

Роль молекулярных механизмов в регуляторных функциях респираторных макрофагов

О.А. Яковлева¹, д.мед.н., профессор, заведующая кафедрой,

А.О. Жамба¹, к.мед.н., доцент,

М.А. Кривуша¹, магистр,

О.Ю. Крикус¹, ассистент,

К.П. Блиндур¹, старший лаборант,

Д.С. Лушников², начальник отделения, подполковник медицинской службы,

¹ кафедра клинической фармации и клинической фармакологии Винницкого национального медицинского университета имени Н.И. Пирогова,

² Военно-медицинский клинический центр Центрального региона

Легкие – орган с многочисленными функциями – газообмена, метаболической регуляции, иммунного ответа – включают значительное число различных по морфологическому строению клеточных элементов. Среди них **альвеолярные макрофаги** (АМ) занимают особое положение в силу разнонаправленных регуляторных реакций. Поэтому интерес к этим клеткам не ослабевает, постоянно дополняется новая научная информация с применением современных технологий [22] в экспериментальных, молекулярных и клинических аспектах [15, 18].

Как было отмечено ранее В.В. Ерохиным (1987) [2], пограничное расположение легких между внутренними средами и находящимися во вдыхаемом воздухе чужеродными веществами, микроорганизмами обуславливает необходимость совершенной защитной системы, которая должна их распознать при взаимодействии с альвеолярным эпителием [20], дендритными клетками [18, 22] и Т-клетками через сеть рецепторов [7, 9, 13, 19], а также хемокинов-цитокинов. Поэтому защитные элементы расположены на всем протяжении дыхательного тракта, а «чужое» удаляется благодаря мукоциллиарному клиренсу в бронхах. Но в нижних респираторных отделах защита представлена преимущественно АМ, они могут составлять до 95% в здоровых легких человека или мышей [12, 15]. АМ колонизируют дыхательные пути вскоре после рождения; они развиваются из эмбриональных костномозговых моноцитов за 2 недели (хотя механизм их трансформации

не ясен) [12], а также мигрируют из легочной интерстициальной ткани [14]. АМ активно функционируют на альвеолярной поверхности (в альвеоле человека может находиться до 48 макрофагов); срок их жизни составляет от нескольких месяцев до двух лет.

Различают 2 пула онтологически гетерогенных альвеолярных макрофагов – происходящих из костномозговых моноцитов и приходящих в легкие из циркулирующих моноцитов [14, 24] в ответ на повреждение. На сегодня молекулярные основы их дифференциации и различия между ними еще не совсем понятны [26]. Моноциты покидают сосудистое русло путем диапедеза, они циркулируют в крови 12-24 ч, а в тканях превращаются в специфические макрофаги. Однако альвеолярным макрофагам свойственно чудесное свойство – самовосстановление, их пул может пополняться из циркулирующих моноцитов, если имело место их разрушение или истощение после облучения или инфекции [24, 25, 27].

Особенностями АМ считают хорошо развитую ультраструктуру, активный внутриклеточный метаболизм [2] и значительную гетерогенность [2]. На поверхности альвеол АМ своей базальной поверхностью тесно прилегают к плазмалемме эпителиоцитов, а апикальной – к сурфактанту. Т. е. они формируют как бы дополнительную клеточную выстилку альвеол, функционируют при высоком напряжении кислорода, с активными митохондриями. Диаметр зрелых АМ – 30-55 мкм, он зависит от их функциональной активности.

К необычным свойствам макрофагов относят и уникальный набор *специфических рецепторов* [15]: CD11с (интегрин), который экспрессируется только в макрофагах слизистой оболочки кишечника, SiglecF – описанный ранее на эозинофилах [22], и Axl – не найденный в других популяциях макрофагов [8, 9]. На мембране АМ расположены высокоспецифичные рецепторы к иммуноглобулинам, компонентам комплемента, лимфокинам, опсонином [5].

Высокая фагоцитарная активность – основная функция «профессиональных» АМ, она отражается даже в покое наличием на их поверхности складок, мелких инвагинаций клеточной мембраны [2]. Внутриклеточные включения относят к лизосомоподобным структурам с рядом гидролитических ферментов, которые мобилизуются в ответ на раздражающий фактор. При их дефиците роль легких в развитии болезней накопления становится существенной. Спектр фагоцитарной функции АМ очень широк: они способны поглощать пылевые частицы при пневмокониозах, эритроциты, вирусы, антигены (и представлять их Т-лимфоцитам), бактерии; инактивировать биогенные амины, гормоны, иммунные комплексы и даже апоптозные клетки. Растворимые макромолекулы поглощаются путем пиноцитоза, частицы более 1 мкм – путем фагоцитоза [4, 5].

