

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РАЗНОРОДНОСТЬ МАКРОФАГОВ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ У ЖИВОТНЫХ В НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ САХАРНОГО ДИАБЕТА I-ГО ТИПА

© 2019 г. В. А. Поздина^{1,2*}, И. Г. Данилова¹

*E-mail: varya.pozdina@inbox.ru

¹Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения
Российской академии наук, Екатеринбург, Россия;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии
и инфекционных заболеваний» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

В работе были исследованы морфологические и функциональные характеристики макрофагов различной локализации, выделенных из интактных животных и животных с моделью сахарного диабета I-го типа. Исследование проводилось на культурах макрофагов крысы, выделенных из следующих областей: легкие, селезенка, печень и перитонеальная полость. Определялись следующие морфометрические показатели: S клетки, цитоплазмы и ядер, ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО). Фенотип макрофагов определялся по экспрессии CD163 и CD80. Цитокиновая активность макрофагов оценивалась по уровню IL-1 α , IL-10 и TNF- α . В результате проведенных исследований были показаны особенности морфологии макрофагов различных органов, а также выявлены их функциональные отличия.

Ключевые слова: макрофаги, морфофункциональные особенности, локализация

DOI: 10.31857/S102872210006571-3

Адрес: 620049, Российская Федерация, г. Екатеринбург ул. Первомайская, 106, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Поздина Варвара Александровна.
Тел.: +7 908 638 79 32.

E-mail: varya.pozdina@inbox.ru

Авторы:

Поздина В. А., м.н.с. лаборатории морфологии и биохимии ИИФ УрО РАН, м.н.с. лаборатории биомедицинских исследований ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

Данилова И. Г., д.б.н., заведующая лабораторией морфологии и биохимии ИИФ УрО РАН, Екатеринбург, Россия.

Макрофаги — это разнородная группа клеток врожденного иммунитета, отличающихся между собой по морфологическими и функциональным признакам, участвующая напрямую или опосредованно в широком спектре как защитных реакций организма (реакции адаптивного иммунитета), так и регуляторных (участие в регенерации тканей и в регулировании обмена жиров и углеводов). Благодаря высокой гетерогенности, данный тип клеток играет важную

роль в патогенезе различных заболеваний [1]. В частности, в поджелудочной железе макрофаги работают в двух направлениях: они могут инициировать иммунные реакции и реакции регенерации, стимулируя иммунные клетки, а могут оказывать разрушительное действие на клетки, продуцирующие инсулин [2]. При поиске методов лечения сахарного диабета I-го типа интерес представляет возможность воздействия на макрофаги, как на звено местной регуляторной цепи. В связи с этим была поставлена задача, подробно изучить особенности функционирования различных популяций макрофагов в норме и в условиях сахарного диабета I-го типа (СД I-го типа), для того чтобы в дальнейшем исследовать реакции этих клеток на различные стимулы, в том числе и на иммуномодулирующие препараты.

В работе использовались популяции макрофагов различной тканевой принадлежности (альвеолярные, перитонеальные, печеночные и селезеночные макрофаги), полученные из

интактных и «сахарно-диабетных» (срок моделирования сахарного диабета 30 суток) самцов крыс 3-месячного возраста породы Wistar. Макрофаги различной органной принадлежности культивировали в течение 24 часов.

В качестве морфометрических показателей определялись площадь клетки, цитоплазмы и ядер, а также ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) [3]. С помощью иммуноцитохимического метода оценивалась функциональная фенотипическая активность макрофагов по уровню их экспрессии рецепторов CD163 и CD80. Цитокиновая активность макрофагов оценивалась с помощью иммуноферментного анализа по уровню IL-1 α , IL-10 и TNF α в среде, в которой культивировались выделенные клетки [4].

Измерения морфофункциональных показателей производилось с помощью камеры AxioCam 512, подключенной к микроскопу Carl Zeiss Axio Observer D1 (УНИИФ), и программы ZEN. Статистический анализ полученных данных проводился с помощью программы STATISTICA.10. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Морфометрический анализ в интактных животных показал значимое различие между популяциями перитонеальных макрофагов и макрофагов печени с популяциями альвеолярных макрофагов и макрофагов селезенки. У первых двух групп S цитоплазмы и клеток значимо больше, чем у альвеолярных и селезеночных макрофагов. Визуально популяции хорошо различимы: среди перитонеальных макрофагов встречается большое количество характерных почти идеально круглых клеток с одним небольшим круглым ядром; остальные клетки в большинстве своем округлые и меньшей величины. Среди селезеночных же подавляющее большинство клеток небольшие, неправильной формы, и большую часть клетки у них так же занимает ядро. По количеству ядер клетки всех популяций достаточно близки: большинство клеток имеет одно ядро, меньшее количество — два ядра.

В группе животных с СД I-го типа морфометрические параметры менее различимы между представленными популяциями клеток. Клетки более однородны по размерам. Среди всех групп макрофагов чаще встречаются клетки с ядрами неправильной формы, в которых деление произошло, но ядра не до конца разделились.

