

УДК 576.7:571.27:612.112.5

## РОЛЬ АУТОФАГИИ И ПОЛЯРИЗАЦИИ МАКРОФАГОВ В ПРОЦЕССАХ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ

© 2024 г. С. Г. Зубова<sup>1, \*</sup>, А. В. Моршнева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Россия

\* E-mail: egretta\_julia@mail.ru

Поступила в редакцию 12.05.2023 г.

После доработки 04.09.2023 г.

Принята к публикации 21.09.2023 г.

Причиной многих тяжелых недугов, в том числе диабета, ожирения, остеопороза и нейродегенеративных заболеваний является хроническое воспаление, которое развивается в жировой ткани, костях или головном мозге. Такое воспаление возникает из-за смещения поляризации макрофагов (микроглии) в сторону провоспалительного фенотипа M1. В настоящее время доказано, что поляризацию макрофагов определяет внутриклеточный уровень аутофагии в макрофаге. Модулируя аутофагию, можно вызвать переключение активностей макрофагов в сторону M1 или M2. Обобщив накопленный в литературе материал, мы полагаем, что активация аутофагии репрограммирует макрофаг в сторону M2, заменяя его белковое содержимое, рецепторный аппарат и включая иной тип метаболизма. Термин “репрограммирование” наиболее подходит для этого процесса, поскольку за ним следует смена функциональной активности макрофага, а именно переключение от цитотоксической провоспалительной активности на противовоспалительную (регенеративную). Модуляция аутофагии может быть подходом к терапии онкозаболеваний, нейродегенеративных расстройств, остеопороза, диабета и других тяжелых заболеваний.

**Ключевые слова:** макрофаг, микроглия, фенотип M1/M2, аутофагия, репрограммирование

**DOI:** 10.31857/S0041377124010023, **EDN:** IGVMRG

Раневой процесс, в котором ключевой клеткой является макрофаг, состоит из двух фаз – провоспалительной и регенеративной. В первой фазе процесса из раны удаляются патогенные, мертвые и поврежденные клетки. Во второй фазе стимулируется ранозаживление за счет ростовых и ангиогенных факторов.

В литературе была сформулирована парадигма, описывающая два полярных фенотипа макрофагов, соответствующих фазам раневого процесса – провоспалительных M1 и противовоспалительных M2, способных переходить друг в друга (Hesketh et al., 2017). Эти полярные состояния макрофагов имеют ключевое значение для терапии онкозаболеваний и нейродегенеративных процессов. Если для терапии опухолей целью является активация макрофагального статуса M1, то для нейродегенеративных процессов терапия нацелена на переход микроглии/макрофагов в статус M2. В течение нескольких лет было установлено, что катаболический процесс аутофагии направляет поляризацию макрофагов в тот или иной фенотип.

Цель настоящего обзора заключается в том, чтобы на основе литературных данных показать,

что за счет включения аутофагии в макрофагах активируется иная программа, связанная с замещением белкового содержания клетки, переходом на иной тип метаболизма, то есть происходит репрограммирование клетки. Кроме того, мы обобщаем данные, свидетельствующие о том, что за счет модуляции аутофагии можно влиять на процессы хронического воспаления и регенерации, протекающие в различных тканях, в том числе жировой, мышечной, костной, и головном мозге.

### ФЕНОТИПЫ МАКРОФАГОВ В СВЕТЕ ПАРАДИГМЫ M1/M2

Макрофаг является ключевой клеткой воспаления, он участвует в противовирусной, противомикробной и противоопухолевой защите организма, в регенерации и репарации тканей.

Согласно парадигме M1/M2, макрофаги могут обладать полярными функциями – провоспалительными и противовоспалительными (регенеративными). Эти функции сменяют друг друга в соответствии с фазами раневого процесса.

Каждому фенотипу макрофагов соответствует свой набор продуцируемых цитокинов. Активированные провоспалительные макрофаги M1 продуцируют факторы воспаления, среди которых интерлейкины IL-6, IL-1, IL-8, интерферон IFN $\gamma$ , фактор некроза опухолей TNF $\alpha$  и другие. Противовоспалительные макрофаги M2 продуцируют ростовые факторы, факторы, способствующие регенерации, среди которых TGF $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-13 и многие другие.

Для нормального тканевого гомеостаза должен поддерживаться оптимальный баланс между макрофагами с фенотипом M1 и M2 (Hesketh et al., 2017). Макрофаги M2 обладают проопухолевым действием, стимулируют ангиогенез и метастазы и подразделяются на несколько подтипов. Выделяют подтипы M2a, M2b, M2c и M2d. Эти разновидности макрофагов M2 хорошо описаны (см. обзор: Zang, Siond, 2023).

Говоря кратко, необходимо отметить, что подтип M2a поляризуется под действием IL4 и продуцирует цитокины IL10, TGF $\beta$ , IGF, IL4 и другие. Макрофаги M2b поляризуются под действием LPS и среди прочих цитокинов (IL10, SPHK1, CCL1, IL6, IL1) продуцируют TNF- $\alpha$ , который способен ускорять клеточную миграцию и метастазирование, как было показано на клетках опухоли груди.

Образование макрофагов M2c стимулируется IL10b и TGF $\beta$ , или глюкокортикоидами. Активность этих макрофагов связана с активацией противовоспалительных генов, ремодулированием матрикса, ангиогенезом и фагоцитозом. Они продуцируют IL10, TGF $\beta$ , CCL18, CCL13. Дифференцировка макрофагов в фенотип M2d происходит под действием IL6. Эти макрофаги продуцируют IL10, IL6, CCL18, M-CSF (Zang, Siond, 2023). Все эти M2-макрофаги обладают мощным действием, стимулирующим рост, и играют роль в реализации цитокинового шторма после активации.

Макрофаги отвечают за тканевый гомеостаз и поддерживают ткань в функциональном состоянии. То есть помогают ткани противостоять изменениям и сохранять динамическое относительное постоянство состава и свойств. Они удаляют клеточный дебрис, апоптотизирующие клетки, играют роль в переработке железа, запускают воспалительные реакции и ограничивают их.

Одной из основных функций макрофагов является удаление апоптотических клеток и апоптотических телец, а парадигма M1/M2 возникает для

макрофагов при активации (в том числе при патологическом процессе).

Необходимо отметить, что в зависимости от органа, в котором макрофаги располагаются, они выполняют тканеспецифичные функции. Например, в кости остеокласты разрушают минерализованный костный матрикс, моноциты крови удаляют отмершие эндотелиальные клетки, микроглиальные клетки обеспечивают жизнеспособность нейронов, Купферские клетки печени очищают кровь от старых эритроцитов, альвеолярные макрофаги осуществляют надзор за проникшими патогенами.

Функции макрофагов по поддержанию гомеостаза не ограничиваются участием в иммунном ответе и реакцией на проникновение инфекции. Макрофаги обеспечивают трофические функции в различных тканях за счет синтеза органоспецифических белков и мРНК (Davies et al., 2013).

В 1892 году Илья Мечников описал фагоцитарную активность макрофагов и, по сути, первый заявил о существовании макрофагальной системы (Metchnikoff, 1892). В наше время показано, что макрофаги происходят из различных источников — из желточного мешка и эмбриональной печени во время формирования эмбриона, или из костного мозга после рождения. Так, моноциты крови имеют костномозговое происхождение, а тканевые макрофаги часто возникают пренатально.

Моноциты из крови могут проникать в тканеспецифичные ниши, где находятся макрофаги эмбрионального происхождения, что часто происходит в случае воспаления. Таким образом, моноциты крови, имеющие костномозговое происхождение, отличаются от тканеспецифичных резидентных макрофагов, образующихся в эмбриогенезе, тем, что это клетки циркулирующие и подвижные, но общим у них является то, что все они часть мононуклеарной иммунной системы (Davies et al., 2013).

В тканеспецифичных нишах находится целый коктейль цитокинов и ростовых факторов, поэтому мы понимаем, что парадигма M1/M2 часто не описывает всего многообразия макрофагальных фенотипов. Но наличие макрофагов с полярной активностью позволяет им не только запустить иммунную реакцию, но и завершить ее.

Как уже говорилось, различные фенотипы макрофагов соответствуют фазам раневого процесса. Поэтому, несмотря на несовершенство, парадигма имеет право на существование.

## АУТОФАГИЯ КАК СИСТЕМА ДЛЯ РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ МАКРОФАГОВ

Несколько лет назад было показано, что, модулируя макроаутофагию, можно менять поляризацию макрофагов (Guo et al., 2019). Макроаутофагия (в дальнейшем просто аутофагия) представляет собой внутриклеточный катаболический процесс, при помощи которого клетка избавляется от долгоживущих белков и поврежденных органелл. В начале этого процесса образуется аутофагосома, содержащая материал, предназначенный к деградации, а затем она сливается с лизосомой и содержимое аутофаголизосомы переваривается за счет лизосомных ферментов (Klionsky et al., 2021).

Было установлено, что применение хлорохина, блокирующего слияние аутофагосомы с лизосомой и ингибирующего аутофагию, переводит макрофаги, ассоциированные с опухолью, в фенотип M1 (Mauthe et al., 2018; Guo et al., 2019). Авторы показали, что хлорохин увеличивает чувствительность раковых клеток гортани к цисплатину и ингибирует их рост (Guo et al., 2019). По всей видимости, включение аутофагии, переводящей макрофаги в статус M2, меняет профиль секретуемых ими белков, заменяя старый белковый состав новым, то есть приводит к репрограммированию макрофагов (Zubova et al., 2022).

Стимуляция аутофагии может вызывать поляризацию макроглии в фенотип M2 и подавлять процесс воспаления. Фармакологические активаторы аутофагии рапамицин и ресвератрол стимулируют поляризацию макроглии к фенотипу M2, подавляя гены, ответственные за фенотип M1 (Jin et al., 2018).

Мы рассматриваем репрограммирование как смену профиля экспрессии генов и синтеза белков, а не только как переход от дифференцированных клеток к стволовым, как это было принято ранее. При репрограммировании меняется также паттерн секретуемых белков (Zubova et al., 2022).

Как заметил в своей работе Tin Su, “that which does not kill us, well, makes us different” (Su, 2018, p. 1). Существует какой-то не критический уровень аутофагии, который не убивает клетку, а меняет ее программу, убирая старый набор белков, включая новые профили экспрессии генов и иные транскрипционные факторы.

Известно, что аутофагия тесно связана с процессами регенерации, и, возможно, репрограммирование макрофагов играет в этом процессе не последнюю роль. Так, известно, что в макроглии,

стимулированной IFN $\gamma$  или LPS, играют роль такие транскрипционные факторы, такие как NF- $\kappa$ B и Stat1 (Orihuela et al., 2015).

При стимуляции макроглии IL-4 или IL-10, которые активируют аутофагию, включаются иные транскрипционные факторы, такие как Stat6 и Stat3 соответственно (Orihuela et al., 2015). Кроме того, смена функционального состояния макроглии сопровождается сменой метаболизма. Поляризация макроглии в M1 фенотип сопровождается сдвигом в энергетическом балансе от окислительного фосфорилирования к аэробному гликолизу. Таким образом, классически активированная макроглия получает энергию за счет гликолиза, а альтернативно активированная использует оксидативный метаболизм (Orihuela et al., 2015).

По всей видимости, аутофагия может менять клеточный метаболизм в сторону, как гликолиза, так и окислительного фосфорилирования. Значит, изменение статуса дифференцировки макрофагов является частным случаем репрограммирования. Включение или подавление аутофагии служит переключателем функционального состояния макрофага, иными словами, его дифференцировки.

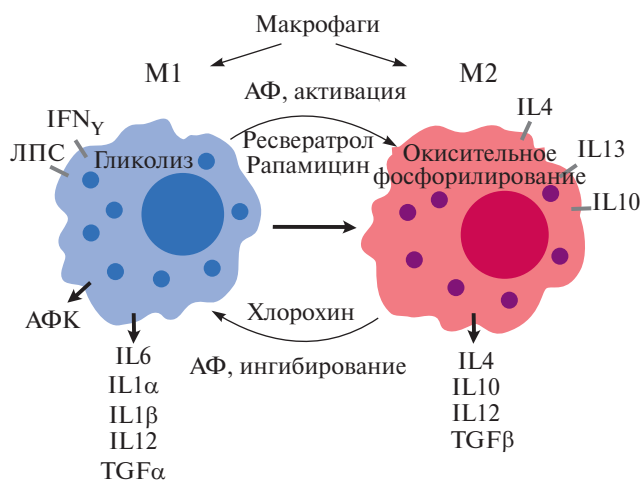
При переходе макрофагов в фенотип M2 старый белковый состав заменяется новым, меняется рецепторный аппарат клетки, включаются иные транскрипционные факторы, работают иные гены, что свидетельствует о полном репрограммировании клетки (Orihuela et al., 2015; Stone et al., 2019).

Как уже говорилось, в соответствии с фазами раневой реакции макрофаг переключается с поляризации M1 на M2 (рис.1). Мы считаем, что это и есть репрограммирование макрофага, в котором не последнюю роль может играть аутофагия.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ АУТОФАГИИ

В начале процесса аутофагии формируется двумембранная структура, окружающая предназначенный для деградации груз — поврежденные органеллы или долгоживущие белки (рис. 2).

Этому процессу предшествует целый ряд молекулярно-генетических событий. Гены, контролирующие аутофагию, изначально были описаны на модели дрожжей. Это семейство генов получило название “autophagy-related genes” (Atg) (Kametaka, 1998). Позже аналоги таких генов были описаны у млекопитающих (Kametaka, 1998). Эти гены осуществляют инициацию аутофагии, формирование и созревание аутофагосом. Киназный комплекс mTORC1 — главный регулятор аутофагии контро-



**Рис. 1.** Иллюстрация классической M1 (провоспалительной) и альтернативной M2 (антивоспалительной) активации макрофагов. Рапамицин – иммунодепрессант, полученный из *Streptomyces hygroscopicus*, активатор аутофагии (АФ), его мишенью является киназный белковый комплекс mTORC1; ресвератрол – природный фитоалексин, активатор аутофагии: хлорохин – препарат из группы 4-аминохинолина, ингибитор аутофагии, блокирует связывание аутофагосомы с лизосомой. Для провоспалительного фенотипа макрофагов характерен гликолиз, а для антивоспалительного фенотипа – окислительное фосфорилирование. Классически активированные макрофаги секретируют провоспалительные цитокины (IL6, IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL12, TNF $\alpha$ ) при активации рецепторов, в частности к липополисахариду (ЛПС) и IFN $\gamma$ . Классически активированные макрофаги синтезируют активные формы кислорода (АФК). Альтернативно активированные макрофаги секретируют противовоспалительные цитокины (IL4, IL10, IL12, TGF $\beta$ ) при активации рецепторов, например, к IL4, IL13, IL10.

лирует серин-треониновую киназу ULK1. Процесс аутофагии состоит из нескольких стадий: инициации, нуклеации, элонгации, матурации, слияния и деградации (Kawamata, 2008).

Инициация начинается с образования фагофоры. Это двухмембранная структура, источником мембраны для которой может служить эндоплазматический ретикулум, наружная мембрана митохондрий, аппарат Гольджи и плазматическая мембрана. При достаточном количестве питательных веществ активный mTORC1 гиперфосфорилирует Atg13 и блокирует связывание Atg13, ULK1 и FIP200 (Green, Llambi, 2015).

mTORC1 фосфорилирует ULK1 по сайту Ser757, одновременно она фосфорилирует Atg13, что приводит к подавлению процесса аутофагии. Фосфорилирование ULK1 осуществляет также AMPK, но в данном случае оно играет активирующую аутофагию роль и осуществляется по сайту Ser555 (Lee, 2010).

При недостатке питательных веществ mTORC1 диссоциирует от комплекса ULK1, тот активируется и фосфорилирует FIP200, что служит причиной образования фагофоры. Иными словами, ингибирование ULK1 и Atg13 при помощи mTORC1 отменяется. Тогда образуется преинициаторный комплекс, состоящий из ULK1, FIP200 и Atg13. Сборка этого комплекса необходима для активации комплекса инициации (Beclin 1, VPS15 и VPS34, который генерирует PI3P и рекрутирует Atg7 на поверхность фагофоры). Так протекает стадия нуклеации.

Активность Beclin1 в аутофагии ингибируется взаимодействием с Bcl-2, который нарушает связывание Beclin1 с VPS34. Далее следует стадия элонгации, на которой происходит удлинение мембраны фагофоры. Для этой стадии также важно образование комплекса из белков семейства Atg (autophagy-related genes). Atg7 активирует два пути конъюгации, которые необходимы для удлинения мембраны и закрытия аутофагосомы. На первом пути конъюгации Atg5 конъюгирует с Atg12, а Atg12 последовательно переносится на Atg7 и Atg10. Конъюгат Atg5-Atg12-Atg16L необходим для стабилизации фагофоры и связан с растущей мембраной фагофоры (Green, Llambi, 2015). Связь этих белков важна для образования комплекса LC3-I с фосфатидилэтаноламином и карбоксильной группой глицина, чтобы генерировать мембрано-ассоциированную процессированную форму LC3-II (Glick, 2010).

