

МАКРОФАГ

многоликий и вездесущий

Сто тридцать лет назад замечательный русский исследователь И.И. Мечников в опытах на личинках морских звезд из Мессинского пролива сделал удивительное открытие, круто изменившее не только жизнь самого будущего Нобелевского лауреата, но и перевернувшее тогдашние представления об иммунной системе.

Втыкая в прозрачное тело личинки розовый шип, ученый обнаружил, что занозу окружают и атакуют крупные амeboидные клетки. И если чужеродное тело было небольшим, эти блуждающие клетки, которые Мечников назвал фагоцитами (от греч. *Фаγος* – пожиратель), могли полностью поглотить пришельца. Долгие годы считалось, что фагоциты выполняют в организме функции «войск быстрого реагирования». Однако исследования последних лет показали, что благодаря своей огромной функциональной пластичности эти клетки еще и «определяют погоду» многих метаболических, иммунологических и воспалительных процессов, как в норме, так и при патологии. Это делает фагоциты перспективной мишенью при разработке стратегии лечения ряда тяжелых заболеваний человека

Ключевые слова: макрофаг, липидные сенсоры, фенотип, фармакологическая стратегия.
Key words: macrophage, lipid sensors, phenotype, pharmacological strategy

© М.И. Душкин, 2012

ДУШКИН Михаил Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярно–клеточных механизмов терапевтических заболеваний Института терапии СО РАМН (Новосибирск). Автор и соавтор более 100 научных работ и 3 патентов



Подвижные клетки иммунной системы – фагоциты или макрофаги, присутствуют практически во всех тканях организма. Они осуществляют активный захват, переваривание и обезвреживание чужеродных микроорганизмов (вирусов, бактерий, одноклеточных, паразитов), а также утилизацию биологического «мусора», такого как «невысвобожденные» и погибшие клетки (например, «стареющие» эритроциты).

В зависимости от своего микроокружения тканевые макрофаги могут выполнять и различные специализированные функции. Например, макрофаги костной ткани – остеокласты, также занимаются выведением из кости гидроксиапатита кальция. При недостаточности этой функции развивается мраморная болезнь – кость становится чрезмерно уплотненной и при этом хрупкой.

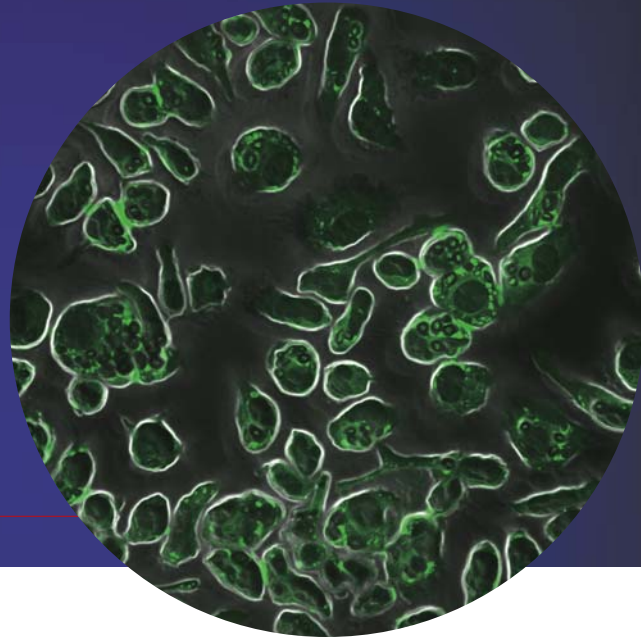
Но самым, пожалуй, удивительным свойством макрофагов оказалась их огромная пластичность, т.е. способность изменять свою транскрипционную программу («включение» тех или иных генов) и свой облик (фенотип). Следствием этой особенности является высокая разнородность клеточной популяции макрофагов, среди которых присутствуют не только «агрессивные» клетки, встающие на защиту организма-хозяина; но и клетки с «полярной» функцией, отвечающие за процессы «мирного» восстановления поврежденных тканей.

Липидные «антенны»

Своей потенциальной «многоликостью» макрофаг обязан необычной организации генетического материала – так называемому открытому хроматину. Этот не до конца изученный вариант структуры клеточного генома обеспечивает быстрое изменение уровня экспрессии (активности) генов в ответ на различные стимулы.

Выполнение макрофагом той или иной функции зависит от характера получаемых им стимулов. Если стимул будет распознан как «чужой», то происходит активация тех генов (и соответственно функций) макрофага, которые направлены на уничтожение «пришельца». Однако макрофаг могут активировать и сигнальные молекулы самого организма, которые побуж-

Так выглядят под флуоресцентным микроскопом макрофаг/пенистые клетки, полученные при введении бактериального полисахарида. Зеленые липидные включения, окрашенные специальным красителем, могут занимать более половины клеточной цитоплазмы



дают эту иммунную клетку участвовать в организации и регуляции обмена веществ. Так, в условиях «мирного времени», т. е. при отсутствии патогена и обусловленного им воспалительного процесса, макрофаги участвуют в регуляции экспрессии генов, отвечающих за метаболизм липидов и глюкозы, дифференцировку клеток жировой ткани.

Интеграция между взаимоисключающими «мирным» и «военным» направлениями работы макрофагов осуществляется путем изменения активности рецепторов клеточного ядра, представляющих собой особую группу регуляторных белков.

Среди этих ядерных рецепторов следует особо выделить так называемые липидные сенсоры, т. е. белки, способные взаимодействовать с липидами (например, окисленными жирными кислотами или производными холестерина) (Смирнов, 2009). Нарушение работы этих чувствительных к липидам регуляторных белков в макрофагах может быть причиной системных обменных нарушений. Например, дефицит в макрофагах одного из этих ядерных рецепторов, обозначаемых

как PPAR-гамма, приводит к развитию диабета 2 типа и дисбалансу липидного и углеводного обмена во всем организме.

Клеточные метаморфозы

В разнородном сообществе макрофагов на основе базовых характеристик, определяющих их принципиальные функции, выделяют три основных клеточных субпопуляции: макрофаги M1, M2 и Mox, которые участвуют, соответственно, в процессах воспаления, восстановления поврежденных тканей, а также защите организма от окислительного стресса.

«Классический» макрофаг M1 формируется из клетки-предшественника (моноцита) под действием каскада внутриклеточных сигналов, запускающихся после распознавания инфекционного агента с помощью специальных рецепторов, расположенных на поверхности клетки.

Образование «пожирателя» M1 происходит в результате мощной активации генома, сопровождаемой

активацией синтеза более чем сотни белков – так называемых факторов воспаления. К ним относятся ферменты, способствующие генерации свободных радикалов кислорода; белки, привлекающие в очаг воспаления другие клетки иммунной системы, а также белки, способные разрушать оболочку бактерий; воспалительные цитокины – вещества, обладающие свойствами активировать иммунные клетки и оказывать токсическое действие на остальное клеточное окружение. В клетке активируется фагоцитоз и макрофаг начинает активно разрушать и переваривать все, что встретится на его пути (Шварц, Свистельник, 2012). Так появляется очаг воспаления.

Однако уже на начальных этапах воспалительного процесса макрофаг M1 начинает активно секретировать и противовоспалительные субстанции – низкомолекулярные липидные молекулы. Эти сигналы «второго эшелона» начинают активировать вышеупомянутые липидные сенсоры в новых «рекрутах»-моноцитах, прибывающих в очаг воспаления. Внутри клетки запускается цепь событий, в результате которых активирующий сигнал поступает на определенные регуляторные участки ДНК, усиливая экспрессию генов, отвечающих за гармонизацию обмена веществ и одновременно подавляя активность «провоспалительных» (т. е. провоцирующих воспаление) генов (Душкин, 2012).

Так в результате альтернативной активации образуются макрофаги M2, которые завершают воспалительный процесс и способствуют тканевому восстановлению. Популяцию M2 макрофагов можно, в свою очередь, раз-

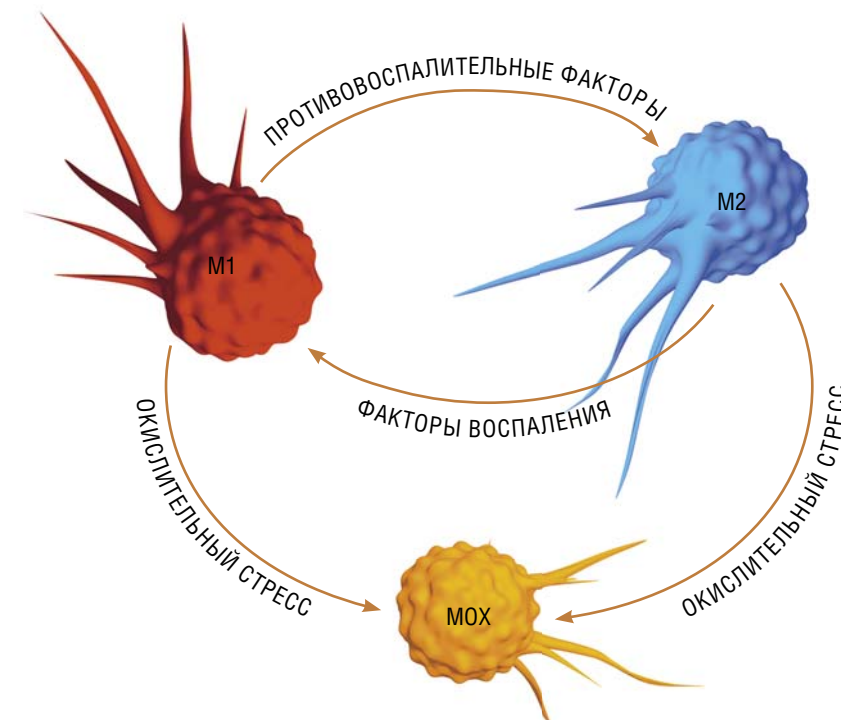
делить на группы в зависимости от их специализации: уборщики мертвых клеток; клетки, участвующие в реакции приобретенного иммунитета, а также макрофаги, секретирующие факторы, которые способствуют замещению погибших тканей соединительной тканью.

Еще одна группа макрофагов – Mox, формируется в условиях так называемого окислительного стресса, когда в тканях возрастает опасность повреждения их свободными радикалами. Например, Mox составляют около трети всех макрофагов атеросклеротической бляшки. Эти иммунные клетки не только сами устойчивы к повреждающим факторам, но и участвуют в антиоксидантной защите организма (Gui *et al.*, 2012).

Пенистый камикадзе

Одной из самых интригующих метаморфоз макрофага является его превращение в так называемую пеннистую клетку. Такие клетки были обнаружены в атеросклеротических бляшках, а свое название получили из-за специфического внешнего вида: под микроскопом они напоминали мыльную пену. По сути, пеннистая клетка – это тот же макрофаг M1, но переполненный жировыми включениями, преимущественно состоящими из водонерастворимых соединений холестерина и жирных кислот.

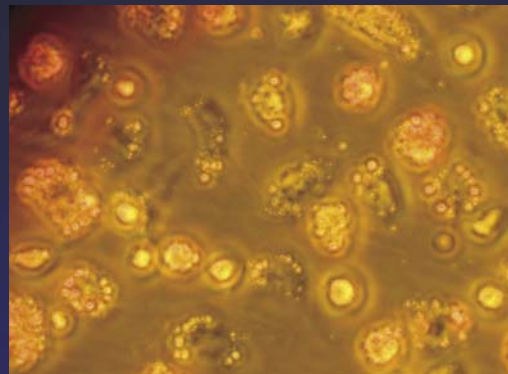
Была высказана гипотеза, ставшая общепринятой, что пеннистые клетки образуются в стенке атеросклеротических сосудов в результате неконтролируемого поглощения макрофагами липопротеинов низкой



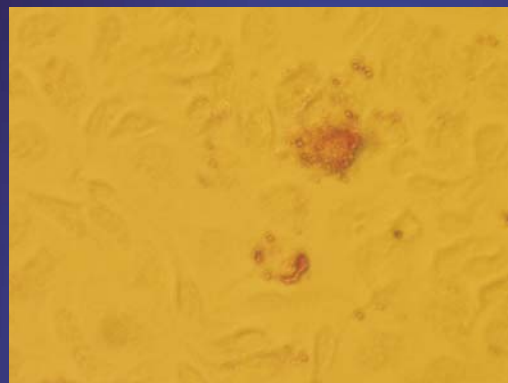
В зависимости от своего микроокружения макрофаги могут радикально менять свой фенотип, каждый раз исполняя в прямом смысле «полярные» функции. M1 макрофаги защищают организм от инфекционных агентов, M2 курируют процессы восстановления поврежденных тканей, а Mox макрофаги участвуют в антиоксидантной защите организма

ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ

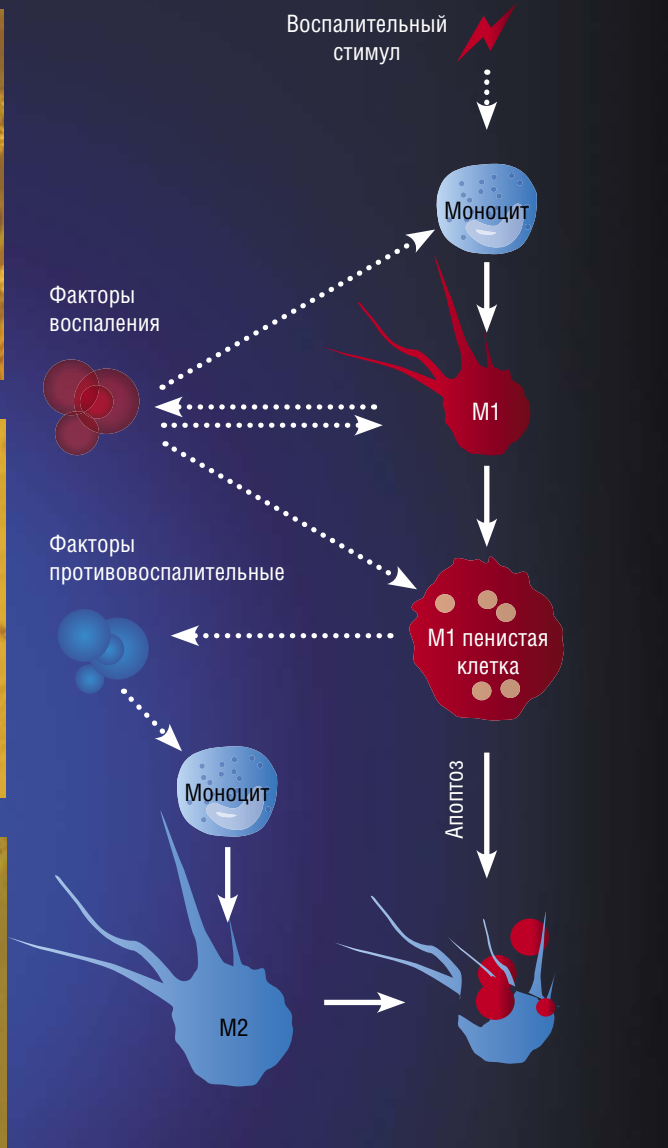
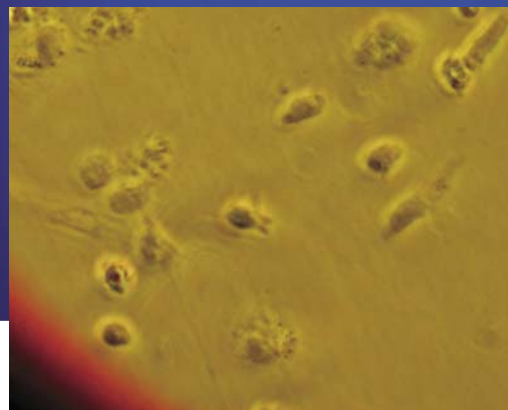
I. Присутствует большое число макрофагов, в том числе пенистые клетки



II. Число пенистых клеток уменьшается



III. Пенистые клетки отсутствуют



Макрофаги образуются из клеток-предшественников (моноцитов) уже в самые первые часы воспаления, вызванного определенным стимулом (например, бактерией). Макрофаги M1 и пеннистые клетки начинают продуцировать провоспалительные факторы и кислородные метаболиты и активно захватывать «чужеродные» молекулы. На 1—3-е сутки воспалительного процесса пеннистые клетки начинают секретировать противовоспалительные факторы, которые активируют липидные сенсоры моноцитов, мигрирующих из русла крови в очаг воспаления. Так образуются макрофаги M2. Сами пеннистые клетки погибают в ходе запрограммированной клеточной смерти (апоптоза) и поглощаются макрофагами M2. Это сигнал о завершении воспаления (5-е сутки). На фото – фазово-контрастная микроскопия клеток, полученных из перитонеальной полости мышей при воспалении

