

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

МЕДИЦИНА
MEDICINE

УДК 616.36-004:576.38
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-5-417-424>

Поступило в редакцию 22.03.2023
Received 22.03.2023

Е. И. Лебедева¹, А. Т. Щастный¹, А. С. Бабенко²

¹*Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Республика Беларусь*

²*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

**РОЛЬ CD68+ И CD206+ КЛЕТОК В ПРОГРЕССИРОВАНИИ
ТОКСИЧЕСКОГО ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ КРЫС**

(Представлено академиком Н. А. Ковалевым)

Аннотация. Работа проведена с целью оценки роли звездчатых макрофагов в большом количестве точек токсического фиброза печени крыс. Фиброз и цирроз печени у крыс-самцов Wistar индуцировали тиоацетамидом в дозе 200 мг/кг веса животного в течение 17 недель. Гистологические препараты печени окрашивали гематоксилином и эозином по методу Маллори. Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах с использованием моноклональных мышиных антител CD68 и поликлональных кроличьих антител CD206. Степень фиброза определяли согласно полуколичественной шкале Ishak. Токсический фиброз печени до начала процесса трансформации его в цирроз (9 недель) сопровождался ростом количества CD68+ клеток по сравнению с контролем. На всех последующих этапах эксперимента отличий по сравнению с контролем не установлено. В печени контрольных крыс CD206+ клетки практически отсутствовали. На протяжении всего опыта их количество оставалось выше контрольной точки 3 недели. При прогрессировании цирроза печени отмечено снижение количества CD206+ клеток, но уровня третьей недели оно не достигло. Морфологически установили две разные группы CD68+ клеток. Одна группа клеток имела крыловидную форму и располагались преимущественно в синусоидах печени. Вторая группа CD68+ клеток имела округлую форму и разную локализацию. Они выявлялись вокруг сосудов портальных зон, окружали скопления бурого пигмента в соединительнотканых септах, наблюдались около одиночно лежащих или группы гигантских гепатоцитов и печеночных клеток, содержащих в цитоплазме бурый пигмент, а также отмечались в очагах некроза гепатоцитов. Клетки, экспрессирующие CD206 маркер, были округло вытянутой формы и располагались в синусоидах печени. Предположительно, CD68+ клетки округлой формы выполняют фагоцитарную функцию, а CD68+ клетки крыловидной формы трансдифференцируются в CD206+ клетки, которые обладают противовоспалительными свойствами.

Ключевые слова: крысы, тиоацетамид, фиброгенез печени, шкала Ishak, иммуногистохимия, звездчатые макрофаги

Для цитирования. Лебедева, Е. И. Роль CD68+ и CD206+ клеток в прогрессировании токсического фиброза печени крыс / Е. И. Лебедева, А. Т. Щастный, А. С. Бабенко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 5. – С. 417–424. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-5-417-424>

Elena I. Lebedeva¹, Anatoly T. Shchastniy¹, Andrei S. Babenka²

¹*Vitebsk State Order of Peoples Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus*

²*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

ROLE OF CD68+ AND CD206+ CELLS IN THE PROGRESSION OF TOXIC LIVER FIBROSIS IN RATS

(Communicated by Academician Nikolay A. Kovalev)

Abstract. The aim of the work was to evaluate the role of stellate macrophages in a large number of points of toxic liver fibrosis in rats. Liver fibrosis and cirrhosis in male Wistar rats were induced with thioacetamide at a dose of 200 mg/kg animal weight for 17 weeks. Histological preparations of the liver were stained with hematoxylin and eosin according to the Mallory

method. Immunohistochemical examination was performed on paraffin sections using monoclonal mouse antibodies CD68 and polyclonal rabbit antibodies CD206. The fibrosis degree was determined according to the Ishak semi-quantitative scale. Toxic liver fibrosis before the start of its transformation into cirrhosis (9 weeks) was accompanied by an increase in the number of CD68⁺ cells compared with the control. At all subsequent experiment stages, no differences were found in comparison to the control. In the liver of control rats, CD206⁺ cells were practically absent. Throughout the experiment, their number remained above the control point – 3 weeks. With the progression of liver cirrhosis, a decrease in the number of CD206⁺ cells was noted, but it did not reach a level of 3 weeks. Morphologically, two different groups of CD68⁺ cells were identified. One group of cells had a pterygoid shape and they were located mainly in the liver sinusoids. The second group of CD68⁺ cells had a round shape and different localization. They were detected around the vessels of portal zones, surrounded brown pigment accumulations in connective tissue septa, were observed near single lying groups or groups of giant hepatocytes and liver cells containing brown pigment in the cytoplasm, and were also noted in the foci of necrosis of hepatocytes. Cells, expressing the CD206 marker, are round in shape and are elongated and located in the liver sinusoids. Presumably, round-shaped CD68⁺ cells perform a phagocytic function, and pterygoid-shaped CD68⁺ cells transdifferentiate into CD206⁺ cells that have anti-inflammatory properties.