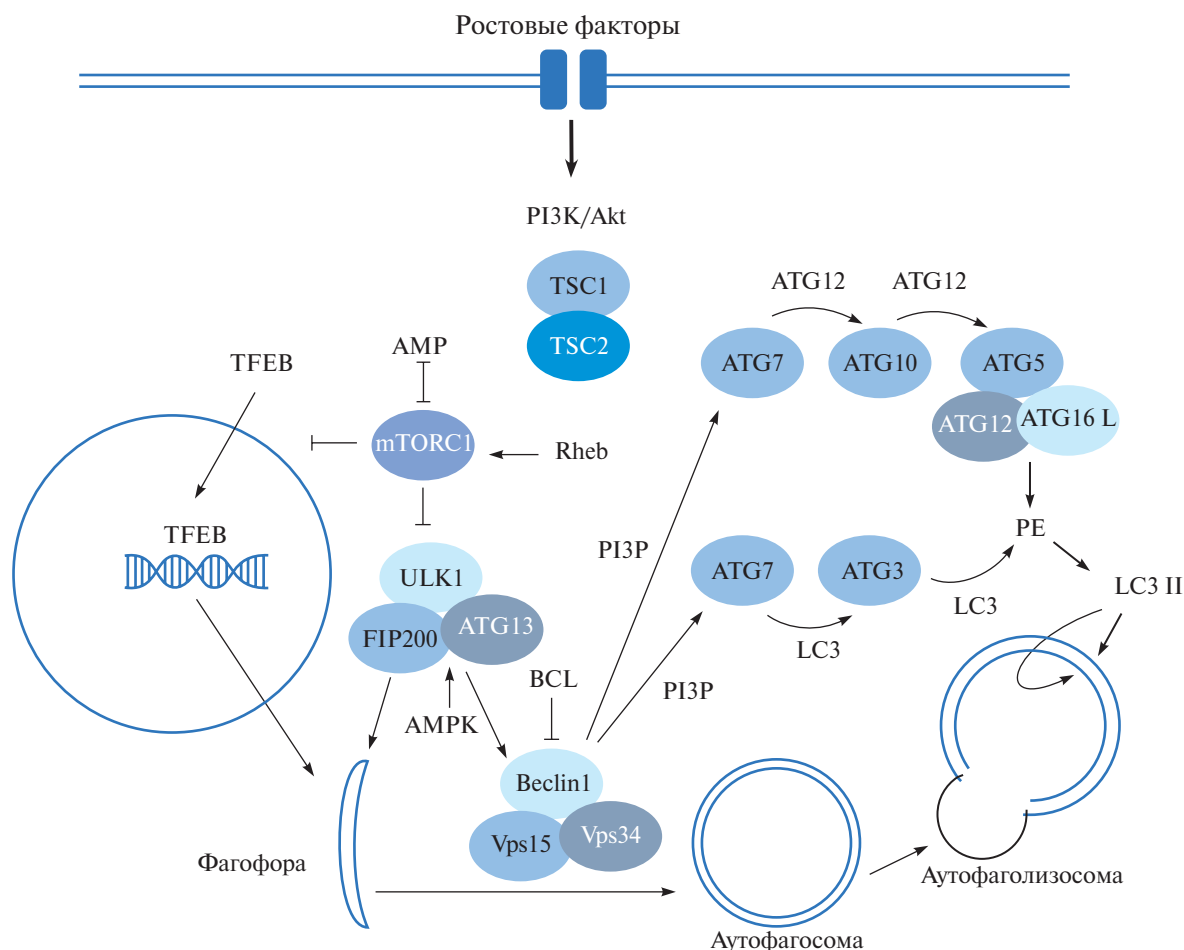
На втором пути конъюгации LC3 последовательно конъюгирует с Atg7 и Atg3. Образование LC3-II необходимо для созревания (матурации) и замыкания мембраны аутофагосомы (Kabeya, 2000; Suzuki, 2013). LC3-II обнаруживается как на внутренней, так и на внешней мембранах аутофагосомы, где он участвует в выборе груза для деградации.

Транспорт груза в аутофагосому – это селективный процесс, который, с одной стороны, регулируется специальными белками-адапторами, среди которых известен белок p62/SQSTM1; с другой стороны, протеин LC3-II может действовать как рецептор, взаимодействующий с белковыми агрегатами или органеллами.

Процесс аутофагии завершается слиянием аутофагосомы с лизосомой, в результате чего образуется аутофаголизосома, внутри которой содержимое деградирует. В том числе деградирует p62/SQSTM1 (Glick, 2010).

В регуляцию катаболических и анаболических процессов вовлечен транскрипционный фактор





**Рис. 2.** Регуляторные пути аутофагии. Аутофагия (АФ) активируется в отсутствие ростовых факторов, например в условиях голодания. АФ ингибируется усилением передачи сигналов фактора роста через группу PI3-киназ класса I и Akt, чтобы стимулировать активность mTORC1 посредством ингибирования комплекса TSC1/TSC2 и повышения активности ГТФазы Rheb. Процесс АФ начинается с образования фагофоры. Его негативно регулирует протеинкиназа mTORC1 серин-треониновой специфичности. При недостатке питательных веществ mTORC1 диссоциирует от комплекса ULK1, и ULK1 активируется и фосфорилирует FIP200, что служит причиной образования фагофоры; образуется преинициаторный комплекс, состоящий из ULK1, FIP200 и Atg13. Сборка этого комплекса необходима для активации комплекса инициации (Beclin 1, VPS15 и VPS34, который генерирует PI3P и рекрутирует Atg7 на поверхность фагофоры). В результате активируются две системы конъюгации с участием белков семейства Atg (Atg5, Atg7, Atg10, Atg12 и др.) Эти белковые взаимодействия необходимы для замыкания и созревания аутофасомы. Затем белок LC3-I образует комплекс с фосфатидилэтаноламином (PE) и генерирует форму LC3-II, которая связана с внешней и внутренней мембраной аутофасомы. Это необходимо для слияния с лизосомой образованной аутофасомы. Затем содержание аутофаголизосомы деградирует. В присутствии питательных веществ киназа mTORC1 может фосфорилировать транскрипционный фактор TFEB и ингибировать его активность, но TFEB становится гипофосфорилированным и локализуется в ядре, когда уровень питательных веществ и энергии низок. Будучи в ядре, TFEB активирует лизосомные и аутофагические гены.

TFEB. Этот фактор регулируется уровнем протеинов и энергетическим статусом клетки. В присутствии питательных веществ киназа mTORC1 может фосфорилировать TFEB и ингибировать его активность, но TFEB становится гипофосфорилированным и локализуется в ядре, когда уровень питательных веществ и энергии низок. Будучи в ядре, TFEB активирует лизосомные и аутофагические гены (Carroll, Dunlop, 2017).

Можно предположить, что при избыточной аутофагии TFEB особенно активен (рис. 2). При

избыточной аутофагии может быть активирована программируемая клеточная смерть II типа, когда деградации подвергаются необходимые клетке элементы.

Аутофагия ингибируется усилением передачи сигналов фактора роста через группу PI3-киназ класса I и Akt, чтобы стимулировать активность mTOR посредством ингибирования TSC1/TSC2 и повышения активности ГТФазы Rheb (Glick, 2010).

О молекулярных механизмах смены поляризации макрофагов под действием аутофагии из-

вестно относительно немного. Рецептор CD206 считается идеальным маркером поляризации макрофагов M2. Известно, что ингибиторы аутофагии подавляют фосфорилирование p38MAPK и экспрессию CD206 в клетках U937, обработанных докозагексаеновой кислотой (DHA).

Кроме того, в клетках U937, обработанных DHA, повышена экспрессия белка LC3II, который ассоциирован с микротрубочками и участвует в образовании аутофагосом. Эти результаты свидетельствуют о том, что DHA регулирует поляризацию макрофагов, сдвигает ее в сторону M2 через сигнальный путь p38MAPK и аутофагию (Kawano et al., 2019).

Известно, что цитокины, вызывающие M2-дифференцировку, а именно IL4 и IL13, вызывают активацию транскрипционного фактора STAT6 (Kawano et al., 2019).

Совсем недавно было показано, что аутофагия репрограммирует макрофаги костного мозга, переводя их в фенотип M2, через индукцию CD38, Atg16L1-1, Atg16L1-3 и аргиназы 1 (Mazher et al., 2023).

Известно, что мезенхимные стволовые клетки способствуют поляризации макрофагов M2 в мышечной модели, что связывают с активацией фактора транскрипции EB (TFEB) и последующим восстановлением лизосомной функции и активности аутофагии в макрофагах мышцы, в которых наблюдали дисбаланс поляризации в связи с нефропатией (Yuan et al., 2020).

Как уже говорилось, в регуляции поляризации макрофагов под действием аутофагии принимает участие транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B. Он состоит из гомо- или гетеродимеров белков семейства Rel (p65, p50, p52, c-Rel и RelB). Активированный гетеродимер p50/p65 отвечает за активацию провоспалительных генов, но с ним конкурирует гомодимер p50/p50 за сайт связывания промоторов провоспалительных генов. Если этот гомодимер все же связывается с такими промоторами, это приводит к блокаде транскрипции провоспалительных генов.

Включение аутофагии подавляет NF- $\kappa$ B через субъединицу p65 и, таким образом, генерирует M2-поляризацию макрофагов. NF- $\kappa$ B деградирует путем селективной аутофагии после убиквитинирования (Kuo et al., 2022). По всей видимости, регуляторный путь поляризации макрофагов при помощи аутофагии состоит из различных структурных модулей, которые могут взаимодействовать друг с другом и менять поляризацию макрофагов.

## ДИНАМИЧЕСКИЙ ХАРАКТЕР МАКРОФАГАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

И.И. Мечников не только открыл макрофагальную систему, он установил, что эти клетки фагоцитируют не только патогены, но и мертвые клетки организма, которому они принадлежат (Metchnikoff, 1892). Этим исследованием было положено начало работ, описывающих роль макрофагов в поддержании гомеостаза организма, а также участие макрофагов в процессах ранозаживления и регенерации.

Удаление апоптотических клеток необходимо в эмбриогенезе, поэтому макрофаги играют незаметную роль, фагоцитируя апоптотические клетки, поскольку при формировании органов одни клетки возникают, другие отмирают, а мертвые клетки необходимо удалять, чтобы они не вызвали воспаления.

Помимо фагоцитоза макрофаги выполняют множество других функций, например: метаболизм железа, аминокислот, липидов и билирубина; ответственность за чувствительность организма к инсулину, резорбцию кости и регенерацию различных тканей. Кроме того, макрофаги регулируют накопление и реорганизацию межклеточного матрикса (Davies et al., 2013).