плотности, переносящих «плохой» холестерин. Однако впоследствии было обнаружено, что накопление липидов и драматическое (в десятки раз!) возрастание скорости синтеза ряда липидов в макрофагах можно спровоцировать в эксперименте только лишь одним воспалением, без всякого участия липопротеинов низкой плотности (Душкин, 2012). Это предположение подтвердилось клиническими наблюдениями: оказалось, что превращение макро-

фагов в пеннистую клетку происходит при разнообразных заболеваниях воспалительной природы: в суставах – при ревматоидном артрите, в жировой ткани – при диабете, в почках – при острой и хронической недостаточности, в ткани мозга – при энцефалитах. Однако понадобилось около двадцати лет исследований, чтобы понять, как и зачем макрофаг при воспалении превращается в клетку, нафаршированную липидами.

Оказалось, что активация провоспалительных сигнальных путей в M1 макрофагах приводит к «выключению» тех самых липидных сенсоров, которые в нормальных условиях контролируют и нормализуют липидный обмен (Душкин, 2012). При их «выключении» клетка и начинает накапливать липиды. При этом образующиеся липидные включения представляют собой вовсе не пассивные жировые резервуары: входящие в их состав липиды обладают способностью усиливать воспалительные сигнальные каскады. Главная цель всех этих драматических изменений – любыми средствами активировать и усилить защитную функцию макрофага, направленную на уничтожение «чужих» (Melo, Drogak, 2012).

Однако высокое содержание холестерина и жирных кислот дорого обходится пеннистой клетке – они стимулируют ее гибель путем апоптоза, запрограммированной клеточной смерти. На внешней поверхности мембраны таких «обреченных» клеток обнаруживается фосфолипид фосфатидилсерин, в норме расположенный внутри клетки: появление его снаружи является своеобразным «похоронным звоном». Это сигнал «съешь меня», который воспринимают M2 макрофаги. Поглощая апоптотные пеннистые клетки, они начинают активно секретировать медиаторы заключительной, восстановительной стадии воспаления.

Фармакологическая мишень

Воспаление как типовой патологический процесс и ключевое участие в нем макрофагов является, в той или иной мере, важной составляющей в первую очередь инфекционных заболеваний, вызванных различными патологическими агентами, от простейших и бактерий до вирусов: хламидиальные инфекции, туберкулез, лейшманиоз, трипаносомоз и др. Вместе с тем макрофаги, как уже упоминалось выше, играют важную, если не ведущую, роль в развитии так называемых метаболических заболеваний: атеросклероза (главного виновника сердечно-сосудистых заболеваний), диабета, нейродегенеративных заболеваний мозга (болезнь Альцгеймера и Паркинсона, последствия инсультов и черепно-мозговых травм), ревматоидного артрита, а также онкологических заболеваний.

Разработать стратегию управления этими клетками при различных заболеваниях позволили современные

знания о роли липидных сенсоров в формировании различных фенотипов макрофага.

Так, оказалось, что в процессе эволюции хламидии и туберкулезные палочки научились использовать липидные сенсоры макрофагов, чтобы стимулировать не опасную для них альтернативную (в M2) активацию макрофагов. Благодаря этому поглощенная макрофагом туберкулезная бактерия может, купаясь как сыр в масле в липидных включениях, спокойно дожидаться своего освобождения, а после гибели макрофага размножиться, используя содержимое погибших клеток в качестве пищи (Melo, Drogak, 2012).

