получения биоптатов своей неинвазивностью и отсутствием повреждения тканей. Изучение цитологического мазка обладает рядом преимуществ, к которым относятся крупные размеры распластанных по стеклу клеток, а также возможность увидеть их целиком, а не фрагментарно, как на гистологических срезах.

3.1.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ АМ

Заселение альвеолярными макрофагами легких происходит в антенатальном периоде и связано с миграцией в орган костно-мозговой клетки-предшественника.

На роль возможных источников легочных макрофагов выдвигались альвеолярные эпителиальные клетки, соединительнотканые клетки легочной паренхимы, клетки эндотелия сосудов и моноциты крови. опыты с использованием хромосомной метки недвусмысленно показали, что многие легочные макрофаги имеют костномозговое происхождение.

Дальнейшие исследования показали, что после облучения костного мозга не наступает немедленного истощения легочных макрофагов, этот факт свидетельствует о том, что легочные макрофаги, образованные изначально в костном мозге, способны поддерживать свою популяцию значительное время в интерстициальной ткани легкого путем деления.

Авторадиография ДНК также выявила, что большинство легочных макрофагов формируется в легких из моноцитов костномозгового происхождения. Макрофаг несколько дней созревает, делится и адаптируется к аэробным условиям, а затем мигрирует в альвеолы, т.е. в отличие от перитонеального макрофага – факультативного анаэроба, альвеолярный макрофаг – аэроб.

3.1.3. МОРФОЛОГИЯ АМ

Зрелый альвеолярный макрофаг – сравнительно крупная клетка диаметром 20-40 мкм, различной формы – округлой и уплощенной, вытянутой и неправильной, с четко очерченными границами и неровными краями. Клеточная оболочка образует глубокие складки и длинные микроворсинки для захвата инородных частиц.

Форма клеток нередко отражает их движение: более узкий полюс соответствует переднему ведущему краю, а более широкий — заднему краю. Перемещение клетки вперед происходит благодаря полимеризации актина в ее выростах, коорые образуют новые адгезивные связи. Одновременно на заднем крае клетка отделяется от субстрата, утрачивая ранее имевшиеся адгезивные соединения.

Ультраструктура альвеолярных макрофагов варьирует в широких пределах, что связано с различными возрастом, уровнями дифференцировки и активности конкретных клеток.

Ядро характеризуется глубокими инвагинациями ядерной оболочки и заметным ядрышком сравнительно небольших размеров, круглой, овальной или бобовидной формы, располагается центрально или эксцентрически, содержит значительное количество гетерохроматина, выглядит относительно плотным, окрашивается довольно интенсивно, ядрышко выявляется не всегда отчетливо. Гетерохроматин располагается в виде скоплений, большей частью прилежащих к внутренней поверхности ядерной оболочки.

Цитоплазма макрофагов содержит хорошо развитые органеллы: палочковидные митохондрии, отдельные цистерны грЭПС, число которых увеличивается при активации клетки, когда они отчетливо преобладают над элементами аЭПС, сравнительно крупный околядерный комплекс Гольджи. (рис. 9-13). Цитоплазма базофильная, резко неоднородная, пенистая, со множеством вакуолей и пузырьков, внутри которых находится поглощенный этими клетками материал. Именно наличие таких пузырьков и вакуолей позволяет уверенно идентифицировать активированные макрофаги на препаратах, окрашенных стандартными методами. При высокой загрязненности воздуха многие альвеолярные макрофаги содержат фагоцитированные частицы угля, которые видны как черно-коричневые массы в их цитоплазме. Такие макрофаги получили название «пылевых клеток».

Большое число лизосом и фаголизосом с гетерогенным содержимым разнообразной электронной плотности - наиболее характерный признак этих клеток, свидетельствующий об активном переваривании поглощенного материала (частицы пыли, бактерии, тканевой детрит, сурфактант). В цитоплазме находится также многочисленная популяция различных пузырьков. Указанные ультраструктурные особенности соответствуют вакуолизированной (пенистой) цитоплазме, которая выявляется в этих клетках на светооптическом уровне. В периферических отделах цитоплазмы содержатся пучки сократимых микрофиламентов, обеспечивающих перемещение макрофага. На свободной (обращенной в просвет альвеолы) поверхности макрофага располагаются развитые псевдоподии переменной протяженности и микроворсинки неправильной формы.

Альвеолярные макрофаги характеризуются переменными (преимущественно крупными) размерами. Их структура зависит от функционального состояния: в покое это округлые клетки со сравнительно ровными краями, форма которых меняется на неправильную с фестончатыми контурами и многочисленными вздутиями, типичными для высокоактивных подвижных клеток.

Отдельные морфофункциональные особенности макрофагов легких представлены в таблице 2.



Рис. 9 Микрофотография альвеолярного макрофага. Видны ядро, комплекс Гольджи, митохондрии

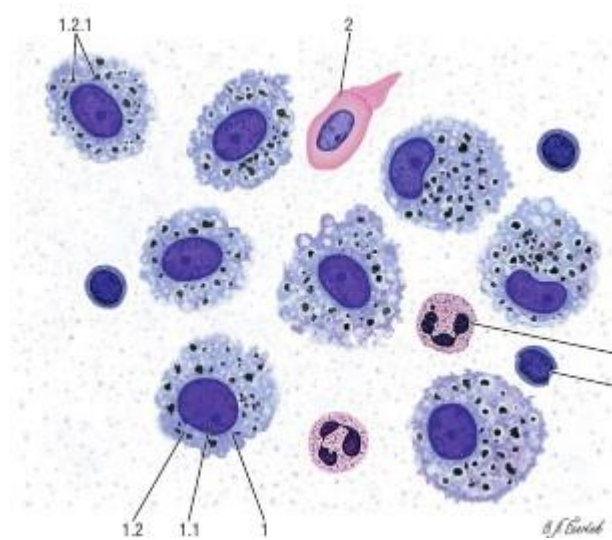


Рис. 10. Альвеолярные макрофаги легкого с частицами угля в цитоплазме (цитологический препарат)

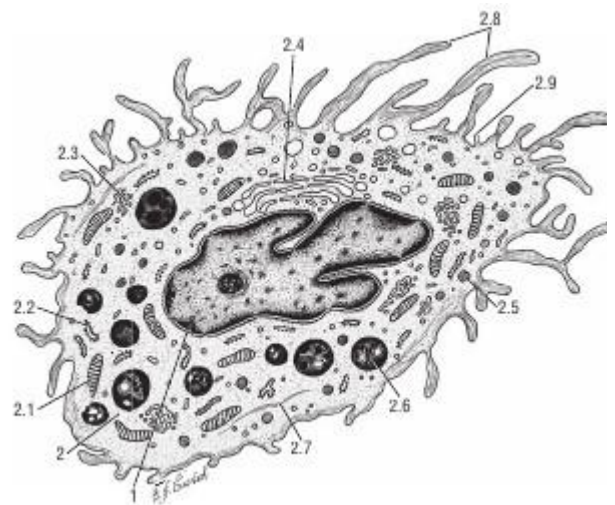


Рис. 11 Ультраструктурная организация альвеолярного макрофага легкого

Окраска: азур II–эозин. 1 — альвеолярные макрофаги: 1.1 — ядро, 1.2 — цитоплазма, 1.2.1 — фагоцитированные частицы угля; 2

Рисунок с ЭМФ. 1 — ядро; 2 — цитоплазма: 2.1 — митохондрии, 2.2 — цистерны грЭПС, 2.3 — элементы аЭПС, 2.4 — комплекс Гольджи, 2.5 — лизосомы, 2.6 — фаголизосомы, 2.7 — пучок сократимых

— клетки бронхиального эпителия; 3 — микрофиламентов, 2.8 — псевдоподии, 2.9 — нейтрофилы; 4 — лимфоциты — микроворсинки

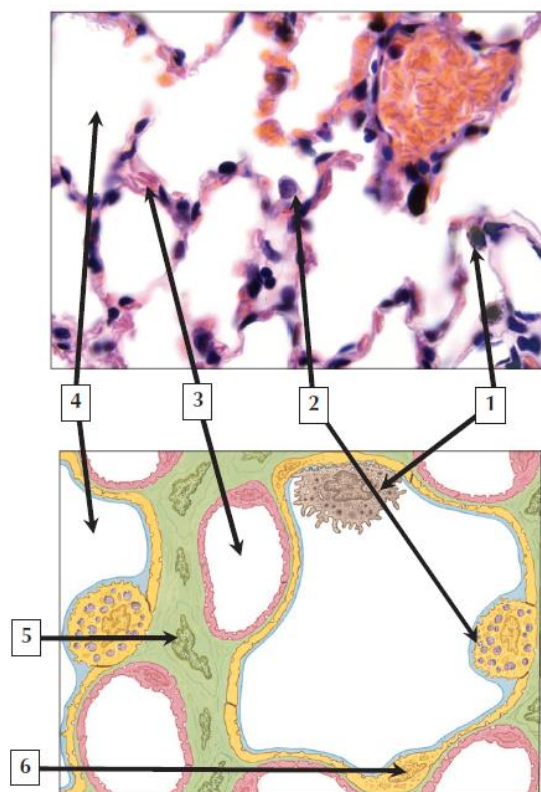
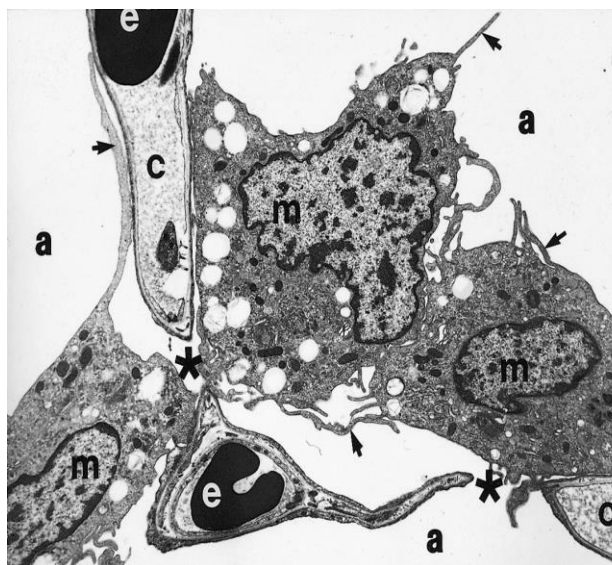


Рис. 12 Просвечивающая электронная микрофотография межальвеолярной перегородки.

Альвеолы (а)

АМ (м)

Альвеолы (а), эритроциты (е) в капиллярах (с) и альвеолярные макрофаги (м).

Филоподии (стрелки) хорошо видны. Звездочки указывают на наличие альвеолярных пор. (От Майна Ю.Н.): Морфология и морфометрия нормального легкого. *Am J Anat* 183: 258-267, 1988. Авторское право © 1988. Перепечатано с разрешения Wiley- Liss, Inc., дочерней компании John Wiley & Sons, Inc.)

Рис. 13 Фотопленка и схема паренхимы легкого

1. Альвеолярная пылевая клетка (АМ)
2. Пневмоцит II типа
3. Легочный капилляр
4. Просвет легочной альвеолы
5. Фибробласт в межальвеолярной перегородке
6. Пневмоцит I типа

Таблица 2 Сравнительная морфофункциональная характеристика альвеолярных и интерстициальных макрофагов легкого человека

Признаки	Альвеолярные макрофаги	Интерстициальные макрофаги
Расположение в легком	Поверхность альвеол	Интерстиций
Доля в общей популяции клеток легкого, %	3	2
Доля в общей популяции макрофагов легкого, %	75–80	20–25
Размеры клеток	Крупные (средний диаметр — 16,0 мкм)	Мелкие (средний диаметр — 7,6 мкм)
Поверхность клетки	Неровная, динамично меняющаяся, с многочисленными выростами	Сравнительно гладкая
Характеристика ядра	Преобладание эухроматина	Более высокое содержание гетерохроматина
Развитие цитоплазмы	Значительное	Умеренное
ЯЦО	Среднее	Высокое
Вакуолизация цитоплазмы	Значительная	Выражена слабо
Содержание лизосом в цитоплазме	Высокое	Умеренное
Подвижность	Высокая	Низкая
Адгезивная активность	Высокая	Умеренная
Метаболическая активность	Высокая	Умеренная
Способность к делению	Имеется	Возможно, имеется
Продолжительность жизни	Значительная	Короткая
Скорость обновления	Низкая	Высокая
Способность к представлению антигенов	Слабо развита	Сильно развита
Участие в метаболизме сурфактанта	Активное	Незначительное
Фагоцитарная активность	Высокая	Низкая
Активность выработки цитокинов	Высокая	Низкая

3.1.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АМ

В физиологическом состоянии альвеолярные макрофаги в большинстве обладают иммунофенотипом М2- (альтернативно активируемых, противовоспалительных) клеток, участвующих в поддержании тканевого гомеостаза и регенерации. Клетки с иммунофенотипом М1- (классически активируемых, провоспалительных) макрофагов, способных в большом количестве выделять провоспалительные цитокины и быстро уничтожать патогенные микроорганизмы, характерны для легких, реагирующих на повреждение или инфекцию.

Альвеолярные макрофаги являются высокоактивными свободными фагоцитами с развитым лизосомным аппаратом: они быстро перемещаются по поверхности альвеолярной выстилки и очищают ее от частиц пыли и микроорганизмов.

АМ обладают амeboидной подвижностью, причем среди макрофагов они уникальны тем, что их перемещение происходит не в тканях внутренней среды, а по поверхности эпителия альвеолярной выстилки, покрытой сурфактантом. От других тканевых макрофагов они отличаются и тем, что непрерывно подвергаются непосредственному воздействию факторов внешней среды.

После фагоцитоза частиц альвеолярные макрофаги перемещаются в респираторные бронхиолы, а оттуда — вследствие деятельности реснитчатого эпителия вместе со слизью (мукоцилиарный эскалатор) попадают в мокроту. Вторым направлением их миграции служит интерстиций и далее — лимфатические пути.

Альвеолярные макрофаги, поглотившие различные частицы, покидают альвеолы, активно мигрируя в респираторные бронхиолы, где их подхватывает мукоцилиарный эскалатор, удаляющий их из легких и транспортирующий в глотку, где они проглатываются. Другим путем их миграции является интерстиций легких и далее — лимфатические пути, которые с током лимфы переносят их в регионарные лимфатические узлы. При фагоцитозе макрофаги выделяют цитокины, хемокины, факторы роста, протеолитические ферменты и активные метаболиты кислорода, которые привлекают в альвеолы клетки других типов (нейтрофилы, моноциты, лимфоциты).

Альвеолярные макрофаги вместе с БАЛТ и мукоцилиарным транспортом являются одним из главных звеньев защитных механизмов легких — органов, которые непрерывно подвергаются воздействию вредных факторов окружающей среды. В течение суток в легкие жителя экологически чистой местности вместе с 12–15 тыс. л вдыхаемого воздуха поступает $\sim 5 \times 10^{10}$ потенциально опасных частиц, а обитателя загрязненных городов — в 2000 раз большее их количество. Эти частицы включают разнообразные микроорганизмы, а также аллергены, митогены, канцерогены, токсические вещества. Их большая часть (в особенности наиболее крупные частицы) задерживается в воздухоносных путях, меньшая — преодолевает защитные механизмы и попадает в альвеолы, где они захватываются и уничтожаются альвеолярными макрофагами — высокоподвижными клетками, функциями которых являются фагоцитоз, пиноцитоз, антимикробная защита, секреция интерлейкинов и других регуляторных веществ.

При пневмокониозах — хронических легочных заболеваниях, связанных с длительным вдыханием производственной пыли, в частности при антракозе, обусловленном воздействием каменноугольной пыли, альвеолярные макрофаги перегружены захваченными частицами угля, которые занимают значительную часть их цитоплазмы (рис. 10). Обнаружение таких клеток в мокроте или материале бронхоальвеолярного лаважа является одним из критериев диагностики этих заболеваний.

Альвеолярные макрофаги являются клетками, ответственными за реакции врожденного и приобретенного иммунитета в легких. Они могут индуцировать гуморальные и клеточные иммунные реакции путем поглощения антигенов, их процессинга и представления Т- и В-лимфоцитам. Влияют на ход иммунных реакций, усиливая или подавляя пролиферацию, дифференцировку и активность стимулированных антигенами лимфоцитов. Взаимодействуют с пневмоцитами и другими клетками. Легко фагоцитируют частицы размером < 10 мкм, однако при попадании более крупных объектов могут сливаться друг с другом, образуя гигантские многоядерные клетки.

Наряду с фагоцитарной функцией и способностью к внутриклеточному уничтожению микробов альвеолярные макрофаги секретируют антимикробные пептиды и

протеазы, а также ряд цитокинов, хемокинов и метаболитов, которые регулируют воспалительные реакции в легком, в частности привлекают в альвеолы активированные нейтрофилы. Недавно установлена способность альвеолярных макрофагов к уничтожению микроорганизмов посредством внеклеточных ловушек. Они участвуют также в поглощении и разрушении сурфактанта, который стимулирует их активность. Выделение активированными макрофагами некоторых ферментов (коллагеназы, эластазы) может вызывать повреждение легкого и лежит в основе патогенеза эмфиземы

Отдельно необходимо отметить процесс окисление липидов в макрофагах, что сопровождается выделением тепла, которое обогревает вдыхаемый воздух.

Альвеолярные макрофаги чувствительны к колебаниям содержания кислорода. Так, есть сообщения, что длительная (1,5мес) прерывистая гипоксия сопровождается достоверным снижением относительного числа альвеолярных макрофагов и моноцитов и митотической активности клеток моноцитарно-макрофагального ряда.

Продолжительность жизни альвеолярных макрофагов, согласно данным одних исследователей, составляет 1-5 недель, другие авторы приводят данные о более длительном существовании – 50 сутках.

Собственно говоря, срок жизни макрофагов находится в прямой зависимости от свойств фагоцитированного материала. Есть легко перевариваемые объекты, например бактерии, которые фагоцитируются без повреждения макрофага, в то время как ряд токсических веществ, таких как двуокись кремния, может приводить к быстрой гибели макрофагов.

3.1.5. РОЛЬ АМ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Альвеолярные макрофаги – важнейшее связующее звено в системе местного иммунитета дыхательных путей, они напрямую задействованы в реакциях неспецифического и специфического иммунитетов, а также обеспечивают кооперативное действие остальных элементов защитной системы. Это много функциональные клетки, их роль как иммунопротекторов и иммуномодуляторов сочетается с выраженной секреторной активностью. Макрофаги защищают от вдыхаемой органической и минеральной пыли, обезвреживают микроорганизмы и токсичные вещества.

С помощью макрофагов происходит первичная обработка ингалированных компонентов атмосферной взвеси, контакт с которыми резко усиливает утилизацию кислорода и глюкозы, липидный обмен и фагоцитарную активность макрофага. Макрофаги участвуют также в изоляции ингалированных частиц фагоцитозом, удалении их из легкого транспортной системой и обезвреживании фагоцитированных веществ.

Альвеолярные макрофаги элиминируют ингалированные частицы и поглощают бактерии аэрозоля сразу же после вдыхания.

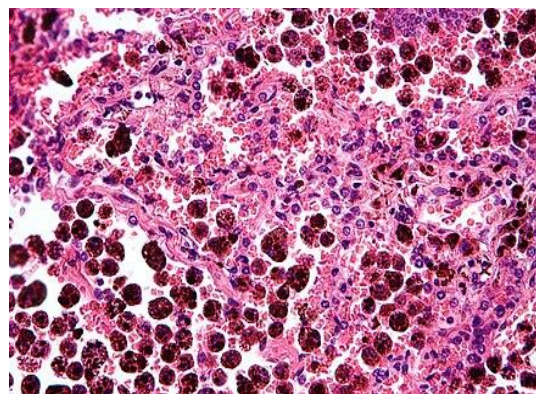
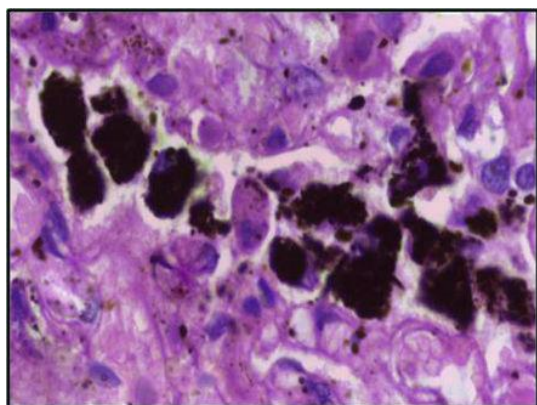


Рис. 14 Макрофаги легких, содержащие углерод

Рис. 15 Макрофаги легких с гемосидерином

Большинство ингалированных частиц, достигших альвеолярной зоны, поглощается и выводится макрофагами. Вообще, фагоцитоз и связанные с ним внутриклеточные изменения макрофагов – итог сложных взаимоотношений, в которые вовлекаются поверхностные структуры макрофага, плазматическая мембрана, лизосомная система, микрофиламенты, микротрубочки, пластинчатый комплекс, митохондрии и цитоплазматические компоненты. В свою очередь деятельность макрофагов регулируется со стороны сурфактанта. Показано, что сурфактант стимулирует фагоцитоз, предотвращает цитолиз макрофагов и повышает подвижность альвеолярных макрофагов. После фагоцитоза нагруженные макрофаги мигрируют из легких. Способности макрофагов к миграции благоприятствуют условия окружающей среды, особенно ток лимфы и жидкости в легочном интерстиции и мукоцилиарный клиренс в бронхах. Хемотаксис стимулирует миграцию альвеолярных макрофагов в альвеолы и бронхи, а также накопление их в области воспаления. К хемотаксическим факторам относятся, проникшие в альвеолы и бронхи микроорганизмы, продукты их метаболизма и взаимодействия с тканями (рис. 14,15).

Так, было выделено три пути миграции макрофагов: основной мукоцилиарный путь – когда при попадании макрофагов на мерцательный эпителий они быстро удаляются из легкого (от 1 до 5 млн. клеток в час) и перемещаются в соседние альвеолы через поры Кона, Лимфатический путь – когда альвеолярные макрофаги, переместившись к лимфатическим узлам корня легкого, попадают в грудной лимфатический проток и оттуда в кровоток, интерстициальный путь – когда нагруженные фагоцитированными частицами макрофаги мигрируют с альвеолярной поверхности в соединительную ткань и уносятся потоком интерстициальной жидкости в периваскулярные и субплевральные области за период от 1 до 14 суток. Кроме фагоцитоза частиц и доставки антигена к иммунокомпетентным лимфоцитам, альвеолярные макрофаги принимают участие в стимуляции лимфоцитов, полиморфонуклеарных лейкоцитов, фибробластов, альвеоцитов и регуляции их функции. Макрофаги выделяют коллагеназу, эластазу, эстеразу, кислые гидролазы, адренкортикотропный гормон, тимозин, β -эндорфин, витамин Д₃, протеазы, РНК-азы, ДНК-азы, липазы, лизоцим, В12-связывающий белок, дефензины, катионные белки, лактоферрин, миелопероксидаза, перекись водорода, супероксид, нитроксид,

простагландины, лейкотриены, тромбоксаны, $\alpha 2$ -макроглобулин, компоненты комплемента (C1– C9), фибронектин, тромбоспондин, хондроитинсульфат, трансферрин, авидин, аполипопротеин E, IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, TNF α , IFN α/β , CSFs, TGF β , FGF, PDGF IL-1 inh и другие вещества. Макрофаги дыхательных путей фагоцитируют возбудители, попавшие туда с воздухом. Тканевые макрофаги находятся в интерстициальном пространстве и их количество приблизительно соответствует числу альвеолярных макрофагов. Возникает непосредственный контакт между соединительно-тканым матриксом и клетками, что делает эффекторный механизм даже более эффективным, чем в случае с альвеолярными макрофагами. Внутрисосудистые макрофаги фагоцитируют микроорганизмы, проникшие в сосудистое русло лёгких. Плевральные макрофаги находятся в анаэробных условиях и напоминают перитонеальные, но они изучены значительно меньше, чем другие виды макрофагов. Таким образом, помимо локального действия, макрофаг обеспечивает взаимосвязь отдельных компонентов системы местного иммунитета между собой и с внешней средой организма, осуществляя регуляцию на системном уровне. Также в норме (до 0,1%) и при некоторых патологических состояниях (например, муковисцидозе, раке легкого, туберкулезе, эхинококкозе, актиномикозе и др.) встречается особая популяция макрофагов, содержащая липидные включения – липофаги.

3.2. МАКРОФАГИ ПЕЧЕНИ. КЛЕТКИ КУПФЕРА (КК)

3.2.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ КК

Более 95 % всех макрофагов организма локализовано в печени; другое название этих макрофагов —клетки Купфера, по имени Карла Вильгельма Купфера, профессора анатомии из Koniggsberg (затем Мюнхена), впервые описавшего их в 1876 г. (клетки Купффера, КК, тканевые макрофаги, клетки береговые, клетки синусоидные, клетки эндотелиальные звездчатые, в Польше эти клетки названы именем профессора патологической анатомии Ягеллонского университета Та- деуша Бровика (Tadeusz Browicz)).

Клетки Купфера являются важным компонентом мононуклеарно-фагоцитарной системы, которая присутствует в печени.

КК располагаются внутри печеночных синусоидных капилляров, частично на их бифуркациях. Их отростки проходят между эндотелиальными клетками и часто пересекают просвет синусоидов (рис.16).

В зависимости от расположения в дольке КК различаются по функциям и фенотипу, который они адаптируют к разному микроокружению сигналов в печени. Перипортальные клетки значительно крупнее и проявляют более высокую фагоцитарную и лизосомальную активность по сравнению с клетками средней и перивенозной зон (рис. 10, 11).

Популяция КК в синусоидальной выстилке печени составляет приблизительно 15% от общей популяции клеток печени. При этом приблизительно 43% КК расположено в перипортальной зоне дольки, 28% - в средней и 29% - в центральной зоне. КК в физиологических условиях являются долгоживущими и способными к самообновлению.

3.2.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ КК

Существует две гипотезы о механизмах самоподдержания такого огромного пула клеток.

В соответствии с одним представлением, высказанным в 80-х годах прошлого века, популяция макрофагов печени постоянно пополняется за счет мигрирующих

гемопоэтических клеток красного костного мозга, согласно другому, более позднему, клетки Купфера способны к самообновлению за счет пролиферации зрелых клеток или предшественников, локализованных также в печени. Таким образом, происхождение клеток Купфера связано с двумя механизмами: пополнением за счет локальной пролиферации и привлечением циркулирующих предшественников.

В исследовании показано, что через двенадцать часов после введения 3Н-тимидина около 1,5% клеток Купфера содержат 3Н-тимидин, что свидетельствует о низком количестве клеток, которые пролиферируют в нормальных условиях у взрослых. Доля клеток Купфера, которые инкорпорируют 3Н-тимидин, увеличивается, если мышцы подвергаются облучению всего тела; однако защита задних конечностей животных во время облучения всего тела указывает на то, что увеличение инкорпорации 3Н-тимидина зависит от предшественников костного мозга. При трансплантации костного мозга мышечные клетки, полученные от донора, быстро заселяют печень клетками Купфера (в течение 3 недель), и донорские клетки Купфера при трансплантации печени заменяются аналогичными по кинетике. Однако эксперименты на крысах показали, что клетки Купфера могут быть долгоживущими, а временное истощение моноцитов периферической крови мало влияло на количество клеток Купфера.

Таким образом, клетки Купфера, подобно многим другим популяциям макрофагов, могут пополняться за счет различных механизмов, и вполне вероятно, что на используемые механизмы влияют воспаление и другие факторы.

3.2.3. МОРФОЛОГИЯ КК

КК - большие звездчатые клетки, размеры КК - 20-40 мкм. Строение КК отличается разнообразием, зависящим от фагоцитарной активности, свойств поглощенного материала, локализации в синусоидном капилляре.

КК содержат овальное ядро, разное количество митохондрий, хорошо развитый комплекс Гольджи, короткие цистерны гранулярной эндоплазматической сети (ГрЭС), множество лизосом, плотные остаточные тела и редкие кольцевые пластинки (лепестки), которые рассматривают как специализированную форму гранулярного эндоплазматического ретикулума. Внутриклеточные органеллы КК синтезируют ферменты для внутриклеточного и внеклеточного расщепления чужеродного материала, антибактериальные и другие биологически активные вещества (протеазы, кислые гидролазы, пироген, интерферон, лизоцим и др.). Отражением фагоцитарной активности КК является количество лизосом, которых больше в «старых» клетках, и остаточных телец, представленных в виде плотных цитоплазматических гранул. В цитоплазме КК выделяют «клеточную периферию», обеспечивающую макрофагу способность передвигаться, втягивать микровыросты цитоплазмы, осуществлять эндо- и экзоцитоз. Наблюдаются также микротрубочки и пучки микрофиламентов.

На поверхности КК имеются непостоянные уплощенные цитоплазматические складки (ла-меллоподии) или пластинчатые ножки, а также отростки (филоподии) и микроворсинки, покрытые гликокаликсом. Плазмолемма формирует червеобразные тельца с центрально расположенной плотной линией. Эти структуры могут представлять конденсированный гликокаликс.

Звездчатые макрофаги представляют собой крупные высокоспециализированные макрофаги, которые распластаются по поверхности эндотелиальных клеток, активно

перемещаясь по ней. Их длинные отростки переменной длины и формы обращены в просвет синусоида, а более короткие — через отверстия в цитоплазме эндотелиоцитов проникают в перисинусоидное пространство. Эти клетки обладают высокой фагоцитарной активностью и мощным лизосомным аппаратом. В их цитоплазме часто обнаруживаются крупные фаголизосомы.