Ткани в организме находятся в состоянии динамического равновесия. Примером является процесс поддержания костной массы. В костной ткани поддерживается баланс между образованием и резорбцией кости. За формирование кости отвечают остеобласты, а за резорбцию — остеокласты. Функции этих клеток поддерживают гомеостаз кальция в кости. Неограниченная резорбция кости приводит к остеопорозу, а недостаточная функция этих клеток служит причиной остеопетроза. При этом заболевании образуется более плотная, но хрупкая кость. Поэтому в норме работа остеокластов должна поддерживать равновесие (Schlundt 2021).

Еще одним примером динамического баланса является модель атеросклероза. При нем в стенке артерии накапливаются макрофаги, насыщенные холестерином и вызывающие хроническое воспаление. Это происходит в результате дисбаланса липидного обмена и неадекватного иммунного ответа (Peled, Fisher, 2014; Rojas et al., 2015).

На судьбу холестериновой бляшки влияют воспалительный фенотип макрофагов и их количество. Макрофаги бляшки одновременно получают про- и противовоспалительные сигналы, поэтому образование бляшки — процесс динамический. Однако в модели *in vitro* было показано, что макрофаги M1 стимулируют воспалительный

процесс в бляшке, а макрофаги M2 его подавляют (Peled, Fisher, 2014; Rojas et al., 2015).

Новейшие исследования показывают, что головной мозг также является динамическим органом (Jha et al., 2016). Прогрессирование нейродегенеративных заболеваний и процесс репарации черепно-мозговой травмы зависят от баланса между классически и альтернативно активированной микроглией.

Классически активированная микроглия вызывает нейровоспалительную реакцию и может приводить к гибели нейронов, а состояние M2 микроглии оказывает благоприятное воздействие на нейроны (Jha et al., 2016). По этой причине макрофагально/микроглиальная система очень пластична и определяет динамический баланс различных тканей. Поэтому в конкретный момент в тканях могут присутствовать одновременно макрофаги с дифференцировкой M1 и M2.

Именно баланс макрофагальной системы может определять динамический характер разнообразных тканей и проходящих в них процессов. Тканевые макрофаги очень гетерогенны, их фенотип часто определяет та ниша, в которой они находятся в организме.

Макрофаги в ткане-специфических нишах способны к самоподдержанию. Локальные факторы определяют размер популяции макрофагов и продолжительность ее жизни. Плотность популяции макрофагов контролируется трофическими и ростовыми факторами, доступными в нише (Davies et al., 2013).

Аутофагия в норме поддерживает гомеостаз, но может быть и причиной патологии. При избытке аутофагии может тормозиться рост клеток, а также иметь место клеточная гибель, недаром аутофагия считается клеточной смертью II типа.

Усиленная аутофагия отрицательно влияет на процесс заживления кожи и связана с хроническими ранами. Об этом свидетельствует повышенный уровень LC3 в коже мышей с диабетом или в хронических ранах пациентов. Считается, что за этот процесс отвечают макрофаги, и при избыточной аутофагии поляризация макрофагов сдвигается к M1, что сопровождается экспрессией генов провоспалительных цитокинов (Guo et al., 2016).

### РОЛЬ АУТОФАГИИ И ПОЛЯРИЗАЦИИ МАКРОФАГОВ В ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Жировая ткань является во многом эндокринным органом, определяющим устойчивость к инсулину, кроме того, жировая ткань участвует

в терморегуляции и функционирует как энергосберегающая структура. Она регулирует системный метаболизм, выделяя гормоны адипокины.

Жировая ткань состоит из преадипоцитов, эндотелиальных клеток, адипоцитов, а также из макрофагов. В жировой ткани макрофаги очень чувствительны к нарушениям гомеостаза и могут приводить к воспалению в отсутствии инфекции (Fujisaka et al., 2016).

Резистентность к инсулину и ожирение сопровождаются хроническим воспалением в жировой ткани. При диабете I типа имеет место недостаток выработки инсулина в результате дисфункции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, а при диабете II типа развивается инсулинорезистентность вследствие нарушения клеточного инсулинового сигналинга.

Макрофаги с фенотипом M1 способствуют возникновению резистентности к инсулину, в то время как макрофаги M2 поддерживают тканевой гомеостаз, участвуя в удалении умирающих адипоцитов и накоплении предшественников адипоцитов (Chylikova et al., 2018; Nawaz, Tobe, 2019). Даже слабо выраженное воспаление нарушает сигнальные пути инсулина и способствует развитию системной дисрегуляции.

Инсулин должен связаться с рецептором на поверхности клетки, чтобы позволить глюкозе попасть внутрь клетки. Если этого не происходит и возникает резистентность к инсулину, глюкоза не проникает в цитоплазму клетки, и ее уровень в крови повышается, что имеет место при диабете 2 типа (Ahmed et al., 2021).

В этом случае нарушается энергетический баланс внутри клетки, процессы синтеза жирных кислот и протеинов. В поджелудочной железе  $\beta$ -клетки начинают вырабатывать избыток инсулина, чтобы компенсировать перегрузку глюкозой. Это картина характерна для диабета 1 типа, она приводит к изнашиванию  $\beta$ -клеток в результате интенсивной работы. Такой системный дисбаланс является следствием хронического воспаления и часто сопровождается ожирением (Ahmed et al., 2021). Таким образом, второй тип диабета может переходить в первый.

При оценке популяций макрофагов при ожирении было показано, что макрофаги жировой ткани меняют свою поляризацию, переключаясь с M2 фенотипа на M1. В жировой ткани содержится примерно 10% макрофагов, при ожирении их количество увеличивается до 40% (Eijk et al., 2021). Эти макрофаги имеют пенистый фенотип. Эти клетки могут поглощать липидный груз, с ко-

торым не справляются адипоциты, они содержат лизосомы для деградации, а также липидные капли для хранения липидов и демонстрируют воспалительный фенотип (Eijk et al., 2021).

При прогрессировании ожирения адипоциты увеличиваются в размере из-за избыточных энергетических условий, а классически активированные макрофаги M1 накапливаются и вызывают воспаление, негативно влияя на резистентность к инсулину. В то же время альтернативно активированные макрофаги поддерживают функции жировой ткани при недостатке энергетических ресурсов; играют роль в адаптации к условиям избыточной энергии.

Недавно были получены данные о том, что чрезмерное количество липидов может снижать клеточные уровни аутофагии и именно она регулирует иммунный ответ. Это позволяет предположить, что нарушения аутофагии в макрофагах могут способствовать усилению активации иммунного ответа, лежащего в основе ожирения (Liu et al., 2015). Первичные макрофаги костного мозга и перитонеальные макрофаги мышей, получавших диету с высоким содержанием жиров, имеют сниженную активность аутофагии, что говорит о нарушении аутофагического потока в макрофагах у мышей с ожирением.

С возрастом ткани и органы хуже выполняют свои функции, кроме того, падает активность аутофагии, а количество макрофагов в жировой ткани увеличивается, что сопровождается увеличением воспалительных процессов и старением иммунной системы.

Когда практически все макрофаги жировой ткани трансформируются из M2 в M1, они окружают умирающие адипоциты и формируют коронообразную структуру, которая служит маркером резистентности к инсулину и свидетельствует о воспалении (Lu et al., 2021).

В юном возрасте в жировой ткани преобладают макрофаги с фенотипом M2. Они выполняют трофические функции, но с годами их популяция истощается. Начинают преобладать провоспалительные цитокины, такие как TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  (Lu et al., 2021). В макрофагах M1 происходит сдвиг метаболизма от окислительного фосфорилирования к гликолизу и снижается уровень аутофагии (Ghosh et al., 2016). Это способствует увеличению воспаления.

Делеция гена *Atg7*, ответственного за реализацию аутофагии, сдвигает фенотип макрофагов в сторону M1 (Kang et al., 2016). Мыши

с таким нокаутом имеют более высокую степень инфильтрации макрофагами M1 белой жировой ткани по сравнению с мышами дикого типа. Такие мыши имеют сниженную чувствительность к инсулину (Kang et al., 2016).

Оценивая картину, которая наблюдается при развитии хронического воспаления в жировой ткани, можно вспомнить тезис о том, что старение — это хроническое воспаление, которое развивается практически во всех тканях организма, и в жировой в частности.

## РЕГЕНЕРАЦИЯ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ И ПАРАДИГМА M1/M2

Определенный баланс между фенотипами макрофагов M1 и M2 необходим при регенерации скелетных мышц. При хроническом воспалении регенерация нарушается. В процессах регенерации мышц макрофаги играют основную роль, поскольку они связаны с функционированием стволовых клеток скелетных мышц, так называемых сателлитных клеток, а также важны для выживания фибро-адипогенных клеток-предшественников.

Дисбаланс может приводить к накоплению клеток-предшественников с аномально выраженными профиброзными факторами и увеличивать количество компонентов внеклеточного матрикса. Увеличение количества макрофагов M1 снижает или отменяет пролиферацию миобластов, а также нарушает пролиферацию и активацию клеток-сателлитов (Perandini et al., 2018). Повышение уровня макрофагов с фенотипом M2 приводит к накоплению внеклеточного матрикса и фиброзу в скелетных мышцах, что также нарушает регенеративные процессы.

Хроническое воспаление, в том числе старение и ожирение, а также миопатия вызывают одновременное увеличение числа как про-, так и противовоспалительных макрофагов. Это нарушает активацию сателлитных клеток и вызывает накопление фибро-жировых отложений с последующим снижением способности ткани к регенерации (Perandini et al., 2018).