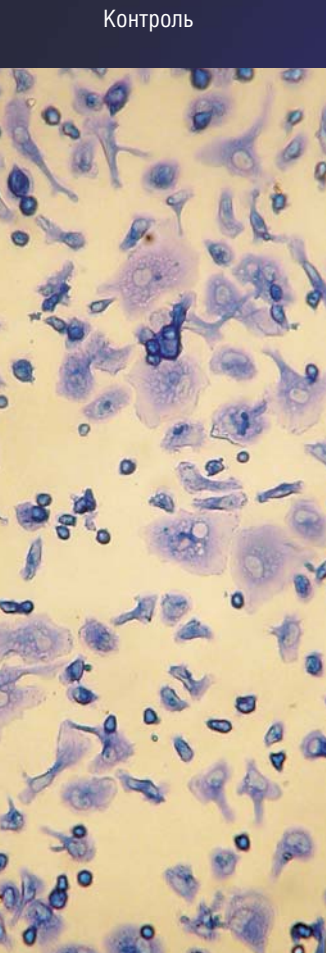
Если в этом случае использовать синтетические активаторы липидных сенсоров, которые препятствуют образованию жировых включений и, соответственно, предотвращают «пеннистую» трансформацию макрофага, то можно подавить рост и понизить жизнеспособность инфекционных патогенов. По крайней мере в экспериментах на животных уже удалось в разы снизить обсемененность легких мышей туберкулезными бактериями, используя стимулятор одного из липидных сенсоров или ингибитор синтеза жирных кислот (Lugo-Villarino *et al.*, 2012).

Еще один пример – такие болезни, как инфаркт миокарда, инсульт и гангрена нижних конечностей, опаснейшие осложнения атеросклероза, к которым приводит разрыв так называемых нестабильных атеросклеротических бляшек, сопровождаемый моментальным образованием тромба и закупоркой кровеносного сосуда.

Формированию таких нестабильных атеросклеротических бляшек и способствует макрофаг M1/пеннистая клетка, который продуцирует ферменты, растворяющие коллагеновое покрытие бляшки. В этом случае наиболее эффективная стратегия лечения – превращение нестабильной бляшки в стабильную, богатую коллагеном, для чего требуется трансформировать «агрессивный» макрофаг M1 в «умиротворенный» M2.

Экспериментальные данные свидетельствуют, что подобной модификации макрофага можно добиться, подавляя в нем продукцию провоспалительных факторов. Такими свойствами обладает ряд синтетических активаторов липидных сенсоров, а также природные вещества, например, куркумин – биофлавоноид, входящий в состав корня куркумы, хорошо известной индийской пряности.

Нужно добавить, что такая трансформация макрофагов актуальна при ожирении и диабете 2 типа (большая часть макрофагов жировой ткани имеет M1 фенотип), а также при лечении нейродегенеративных заболеваний мозга. В последнем случае в мозговых тканях происходит «классическая» активация макрофагов, что приводит к повреждению нейронов и накоплению токсичных веществ. Превращение M1-агрессоров



Контроль



Обработка зимозаном

Вопреки первоначальной гипотезе, макрофаг/пенистая клетка, наполненная жировыми включениями, может формироваться даже при низкой концентрации липопротеинов – для этого достаточно лишь воспалительного процесса. Введение в перитонеальную полость мышей стимулятора воспаления зимозана, полученного из оболочек дрожжевых клеток, вызывает драматическое возрастание скорости синтеза неполярных липидов и их предшественников – жирных кислот и холестерина, которые и образуют липидные включения в макрофагах

того, такие макрофаги начинают подавлять противораковый иммунный ответ лимфоцитов. Поэтому для лечения уже образовавшихся опухолей разрабатывается другая стратегия, основанная на стимулировании у макрофагов признаков классической M1-активации (Solinas *et al.*, 2009).

Примером такого подхода служит технология, разработанная в новосибирском Институте клинической иммунологии СО РАМН, при которой макрофаги, полученные из крови онкобольных, культивируют в присутствии стимулятора зимозана, который накапливается в клетках. Затем макрофаги вводят в опухоль, где зимозан освобождается и начинает стимулировать классическую активацию «опухолевых» макрофагов.

Сегодня становится все более очевидно, что соединения, вызывающие метаморфозы макрофагов, оказывают выраженное атеропротективное, антидиабетическое, нейропротективное действие, а также

защищают ткани при аутоиммунных заболеваниях и ревматоидном артрите. Однако такие препараты, имеющиеся на сегодня в арсенале практикующего врача, – фибраты и производные тиазолидона, хотя и снижают смертность при этих тяжелых заболеваниях, но при этом имеют выраженные тяжелые побочные действия.