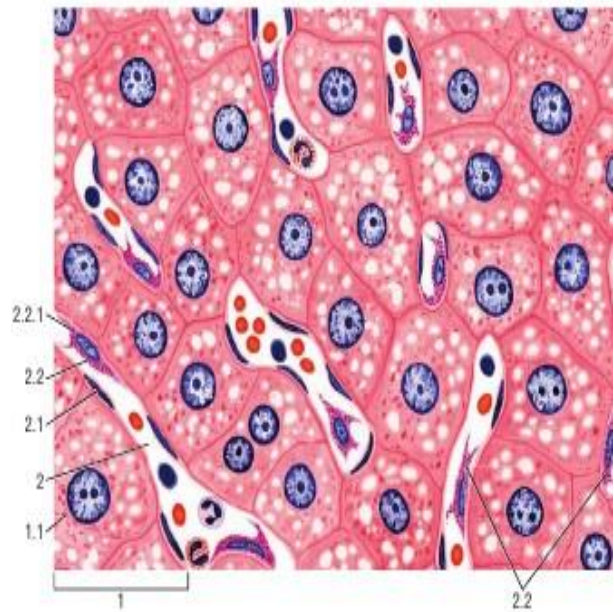
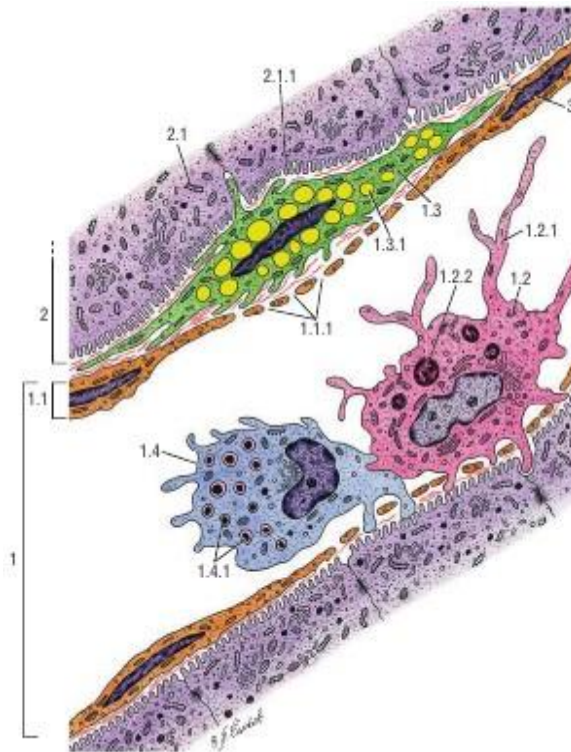


Рис. 16 Клетки синусоидных капилляров (схематический рисунок)

1 — синусоидный капилляр (синусоид): 1.1 — эндотелиальные клетки, 1.1.1 — поры (образующие ситовидную пластинку), 1.2 — звездчатый макрофаг (клетка Купфера), 1.2.1 — отростки, 1.2.2 — фаголизосомы, 1.3 — перисинусоидная клетка (жиронакапливающая клетка, клетка Ито), 1.3.1 — липидные капли, 1.4 — печеночная натуральная киллерная клетка (печеночная НК-клетка, pit-клетка), 1.4.1 — гранулы; 2 — пластинки гепатоцитов: 2.1 — гепатоцит, 2.1.1 — микроворсинки; 3 — перисинусоидное пространство (Диссе): 3.1 — фибрилла коллагена III типа

Рис. 17 Звездчатые макрофаги (клетки Купфера) печени после прижизненного введения кармина

Окраска: гематоксилин–эозин. 1 — пластинка гепатоцитов: 1.1 — гепатоциты; 2 — синусоидный капилляр (синусоид): 2.1 — эндотелий, 2.2 — звездчатые макрофаги (клетки Купфера), 2.2.1 — гранулы красителя кармина

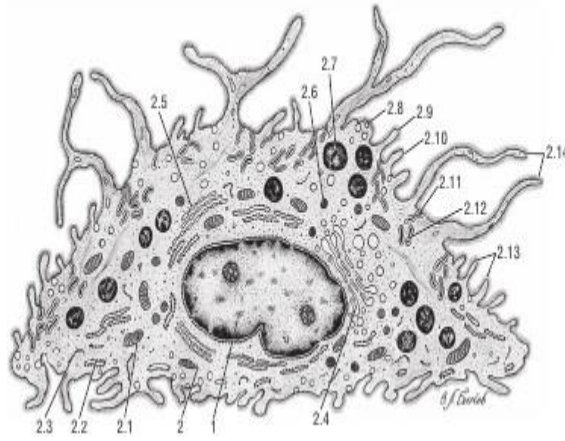


Рис. 18 Ультраструктурная организация звездчатого макрофага (клетки Купфера)

Рисунок с ЭМФ. 1 — ядро; 2 — цитоплазма: 2.1 — митохондрия, 2.2 — цистерна грЭПС, 2.3 — полисомы, 2.4 — комплекс Гольджи, 2.5 — кольцевые ламеллы, 2.6 — первичная лизосома, 2.7 — фаголизосома, 2.8 — пиноцитозные пузырьки, 2.9 — плазмолемма, 2.10 — гликокаликс, 2.11 — червеобразные инвагинации плазмолеммы, 2.12 — червеобразные тельца, 2.13 — микроворсинки, 2.14 — крупные цитоплазматические отростки

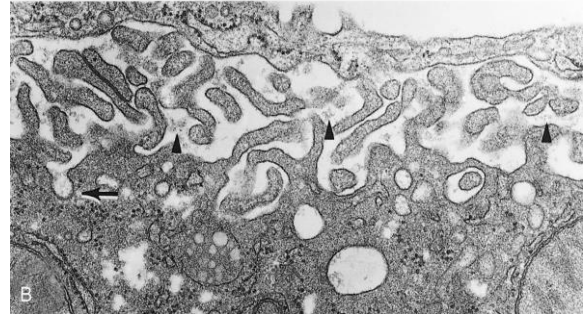
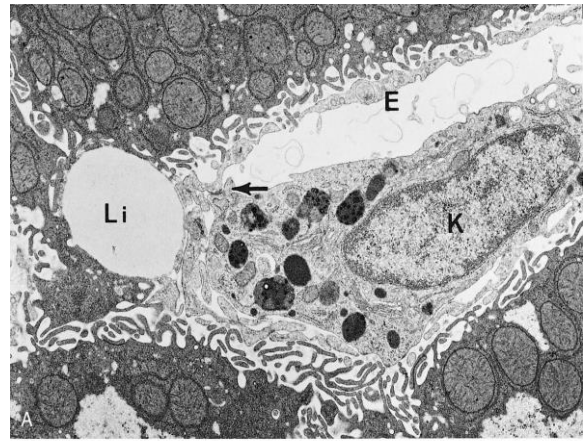
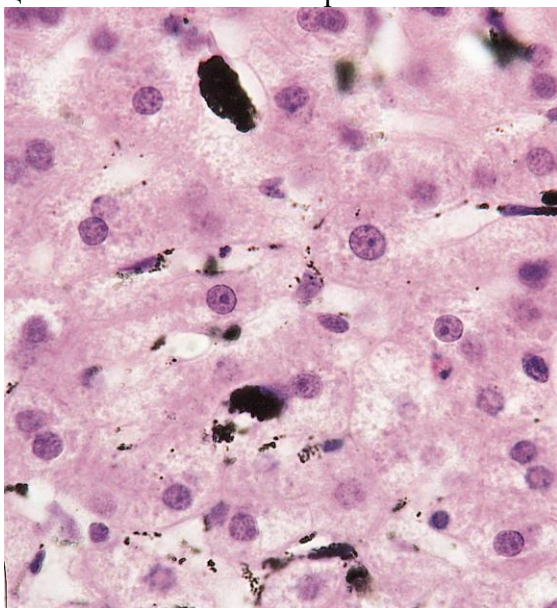


Рис. 19 Электронная микрофотография печени. А, Синусоидальная выстилающая клетка (Е), клетка Купфера (К) с небольшим участком липидной капли (Li), содержащий клетку Ito ($\times 8885$). В, при большем увеличении гепатоцита видны его многочисленные микроворсинки (наконечники стрел), выступающие в пространство Диссе ($\times 29\ 670$).

Стрелка указывает на процесс пиноцитоза. (Из книги Мацумото Э., Хиросавы К.

Рис. 20 Микрофотография печени собаки, демонстрирующая пластинки гепатоцитов, синусоиды и клетки Купфера, содержащие индийские чернила (К) ($\times 540$).

Клетки Купфера, отчетливо выявляются вследствие накопления в их цитоплазме гранул красителя кармина красно-пурпурного цвета. (рис. 17).

Эти частицы введенного внутривенно экзогенного красителя захватываются звездчатыми макрофагами из крови, протекающей в синусоидных капиллярах, благодаря их высокой фагоцитарной активности. Звездчатые макрофаги имеют варибельную, обычно отростчатую, форму и местами резко выступают в просвет капилляра. Они особенно часто обнаруживаются в области разветвления синусоидных капилляров, где кровоток замедляется. Вследствие различий фагоцитарной активности содержание гранул красителя в цитоплазме отдельных клеток неодинаково. В пределах печеночной дольки звездчатые макрофаги крупнее, более многочисленны и активны в периферической (портальной) зоне, чем в центральной.

Подобно гранулам красителя, звездчатые макрофаги печени поглощают разнообразные частицы, в особенности микроорганизмы, которые могут проникать в кровь системы воротной вены из пищеварительного тракта, преимущественно из кишки. Эти макрофаги совместно с макрофагами селезенки участвуют также в разрушении старых изношенных эритроцитов. Распределение этих клеток по зонам «классических» долек неравномерно: из их общего количества, равного в печени человека 22–45 млрд, в периферической, промежуточной и центральной зонах содержатся 43, 28 и 29% соответственно.

Возможно выявление разнообразных макрофагов в организме путем введения красителя в кровь. Эта методика воспроизводит классический эксперимент, впервые выполненный выдающимся русским ученым И.И. Мечниковым — будущим лауреатом Нобелевской премии — в доказательство открытого им явления фагоцитоза.

По своим размерам эти клетки превосходят все другие клеточные элементы синусоидных капилляров. Форма клеток — крайне варибельная, отростчатая (звездчатая) — отражает их высокую подвижность (перемещение по кровотоку и против него со средней скоростью около 5 мкм/мин) и функциональную активность. Ядро этих клеток — овальное, с небольшим содержанием гетерохроматина, преимущественно в виде узкого слоя под ядерной оболочкой, 1–2 ядрышками с рыхлой структурой.

В обширной цитоплазме располагаются многочисленные митохондрии, параллельно лежащие цистерны грЭПС, полисомы, хорошо развитый околядерный комплекс Гольджи, кольцевые ламеллы, большое число первичных лизосом, крупные фаголизосомы различных размеров и плотности, заполненные гетерогенным материалом, многочисленные пиноцитозные пузырьки. Плазмолемма покрыта толстым слоем гликокаликса, в котором находятся различные адгезивные рецепторы, играющие важную роль в прикреплении частиц, предшествующем их фагоцитозу.

Поверхность клетки характеризуется многочисленными вдавлениями и выростами. На ней располагаются особые червеобразные инвагинации плазмолеммы, которые, отшнуровываясь, формируют червеобразные тельца — вытянутые мембранные трубчатые структуры с центральной плотной линией, соответствующей конденсированному

гликокаликсу. Тело клетки покрыто также разнообразными выпячиваниями; самые мелкие из них представлены микроворсинками, имеются также многочисленные крупные цитоплазматические отростки, местами ветвящиеся. Такие отростки лишены большинства органелл, но содержат пучки микрофиламентов. К ним относят истонченные уплощенные пластинчатые выросты — ламеллоподии и узкие вытянутые нитевидные филоподии, однако отличить их друг от друга на отдельных ультратонких срезах затруднительно.

Звездчатые макрофаги одной своей поверхностью прилежат к эндотелию синусоидных капилляров. Через имеющиеся в нем поры и щели они проникают своими мелкими выростами в перисинусоидное пространство Диссе, обеспечивая непосредственные взаимодействия с гепатоцитами и перисинусоидными клетками. На противоположной поверхности располагаются крупные отростки, обращенные в просвет синусоидного капилляра, откуда они захватывают различные частицы.

Клетки Купфера крупные, непостоянные клетки, имеющие звездчатую форму и располагающиеся внутри синусоидных капилляров в печени. Имеют овальное ядро, большое количество митохондрий, развитый синтетический и лизосомальный аппарат, кольцевые пластинки и остаточные тела. Их отростки проходят между эндотелиальными клетками. Также содержат фаголизосомы, содержимым которых являются разрушенные эритроциты и различного рода инородные вещества и включения- гемосидерина или железа, выявляющиеся при суправитальной окраске. КК относят к резидентным макрофагам. Размножение их происходит либо путем митотического деления других КК, либо же они имеют костномозговое происхождение.

3.2.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КК

Они эффективно очищают приносимую из системы воротной вены кровь от частиц, микроорганизмов, иммунных комплексов, антигенов и токсинов, фрагментов разрушенных клеток и поврежденных эритроцитов. Выделяют спектр цитокинов и факторов роста, влияя на функцию всех клеток синусоидных капилляров.

Основные функции клеток Купфера характерны для всех макрофагов: фагоцитоз (состарившихся и опухолевых клеток, эритроцитов, инородных частиц, микроорганизмов), пиноцитоз, процессинг и представление антигенов, секреция биологически активных веществ и цитотоксичность. Они участвуют также в обеспечении толерантности к антигенам, захваченным в пищеварительном тракте. Морфологическими признаками активации клеток Купфера являются увеличение их размеров, содержания органелл, складчатости плазмолеммы, удлинение отростков. Клетки Купфера, расположенные в периферических участках печеночной дольки, обладают более крупными размерами и более высокой функциональной (фагоцитарной и секреторной) активностью, чем лежащие в глубине дольки.

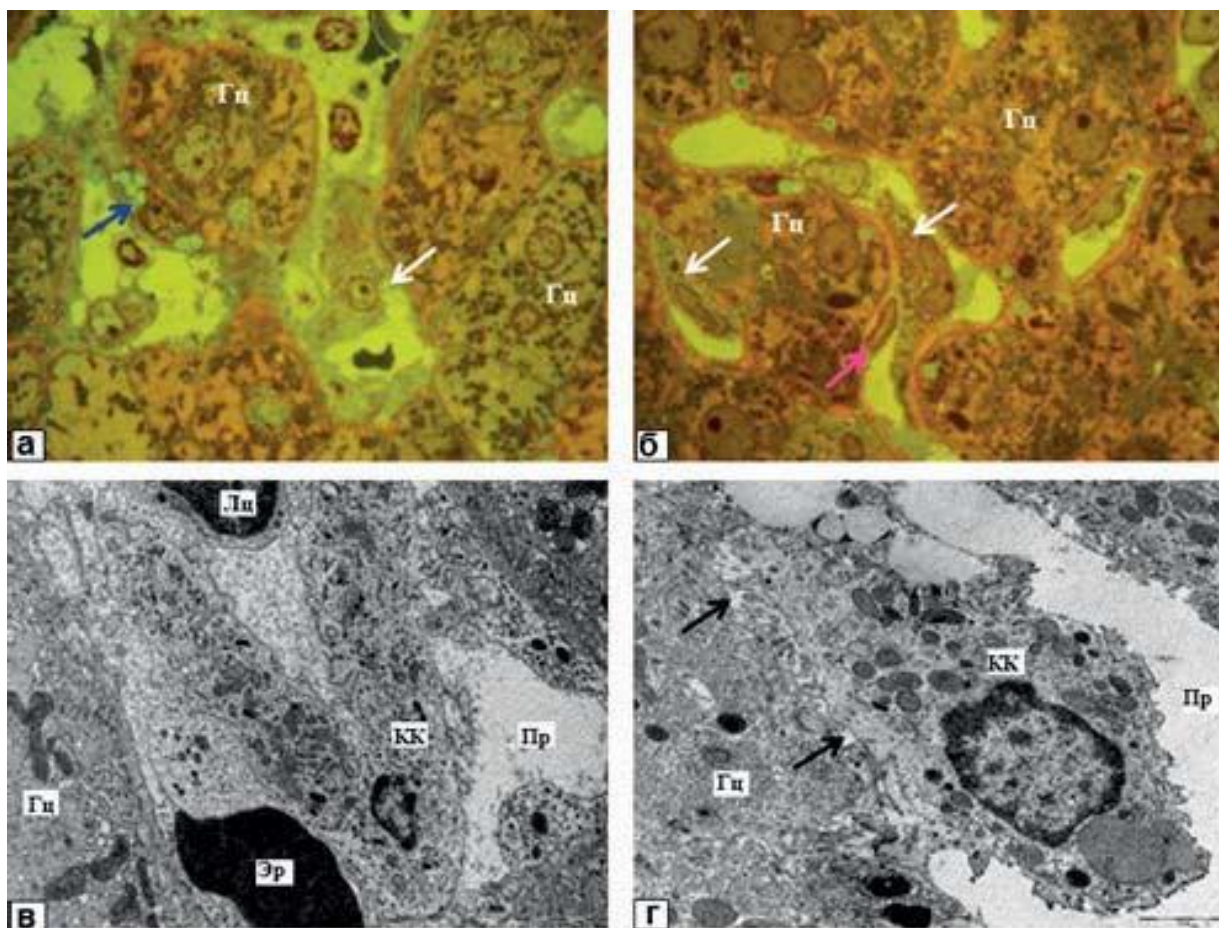


Рис. 21. - Структура и локализация клеток Купфера (КК)

а) крупная КК, свободно располагающаяся в просвете синусоидного капилляра, содержит овальное ядро и большой объем цитоплазмы (белая стрелка); клетка Ито - синяя стрелка $\times 1000$; б) крупная КК, прикрепленная к эндотелию, содержит ядро по форме, близкой к бобовидной (белая стрелка) $\times 1000$; эндотелиальная клетка - розовая стрелка. $\times 1000$ (а, б - полутонкие срезы, окраска азури JJ-основной фуксин); в) КК, свободно располагающаяся в просвете синусоидного капилляра, содержит многочисленные цитоплазматические компоненты, тесно контактирует с лимфоцитом (Лц) и эритроцитом (Эр), Гц - гепатоцит, Пр - просвет синусоидного капилляра. $\times 10\ 000$; з) КК, встроенная в эндотелиальную выстилку синусоидного капилляра, ее ворсинки (филоподии) переплетаются с микроворсинками гепатоцита. $\times 10\ 000$ (в, з - электронограммы)

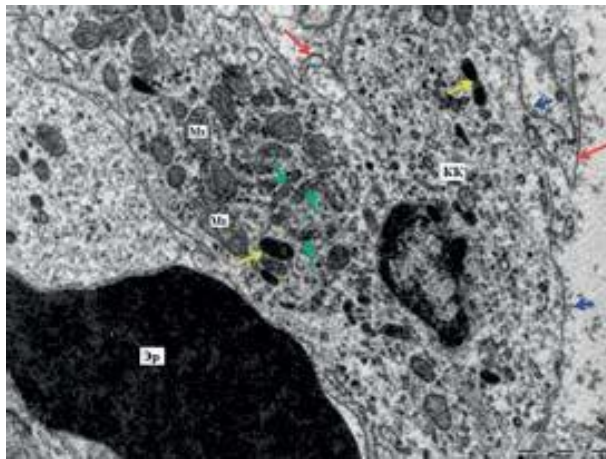


Рис. 22 - Ультраструктурные компартменты КК

Многочисленные митохондрии (Мх), короткие цистерны ГрЭС (зеленые стрелки) и полиморфные плотные тельца (желтые стрелки) в цитоплазме КК. Эр - эритроцит. Синие стрелки - пушистый слой (гликокаликс). Красные стрелки - филоподии (узкие псевдоподиальные выросты). $\times 20\ 000$. Электронограмма

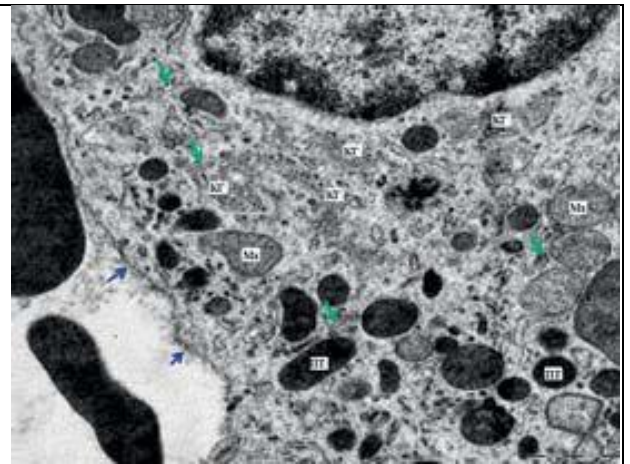


Рис. 23 - Ультраструктурные компартменты КК

Многочисленные плотные тельца (ПТ). Митохондрии (Мх), содержащие матрикс умеренной электронной плотности и отчетливые кристы. Несколько диктиосом комплекса Гольджи (КГ). Малочисленные короткие цистерны ГрЭС (зеленые стрелки). Гликокаликс (синие стрелки) на поверхности КК. Эр - эритроцит. $\times 20\ 000$. Электронограмма

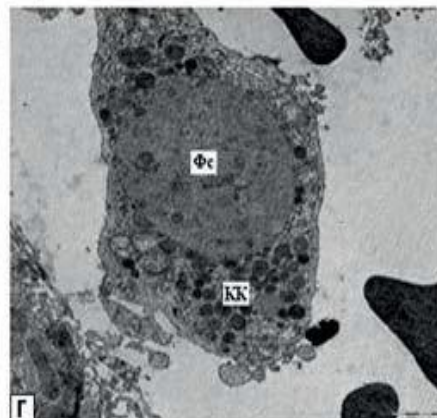
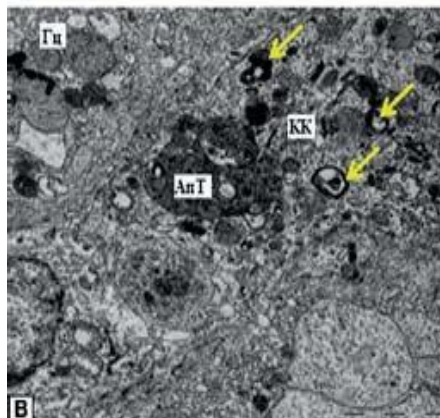
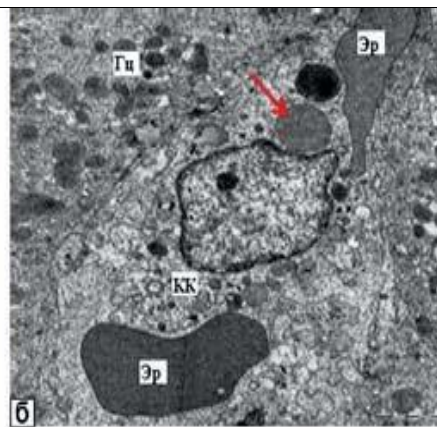
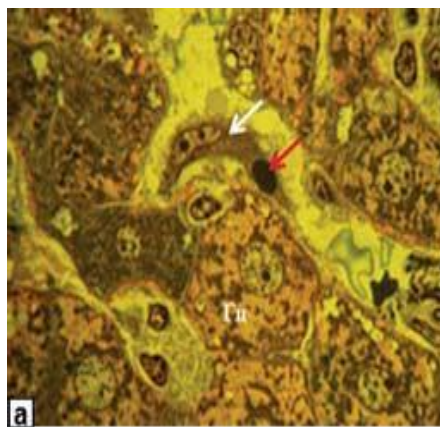


Рис. 24 - Фагоцитарная активность клеток Купфера (КК)

а) КК (белая стрелка) содержит в цитоплазме эритроцит (красная стрелка); полутонкий срез; окраска азур JJ-основой фуксин, x1000; б) КК в контакте с гетерогенными эритроцитами (Эр), содержит в цитоплазме отживший свой срок эритроцит (красная стрелка), x10 000; в) КК в состоянии высокой фагоцитарной активности, содержащая апоптотное тело (АпТ), многочисленные остаточные тельца (желтые стрелки) у пациента с сочетанным поражением печени ХГС+ВИЧ, x15 000; г) КК свободно располагается в просвете синусоидного капилляра, содержит многочисленные митохондрии, плотные тельца и большую фаголизосому (Фс). x10 000 (б, в, г - электронограммы)

Небольшие многочисленные выросты цитоплазмы выглядят как «оборки» (рафлы) на одежде (англ. ruffl); при их смыкании в клетку попадает небольшой объем окружающей «жидкости» (микропиноцитозные вакуоли) вместе с растворенными в ней молекулами. КК также содержат большие фаголизосомы, которые часто содержат отжившие свой срок эритроциты и инородные вещества (рис. 24).

Набухая, КК выполняют роль сфинктеров синусоидных капилляров. В цитоплазме КК много пиноцитозных и фагоцитозных пузырьков или своеобразных трубочек, похожих на «червячков», представляющих депо клеточной мембраны для быстрой фагоцитарной реакции в ответ на попадание в клетку каких-либо частиц (рис. 25,26). С помощью специфических пузырьков осуществляется рецепторно-опосредованный эндоцитоз, который в упрощенном виде представлен следующими стадиями: рецепторы в плазмолемме, перемещаясь латерально по клеточной поверхности и связываясь с лигандами (макромолекулы, некоторые вирусы), накапливаются в области эндоцитозных ямок; вокруг таких ямок и образующихся из них пузырьков со стороны цитоплазмы собирается сетевидная оболочка из белка клатрина; в результате слияния клатриновых пузырьков образуется эндосома (рис. 25,26).

Нередко отмечаются разные варианты клеточной кооперации КК между собой (рис. 8), с другими синусоидальными клетками: клетками Ито, лимфоцитами (рис. 27,28), эритроцитами (рис. 24б), нейтрофилами (рис.30).

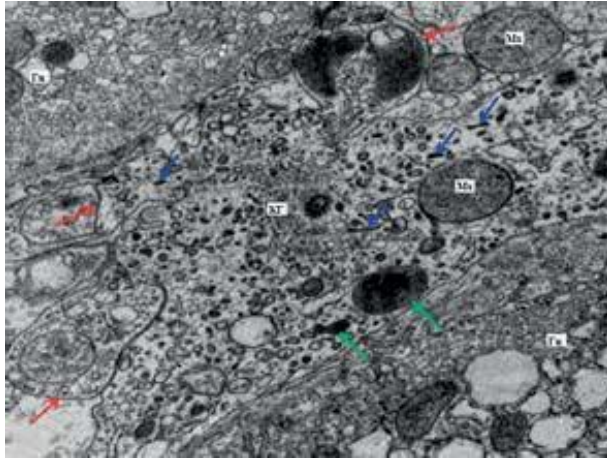


Рис. 25 - Фрагмент цитоплазмы КК

Просвет синусоидного капилляра заполняет набухшая КК, в её цитоплазме выявляются компоненты комплекса Гольджи (КГ), митохондрии (Мх), многочисленные мелкие полиморфные гранулы и пузырьки (синие стрелки), красные стрелки - ламеллоподии, зеленые стрелки - плотные тельца, Гц - гепатоциты. x20 000. Электронограмма

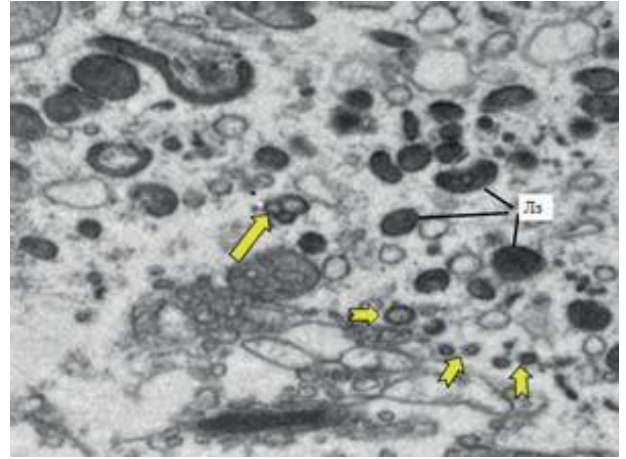


Рис. 26 - Фрагмент цитоплазмы КК

Лизосомы - черные линии; клатриновые везикулы - маленькие стрелки; объединение клатриновых везикул - большая желтая стрелка. x40 000. Электронограмма

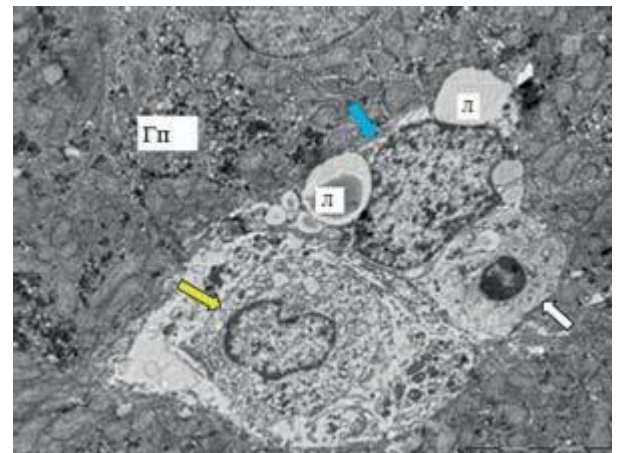
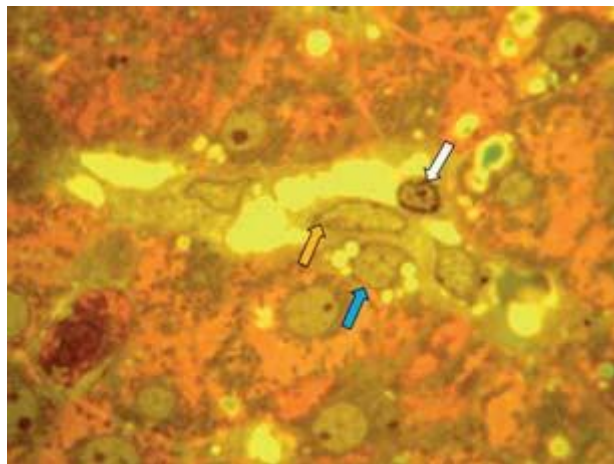


Рис. 27-28 - Синусоидный гемокапилляр

КК (рис. 8, желтая стрелка) и моноцит/макрофаг (рис. 9, желтая стрелка), контактируют с клеткой Ито (синяя стрелка), лимфоцитом (белая стрелка). Гп - гепатоцит, Л - липидные капли клетки Ито; темные гранулы в гепатоците - гликоген; рис. 8 - полутонкий срез. Окраска азур JJ-основой фуксин. x1000; рис. 9. x8 000. Электронограмма

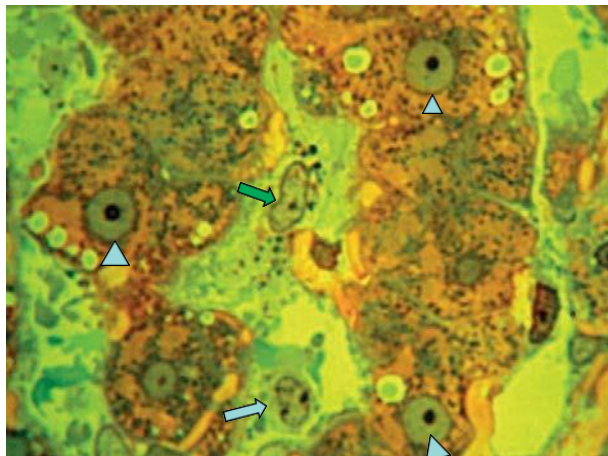


Рис. 29 - Гипертрофированная КК в синусоидном капилляре

Крупное ядро (зеленая стрелка) и разного размера плотные гранулы указывают на активированное состояние КК. Голубые треугольники - ядра гепатоцитов. Голубая стрелка - моноцит/макрофаг. $\times 1000$

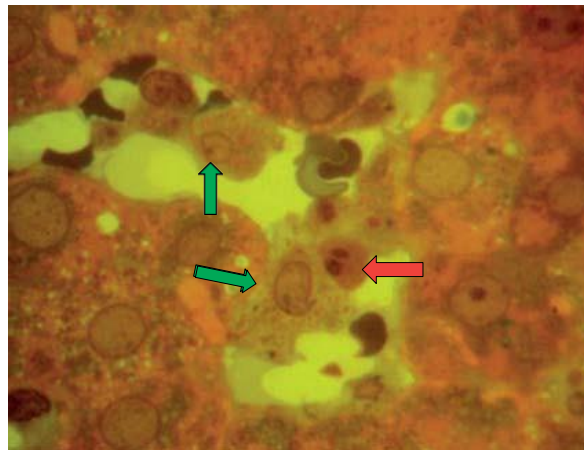


Рис. 30 - Контакты макрофагов (зеленые стрелки) и нейтрофилов (красная стрелка) в синусоидном капилляре в перипортальной области дольки

Полутонкий срез. Окраска: азур JJ-основной фуксин. $\times 1000$

3.2.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КК

КК способны к амебоидному движению и могут выходить в просвет синусоидов. Существуют доказательства, что КК способны мигрировать вдоль синусоидальных стенок со средней скоростью $4,6 \pm 2,6$ (SD) мкм/мин.

Существует ряд доказательств, демонстрирующих значительную гетерогенность активности макрофагов печени, которую классифицировали на две популяции - M1 и M2. M1, или классически активированные макрофаги, характеризуются повышенной экспрессией провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-12 и индуцибельную NO-синтазу - iNOS), тогда как M2 или альтернативно активированные макрофаги, проявляют низкую экспрессию провоспалительных цитокинов и высокую экспрессию противовоспалительных медиаторов (IL-10 и IL-1. Кроме того, в группе M2 отмечена значительная гетерогенность (M2a, M2b и M2c), в которой подклассы макрофагов индуцируются различными регуляторами и проявляют на поверхности клеток разные маркерные белки, а также разную функциональную активность.

Интересные результаты были получены при изучении дополнительных фенотипов резидентных макрофагов в печени. Макрофаги, связанные со спонтанным разрешением фиброза печени, были названы группой Iredale шрам-ассоциированными макрофагами (SAM), представляют собой Gr-1hi и связаны с повышенной экспрессией

профибротических цитокинов, трансформируя фактор роста В (TGF-В) и тромбоцитарный фактор роста. Другой специфический фенотип макрофага связан с гепатокарциномой.

КК фагоцитируют по механизму эндоцитоза (пиноцитоза или фагоцитоза), который может опосредоваться рецепторами (абсорбционный) или происходить без участия рецепторов (жидкофазный). КК поглощают состарившиеся клетки, инородные частицы, опухолевые клетки, бактерии, дрожжи, вирусы и паразитов. Они захватывают и перерабатывают окисленные атерогенные липопротеины низкой плотности и удаляют денатурированные белки и фибрин при ДВС-синдроме.

КК фагоцитируют различные иммуногены из крови, оттекающей из кишечника, и задерживают поступление их в общий кровоток. Фагоцитарная функция осуществляется за счет большого количества лизосом. Макрофаги печени являются ключевым агентом в гомеостазе железа в крови. При этом разрушаются молекулы гемоглобина, их глобиновые цепи повторно утилизируются, а гем расщепляется на железо и билирубин. При суправитальной окраске в них могут быть выявлены включения гемосидерина или железа (рис. 31,32). У лабораторных крыс каждый из макрофагов фагоцитирует около одного эритроцита в день, без видимого вредного воздействия на макрофаг, но более высокая эритрофагия (гемолитические болезни) может привести к повреждению макрофагов.

Метаболиты арахидоновой кислоты, фактор активации тромбоцитов РАФ, g-ИФН вызывают активацию КК. Активация макрофагов возможна лишь в присутствии конкретных стимулов (например, бактериальных продуктов, С3b, у-ИФН). Подобная особенность позволяет некоторым бактериям, грибам и простейшим персистировать в цитоплазме неактивированных макрофагов. Активация макрофагов протекает бурно, сопровождаясь интенсивным выходом микробицидных веществ, а также цитокинов, регулирующих уровень воспалительной реакции и индуцирующих развитие иммунного ответа. Активация КК липополисахаридами подавляет поглощение гиалуроновой кислоты эндотелиальными клетками. Этот эффект, возможно, опосредуется лейкотриенами. Активированные клетки в свою очередь вырабатывают комплекс биологически активных веществ, таких как радикалы кислорода, активатор плазминогена, фактор некроза опухоли альфа (TNF-а), ИЛ-1, ИЛ-6, трансформирующий фактор роста b (TGFb), которые могут вызвать токсическое повреждение гепатоцитов. Под влиянием ИЛ6, ИЛ-1 и TNF-а в печени начинается синтез белков острой фазы, в том числе С-реактивного белка, А-амилоида, гаптоглобина, фактора В комплемента и альфа1-антитрипсина.

Установлено, что активированные КК экспрессируют цитотоксические молекулы (TRAIL, Fas-лиганд, гранзим В, ROS, перфорин), участвующие в лизисе инфицированных гепатоцитов (рис. 33-36). Поскольку цитотоксичность носит неспецифический характер, предполагается, что, наряду с инфицированными гепатоцитами, лизису могут подвергаться и здоровые клетки.

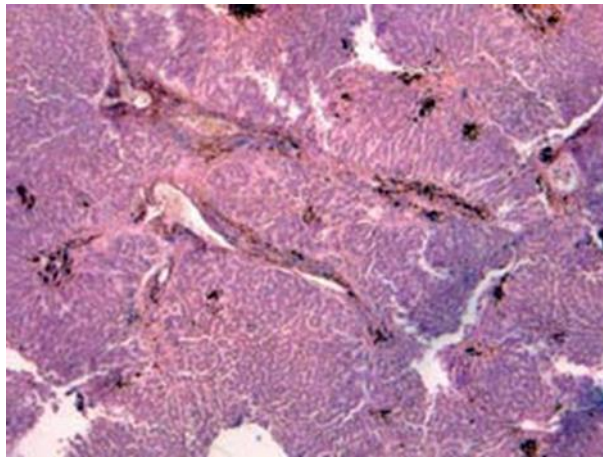


Рис. 31- Очаговый гемосидероз печени
Окраска: гематоксилином и эозином. x200

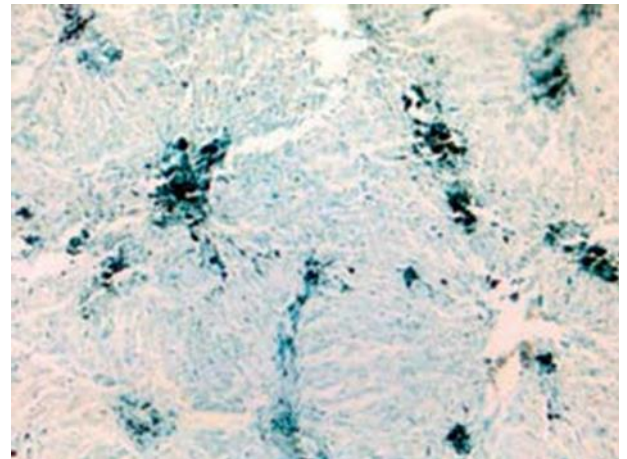


Рис. 32- Очаговый гемосидероз печени
Окраска по Перлсу на железо. x200



Рис. 33 - Цитотоксический эффект моноцита/макрофага
Зеленая стрелка - без участия цитотоксических лимфоцитов в периферической области дольки в очаге воспалительной инфильтрации. Треугольник - место контакта моноцита/макрофага с разрушающимся гепатоцитом. Полутопкий срез. Окраска: азур JJ-основной фуксин. x1000

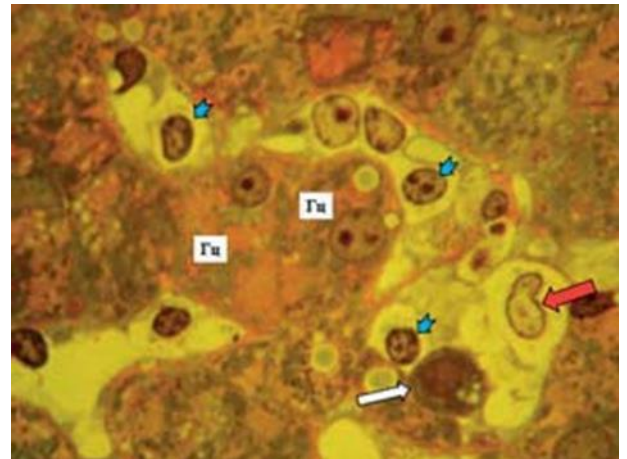


Рис. 34 - Цитотоксический эффект моноцита/макрофага
Красная стрелка - с участием цитотоксических лимфоцитов (синяя стрелка), лизирующих гепатоцит (белая стрелка). Гц - (гепатоцит слева) - с локальной «опустошенностью» цитоплазмы. Гц - (гепатоцит справа) - с липидными включениями и многочисленными ядрышками в ядре. Полутопкий срез. Окраска: азур JJ-основной фукс. x1000

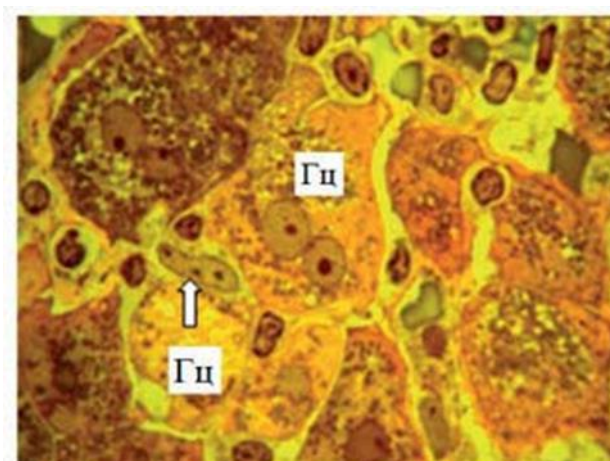


Рис. 35 - Моноцит/макрофаг
Белая стрелка - внедряющийся в пространство между двумя гепатоцитами (Гц), один из которых (нижний) претерпел некроз, а второй (верхний) - дистрофию. Полутонкий срез. Окраска азур JJ-основной фуксин. x 1000

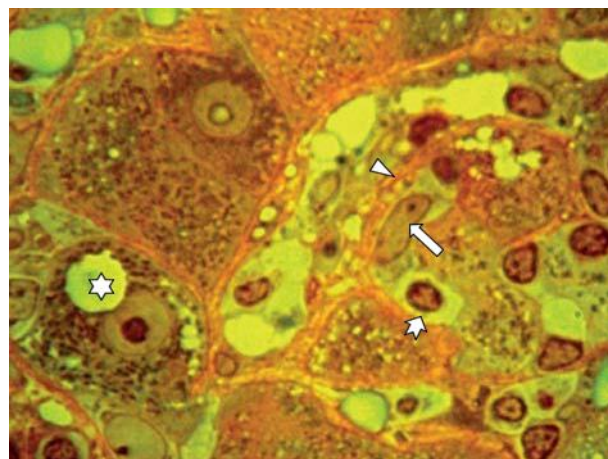


Рис. 36 - Полиморфизм гепатоцитов
В расширенном перисинусоидальном пространстве - моноцит/макрофаг (длинная белая стрелка), участвует с ЦТЛ (короткая белая стрелка) в лизисе гепатоцитов; звездочка - жировая капля в гепатоците с крупным ядрышком в ядре и многочисленными митохондриями в цитоплазме. Перисинусоидальный фиброз (коллагеновые волокна обозначены наконечником стрелы). Полутонкий срез. Окраска: азур JJ-основной фуксин. x 1000

Было показано, что печеночные макрофаги (КК) имеют положительный противовирусный эффект в ранней фазе после заражения, но, видимо, играют роль в подавлении противовирусного иммунитета при хронической инфекции. Помимо их участия в модуляции противовирусного иммунитета, КК, как полагают, участвуют в развитии фиброза при хроническом вирусном воспалении. С другой стороны, КК также экспрессируют множественные металлопротеиназы матрикса (ММП-9, -12 и -13), которые способствуют деградации внеклеточного матрикса и разрешению фиброза.

Установлено, что КК инфицируются на ранних стадиях ВИЧ-инфекции, которая может находиться в них в продуктивном и латентном состоянии. При латенции ВИЧ в КК не размножается, при продуктивной стадии происходит размножение и накопление ВИЧ в цитоплазме и включениях в виде гранул, которые, представляя ВИЧ-«инкубатор», инфицируют клетки печени и, «активируя» различные сигнальные пути, оказывают паракринные эффекты на другие клетки печени.

В наших наблюдениях при микроскопии полутонких срезов в синусоидах печени у всех ВИЧ-инфицированных пациентов в просвете синусоида обнаружены КК крупных размеров с наличием звездчатых отростков, ядер бобовидной формы, наличием лизосом в цитоплазме. В цитоплазме части КК обнаружены характерные множественные интенсивно окрашенные включения, представленные гранулами разного диаметра, густо распределенными в цитоплазме клеток/

При микроскопии полутонких срезов препаратов печени пациентов с ХГС без ВИЧ-инфекции в синусоидах печени также выявлялись КК, однако ни в одном случае в цитоплазме

КК не обнаружены интенсивно окрашенные включения, подобные таковым у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

В одной из работ представлена качественная и количественная характеристика КК и клеток Ито у пациентов с ХГС с разной выраженностью воспалительных изменений в печени. Установлена зависимость между высокой функциональной активностью резидентных макрофагов печени с высокими индексом гистологической активности и уровнем АлАТ. Наряду с этим было показано, что в биоптатах печени пациентов с ХГС с длительностью инфекции более 20 лет имеет место меньшее число КК по сравнению с пациентами со стажем ХГС до 10 лет. Установлена достоверная связь увеличения числа КК в печени с повышением абсолютного числа моноцитов периферической крови при ХГС.

Безусловно, на функциональную активность КК влияют процессы, связанные с апоптозом, интенсивность которых зависит от этиопатогенетических механизмов. Отсутствие или пониженная функциональная активность КК может способствовать инвазии патогенов и/или системному воспалению, напротив, активация КК в условиях повреждения печени приводит к неконтролируемому воспалительному состоянию в печени.

Нами у пациентов с ко-инфекцией ВИЧ/ХГС проведено сопоставление количества КК, содержащих включения, с уровнем вирусемии, показателем иммуносупрессии, клинической стадией ВИЧ-инфекции и получением антиретровирусной терапии (АРТ). В исследовательской группе пациентов с большим количеством КК происходило увеличение в крови вирусной нагрузки ВИЧ, снижение содержания CD4⁺ Т-лимфоцитов, развитие оппортунистических инфекций и заболеваний, чего не отмечено в группах моно-инфекции ВИЧ и ХГС и стало основанием для выбора схемы АРТ.

3.2.5. РОЛЬ КК В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Клетки Купфера играют основную роль в процессе формирования воспаления в печени при бактериальной инвазии, либо же при повреждении тканей воздействием ксенобиотиков. Исследования последних лет показали, что КК регулируют функцию гепатоцитов не только напрямую, путем воздействия на них секретруемыми БАВ, но и посредством цепи реакций между КК и другими клетками стромы. Действие БАВ в обоих случаях оказывается паракринным путем.

Клетки Купфера, как уже указывалось выше, располагаются внутри синусоидных капилляров и выполняют функцию фагоцитоза и инактивации эндотоксинов и бактерий, поступающих в печень посредством венозного кровотока. И именно при фагоцитировании происходит активация КК и переход их в так называемое «праймированное состояние»; при этом существенно снижается фагоцитарная способность КК, но происходит усиление их секреторной активности и выброс в синусоиды медиаторов, регулирующих физиологические функции гепатоцитов.

К собственным медиаторам, синтезируемым и экскретируемыми КК, относят вещества различной химической природы: белки (лизосомальные ферменты), пептиды (цитокины), трансформирующий фактор роста ТФРβ1, липиды (простагландины, тромбоксаны и лейкотриены), а также неорганические медиаторы- активные формы кислорода (АФК) и азота (АФА). Спектр регулируемых медиаторами КК функций очень широк. Так, они участвуют в контроле глюконеогенеза (его ингибировании) и в процессе выброса глюкозы из клеток (посредством простагландинов D2, E2, и F2a; лейкотриенов C4 и D4). КК обладают способностью к стимуляции пролиферативной активности гепатоцитов

и угнетению их апоптоза (действие опосредовано ФНО α (фактор некроза опухоли α) и интерлейкином-6 (ИЛ6), а также лейкотриенами). Доказан факт, что КК могут не только контролировать процессы разрушения или поддержания нормальной функции гепатоцитов, но и воздействовать на гепатоциты протекторно. К примеру, ФНО α , ИЛ1 β или ИЛ6 оказывают благоприятное действие на клетки печени, защищая их от пагубного воздействия этанола. О протекторной функции также свидетельствует то, что элиминация КК усиливает повреждение печени после частичной гепатэктомии. Однако, при высоких концентрациях, к примеру, секретлируемых цитокинов, КК повреждающе воздействуют на гепатоциты. Физиологическое значение гибели гепатоцитов, вызванной медиаторами КК, состоит в усилении воспалительного процесса посредством инфильтрации нейтрофилов в этот орган.

Протекторный эффект КК, опираясь на ряд предположений, обусловлен индуцированными под действием цитокинов стресс-сигналами непосредственно внутри гепатоцитов. Данные сигналы стимулируют генерацию в них активных форм кислорода и азота; а эти вещества и рассматриваются как непосредственно повышающие устойчивость клеток по неизвестному механизму.

Механизм же перехода протекторного действия КК на гепатоциты в повреждающее малоизучен, однако предполагается, что в случае высвобождения малого количества цитокинов возникает так называемый «сигнал выживания», защищающий гепатоциты от гибели и способствующий их пролиферации.

Таким образом, можно выделить ряд требований к протекторному механизму, возникающему посредством секреции КК медиаторов:

- Механизм должен обеспечивать защитную реакцию посредством повреждения гепатоцитов медиаторами КК;
- Рассматриваемый механизм должен активироваться неспецифическим образом;
- Протекторное действие механизма также должно быть неизбирательным: он защищает гепатоциты от воздействия этанола и ацетоминофена, при регенерации после гепатэктомии в условиях возросшей нагрузки на клетки.

В соответствии с действием активированных КК на гепатоциты выделяют основных типа регуляторных механизмов:

1. Известным фактом является паракринный характер воздействия медиаторов КК на гепатоциты. В данном случае действие носит прямой характер.

2. Однако, воздействие может оказываться через другие клетки стромы. Наиболее известным типом связи является цепь КК-звездчатая клетка-гепатоцит (опосредованный тип регуляции). При этом медиаторы КК (лейкотриены, протеиназы, АФА) стимулируют сократительную деятельность звездчатых клеток, что приводит к сужению синусоида и нарушению кровоснабжения гепатоцитов.

3. Третий тип воздействия формируется КК под влиянием эндотоксинов и/или каких-либо механических повреждений печени. В данном случае цепь выглядит как КК-гепатоцит-гепатоцит и эффект оказывается в результате инициации у гепатоцитов гиперметаболического состояния. Данное состояние возникает в гепатоцитах под влиянием цитокинов и эйкозаноидов.

При нем наблюдается повышенная потребность гепатоцитов в кислороде, что в итоге проявляется нормальной функцией одних групп гепатоцитов и гипоксией других. Таким образом, действие КК на гепатоциты уже нельзя назвать паракринным.

4. Данный тип также осуществляется по схеме КК-гепатоцит-гепатоцит, однако отличается тем, что инструментом связей между гепатоцитами здесь является тканеспецифичный эффектор комутон, отличающийся избирательным действием на митохондрии гепатоцитов. Этот эффектор накапливается в печени под влиянием эндотоксина (продигиозана). Комутон регулирует метаболизм ионов Са в митохондриях. Он представляет собой низкомолекулярное соединение, в состав которого входят производные аденина, галактоза, серосодержащая а/к и неидентифицированный компонент. На участие в данном процессе клеток Купфера указывает тот факт, что при их ингибировании ПЗК (продигиозан-зависимый комутон) не накапливался в цитозоле клеток печени. Также необходимо отметить, что комутонная регуляция митохондриальных процессов может возникать не только под влиянием эндотоксина, но и в результате перегрузок гепатоцитов под воздействием инфузий глюкозы (интрагастральных), при повреждении клеток печени гепатотропным ядом- четыреххлористым углеродом. Следовательно, этот механизм активируется неспецифическим образом и относится к стресс-реакциям.

Таким образом, функция ПЗК заключается в генерализации протекторного действия от популяции гепатоцитов, находящихся в непосредственной близости к КК, до клеток остальной части паренхимы печени. В условиях эндо- и экзогенного повреждения печени протекторный механизм клеток Купфера включает в себя по крайней мере два адаптационных механизма. Оба механизма активируются в результате высвобождения медиаторов КК в синусоидальное пространство и их воздействия на гепатоциты. Первый механизм активируется посредством инициации неспецифической реакции на повреждение (основной механизм клеточного стресса), второй- при накоплении ПЗК, являющегося эффектором тканевого стресса.

3.3. МАКРОФАГИ КОЖИ (АПК). КЛЕТКИ ЛАНГЕРГАНСА (КЛ)

3.3.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ КЛ

Клетки Лангерганса локализируются в шиповатом (реже — базальном) слое, могут контактировать с базальной мембраной, через которую мигрируют в эпидермис и из него. В эпидермисе составляют 2–4% всех клеток. Дендритные АПК располагаются сравнительно равномерно внутри пласта эпидермиса, не формируя сплошной сети. Дендритные АПК окружены клетками эпидермиса — кератиноцитами, между которыми они проникают своими отростками. Плотность расположения клеток Лангерганса в различных участках кожи пропорциональна ее проницаемости для антигенов: она в 4–5 раз выше на лице и шее, чем на подошвах и ладонях.

3.3.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ КЛЕТОК ЛАНГЕРГАНСА

Клетки Лангерганса заполняют эпидермис в процессе онтогенеза, и первоначально считалось, что они постоянно пополняются клетками костного мозга. Однако недавно было показано, что клетки Лангерганса самообновляются.

В эксперименте было показано, что клетки Лангерганса были исключительно реципиентного происхождения. Когда клетки Лангерганса истощались в результате облучения ультрафиолетовым светом, они восполнялись за счет циркулирующих в костном мозге предшественников ССR2-зависимым образом, что указывает на то, что

циркулирующий предшественник CCR2+ используется только тогда, когда система находится в стрессовом состоянии.

Аналогичные наблюдения были сделаны в случае трансплантации аллотрансплантата кисти человека. Через 4,5 года после трансплантации клетки Лангерганса были исключительно донорского происхождения, что подтверждает идею о том, что замена клеток Лангерганса предшественниками костного мозга реципиента в стационарных условиях встречается редко.

3.3.3. МОРФОЛОГИЯ КЛ

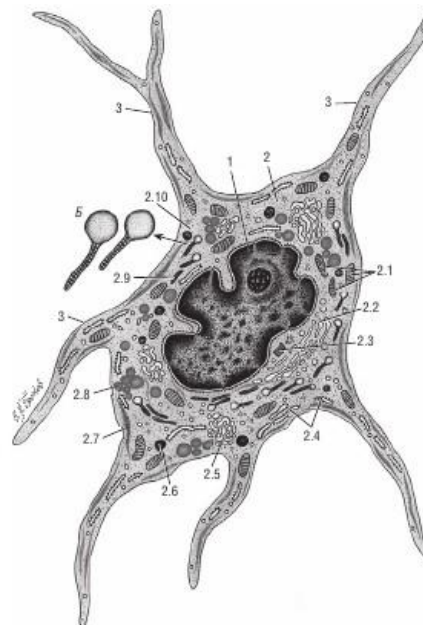
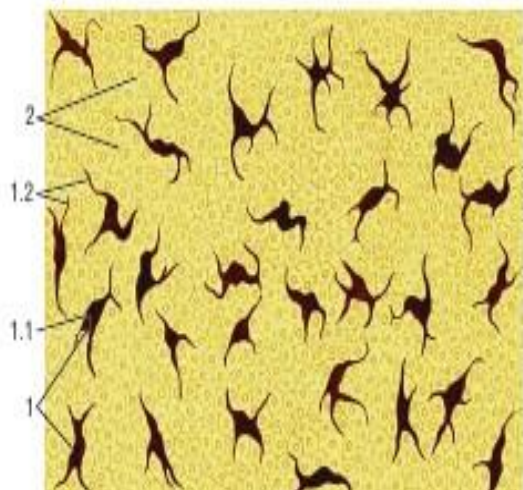


Рис. 37 Дендритные антиген-представляющие клетки (клетки Лангерганса) в эпидермисе (пленочный препарат)

Гистохимическая реакция выявления АТФазы. 1 — дендритные АПК (клетки Лангерганса): 1.1 — клеточное тело, 1.2 — отростки; 2 — клетки эпидермиса — кератиноциты

Рис. 38 Ультраструктурная организация дендритной антиген-представляющей клетки (клетки Лангерганса)

Рисунок с ЭМФ. 1 — ядро; 2 — цитоплазма: 2.1 — митохондрии, 2.2 — комплекс Гольджи, 2.3 — цент-риоли, 2.4 — цистерны грЭПС, 2.5 — элементы аЭПС, 2.6 — лизосомы, 2.7 — виментиновые промежуточные филаменты, 2.8 — липидные капли, 2.9 — гранулы Бирбека, 2.10 — гиалоплазма; 3 — отростки. Б — гранулы Бирбека при большем увеличении электронного микроскопа

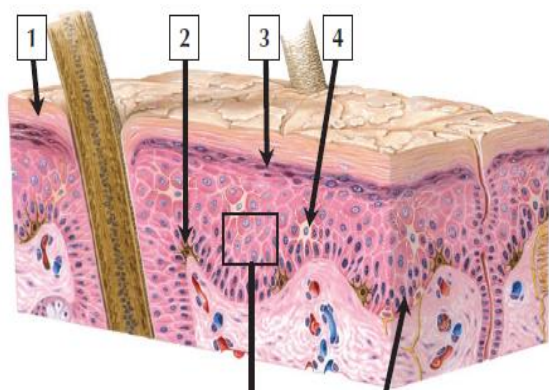


Рис. 39 Схема слоев (стратов) эпидермиса кожи

1. Роговой слой (кератин)
2. Меланоциты
3. Гранулезный слой
- 4. Клетки Лангерганса**
5. Кератиноциты в остистом слое
6. Базальный слой (зародышевый слой)

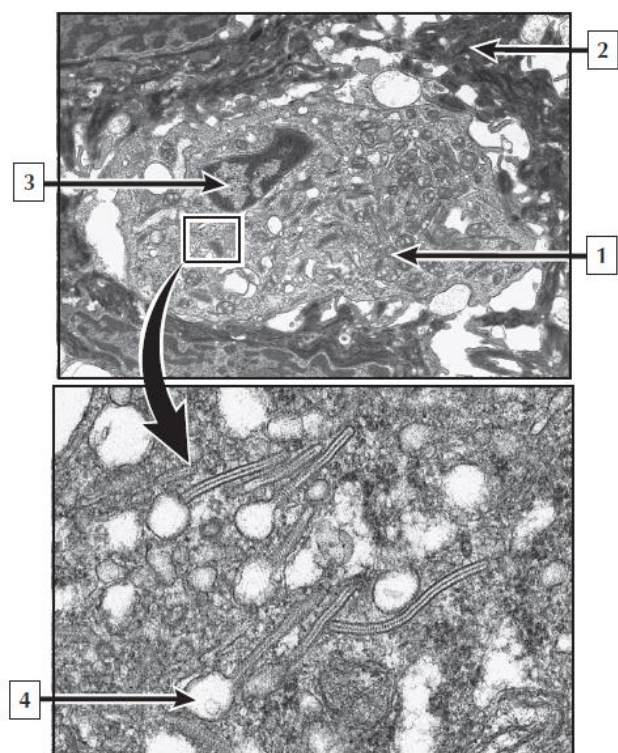


Рис. 40 Электронный микропрепарат клеток Лангерганса эпидермиса кожи

1. Цитоплазма клетки Лангерганса
2. Кератиноцит
3. Ядро (эухроматин) клетки Лангерганса
4. Гранулы Бирбека
5. Моноциты

Для обнаружения в эпидермисе дендритных АПК (клеток Лангерганса) возможно проведение гистохимической реакции на выявление фермента Mg^{2+}/Ca^{2+} -АТФазы. АПК характеризуются высокой активностью этого фермента, отчетливо выделяющей их на фоне эпителиальных клеток (кератиноцитов), обладающих очень низкой активностью.

На пленочном препарате диссоциированного эпидермиса после удаления рогового слоя в толще его шиповатого слоя отчетливо обнаруживаются дендритные АПК — клетки Лангерганса, которые образуют «первую линию» иммунной защиты кожи.

Они образованы клеточным телом варибельной, часто удлинённой, звездчатой формы, от различных участков которого отходят несколько истончающихся, местами ветвящихся отростков (рис. 37-40). Кератиноциты характеризуются очень низкой фоновой активностью АТФазы и вследствие этого окрашены очень слабо в желтоватый цвет. В них с трудом можно различить лишь клеточные границы и контуры ядра. АПК не образуют с кератиноцитами межклеточных соединений.

Удлиненные тела АПК содержат их ядра — крупные, в целом овальной формы с глубокими инвагинациями ядерной оболочки, сравнительно большим количеством гетерохроматина. В цитоплазме находятся многочисленные органеллы и включения: митохондрии, хорошо развитый комплекс Гольджи, центриоли, короткие цистерны грЭПС, элементы аЭПС в виде мембранных трубочек и пузырьков, мелкие лизосомы, многочисленные виментиновые промежуточные филаменты, липидные капли.

Наиболее характерными структурами клеток Лангерганса являются мембранные пузырьки в форме теннисной ракетки — гранулы Бирбека, имеющие вид исчерченных палочек с пузырьком на одном, иногда — на двух концах. Эти гранулы служат ультраструктурным маркером данных клеток и связаны с процессами рецепторно-опосредованного эндоцитоза и представления антигенов. В них содержится особый белок — лангерин, специфический для клеток Лангерганса и выявляемый также на их поверхности. Гиалоплазма имеет сравнительно низкую электронную плотность.

Ветвящиеся отростки клеток Лангерганса располагаются между эпителиоцитами и могут изменять свою форму, протяженность и степень ветвления в зависимости от функционального состояния клеток. В отростках выявляются цистерны грЭПС, гранулы Бирбека, промежуточные филаменты.

3.3.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АПК

Фенотип и функция дендритных АПК (клеток Лангерганса) определяются их клеточным и молекулярным микроокружением. В эпидермисе, в частности, они регулируются многочисленными цитокинами и факторами роста, выделяемыми кератиноцитами. Эти клетки обладают высокой подвижностью и активно перемещаются внутри пласта эпидермиса и за его пределами, динамично изменяя свою конфигурацию. При этом как их количество, так и форма варьируют в широких пределах в зависимости от потока поступающих антигенов. В частности, хорошее развитие отростков отражает высокую активность захвата антигенного материала.

При стандартных гистологических методах окраски эти клетки не выявляются. Традиционным способом их идентификации служит реакция выявления АТФазы, с помощью которой аналогичные клетки продемонстрированы в слизистой оболочке полости рта. Широкое распространение для обнаружения дендритных АПК получило выявление их с помощью иммуногистохимических маркеров.

Клетки Лангерганса являются высокоподвижными профессиональными дендритными АПК эпидермиса — производными стволовой клетки крови. Они способны изменять фенотип в ходе своего жизненного цикла, включающего миграцию их предшественников из красного костного мозга через кровеносные сосуды в эпидермис, их частичную дифференцировку и функционирование в эпидермисе, связанное с захватом чужеродных антигенов, и последующее перемещение из него через лимфатические сосуды в лимфатические узлы, где они окончательно созревают, подвергают антигены процессингу и активно представляют их Т-лимфоцитам совместно с молекулами главного комплекса гистосовместимости II класса и костимулирующими молекулами.

Клетки Лангерганса захватывают антигены, проникающие в эпидермис, покидают его и перемещаются с лимфой по лимфатическим путям в дренирующие лимфатические узлы, где подвергают их переработке (процессингу) и в виде интердигитирующих клеток представляют их Т-лимфоцитам. При перемещении в лимфе клетки Лангерганса

приобретают фенотип особых «вуалевых клеток». В результате взаимодействия с лимфоцитами клетки Лангерганса индуцируют иммунные реакции или угнетают их, обуславливая иммунную толерантность кожи.

3.4. МАКРОФАГИ КОСТИ. ОСТЕОКЛАСТЫ

3.4.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ ОСТЕОКЛАСТОВ

Остеокласты расположены в области рассасывания кости в лакунах Хоушипа.

3.4.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ ОСТЕОКЛАСТОВ

Пре- и послеродовой онтогенез остеокластов остается недостаточно изученным. В частности, это неясно, происходят ли остеокласты из циркулирующих в крови моноцитов или из предшественников, обитающих в костной ткани.

Самый ранний предшественник ОК, как принято считать, который может быть идентифицирован в костном мозге, – это клетка гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующая единица (ГМ-КФЕ). Данная клетка плюрипотентна и является предшественницей не только ОК, но и нейтрофилов, моноцитов и дендритных клеток. Главным цитокином, определяющим ранний путь дифференциации ОК, считается макрофаг-колониестимулирующий фактор (М-КСФ), источником которого являются стромальные клетки и остеобласты (ОБ). Последние секретируют М-КСФ как в свободной, так и в мембранносвязанной форме (рис. 41-43).

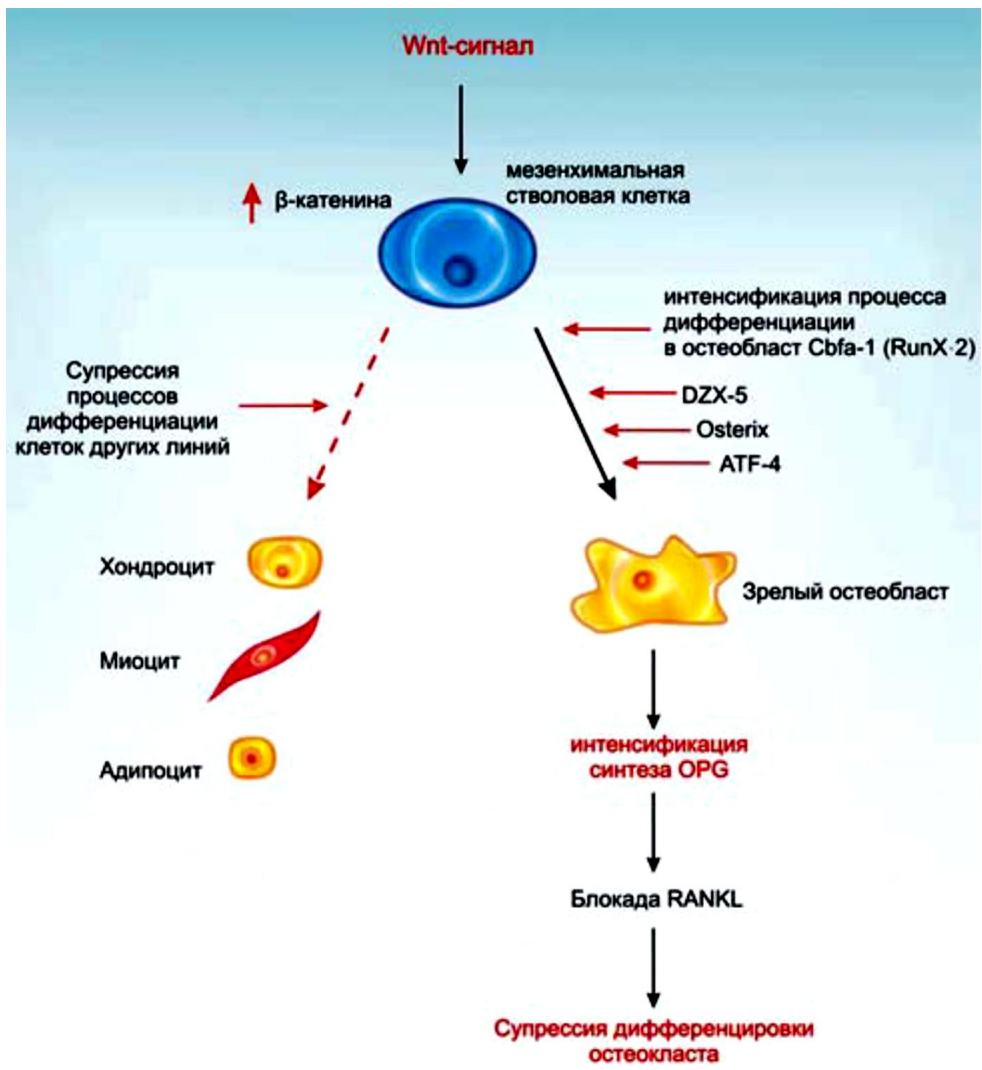


Рис.41. Значение Wnt-сигнала в дифференцировке остеобласта

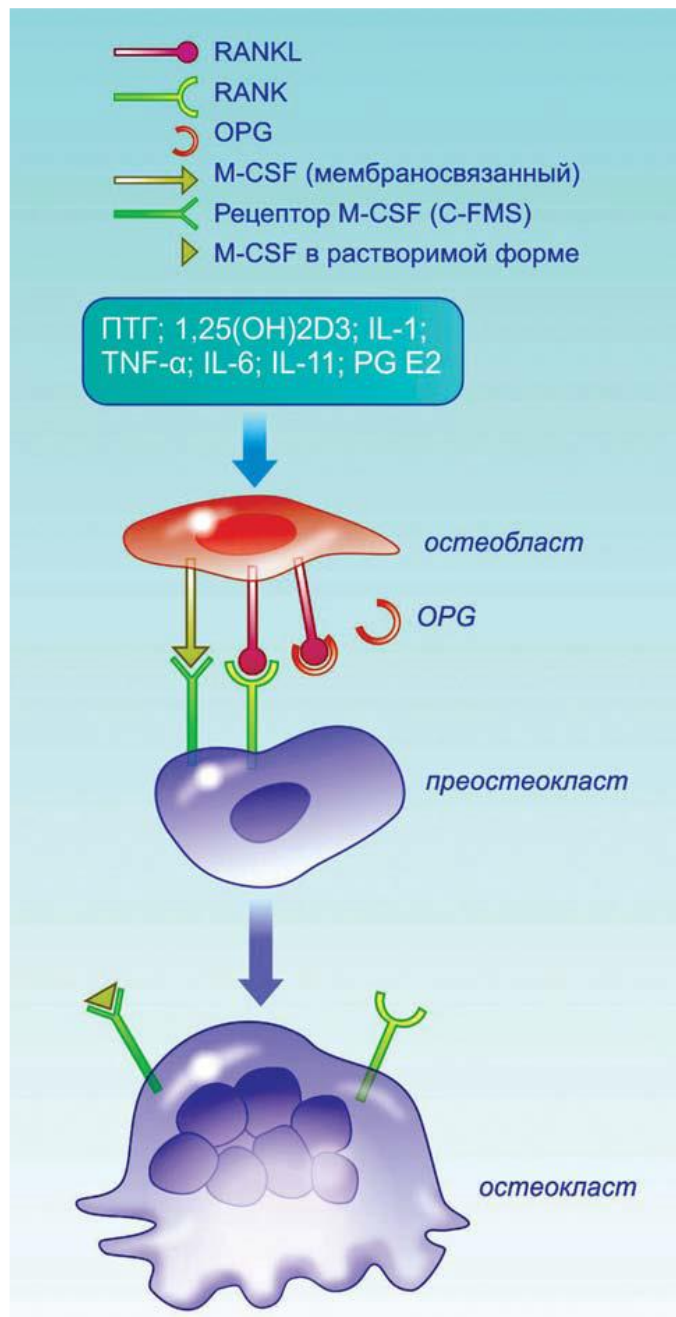


Рис. 42. Механизмы взаимодействия остеобластов с преостеокластами и остеокластами.

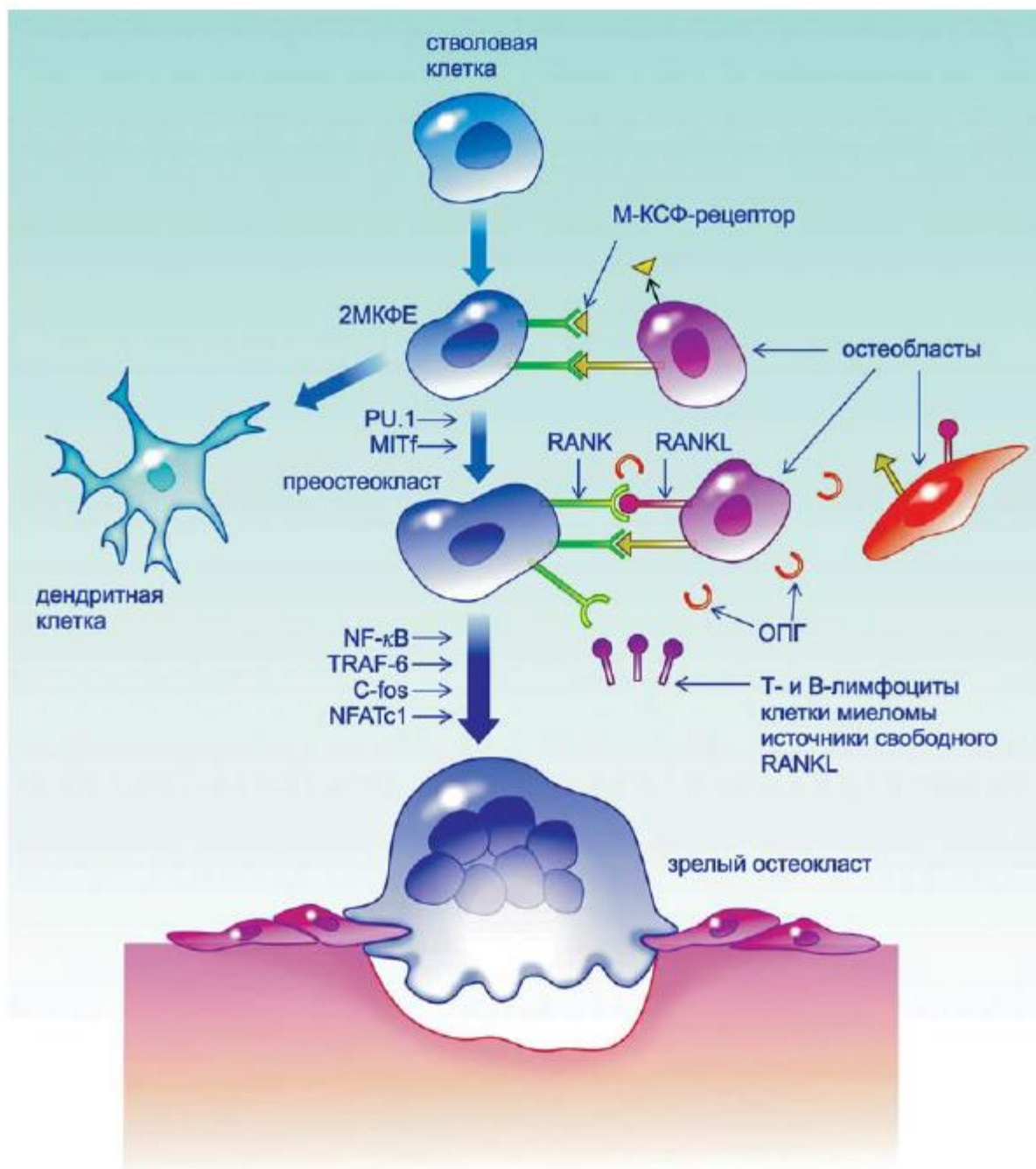


Рис. 43. Пути дифференциации ОК.

У экспериментальных животных, у которых отсутствует экспрессия рецептора М-КСФ на гемопоэтических клетках, развиваются остеопетроз и нарушение фагоцитарной функции моноцитов. Активация рецептора М-КСФ на клеточной поверхности ГМ-КФЭ задействует два транскрипционных фактора PU.1 и Mitf (транскрипционный фактор микрофтальмии), необходимых для последующей дифференциации клетки-предшественника. Мутации PU.1 и Mitf у экспериментальных животных приводят к формированию остеопетроза и отсутствию зрелых ОК в костной ткани.

Дальнейший путь дифференциации преостеокласта происходит, главным образом, благодаря взаимодействию RANKL ОБ с RANK преостеокластов. Также имеет значение и стимуляция рецептора М-КСФ на клеточной поверхности ОК. Взаимодействию RANKL с

RANK препятствует продукция остеопротегерина (ОПГ) ОБ, а поэтому скорость дифференциации преостеокластов определяется соотношением RANKL/ОПГ. Эффект системных гормонов, а также цитокинов, влияющих на функцию ОК, опосредуется их действием на ОБ.

Дополнительные важные роли в дифференцировке и связывании остеокластов выполняют факторы транскрипции PU.1 и c-Fos. RANKL экспрессируется остеобластами и вызывает поляризацию зрелых остеокластов, что проявляется в структурных изменениях, необходимых для их костной резорбции. Это включает в себя перестройку цитоскелета, которая позволяет сформировать гофрированную мембранную структуру и “матриксное соединение”, уплотняющее актиновое кольцо по отношению к поверхности кости.

В микроокружении преостеокластов RANKL может находиться и в свободной, растворимой форме. Источником такого RANKL могут быть Т- и В-лимфоциты (что имеет значение в патогенезе ревматоидного артрита), а также клетки миеломы, чем объясняется формирование остеолитических метастазов в костной ткани при этом заболевании. Нокаутные по RANK и/или RANKL экспериментальные животные не могут формировать зрелые ОК, и у них формируется остеопетроз

Моноциты LybChi могут эффективно мигрировать из кровотока обратно в костный мозг и, таким образом, могут способствовать остеокастогенезу, в частности, в костях без костного мозга. Интересно, что мыши с дефицитом CCR2 страдают от высокой костной массы из-за уменьшения количества, размера и функции остеокластов. Было высказано предположение, что активация CCR2 индуцирует поверхностную экспрессию RANK в предшественнике остеокластов ячейки. Тем не менее, нарушение ремоделирования также может быть результатом снижения выхода ВМ из моноцитов LybChi у мышей Ccr2^{-/-}. Было также показано, что подмножество моноцитов LybChi играет решающую роль в опосредованном остеокластами разрушении костей при воспалительном артрите, опосредованном экспрессией Fcy-рецептора IV.

Наконец, недавнее исследование, основанное на отслеживании клеток и парабиозе на основе фотоконверсии, показало, что остеокласты могут в стабильном состоянии генерироваться из циркулирующих моноцитов. Однако, еще предстоит определить стимул, который привлекает моноциты к костям.

3.4.3. МОРФОЛОГИЯ ОСТЕОКЛАСТОВ

Зрелый ОК представляет собой многоядерную клетку больших размеров. Обычно в ОК содержится до 10–20 ядер, однако при заболеваниях, когда резорбция кости усиливается (например при болезни Педжета), ОК приобретает гигантские размеры и содержит до 100 ядер. Остеокласты имеют ацидофильную цитоплазму. В остеокласте различают гофрированную каёмку, светлую, везикулярную и базальную зоны. Гофрированная каёмка — локус активной резорбции костной ткани — многочисленные цитоплазматические выросты, направленные к поверхности кости.

Светлая зона остеокласта плотно прилегает к костному матриксу, создавая замкнутое пространство, необходимое для поддержания высокой концентрации H⁺ и протеолитических ферментов. Здесь (в составе кортикального цитоскелета) присутствуют многочисленные актиновые микрофиламенты, участвующие в образовании контактов остеокласта с поверхностью костного матрикса. Везикулярная зона содержит

многочисленные лизосомы. Базальная зона остеокласта содержит ядра, митохондрии, элементы гранулярной эндоплазматической сети, комплекс Гольджи (рис. 44-48).

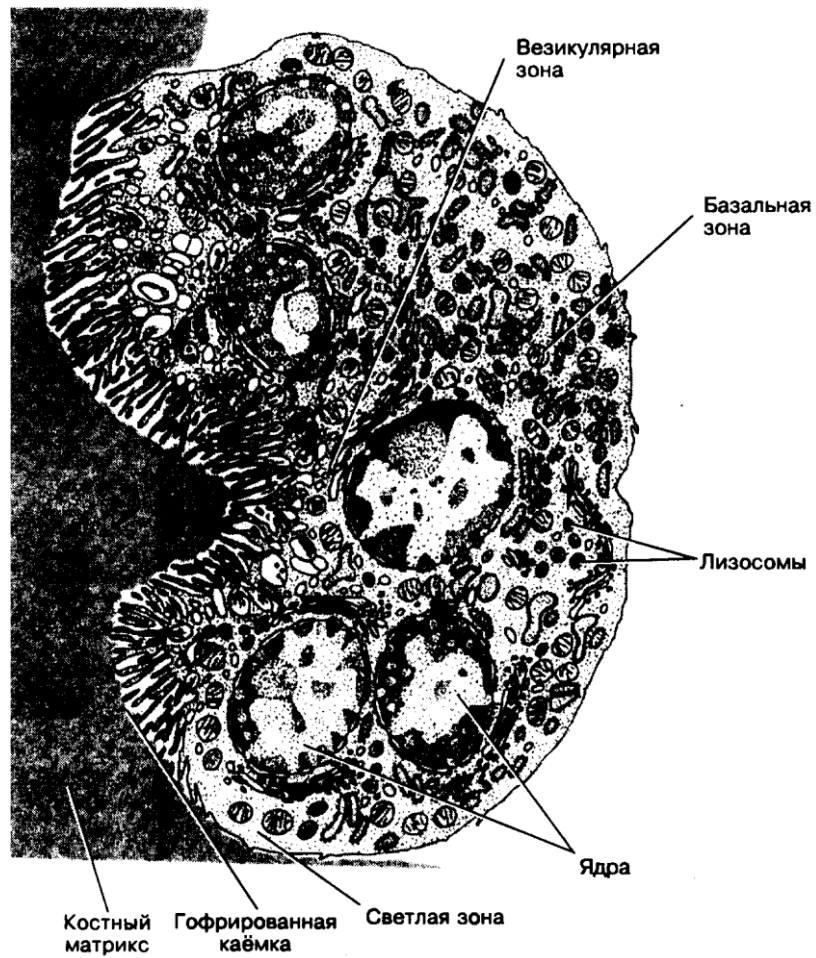


Рис. 44. Схема строения остеокласта

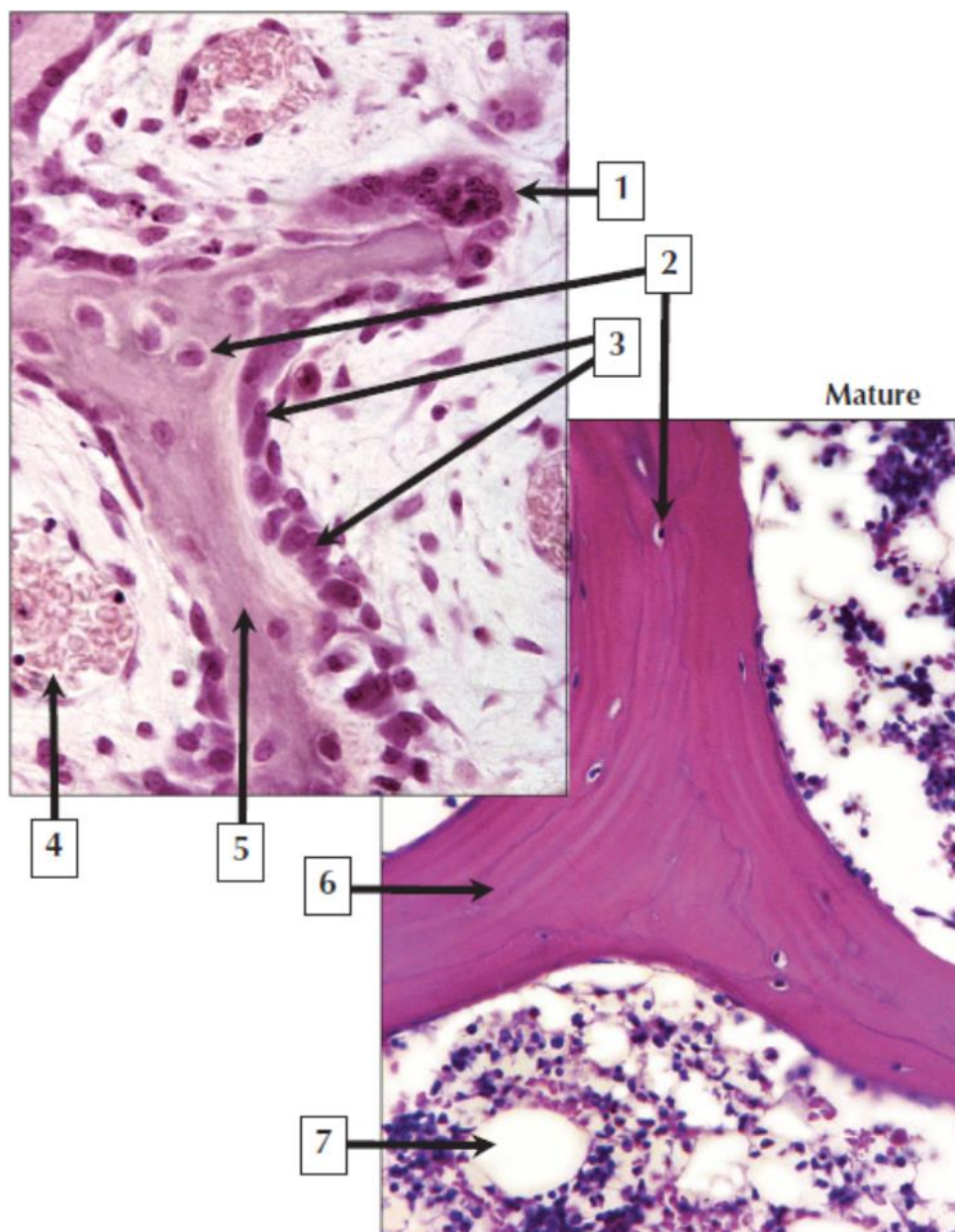


Рис. 45 Микропрепарат кости плода, показывающий формирующиеся костные трабекулы, и снимок трабекулы в зрелой губчатой кости

Остеокласты губчатой костной кости

1. Остеокласты
2. Остеоциты
3. Остеобласты
4. Кровеносные сосуды

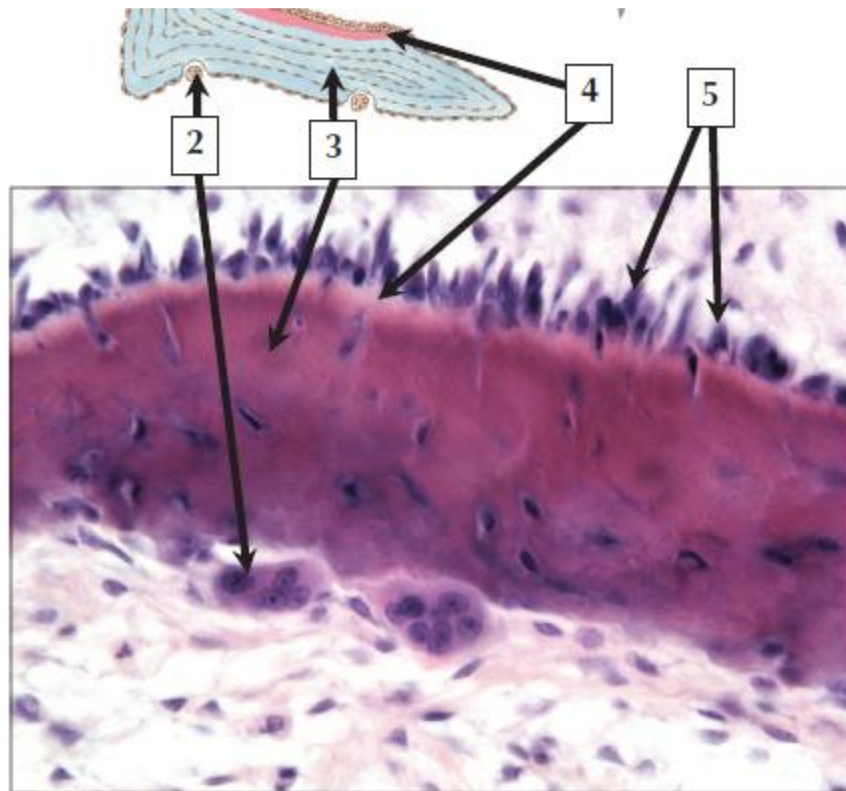


Рис. 46. Схема губчатой (трабекулярной) кости и пленка трабекулы в губчатой кости

1. Трабекулы губчатой кости
2. Остеокласты
3. Костный матрикс
4. Остеоиды (вновь синтезированная кость)
5. Остеобласты

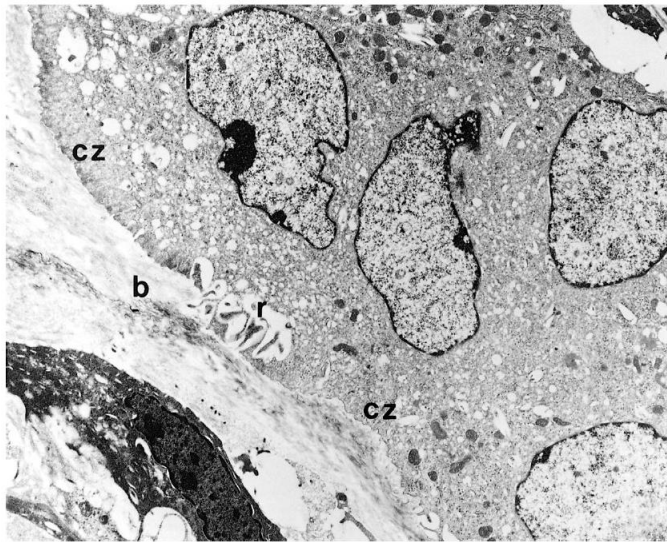


Рис. 47. Электронная микрофотография остеокласта. Прозрачная зона (cz) по обе стороны от волнистой границы (b) (Из книги Маркса С.К.-младшего, Уолкера Д.Г.: Гематогенное происхождение остеокластов. Экспериментальные данные на мышцах с остеопетрозом (микрофтальмом), которым вводили клетки селезенки от мышей-доноров бежевого цвета. Am J Anat 161:1-10, 1981.

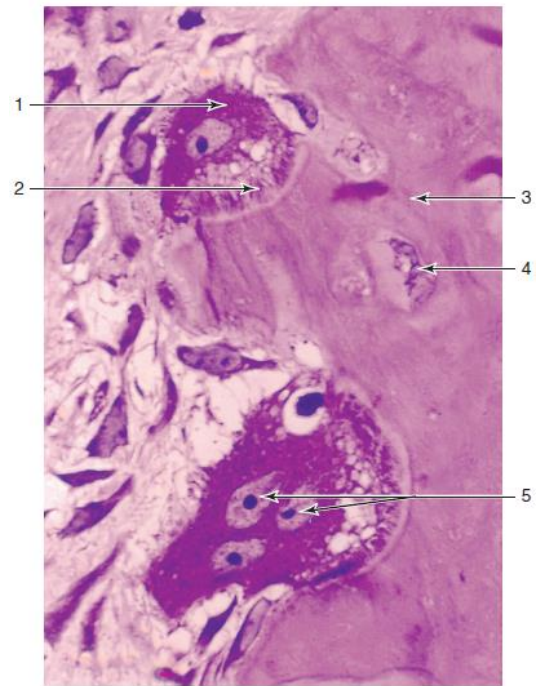


Рис. 48 Микропрепарат остеокластов

1. Остеокласт
2. Рифленая граница остеокластов
3. Костный матрикс
4. Остеоцит
5. Множественные ядра остеокластов

3.4.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ОСТЕОКЛАСТОВ

Остеокласты ответственны за резорбцию кости и высвобождение кальция и фосфора. Через мембрану выростов из остеокласта выделяется большое количество H^+ , что создаёт и поддерживает в замкнутом пространстве лакуны кислую среду, оптимальную для растворения солей кальция костного матрикса. Образование H^+ в цитоплазме клетки катализирует карбоангидраза. Остеокласт секретирует также кислые гидролазы, коллагеназы и другие протеолитические ферменты, расщепляющие органическую часть костного матрикса.

Нарушения в балансе развития или функции остеокластов относительно активности остеобластов приводят к патологиям скелета, таким как остеопетроз или остеопороз. Кроме того, остеокласты являются необходимы для нормального формирования длинных костей во время эмбриогенеза.

Функция ОК по резорбции кости определяется, во-первых, их способностью плотно прикрепляться к поверхности кости, создавая подклеточное пространство, полностью изолированное от экстрацеллюлярной жидкости. Во-вторых, поляризацией клетки, которая заключается в том, что часть клеточной мембраны, обращенная к поверхности кости, приобретает гофрированную структуру, увеличивая площадь соприкосновения с костью и облегчая поступление клеточных продуктов в область резорбции. В-третьих, ОК обладает

уникальной возможностью секретировать в область резорбции, изолированную от окружающего пространства, ионы водорода и протеолитические ферменты, а продукты распада костного матрикса транцеллюлярно (эндосомы) удалять в окружающее пространство через базолатеральную мембрану (рис. 49).

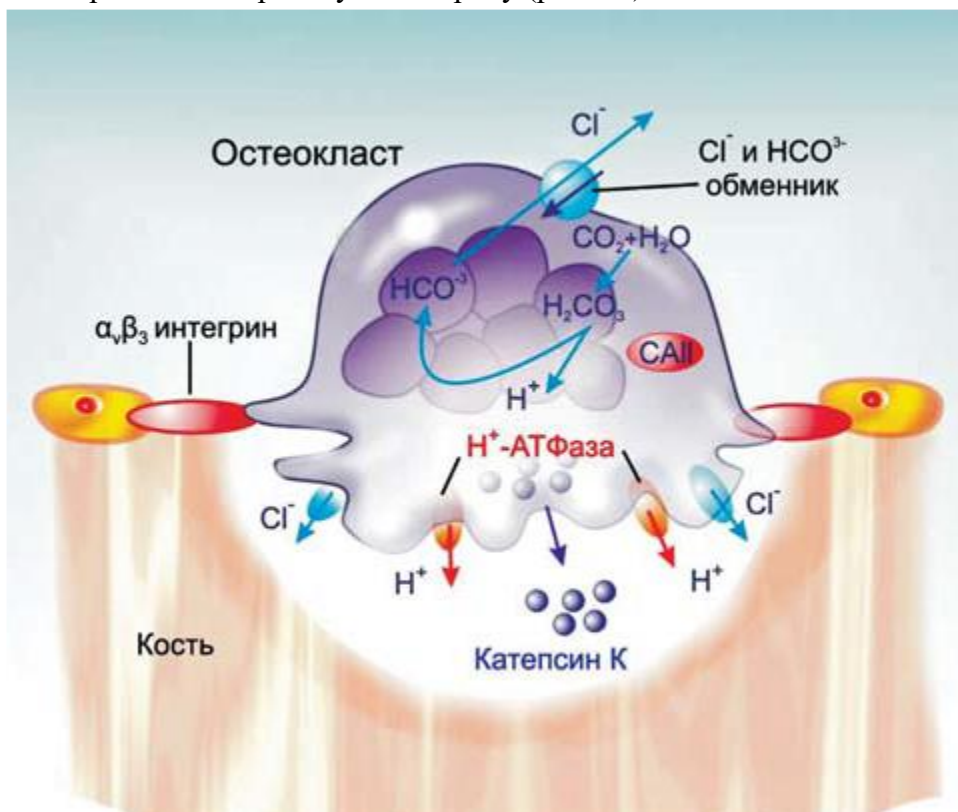


Рис. 49. Резорбционная функция ОК.

Процесс резорбции кости ОК начинается с того, что ОК за счет экспрессируемых на клеточной мембране интегринов $\alpha_v\beta_3$, которые распознают определенную последовательность аминокислот (Arg-Gly-Asp) в матриксных протеинах – остеопонтине и костном сиалопротеине, плотно прикрепляются к костной поверхности. Одновременно происходит реорганизация цитоскелета ОК таким образом, что формируется активное кольцо, которое как бы «припечатывает» (sealing zone) клетку к поверхности, подлежащей далее резорбции. ОК приступает к синтезу ионов водорода, которые вместе с ферментами в виде пузырьков начинают поступать через клеточную мембрану в область резорбции. Прохождение микропузырьков через микротрубочки клеточной мембраны ОК придает ей характерный гофрированный вид. Резорбция костного матрикса происходит благодаря локально образующейся (в подклеточном пространстве ОК, которое носит название подосомы) ацидификации среды и вследствие секретируемых ОК протеолитических энзимов. В результате резорбции участка костной поверхности под ОК образуется углубление, которое носит название эрозионной или Гаушиповой лакуны. За счет деятельности карбоангидразы II ОК из CO_2 и H_2O образуется угольная кислота (H_2CO_3), которая диссоциирует на ионы водорода (H^+) и бикарбоната (HCO_3^-). С помощью вакуольной протонной помпы (H^+ -АТФазы) ионы водорода экскретируются в подосому через гофрированную мембрану. Электронейтральность мембраны поддерживается за счет экскретируемых ионов Cl^- (хлоридные каналы), а внутриклеточный пул хлоридных ионов

пополняется за счет функционирования $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ —обменника базолатеральной мембраны. Ацидификация подсосомального пространства (рН 4–5) приводит к тому, что гидроксиапатит распадается до ионов Ca^{2+} , растворимого неорганического фосфата (HPO_4^{2-}) и воды. Наряду с ионами водорода, в подсосомальное пространство экскретируются протеолитические ферменты: катепсин К, цистеинпротеаза, матриксные металлопротеиназы. Продукты деградации костного матрикса транспортируются через базолатеральную мембрану внутрь клетки. Для осуществления трансцеллюлярного транспорта микропузырьков необходимо присутствие тартрат-резистентной кислой фосфатазы. С 1959 года тартрат-резистентную кислую фосфатазу используют в качестве цитохимического маркера ОК при морфологическом исследовании костных биоптатов. В настоящее время известны 5 видов кислых фосфатаз, которые продуцируются костью, селезенкой, тромбоцитами, эритроцитами и макрофагами. Все виды кислой фосфатазы ингибируются тартратом, за исключением 5-й изоформы, которая и получила название тартрат-резистентной кислой фосфатазы 5 (ТРКФ-5). В настоящее время выделены две изоформы ТРКФ-5: ТРКФ-5а, содержащаяся в макрофагах и дендритных клетках, и ТРКФ-5b, которую синтезируют ОК. Активность ТРКФ-5b в плазме крови может использоваться в качестве биомаркера процессов резорбции кости, в том числе у больных с ренальной остеодистрофией. Данный фермент участвует в трансцеллюлярном транспорте микропузырьков, содержащих продукты деградации костной ткани. Помимо этого, дефосфорилирование с его помощью остеопонтина и костного сиалопротеина, возможно, нарушает их связь с интегринами $\alpha\nu\beta 3$ и служит сигналом к окончанию процесса резорбции кости и удаления с ее поверхности ОК. В настоящее время в клиническую практику внедряются иммунохимические методы определения активности катепсина К в сыворотке крови, что может быть использовано также в качестве биомаркера процессов резорбции костной ткани. Мутации генов, ответственных за синтез карбоангидразы II, протонной помпы или хлоридных каналов фенотипически, проявляются формированием отмечается задержка роста, формируются аномалии скелета и не окостеневают черепные швы. Ингибиторы интегринов остеокластов ($\alpha\nu\beta 3$), а также катепсина К (препарат «Odanacatib») в настоящее время проходят клинические испытания в качестве препаратов для лечения первичного остеопороза. ОК, закончившие цикл резорбции кости, либо включаются в новый цикл, либо подвергаются апоптозу и поглощаются фагоцитами.

3.4.5. РОЛЬ ОСТЕОКЛАСТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

3.4.5.1. МОДЕЛИРОВАНИЕ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОСТИ

Моделирование – это процесс образования костной ткани либо на основе уже существующего хрящевого зародыша («энхондральное новообразование кости»), либо на месте мезенхимного зачатка («мембранозный тип новообразования кости»). В эмбриогенезе энхондральный тип окостенения характерен для длинных трубчатых костей скелета, а мембранозный отмечается при окостенении плоских костей (плоские кости черепа). В постнатальном периоде и на всем протяжении роста организма под моделированием понимают образование новой кости без предшествующей резорбции старой. В результате кости увеличиваются в длину за счет эпифизарных зон роста, происходит их утолщение и изменение формы (за счет периостального новообразования кости). Моделирование, в конечном счете, определяет форму кости, адаптирует кость к повышенным нагрузкам, а также восстанавливает форму кости при заживлении переломов,

перестраивает костную мозоль. Хотя процессы резорбции происходят и при моделировании, например, резорбция внутренней поверхности трубчатых костей, они не предшествуют новообразованию кости в этом месте. В упомянутом примере с длинными трубчатыми костями новообразование кости происходит периостально.

Ремоделирование – это процесс перестройки небольших объемов костного вещества в разных местах скелета. Ремоделирование заключается в том, что на ограниченном участке костной поверхности на месте старого материала, который подвергается резорбции, образуется новое костное вещество. Ремоделирование свойственно не только зрелому организму, но происходит у детей и даже у плода. Подчеркнем, что в последних двух случаях ремоделирование протекает одновременно с моделированием. Ремоделирование необходимо для замены старого костного материала на новый, что предотвращает «усталостные» повреждения и обеспечивает развитие адекватной действующей нагрузке объема костной ткани. Процесс ремоделирования в скелете взрослого человека захватывает около 10% свободной костной поверхности, в то время как остальные поверхности находятся в состоянии покоя. Вторым предназначением непрерывного процесса ремоделирования в течение всей жизни человека является поддержание кальциевого гомеостаза. Ремоделирование осуществляется путем перестройки небольших объемов костного вещества. Процесс ремоделирования состоит, по крайней мере, из четырех этапов: активации (activation), резорбции (resorption), реверсии (reversal) и формации (formation). Реализует эту последовательность базовая многоклеточная единица (БМЕ) («basic multicellular unit») – временная уникальная структура, состоящая из остеопрогениторных клеток, ОБ и ОК. Долгое время считали, что процесс ремоделирования начинается с «сокращения» покровных клеток, которые выделяют протеолитические ферменты и «освобождают» минерализованную костную поверхность, что «привлекает» к ней остеокласты, которые инициируют процесс резорбции кости в подклеточном пространстве, формируя Гаушипову лауну в трабекулярной, и канал – в кортикальной кости. В реверсивной стадии костная поверхность покрывается моноклеарными клетками (в том числе и макрофагального происхождения), которые довершают процесс протеолиза и образуют «цементную линию», отграничивающую зону костной поверхности, подлежащую замене. Местное высвобождение факторов роста и цитокинов привлекает к резорбированной костной поверхности ОБ, которые инициируют заключительную стадию формирования новой кости (неминерализованного костного матрикса – остеоида). На заключительной стадии ремоделирования часть ОБ, погружаясь в остеоид, превращаются в остециты, часть клеток трансвертируются в покровные (выстилающие) клетки, а часть ОБ подвергаются апоптозу. Принято считать, что процессы ремоделирования в губчатой (трабекулярной) и компактной кости различаются, поскольку в первой костная поверхность непосредственно контактирует с костным мозгом, который является продуцентом остеопрогениторных клеток, а в компактной кости доставка последних к местам ремоделирования (БМЕ) осуществляется по сосудам. Благодаря пионерским исследованиям Е.М. Нauge и соавт., было установлено, что прямого контакта клеток БМЕ с костным мозгом нет не только в компактной, но также и в трабекулярной кости. Клетки БМЕ включаются в состав костного ремоделирующего компартмента (КРК), который изолирован от костного мозга (в трабекулярной кости) слоем покровных клеток и во всех случаях предполагает наличие вновь образованных капилляров как в губчатой, так и в компактной кости (рис. 50).

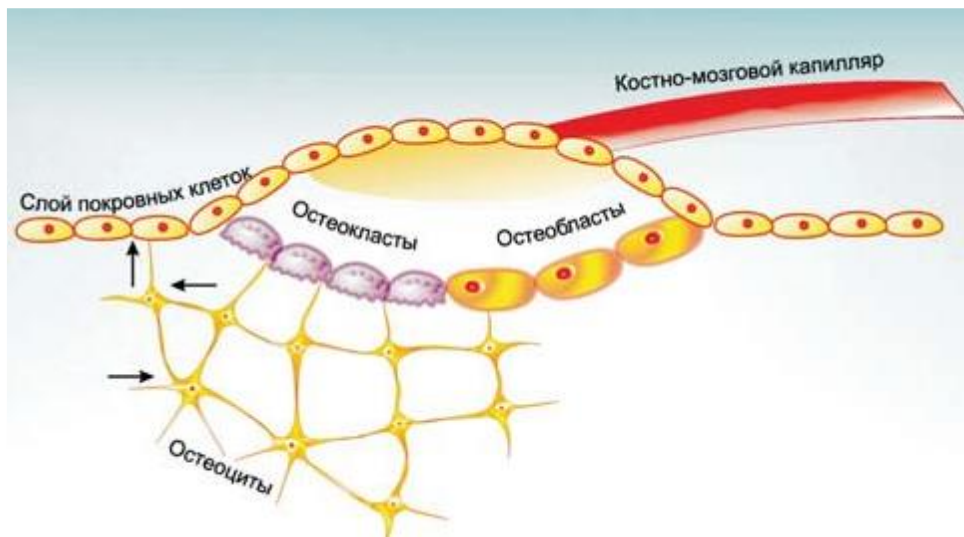


Рис. 50. Костный ремоделирующий компартмент

Неслучайно, в последние годы было установлено, что конечный анаболический эффект в костной ткани ассоциируется с экспрессией ОБ сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), что само по себе предполагает активный ангиогенез в зонах ремоделирования. Представление о костном ремоделирующем компартменте, иначе называемом костной ремоделирующей полостью, включающем клетки БМЕ и вновь образованные капилляры, позволяет понять роль морфофункционального синцития остеоцитов, ОБ, ОК и покровных клеток в механотрансдукции сигнала, свидетельствующего о микроповреждениях костной ткани и инициирующего процесс ремоделирования в физиологических условиях. С позиции гипотезы о КРК становится понятным неслучайный характер прямого контакта ОБ и ОК (RANKL-RANK-взаимодействия) в отграниченном пространстве, что необходимо для активизации ОК и начала процесса резорбции костного матрикса. Вполне очевидно, что действие факторов роста и цитокинов в костном ремоделирующем компартменте приобретает более целенаправленный и выраженный характер. Ранее считали, что привлечение ОБ к местам резорбции кости ОК с последующей активацией процессов формирования кости происходит под действием многочисленных факторов роста (ТФР- β , ИПФР-1 и 2, ФРФ, ТрФР, КМБ), которые содержатся в костном матриксе и высвобождаются в ходе его резорбции ОК. В настоящее время установлено, что для последовательной регуляции процессов резорбции и формирования кости необходим прямой клеточный контакт ОБ и ОК. Трансмембранный протеин ОК эфрин В2 (Eph В2), контактируя с клеточным рецептором ОБ эфрином В4 (Eph В4), обеспечивает активацию последних, стимулируя, тем самым, процесс формирования кости. То же самое взаимодействие может формировать супрессирующий сигнал с ОБ в отношении прекращения процессов резорбции ОК (рис. 7). ОК также стимулируют миграцию ОБ и дифференцировку остеопрогениторных клеток путем продукции сфингозин-1-фосфата.

Суммируя известные на сегодня данные о физиологии клеток костной ткани (см. также разделы ОБ, ОК, остеоциты), последовательность событий в ходе нормального процесса ремоделирования кости можно представить следующим образом:

1. В состоянии покоя поверхность костной трабекулы выстлана покровными клетками.

Остеоциты покоящейся (неповрежденной) кости продуцируют склеростин, который ингибирует Wnt-сигнал в мезенхимальных стволовых клетках, препятствуя, тем самым, их дифференцировке.

2. При возникновении микроповреждения кости, остеоциты, реагируя на механический сигнал, продуцируют факторы роста, простагландины и оксид азота. Морфофункциональный синцитий одновременно обеспечивает передачу механического сигнала покровным клеткам.

3. Покровные (выстилающие) клетки, получив от остеоцитов сигнал в виде механического (механотрансдукция) или химического (факторы роста, простагландины, NO) сигналов, отслаиваются от поверхности кости, образуя над ней своеобразный навес-тент, который имеет связь с капилляром (существующим или вновь образованным за счет высокой концентрации в микроокружении сосудистого эндотелиального фактора роста – VEGF, продуцируемого ОБ (см. рис. 50).

4. Стволовые мезенхимальные клетки микроокружения, которые также входят в состав навеса, образованного покровными клетками, освободившись от ингибирующего влияния склеростина, а также под действием факторов роста и ИЛ-1 начинают дифференцироваться в преостеобласты, которые синтезируют М-КСФ. Макрофагальный колониестимулирующий фактор (М-КСФ) воздействует на клетки макрофагального ряда, циркулирующие в крови капилляра, которые дифференцируются в преостеокласты.

5. Преостеобласты активно пролиферируют и синтезируют в большом количестве в микроокружение (ограниченное тентом из покровных клеток) Wnt-протеины, интерлейкины и КМБ. На клеточной поверхности преостеобластов начинает экспрессироваться RANKL.

6. RANKL преостеобластов взаимодействует с RANK клеточной мембраны преостеокласта, что приводит к дифференцировке преостеокласта в зрелый, многоядерный ОК (см. рис. 4).

7. ОК с помощью интегринов $\alpha\beta3$ и белков костного матрикса (остеопонтин, костный сиалопротеин) фиксируется на костной поверхности и начинает продукцию ионов водорода и катепсина К. За счет ацидификации и действия протеолитических ферментов происходит резорбция костного матрикса и образование Гаушиповой лакуны. Процесс резорбции кости занимает примерно 2 нед. В ходе резорбции происходит высвобождение из костного матрикса ИПФР-1, ИПФР-2 и ТФР- β .

8. Преостеобласты, полностью дифференцируясь в ОБ, прекращают синтез на клеточной поверхности RANKL и начинают секретировать ОПГ. Последний, связываясь с RANKL, блокирует дальнейшие процессы дифференцировки преостеокластов. Вероятнее всего, на этом этапе происходит прямой контакт ОК с ОБ, обусловленный взаимодействием между лигандом клеточной поверхности ОК (EphB2) и рецептора ОБ (EphB4) (см. рис. 51). В результате ОК прекращает свою деятельность и подвергается апоптозу.

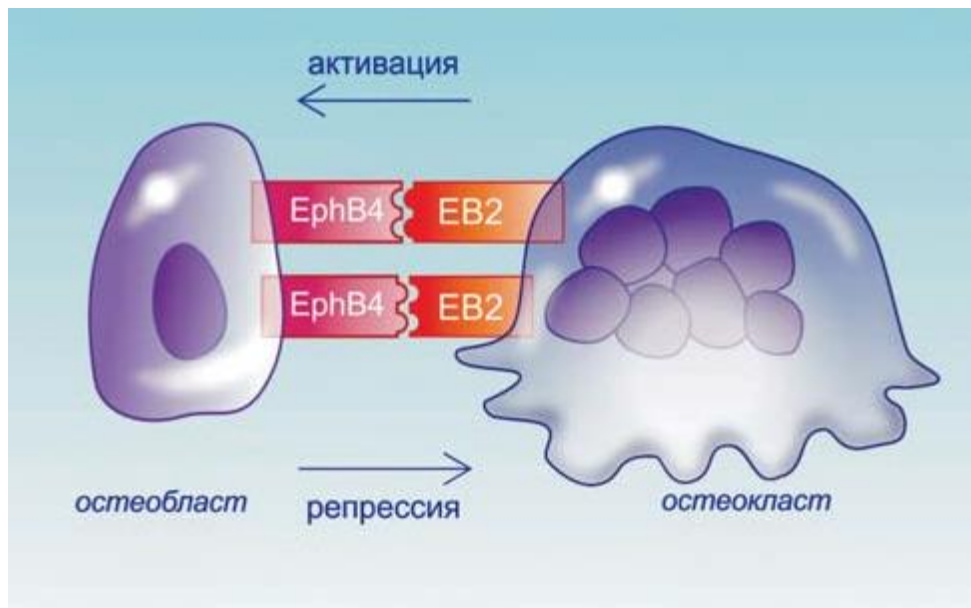


Рис. 51. Взаимодействие ОБ и ОК в завершающей стадии ремоделирования.

9. Зрелые ОБ заполняют резорбционную полость (Гаушипову лауну) и начинают секретировать разнообразные белки костного матрикса и коллаген I типа. В результате формируется органический матрикс-остеоид, который далее подвергается минерализации в течение 3–4 мес;

10. Часть ОБ, погружаясь в остеоид, превращаются в остеоциты, другая часть дифференцируются в выстилающие клетки, а остальные (до 80%) подвергаются апоптозу.

11. Покровные клетки, составлявшие ранее тентовое покрытие зоны резорбции, возвращаются в исходное положение. Вновь образованные остеоциты восстанавливают синцитий и начинают секретировать склеростин. В результате все процессы дифференциации клеток окончательно прекращаются.

12. Новый костный матрикс еще в течение 3 лет продолжает накапливать минеральные вещества, совершенствуя свою структуру.

Костное ремоделирование, как уже указывалось, находится под контролем как системных гормонов, так и многочисленных местных факторов, синтезируемых клетками КРК и высвобождающихся из костного матрикса (места их накопления и хранения) в ходе резорбции кости.

Костное ремоделирование имеет прямое отношение к такому понятию, как уровень обмена костной ткани (bone turnover). Высокий обмен кости означает увеличение числа КРК на единицу ее площади и наоборот. Скорость ремоделирования губчатой кости значительно больше, чем компактной, что подчеркивает ее решающую роль в поддержании кальций-фосфатного метаболизма.

3.5. МАКРОФАГИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ. МИКРОГЛИЯ

3.5.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ ЦНС

Центральная нервная система (ЦНС) содержит различные группы макрофагов, включая микроглию, периваскулярные макрофаги, менингеальные макрофаги, макрофаги сосудистого сплетения.

3.5.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАКРОФАГОВ ЦНС

Считается, что менингеальные макрофаги быстро заменяются клетками костномозгового происхождения, в то время как замена периваскулярных макрофагов и макрофагов сосудистого сплетения происходит медленнее, что указывает на то, что замена отдельных популяций может происходить по разным механизмам или в разной степени зависит от общего механизма.

Например, клетки микроглии, по-видимому, сохраняются в ЦНС гораздо дольше, чем другие макрофаги, и их происхождение было исследовано с помощью сочетания маркировки делящихся клеток *in vivo* и экспериментов по трансплантации костного мозга. Клетки микроглии могут размножаться *in situ*, и это может быть одним из основных источников микроглии у взрослых; однако клетки, полученные из костного мозга, могут проникать в ЦНС через гематоэнцефалический барьер и заселять клеточный компартмент микроглии. Предполагается, что моноциты способны проникать в ЦНС и дифференцироваться в микроглию.

Изначально закладка спинного мозга (равно как и закладка головного мозга) у млекопитающих и человека лишена клеток микроглии. Обнаружение этого факта способствовало развитию длительной научной дискуссии об источниках происхождения микроглии. Первое предположение состояло в том, что микроглия происходит из мононуклеарных элементов крови. Позже сформировались и другие концепции происхождения микроглии. В начале 1990-х гг. было распространено мнение об их мезенхимном происхождении от предшественников моноцитарно-макрофагальной линии – гемопоэтических стволовых клеток, которые проникают в ЦНС во время эмбриогенеза. Однако было отмечено, что первые предшественники микроглии проникают в ЦНС до формирования единой сосудистой сети и установления дефинитивного костномозгового гемопоэза.

То есть, заселение предшественниками микроглии эмбриональной ЦНС предшествует появлению стволовой клетки крови, что указывает на альтернативное происхождение микроглиальных предшественников. Данный факт может свидетельствовать об их происхождении из определенного подмножества мезодермальных клеток, не связанных непосредственно с линией моноцитов. Действительно, данные современных исследований показывают, что микроглия отличается от тканевых макрофагов, являющихся производными моноцитов и соответственно потомками стволовой клетки крови.

В настоящее время идентифицированы некоторые гены, активность которых отличает микроглиоциты от тканевых макрофагов. В последние десятилетия получены убедительные доказательства в пользу теории происхождения микроглиальных клеток из эритромиелоидных клеток-предшественников желточного мешка, колонизирующих ЦНС на ранних этапах эмбрионального развития. Эта теория была предложена в 1999 г. и позднее подтверждена экспериментально.

Показано, что F4/80+/CD11b+-предшественники микроглии идентифицируются в желточном мешке у эмбриона уже на стадии E8. В формирующейся ЦНС такие клетки обнаруживаются, начиная с E9, в то время как дефинитивный гемопоэз начинается на стадии E10.5 в области аорто-гонадомезонефроса. Первые гемопоэтические стволовые клетки, обнаруживаемые в этой области, мигрируют в печень и костный мозг, где кроветворение продолжается.

В современных исследованиях сообщается, что проникновение микроглиальных элементов в ткани СМ проходит в два этапа. Первый этап, во время которого микроглиальные клетки достигают спинного мозга через развивающуюся сосудистую сеть, соответствует периоду E8–E9, второй этап соответствует периоду E11.5–14.5. Первый этап непосредственно связан с развитием перимедуллярной сосудистой сети. На втором этапе происходит увеличение количества микроглиальных клеток внутри уже сформированной сосудистой сети. После закрытия гематоэнцефалического барьера проникшие в ЦНС

3.5.3. МОРФОЛОГИЯ МАКРОФАГОВ ЦНС

В период эмбриогенеза микроглиоциты спинного и головного мозга проходят несколько стадий развития. На ранних сроках пренатального развития клетки микроглии имеют амeboидную форму и общие с тканевыми макрофагами иммунологические, гистохимические и морфологические свойства. Такие клетки имеют округлую форму с короткими толстыми отростками. В процессе развития отростки амeboидных микроглиоцитов удлинняются, разветвляются, и клетки приобретают форму, характерную для рамифицированной микроглии. Показано, что часть микроглиоцитов спинного мозга эмбрионов мышей уже на E12.5 имеет по несколько тонких отростков, которые становятся ветвистыми к E15.5.

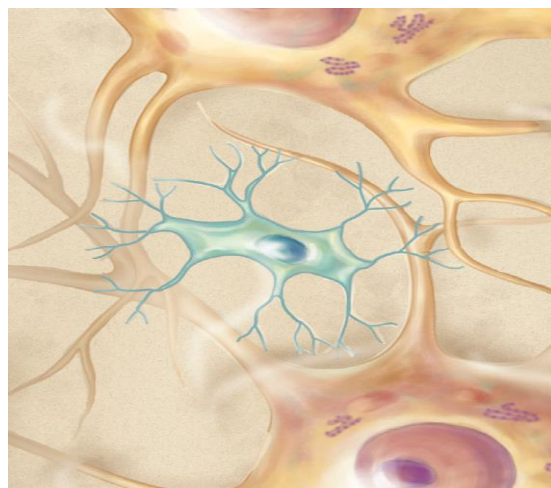
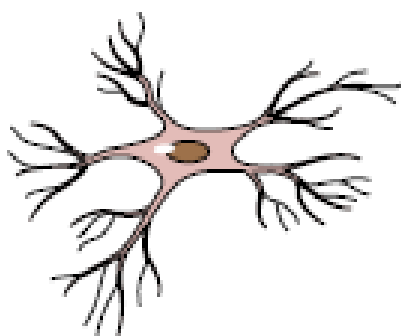


Рис. 52. Схема микроглиальной клетки

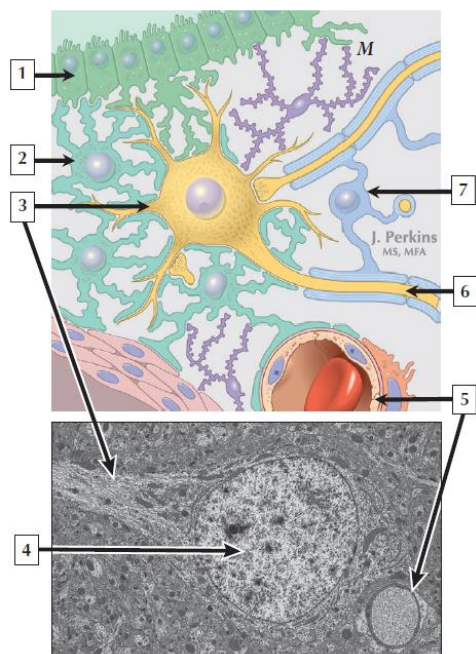


Рис. 53. Схема основных типов клеток головного мозга и ЭМ коры головного мозга с изображением нейрона в сером веществе

Глиальное микроклеточное окружение

1. Эпендима
 2. Астроцит
 3. Дендрит нейрона
 4. Эухроматин ядра
 5. Эндотелий капилляра
 6. Аксон
 7. Олигодендроцит
- М - микроглиоциты

В литературе, посвященной оценке реакции спинного мозга на патологические стимулы, отмечено присутствие двух морфофункциональных типов микроглиоцитов, а также промежуточных форм. Традиционно в спинном мозге выделяют покоящиеся (рамыфицированные), активированные (амебоидные) микроглиоциты и переходные формы. Первый тип представляет собой стационарные клетки, характеризующиеся небольшим клеточным телом с несколькими тонкими ветвящимися отростками, которые активно сканируют окружающую среду, получая информацию о состоянии ткани и влияя на состояние синапсов и развитие нейронных сетей. У таких клеток случайным образом быстро удлиняются и сокращаются разветвленные отростки, занимая различные

пространственные области (клеточные территории) с минимальным перекрытием. Подобную активность клеток микроглии принято обозначать как базальную (основную) подвижность. Считается, что такие клетки не способны к фагоцитозу и не обладают разнообразием поверхностных рецепторов, необходимых для презентации антигена. В ответ на повреждение микроглия быстро проецирует свои отростки по направлению к месту сигнала опасности (направленная подвижность). При патологических состояниях микроглия спинного мозга меняет морфологические и молекулярные свойства путем долгосрочных преобразований, называемых микроглиальной активацией. При активации микроглии, которая вызвана повреждением СМ, происходит сокращение количества и протяженности клеточных отростков. В конечном итоге клетки приобретают амебоидную форму, что сопровождается продукцией биоактивных молекул, тем самым способствуя активации воспалительных реакций и борьбе с повреждающими агентами. Известно, что амебоидная микроглия представляет собой высокомобильные фагоцитирующие клетки, участвующие в презентации антигена. Процесс данного перехода достаточно сложен. При активации и инактивации микроглии обнаруживают переходные формы (гипертрофированные и кустистые клетки, уни- и биполярные клетки), имеющие по одному или по два утолщенных разветвленных отростка. Такие микроглиоциты принято считать клетками с различной степенью активации, которые присутствуют при повреждениях ЦНС, а также могут выявляться в интактном спинном мозге (рис. 52-53).

Несмотря на то, что в настоящее время подробно описаны различные морфологические изменения клеток микроглии, в большинстве случаев связь между определенной морфологией и функциональностью микроглии не вполне убедительна. Таким образом, достаточно сложно судить о степени активации микроглии только по морфологическим признакам.

Тем не менее, в многочисленных исследованиях, описывающих особенности реакции микроглиоцитов на повреждение, приведены данные о распределении их различных морфологических типов в спинном мозге. Так, в одном масштабном исследовании рассмотрены различные типы клеток микроглии в СМ человека на разных сроках после повреждения. При этом в данной работе не представлены морфологические характеристики клеток интактного СМ. Более корректно определение структурных особенностей форм микроглии с учетом топографии и в сравнении с контролем.

Примером подобного подхода является исследование, выполненное на биологической модели повреждения нерва. Изучено распределение различных морфологических типов микроглиоцитов в пределах 10 пластин Рекседа. Показано, что после травмы нерва в поверхностных слоях дорсального рога СМ (I–III пластина Рекседа) и в области IX пластины Рекседа количество гипертрофированных и разветвленных микроглиальных клеток существенно увеличивается по сравнению с контралатеральной стороной. В ряде работ показано, что активация микроглиоцитов серого вещества СМ может происходить без значимого изменения типа ветвления отростков, в то время как в белом веществе клетки изменяют свою форму. Активированная микроглия СМ может приобретать различные иммунофенотипы в ответ на разнообразные внешние стимулы.

3.5.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ ЦНС

Выделяют две функциональные категории активированных микроглиоцитов. Это – провоспалительный фенотип M1 (классический провоспалительный нейротоксический

фенотип), характеризующийся продукцией провоспалительных и нейротоксичных медиаторов, и альтернативно активированный фенотип M2 (противовоспалительный нейтропротекторный фенотип), участвующий в восстановлении и ремоделировании тканей за счет секреции противовоспалительных медиаторов.

M1-подобная микроглия обычно экспрессирует IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, фактор некроза опухоли α (TNF- α), индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS) и CD16/32, тогда как M2-подобные микроглиоциты экспрессируют эти маркеры на сравнительно низком уровне, а IL-4, IL-10, IL-13, BDNF, аргиназу-1 (Arg1) и маннозный рецептор типа C-1 (MRC-1) на высоком. Однако стоит отметить, что в раннем постнатальном периоде микроглия ЦНС экспрессирует как маркеры M1, так и маркеры M2. Принято считать, что короткое или умеренное повреждающее воздействие направляет микроглию к нейтропротективному фагоцитирующему фенотипу. Такие клетки выделяют факторы роста, связанные с ремиелинизацией, способствуют регенерации. Интенсивная острая или хроническая активация способствует переходу микроглии в нейротоксический фенотип. Эти клетки продуцируют активные формы кислорода, оксид азота (NO), протеазы и провоспалительные цитокины, такие, как IL-1, IL-6 и TNF- α . При компрессионном повреждении спинного мозга выявлена транзитная реакция микроглии по типу M2, которая, благодаря нейтропротекторным свойствам, может активировать восстановительные процессы. Однако в области повреждения присутствуют также клетки смешанного фенотипа M1/M2, что свидетельствует о лабильности фенотипов микроглиоцитов и неустойчивости баланса между нейтропротекцией и нейротоксичностью. В итоге активность микроглиоцитов типа M1 может привести к потере нейронов и демиелинизации, несмотря на присутствие нейротрофических факторов.

Приведенная классификация иммунофенотипов микроглиоцитов достаточно условна. Процессы классической и альтернативной активации хорошо изучены только на примере макрофагов и часто без достаточных оснований экстраполируются на микроглию. Группы макрофагов M1 и M2 определены при изучении изолированных клеток *in vitro*, в условиях действия модельных факторов. Теория активации макрофагов разработана применительно к популяции клеток, полученных из моноцитов крови или костного мозга, мигрирующих в инфицированные, травмированные или опухолевые ткани. Микроглия же представляет собой резидентные фагоцитирующие клетки нервной системы немноноцитарного происхождения. *In vivo* состояния M1 и M2 клеток макрофагального ряда не встречаются изолированно. Данные многих исследований показали, что признанные маркеры активированных состояний коэкспрессируются, как правило, в отдельных клетках. Таким образом, широко используемые маркеры активированных макрофагов M1/M2 не позволяют адекватно описать транскрипционный профиль микроглиоцитов и не могут подтвердить принадлежность клеток к этим функциональным группам *in vivo*.

Функциональная активность микроглии коррелирует с ее структурной организацией, поэтому изменение размеров и формы микроглиоцитов, а также организации их отростков может служить показателем нарушений барьерной системы спинного мозга. При этом не обязательно наблюдается изменение морфологического типа. Структурные изменения клеток могут быть идентифицированы визуально, что достаточно субъективно, или могут быть определены количественно с использованием таких параметров, как степень ветвления отростков, изменение формы и размеров тела. Чувствительные количественные методы выявления незначительных, визуально незаметных реакций

микроглии на повреждения ЦНС могут использоваться для определения патологических изменений отдельных областей ЦНС и идентификации локусов нераспознанной патологии. Методы компьютерной морфометрии ускоряют и облегчают измерение ряда количественных параметров микроглиоцитов. Они могут применяться для количественной характеристики этапов патологического процесса, что должно способствовать адекватному прогнозированию исхода репарации нервной ткани. Структурные изменения микроглиоцитов наиболее часто оценивают количественно с применением традиционных методов морфометрии, используя базовую программу ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>) или ее модифицированные аналоги (например, Fiji – <http://fiji.sc>; ImageJFX – <http://www.imagejfx.net>) с различными плагинами, такими, как AnalyzeSkeleton(2D/3D), Fractal Analysis/FracLac, NeurphologyJ.

В результате применения этих плагинов возможно суммирование количественных характеристик структуры микроглиоцитов, таких, как расположение конечных точек отростков, степень их ветвления и протяженности, а также параметры формы клеток. Комбинированные протоколы оценки изменений морфологии микроглиоцитов пригодны для определения реактивности этой клеточной популяции в интактной и поврежденной нервной ткани.

Для количественного анализа могут использоваться как флуоресцентные красители, так и иммунопероксидазная реакция. Обычно морфометрический анализ проводят после иммуногистохимической реакции на Iba-1. Фрактальный анализ позволяет определить такие параметры, как плотность клеток, площадь охвата, степень округлости, полнота и вытянутость (отношение длинной и короткой осей фигуры). Мультифрактальное масштабирование позволяет идентифицировать микроглию в переходных состояниях между разветвленными и активированными формами. С целью получения дополнительной информации о функциях микроглиоцитов, постоянно перемещающих свои отростки в интактной ЦНС, а также для оценки изменения морфологических характеристик клеток в ответ на повреждение и при старении, используют анализ по методу Шолля (Sholl-анализ). Это количественный метод изучения радиального распределения отростков микроглиоцитов. Используя этот метод, можно получить формализованные числовые данные о количестве клеточных отростков и характере их ветвления. Кроме того, в анализ может быть включена общая длина отростков, площадь охвата поверхности, количество точек ветвления, порядок ветвления.

К настоящему времени получено большое количество данных о роли микроглии ЦНС в физиологических условиях. Первоначально считалось, что интактные микроглиоциты представляют собой покоящиеся иммунные клетки, способные к активации только в ответ на патологические изменения, происходящие в ЦНС. Однако многочисленные исследования показали, что микроглиоциты взрослого головного и спинного мозга являются высокодинамичными клетками, постоянно исследующими межклеточную среду даже в неповрежденной ЦНС. Кроме того, микроглиоциты обладают способностью экспрессировать рецепторы к большому количеству нейротрансмиттеров, включая ацетилхолин, ГАМК, глутамат, АТР и др. Показано, что нейротрансмиттеры могут влиять на микроглию *in vitro*, приводя к изменениям мембранного потенциала, концентрации внутриклеточного кальция, вызывая высвобождение цитокинов и изменяя общую клеточную подвижность.

Функциональное значение клеток микроглии во время раннего эмбрионального развития ЦНС остается неясным из-за недостатка информации об особенностях заселения СМ микроглиоцитами во взаимосвязи с конкретными этапами развития и процессами формирования функциональных нейронных сетей. Приход микроглии в развивающийся СМ во время эмбрионального развития ЦНС коррелирует с наличием апоптотических клеток.

Ассоциация микроглии и нейронов при физиологической клеточной гибели обнаружена в различных регионах ЦНС, в том числе и в СМ. Изучение развития эмбриональной ЦНС показало, что микроглия может направлять переход клеток к апоптозу через экспрессию различных факторов. Так, микроглиальный фактор некроза опухолей альфа (TNF- α) может инициировать гибель мотонейронов в эмбриональном спинном мозге грызунов.

На протяжении всего периода эмбриогенеза микроглиоциты находятся в тесной взаимосвязи с развивающимися сосудами. Широко обсуждается гипотеза о проникновении предшественников микроглиоцитов в развивающийся спинной мозг через кровеносные сосуды. Получены данные, свидетельствующие о том, что микроглия отсутствует в ЦНС эмбрионов мутантных мышей, с дефектом развития сердечно-сосудистой системы, при котором отсутствует гемоциркуляция. Тем не менее, микроглия появляется в ЦНС еще до стадии васкуляризации мозговых закладок. Это предполагает, что ранние предшественники микроглии колонизируют ЦНС независимо от сосудов. При этом они сами могут оказывать влияние на ангиогенез. В модельных условиях микроглия быстро мигрирует к развивающимся сосудам и проявляет ангиогенную активность.

Зрелая нервная система характеризуется наличием системы жестких нейронных связей. Однако нейроны сохраняют способность к формированию новых синаптических контактов, модифицируя синаптическую сеть. В развивающейся нервной системе происходит формирование большого количества избыточных синапсов. В процессе синаптического прунинга многие синапсы устраняются, происходят оптимизация и упрощение нейронной сети.

Данные многочисленных исследований свидетельствуют о том, что взаимодействия между микроглией и формирующимися синапсами играют важную роль в элиминировании и созревании синаптических соединений в развивающейся ЦНС. Предполагается также, что микроглия может самостоятельно инициировать синаптическую элиминацию и регулировать созревание синапсов.

Во взрослом спинном мозге микроглиоциты также выполняют функцию ремоделирования нейронных сетей путем непосредственного взаимодействия с синаптическими элементами. Установлено, что отростки клеток динамически взаимодействуют с терминалями аксонов и дендритными шипиками со средней частотой около одного микроконтакта в час. Длительность контактов между микроглиальными отростками и пресинаптическими бутонами составляет примерно 5 мин. Примечательно, что отростки микроглии управляются нейрональной активностью и могут одновременно взаимодействовать как с пресинаптическими, так и с постсинаптическими элементами, а также с перисинаптическими астроцитами. Снижение активности нейронов путем подавления сенсорных воздействий или снижения температуры тела приводит к ретракции микроглиальных отростков и уменьшению частоты контактов между микроглией и синапсами.

Показано, что микроглия может поглощать ремоделируемые синаптические элементы путем фагоцитоза. Кроме того, в зрелой ЦНС микроглия может модулировать пластичность нейронных цепей паракринным путем. В условиях гравитационной разгрузки наблюдалось увеличение числа Iba-1-иммунопозитивных микроглиоцитов в дорсальных рогах спинного мозга экспериментальных животных, что указывает на ответную реакцию микроглии на снижение афферентной стимуляции нейронов соответствующей области. Выявленное в этих условиях повышение числа микроглиоцитов в области центрального канала может быть связано как с гетерогенностью микроглии в этой области, так и с возможными изменениями ликвородинамики, на которые способна реагировать субэпендимная микроглия благодаря наличию отростков, непосредственно взаимодействующих с ликвором.

3.5.5. РОЛЬ МАКРОФАГОВ ЦНС В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Круг патологических процессов, развивающихся в СМ, при которых изменяется реакция клеток микроглии, достаточно обширен. В настоящем обзоре особое внимание уделено таким тяжелым и инвалидизирующим патологическим состояниям, как травма спинного мозга, нейродегенерация, а также возрастной патологии СМ.

3.5.5.1. МИКРОГЛИЯ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА

Травма спинного мозга (ТСМ) – тяжелое патологическое состояние, сопровождающееся повреждением и гибелью клеток, кровоизлиянием, воспалением, отеком тканей, ионным дисбалансом, утратой аксонов, демиелинизацией, активацией иммунных клеток, астроглиозом, реорганизацией сосудистой системы и нейронных цепей. При повреждении спинного мозга и развитии патологических процессов резидентная микроглия быстро реагирует на изменения микроокружения высвобождением специфических цитокинов, лейкотриенов и простагландинов. При определенных обстоятельствах клетки микроглии могут оказывать нейропротекторное действие путем синтеза нейротрофических факторов. Важнейшими функциями микроглии при ТСМ являются фагоцитоз (удаление поврежденных тканевых элементов), борьба с инфекционными агентами и восстановление гомеостаза. Воспалительный ответ после травматического повреждения спинного мозга связан, прежде всего, с нарушением гематоэнцефалического барьера и с последующим высвобождением провоспалительных цитокинов, активацией молекул адгезии в эндотелии сосудов. Далее моноциты, лимфоциты и макрофаги направленно мигрируют в поврежденный участок. Воспалительный ответ может привести к локальной демиелинизации и апоптозу нейронов. Микроглиоциты спинного мозга быстро реагируют на травму, перенаправляют и удлиняют цитоплазматические отростки в направлении поражения и образуют плотную сеть, окружающую зону повреждения.

3.5.5.2. МИКРОГЛИЯ И РАЗВИТИЕ БОЛЕВОГО СИНДРОМА

Болевой синдром – сложный симптомокомплекс, чаще всего наблюдаемый при травме и воспалении. Повреждение периферического нерва приводит к появлению нейропатической боли и механической аллодинии, а также вызывает обширный микроглиоз в спинном мозге. Микроглиоз, вызванный повреждением нерва, сопутствует

развитию болевой гиперчувствительности, а его блокирование ослабляет болевое поведение. Согласно современным исследованиям, психосоциальный стресс и депрессия способствуют развитию хронической боли. На биологических моделях показано, что активация микроглии в задних рогах поясничного отдела спинного мозга сопровождается повышением болевой чувствительности.

3.5.5.3. МИКРОГЛИЯ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Экспериментальные данные свидетельствуют, что нарушение функционирования системы микроглии и дисбаланс ее функциональных состояний могут привести к различным аутоиммунным заболеваниям. В последнее десятилетие изучение микроглии стало основным направлением исследований в области клеточной нейроиммунологии и, следовательно, в области нейровоспаления. В современном представлении нейровоспаление – это комплексный ответ нервной ткани на повреждение ЦНС, включающий активацию глии, высвобождение медиаторов воспаления, образование активных форм кислорода и азота. Многие из этих медиаторов продуцируются активированными резидентными клетками ЦНС, включая микроглию и астроциты. Эндотелиальные клетки и периваскулярные макрофаги также принимают участие в распространении воспалительного процесса.

Микроглиоциты спинного мозга выполняют ряд важных функций в процессе развития нейродегенеративных заболеваний. Так, микроглиоциты проявляют активное участие в развитии бокового амиотрофического склероза (БАС), при котором наблюдается потеря моторных нейронов в коре, стволе головного мозга и спинном мозге. Это органическое поражение ЦНС является наиболее распространенной патологией, приводящей к нарушению функционирования двигательных нейронов СМ у взрослых.

Микроглиоциты спинного мозга также проявляют преимущественно провоспалительные функции при развитии наиболее распространенного демиелинизирующего заболевания – рассеянного склероза (РС). Это хроническое нейродегенеративное заболевание, характеризующееся очаговыми воспалительными поражениями, микро- и астоглиозом, интенсивной демиелинизацией нервных волокон, повреждением аксонов и выраженными неврологическими нарушениями. Микроглия спинного мозга при старении. Известно, что морфологические характеристики и некоторые функции микроглии ЦНС изменяются при старении. Возрастные изменения микроглиоцитов неоднократно отмечали при проведении исследований головного мозга. Подобные наблюдения в отношении спинного мозга крайне немногочисленны. Однако изучение возрастных морфологических, фенотипических и биохимических изменений микроглии спинного мозга очень важно, поскольку такие процессы могут быть существенными при передаче болевых сигналов от периферии к головному мозгу и развитию хронического болевого синдрома. Понимание процессов, происходящих в микроглиоцитах СМ при старении, поможет оценить потенциальный вклад данной клеточной популяции в патогенез возрастных сенсорных расстройств. существенно увеличивается количество Iba-1-иммунопозитивных клеток и доля гипертрофированных микроглиоцитов, наблюдается заполнение клеток липофусцином и ретракция их отростков. Накопление липофусцина свидетельствует как о дистрофических изменениях, так и о провоспалительной активации клеток микроглии. Действительно, микроглиоциты спинного мозга стареющих животных проявляют преимущественно провоспалительный

фенотип. У старых животных активированные микроглиоциты локализованы в основном в области сенсорных ядер спинного мозга. Эти факты имеют особое значение для понимания механизмов развития аномального болевого поведения при старении. Возрастное укорочение и сокращение степени ветвления отростков микроглиальных клеток может привести к нарушению их способности к контролю микроокружения и модулированию синаптической активности. Накопление липофусцина микроглиоцитами способствует клеточной дисфункции, повреждению и нарушению фагоцитарной активности. В комплексе эти изменения могут привести к потере нейропротекторного потенциала микроглии, увеличению ее нейротоксичности и нарушению регуляции реакций спинного мозга на сенсорные сигналы.

3.6. МАКРОФАГИ ПОЧЕК. МЕЗАНГИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ (МК)

3.6.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ МЕЗАНГИОЦИТОВ

В сосудистых клубочках почечных телец, между субэндотелиальной и субэпителиальной мембраной находится ткань, названная мезангиумом, состоящая из клеток – мезангиоцитов и межклеточного вещества – матрикса.

Основными компонентами матрикса являются адгезивный белок ламинин, коллаген, образующий тонкофибрилярную сеть, и компоненты эластических волокон - фибрилин-1, эмилин, микрофибрилл - ассоциированный гликопротеин-1,2 (MAGP-1,2), латентный фактор роста - связывающий протеин-1 (LTBP-1). Установлено, что синтез всех перечисленных компонентов матрикса мезангиальными клетками контролируется факторами роста, например, трансформирующим фактором роста,81 (TGF/ II).

Выделяют три типа (популяции) мезангиоцитов:

- гладкомышечный,
- макрофагический (резидентные макрофаги) и
- транзиторный (моноциты из кровотока).

Мезангиоциты гладкомышечного типа способны синтезировать все компоненты матрикса, а также сокращаться под влиянием ангиотензина, гистамина, вазопрессина и таким образом регулировать почечный кровоток. Мезангиоциты макрофагического типа, составляющие примерно 15% мезангиального клеточного пула, несут на своей поверхности Рецептор, необходимый для фагоцитарной функции, а также Ja-антиген.

Таким образом, мезангиальные клетки (мезангиоциты) располагаются между петлями капилляров почечного клубочка. Мезангиальные клетки составляют примерно 30–40% общей клеточной популяции почечного клубочка. В совокупности с мезангиальным матриксом они образуют мезангий клубочка — опорную структуру, расположенную в его центре и занимающую около 15% его общего объема. Продолжаясь за пределы клубочка, мезангий клубочка переходит в структурно и функционально родственный ему экстрагломерулярный мезангий.

3.6.2. МОРФОЛОГИЯ МЕЗАНГИОЦИТОВ

Эти клетки имеют веретеновидную или неправильную форму с многочисленными отростками разной протяженности, толщины и формы, которые иногда ветвятся, связывая между собой мезангиоциты, эндотелиоциты и неклеточные структуры клубочка в единый комплекс. Ядро — неправильной формы, с глубокими инвагинациями ядерной оболочки, преобладанием гетерохроматина и мелким ядрышком.

Цитоплазма характеризуется сравнительно плотной гиалоплазмой, умеренным развитием органелл. Она содержит отдельные мелкие митохондрии, короткие уплощенные цистерны грЭПС, большое количество свободных рибосом, средне или хорошо развитый комплекс Гольджи, отдельные лизосомы, пучки микрофиламентов, в особенности в периферических участках цитоплазмы под плазмолеммой, а также в отростках.

Отростки мезангиальных клеток связаны друг с другом комплексами соединений — щелевых и десмосом. Они также контактируют с цитоплазмой эндотелиальных клеток, а в некоторых участках могут проникать в просвет капилляров (рис. 54, 55). Местами они прикрепляются к клубочковой базальной мембране и непосредственно к матриксу. Мезангиальные клетки со всех сторон окружены мезангиальным матриксом, за исключением участков контакта с другими мезангиоцитами. Матрикс заполняет также глубокие вдавления на поверхности клеток.

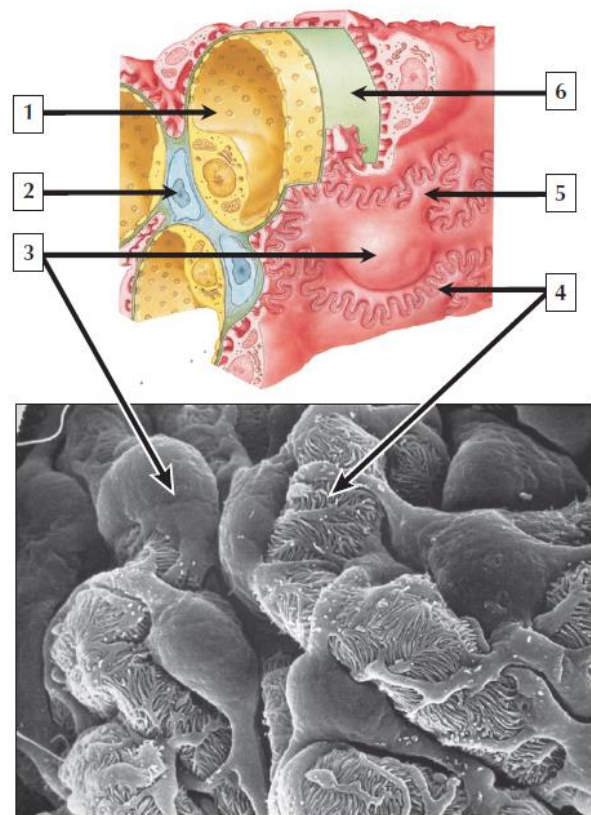
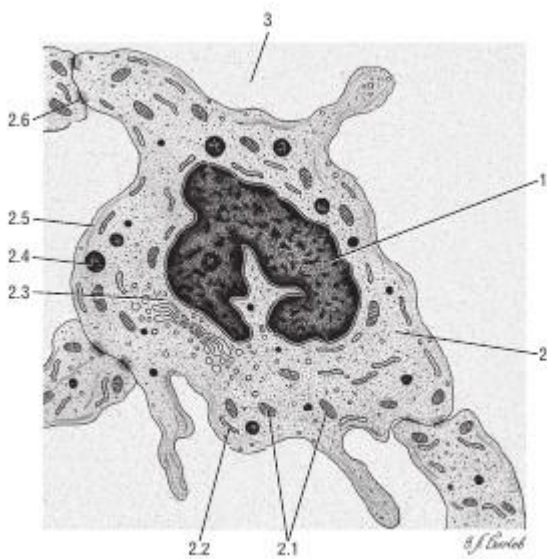


Рис. 54. Ультраструктурная организация мезангиальной клетки почечного тельца

Рисунок с ЭМФ. 1 — ядро; 2 — цитоплазма: 2.1 — митохондрии, 2.2 — цистерны грЭПС, 2.3 — комплекс Гольджи, 2.4 — лизосомы, 2.5 — пучки микрофиламентов, 2.6 — комплексы соединений; 3 — мезангиальный матрикс

Рис. 55. Схема и электроннограмма почечного тельца и подоцитов

1. Гломерулярная эндотелиальная клетка с отверстиями
- 2. Ядро мезангиальной клетки**
3. Подоциты
4. Ножки подоцитов
5. Первичный отросток подоцита
6. Базальная мембрана

Мезангиальные клетки - отростчатые, с плотным ядром, хорошо развитыми органеллами и большим количеством филаментов (в том числе сократительных), расположенных в периферических участках цитоплазмы, главным образом в отростках. Последние связаны с гломерулярной базальной мембраной (ГБМ) непосредственно или через интерпозицию внеклеточных микрофибрилл. Цитоплазма клеток мезангиума богата белками основного и кислого характера, SH-группами, тирозином, триптофаном и гистидином, полисахаридами, РНК и гликогеном. Богатство пластического материала объясняет высокие фагальные и пролиферативные потенции мезангиальных клеток, способность реагировать на те или иные воздействия коллагенообразованием, что имеет огромное значение в патологии почек. В норме мезангий содержит 2 - 3 клетки, занимающих центральную область каждой гломерулярной дольки. На электронных микрофотограммах МК образуют сеть, тесно связанную с базальной мембраной капилляров и окутывающую последние наподобие футляра, поддерживая его достаточный тонус. Таким образом, мезангиум соединяет капиллярные петли клубочка друг с другом и подвешивает их как брыжейка к гломерулярному полюсу. Мезангий топографически тесно связан не только с указанными структурами, но и с клетками юктагломерулярного аппарата, которые, в свою очередь, контактируют с эпителиоидными клетками приводящей артериолы. Подобное тесное взаимоотношение данных структур обуславливает важную роль мезангия в регуляции клубочкового кровотока и движении макромолекул из периферической зоны.

3.6.3. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЗАНГИОЦИТОВ

Мезангиальные клетки выполняют ряд важных функций:

- 1) механически поддерживают капилляры клубочка;
- 2) регулируют кровоток в клубочке (благодаря сократимым свойствам и прикреплению к базальной мембране);
- 3) образуют мезангиальный матрикс;
- 4) обладают высокой активностью фагоцитоза и эндоцитоза (поглощают макромолекулы, накапливающиеся при фильтрации, участвуют в обновлении базальной мембраны и щелевых диафрагм, фактически поддерживая структуру и функцию фильтрационного барьера);
- 5) вырабатывают цитокины, факторы роста, эндотелины и простагландины, а также экспрессируют разнообразные рецепторы, благодаря которым они обладают высокой чувствительностью к большому числу факторов роста и цитокинов, реагируя на них изменениями своей активности.

Благодаря этому создается возможность для локальной реализации в клубочках иммуновоспалительной реакции.

Мезангиальные клетки имеют рецепторы 1a типа ангиотензина 2 (AT₂), регулирующего почечный кровоток и уровень артериального давления (АД). Ангиотензин 2 вызывает сокращение мезангиальных клеток через фосфолипидный C - инозитол-1,4,5 - трифосфатный путь, причем этот эффект подавляется сосудорасширяющим предсердным натрийуретическим фактором (ПНУФ) или введением нитропруссид натрия - донатора NO. Исследования последних лет показали также, что AT₂ играет важную роль в сохранении

структуры и функции мезангиума посредством увеличения синтеза компонентов мезангиального матрикса, усиливающего связь между мезангиальными клетками и ГБМ. Кроме этого, МК содержат рецепторы ПНУФ, повышающего скорость клубочковой фильтрации и увеличивающего натрийурез и вазопрессина, стимулирующего сокращение мезангиальных клеток, и рецепторы эстрогенов (ER α и ERSS). Последние уменьшают деградацию мезангиального матрикса, стимулируя экспрессию мРНК матричной протеиназы-9, и тем самым замедляют при ряде патологических состояний гломерулосклероз. Функциями мезангиальных клеток являются:

- фагоцитоз (поглощают макромолекулы, накапливающиеся при фильтрации, в том числе иммунные комплексы, участвуют в обновлении гломерулярной базальной мембраны);

- синтез компонентов межклеточного вещества, присутствующего между капиллярами.