Что касается аутофагии, то известно, что она регулирует иммунное окружение клеток-сателлитов, влияя на поляризацию и рекрутирование макрофагов (Chen et al., 2022). Старение мышечных стволовых клеток связывают с подавлением аутофагии во время ключевых фаз регенеративного процесса (Lee et al., 2019). Было показано, что фармакологическая активация аутофагии восстанавливает мышечную



функцию при миопатиях и способствует регенерации мышц (Chen et al., 2022).

### АУТОФАГИЯ И ГОМЕОСТАЗ КОСТНОЙ ТКАНИ

Макрофаги осуществляют взаимосвязь между различными системами организма, например между жировой тканью и иммунной системой, а также между скелетной и иммунной системами (Yang et al., 2021). Такая взаимосвязь жизненно необходима для регенерации и гомеостаза.

В кости содержится множество субпопуляций макрофагов, некоторые из них, а именно остеокласты, осуществляют резорбцию кости. Эти клетки участвуют в каскаде заживления кости. Фенотипы макрофагов при этом могут быть гораздо сложнее, чем их описывает парадигма M1/M2.

Чтобы не образовывался рубец, фенотип M1 макрофагов должен вовремя смениться на M2. Известно, что ингибирование аутофагии приводит к воспалению в костном мозге. Нокаут по гену *Atg5* в клетках костного мозга приводит к поляризации макрофагов в M1. Эти результаты демонстрируют, что аутофагия подавляет воспаление и выполняет регулируемую функцию. При формировании кости *in vivo* осуществляется переход от фенотипа M1 к M2 (Yang et al., 2021). И тот, и другой фенотип активно участвуют в остеогенезе.

Активация аутофагии в стромальных клетках костного мозга, частью которых являются макрофаги, улучшает остеогенез. Нарушение аутофагии прерывает остеогенную дифференцировку и миграцию стромальных клеток костного мозга (Yang et al., 2021).

Снижение способности к аутофагии и хроническое воспаление снижают способность клеток кости противостоять окислительному стрессу, что сопровождается нарушением гомеостаза костномозговой ткани; такая картина наблюдается при старении. Этот дисбаланс приводит к потере костной массы и остеопорозу. Это происходит, поскольку угнетение аутофагии влечет за собой ингибирование образования кости остеобластами и апоптоз остеоцитов.

Увеличение оксидативного стресса активирует резорбцию кости, апоптоз остеоцитов и снижение активности остеобластов. Аутофагия повышается во время дифференцировки и минерализации остеобластов. А ингибирование аутофагии угнетает минерализацию костей и снижает костную массу в моделях *in vivo* (Montaseri et al., 2020). Нарушение

гомеостаза костной ткани за счет гиперактивации остеокластов вызывает деструктивные заболевания, в частности остеопороз, часто встречающиеся у пожилых людей (Florencio-Silva et al., 2017).

Как это ни странно, имеются сведения о том, что аутофагия усиливается и во время созревания и дифференцировки остеокластов (Aoki et al., 2020). Аутофагия поддерживает митохондриальную функцию остеокластов и положительно коррелирует с их активностью и выживаемостью (Aokis et al., 2020).

Таким образом, аутофагия играет важную роль в резорбции кости и ее формировании. При этом само заболевание остеопороз напоминает хроническое воспаление, при котором резорбтивные функции остеокластов не ограничены.

Модулятор аутофагии рапамицин уменьшает остеопороз у старых крыс, активируя аутофагию в остеоцитах. А фармакологическое ингибирование аутофагии хлорохином или делеция гена *Atg7* снижает остеокластогенез и потерю костной массы (Florencio-Silva et al., 2017). Несмотря на некоторое противоречие экспериментальных данных, можно заключить, что для здорового метаболизма кости важен баланс резорбции и образования кости, и за этот баланс во многом отвечает аутофагия.

### ЗНАЧЕНИЕ АУТОФАГИИ И АКТИВНОСТИ МИКРОГЛИИ ДЛЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Микроглия, в отличие от костномозговых макрофагов, имеет эмбриональное происхождение из желточного мешка и образуется у мыши на седьмые сутки эмбриогенеза. Благодаря своим функциям микроглия имеет транскриптомы и эпигеномы, которые отличаются от других тканевых макрофагов.

Микроглия образуется примерно в то же время, что и нейроны, и отвечает за архитектуру нейрональной ткани мозга. Она играет роль в созревании синапсов мозга, удаляет излишки медиаторов, незрелые или дефектные нейрональные синапсы и проводит так называемую обрезку синапсов; микроглия определяет судьбу и число нейронов (Noyak et al., 2014). Кроме нейронов, микроглия поддерживает олигодендроциты и необходима для нормального миелиногенеза, она также контролирует подрастание сосудов.

Микроглия головного мозга запускает воспалительные процессы, которые возможны в отсутствие патогенов. Хроническое воспаление сопровождается старением не только в жировой и костной

ткани, нейровоспаление может стать причиной старения непосредственно в головном мозге.

Снижение уровня аутофагии наблюдается в стареющем мозге человека. В процессе старения падает активность генов аутофагии *Atg5*, *Atg7* и *Beclin1* (Azam et al., 2021). Одновременно усиливается активность комплекса mTORC1, который ингибирует аутофагию. Такая активность охватывает анаболические процессы, стимулирует метаболические нарушения и агрегацию протеинов (Blagosklonny, 2011).

Можно предположить, что в головном мозге с возрастом увеличивается доля микроглии с поляризацией M1, как это происходит в других органах. Увеличенный уровень воспаления нарушает синаптическую передачу, баланс свободных радикалов и вообще может приводить к гибели нейронов.

Действительно, многие исследования подтверждают, что с возрастом микроглия становится более провоспалительной и отвечает на иммунные вызовы, несмотря на гематоэнцефалический барьер. Показано, что IL-4 *ex vivo* индуцирует профиль M2 в активированной микроглии взрослых мышей, при этом активированная микроглия старых мышей сохраняет заметный профиль M1. Эти данные показывают, что активированная микроглия старых мышей менее чувствительна к противовоспалительному, M2-стимулирующему, действию IL-4 (Fenn et al., 2012).

У пожилых грызунов после стимуляции периферического или центрального иммунитета наблюдается длительное аномальное поведение, когнитивные нарушения и депрессивные расстройства (Fenn et al., 2012). Эти нарушения связывают с провоспалительной активацией микроглии в головном мозге.

Показано нарушение экспрессии рецептора к IL-4 на мембране микроглии старых мышей. Нарушения регуляции микроглии приводит к усиленной и продолжительной активации микроглии.

При старении снижается уровень самого IL-4 в головном мозге старых крыс, что соответствует усилению нейровоспаления. Пониженная чувствительность к IL-4 может быть вовлечена не только в процесс старения, но и в неврологические заболевания. Например, продукция IL-4 в мозге при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите и множественном склерозе позитивно коррелирует с ремиссией заболевания (Fenn et al., 2012).

Таким образом, активация перехода от фенотипа макрофагов и микроглии M1 к фенотипу M2 является принципиальной терапевтической стра-

тегией. Это актуально не только для широкого спектра нейродегенеративных заболеваний, но и для замедления старения и предотвращения связанных с ним патологий.

Одно из часто встречающихся нейродегенеративных заболеваний – болезнь Альцгеймера. Она характеризуется аномальным процессингом двух белков –  $\beta$ -амилоида и Тау. Накопление в тканях этих белков приводит к патологическому образованию экстраклеточных сенильных бляшек и внутриклеточных нейрофибриллярных клубков.  $\beta$ -амилоид является фрагментом более крупного белка – предшественника APP.

Этот трансмембранный белок играет важную роль в росте нейрона, его выживании и восстановлении после повреждений. Протеин APP в норме должен расщепляться  $\alpha$ -секретазой, но если такое расщепление отсутствует, этот протеин расщепляется  $\beta$ - и  $\gamma$ -секретазами. В этом случае как раз и образуется  $\beta$ -амилоид, из которого состоят сенильные бляшки (Sery et al., 2013).

При болезни Альцгеймера  $\beta$ -амилоид является активатором микроглии, что имитирует ситуацию хронического воспаления. Дисфункция M2 при этом заболевании и чрезмерная активность микроглии M1 способствуют патологическому повреждению нейронов при воспалении. Изменяя поляризацию на M2, можно добиться восстановления тканей и активации фагоцитоза для снижения уровня  $\beta$ -амилоида и облегчить последствия заболевания (Xue et al., 2021).

При болезни Альцгеймера также нарушается функционирование аутофагии, а именно митофагии. От правильного функционирования митохондрий зависит своевременное удаление  $\beta$ -амилоида. Было установлено, что эффективность микроглии по удалению бляшек  $\beta$ -амилоида уменьшает хроническое воспаление и митохондриальную дисфункцию.

Восстановление нормального функционирования митохондрий и митофагии в микроглии уменьшает нейровоспаление и оказывает нейропротекторное действие (Agrawal, Jha, 2020). Было показано, что аутофагия в микроглии нарушается при долгом контакте с  $\beta$ -амилоидом, что имеет место при прогрессировании болезни Альцгеймера.

На мышинной модели показано накопление субстрата аутофагии p62 и агрегатов убиквитина в клетках микроглии рядом с отложением  $\beta$ -амилоида в гиппокампе (Pomilio et al., 2020). Это значит, что аутофагический поток не реализуется и  $\beta$ -амилоид не удаляется.

Разработка подходов к репрограммированию макрофагов очень важна для терапии болезни Альцгеймера. Поэтому модуляция аутофагии представляется перспективным инструментом для направленной поляризации микроглии, что может иметь важное клиническое значение в будущем.

Направленная регуляция поляризации макрофагов необходима и при опухолегенезе. Но в этом случае необходимо индуцировать поляризацию макрофагов М1 для успешной терапии. Это актуально практически для всех солидных опухолей человека, в частности для опухолей головного мозга.

Глиобластома является наиболее опасной первичной опухолью головного мозга человека. В трехмерной модели было показано, что опухоли, подобные глиобластоме, как и многие другие опухоли человека, направляют поляризацию макрофагов в сторону фенотипа М2 для построения иммуносупрессивной и проангиогенной ниши.

Было показано, что противовоспалительные макрофаги М2 способствуют ангиогенезу, в то время как М1-подобные провоспалительные макрофаги подавляют ангиогенез, который авторы (Cui et al., 2018) назвали ангиогенезом, обусловленным воспалением: растворимые иммуносупрессивные цитокины, продуцируемые М2-подобными макрофагами, например TGF- $\beta$  и интегрин  $\alpha\beta 3$  на их поверхности, взаимодействующие с эндотелием, необходимы для ангиогенеза, обусловленного воспалением. В этом случае возможно, что подавление аутофагии в опухоли-ассоциированных макрофагах было бы актуально для успешной терапии заболевания.

Для лечения нейродегенеративных заболеваний, напротив, перспективной представляется активация аутофагии в микроглиальных клетках. Накапливается все больше данных о том, что с возрастом микроглия претерпевает морфологические и физиологические изменения, которые могут привести к хроническому воспалению. Микроглия с такой активностью приводит к нейродегенеративным расстройствам или усугубляет текущую патологию центральной нервной системы.

Действительно, время является стрессовым фактором и фактором риска для нейродегенеративных заболеваний (Nikodemova et al., 2016). Необходимо понимать роль микроглии обоих фенотипов в регенеративном процессе ремиелинизации, который может следовать за демиелинизацией в головном мозге.

Было показано, что происходит переключение фенотипа микроглии с М1 на М2, когда начинается ремиелинизация. Дифференцировка

олигодендроцитов усиливается *in vitro* в среде, кондиционированной микроглиальными клетками с фенотипом М2, и нарушается *in vivo* после истощения клеток М2 внутри очага поражения. Блокирование активина А, характерного для клеток М2, ингибирует дифференцировку олигодендроцитов во время ремиелинизации в культурах клеток мозжечка. Таким образом, эти результаты показывают, что поляризация клеток микроглии М2 необходима для эффективной ремиелинизации (Miron et al., 2013).

Особенно механизмы демиелинизации актуальны для рассеянного склероза – хронического аутоиммунного воспалительного заболевания, характеризующегося не только демиелинизацией, но и повреждением аксонов, деструкцией гематоэнцефалического барьера.

Многие нейротоксические молекулы присутствуют в очагах рассеянного склероза. Это радикалы NO, активные формы кислорода, глутамат, активированные компоненты комплемента и провоспалительные цитокины, характерные для микроглии с поляризацией М1. М1-микроглия, активированная LPS или IFN $\gamma$ , токсична для зрелых олигодендроцитов. Обработка микроглии IL-4, который является индуктором дифференцировки микроглии в М2, стимулирует олигоденрогенез, повышая продукцию IGF-1. Такая обработка снижает продукцию токсичных факторов М1 микроглии и увеличивает выживаемость и дифференцировку предшественников олигодендроцитов (Cao, He, 2013).

Еще одним заболеванием, характеризующимся хроническим воспалением и нейродегенерацией, является болезнь Паркинсона. Она характеризуется потерей дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции и отложением  $\alpha$ -синуклеина в тельцах Леви, нейритах Леви и некоторых нейронах. Маркеры воспаления отмечаются вокруг и внутри черной субстанции при болезни Паркинсона.

При этом заболевании наблюдается повышенная активация микроглии, инфильтрация Т- и В-клетками, отложения иммуноглобулинов в черной субстанции и других областях мозга, связанных с агрегацией  $\alpha$ -синуклеина (Moehle, West, 2015). На течение болезни может оказывать влияние баланс между поляризацией микроглии М1/М2.

Как уже говорилось, процесс аутофагии может во многом определять этот баланс. Недавно было показано, что удаление микроглиального *Atg5* вызывало симптомы, подобные болезни Паркинсона, у мышей, характеризующиеся нарушением

координации движений, когнитивного обучения, усилением нейровоспаления и снижением уровня дофамина в полосатом теле (Cheng et al., 2020).

Активация аутофагии увеличивает M2-маркеры микроглии, но снижает маркеры M1. В то же время ингибирование аутофагии увеличивает M1, но редуцирует M2-маркеры микроглии. Нокдаун *Atg5* достаточен, чтобы перевести микроглию в статус M1. TNF- $\alpha$  нарушает аутофагический поток.

Полиморфизм гена человека, кодирующего TNF- $\alpha$ , увеличивает риск развития болезни Паркинсона. В дофаминергических клетках, обработанных TNF- $\alpha$ , выявляется дефицит аутофагии. Ученые пришли к заключению, что хроническое воспаление, опосредованное микроглией, служит патогенным фактором болезни Паркинсона.

Нарушение аутофагического потока может приводить к накоплению  $\alpha$ -синуклеина в нейронах головного мозга. TNF- $\alpha$  ингибирует аутофагический поток, активируя сигнальный путь Akt/mTOR (Jin et al., 2018). IL-10, вызывающий M2-дифференцировку в микроглии, усиливает аутофагию в макрофагах (Agrawal, Jha, 2020).

Кроме того, на мышинной модели было показано, что с возрастом активируется поляризация микроглии M1 и подавляется M2, что оказывается критично для такого нейродегенеративного заболевания, как болезнь Паркинсона. Старение значительно усугубляет двигательную дисфункцию и утрату дофаминергических нейронов в нервной системе. Кроме того, увеличивается экспрессия белков воспаления TLR2 и pNF- $\kappa$ B в группе пожилых мышей. Таким образом, при старении усугубляется воспалительная реакция за счет перехода фенотипа микроглии из M2 в M1 и падения активности аутофагии (Yao, Zhao, 2018).

Известно, что рапамицин замедляет старение и способствует долголетию (Blagosklonny, 2018). Возможно, геропротекторные эффекты рапамицина связаны со способностью активировать аутофагию в микроглии и переводить ее в фенотип M2. В результате этого сохраняется жизнеспособность нейронов и нивелируется воспаление.

Митохондриальные компоненты при высвобождении в цитоплазму распознаются как молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (damage-associated molecular patterns) с помощью NOD-подобных рецепторов и инфламماسомы NLRP3. Эта инфламмазома превращает неактивную прокаспазу 1 в активную форму, которая расщепляет провоспалительный IL1 $\beta$  до зрелого IL1 $\beta$ , вызывая воспаление и преждевре-

менную гибель клеток, например клеток сетчатки. Чтобы противостоять повреждающему действию DAMPS, необходимо удаление поврежденных митохондрий при помощи аутофагии, а именно митофагии (Singh et al., 2018). Накопление DAMPS с возрастом считается “тикающей бомбой старения” (Kapetanovic et al., 2015).

DAMPS накапливаются также при хроническом воспалении, и несвоевременное удаление митохондрий и инфламмасом при помощи аутофагии может способствовать не только хроническому воспалению, но даже развитию лейкозов (Urwansch et al., 2021). Было показано, что низкомолекулярный флавонол кемпферол (разновидность флавоноидов) защищает мышей от нейродегенерации, вызванной ЛПС. Кемпферол способствует макроаутофагии и дезактивирует инфламмасому NLRP3 (Han et al., 2019).

Избыточная аутофагия все же может способствовать клеточной гибели, и эта роль порой дуалистична. Рецептор конечных продуктов усиленного гликозилирования (RAGE), известный как индуктор воспаления через NF- $\kappa$ B, также промотирует аутофагию (Yamate et al., 2023)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Парадигма макрофагов M1/M2 остается предметом исследований, поскольку направленная дифференцировка фенотипа макрофагов в M1 или M2 может служить перспективным подходом к терапии многих заболеваний – от опухолей до нейродегенеративных процессов.

Относительно недавно была описана роль аутофагии в направленной дифференцировке макрофагов. Мы утверждаем, что дифференцировка макрофагов в M2 под действием аутофагии является частным случаем репрограммирования клетки, поскольку сопровождается сменой белкового контента и паттерна экспрессии генов. Кроме того, репрограммирование макрофагов в сторону M2 сопровождается метаболическим сдвигом в сторону окислительного фосфорилирования.

Свежие данные говорят о том, что в смене поляризации макрофага играют роль также рецепторы, запускающие аутофагию. Таким образом, можно говорить о том, что аутофагия способна менять весь принцип поддержания гомеостаза клетки, затрагивая экспрессию генов, синтез белка и тип метаболизма. Аутофагия активирует транскрипционные факторы, регулирует численность митохондрий и изменяет количество рецепторов.