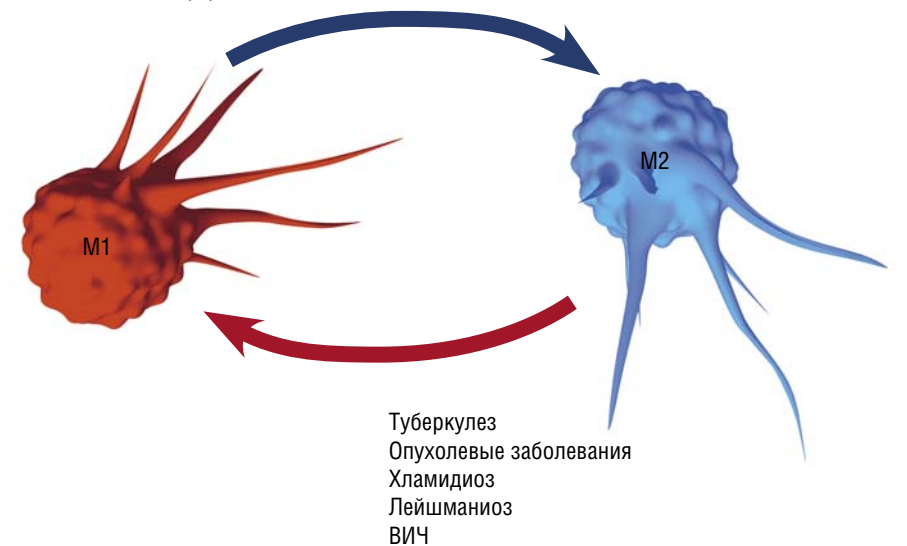
Эти обстоятельства стимулируют химиков и фармакологов к созданию безопасных и эффективных аналогов. За рубежом – в США, Китае, Швейцарии и Израиле уже проводятся дорогостоящие клинические испытания подобных соединений синтетического и природного происхождения. Несмотря на финансовые трудности, российские, в том числе и новосибирские, исследователи также вносят свой посильный вклад в решение этой проблемы.

Так, на кафедре химии Новосибирского государственного университета было получено безопасное соединение TS-13, стимулирующее образование Мох фагоцитов, которое обладает выраженным противовоспалительным эффектом и оказывает нейропротективное действие в экспериментальной модели болезни Паркинсона (Дюбченко и др., 2006; Зенков и др., 2009).

В Новосибирском институте органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН созданы безопасные антидиабетические и противоатеросклеротические препараты, действующие сразу на несколько факторов, благодаря которым «агрессивный» макрофаг M1 превращается в «мирный» M2 (Dikalov *et al.*, 2011). Большой интерес вызывают и растительные препараты, получаемые из винограда, черники и других растений с помощью механохимической технологии, разработанной в Институте химии твердого тела и механохимии СО РАН (Dushkin, 2010).

С помощью финансовой поддержки государства можно в самое ближайшее время создать отечественные средства для фармакологических и генетических манипуляций с макрофагами, благодаря которым появится реальная возможность превращать эти иммунные клетки из агрессивных врагов в друзей, помогающих организму сохранить или вернуть здоровье.

Атеросклероз
 Диабет
 Нейродегенеративные заболевания
 Аутоиммунные заболевания
 Ревматоидный артрит



Туберкулез
 Опухолевые заболевания
 Хламидиоз
 Лейшманиоз
 ВИЧ

Стратегия управления фенотипом макрофага при различных заболеваниях различна: в одних случаях (например, при диабете и других метаболических заболеваниях), необходимо способствовать уменьшению количества «агрессивных» макрофагов M1 и увеличению «мирных» макрофагов M2. При заболеваниях же инфекционной природы и опухолях требуется, наоборот, увеличить число макрофагов-пожирателей M1

Литература

Душкин М.И. Макрофаг/пенистая клетка как атрибут воспаления: механизмы образования и функциональная роль // *Биохимия*, 2012. Т. 77. С. 419–432.
 Смирнов А.Н. Липидная сигнализация в контексте атерогенеза // *Биохимия*. 2010. Т. 75. С. 899–919.
 Шварц Я.Ш., Свистельник А.В. Функциональные фенотипы макрофагов и концепция M1-M2-поляризации. Ч. 1 Провоспалительный фенотип. // *Биохимия*. 2012. Т. 77. С. 312–329