Keywords: rats, thioacetamide, liver fibrogenesis, Ishak score, immunohistochemistry, stellate macrophages

For citation. Lebedeva E. I., Shchastniy A. T., Babenka A. S. Role of CD68⁺ and CD206⁺ cells in the progression of toxic liver fibrosis in rats. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 5, pp. 417–424 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-5-417-424>

Введение. В 1876 г. немецкий анатом и гистолог К. W. Kupffer впервые описал звездчатые макрофаги (ЗМ). Спустя 22 года они были переоткрыты польским патологоанатомом Т. Browicz. В 1974 г. методами электронной микроскопии Е. Wisse идентифицировал фагоциты синусоидов печени и назвал их клетками Купфера. На протяжении многих лет источником ЗМ считали моноциты крови, но современные методы исследования онтогенеза опровергают этот факт. Предполагают, что ЗМ происходят из эритромиелоидных предшественников желточного мешка, приобретают тканеспецифические характеристики и в условиях физиологической нормы поддерживают свою численность за счет пролиферации *in situ* [1; 2].

Установлено, что ЗМ обладают свойством пластичности. В ответ на смену сигналов микроокружения они способны изменить свой фенотип и функции [3]. Пластичность позволяет ЗМ приобретать широкий спектр функций от провоспалительных (M1 фенотип) до противовоспалительных (M2 фенотип). Несмотря на широкое использование классификации M1/M2, до сих пор отсутствуют общепринятые стандарты для описания пластичности ЗМ [3; 4]. ЗМ мыши экспрессируют маркеры CD68⁺, CLEC4f⁺, F4/80⁺⁺, CD11b⁺, TIM4⁺, TLR4⁺, TLR9⁺, CR1g⁺. Фенотип ЗМ человека менее охарактеризован, в сравнении с лабораторными животными. Известно, что ЗМ человека и грызунов не экспрессируют маркер CX₃CR1 [1].

Ежегодно во всем мире более миллиона человек умирают от вирусных гепатитов, гепатоцеллюлярной карциномы и примерно столько же от осложнений цирроза печени [5]. Основные движущие механизмы фиброза печени до сих пор не установлены, а методы лечения остаются недостаточно эффективными [1]. Звездчатые макрофаги выполняют сложную роль в инициации воспалительных реакций, прогрессировании фиброза и являются привлекательными терапевтическими мишенями. На экспериментальных моделях фиброза печени у животных установлено, что ЗМ могут активировать жиронакапливающие клетки с последующей их трансдифференцировкой в миофибробластический фенотип и стимулировать приток моноцитов из костного мозга через секрецию цитокинов [6]. Фиброз печени представляет собой динамический обратимый процесс, включающий как прогрессирование, так и регресс. В последнее время исследователи отмечают двойную роль ЗМ в фиброгенезе печени, связывая это с их способностью дифференцироваться в функционально различные субпопуляции макрофагов, экспрессирующие маркеры CD206, CD163, CD11b, CD86. Механизмы, регулирующие изменения фенотипа, и окончательная роль ЗМ в фиброзе печени в настоящее время до конца не изучены [4; 5; 7]. Вероятно, механизмы переключения фенотипа и функции ЗМ для каждой этиологии и степени тяжести фиброза будут различными, и они требуют дальнейшего изучения. Следует отметить, что в большинстве экспериментальных работ в основном исследуются только отдельные стадии фиброгенеза, не охватывая процесс в целом. В настоящем исследовании была предпринята попытка оценить количество ЗМ в большом количестве точек фиброгенеза и сделать вывод о их роли в развитии фиброза. В работе были использованы международные термины по цитологии и гистологии [8].

В связи с вышеизложенным, целью работы явилось исследование роли CD68+ и CD206+ клеток в прогрессировании токсического фиброза печени крыс.