В связи с широким спектром эффектов аутофагии следует считать ее одним из важных ключей, регулирующих биологические функции клетки. Вследствие этого аутофагия может стать предпочтительной целью при разработке терапевтических подходов.

На основании новейших литературных данных можно заключить, что подавление аутофагии активизирует провоспалительные функции макрофагов и может стать перспективной основой подхода к терапии онкозаболеваний. Напротив, активация аутофагии, переводящая микроглию в фенотип M2, может применяться для терапии нейродегенеративных заболеваний, в частности болезни Альцгеймера, Паркинсона и рассеянного склероза.

Основное ограничение парадигмы M1/M2 заключается в том, что процесс образования подтипов M1 и M2 более вероятен для моноцитарных макрофагов, чем для макрофагов резидентных, которые могут не иметь выраженной склонности к поляризации M1/M2. Несмотря на это, исследование парадигмы, актуальной для макрофагов и микроглии, открывает широкие горизонты для дальнейшего изучения фагоцитирующих клеток, появившихся на ранних этапах эволюции жизненных форм и выполняющих фундаментальные биологические функции у млекопитающих.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-25-20229, <https://rscf.ru/project/22-25-20229/>) и Санкт-Петербургского научного фонда в соответствии с соглашением от 13 апреля 2022 г. № 05/2022.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Agrawal I., Jha S.* 2020. Mitochondrial dysfunction and Alzheimer's disease: role of microglia. *Front. Aging Neurosci.* V. 12. P. 252.
- Ahmed B., Sultana R., Greene M.W.* 2021. Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomed. Pharmacother.* V. 137. P. 111315. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111315>
- Aoki S., Shimizu K., Ito K.* 2020. Autophagy-dependent mitochondrial function regulates osteoclast differentiation and maturation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 527. P. 874.
- Azam S., Haque M.E., Kim I.S., Choi D.K.* 2021. Microglial turnover in ageing-related neurodegeneration: therapeutic avenue to intervene in disease progression. *Cells.* V. 10. P. 150.
- Blagosklonny M.V.* 2011. Progeria, rapamycin and normal aging: recent breakthrough. *Aging.* V. 3. P. 685.
- Blagosklonny M.V.* 2018. Does rapamycin slow down time? *Oncotarget.* V. 9. P. 30210. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25788>
- Cao L., He C.* 2013. Polarization of macrophages and microglia in inflammatory demyelination. *Neurosci. Bull.* V. 29. P. 189.
- Carroll B., Dunlop E.A.* 2017. The lysosome: a crucial hub for AMPK and mTORC1 signalling. *Biochem. J.* V. 474. P. 1453.
- Chen W., Chen Y., Liu Y., Wang X.J.* 2022. Autophagy in muscle regeneration: potential therapies for myopathies. *Cachexia Sarcopenia Muscle.* V. 13. P. 1673.
- Cheng J., Liao Y., Dong Y., Hu H., Yang N., Kong X., Li S., Li X., Guo J., Qin L., Yu J., Ma C., Li J., Li M., Tang B., Yuan Z.* 2020. Microglial autophagy defect causes parkinson disease-like symptoms by accelerating inflammasome activation in mice. *Autophagy.* V. 16. P. 2193–2205. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1719723>
- Chylikova J., Dvorackova J., Tauber Z., Kamarad V.* 2018. M1/M2 macrophage polarization in human obese adipose tissue. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub.* V. 162. P. 79.
- Cui X., Morales R.T., Qian W., Wang H., Gagner J.P., Dolgalev I., Placantonakis D., Zagzag D., Cimmino L., Snuderl M., Lam R.H.W., Chen W.* 2018. Hacking macrophage-associated immunosuppression for regulating glioblastoma angiogenesis. *Biomaterials.* V. 161. P. 164.
- Davies L.C., Jenkins S.J., Allen J.E., Taylor P.R.* 2013. Tissue-resident macrophages. *Nat. Immunol.* V. 14. P. 986.
- Fenn A.M., Henry C.J., Huang Y., Dugan A., Godbout J.P.* 2012. Lipopolysaccharide-induced interleukin (IL)-4 receptor- $\alpha$  expression and corresponding sensitivity to the M2 promoting effects of IL-4 are impaired in microglia of aged mice. *Brain Behav. Immunol.* V. 26. P. 7667.
- Florencio-Silva R., Sasso G.R., Simões M.J., Simões R.S., Baracat M.C., Sasso-Cerri E., Cerri P.S.* 2017. Osteoporosis and autophagy: what is the relationship? *Rev. Assoc. Med. Bras.* V. 63. P. 173.
- Fujisaka S., Usui I., Nawaz A., Takikawa A., Kado T., Igarashi Y., Tobe K.* 2016. M2 macrophages in metabolism. *Diabetol. Int.* V. 7. P. 342.
- Ghosh A.K., Mau T., O'Brien M., Garg S., Yung R.* 2016. Impaired autophagy activity is linked to elevated ER-stress and inflammation in aging adipose tissue. *Aging (Albany NY).* V. 8. P. 2525.
- Glick D., Barth S., Macleod K.* 2010. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J. Pathol.* V. 221. P. 3.
- Green D.R., Llambi F.* 2015. Cell death signaling. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* V. 7. P. a006080. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006080>
- Guo Y., Lin C., Xu P., Wu S., Fu X., Xia W., Yao M.* 2016. AGEs induced autophagy impairs cutaneous wound healing via stimulating macrophage polarization to M1 in diabetes. *Sci. Rep.* V. 6. P. 36416. <https://doi.org/10.1038/srep36416>
- Guo Y., Feng Y., Cui X., Wang Q., Pan X.* 2019. Autophagy inhibition induces the repolarisation of tumour-associated macrophages and enhances chemosensitivity of laryngeal cancer cells to cisplatin in mice. *Cancer Immunol. Immunother.* V. 68. P. 1909.
- Han X., Sun S., Sun Y., Song Q., Zhu J., Song N., Chen M., Sun T., Xia M., Ding J., Lu M., Yao H., Hu G.* 2019. Small molecule-driven NLRP3 inflammation inhibition

