

## РОЛЬ МАКРОФАГОВ В ПАТОМОРФОГЕНЕЗЕ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Г.Р. Бурганова<sup>1</sup>, Р.В. Деев<sup>2,3</sup>, А.П. Киясов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

<sup>2</sup> Рязанский государственный медицинский университет, Рязань, Россия

<sup>3</sup> Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия

### Role of macrophages in pathomorphogenesis of alcoholic liver disease

G.R. Burganova<sup>1</sup>, R.V. Deev<sup>2,3</sup>, A.P. Kiyasov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

<sup>2</sup> I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

<sup>3</sup> Human Stem Cells Institute, Moscow, Russia

Алкогольная болезнь печени объединяет различные нарушения структуры и функциональной активности органа, обусловленные чрезмерным употреблением алкоголя. Алкоголь, как прямой гепатотоксичный агент, метаболизируется в печени и оказывает влияние как на резидентные клетки, так и на их микроокружение. Эти изменения отражаются в возникающем дисбалансе про- и противовоспалительных медиаторов, синтезируемых макрофагами печени. На сегодняшний день известно о поляризации и фенотипическом разнообразии этой клеточной популяции, об участии макрофагов и моноцитов в развитии алкогольного гепатита, что позволяет рассматривать данные клетки как потенциальные терапевтические мишени. Однако имеющиеся данные не полностью раскрывают механизмы меж- и внутридифферонных взаимодействий в условиях организма человека. В обзоре представлены результаты исследований о вовлеченности печёночных макрофагов в патоморфогенез алкогольной болезни печени и возможностях их использования при лечении данной группы заболеваний.

**Ключевые слова:** макрофаг, клетка Купфера, моноцит, алкогольная болезнь печени, цирроз печени.

### Введение

Печень, являясь иммунореактивным органом, содержит большое количество резидентных макрофагов, которые составляют до 15% всех клеток печени [1]. Звёздчатые макрофаги, или клетки Купфера, один из четырёх типов синусоидных клеток печени, имеющие многоотростчатую, неправильную форму и округлые или вытянутые ядра [2]; они находятся в синусоидах и образуют часть выстилки капилляров. Макрофаги поступают в ткани из периферической крови, являясь производными моноцитов [3, 4]. Хотя клетки Купфера относятся к популяции резидентных макрофагов, они способны к миграции вдоль синусоидов, к местам повреждения и регионарным лимфатическим узлам [5].

Как и иные макрофаги, купферовские клетки являются антиген-презентирующими клетками и могут модулировать иммунный ответ, участвуя в процессе потенциальных антигенов (врождённый иммунитет) и последующей активации специфических эффекторных Т- и В-лимфоцитов (адаптивный иммунитет) [6].

Основной функцией макрофагов печени является очищение портальной крови от чужеродных, токсических субстанций, иммунных комплексов, бактерий, эндотоксинов, продуктов деградации фибрина и активированных факторов свертывания крови, интерлейкинов и т.д. [1]. В связи с выполняемой

Алcoholic liver disease combines various structural and functional impairments of liver caused by excessive alcohol consumption. Alcohol, as a direct hepatotoxic agent, is metabolized in the liver and affects both resident cells and their microenvironment. These changes are reflected in the resulting imbalance of pro- and anti-inflammatory mediators synthesized by the liver macrophages. To date, it is known about the polarization and phenotypic diversity of this cell population, and about macrophages and monocytes involvement in the development of alcoholic hepatitis. These facts allow us to consider macrophages as potential therapeutic targets. However, the available data do not fully disclose the mechanisms of inter- and intradiferon interactions in the human body. The review discusses the results of current studies on the involvement of liver macrophages in the pathomorphogenesis of alcoholic liver disease and the potential for their use in the treatment of this disease.

**Keywords:** macrophage, Kupffer cell, monocyte, alcoholic liver disease, liver cirrhosis.

ими защитной функцией они большей частью сосредоточены на периферии печёночных долек; их число может широко варьировать даже в нормальной печени [7].

В течение длительного времени считалось, что макрофаги участвуют лишь в фиброзировании тканей [8–10]. Позже была показана их ключевая роль в регрессе фиброза [11, 12], в частности, в синтезе матричных металлопротеиназ [13]. Макрофаги играют одну из ведущих ролей в развитии алкогольной болезни печени (АБП) и воздействие на этот клеточный дифферон может представлять перспективное направление в лечении пациентов с этой патологией.

### Значение макрофагов в патоморфогенезе АБП

Особенностью АБП является активация циркулирующих моноцитов и накопление макрофагов в печени. Однако роль печёночных макрофагов в патогенезе АБП до конца не известна [14]. Увеличение числа макрофагов наблюдается как на ранней (жировая инфильтрация), так и на поздних (например, гепатит и цирроз) стадиях АБП, хотя прямая корреляция между числом макрофагов и тяжестью заболевания не прослеживается [14].

Употребление алкоголя приводит к дисбиозу кишечника и увеличению проницаемости кишечной

e-mail: guzel.burganova@gmail.com

стенки, это становится причиной повышения уровней сывороточных эндотоксинов, содержащих липополисахариды (ЛПС) клеточной стенки Грам-негативных бактерий [1, 15]. ЛПС взаимодействуют с ЛПС-связывающим белком, который транспортирует полученный комплекс к мембранному рецептору CD14, их связывание вызывает активацию клеток Купфера через взаимодействие с комплексом толл-подобного рецептора 4 (TLR-4, toll like receptor 4) и миелоидного фактора дифференцировки 2 (MD-2, myeloid differentiation factor 2) [1, 15, 16].

После активации в зависимости от микроокружения клетки Купфера могут приобретать один из двух фенотипов: классически активированные (M1 фенотип) и альтернативно активированные макрофаги (M2 фенотип), этот процесс называется поляризацией. M1 клетки являются провоспалительными, секретируют потенциальные медиаторы воспаления: интерлейкины (IL) 1, 6, 12 и 18, фактор некроза опухолей альфа (TNF- $\alpha$ ), интерферон гамма (INF- $\gamma$ ), активные формы кислорода, оксид азота и др. Эти вещества, в особенности TNF- $\alpha$ , связываются с рецепторами на гепатоцитах и запускают процессы окислительного стресса и апоптоза, что, в итоге, приводит к синтезу и ремоделированию внеклеточного матрикса [1, 7, 14]. Наряду с провоспалительными цитокинами M1 макрофаги способны к синтезу противовоспалительного медиатора IL10 при характерном высоком соотношении IL12/IL10, а также сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), тем самым стимулируя ангиогенез и улучшая репаративные свойства тканей [2].

При стабилизации состояния макрофаги приобретают противовоспалительный фенотип и начинают контролировать избыточные воспалительные реакции. Такие клетки относятся к популяции альтернативно активированных макрофагов, или M2, способствующих разрешению воспаления и восстановлению тканей. M2 макрофаги секретируют IL10, трансформирующий фактор роста бета (TGF- $\beta$ ), матриксную металлопротеиназу-9 (MMP-9), VEGF и др. [1, 14]. Альтернативно-активированные макрофаги способны к пролиферации *in situ* [2], они стимулируют процессы ангиогенеза, регенерации и ремоделирования тканей, для них характерна повышенная фагоцитарная активность и участие в Т-хелперных реакциях 2 типа [4, 17]. M2 макрофаги подразделяются на подтипы: M2a, M2b и M2c, в зависимости от механизмов их стимуляции, вырабатываемых веществ и выполняемых функций [2].

Было показано, что у мышей, длительное время находящихся на алкогольной диете, возрастает экспрессия генов обоих фенотипов макрофагов, т.е. и M1, и M2. Однако индукция генов M1 была более значительной, чем генов M2 [18, 19]. Дисбаланс поляризации макрофагов лежит в основе излишней продукции провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода, что в итоге приводит к повреждению гепатоцитов и развитию алкогольного гепатита.

Дальнейшие исследования продуктов секреции клеток Купфера показали их связь с развитием алкогольного гепатита. Ключевым медиатором, запускающим процессы окислительного стресса и апоптоза, был признан TNF- $\alpha$ , мишенью которого являются рецепторы на поверхности гепатоцитов [1]. Было выявлено, что сывороточные уровни TNF- $\alpha$  коррелируют с эндотоксинемией и развитием воспаления и фиброза печени у пациентов с алкогольным гепатитом

[20, 21]. Анализ биоптатов печени с алкогольным гепатитом выявил повышенные уровни TNF- $\alpha$ , IL1 и IL6 [22].

Исследования на животных с дефектным TLR-4 показали, что у мутантных крыс на фоне алкогольной диеты не повышался уровень TNF- $\alpha$ , в связи с чем развивались менее выраженные стеатоз, воспаление и некроз по сравнению с животными контрольной группы [23]. Схожие результаты наблюдались и при дефектной структуре мембранного рецептора CD14 [24], и на моделях исследования с химически разрушенными клетками Купфера [25].

В дополнение к резидентным макрофагам, моноциты, приходящие и оседающие в печени, также играют роль в её повреждении [26]. На животной модели K.R. Karlmark и др. (2009) показали повышенное накопление моноцитов в очагах инфильтрации и повреждения печени [27]. Привлечение моноцитов в печень зависит от хемокинов CCL1 и CCL2. Стоит отметить, что главным источником CCL2 являются перисинусоидальные клетки печени, которые, в свою очередь, активируются посредством лигандов TLR-4. Мыши без CCL2 подвергаются меньшему повреждению печени [28]. К тому же, лабораторные мыши, у которых отсутствует CCR8 — рецептор к CCL1, также более защищены от повреждения печени [29].