Материалы и методы исследования. *Экспериментальное исследование.* Протокол исследования на крысах-самцах Wistar весом от 190 до 210 г был одобрен на заседании Комиссии по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными при учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (протокол № 6 от 03.01.2019). Животных содержали в пластико-металлических клетках по 6 особей при естественном освещении со свободным доступом к корму и воде. Температура в помещении виария поддерживалась на уровне 21–23 °С, а влажность воздуха составляла около 50 %.

Фиброз и цирроз печени вызывали путем хронической интоксикации крыс тиаоацетамидом (ТАА). Свежеприготовленный раствор ТАА вводили в желудок с помощью зонда (интрагастрально) в дозе 200 мг/кг массы тела крысы 2 раза в неделю в течение 17 нед. Крысы контрольной группы получали аналогичный объем воды без ТАА. Животных рандомизировали на 9 групп по 12 особей в каждой (m0 – контрольная, m1 – длительность воздействия ТАА 3 нед., m2 – 5 нед., m3 – 7 нед., m4 – 9 нед., m5 – 11 нед., m6 – 13 нед., m7 – 15 нед., m8 – 17 нед.).

Гистологическое и иммуногистохимическое исследования. После гуманного умерщвления животных декапитацией с применением гильотины в состоянии кратковременного эфирного наркоза из большой левой доли печени крыс забирали образцы материала диаметром 5–10 мм. Для проведения гистологического и иммуногистохимического исследований образцы печени помещали в 10 %-ный раствор нейтрального формалина на фосфатном буфере и фиксировали в течение 24 ч. Затем проводили обработку фиксированного материала с последующей заливкой в парафин с использованием автомата для гистологической обработки ткани STP-120 (Thermo Fisher Scientific, Германия) и станции для заливки ткани парафином EC350 (Thermo Fisher Scientific, Германия). От каждого животного получали по одному блоку для каждого метода окраски и с помощью ротационного микротомы HM340E (MICROM, Laborgerate GmbH, Германия) изготавливали в среднем по 3–4 среза толщиной 4 мкм и помещали их на предметные стекла. Для получения обзорных гистологических препаратов срезы печени окрашивали гематоксилином и эозином, а для выявления соединительной ткани – по методу Маллори в автоматическом программируемом приборе для цитологических и гистологических исследований HMS70 (Thermo Fisher Scientific, Германия). Степень фиброза определяли согласно полуколичественной шкале Ishak [9].

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах [10]. Применяли моноклональные мышинные антитела CD68 (номер в каталоге E-AB-22013; Wuman Elabscience Biotechnology Incorporated Company, Китай; разведение 1 : 200) и поликлональные кроличьи антитела CD206 (номер в каталоге E-AB-70178; Wuman Elabscience Biotechnology Incorporated Company, Китай; разведение 1 : 500) в соответствии с инструкциями производителей. Для лучшей ориентации в препарате и правильной идентификации клеток, содержащих искомым антиген, срезы докрашивали гематоксилином Майера в течение 1 мин. Для объективной интерпретации результатов для каждой исследуемой серии (группы животных) использовали положительный и отрицательный контроли. Иммуногистохимическую окраску расценивали как положительную только при отсутствии окрашивания в отрицательном контроле и, наоборот, как отрицательную при окрашивании в положительном контроле.

Морфометрический анализ гистологических препаратов проводили с использованием компьютерных программ анализа изображений ImageScope Color и cellSens Standard. Количество CD68-позитивных клеток (CD68+) и CD206-позитивных клеток (CD206+) подсчитывали в трех полях зрения каждого гистологического среза на базе микроскопа OLYMPUS BX51 при увеличении объектива $\times 40$.

Статистический анализ выполняли с использованием программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США), Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., США). Для каждой выборки определяли нормальность частотного распределения каждого признака. Выборки не являлись малыми ($n = 60 > 50$), поэтому проверку осуществляли по критерию Лиллиефорса. Анализ показал, что по количеству CD68 в группах m7 и m8; по количеству CD206 в группах m3, m4, m6, m8 значение $p < 0,05$,

следовательно, частотные распределения признака не подчинялись нормальному закону. Количественные экспериментальные данные представлены в виде средних арифметических и их соответствующих доверительных интервалов (M (95 % ДИ: $j-q$)), медианы и значения 15–85-го перцентилей (Me (15 %; 85 %)). Об уровне статистической значимости различий изучаемых признаков в группах с нормальным распределением данных судили по t -критерию Стьюдента; в случае отличия выборок от нормального распределения использовали U -критерий Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение. В рамках настоящего исследования оценивали количество и локализацию ЗМ печени крыс в восьми временных точках морфологически подтвержденного фиброза и цирроза. Выбор данной экспериментальной модели был обоснован тем, что у лабораторных животных ТАА вызывает поражение печени с морфологическими характеристиками, аналогичными таковым у людей с фиброзом и циррозом печени [11]. Для выявления ЗМ применяли маркеры CD68 (макросиалин, гликопротеин из семейства LAMP, относящийся к трансмембранным белкам) и CD206 (маннозный рецептор, гликопротеин 1-го типа, относящийся к трансмембранным белкам). Эти маркеры наиболее часто используются в исследованиях [12; 13].

В условиях физиологической нормы в паренхиме печени половозрелых крыс-самцов Wistar количество CD68 позитивных клеток (CD68+ клетки) составило 8,86 (95 % ДИ: 7,75–9,96). Они имели крыловидную форму и локализовались в синусоидах печени (рисунок, *a*). Незначительное их количество наблюдали около сосудов портальных зон и реже у центральных вен. CD206-позитивные клетки (CD206+ клетки) в печени контрольных крыс практически отсутствовали (рисунок, *b*). Эти результаты согласуются с данными других исследователей [12; 13].

На начальном этапе эксперимента (3 нед.) в печени крыс выявили портальный и очаговый центролобулярный фиброз F1. В печени отмечали минимальное фиброзное расширение части портальных зон без образования соединительнотканых септ, а местами с наличием неполных тонких септ. Количество CD68+ клеток увеличилось до 16,36 (95 % ДИ: 14,03–18,68). В синусоидах печени выявили CD206+ клетки округло вытянутой формы и их количество составило 7,88 (95 % ДИ: 6,84–8,93).

Через 5 нед. эксперимента установили портальный, мостовидный, очаговый центролобулярный и перипортальный фиброз. Его степень по шкале Ishak была равной F2/F3. Увеличилось количество CD68+ и CD206+ клеток до 19,02 (95 % ДИ: 16,89–21,15) и 11,22 (95 % ДИ: 10,31–11,13) соответственно.

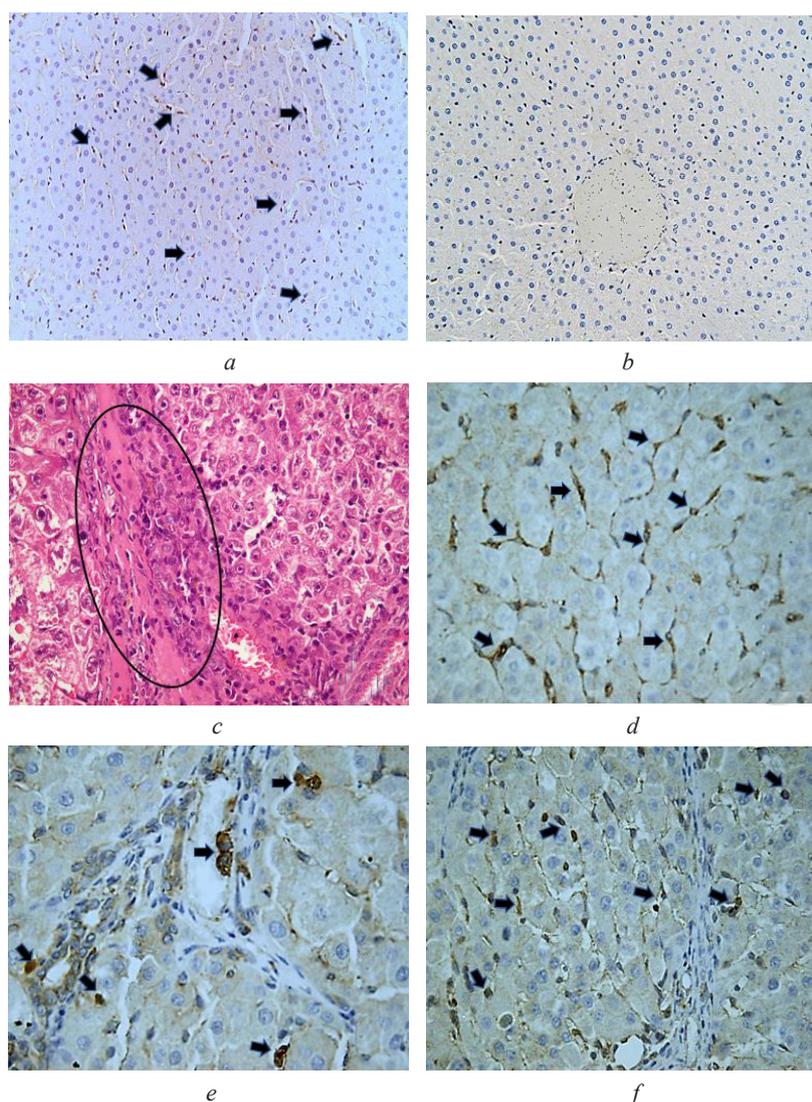
При прогрессировании токсического поражения и фиброза печени (F3/F4, 7 нед.) количество CD68+ клеток составило 18,55 (95 % ДИ: 16,29–20,81). При этом количество CD206+ клеток продолжало расти и оказалось равным 15,00 (9,00; 25,00).

На фоне дальнейшей интоксикации животных (9 нед.) выявлены обширные разрастания соединительной ткани вокруг портальных зон, местами с формированием единичных ложных печеночных долек. Это начало процесса трансформации фиброза печени в цирроз. Степень фиброза по шкале Ishak соответствовала F4/F5. Количество CD68+ клеток практически не изменилось (17,75 (95 % ДИ: 15,62–19,87) по сравнению с 3, 5 и 7 нед. Количество CD206+ клеток увеличилось до 20,00 (10,00; 28,00).

Через 11 нед. эксперимента в печени крыс наблюдали диффузную нодулярную перестройку паренхимы (неполный цирроз, F5). Количество CD68+ клеток снизилось до 11,38 (95 % ДИ: 9,68–13,09). При этом количество CD206+ клеток увеличилось до 22,97 (95 % ДИ: 19,91–26,03).

На следующем этапе эксперимента (13 нед.) морфологически установили достоверный цирроз, F6. Количество CD68+ и клеток CD206+ практически не изменилось (12,50 (95 % ДИ: 10,79–14,20) и 22,50 (17,00; 37,00) по сравнению с предыдущим сроком эксперимента.

К концу эксперимента (15 нед.) перестройка паренхимы сопровождалась тотальным образованием ложных печеночных долек разного диаметра и формы, выраженным диффузным портальным и перипортальным и очаговым перипортальным фиброзом. Количество CD68+ клеток снизилось до 9,50 (7,00; 16,00), а CD206+ клеток сохранилось на прежнем уровне (22,72 (95 % ДИ: 17,79–27,65)).



Фрагменты печени крыс: *a* – фрагмент печени крысы контрольной группы, CD68⁺ клетки в синусоидных капиллярах отмечены стрелками (иммуногистохимическое окрашивание на CD68, докрасивание гематоксилином Майера, $\times 400$); *b* – фрагмент печени крысы контрольной группы, CD206⁺ клетки отсутствуют (иммуногистохимическое окрашивание на CD206, докрасивание гематоксилином Майера, $\times 400$); *c* – фрагмент печени крысы с индуцированным циррозом через 13 нед. после начала эксперимента, клетки лимфоидно-гистиоцитарного инфильтрата в соединительнотканной септе выделены рамкой овальной формы (окрашивание гематоксилином и эозином, увел. $\times 600$); *d* – фрагмент печени крысы с индуцированным циррозом через 5 нед. после начала эксперимента, CD68⁺ клетки в синусоидных капиллярах отмечены стрелками (иммуногистохимическое окрашивание на CD68, докрасивание гематоксилином Майера, увел. $\times 600$); *e* – фрагмент печени крысы с индуцированным циррозом через 11 нед. после начала эксперимента, CD68⁺ клетки отмечены стрелками (иммуногистохимическое окрашивание на CD68, докрасивание гематоксилином Майера, увел. $\times 100$); *f* – фрагмент печени крысы с индуцированным циррозом через 7 нед. после начала эксперимента, CD206⁺ клетки в синусоидных капиллярах отмечены стрелками (иммуногистохимическое окрашивание на CD206, докрасивание гематоксилином Майера, увел. $\times 600$)