- via interplay between ubiquitination and autophagy: implications for Parkinson disease. *Autophagy*. V. 15. P. 1860.
- Hesketh M., Sahin K.B., West Z.E., Murray R.Z. 2017. Macrophage phenotypes regulate scar formation and chronic wound healing. *Int. J. Mol. Sci.* V. 18. P. 1545. <https://doi.org/10.3390/ijms18071545>
- Jha M.K., Lee W.H. 2016. Functional polarization of neuroglia: Implications in neuroinflammation and neurological disorders. *Suk. K. Biochem. Pharmacol.* V. 103. P. 1.
- Jin M.M., Wang F., Qi D., Liu W.W., Gu C., Mao C.J., Yang Y.P., Zhao Z., Hu L.F., Liu C.F. 2018. A critical role of autophagy in regulating microglia polarization in neurodegeneration. *Front. Aging Neurosci.* V. 10. P. 378.
- Kabeya Y., Mizushima N., Ueno T., Yamamoto A., Kirisako T., Noda T., Kominami E., Ohsumi Y., Yoshimori T. 2000. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosomal membranes after processing. *EMBO J.* V. 19. P. 5720.
- Kametaka S., Okano T., Ohsumi M., Ohsumi Y. 1998. Apg14p and Apg6/Vps30p form a protein complex essential for autophagy in the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* V. 273. P. 22284.
- Kang Y.H., Cho M.H., Kim J.Y., Kwon M.S., Peak J.J., Kang S.W., Yoon S.Y., Song Y. 2016. Impaired macrophage autophagy induces systemic insulin resistance in obesity. *Oncotarget*. V. 7. P. 35577.
- Kapetanovic R., Bokil N.J., Sweet M.J. 2015. Innate immune perturbations, accumulating DAMPs and inflammasome dysregulation: A ticking time bomb in ageing. *Ageing Res. Rev.* V. 24. Pt A. P. 40.
- Kapoor N., Niu J., Saad Y., Kumar S., Sirakova T., Becerra E., Li X., Kolattukudy P.E. 2015. Transcription factors STAT6 and KLF4 implement macrophage polarization via the dual catalytic powers of MCPIP. *J. Immunol.* V. 194. P. 6011.
- Kawamata T., Kamada Y., Kabeya Y., Sekito T., Ohsumi Y. 2008. Organization of the pre-autophagosomal structure responsible for autophagosome formation. *Mol. Biol. Cell.* V. 19. P. 2039.
- Kawano A., Ariyoshi W., Yoshioka Y., Hikiji H., Nishihara T., Okinaga T. 2019. Docosahexaenoic acid enhances M2 macrophage polarization via the p38 signaling pathway and autophagy. *J. Cell Biochem.* V. 120. P. 12604–12617.
- Klionsky D.J., Abdel-Aziz A.K., Abdelfatah S., Abdellatif M., Abdoli A., Abel S., Abeliovich H., Abildgaard M.H., Abudu Y.P., Acevedo-Arozena A., Adamopoulos I.E., Adeli K., Adolph T.E., Adornetto A., Aflaki E., et al. 2021. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy*. V. 17. P. 1.
- Kuo W.T., Chang J.M., Chen C.C., Tsao N., Chang C.P. 2022. Autophagy drives plasticity and functional polarization of tumor-associated macrophages. *IUBMB Life.* V. 74. P. 157.
- Lee D.E., Bareja A., Bartlett D.B., White J.P. 2019. Autophagy as a therapeutic target to enhance aged muscle regeneration. *Cells*. V. 8. P. 183.
- Lee J.W., Park S., Takahashi Y., Wang H.G. 2010. The association of AMPK with ULK1 regulates autophagy. *PLoS. One.* V. 5. P. e15394.
- Liu K., Zhao E., Ilyas G., Lalazar G., Lin Y., Haseeb M., Tanaka K.E., Czaja M.J. 2015. Impaired macrophage autophagy increases the immune response in obese mice by promoting proinflammatory macrophage polarization. *Autophagy*. V. 11. P. 271.
- Liu R., Cui J., Sun Y., Xu W., Wang Z., Wu M., Dong H., Yang C., Hong S., Yin S., Wang H. 2021. Autophagy deficiency promotes M1 macrophage polarization to exacerbate acute liver injury via Atg5 repression during aging. *Cell Death Discov.* V. 7. P. 397.
- Lu B., Huang L., Cao J., Li L., Wu W., Chen X., Ding C. 2021. Adipose tissue macrophages in aging-associated adipose tissue function. *J. Physiol. Sci.* V. 71. P. 38.
- Mauthe M., Orhon I., Rocchi C., Zhou X., Luhr M., Hiji-kema K.J., Coppes R.P., Engedal N., Mari M., Reggiori F. 2018. Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy*. V. 14. P. 1435.
- Mazher M., Moqidem Y.A., Zidan M., Sayed A.A., Abdellatif A. 2023. Autophagic reprogramming of bone marrow-derived macrophages. *Immunol. Res.* V. 71. P. 229.
- Metchnikoff E. 1892. *Lecons sur la pathologie comparee de L'inflammation*. Masson: Paris.
- Miron V.E., Boyd A., Zhao J.W., Yuen T.J., Ruckh J.M., Shadrach J.L., van Wijngaarden P., Wagers A.J., Williams A., Franklin R.J.M., Ffrench-Constant C. 2013. M2 microglia and macrophages drive oligodendrocyte differentiation during CNS remyelination. *Nat. Neurosci.* V. 16. P. 1211.
- Moehle M.S., West A.B. 2015. M1 and M2 immune activation in Parkinson's disease: foe and ally? *Neurosci.* V. 302. P. 59.
- Montaseri A., Giampietri C., Rossi M., Riccioli A., Del Fat-tore A., Filippini A. 2020. The role of autophagy in osteoclast differentiation and bone resorption function. *Biomolecules*. V. 10. P. 1398.
- Nawaz A., Tobe K. 2019. M2-like macrophages serve as a niche for adipocyte progenitors in adipose tissue. *J. Diabetes Investig.* V. 10. P. 1394.
- Nikodemova M., Small A.L., Kimyon R.S., Watters J.J. 2016. Age-dependent differences in microglial responses to systemic inflammation are evident as early as middle age. *Physiol. Genomics*. V. 48. P. 336.
- Nayak D., Roth T.L., McGavern D.B. 2014. Microglia development and function. *Annu. Rev. Immunol.* V. 32. P. 367.
- Orihuela R., McPherson C.A., Harry G.J. 2016. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *Br. J. Pharmacol.* V. 73. P. 649.
- Peled M., Fisher E.A. 2014. Dynamic aspects of macrophage polarization during atherosclerosis progression and regression. *Front. Immunol.* V. 5. P. 579.
- Perandini L.A., Chimin P., Lutkemeyer D.D.S., Câmara N.O.S. 2018. Chronic inflammation in skeletal muscle impairs satellite cells function during regeneration: can physical exercise restore the satellite cell niche? *FEBS J.* V. 285. P. 1973.
- Pomilio C., Gorjod R.M., Riudavets M., Vinuesa A., Presa J., Gregosa A., Bentivegna M., Alaimo A., Alcon S.P.,

- Sevlever G., Kotler M.L., Beauquis J., Saravia F. 2020. Microglial autophagy is impaired by prolonged exposure to  $\beta$ -amyloid peptides: evidence from experimental models and Alzheimer's disease patients. *Geroscience*. V. 42. P. 613.
- Rojas J., Salazar J., Martínez M.S., Palmar J., Bautista J., Chávez-Castillo M., Gómez A., Bermúdez V. 2015. Macrophage heterogeneity and plasticity: impact of macrophage biomarkers on atherosclerosis. *Hindawi Publ. Corporation Scientifica*. P. 851252. <https://doi.org/10.1155/2015/851252>
- Schlundt C., Fischer H., Bucher C.H., Rendenbach C., Duda G.N., Schmidt-Bleek K. 2021. The multifaceted roles of macrophages in bone regeneration: A story of polarization, activation and time. *Acta Biomater.* V. 133. P. 46.
- Serý O., Povářová J., Míšek I., Pešák L., Janout V. 2013. Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: a review. *Folia Neuropathol.* V. 51. P. 1.
- Singh L.P., Yumnamcha T., Swornalata Devi T. 2018. Mitophagic flux deregulation, lysosomal destabilization and NLRP3 inflammasome activation in diabetic retinopathy: potentials of gene therapy targeting TXNIP and the redox system. *Ophthalmol. Res. Rep.* V. 3. P. ORRT-126.
- Stone A.E.L., Green R., Wilkins C., Hemann E.A., Gale M. 2019. RIG-I-like receptors direct inflammatory macrophage polarization against West Nile virus infection. *Jr. Nat. Commun.* V. 10. P. 3649.
- Su T.T. 2018. Cellular plasticity, caspases and autophagy; that which does not kill us, well, makes us different. *Open Biol.* 2018. V. 8. P. 180157. <https://doi.org/10.1098/rsob.180157>
- Suzuki K., Akioka M., Kondo-Kakuta C., Yamamoto H., Ohsu-mi Y. 2013. Fine mapping of autophagy-related proteins during autophagosome formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Sci.* V. 126. P. 2534.
- Urwanisch L., Luciano M., Horejs-Hoeck J. 2021. The NLRP3 inflammasome and its role in the pathogenicity of leukemia. *Int. J. Mol. Sci. V. 22. P. 1271.* <https://doi.org/10.3390/ijms22031271>
- Van Eijk M., Aerts J.M.F.G. 2021. The unique phenotype of lipid-laden macrophages. *Int. J. Mol. Sci. V. 22: P. 4039.* <https://doi.org/10.3390/ijms22084039>
- Xue Y., Nie D., Wang L.J., Qiu H.C., Ma L., Dong M.X., Tu W.J., Zhao J. 2021. Microglial polarization: novel therapeutic strategy against ischemic stroke. *Aging Dis.* V. 12. P. 466.
- Yamate J, Izawa T, Kuwamura M. J 2023. Macrophage pathology in hepatotoxicity. *Toxicol. Pathol.* V. 36. P. 51. <https://doi.org/10.1293/tox.2022-0112>
- Yang L., Xiao L., Gao W., Huang X., Wei F., Zhang Q., Xiao Y. 2021. Macrophages at low-inflammatory status improved osteogenesis via autophagy regulation. *Tiss. Eng. Part. A.* P. 021.
- Yao K., Zhao Y.F. 2018. Aging modulates microglia phenotypes in neuroinflammation of MPTP-PD mice. *Exp. Gerontol.* V. 111. P. 86.
- Yuan Y., Li L., Zhu L., Liu F., Tang X., Liao G., Liu J., Cheng J., Chen Y., Lu Y. 2020. Mesenchymal stem cells elicit macrophages into M2 phenotype via improving transcription factor EB-mediated autophagy to alleviate diabetic nephropathy. *Stem Cells.* V. 38. P. 639.
- Zhang Q., Sioud M. 2023. Tumor-associated macrophage subsets: shaping polarization and targeting. *Int. J. Mol. Sci. V. 24: 7493.* doi: 10.3390/ijms24087493
- Zubova S.G., Suvorova I.I., Karpenko M.N. 2022. Macrophage and microglia polarization: focus on autophagy-dependent reprogramming. *Front Biosci. (Schol Ed).* V. 14: 3. doi: 10.31083/j.fbs1401003

## THE ROLE OF AUTOPHAGY AND MACROPHAGE POLARIZATION IN THE PROCESSES OF CHRONIC INFLAMMATION AND REGENERATION

S. G. Zubova<sup>a, \*</sup>, A. V. Morshneva<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia

\* E-mail: [egretta\\_julia@mail.ru](mailto:egretta_julia@mail.ru)

The cause of many serious illnesses, including diabetes, obesity, osteoporosis and neurodegenerative diseases is chronic inflammation that develops in adipose tissue, bones or the brain. This inflammation occurs due to a shift in the polarization of macrophages/microglia towards the pro-inflammatory phenotype M1. It has now been proven that the polarization of macrophages is determined by the intracellular level of autophagy in the macrophage. By modulating autophagy, it is possible to cause switching of macrophage activities towards M1 or M2. Summarizing the material accumulated in the literature, we believe that the activation of autophagy reprograms the macrophage towards M2, replacing its protein content, receptor apparatus and including a different type of metabolism. The term reprogramming is most suitable for this process, since it is followed by a change in the functional activity of the macrophage, namely, switching from cytotoxic pro-inflammatory activity to anti-inflammatory (regenerative). Modulation of autophagy can be an approach to the treatment of oncological diseases, neurodegenerative disorders, osteoporosis, diabetes and other serious diseases.

**Keywords:** macrophage, microglia, M1/M2 phenotype, autophagy, reprogramming