Сравнительный анализ между интактными животными и животными с СД I-го типа показывает, что морфометрические параметры пе-

ритонеальных макрофагов и макрофагов печени из этих двух групп имеют значимые различия. У клеток с СД I-го типа наблюдается тенденция к уменьшению размеров клеток за счет уменьшения S цитоплазмы. Предположительно, это связано с тем, что макрофагальные клетки при сахарном диабете активно участвуют в регуляторных процессах.

Анализ ЯЦО показывает, что у интактных животных наибольшим значением ЯЦО обладают макрофаги селезенки, наименьшим — макрофаги печени. У животных с СД I-го типа макрофаги печени, наоборот, имеют наибольший ЯЦО. Сравнительный анализ между интактными животными и животными с диабетом показывает, что значимые отличия в ЯЦО наблюдаются у перитонеальных макрофагов и макрофагов печени. Это может быть связано с тем, что перитонеальные макрофаги и макрофаги печени наиболее активно участвуют в местных регуляторных реакциях в условиях СД I-го типа.

В рамках фенотипического анализа была измерена S окрашенного экспрессируемого ($S_{\text{экс}}$) участка клетки. $S_{\text{экс}}$ CD80 в макрофагах, выделенных из интактных животных практически не отличаются между собой. $S_{\text{экс}}$ CD163 в популяциях макрофагов интактных животных больше, чем $S_{\text{экс}}$ CD80, однако эти различия не достоверны. $S_{\text{экс}}$ CD80 клеток, выделенных из животных с СД I-го типа значимо увеличен в сравнении с клетками, выделенными из интактных животных, в особенности у перитонеальных макрофагов и макрофагов селезенки. $S_{\text{экс}}$ CD163 значимо меньше у макрофагов печени.

В сравнении с макрофагами, выделенными из интактных животных у макрофагов, выделенных из животных с СД I-го типа, значительно выше уровни TNF α , в особенности у органных макрофагов (селезенка, печень). Уровень IL-1 α в целом незначительно выше у группы клеток, выделенных из животных с СД I, в особенности у макрофагов печени. Уровень IL-10 значимо отличается у макрофагов печени «сахарно-диабетных» животных от макрофагов печени, выделенных из интактных животных.

Все перечисленные данные показывают, что макрофаги в условиях сахарного диабета I типа, находятся преимущественно в состоянии классической воспалительной активации, что может также указывать на их непосредственную активную деятельность в области органа-мишени сахарного диабета — поджелудочной железе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Liddiard K.* Macrophage heterogeneity and acute inflammation. *Europ. J. of Immunol.* 2011, 41(9), 2503–2508.
2. *Md. Shahidul Islam.* The Islets of Langerhans. 2010, 800.Р.9.
3. *Шарафутдинова Л. А., Горшкова Е. Н., Садртинова И. И., Хисмадулина З. Р., Башкатов С. А.* Оценка морфологических параметров нейтрофильных гранулоцитов методом атомно-силовой микроскопии после воздействия фуллерена C60. *Биомедицина.* 2014, 3, 49–53. [*Sharafutdinova L. A., Gorshkova E. N., Sadrtinova I. I., Khismatullina Z. R.* Neutrophils morphological parameters estimation by nuclear and power microscopy after fullerene C60 influence // *Biomedicina.* 2014, 3, 49–53.]
4. *Mohammadi A., Blesso C.N., Barreto G.E., Banach M., Majeed M., Sahebkar A.* Macrophage plasticity, polarization and function in response to curcumin, a diet-derived polyphenol, as an immunomodulatory agent. *J NutrBiochem.* 2018.1–16.

**MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL DIVERSITY OF MACROPHAGES
OF DIFFERENT LOCALIZATION IN ANIMALS IN NORMAL
AND IN CONDITIONS OF DIABETES MELLITUS TYPE I**

© 2019 V. A. Pozdina^{1,2*}, I. G. Danilova¹

*E-mail: varya.pozdina@inbox.ru

¹*Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;*

²*Ural Scientific Research Institute of Phthisiopulmonology – branch of FGBU “NMIC FPI”, Ministry of Health of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia*

Received: 14.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

The study investigated the morphological and functional characteristics of macrophages of different localization, isolated from intact animals and animals with a model of diabetes mellitus type I. The study was performed on rat macrophage cultures isolated from the following areas: lungs, spleen, liver, and peritoneal cavity. The following morphometric parameters were determined: S cells, cytoplasm and nuclei, nuclear-cytoplasmic ratio (NCO). The phenotype was determined by the expression of CD163 and CD80. The macrophage cytokine activity was assessed by the level of IL-1 α , IL-10 and TNF α . The morphological characteristics of macrophages from various organs were demonstrated and their functional differences were revealed.

Key words: macrophages, macrophage phenotype, macrophage characteristics

Authors:

Pozdina V. A., ✉ JR, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, JR, Laboratory of Biomedical Research, Ural research Institute of Phthisiopulmonology, Ekaterinburg, Russia. **E-mail:** varya.pozdina@inbox.ru;

Danilova I. G., Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia.