

Анализ фагоцитарной активности макрофагов моноцитарного происхождения и клеток Купфера

А. В. Ельчанинов^{1, 2}, А. В. Лохонина^{1, 2}, А. В. Макаров^{1, 3}, И. В. Арутюнян^{1, 4},
 М. В. Гринберг², Г. А. Ладыгина³, Л. А. Князева³, Г. Б. Большакова⁴,
 Т. Х. Фатхудинов^{1, 2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

³ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

⁴ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Россия

Цель исследования – сравнить фагоцитарную способность макрофагов моноцитарного происхождения как без активации, так и в условиях воздействия факторов М1- и М2-фенотипа.

Материал и методы. Моноциты периферической крови и клетки Купфера печени самцов крыс Вистар получали методом градиентного центрифугирования. Клетки Купфера и моноциты крысы переносили в ростовую среду RPMI. Для активации в направлении М1-фенотипа в среду вносили липополисахарид (ЛПС) и интерферрон- γ . Для активации М2-фенотипа в среду вносили интерлейкин 4, интерлейкин 10 и интерлейкин 13. Полученные культуры макрофагов окрашивали с помощью антител к CD68. Для изучения фагоцитарной активности макрофагов клетки сажали на чашки для прижизненной микроскопии и в культуральную среду вносили латексные бусины.

Результаты. Полученные культуры макрофагов моноцитарного происхождения и клеток Купфера экспрессировали CD68 на высоком уровне, добавление факторов активации не изменяло выраженность экспрессии маркера. Через 1 час после добавления в культуральную среду латексных частиц неактивированные моноцитарные макрофаги статистически значимо активнее поглощали частицы, чем клетки Купфера. Активация факторами М1- и М2-фенотипа приводила к повышению фагоцитарной активности как макрофагов моноцитарного происхождения, так и клетками Купфера. Наибольшее активирующее влияние на фагоцитарную активность оказывали факторы индукции М1-фенотипа.

Выводы. Для макрофагов моноцитарного происхождения и клеток Купфера характерна разная динамика фагоцитарной активности. Моноцитарные макрофаги изначально обладают более выраженной поглотительной способностью, которая постепенно нарастает во время эксперимента. Для клеток Купфера характерно резкое колебание фагоцитарной активности: быстрое нарастание и быстрое насыщение.

Ключевые слова: макрофаги, клетки Купфера, моноциты, фагоцитоз.

© A. V. El'chaninov^{1, 2}, A. V. Likhonina^{1, 2}, A. V. Makarov^{1, 3}, I. V. Arutyunyan^{1, 4}, M. V. Grinberg², G. A. Ladygina³, L. A. Knyazeva³, G. B. Bol'shakova⁴, T. Kh. Fatkhudinov^{1, 2}, 2018

¹V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

²The Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

³Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

⁴Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

Analysis of Phagocytic Activity of Macrophages of Monocytic Origin and Kupfer Cells

The purpose of the study was to compare the phagocytic activity of macrophages of monocytic origin both without activation and under the influence of factors of the M1 and M2 phenotype.

Material and methods. Peripheral blood monocytes and Kupfer liver cells of male Wistar rats were obtained by gradient centrifugation. The Kupfer cells and rat monocytes were transferred to RPMI growth medium. To activate in the direction of the M1-phenotype, LPS and IFN- γ were introduced into the medium. To activate the M2 phenotype, IL 4, IL10, and IL 13 were added to the medium. The obtained macrophage cultures were stained with antibodies to CD68. To study the phagocytic activity of macrophages, the cells were placed on plates for intravital microscopy and latex beads were added to the culture medium.

Results. The macrophage cultures of monocytic origin and Kupfer cells expressed CD68 at a high level, the addition of activation factors did not change the expression of the marker. 1 hour after the addition of latex particles to the culture medium, unactivated monocytic macrophages statistically significantly absorbed particles more than Kupfer cells. Activation by factors of the M1 and M2 phenotype led to an increase in the phagocytic activity of both macrophages of monocytic origin and Kupfer cells. The most activating effect on phagocytic activity was provided by induction factors of the M1 phenotype.

Conclusions. For macrophages of monocytic origin and Kupfer cells, a different dynamics of phagocytic activity is characteristic. Monocytic macrophages initially have a more pronounced absorption capacity, which gradually increases during the experiment. For Kupfer cells, a sharp fluctuation of phagocytic activity is characteristic: rapid growth and rapid saturation.

Key words: macrophages, Kupfer cells, monocytes, phagocytosis.

Введение

В 70-х годах XX века было сформулировано представление о системе мононуклеарных фагоцитов, в соответствии с которым костномозговые гемопоэтические клетки-предшественники моноцитов, моноциты крови и макрофаги, представляют собой единый дифферон [6]. В ходе последующих исследований установлено, что такое представление справедливо не для всех макрофагов. Оказалось, что макрофаги дермы кожи и слизистых оболочек действительно постоянно обновляются за счет дифференцировки гемопоэтических клеток моноцитарного ростка, в то время как резидентные макрофаги печени – клетки Купфера, микроглия, клетки Лангерганса и некоторые другие относятся к самоподдерживающейся популяции макрофагов, которые способны пролиферировать в тканях [4].

В настоящее время считают, что источником развития резидентных макрофагов, таких как клетки Купфера, микроглия, клетки Лангерганса являются эритро-миелоидные прогениторные клетки желточного мешка клетки [4, 14, 15].

Источник происхождения органных макрофагов, вероятно, отражается на их свойствах, а также на закономерностях протекания физиологических и патологических процессов, регулируемых ими. Наиболее хорошо это изучено на разных моделях регенерации печени. Обнаружено, что резидентные макрофаги печени – клетки Купфера экспрессируют маркеры в основном прорегенераторных макрофагов и синтезируют противовоспалительные цитокины, как в норме, так и после резекции печени [1, 2]. При этом, не смотря на то, что в печени содержится более 95% всех макрофагов организма [3] в нее после острого повреждения парацетамолом или CCl₄ в активно мигрируют моноциты [12, 17], а после резекции части паренхимы миграция практически отсутствует [5, 13].

Фагоцитарная активность и антигенная презентация являются ключевыми функциями макрофагов. Различия между макрофагами моноцитарного и эмбрионального происхождения по этим показателям, возможно, лежат в основе распределения типов макрофагов в организме млекопитающих.

Цель работы – сравнить фагоцитарную активность макрофагов эмбрионального происхождения на примере клеток Купфера и макрофагов костномозгового происхождения, полученных из моноцитов.

Материал и методы исследования

Самцы крыс аутбредного стока Вистар массой 250–300 г были получены из питомника «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Содержание и уход за лабораторными

животными осуществляли в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985 г.), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. №267) и законом «О защите животных от жестокого обращения» гл. V, ст. 10, 4679-ГД от 01.12.1999 г.

Выделение моноцитов из периферической крови крысы. У самцов крыс проводили взятие периферической крови. Полученную кровь в соотношении 1:1 смешивали с раствором Хенкса, содержащим 1000 МЕ/мл гепарина (Синтез, Россия). Методом градиентного центрифугирования (400 g, 30 мин., 20°C) на препарате Фиколл (ПанЭко, Россия) получали фракцию мононуклеарных клеток. Клетки дважды отмывали (300 g, 20 мин., 20°C) раствором Хенкса. Количество и жизнеспособность клеток оценивали с помощью анализатора TC20 (Bio-Rad, США).

Выделение клеток Купфера из печени крысы. Крысам под эфирным наркозом проводили перфузию печени раствором фосфатно-солевого буфера (40–50 мл) через воротную вену. Печень извлекали, дважды промывали раствором Хенкса, удаляли оболочки и крупные сосуды, измельчали и инкубировали 20 мин. в 0.05% растворе коллагеназ I и IV типов (ПанЭко, Россия) при 37°C на орбитальном шейкере. Полученную суспензию клеток пропускали через 100 мкм нейлоновый фильтр (SPL LifeScience, Южная Корея) и дважды отмывали от ферментов в растворе Хенкса (300 g, 10 мин., 20°C). Осадок ресуспендировали в 30 мл фосфатно-солевого буфера, осаждали паренхиматозные клетки печени (50 g, 3 мин., 20°C) и отбирали непаренхиматозные клетки, оставшиеся в супернатанте. После градиентного центрифугирования (400 g, 30 мин., 20°C) на препарате Фиколл (ПанЭко, Россия) получали фракцию клеток Купфера [18, 19]. Количество и жизнеспособность клеток оценивали с помощью анализатора TC20 (Bio-Rad, США).

Культивирование макрофагов. Клетки Купфера и моноциты из периферической крови крысы переносили в ростовую среду RPMI (ПанЭко, Россия), содержащую 10% эмбриональной телячьей сыворотки (РАА Lab., Австрия) и 1% пенициллина–стрептомицина (ПанЭко, Россия). На 2-е сут. культивирования удаляли не прикрепившиеся к пластику клетки. Замену половины объема культуральной среды на свежую производили на 4-е и 7-е сут.

Активация макрофагов в направлении M1-фенотипа. Клетки Купфера и макрофаги из периферической крови крысы культивировали в ростовой среде с добавлением 50 нг/мл GM-CSF (Cloud-Clone, КНР). На 2-е сут. культивирования удаляли неприкрепившиеся к пластику клетки. Замену половины объема

культуральной среды на свежую производили на 4-е и 7-е сут. Для активации М1-макрофагов на 7-е сут. в среду вносили LPS (Sigma, США) и IFN- γ (Cloud-Clone, КНР) до конечной концентрации 10 нг/мл и 40 нг/мл соответственно (М1 среда).

Активация макрофагов в направлении М2-фенотипа. Клетки Купфера и макрофаги из периферической крови крысы культивировали в ростовой среде с добавлением 100 нг/мл М-CSF (Cloud-Clone, КНР). На 2-е сут. культивирования удаляли неприкрепившиеся к пластике клетки. Замену половины объема культуральной среды на свежую производили на 4-е и 7-е сут. Для активации М2-макрофагов на 7-е сут. в среду вносили IL4, IL10 и IL13 (Cloud-Clone, КНР) до конечной концентрации 20 нг/мл (М2 среда).

Иммуноцитохимическое исследование. Полученные культуры макрофагов окрашивали с помощью антител к CD68 (1:100, Abcam, Великобритания), вторые антитела были конъюгированы с FITC (1:200, Abcam, Великобритания). Ядра клеток докрашивали DAPI (Sigma-Aldrich, США). Окрашенные макрофаги изучали с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DM 4000 B и программного обеспечения LAS AF v.3.1.0 build 8587 (Leica Microsystems, Германия).

Оценка фагоцитарной активности. Для изучения фагоцитарной активности макрофагов клетки сажали на чашки для прижизненной микроскопии с толщиной дна 170 мкм и коэффициентом оптического преломления 1.52 (Ibidi, Германия). Далее макрофаги активировали в соответствии с указанным протоколом, затем в среду добавляли латексные бусины 1.5 мкм (Диа-М), 5 мкл 10% суспензии на 1 мл среды. С помощью инвертированного микроскопа ZeissAxiovert 40 CFL и программного обеспечения AxioVs40 4.8.2.0 вели прижизненную съемку клеток (фазово-контрастная микроскопия, ув. 400) через 1, 2, 5 и 24 часа после добавления латексных бусин. С помощью программы Adobe Photoshop CS6 подсчитывали количество бусин на 1 клетку. Подсчет проводили во всех клетках в каждом из 10 выбранных случайным образом полей зрения.

Статистический анализ. Полученные данные анализировали с помощью программы SigmaStat 3.5 (SystatSoftwareInc, США). Полученные значения фагоцитарного индекса сравнивали с использованием рангового однофакторного дисперсионного анализа ANOVA on Ranks. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Наиболее часто для выявления тканевых макрофагов используются антитела к белку CD68 [7, 8]. Однако показано, что дан-

ный белок синтезируется не только в клетках моноцитарного дифферона, но также другими лейкоцитами, эндотелиоцитами и фибробластами [7, 11]. Широкая распространенность белка CD68 среди клеток млекопитающих связана с его функцией. CD 68 (макросиалин) представляет собой интегральный трансмембранный белок, участвующий в фагоцитарной активности, а также в работе лизосомального аппарата клетки [8, 9]. В связи с этим белок может быстро изменять свою локализацию, то есть перемещаться с клеточной поверхности внутрь клетки [10]. Исходя из накопленных данных, CD68 стоит рассматривать как маркер фагоцитарной активности клеток, а не как маркер макрофагов.

При изучении фенотипа макрофагов моноцитарного происхождения и клеток Купфера методом иммуноцитохимии было обнаружено, что оба вида макрофагов интенсивно экспрессируют CD68 (рис. 1). Однако, несмотря на ключевую роль CD68 в фагоцитозе, воздействие М1 и М2 активирующих сред не приводило к изменению уровня экспрессии указанного маркера (рис. 1). При этом, стоит отметить, что воздействие факторов М1 среды приводило к изменению формы клеток: макрофаги моноцитарного происхождения и клетки Купфера становились отростчатыми (рис. 1).

При сравнении фагоцитарной активности неактивированных макрофагов моноцитарного происхождения и клеток Купфера было обнаружено, что через 1 час после добавления в культуральную среду латексных частиц моноцитарные макрофаги статистически значимо активнее ($p < 0.05$) поглощали частицы, чем клетки Купфера (рис. 2 А, Б). Далее происходило увеличение фагоцитарной активности клеток Купфера, и через 2 часа после начала эксперимента разница отсутствовала ($p < 0.05$). Однако через 5 часов уровень фагоцитоза клетками Купфера резко превышал активность моноцитарных макрофагов ($p < 0.05$), через 24 часа различий не наблюдалось ($p < 0.05$) (рис. 2 А, Б).

Активация факторами М1- и М2-фенотипа приводила к повышению фагоцитарной активности как макрофагов моноцитарного происхождения, так и клетками Купфера (рис. 2 В, Г). При этом наибольшее активирующее влияние на фагоцитарную активность оказывали факторы индукции М1-фенотипа. Стоит отметить, что в макрофагах моноцитарного происхождения влияние М1-индуцирующей среды поддерживало фагоцитарную активность на достоверно более высоком уровне по сравнению с неактивированными клетками более длительное время, статистически значимые различия были выявлены через 5 часов после начала эксперимента. В клетках Купфера через 5 часов разница между активированными по М1-фенотипу и

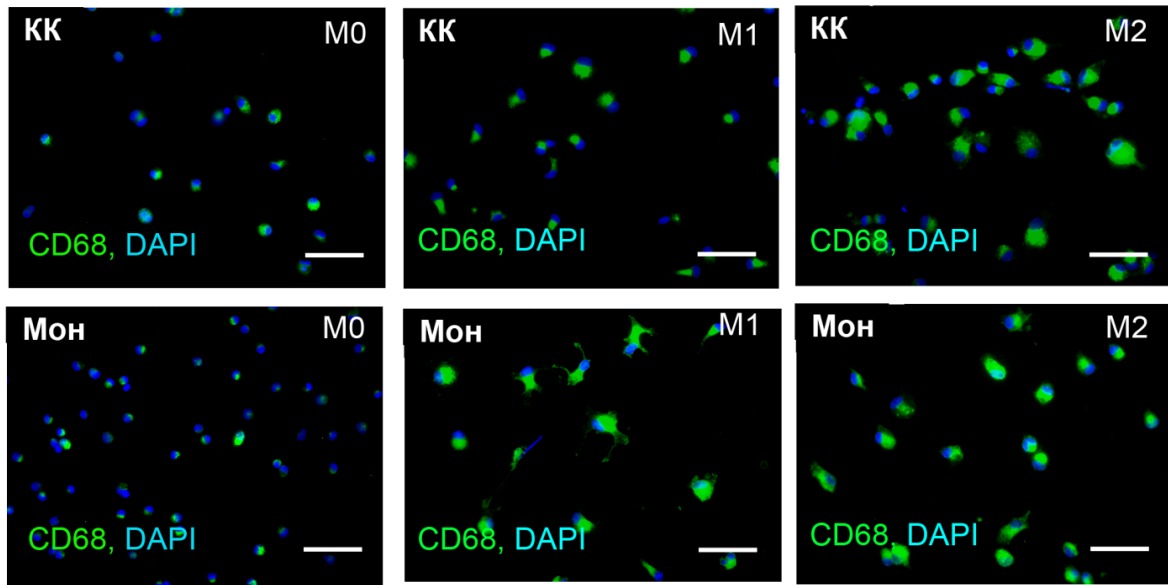


Рис. 1. Экспрессия маркера CD68 в клетках Купфера и макрофагов моноцитарного происхождения, иммуноцитохимия, M1 – под влиянием индукторов M1 фенотипа, M2 – под влиянием индукторов M2 фенотипа, флуоресцентная микроскопия, FITC – зеленое окрашивание, ядра докрашены DAPI – синее свечение, масштабный отрезок – 50 мкм.

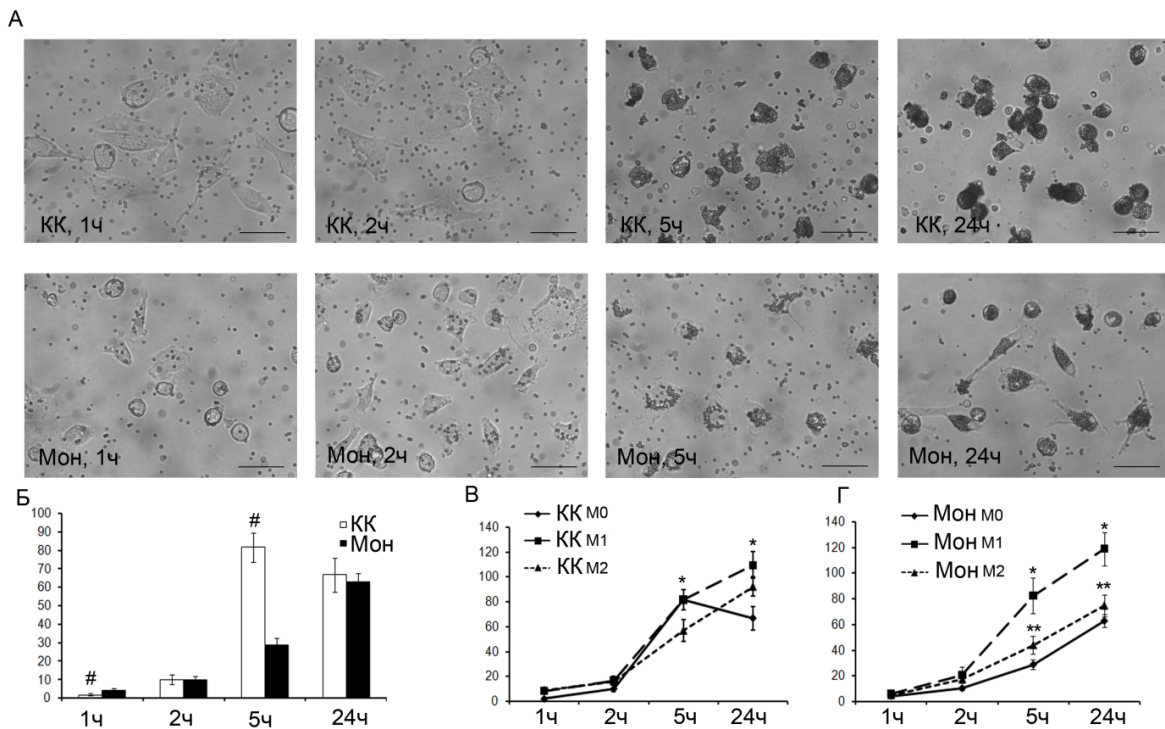


Рис. 2. А – фагоцитарная активность неактивированных клеток Купфера и макрофагов моноцитарного происхождения, фазовый контраст, масштабный отрезок – 50 мкм; Б – изменение фагоцитарной активности неактивированных клеток Купфера и моноцитарных макрофагов, # – статистически значимые различия между клетками Купфера и моноцитарными макрофагами на соответствующем сроке, $p < 0.05$; В – фагоцитарная активность неактивированных и активированных клеток Купфера под влиянием M1 и M2 сред, Г – фагоцитарная активность неактивированных и активированных макрофагов моноцитарного происхождения под влиянием M1 и M2 сред, * – статистически значимые различия между неактивированными макрофагами и после воздействия M1-среды, ** – статистически значимые различия между неактивированными макрофагами и после воздействия M2-среды, ось ординат – количество силиконовых частиц на 1 клетку, ось абсцисс – время после внесения частиц в среду.

неактивированными клетками разница отсутствовала (рис. 2 В, Г).

Фагоцитарная активность и антигенная презентация являются ключевыми функциями макрофагов. Различия между макрофагами моноцитарного и эмбрионального происхождения по этим показателям, возможно, лежат в основе распределения типов макрофагов в организме млекопитающих. Показано, что в дерме кожи и рыхлой волокнистой соединительной ткани стенки кишечника, то есть органах испытывающих наибольшую антигенную нагрузку, присутствуют исключительно макрофаги костномозгового (моноцитарного) происхождения [4, 14, 15].

Заключение

При изучении фагоцитарной активности мы обнаружили ряд особенностей клеток Купфера по сравнению с макрофагами костномозгового (моноцитарного) происхождения. Для макрофагов моноцитарного происхождения и клеток Купфера характерна разная динамика фагоцитарной активности. Моноцитарные макрофаги изначально обладают более выраженной поглотительной способностью, которая постепенно нарастает во время эксперимента. Для клеток Купфера характерно резкое колебание фагоцитарной активности: быстрое нарастание и насыщение. При этом после активации М1 и М2 индукторами макрофаги костномозгового происхождения более длительное время сохраняли способность к фагоцитозу по сравнению с клетками Купфера.

Остается неясным, являются ли установленные особенности функционирования клеток Купфера общими для всех макрофагов эмбрионального происхождения или они обусловлены только особенностью микроокружением клеток Купфера. Для этого необходимы дальнейшие сравнительные исследования макрофагов из разных источников развития.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №17-15-01419).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Ельчанинов А. В., Фатхудинов Т. Х., Усман Н. Ю., Макаров А. В., Арутюнян И. В., Кананыхина Е. Ю., Большакова Г. Б., Гольдштейн Д. В., Сухих Г. Т. Динамика количества М2 макрофагов при регенерации печени крыс. Молекулярная медицина. 2017; 15(1): 45–50.
2. Лохонина А. В., Покусаев А. С., Арутюнян И. В., Ельчанинов А. В., Макаров А. В., Еремينا И. З., Суворцев В. В., Большакова Г. Б., Гольдштейн Д. В., Фатхудинов Т. Х. Характеристика иммунофенотипа резидентных макрофагов печени и профиля экспрессируемых генов. Клиническая и экспериментальная морфология. 2018; 1(25): 49–60.
3. Bilzer M., Roggel F., Gerbes A. L. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. Liver International. 2006; 26: 1175–1186.
4. Chazaud B. Macrophages: supportive cells for tissue repair and regeneration. Immunobiology. 2014; 219(3): 172–178.
5. Elchaninov A. V., Fatkhudinov T. Kh., Usman N. Y., Kananykhina E. Y., Arutyunyan I. V., Makarov A. V., Lokhonina A. V., Eremina I. Z., Suroutsev V. V., Goldshtein D. V., Bolshakova G. B., Glinkina V. V., Sukhikh G. T. Dynamics of macrophage populations of the liver after subtotal hepatectomy in rats. BMC Immunology. 2018; 19(1): 23.
6. Furth van R., Cohn Z. A., Hirsch J. G., Humphrey J. H., Spector W. G., Langevoort H. L. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. Bull World Health Organ. 1972; 46(6): 845–852.
7. Gottfried E., Kunz-Schughart L. A., Weber A., Rehli M., Peuker A., Müller A., Kastenberger M., Brockhoff G., Andreesen R., Kreutz M. Expression of CD68 in non-myeloid cell types. Scand J Immunol. 2008; 67(5): 453–463.
8. Holness C. L., da Silva R. P., Fawcett J., Gordon S., Simmons D. L. Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp1gp family. J Biol Chem. 1993; 268(13): 9661–9666.
9. Holness C. L., Simmons D. L. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. Blood. 1993; 81(6): 1607–1613.
10. Kurushima H., Ramprasad M., Kondratenko N., Foster D. M., Quehenberger O., Steinberg D. Surface expression and rapid internalization of macrosialin (mouse CD68) on elicited mouse peritoneal macrophages. J Leukoc Biol. 2000; 67(1): 104–108.
11. La Rocca G., Anzalone R., Farina F. The expression of CD68 in human umbilical cord mesenchymal stem cells: new evidences of presence in non-myeloid cell types. Scand J Immunol. 2009; 70(2): 161–162.
12. Li P., He K., Li J., Liu Z., Gong J. The role of Kupffer cells in hepatic diseases. Mol Immunol. 2017; 85: 222–229.
13. Michalopoulos G. K. Advances in liver regeneration. Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2014; 8(8): 897–907.
14. Perdiguerro E. G., Geissmann F. The development and maintenance of resident macrophages. Nat Immunol. 2016; 17(1): 2–8.
15. Perdiguerro G. E., Klapproth K., Schulz C., Busch K., Azzoni E., Crozet L., Garner H., Trouillet C., de Bruijn M. F., Geissmann F., Rodewald H. R. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. Nature. 2015; 518(7540): 547–551.
16. Saito N., Pulford K. A., Breton-Gorius J., Masse J. M., Mason D. Y., Cramer E. M. Ultrastructural localization of the CD68 macrophage-associated antigen in human blood neutrophils and monocytes. Am J Pathol. 1991; 139(5): 1053–1059.

17. You Q., Holt M, Yin H, Li G, Hu C. J., Ju C. Role of hepatic resident and infiltrating macrophages in liver repair after acute injury. *Biochem. Pharmacol.* 2013; 86(6): 836–843.
18. Zeng W. Q., Zhang J. Q., Li Y., Yang K., Chen Y. P., Liu Z. J. A new method to isolate and culture rat kupffer cells. *PLoS One.* 2013; 8(8): e70832.
19. Zhang Q., Qu Y., Li Z., Zhang Q., Xu M., Cai X., Li F., Lu L. Isolation and Culture of Single Cell Types from Rat Liver. *Cells Tissues Organs.* 2016; 201(4): 253–267.

References

1. El'chaninov A.V., Fatkhudinov T.Kh., Usman N.Yu., Makarov A.V., Arutyunyan I.V., Kananykhina E.Yu., Bol'shakova G.B., Gol'dshtein D.V., Sukhikh G.T. Dinamika kolichestva M2 makrofagov pri regeneratsii pecheni kry [Dynamics of the number of M2 macrophages in liver regeneration in rats]. *Molecular medicine.* 2017; 15(1): 45–50 (in Russian).
2. Lokhonina A.V., Pokusaev A.S., Arutyunyan I.V., El'chaninov A.V., Makarov A.V., Eremina I.Z., Surovtsev V.V., Bol'shakova G.B., Gol'dshtein D.V., Fatkhudinov T.Kh. Kharakteristika immunofenotipa rezidentnykh makrofagov pecheni i profilya ekspressiruemykh genov [Characteristics of the immunophenotype of the resident macrophages of the liver and profile of expressed genes]. *Journal of Clinical and Experimental Morphology.* 2018; 1(25): 49–60 (in Russian).
3. Bilzer M., Roggel F., Gerbes A.L. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver International.* 2006; 26: 1175–1186.
4. Chazaud B. Macrophages: supportive cells for tissue repair and regeneration. *Immunobiology.* 2014; 219(3): 172–178.
5. Elchaninov A.V., Fatkhudinov T.Kh., Usman N.Y., Kananykhina E.Y., Arutyunyan I.V., Makarov A.V., Lokhonina A.V., Eremina I.Z., Surovtsev V.V., Goldshtein D.V., Bolshakova G.B., Glinkina V.V., Sukhikh G.T. Dynamics of macrophage populations of the liver after subtotal hepatectomy in rats. *BMC Immunology.* 2018; 19(1): 23.
6. Furth van R., Cohn Z.A., Hirsch J.G., Humphrey J.H., Spector W.G., Langevoort H.L. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bull World Health Organ.* 1972; 46(6): 845–852.
7. Gottfried E., Kunz-Schughart L. A., Weber A., Rehli M., Peuker A., Müller A., Kastenberger M., Brockhoff G., Andreesen R., Kreutz M. Expression of CD68 in non-myeloid cell types. *Scand J Immunol.* 2008; 67(5): 453–463.
8. Holness C.L., da Silva R.P., Fawcett J., Gordon S., Simmons D.L. Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp1gp family. *J Biol Chem.* 1993; 268(13): 9661–9666.
9. Holness C.L., Simmons D.L. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. *Blood.* 1993; 81(6): 1607–1613.
10. Kurushima H., Ramprasad M., Kondratenko N., Foster D.M., Quehenberger O., Steinberg D. Surface expression and rapid internalization of macro-

- sialin (mouse CD68) on elicited mouse peritoneal macrophages. *J Leukoc Biol.* 2000; 67(1): 104–108.
11. La Rocca G., Anzalone R., Farina F. The expression of CD68 in human umbilical cord mesenchymal stem cells: new evidences of presence in non-myeloid cell types. *Scand J Immunol.* 2009; 70(2): 161–162.
12. Li P., He K., Li J., Liu Z., Gong J. The role of Kupffer cells in hepatic diseases. *Mol Immunol.* 2017; 85: 222–229.
13. Michalopoulos G.K. Advances in liver regeneration. *Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014; 8(8): 897–907.
14. Perdiguero E.G., Geissmann F. The development and maintenance of resident macrophages. *Nat Immunol.* 2016; 17(1): 2–8.
15. Perdiguero G.E., Klapproth K., Schulz C., Busch K., Azzoni E., Crozet L., Garner H., Trouillet C., de Bruijn M.F., Geissmann F., Rodewald H.R. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature.* 2015; 518(7540): 547–551.
16. Saito N., Pulford K.A., Breton-Gorius J., Mase J.M., Mason D.Y., Cramer E.M. Ultrastructural localization of the CD68 macrophage-associated antigen in human blood neutrophils and monocytes. *Am J Pathol.* 1991; 139(5): 1053–1059.
17. You Q., Holt M, Yin H, Li G, Hu CJ, Ju C. Role of hepatic resident and infiltrating macrophages in liver repair after acute injury. *Biochem. Pharmacol.* 2013; 86(6): 836–843.
18. Zeng W.Q., Zhang J.Q., Li Y., Yang K, Chen YP, Liu Z.J. A new method to isolate and culture rat kupffer cells. *PLoS One.* 2013; 8(8): e70832.
19. Zhang Q., Qu Y., Li Z., Zhang Q, Xu M, Cai X, Li F, Lu L. Isolation and Culture of Single Cell Types from Rat Liver. *Cells Tissues Organs.* 2016; 201(4): 253–267.

Сведения об авторах

Ельчанинов Андрей Владимирович – д-р мед. наук, с.н.с. лаборатории регенеративной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России. 117198, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4. E-mail: elchandrey@yandex.ru

Лохонина Анастасия Вячеславовна – м.н.с. лаборатории регенеративной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России. 117198, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4.

Макаров Андрей Витальевич – канд. мед. наук, с.н.с. лаборатории регенеративной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России; доцент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. 117198, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4.

Арутюнян Ирина Владимировна – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории роста и развития ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека». 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, 3.

Гринберг Мария Владимировна – ассистент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов». 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

Ладыгина Галина Андреевна – доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1.

Князева Людмила Алексеевна – доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1.

Большакова Галина Борисовна – д-р биол. наук, зав. лабораторией роста и развития ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека». 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, 3.

Фатхудинов Тимур Хайсамудинович – д-р мед. наук, доцент, зав. лабораторией регенеративной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России; зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов». 117198, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4. E-mail: fatkhudinov@gmail.com

Поступила в редакцию 7.08.2018 г.

Для цитирования: Ельчанинов А.В., Лохонина А.В., Макаров А.В., Арутюнян И.В., Гринберг М.В., Ладыгина Г.А., Князева Л.А., Большакова Г.Б., Фатхудинов Т.Х. Анализ фагоцитарной активности макрофагов моноцитарного происхождения и клеток Купфера. Журнал анатомии и гистопатологии. 2018; 7(3): 13–19. doi: 10.18499/2225-7357-2018-7-3-13-19.

For citation: El'chaninov A.V., Lokhonina A.V., Makarov A.V., Arutyunyan I.V., Grinberg M.V., Ladygina G.A., Knyazeva L.A., Bol'shakova G.B., Fatkhudinov T.Kh. Analysis of phagocytic activity of macrophages of monocytic origin and Kupfer cells. Journal of Anatomy and Histopathology. 2018; 7(3): 13–19. doi: 10.18499/2225-7357-2018-7-3-13-19.