Моноциты, приходящие в печень из периферического кровотока, подразделяются на две группы в зависимости от уровня экспрессии поверхностного гликопротеина Ly6C у мышей и CD14/CD16 у человека: Ly6C<sup>hi</sup> (CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>low</sup>) и Ly6C<sup>low</sup> (CD14<sup>low</sup>CD16<sup>hi</sup>). Моноциты первой группы обладают провоспалительным фенотипом, в то время как Ly6C<sup>low</sup> — противовоспалительным. У мышей, получавших алкоголь с кормом, происходила смена фенотипов моноцитов на Ly6C<sup>hi</sup>, в итоге развивалось повреждение железы [1].

Исследования на мышах с обратимым повреждением печени четырёххлористым углеродом показали, что макрофаги играют важную роль в прогрессировании и обратном регрессе фиброза [30, 31]. В одной из работ был обнаружен промежуточный тип макрофагов, отличающийся от M1 и M2 типов, усиленно экспрессирующий MMP-9 и MMP-12, факторы роста и гены фагоцитоза, но данный тип не участвовал в синтезе IL10 и TGF- $\beta$  [30]. Двойственную природу макрофагов показали и на модели повреждения печени ацетаминофеном, когда они вносили значимый вклад в постепенное восстановление органа [32].

Как минимум две популяции печёночных макрофагов сосуществуют вместе и выполняют, порой, противоположно направленные функции во многих моделях повреждения печени. Однако бинарная классификация является достаточно условной, она не отражает сложной гетерогенности макрофагов, когда они могут переключаться с одного фенотипа на другой в ответ на мириады стимулов микроокружения [33].

Исследования последних лет рассматривают подавление синтеза провоспалительных цитокинов M1 макрофагами и возможности усиленного образования M2 макрофагов как перспективные тенденции в лечении АБП. Кроме того, было высказано предположение о том, что подавление активации клеток Купфера может способствовать большей доле заселения печени мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками (MMCK) жировой ткани

после их трансплантации [34]. Авторы описали, что трансплантированные ММСК привлекают клетки Купфера, и они фагоцитируют введенные клетки. Но, в случае предварительной блокировки активации клеток Купфера глицином, хоуминг ММСК в печень увеличивается, трансплантированные клетки модулируют активность резидентных макрофагов, подавляя секрецию TNF- $\alpha$ , и тем самым оказывают протективное действие на гепатоциты [34].

### Заключение

АБП встречается повсеместно и относится к числу актуальных проблем гепатологии по причине высокой заболеваемости и смертности. Специфического лечения этого заболевания не существует, так как до конца не изучены механизмы его развития.

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Suraweera D.B., Weeratunga A.N., Hu R.W. et al. Alcoholic hepatitis: the pivotal role of Kupffer cells. *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* 2015; 6(4):90-8.
2. Сарбаева Н.Н., Пономарева Ю.В., Милякова М.Н. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействия с чужеродными материалами. *Гены и клетки* 2016; XI(1):9-17.
3. Langevoort H.L. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bull. World Health Organ.* 1972; 46:845-52.
4. Монастырская Е.А., Лямина С.В., Малышев И.Ю. М1 и М2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии. *Патогенез* 2008; 6(4):31-9.
5. Шифф Р.Ю., Коррел М.Ф., Мэддрей У.С. Введение в гепатологию. Пер. с англ. под ред. В.Т. Ивашкина, А.О. Буеверова, М.В. Маевской. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011. С.285-332.
6. Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology* 2001; 33(3):738-50.
7. Kmiec Z. Cooperation of liver cells in health and disease. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* 2001; 161:III-XIII, 1-151.
8. Wynn T.A., Barron L. Macrophages: master regulators of inflammation and fibrosis. *Semin. Liver Dis.* 2010; 30(3):245-57.
9. Vernon M.A., Mylonas K.J., Hughes J. Macrophages and renal fibrosis. *Semin. Nephrol.* 2010; 30(3):302-17.
10. Hardie W.D., Glasser S.W., Hagood J.S. Emerging concepts in the pathogenesis of lung fibrosis. *Am. J. Pathol.* 2009; 175(1):3-16.
11. Duffield J.S., Forbes S.J., Constandinou C.M. et al. Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. *J. Clin. Invest.* 2005; 115(1):56-65.
12. Gibbons M.A., MacKinnon A.C., Ramachandran P. et al. Ly6Chi monocytes direct alternatively activated profibrotic macrophage regulation of lung fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 184(5):569-81.
13. Fallowfield J.A., Mizuno M., Kendall T.J. et al. Scar-associated macrophages are a major source of hepatic matrix metalloproteinase-13 and facilitate the resolution of murine hepatic fibrosis. *J. Immunol.* 2007; 178(8):5288-95.
14. Ju C., Mandrekar P. Macrophages and alcohol-related liver inflammation. *Alcohol Res.* 2015; 37(2):251-62.
15. Zeng T., Zhang C.L., Xiao M. Critical roles of Kupffer cells in the pathogenesis of alcoholic liver disease: from basic science to clinical trials. *Front. Immunol.* 2016; 7:538. eCollection 2016.
16. Hersoug L.G., Moller P., Loft S. Gut microbiota-derived lipopolysaccharide uptake and trafficking to adipose tissue: implications for inflammation and obesity. *Obes. Rev.* 2016; 17(4):297-312.
17. Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J. Clin. Invest.* 2012; 122(3):787-95.
18. Louvet A., Teixeira-Clerc F., Chobert M.N. et al. Cannabinoid CB2 receptors protect against alcoholic liver disease by regulating Kupffer cell polarization in mice. *Hepatology* 2011; 54(4): 1217-26.