Тормозящее воздействие на эту функцию оказывает гипероксия, озон (через активные формы кислорода, липоперекиси), а также вирусы [5]. Отчетливо доказана агрессивная роль курения: для злостных курильщиков типичны крупные АМ (более 80 мкм в диаметре) с тремя ядрами, с увеличенным объемом цитоплазмы и «включениями курильщика», например, частицами табачной смолы [3]. Это обусловлено негативным влиянием сигаретного дыма на АМ через блокаду внутриклеточного цГМФ, подавление функции микротрубочек, энергодефицит АТФ, нарушение инактивации лейкотриенов.

Секреторная активность макрофагов чередуется с функцией фагоцитоза, базируется на развитой структуре элементов гладкой цитоплазматической сети и везикул пластинчатого комплекса. При секреторной активности диаметр АМ возрастает до 25-40 мкм, на них появляются многочисленные микровыросты; содержание АМ в смывах при бронхоальвеолярном лаваже достигает 4-8%. Список продуктов, секретируемых АМ, превышает несколько десятков; литический потенциал представлен протеазами, фосфолипазами, рибонуклеазой, лизоцимом; все клеточные элементы синтезируют простагландины, лейкотриены, интерлейкины, интерфероны [5].

Метаболизм жирных кислот (арахидоновой) способствует синтезу липидных витаминов и медиаторов (витамин Е, факторы роста, активаторы фибробластов и тромбоцитов) по принципу саморегуляции. Избыток метаболического «топлива» депонируется в виде нерастворимого нейтрально-

го жира в ограниченных мембраной гранулах диаметром 1,2-1,6 мкм.

Обмен сурфактанта. Реакция сурфактантной системы на различные агрессивные факторы одностипна – ее ранним проявлением является избыточный синтез сурфактанта с одновременным его накоплением в АМ, затем АМ мигрируют под влиянием белковых компонентов сурфактантной системы (или происходит «окутывание» нерастворимых частиц фосфолипопротеидами с последующим их захватом АМ). Такие механизмы особенно актуальны при липофильных лекарственных накопительных фосфолипидозах (в ответ на амиодарон, пропранолол и др.) ([1, 3]. Катаболизм фосфолипопротеидов сурфактантов – ультраструктурный маркер зрелых АМ [3]. Эти реакции реализуются через специфические рецепторы, определяющие сродство к липопротеидным комплексам. Генетически обусловленный дефицит гранулоцитарного макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) или его рецептора снижает способность АМ к очищению от сурфактантных протеинов и ведет к легочному альвеолярному протеинозу [12, 16].

К общим *метаболическим чертам* всех разновидностей макрофагов в легких (альвеолярных, бронхиальных, плевральных) относят следующие [3]:

- главный биоэнергетический процесс в них – окислительное фосфорилирование;
- высокая активность антиоксидантных ферментов;
- отсутствие в них миелопероксидазы;
- основной бактерицидный потенциал представлен гидролитическими ферментами;
- высокая поглотительная способность;
- секреция биологически активных веществ липидной природы.

Особый интерес вызывает то, что эти сторожевые клетки должны «выбирать» между противоречивыми ответами, которые определяются потребностями тканей на определенный момент: или это воспалительная реакция на патоген, или противовоспалительная реакция при очищении с участием апоптозных клеток, измененных деградировавших компонентов внеклеточного матрикса. Эти функции выборочно «настроены» на ответ через окружающее воздушное микропространство [20]. Последнее очень богато на растворимые регуляторные медиаторы: GM-CSF [12], интерлейкин-10, трансформирующий фактор роста (transforming growth factor β , TGF- β), который ингибирует иммунный ответ превентивной активации медиаторов дендритных клеток, а также белок сурфактанта, контакт-зависимый иммунный регуляторный сигнал (CD200) [12, 16] и др.

Активация АМ должна хорошо регулироваться, чтобы предотвратить нежелательный иммунный ответ на неагрессивные ингалируемые антигены. Такая регуляция реализуется двумя способами – через растворимые факторы в просвете дыхательных путей или через межклеточные взаимодей-

ствия [15, 18, 20]. В физиологических условиях здоровых бронхов преобладает второй способ – взаимодействие между АМ и респираторными эпителиальными клетками (включая бронхиальный эпителий), а также между альвеолоцитами I или II типа, которые сами могут привнести спектр иммуномодулирующих влияний.