Кроме того, МК синтезируют PAF – фактор активации тромбоцитов, который играет важную роль в патогенезе гломерулонефрита;

- регуляция концентрационной функции почек (в МК обнаружен второй тип Na-K-Cl -котранспортера - BSC2/NKCC 1, который играет важную роль в реабсорбции NaCl в толстом восходящем колоне петли Генле и в собирательных протоках;

- благодаря сокращению микрофиламентов МК способны уменьшать площадь поверхности стенки капилляров, капиллярный ультрафильтрационный коэффициент, а следовательно, и скорость клубочковой фильтрации.

МК могут не только сокращаться под влиянием гормональных стимулов, но и расслабляться, подобно гладкомышечным клеткам, под действием негормональных мессенджеров, таких как оксид азота (NO).

Механизм его релаксирующего действия заключается в следующем: NO быстро связывается с геминовой простетической группой цитозольной гуанилатциклазы, образуя нитрозил-геминный комплекс, являющийся активатором гуанилатциклазы, которая, в свою очередь, из ГТФ вырабатывает 3'5'- циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ).

Он снижает уровень свободного кальция и активирует киназу легкой цепи миозина, вызывая расслабление клетки. При этом сокращение мезангиальных клеток может быть заблокировано NO, выделяемым эндотелием, и цитокинами, что не зависит от простагландинов. Кроме этого, оксид азота в *macula densa* модулирует синтез ангиотензина 2, предотвращая, тем самым, его пролиферативное действие на мезангий и интиму сосудов.

Установлено, что мезангиальные клетки выполняют ряд функций, характерных для макрофагов:

- продуцируют эйкозаноиды, цитокины, различные факторы роста и кислородные радикалы.

Как и макрофаги, мезангиальные клетки экспрессируют индуцибельную NO-синтазу, продуцирующую большое количество оксида азота. Есть основания полагать, что отмеченные особенности.

3.6.4. РОЛЬ МК В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ.

3.6.4.1. МК И ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ

МК могут играть существенную роль в патогенезе гломерулонефрита, хотя инфильтрация макрофагами клубочков при этом имеет не менее важное значение. Это было

продемонстрировано при нефрите Neumann - модели мембранозного гломерулонефрита. N. Uhlenius и соавт., изучая значение NO при данном типе экспериментального нефрита, показали, что длительное ингибирование NO-синтазы вызывает прогрессирование заболевания, увеличивает степень артериальной гипертензии и протеинурии.

При быстро прогрессирующем нефротоксическом нефрите (НТН) у крыс экспрессия iNOS значительно увеличена в гладкомышечных клетках сосудов, активированных интерлейкином-1 макрофагах, нейтрофилах и не стимулированных этим лимфокином мезангиальных клетках через 6 ч после индукции гломерулонефрита, достигая максимума через 24 часа, что совпадает с началом формирования иммунных комплексов. Увеличенная экспрессия iNOS сохраняется до 7-го дня болезни, когда фаза мезангиолиза переходит в фазу мезангиальной пролиферации. Известно, что оксид азота, синтезированный эндотелиальной NOS (eNOS), участвует в регуляции сосудистого тонуса, ингибирует агрегацию тромбоцитов и прилипание лейкоцитов к эндотелию сосудов и таким образом оказывает противовоспалительное действие.

Сделан вывод, что NO, генерированный eNOS, играет защитную роль при нефрите. Появилась концепция, что конститутивный синтез NO необходим для компенсации увеличенной вазоконстрикции в поврежденных клубочках.

Таким образом, прекращение образования оксида азота eNOS и усиление активности iNOS оказывает повреждающее действие на ткани почек. Известно, что пролиферация мезангиальных клеток и расширение зоны мезангия за счет гиперпродукции мезангиального матрикса является одним из основных признаков большинства морфологических форм гломерулонефрита.

Мезангиопролиферативный гломерулонефрит (МЗПГН), по данным различных авторов, составляет от 2 до 43% всех морфологических типов первичного гломерулонефрита у детей и 41.6% - у взрослых. Диагностическими критериями МЗПГН являются: увеличение числа мезангиоцитов и объема мезангиального матрикса, отчетливо видимого при постановке ШИК-реакции, нормальная толщина и плотность ГБМ, отсутствие инфильтративных изменений интерстиция и артериол. Уровень мезангиальной пролиферации может варьировать от 5 - 6 клеток в сегменте (слабая степень) до более значительной (умеренная, сильная степень)

В патогенезе гломерулонефрита немаловажную роль играет гиперкоагуляция. Следует отметить взаимодействие системы L-аргинин - оксид азота с другими соединениями, влияющими на процессы воспаления и тромбообразования. Как и простациклин, известный в качестве мощного эндотелиального антиагрегантного фактора, оксид азота обладает таким же эффектом. Он сдерживает проагрегационное действие тромбоксана A₂, способствующего склеиванию и адгезии тромбоцитов к сосудистой стенке. Следует помнить и об участии тромбоцитов в процессах воспаления и репарации в качестве источника тромбоцитарных факторов роста, стимулирующих пролиферацию эндотелия и ингибирующих коллагеназы. Это, в свою очередь, способствует накоплению коллагена - важнейшего молекулярного источника фиброплазии, то есть склерозирования. Кроме того, установлено, что тромбоцитарный фактор роста ингибирует, а фактор роста фибробластов активизирует экспрессию iNOS, а следовательно, и синтез NO в мезангиальных клетках при экспериментальном гломерулонефрите у крыс. Последовательная активация этих факторов, а также интерлейкин-1 определяют количество продуцируемого оксида азота и тем самым регулируют NO-индуцированные изменения

гломерул. Таким образом, оксид азота влияет не только на выраженность воспалительного процесса, но и на его исход.

Состояние МК при МЗПГН оценивается как активное в связи с сильным развитием каналов гранулярной эндоплазматической сети и митохондрий. В цитоплазме некоторых из них могут выявляться капли липидов и довольно многочисленные лизосомы. Одним из основных компонентов липидов в МК является сложный нейтральный липид, обладающий рядом функций. В частности, он вызывает высоко специфичный хемотаксис моноцитов крови, осаждение различных макромолекул из плазмы в мезангий, а также сокращение МК в ответ на стимуляцию их Fc рецепторов. Именно постоянно присутствующие и мигрировавшие в мезангиальную зону мезангиальные фагоциты выделяют различные вещества, которые реконструируют мезангиальную матрицу, стимулируют мезангиальную пролиферацию, изменяют проходимость гломерулярной базальной мембраны и регулируют капиллярный кровоток. Обнаружено много факторов, регулирующих пролиферацию клеток и продукцию компонентов внеклеточного матрикса, среди которых сильный митоген - эндотелиальный фактор роста (EGF), рецепторы которого выявлены в мезангиальных клетках. Кроме этого, доказана роль липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в стимуляции мезангиальной пролиферации, а в последующем и клеточного апоптоза через усиление экспрессии мРНК RSG-2- маркерного гена активной гибели клетки - в ходе развития гломерулосклероза. Стимуляция мезангиальных клеток иммунными комплексами и провоспалительными цитокинами типа TNF-а и β или ИЛ-1 приводит к увеличению образования различных факторов роста, хемокинов, адгезивных молекул (типа ламинина), NO и кислородных радикалов. Последние, по крайней мере частично, активируют синтез ядерного фактора каппа В, усиливающего внутриклеточное взаимодействие факторов роста и цитокинов. Недавно продемонстрирована тесная связь между окислительным липопротеином (ОЛП) малой плотности и прогрессией гломерулярного повреждения.

Мезангиальные клетки могут быть потенциальной мишенью для повреждения их ОЛП и NO. В эксперименте показано, что ОЛП не уменьшают синтез оксида азота путем изменения транскрипции гена iNOS в культуре мезангиальных клеток, что, в свою очередь, способствует прогрессированию гломерулярного повреждения.

Кроме повышенной экспрессии iNOS при гломерулонефрите отмечено увеличение образования секреторных фосфолипаз A2 в мезангиоцитах, стимулированное интерлейкином-1/J. Причем образующийся при этом оксид азота еще больше стимулирует экспрессию мРНК секреторной фосфолипазы A2 и образование этого фермента, разрушающего клеточные мембраны. Сделан вывод, что взаимодействие между этими воспалительными медиаторами может поддерживать и способствовать прогрессированию воспалительного процесса в почках.

Наиболее неблагоприятным в отношении прогноза морфологическим вариантом ГН является фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС). При этом заболевании гломерулосклероз также сочетается с усиленной пролиферацией мезангиальных клеток и разрастанием мезангиального матрикса. Патогенез ФСГС до конца неясен.

Известно, что в развитии гломерулярной гипертрофии, мезангиальной пролиферации и склероза имеют значение процессы гиперfiltrации и гиперперфузии, которые могут вызываться гиперпродукцией оксида азота.

Таким образом, мезангиальные клетки обладают фагоцитарной, синтетической, сократительной функцией. Они участвуют в регуляции концентрационной функции почек и локальных эффектах некоторых химических мессенджеров, под действием которых могут сокращаться и расслабляться, регулируя тем самым почечный кровоток и скорость клубочковой фильтрации. Многочисленные материалы, имеющиеся в настоящее время, указывают на важную роль оксида азота в функционировании мезангия как в норме, так и при патологии почек, в частности при гломерулонефрите.

Быстро пролиферируют под действием различных цитокинов и факторов роста, а также стимулируют миграцию макрофагов, экспрессирующих большое количество iNOS. NO-синтазы выделяют оксид азота, который в повышенных количествах обладает прямым цитотоксическим действием. Кроме того, NO самостоятельно или через взаимодействие с цитокинами, различными факторами роста, вазоактивными веществами вызывает воспаление в почечном клубочке, пролиферацию мезангиоцитов и компонентов межклеточного вещества. В то же время NO, синтезированный конститутивными изоформами NOS, оказывает противовоспалительное действие, обладая спазмолитическим, антикоагулянтным и дезагрегантным действием и блокируя прилипание лейкоцитов к эндотелию сосудов. Этот газ регулирует почечный кровоток, клубочковую фильтрацию и реабсорбцию натрия в начальных стадиях нефрита. Недостаток синтеза оксида азота эндотелиальной NOS способствует тромбообразованию, эндокапиллярной гиперплазии, задержке натрия хлорида и жидкости, а следовательно, артериальной гипертензии, что приводит к прогрессированию поражения почек. Избыток NO вызывает расслабление мезангиальных клеток и сосудов, а тем самым - процессы гиперфильтрации и гиперперфузии, способствующие, в свою очередь, гломерулярной гипертрофии и склерозу. Следовательно, как избыток, так и недостаток оксида азота, синтезированного eNOS и iNOS, имеют значение в генезе гипертензии и могут способствовать прогрессированию заболеваний почек.

3.7. МАКРОФАГИ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ

Присутствие на поверхности этих клеток рецепторов для Fc-фрагмента иммуноглобулина и C3-комплемента обеспечивает способность макрофагов лимфоидных органов, в отличие от других фагоцитов, к иммунному фагоцитозу. Участие макрофагов в иммунном ответе многогранно. Они, элиминируя и разрушая антиген до 90% его, оставшуюся часть выводят на поверхность в более иммуногенной форме - в виде суперантигена. Кооперативное взаимодействие макрофагов с активированными Т- и В-лимфоцитами является необходимым условием развития большинства иммунных реакций. Макрофаги создают микроокружение для лимфоцитов.

3.7.1. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ

3.7.1.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ

Селезенка является важным резервуаром моноцитов (Swirski et al., 2009; Laan et al., 2014), участвующих в утилизации эритроцитов, фагоцитозе патогенов, иммуногенезе (Den Naan, Kraal, 2012). Популяционный состав макрофагов в селезенке крайне разнообразен.

Постоянные скопления макрофагов отмечаются в В- и Т-зависимых зонах фолликулов селезенки. Много макрофагов и в красной пульпе - в перегородках между венозными синусами, а часть - и в самих синусах). К наиболее подвижным клеткам

относятся макрофаги красной пульпы селезенки. Их число подвержено колебаниям в наибольшей степени. В красной пульпе селезенки макрофаги располагаются и в перегородках между венозными синусами (селезеночные тяжи), и в просвете самих синусов. Иногда синусы бывают совершенно пусты. Число макрофагов в крови подчас превышает число макрофагов в межсинусовых перегородках. Переход макрофагов из стромы перегородок в просвет венозных синусов осуществляется довольно свободно благодаря своеобразному строению их стенки.

В разных морфологических зонах селезенки в зависимости от физиологических условий и патологических состояний встречаются разные популяции макрофагов (Den Naan, Kraal, 2012). В гетерогенной популяции макрофагов селезенки различают четыре подгруппы, которые заселяют разные функциональные зоны, микроокружение которых определяет их разный фенотип и функции:

- макрофаги белой пульпы,
- две популяции макрофагов маргинальной зоны,
- макрофагами красной пульпы

Число макрофагов - величина непостоянная и зависит прежде всего от степени антигенного воздействия и фазы иммунного ответа. В процессе формирования иммунного ответа изменяется и число, и функциональная активность макрофагов в различных зонах периферических лимфоидных органов.

Уже давно известно, что в селезенке находится большая часть макрофагов организма. Различия между синусоидальными клетками и истинными паренхиматозными макрофагами были получены методом световой микроскопии при гистохимическом изучении и применении техники импрегнации серебром. Dorfman R. F. показал, что интерстициальные макрофаги дают выраженную реакцию на кислую фосфатазу и неспецифическую эстеразу, в то время как синусоидальные клетки такой реакции не дают.

3.7.1.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ

Макрофаги селезенки имеют двойственное происхождение. Одни из них являются потомками стволовых клеток костного мозга, другие – резидентных клеток. Ранее считалось, что тканевые резидентные макрофаги в основном дифференцируются из циркулирующих моноцитов. Однако многочисленные исследования показывают, что резидентные макрофаги селезенки имеют местное происхождение. Популяция резидентных макрофагов может поддерживаться независимо от гемopoэтических стволовых (ГС) клеток и от циркулирующих моноцитов и обладает способностью к самообновлению (Schulz et al., 2012; Hashimoto et al., 2013; Yona et al., 2013).

В нескольких исследованиях были предприняты попытки ответить на вопрос о происхождении различных популяций макрофагов как в стационарных условиях, так и после экспериментального удаления клеток-резидентов ткани, что важно, поскольку репопуляция после экспериментального инсульта может отличаться от репопуляции, происходящей в стационарных условиях. По-видимому, локальная пролиферация действительно происходит в стабильных условиях, по крайней мере, в отношении некоторых групп макрофагов, таких как макрофаги белой пульпы и металлофильские макрофаги. Кроме того, по-видимому, циркулирующие предшественники также вносят свой вклад, но природа этих предшественников неизвестна.

Исследования с участием мыши с дефицитом M-CSF (Mcsf op/Mcsf op-мыши) подчеркивают различную зависимость выживания определенных подгрупп макрофагов от

M-CSF, поскольку у этих мышей отсутствуют металлофильные макрофаги при сохранении разумного количества большинства других подгрупп селезеночных макрофагов.

3.7.1.3. МОРФОЛОГИЯ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ

Размеры и форма макрофагов непостоянны и зависят от функционального состояния клетки, органа и организма в целом. Ядра крупные, содержат ядрышко, хроматин в небольшом количестве конденсирован у ядерной оболочки. Макрофаги с более развитым лизосомальным аппаратом относятся к фагоцитирующему типу, с более развитой эндоплазматической сетью – к секретирующим макрофагам периартериальных зон, а макрофаги третьей группы являются дендритическими клетками, расположенными в герминативных центрах лимфатических фолликулов селезенки.

Под названием “фагоцитирующие ретикулярные клетки” объединены группы клеток, характеризующиеся наличием в цитоплазме большого числа разнообразных лизосом и фагосом. Это довольно крупные клетки диаметром 15-20 мкм, неправильной формы за счет множества цитоплазматических отростков. Ядро обычно неправильной звездчатой формы, расположено эксцентрично. Ядерный хроматин преимущественно распределен равномерно, с умеренной тенденцией к агрегации под ядерной мембраной. Имеются многочисленные митохондрии, комплекс Гольджи в форме 2-3 отдельных групп, зернистая эндоплазматическая сеть представлена несколькими, иногда локально расширенными цистернами. В настоящее время эти клетки считаются одними из компонентов клеток системы мононуклеарных фагоцитов, отличающихся от макрофагов других органов по своим структурно-функциональным особенностям.

Интердигитирующие ретикулярные клетки (ИДК) также имеют многочисленные отростки, контактирующие между собой и с лимфоцитами. Они в основном локализованы в тимусзависимых зонах органа и образуют микроокружение для лимфоцитов периартериальных зон. Установлено, что ИДК по морфологическим характеристикам очень близки к клеткам Лангерганса эпидермиса кожи, содержащих в цитоплазме особые гранулы Бирбека. Эти клетки по морфологическим признакам наиболее близки к клеткам системы мононуклеарных фагоцитов. При экстремальных ситуациях фагоцитарная активность ИДК может возрастать во много раз, что сопровождается изменением их субклеточной организации в сторону макрофагов.

3.7.1.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ

Макрофаги разных функциональных зон селезенки участвуют в индукции как адаптивного иммуногенеза, так и толерантности.

Макрофаги играют огромную роль в выполнении разнообразных функций селезенки, начиная с элиминации старых форменных элементов крови, кончая активным участием в иммунных реакциях организма.

Макрофаги белой пульпы участвуют в иммуногенезе на антигены, доставляемые кровью; две популяции макрофагов маргинальной зоны ответственны за преемственность врожденного и адаптивного иммуногенеза; с макрофагами красной пульпы связан фагоцитоз эритроцитов и метаболизм железа (A-Gonzalez, Castrillo, 2018).

Несмотря на уникальность селезенки, как органа, в котором многочисленные субпопуляции макрофагов выполняют разные функции *in situ*, а также как резервуара

недифференцированных моноцитов – источников макрофагов в очагах воспаления и репаративной регенерации, многое остается недостаточно изученным.

Некоторые заболевания вызывают рекрутирование моноцитов как из костного мозга, так и из селезенки. Механизмы высвобождения моноцитов из этих органов различны. Миграция моноцитов костного мозга зависит от передачи сигналов CCR2, тогда как рекрутирование моноцитов из селезенки происходит благодаря взаимодействию ангиотензина-2 с рецептором на резервных моноцитах (Swirski et al., 2009).

Нет четкого понимания, какова роль макрофагальной системы селезенки в феномене крайней редкости ее метастатического поражения при злокачественных новообразованиях.

3.7.1.5. РОЛЬ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

3.7.1.5.1. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС

Макрофаги селезенки обладают двумя основными протективными свойствами во время инфекций, возбудители которых передаются через кровь. Первым и наиболее хорошо изученным является фагоцитоз и устранение патогенных микроорганизмов из кровотока. Однако помимо задачи устранения патогенов, распространяющихся через кровь, макрофаги селезенки могут играть важную роль в активации иммунной системы. Для выполнения этих функций они снабжены большим количеством рецепторов распознавания патогенов. Они распознают молекулы, связанные с патогенами, и молекулы, связанные с повреждениями. Связывание Toll-подобных рецепторов макрофагов селезенки с молекулами патогенов или молекулами, возникающими при повреждении, приводит к секреции ими провоспалительных цитокинов. В результате макрофаги селезенки становятся источником провоспалительных цитокинов (Den Haan, Kraal, 2012).

Функциональные особенности макрофагов красной пульпы селезенки способствуют борьбе с многочисленными патогенами, передающимися через кровь. Например, макрофаги красной пульпы могут фагоцитировать бактерии (De Jesus et al., 2008). Макрофаги красной пульпы мышей с фенотипом SIGNR1 – эффективно фагоцитируют *Streptococcus pneumoniae* (Kirby et al., 2009). Однако макрофаги красной пульпы не эффективны при внутриклеточном росте *Salmonella typhimurium* (Salcedo et al., 2001). Макрофаги красной пульпы также участвуют в развитии малярии. При экспериментальной инфекции *Plasmodium yoelii* ремоделирование селезенки способствует прикреплению инфицированных эритроцитов к эндотелию сосудов и, как следствие, позволяет паразитам миновать фагоциты (Martin-Jaular et al., 2011).

Интересно, что часть фагоцитов положительны по F4/80 и CD11c. Этот фенотип является общим для макрофагов красной пульпы и дендритных клеток. Эта популяция клеток участвует в уничтожении паразитов *Plasmodium chabaudi* на ранней стадии, но на пике паразитемии она резко уменьшается (Borges da Silva et al., 2015). Макрофаги красной пульпы могут экспрессировать CXCR3- и (или) CCR5-связывающие хемокины по механизму, подобному тому, который наблюдается при раннем кандидозе. Рецепторы CXCR3 и CCR5 являются основными хемокиновыми рецепторами с повышенной активностью в CD4⁺-Т-клетках селезенки во время острой стадии малярии (Gwyer Findlay et al., 2013).

Макрофаги маргинальной и перифолликулярной зон и красной пульпы, экспрессирующие CD169, участвуют в контроле распространения вирусов и бактерий. В частности, это касается листерий (Perez et al., 2017; Grabowska et al., 2018).

Все макрофаги, экспрессирующие рецепторы к Fc-фрагменту любого варианта иммуноглобулинов (IgG), имеют и рецептор к олигопептиду тафтсину. Тафтсин является частью СН-домена Fc-фрагмента тяжелой цепи IgG. В процессе фагоцитоза комплекса патоген–IgG происходит ферментативное отделение тафтсина от Fc-фрагмента, который соединяется со своим рецептором. Далее происходит интернализация комплекса тафтсин–рецептор вместе с комплексом патоген–IgG. Благодаря способности тафтсина стимулировать образование макрофагами супероксидного и нитроксильных радикалов фагоцитоз становится завершенным. Роль селезенки заключается в том, что освобождение тафтсина происходит при участии двух ферментов. Один из них тафтсинэндокарбокситепептидаза образуется только в селезенке. Важность роли тафтсина в завершенности фагоцитоза демонстрируется развитием тафтсиновой недостаточности у спленэктомированных животных и людей. У них возникают инфекции после спленэктомии, возбудителями которых являются капсульные бактерии (Одинцов и др., 2002; Перельмутер и др., 2004).

3.7.1.5.2. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ЦИРРОЗ ПЕЧЕНИ

Предполагают, что вклад селезенки в развитие цирроза печени связан со стимуляцией фиброгенеза и ингибированием регенерации. Авторы предполагают, что моноциты селезенки, наряду с Т-клетками, могут способствовать патологическим изменениям в печени (Li et al., 2017). Было продемонстрировано, что спленэктомия способствует регенерации печени у животных и пациентов с циррозом печени (Yamada et al., 2016). Как полагают, это происходит при участии фактора TNF- α , источником которого являются макрофаги селезенки (Murata et al., 2001). В исследовании Ли и сотрудников (Lee et al., 2015) использовали крыс, перенесших 70%-ю гепатэктомию со спленэктомией или без таковой. Было установлено, что после спленэктомии происходило снижение уровня TGF- β 1 и повышение уровня фактора роста гепатоцитов в воротной вене, что приводило к улучшению регенерации печени.

3.7.1.5.3. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ИНФАРКТ МИОКАРДА

Репарация зоны инфаркта миокарда, как и заживление повреждений других тканей, происходит в три фазы: воспалительная, пролиферативная и фаза созревания, при которой происходит ремоделирование соединительной ткани. При инфаркте миокарда развивается демаркационное воспаление, которое является основой для неполной регенерации – замещения некротизированных кардиомиоцитов соединительной тканью.

Основным источником циркулирующих моноцитов после острого инфаркта миокарда является селезеночный резервуар. Эти клетки генерируются как за счет клеток из костного мозга, так и за счет местного моноцитопоэза (Swirski et al., 2009; Leuschner et al., 2012; Ismahil et al., 2014).

Мобилизация моноцитов в зону инфаркта – одно из проявлений этого процесса. В эксперименте на мышах показано, что моноциты селезенки инфильтрируют зону инфаркта миокарда. Рекрутирование резервных моноцитов из селезенки происходит за счет увеличения концентрации ангиотензина-2 (Swirski et al., 2009; Honold, Nahrendorf, 2018). Высвобождение моноцитов селезенки, как было показано, зависит от рецептора ангиотензина-2 типа 1a, и нокаут этого рецептора снижает как количество циркулирующих моноцитов, так и моноцитов в зоне инфаркта миокарда (Swirski et al., 2009).

После инфаркта миокарда у мышей в крови в большем количестве циркулируют ГСП-клетки костного мозга, активируя гемопоэз в селезенке (Dutta et al., 2012). Увеличение количества гемопоэтических и эндотелиальных клеток-предшественников в крови людей происходит в раннюю фазу инфаркта миокарда (Massa et al., 2005; Assmus et al., 2012). Прижизненная микроскопия показывает, что источником моноцитов в зоне инфаркта сначала является сосудистое русло, а затем селезеночный резервуар.

Моноциты, экспрессирующие антиген Ly6Chigh у мышей освобождаются из костного мозга и селезенки и рекрутируются в участки повреждения ткани с участием хемокинового рецептора CCR2 (Peet et al., 2020). Рекрутирование моноцитов в зону инфаркта начинается уже через 15–30 мин после острого нарушения кровотока в сердце (Jung et al., 2013; Peet et al., 2020). Моноциты селезенки, избирательно накапливающиеся при инфаркте миокарда, имеют фенотипы Ly-6Chigh и Ly-6Clow. Через 1 сут после возникновения инфаркта преобладают моноциты Ly-6Chigh, а Ly-6Clow доминируют позднее (Nahrendorf et al., 2007).

Исследование ответа моноцитов после острого инфаркта миокарда у пациентов показало, что в воспалительную фазу репарации в пограничной зоне инфаркта преобладают моноциты с фенотипом CD14+CD16-. В пролиферативную фазу в грануляционной ткани, замещающей центр инфаркта, преимущественно встречаются моноциты CD14+CD16+ (Laan et al., 2014). Получены факты, свидетельствующие о том, что источником моноцитов, инфильтрирующих инфаркт миокарда, является селезенка (Laan et al., 2014; Peet et al., 2020).

Активация селезенки через блуждающие нервы высвобождает кардиопротективные факторы, которые уменьшают размер инфаркта. В то же время более поздняя активация селезенки за счет активации симпатической нервной системы и увеличения ангиотензина-2 сначала увеличивает воспалительную инфильтрацию миокарда, а затем уменьшает ее, обеспечивая регенерацию миокарда. Поиск кардиопротективных факторов, которые высвобождаются из селезенки, все еще продолжается (Heusch, 2019). Очевидно, что вторая фаза репарации (пролиферации) осуществляется с участием противовоспалительных цитокинов, источником которых являются, в частности, и макрофаги типа M2.

С селезенкой связано и отрицательное влияние на состояние миокарда. При воспроизведении на мышцах повреждения миокарда рекрутируемые в сердце моноциты селезенки не только участвуют в репарации, но и могут способствовать иммуноопосредованному повреждающему воздействию на миокард. Спленэктомия у мышей с повреждением сердца приводила к реверсии воспаления и патологического ремоделирования (Ismahil et al., 2014).

Активность селезенки при остром коронарном синдроме ассоциирована с активацией показателей, связанных с воспалением. В свою очередь, активность селезенки ассоциирована с повышенным риском повреждения сердечно-сосудистой системы (Emami et al., 2015).

3.7.1.5.4. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И АТЕРОСКЛЕРОЗ

Было показано, что клетки ГС и ГСП костного мозга мышей мигрируют в красную пульпу селезенки, где они пролифирируют и дифференцируются в Ly-6Chigh-моноциты. Последние мигрируют в атеросклеротические бляшки, где секретируют провоспалительные цитокины, активные формы кислорода, протеазы и превращаются в

пенистые клетки. Это способствует формированию атеромы (Dutta et al., 2012; Robbins et al., 2012; Wang et al., 2014). Дифференцировке в селезенке моноцитов Ly-6C^{high} способствует гиперхолестеринемия (Kuaw et al., 2011).

Острый инфаркт миокарда увеличивает активность симпатической нервной системы, следствием чего является мобилизация клеток-предшественников из костного мозга. Они мигрируют в селезенку и увеличивают количество резидентных моноцитов, способствуя протеолитической дестабилизации атеросклеротических бляшек у мышей, нокаутированных по гену ApoE (Dutta et al., 2012).

3.7.1.5.5. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ОПУХОЛЕВЫЙ ПРОЦЕСС

Моноциты резервуара селезенки, мигрируя в опухоль, становятся опухоль-ассоциированными макрофагами.

В опыте усиливается продукция ангиотензина-2, который приводит к увеличению в селезенке количества ГС-клеток и предшественников макрофагов (Cortez-Retamozo et al., 2013). В селезенке мышей с экспериментально вызванной аденокарциномой легких было обнаружено большое количество ГСП-клеток, включая предшественников гранулоцитов (макрофагов). Они фенотипически и функционально сходны со своими аналогами из костного мозга. ГСП-клетки селезенки дают начало миелоидным клеткам, таким как моноциты и нейтрофилы, которые впоследствии мигрируют в опухоль и выполняют проопухолевые функции (Cortez-Retamozo et al., 2012). Связанные с опухолью макрофаги могут стимулировать рост опухоли и ухудшать выживаемость пациентов при разных типах злокачественных новообразований (Qian, Pollard, 2010). Роль селезенки в этом процессе подтверждается в экспериментах со спленэктомией. Она уменьшала количество опухоль-ассоциированных макрофагов и нейтрофилов и замедляла рост экспериментальной опухоли.

Предшественники макрофагов и гранулоцитов и их потомки идентифицированы и в селезенке человека (Cortez-Retamozo et al., 2012).

Среди мононуклеарных клеток селезенки имеются Tie2⁺-моноциты, экспрессирующие рецептор ангиопоэтина-2 с фенотипом Tie2⁺CD14^{low}CD16^{bright}CDL62⁻CCR2⁻. Tie2⁺-макрофаги привлекаются в опухоль в ответ на продукцию ангиопоэтина-2 эндотелиальными клетками. Они накапливаются в гипоксических периваскулярных участках опухоли и очагах воспаления и обуславливают повышение проницаемости сосудов, в которых происходит интравазация опухолевых клеток. Было показано, что моноциты, экспрессирующие рецептор Tie2, поддерживают аномальные ангиогенные процессы в солидных опухолях посредством паракринного действия, происходящего вблизи сосудов (Campanelli et al., 2016). Существует корреляция между усилением экстрамедуллярного кроветворения в селезенке и прогрессированием рака у человека.

Клинически у пациентов с различными типами солидных опухолей наблюдались повышенные уровни ГСП-клеток в селезенке, связанные с плохой выживаемостью. Эти результаты показывают уникальную и важную роль селезеночного кроветворения. Показано, что CD133 может служить полезным маркером ГСП-клеток селезенки у людей. У пациентов с раком желудка накопление CD133⁺ ГСП-клетками имеет обратную корреляцию со снижением общей выживаемости после операции (Wu et al., 2018).

В настоящее время роль селезенки при злокачественных новообразованиях исследуется на пациентах со спленэктомией.

Было обнаружено, что удаление селезенки сопровождается усилением онкогенеза солидных опухолей пищевода, печени, толстой кишки, поджелудочной железы, легких, предстательной железы и злокачественных гематологических новообразований, таких как неходжкинская лимфома, лимфома Ходжкина, множественная миелома, острый миелоидный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз (Kristinsson et al., 2014). Было показано, что пациенты, перенесшие спленэктомию, имеют повышенный риск развития рака желудочно-кишечного тракта, головы и шеи, гематологических злокачественных новообразований (Sun et al., 2015). Полагают, что селезенка осуществляет иммунный надзор, защищая от онкогенеза. Что касается влияния на уже имеющиеся опухоли, исследования эффектов спленэктомии у пациентов с раком желудка, толстой кишки, печени и поджелудочной железы показали крайне незначительное влияние на безрецидивную и общую выживаемость (Cadili, de Gara, 2008).

3.7.1.5.6. МАКРОФАГИ СЕЛЕЗЕНКИ И ХРОНИЧЕСКИЙ СТРЕСС

На основании проведенных морфометрических исследований при перенесенном хроническом стрессе (рис. 56-58) установлено, что в селезенке наблюдается резкое уменьшение количества активных макрофагов по сравнению с количеством макрофагов в селезенке интактных животных (табл. 3, рис. 56-58). В препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, ядра макрофагов характеризуются крупным, четко контурирующим ядрышком и глыбками хроматина, сконцентрированными у самой кариолеммы. Поэтому чаще ядра макрофагов имеют вид светлых пузырьков в отличие от более темных ядер фибробластов, в которых глыбки хроматина мелкие, но располагаются сравнительно компактно. Реже хроматин в ядрах макрофагов распределяется диффузно.

В селезенке животных происходило уменьшение объема, в большинстве препаратов визуализировались лимфоидные узелки с типичной структурой. Также отмечались сосудистые расстройства в форме отека стромы селезенки и полнокровия сосудов (56,58).

Таблица 3. Количество макрофагов селезенки в условиях стресса

№ п/п	Группа животных	Количество макрофагов ($M \pm m$) (у.ед.)
1.	Контроль	$26,45 \pm 2,13$
2.	Стресс	$12,45 \pm 2,06$ $p \leq 0,05$

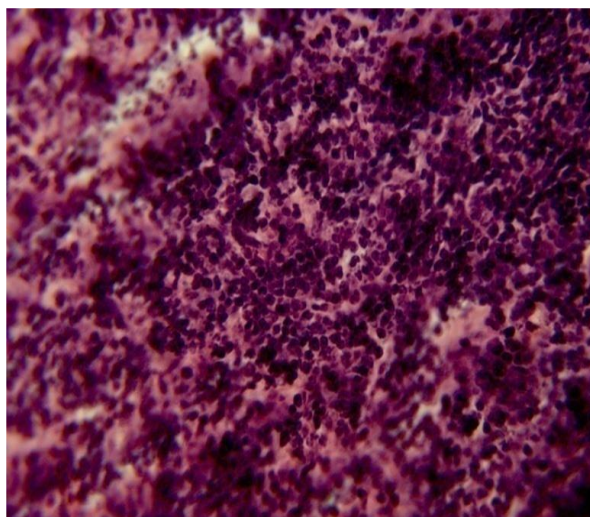


Рис. 56 Селезенка, белая пульпа, контроль.
Окр. гематоксилин-эозином. Ув. x 400

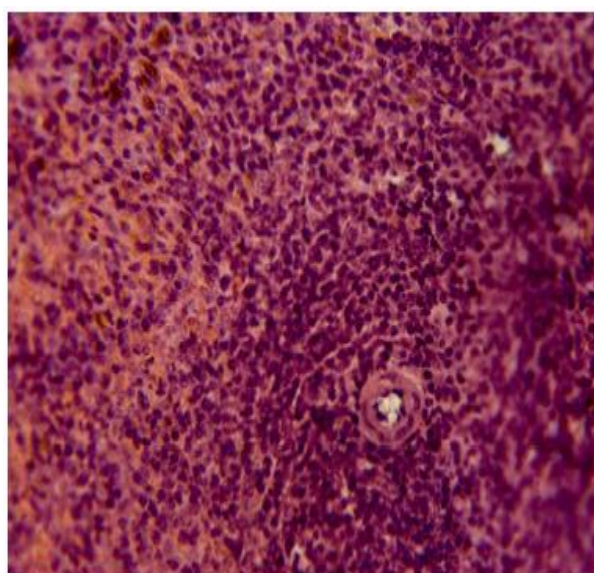


Рис. 57 Селезенка, белая пульпа, стресс.
Окр. гематоксилин-эозином. Ув. x 400

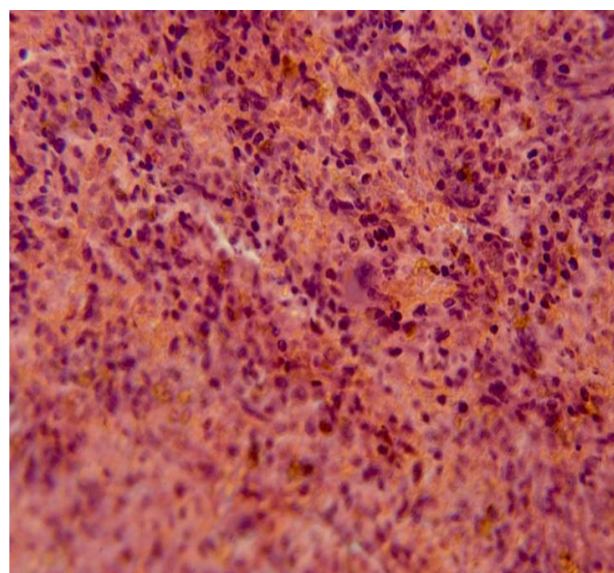


Рис. 58 Селезенка, красная пульпа, стресс.
Окр. гематоксилин-эозином. Ув. x 400

СУБПОПУЛЯЦИИ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ

3.7.1А МАКРОФАГИ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ

3.7.1А.1 ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ

Было установлено, что макрофаги красной пульпы локализуются в ретикулярной сети фибробластов, которые характеризуются экспрессией генов опухолевого белка Вильмса 1 и колониестимулирующего фактора 1. Делеция гена этого фактора в фибробластах, продуцирующих опухолевый белок Вильмс 1, вызывает резкое истощение макрофагов в красной пульпе. К пополнению их популяции приводит рекрутирование моноцитов благодаря продуцированию фибробластами хемоаттрактантов CCL2 и CCL7 (Bellomo et al., 2020). Резидентные макрофаги красной пульпы отличаются от макрофагов селезенки, происходящих из моноцитов крови, по поверхностным рецепторам. Так, у людей преимущественно экспрессируются низкоаффинные рецепторы FcγRIIa и FcγRIIIa. В

отличие от макрофагов, происходящих из моноцитов крови, резидентные макрофаги красной пульпы не экспрессируют FcγRIIb, однако экспрессируют очень низкие уровни высокоаффинного рецептора FcγRI. Экспрессия этого рецептора может быть индуцирована в условиях воспаления (Nagelkerke et al., 2018).

3.7.1А.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАКРОФАГОВ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ

Нет единого мнения о происхождении макрофагов красной пульпы. Исследование Хашимото и сотрудников (Hashimoto et al., 2013) демонстрирует, что их численность у мышей регулируется путем локальной пролиферации. Другие авторы (Schulz et al., 2012) показали, что макрофаги красной пульпы селезенки, как и многие резидентные популяции макрофагов легких, печени, головного мозга, брюшины, костного мозга, появляются в период эмбриогенеза из элементов желточного мешка. Во взрослом организме человека и животных макрофаги красной пульпы селезенки состоят преимущественно из самообновляющихся популяций макрофагов эмбрионального происхождения и, в меньшей степени, возникают путем дифференцировки из моноцитов крови мыши (Lavin et al., 2015; Yona et al., 2013).

3.7.1А.3. МОРФОЛОГИЯ МАКРОФАГОВ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ

Размеры и форма макрофагов непостоянны, зависят, главным образом, от функциональных состояний. Диаметр их составляет от 10-15 до 100 мкм, ядра крупные, содержат ядрышко, хроматин в небольшом количестве конденсируется у ядерной оболочки. У макрофагов селезенки, как правило, наблюдается больше отростков, чем у макрофагов других тканей, причем те клетки, которые обладают наибольшей фагоцитарной активностью, имеют большее количество отростков. Они часто интердигитируют. Отличительным признаком макрофагов селезенки является также наличие в них многочисленных лизосом. Некоторые из них мелкие и гомогенные (первичные), но большинство крупные, иногда до 2-3 мкм в диаметре, гетерогенной структуры, содержащие фрагменты эритроцитов на разных стадиях разрушения, ферритин и миелиновые фигуры. Макрофаги захватывают старые и более хрупкие эритроциты, механически поврежденные при проникновении между эндотелиальными клетками синусов. Макрофаги могут содержать также захваченные лимфоциты на различных стадиях дезинтеграции - это так называемые окрашивающиеся тельца. В селезенке обнаруживаются макрофаги, окруженные группой старых эритроцитов, подвергающихся фагоцитозу; в то время как другие макрофаги окружены эритроцитами, либо содержат их. Макрофаги способствуют созреванию эритробластов. Захваченные эритроциты теряют свою гомогенность, становятся гетерогенными и гранулярными. Мембрана фагосомы встраивается в эритроцит и дегенерирующие остатки эритроцитов обнаруживаются в сложной путанице ходов («туннелизации»). Частицы ферритина собираются вдоль краев этого включения чуть ниже мембраны и затем проникают через мембрану в цитоплазму. Таким образом, макрофаги селезенки представлены разнообразными клетками, различающимися по цитофункциональным и ультраструктурным особенностям. Макрофаги красной пульпы характеризуются наличием в них крупных сидерофагосом, макрофаги белой пульпы практически не содержат их. Отличительной чертой макрофагов красной пульпы является

также их участие в образовании кровяных островков, где они включаются во взаимоотношения с эритроидными клетками на различных стадиях дифференциации.

3.7.1А.4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ КРАСНОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ

Макрофаги красной пульпы у мышей характеризуются фенотипом F4/80^{high}CD68⁺Integrin- α MCD11^{low}/– (Kohyama et al., 2009). Макрофаги красной пульпы с фенотипом F4/80⁺, CD206⁺ осуществляют клиренс стареющих эритроцитов и полиморфноядерных лейкоцитов, а также метаболизм железа (Gordon, Plüddemann, 2017). Как у мышей, так и у людей существуют макрофаги, экспрессирующие SIRP α . Взаимодействие этого рецептора с CD47 на функционально полноценных эритроцитах ингибирует фагоцитоз последних, но на стареющих, наоборот, приводит к их фагоцитозу (Burger et al., 2012). Полагают, что именно макрофаги красной пульпы селезенки способны к фагоцитозу IgG-опсонизированных эритроцитов через Fc γ Rs *ex vivo*. Они являются наиболее распространенными макрофагами в селезенке. Было продемонстрировано, что все макрофаги красной пульпы, кроме макрофагов с Fc γ RIIb, участвуют в фагоцитозе IgG-опсонизированных клеток крови (Nagelkerke et al., 2018). Гомеостаз железа может играть роль в развитии макрофагов. CD163-экспрессирующие макрофаги, являющиеся самой распространенной популяцией, участвуют в фагоцитозе старых эритроцитов и продуктов метаболизма железа (Kristiansen et al., 2001).

Свободный гем индуцирует транскрипционный фактор Spi-C, от которого зависит развитие макрофагов красной пульпы (Haldar et al., 2014; Gordon, Plüddemann, 2017). Важно отметить, что функция макрофагов красной пульпы зависит от цитокинов. Классические макрофаги M1 обладают способностью накапливать железо. Это поддерживает популяцию этих клеток в провоспалительных реакциях. С другой стороны, альтернативные M2-макрофаги имеют повышенную способность высвобождать железо, а повышенная доступность железа в микроокружении, по-видимому, способствует ремоделированию ткани (Recalcati et al., 2012).

- ***Резервные моноциты красной пульпы селезенки.***

Моноциты крови, проникая в разные ткани, дифференцируются либо в макрофаги, либо в дендритные клетки. Подобные процессы происходят и в разных зонах селезенки. Однако в определенной степени селезенка – исключение из общего правила, поскольку является резервуаром недифференцированных моноцитов, которые располагаются в субкапсулярной зоне красной пульпы. Причем, как считают, их количество в селезенке превышает число в циркулирующей крови. Полагают, что моноциты, рекрутированные из селезенки, участвуют в регуляции воспаления и регенерации.

В популяции моноцитов селезенки мышей клеток с фенотипом Ly-6C^{high} больше, чем Ly-6C^{low}. Обе субпопуляции обладают фагоцитарной активностью и способны *in vitro* дифференцироваться в макрофаги или дендритные клетки (Swirski et al., 2009). IL-1 β и фактор стволовых клеток увеличивают количество резидентных моноцитов в селезенке (Dutta et al., 2015).

3.7.1Б. МАКРОФАГИ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ

Лимфоидные фолликулы со светлыми центрами и периартериальные лимфоидные муфты представляют белую пульпу селезенки. Вместе с маргинальной зоной фолликулов белая пульпа составляет, по сути, лимфоидный орган, ответственный за иммуногенез, инициированный антигенами, распространяемыми кровотоком.

Макрофаги белой пульпы с фенотипом F4/80⁻, CD68⁺ осуществляют клиренс апоптотических В- и Т-лимфоцитов (Gordon, Plüddemann, 2017). Это происходит каждый раз, когда завершается иммуногенез в ответ на один антиген и инициируется новый иммуногенез на другой антиген. Морфологическим проявлением этого процесса являются макрофаги в светлых центрах лимфоидных фолликулов с наличием в цитоплазме апоптотических телец.

Рядом с белой пульпой и краевым синусом находятся металлофильные макрофаги, которые могут определять циркуляцию крови. Хотя их функция неизвестна, они могут быть важны при вирусных инфекциях и других инфекциях. Макрофаги в белой пульпе включают макрофаги с подвижными тельцами.

- *Макрофаги маргинальной и перифолликулярной зон селезенки.*

Локализация

Кроме собственно маргинальной зоны описывается наружная маргинальная зона (Gordon, Plüddemann, 2017). По-видимому, это морфофункциональная зона, которая обозначается как “перифолликулярная” и располагается между маргинальной зоной и красной пульпой (Steiniger et al., 2001). Перифолликулярная зона содержит покрытые оболочкой капилляры и заполненные кровью пространства без эндотелиальной выстилки (Steiniger et al., 2001). Макрофаги маргинальной зоны находятся рядом с краевым синусом (через который проходит кровообращение), и они экспрессируют рецепторы распознавания образов и рецепторы-поглотители, которые помогают в очистке от переносимых кровью патогенных веществ.

Большая часть макрофагов капиллярной оболочки перифолликулярной зоны имеет фенотип CD163⁻CD68⁺, что отличает их от большинства макрофагов красной пульпы.

Макрофаги CD169⁺ известны как металлофильные макрофаги маргинальной зоны.

3.7.1Б.1. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАКРОФАГОВ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ

Происхождение CD169⁺-макрофагов до конца непонятно. Считают, что они не происходят из предшественников желточного мешка. Для генерации макрофагов CD169⁺ необходимо присутствие В-клеток.

Восстановление популяции этих макрофагов после истощения происходит за счет моноцитов. Полагают, что макрофаги маргинальной зоны, содержащие антиген CD169⁺, участвуют в индукции как иммунных ответов, так и толерантности. Одной из функций макрофагов CD169⁺ является поглощение экзосом (Grabowska et al., 2018). Например, установлено, что экзосомы, источником которых являлась меланома B16F10, обнаруживаются в CD169⁺-макрофагах, дренирующих лимфатические узлы (Pucci et al., 2016).

3.7.1Б.2. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ

Популяция макрофагов маргинальной зоны гетерогенна. Полагают, что клетки с фенотипом MARCO+SIGN-R1⁻ располагаются в наружной маргинальной зоне (Gordon, Plüddemann, 2017; Pirgova et al., 2020).

Макрофаги, экспрессирующие SIGNR1, связаны с функциональным состоянием В-лимфоцитов герминальной зоны (Pirgova et al., 2020). Макрофаги маргинальной зоны играют центральную роль в фагоцитозе апоптотических клеток. Благодаря этому уменьшается вероятность развития аутоиммунного ответа на аутоантигены (McGaha et al., 2011).

В отличие от макрофагов капиллярной оболочки красной пульпы, макрофаги перифолликулярной зоны экспрессируют CD169 (Steiniger et al., 2014).

Макрофаги маргинальной и перифолликулярной зон с фенотипом CD169⁺ осуществляют клиренс микроорганизмов, антигенов, полисахаридов (Gordon, Plüddemann, 2017).

- *Дендритные клетки селезенки.*

Дендритные клетки селезенки происходят из ГС-клеток костного мозга и специализируются на презентации антигена. Помимо продуцирующих интерферон плазмцитоподобных дендритных клеток, селезенка содержит еще два классических подмножества дендритных клеток:

1) CD8 α +CD11b⁻, ответственных за утилизацию апоптотических клеток и перекрестную презентацию антигенов CD8⁺ Т-клеткам, и

2) CD8 α -CD11b⁺, преимущественно, обнаруживаемых в красной пульпе и маргинальной зоне, которые экспрессируют основные компоненты главного комплекса гистосовместимости и представляют антигены CD4⁺ Т-клеткам (Dudziak et al., 2007; Sancho et al., 2009). Клиренс клеток в состоянии апоптоза, включая дендритные клетки CD8 α ⁺, играет важную роль в индукции аутоотолерантности (Miyake et al., 2007).

Механизмы, которые определяют фенотипическую и функциональную гетерогенность дендритных клеток селезенки, затрагивают несколько молекулярных путей.

Макрофаги селезенки могут оказывать иммуносупрессорные и толерогенные эффекты. Популяция клеток-супрессоров миелоидного происхождения (MDSCs) характеризуется фенотипом CD11b+Gr1⁺, экспрессией иммуносупрессивных ферментов, таких как аргиназа-1 и индуцибельная синтаза оксида азота, продукцией активных форм кислорода, ингибированием пролиферации Т-клеток и продукции интерферона IFN- γ , а также подавлением активности противоопухолевых Т-клеток в естественных условиях. Полный спектр подавляющих функций клетки MDSCs могут приобретать не в селезенке, а при рекрутировании в очаги воспаления (Haverkamp et al., 2011).

MDSCs с фенотипом CD11b+Gr1+F4/80-CD11c⁻могут накапливаться в селезенке людей в процессе канцерогенеза плоскоклеточного рака кожи (Gabrilovich et al., 2012).

Макрофаги красной пульпы с фенотипом F4/80hiMac-1low могут предотвращать аутоиммунные реакции, продуцируя противовоспалительные цитокины, такие как TGF- β и IL-10. Они способны сдерживать чрезмерный иммунный ответ, индуцируя образование Treg-лимфоцитов (Kurotaki et al., 2011).

Полагают, что содержащие антиген CD169⁺ макрофаги маргинальной зоны взаимодействуют с дендритными клетками, что играет роль в индукции как иммунных ответов, так и толерантности (Grabowska et al., 2018). Фагоцитоз CD169⁺-макрофагами

клеток в состоянии апоптоза приводит к экспрессии хемокина CCL22. Это вызывает миграцию и активацию FoxP3⁺-Treg и дендритных клеток. Авторы полагают, что макрофаги, экспрессирующие CCL22, координируют клеточные взаимодействия, необходимые для развития толерантности, индуцируемой апоптотическими клетками (Ravishankar et al., 2014).

3.7.2. МАКРОФАГИ ТИМУСА

3.7.2.1. ЛОКАЛИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ ТИМУСА

Макрофаги - основная популяция клеток тимуса наряду с лимфоцитами и эпителиальными клетками. Они распределены, по-видимому, случайным образом по коре и в мозговом веществе.

3.7.2.2. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ ТИМУСА

Макрофаги тимуса проявляют все различные идентифицирующие характеристики, связанные с макрофагами организма, включая экспрессию высокого уровня белков МНС (Major histocompatibility complex) классов I и II. На их долю приходится не менее 99% положительности тимуса Ia. Макрофаги тимуса проявляют способность связывать лимфоциты тимуса, а в некоторых случаях данные связанные лимфоциты фагоцитируются. Это может привести к формированию «клеток-нянек». Макрофаги тимуса могут также вызывать созревание лимфоцитов тимуса, и исследования с макрофагами, не относящимися к тимусу, предполагают, что созревание, вызванное макрофагами, ограничено МНС. Различные взаимоотношения между лимфоцитами и макрофагами в тимусе предполагают, что взаимодействие между этими двумя типами клеток имеет решающее значение для созревания тимоцитов, создания ограничения МНС и выработки толерантности к некоторым аутоантигенам. Макрофаги, расположенные в кортико-медуллярной зоне тимуса, принимают участие в следующих процессах:

метаболизме, синтезе и производстве биоактивных липидов, вероятно метаболитов арахидоновой кислоты, в зависимости от их гистохимических и ферментно-гистохимических свойств;

в процессе отрицательного отбора лимфоцитов, который происходит в тимусе на основании их ультраструктурных особенностей и их реактивности после применения токсических или иммунодепрессивных/иммуномодулирующих агентов – таким образом обуславливают процесс иммунологической толерантности.

3.7.2.3. РОЛЬ МАКРОФАГОВ ТИМУСА В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

3.7.2.3.1. МАКРОФАГИ ТИМУСА И ХРОНИЧЕСКИЙ СТРЕСС

В группе животных, перенесших стресс, в ткани тимуса отмечались, прежде всего, сосудистые расстройства (отек соединительной ткани и полнокровие сосудов). Что касается изменений лимфоидной ткани, то они были выражены в разной степени в разных долях у одних и тех же особей. У всех животных экспериментальной группы также наблюдалась инверсия слоев, что типично для акцидентальной инволюции тимуса при стрессе. У части экспериментальных крыс данной группы отмечалось исчезновение инверсии слоев в отдельных долях тимуса (с истощением не только мозгового, но и коркового слоя тимуса), что проявлялось обеднением слоев клетками лимфоидного ряда и исчезновением четких границ между слоями (рис. 59-60). В мозговом и корковом слоях тимуса

визуализировались участки гибели лимфоцитов. В тимусе крыс, перенесших стресс, отмечается снижение количества макрофагов по сравнению с контрольной группой. Кроме того, отмечается сглаживание кортико-медуллярной границы в результате снижения количества кортикальных лимфоцитов (рис. 59-60).

Таблица 4 Количество макрофагов тимуса в условиях стресса

№ п/п	Группа животных	Количество макрофагов ($M \pm m$) (у.ед.)
1.	Контроль	$32,7 \pm 2,4$
2.	Стресс	$21,6 \pm 1,03$ $p \leq 0,05$

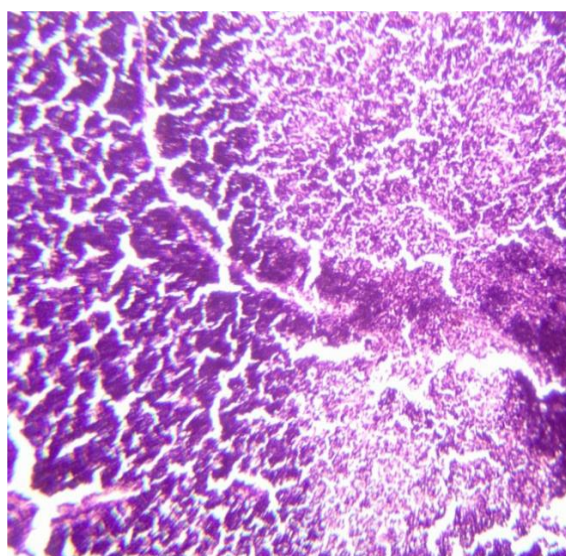


Рис. 59 Тимус, контроль. Окр. гематоксилин-эозином. Ув. x 100

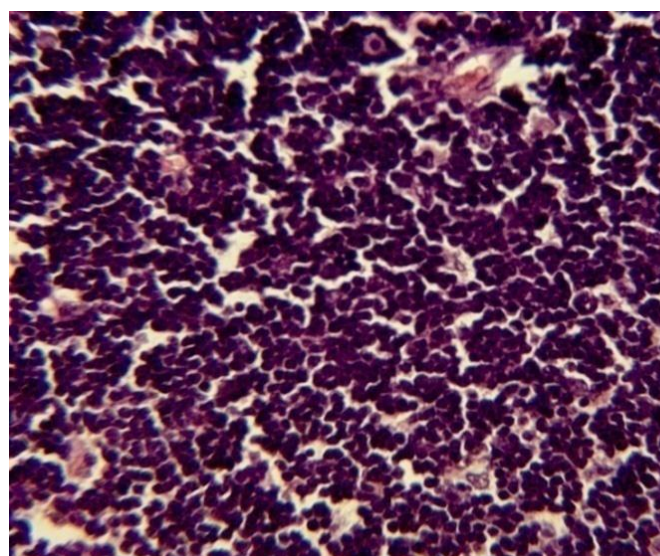


Рис. 60 Тимус, стресс. Окр. гематоксилин-эозином. Ув. x 400

Таким образом, хронический психоэмоциональный стресс оказывает пагубное воздействие на «иммунный гомеостаз» селезенки и тимуса, снижая не только общее количество макрофагов, но и приводя к различным структурным изменениям паренхимы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Агапов Е.Г. Влияние оксида азота на функционирование гломерулярного мезангиума и его значение в патогенезе гломерулонефрита / Е.Г. Агапова, В.Н. Лучанинова / Нефрология. 2002. Том 6. № 1.
2. Голохваст К.С. АЛЬВЕОЛЯРНЫЙ МАКРОФАГ (КРАТКИЙ ОБЗОР) /К.С. ГОЛОХВАСТ, В.В.ЧАЙКА/ Вестник новых медицинских технологий – 2011. Т. XVIII, №2 – С. 24
3. Дойдоян Л.С. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МАКРОФАГОВ СЕЛЕЗЕНКИ И ТИМУСА КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ХРОНИЧЕСКИЙ СТРЕСС / Аракелян Г.Г., Сароян М.Ю., Худавердян Д.Н., Торгомян А.Л. / ԲԺՇԿՈՒԹՅՈՒՆ, ՉԻՏՈՒԹՅՈՒՆ ԵՎ ԿՐԹՈՒԹՅՈՒՆ ՆՈՅԵՄԲԵՐ 2021.
4. Ельчанинов, А. В. Макрофаги / А. В. Ельчанинов, Т. Х. Фатхудинов. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2023. — 208 с.: ил. — DOI: 10.33029/9704-7780-9-ЕАМ-2023-1-208.
5. Лохонина А.В. Морфофункциональная характеристика макрофагов эмбрионального и моноцитарного происхождения/ А.В. Лохонина, А.В. Ельчанинов, И.В. Арутюнян, А.С. Покусаев, А.В. Макаров, И.З. Еремина, В.В. Суровцев, Г.Б. Большакова, Д.В. Гольдштейн, Т.Х. Фатхудинов / Гены & Клетки Том XIII, № 2, 2018. С. 56-62.
6. Сарбаева Н.Н. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами / Н.Н. Сарбаева, Ю.В. Пономарева, М.Н. Милякова / Гены & клетки Том XI, № 1, 2016. С. 9-17.
7. Цыркунов В.М. КЛИНИЧЕСКАЯ ЦИТОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ: КЛЕТКИ КУПФЕРА /Цыркунов В. М., Андреев В. П., Кравчук Р. И., Прокопчик Н. И. / Журнал Гродненского государственного медицинского университета – 2017. Том 15(4).
8. Чеснокова Н.П. ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ, ФУНКЦИИ И МЕТАБОЛИЗМА МОНОЦИТОВ КРОВИ И МОНОНУКЛЕАРНО-ФАГОЦИТИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ТКАНЕЙ/ Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Невважай Т.А., Жевак Т.Н., Бизенкова М.Н. / INTERNATIONAL JOURNAL OF APPLIED AND FUNDAMENTAL RESEARCH № 3, 2015.
9. Чурина Е.Г., Ситникова А.В., Уразова О.И., Чумакова С.П., Винс М.В., Береснева А.Е., Новицкий В.В. Макрофаги при бактериальных болезнях легких: фенотип и функции (обзор). Бюллетень сибирской медицины. 2019; 18 (1): 142–154. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-142-154>.
10. Chen Varol, Alexander Mildner and Steffen Jung. Macrophages: Development and Tissue /Specialization Article in Annual Review of Immunology / March 2015.
11. Gordon S, Taylor PR Monocyte and macrophage heterogeneity. Nat Rev Immunol 5:953-964.
12. Slava Epelman, Kory J. Lavine, and Gwendalyn J. Randolph. Origin and Functions of Tissue Macrophages / Immunity. - July 2014