Воздействия на макрофаги, синтезирующие провоспалительные цитокины и запускающие процессы фиброобразования печени, в исследованиях на животных показали положительные результаты. Признавая роль клеток Купфера в анти-воспалительных процессах, дальнейшее изучение макрофагов печени представляет огромный интерес и является многообещающим направлением в терапии алкогольной болезни печени.

### Благодарности

*Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета и субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности.*

19. Wan J., Benkdane M., Teixeira-Clerc F. et al. M2 Kupffer cells promote M1 Kupffer cell apoptosis: a protective mechanism against alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2014; 59(1):130-42.
20. Kiliaritskaia I.L., Stilidi E.I. Pathogenetic importance of proinflammatory cytokines in the formation and progression of fibrosis in alcoholic hepatitis. *Eksp. Klin. Gastroenterol.* 2013; (4):13-20.
21. Hanck C., Rossol S., Böcker U. et al. Presence of plasma endotoxin is correlated with tumour necrosis factor receptor levels and disease activity in alcoholic cirrhosis. *Alcohol* 1998; 33:606-8.
22. McClain C.J., Barve S., Deaciuc I. et al. Cytokines in alcoholic liver disease. *Semin. Liver Dis.* 1999; 19:205-19.
23. Uesugi T., Froh M., Arteel G.E. et al. Toll-like receptor 4 is involved in the mechanism of early alcohol-induced liver injury in mice. *Hepatology* 2001; 34:101-8.
24. Yin M., Bradford B.U., Wheeler M.D. et al. Reduced early alcohol-induced liver injury in CD14-deficient mice. *J. Immunol.* 2001; 166:4737-42.
25. Adachi Y., Bradford B.U., Gao W. et al. Inactivation of Kupffer cells prevents early alcohol-induced liver injury. *Hepatology* 1994; 20:453-60.
26. Szabo G., Mandrekar P., Dolganiuc A. Innate immune response and hepatic inflammation. *Semin. Liver Dis.* 2007; 27:339-50.
27. Karlmark K.R., Weiskirchen R., Zimmermann H.W. Hepatic recruitment of the inflammatory Gr1+ monocyte subset upon liver injury promotes hepatic fibrosis. *Hepatology* 2009; 50:261-74.
28. Galastri S., Zamara E., Milani S. et al. Lack of CC chemokine ligand 2 differentially affects inflammation and fibrosis according to the genetic background in a murine model of steatohepatitis. *Clin. Sci. (Lond)*. 2012; 123:459-71.
29. Heymann F., Hammerich L., Storch D. et al. Hepatic macrophage migration and differentiation critical for liver fibrosis is mediated by the chemokine receptor C-C motif chemokine receptor 8 in mice. *Hepatology* 2012; 55: 898-909.
30. Ramachandran P., Pellicoro A., Vernon M.A. et al. Differential Ly-6C expression identifies the recruited macrophage phenotype, which orchestrates the regression of murine liver fibrosis. *PNAS USA* 2012; 109(46):E3186-95.
31. Duffield J.S., Forbes S.J., Constandinou C.M. Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. *J. Clin. Invest.* 2005; 115(1):56-65.
32. Holt M.P., Cheng L., Ju C. Identification and characterization of infiltrating macrophages in acetaminophen-induced liver injury. *J. Leu. Biol.* 2008; 84(6):1410-21.
33. Mosser D.M., Edwards J.P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8(12): 958-69.
34. Hongl H., Han S.Y., Ki M.R. et al. Inhibition of Kupffer cell activity improves transplantation of human adipose-derived stem cells and liver functions. *Cell Transplant.* 2013; 22(3):447-59.

*Поступила: 10.02.2017*