Хотя среди фенотипов *бронхиальной астмы* выделяют макрофагальный вариант, его молекулярные механизмы остаются сложными: АМ специфически активируются аллергенами через IgE-зависимые механизмы или через липополисахариды грамотрицательной микрофлоры, с выходом лейкотриенов B₄, D₄, тромбоцитарного фактора, с гиперреактивностью бронхов, но главное их отличие – отсутствие ответа на адренокортикоиды, что позволяет относить этот фенотип к тяжелым вариантам течения астмы. Не исключается и стимуляция АМ гистамином тучных клеток, так как на макрофагах есть рецепторы к нему. Функционально при астме обнаруживают снижение супрессорной активности АМ и активацию фагоцитоза при поглощении антигена [5].

Ответ макрофагов на вирусную инфекцию. Взаимосвязь вирусной агрессии и вторичной бактериальной флоры в легких (называемая суперинфекцией) прежде всего была замечена при хорошо известных эпидемиях гриппа [10]. Еще в 1918 г., во время эпидемии «испанки», патолого-анатомически было доказано, что более 98% смертей зависели от суперинфекции бронхиальной флоры. Аналогично, в 1957 г. при «азиатском гриппе» стало понятно, что частота суперинфекции может достигать 20% и быть основной причиной повышенной смертности [21, 23]. В пандемии гриппа H1N1 2009 г. вторичные случаи инфицирования составляли 20-41% смертельных исходов [6]. При сезонных вариантах гриппа с бактериальной респираторной инфекцией, особенно у детей, частота госпитализаций возрастает до 40% [11].

При очевидных клинических результатах взаимодействия макрофагов с вирусами его механизмы остаются малоизвестными. Возможно, это негативный вариант взаимодействия АМ и эпителия бронхов [20]. Увеличивается уровень рецепторов CD200R (contact-dependent immune regulator) на АМ и содержание интерлейкина-10 – молекул, которые отвечают за ингибирующие сигналы, – что приводит к повышенной восприимчивости к бактериальной инфекции (такие механизмы также могут включаться и при астме [13]); гиперпродукция интерферона- γ и интерферона I типа при гриппе угнетает фагоцитоз бактерий в АМ. Ответ АМ через Toll-подобный рецептор ограничен в течение еще нескольких месяцев после действия вируса, и это ассоциируется со снижением уровня транскрипционного фактора NF- κ B [7].

Следующий аспект процессов, связанных с воспалением в легких, обусловлен необходимостью удаления апоптозных клеток до развития в них

вторичного некроза. За эти сложные реакции отвечает семейство рецепторов тирозинкиназы – Tyro3, AXL [8, 9], MerTK (рецепторы TAM) [19], благодаря которым происходит узнавание фосфатидилсерина в апоптозных клетках при помощи молекулы белка S и остановки роста белка GAS-6 (growth arrest specific protein 6) [8]. Рецепторы TAM экспрессируются на фагоцитах [19] и угнетают воспаление в апоптозных клетках при помощи обратной связи (ингибируя цитокины и сигнализацию на Toll-подобных рецепторах) [7, 26].

В работе, опубликованной в журнале «European Respiratory Review», M. Kaur et al. (2015) [17] предлагают несколько новых концепций для функции рецептора TAM:

- у здоровых лиц AXL экспрессируется исключительно в АМ при высоких уровнях GM-CSF;
- при отсутствии AXL в моноцит-зависимых макрофагах (MDMs) можно индуцировать экспрессию AXL с помощью GM-CSF;
- в отличие от AXL, связывающая молекула GAS-6 экспрессируется исключительно в макрофагах CSF-MDMs.

Следовательно, макрофаги также экспрессируют AXL или продуцируют GAS-6 [8]. Возможно, в некоторых подвидах макрофагов существует функциональная дихотомия, и только макрофаги, секретирующие AXL, могут быть угнетены при реализации противобактериального ответа [17].

Еще один общий для воспалительных реакций в легких процесс реализуется через повреждение или регенерацию внеклеточного матрикса. Поврежденный матрикс выделяет сигналы для окружающих клеток с целью ускорения защиты, но при его дисрегуляции избыточная продукция компонентов (гиалуроновой кислоты), возможно, приводит к аутоиммунным реакциям, хронизации воспаления и готовности макрофагов к следующему обострению [17].

Очевидно, что понимание молекулярных механизмов адаптации макрофагов в воздухоносных путях важно для поиска абсолютно новых путей и мишеней фармакологической коррекции на уровне макроорганизма человека.

Список литературы

1. Гаврилова Е.В., Яковлева О.А. Биохимические аспекты динамики аминокислот при экспериментальной кордароновой пневмонии // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 58-59.
2. Ерохин В.В. Функциональная морфология респираторного отдела легких. – М.: Медицина, 1987. – 272 с.
3. Клеточная биология легких в норме и при патологии: Руководство для врачей / Под ред. В.В. Ерохина. Л.К. Романовой. – М.: Медицина, 2000. – 496 с.
4. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление / АМН СССР. – М.: Медицина, 1991. – 272 с.
5. Яковлев М.Ю., Зубайрова Л.Д., Крупник А.Н., Пермяков Н.К. Альвеолярные макрофаги в физиологии и патологии легких // 1991. – № 4. – С. 3-8
6. Bautista E., Chotpitayasonondh T., Gaj Z. et al. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. N Engl J Med. 2010; 362: 1708-1719.
7. Didierlaurent A., Goulding J., Patel S. et al. Sustained desensitization to bacterial Toll-like receptor ligands after resolution of respiratory influenza infection. J Exp Med. 2008; 205: 323-329.

8. Ekman C., Linder A., Akesson P. et al. Plasma concentrations of Gas6 (growth arrest specific protein 6) and its soluble tyrosine kinase receptor sAxl in sepsis and systemic inflammatory response syndromes. *Crit Care*. 2010; 14: R158.
9. Fujimori T., Grabiec A.M., Kaur M. et al. The Axl receptor tyrosine kinase is a discriminator of macrophage function in the inflamed lung. *Mucosal Immunol* 2015 [In press DOI: 10.1038/mi.2014.129].
10. Ghoneim H.E., Thomas P.G., McCullers J.A. Depletion of alveolar macrophages during influenza infection facilitates bacterial superinfections. *J Immunol*. 2013; 191: 1250-1259.
11. Gordon S.B., Read R.C. Macrophage defences against respiratory tract infections: the immunology of childhood respiratory infections. *Br Med Bull*. 2002; 61: 45-61.
12. Guillemins M., De Kleer I., Henri S. et al. Alveolar macrophages develop from fetal monocytes that differentiate into long-lived cells in the first week of life via GM-CSF. *J Exp Med*. 2013; 210: 1977-1992.
13. Habibzay M., Saldana J.I., Goulding J. et al. Altered regulation of Toll-like receptor responses impairs antibacterial immunity in the allergic lung. *Mucosal Immunol*. 2012; 5: 524-534.
14. Hashimoto D., Chow A., Noizat C. et al. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. *Immunity* 2013; 38: 792-804.
15. Hussell T., Bell T.J. Alveolar macrophages: plasticity in a tissue-specific context. *Nat Rev Immunol*. 2014; 14: 81-93.
16. Janssen W.J., McPhillips K.F., Dickinson M.G. et al. Surfactant proteins A and D suppress alveolar macrophage phagocytosis via interaction with SIRPa. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008; 178: 158-167.
17. Kaur M., Bell Th., Salek-Ardakani S., Hussel T. Macrophage adaptation in airway inflammatory resolution // *Eur. Respir. Rev*. 2015; 24 (137): 510-515.
18. Kopf M., Shneider C., Nobs S.P. The development and function of lung-resident macrophages and dendritic cells. *Nat Immunol*. 2015; 16: 36-44.
19. Lemke G., Rothlin C.V. Immunobiology of the TAM receptors. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8: 327-336.
20. Mayer A.K., Bartz H., Fey F. et al. Airway epithelial cells modify immune responses by inducing an anti-inflammatory microenvironment. *Eur J Immunol*. 2008; 38: 1689-1699.
21. McCullers J.A., Rehg J.E. Lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor. *J Infect Dis*. 2002; 186: 341-350.
22. Misharin A.V., Morales-Nebreda L., Mutlu G.M., et al. Flow cytometric analysis of macrophages and dendritic cell subsets in the mouse lung. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2013; 49: 503-510.
23. Morens D.M., Taubenberger J.K., Fauci A.S. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *J Infect Dis*. 2008; 198: 962-970.
24. Saeed S., Qutin J., Kerstens H.H. et al. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity. *Science*. 2014; 345: 1251086.
25. Savyer R.T., Strausbauch P.H., Volkman A. Resident macrophage proliferation in mice depleted of blood monocytes by strontium-89. *Lab Invest*. 1982; 46: 165-170.
26. Schneberger D., Aharonson-Raz K., Singh D. Monocyte and macrophage heterogeneity and Toll-like receptors in the lung. *Cell Tissue Res*. 2011; 343: 97-106.
27. Yona S., Kim K.W., Wolf Y. et al. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and macrophages under homeostasis. *Immunity*. 2013; 38: 79-91.