Rat liver fragments: *a* – fragment of the liver of a control group rat, CD68⁺ cells in sinusoidal capillaries are marked with arrows (immunohistochemical staining for CD68, staining with Mayer's hematoxylin, $\times 400$); *b* – fragment of the liver liver of the control group, CD206⁺ cells are absent (immunohypochemical staining on CD206, painting hematoxylane Mayer, $\times 400$); *c* – fragment of a rat liver with induced cirrhosis 13 weeks after the start of the experiment, cells of the lymphoid-histiocytic infiltrate in the connective tissue septum are highlighted with an oval frame (staining with hematoxylin and eosin, magnified $\times 600$); *d* – fragment of a rat liver with induced cirrhosis 5 weeks after the start of the experiment, CD68⁺ cells in sinusoidal capillaries are marked with arrows (immunohistochemical staining for CD68, staining with Mayer's hematoxylin, magnification $\times 600$); *e* – fragment of a rat liver with induced cirrhosis 11 weeks after the start of the experiment, CD68⁺ cells are marked with arrows (immunohistochemical staining for CD68, staining with Mayer's hematoxylin, magnification $\times 1000$); *f* – fragment of a rat liver with induced cirrhosis 7 weeks after the start of the experiment, CD206⁺ cells in sinusoidal capillaries are marked with arrows (immunohistochemical staining for CD206, staining with Mayer's hematoxylin, magnification $\times 600$)

На терминальной стадии (17 нед.) отметили тотальное образование ложных печеночных узелков и выраженное диффузное разрастание соединительной ткани. Количество CD68+, CD206+ клеток составило 10,00 (8,00; 16,00) и 18,00 (12,00; 26,00) соответственно.

В рамках настоящего исследования прогрессирование токсического фиброза печени до начала процесса трансформации его в цирроз (9 нед.) сопровождалось ростом количества CD68+ клеток в 2,0 раза ($p = 0,0000$) по сравнению с контролем. На всех последующих сроках эксперимента отличий по сравнению с контролем не установлено ($p = 0,8737$). Ряд исследователей считают ЗМ самообновляющейся популяцией клеток [1; 2], очевидно, со стадии трансформации фиброза в цирроз запускаются механизмы, блокирующие их пролиферацию.

Количество CD206+ клеток на протяжении всего эксперимента оставалось выше ($p = 0,0000$) контрольной точки – 3 нед. На стадии достоверного цирроза (13 нед.) количество CD206+ клеток превысило контрольный показатель в 3,21 раза ($p = 0,0000$). Прогрессирование цирроза печени сопровождалось снижением количества CD206+ клеток, однако уровня 3 нед. оно не достигло. Согласно литературным данным, клетки, экспрессирующие маркер CD68, обладают свойствами провоспалительного M1 фенотипа, а клетки с маркером CD206 имеют противовоспалительный фенотип [1]. Рост количества CD206+ клеток до стадии достоверного цирроза (13 нед.) возможно обусловлен компенсаторно-приспособительными свойствами печени. Это подтверждается тем, что на гистологических препаратах с 13 нед. установлено значительное увеличение лимфоидно-гистиоцитарного инфильтрата в портальных зонах и соединительнотканых септах (рисунок *c*).

В процессе исследования возникает вопрос: являются ли ЗМ единственным источником CD206+ клеток? Возможно, процесс трансдифференцировки ЗМ проходил очень быстро, а интервал между забором образцов печени для исследований составлял 2 нед. и мы не смогли достаточно полно отследить этот процесс. Нельзя исключать факт того, что популяция CD206+ клеток пополняется также за счет других клеток, мигрирующих в печень. В последнее время появились данные, свидетельствующие о миграции в поврежденную печень не только моноцитов из костного мозга, но и перитонеальных макрофагов в субкапсулярную зону и макрофагов из селезенки [14]. Механизмы, стимулирующие и блокирующие пролиферацию ЗМ, процесс их трансдифференцировки в другой фенотип, роль макрофагов костномозгового происхождения, селезеночных и перитонеальных при фиброгенезе печени еще предстоит изучить [1; 14; 15].

Морфологически выявили две разные группы CD68+ клеток. Одна группа клеток имела крыловидную форму (рисунок, *d*). До стадии цирроза эти клетки располагались преимущественно в синусоидах печени друг за другом, формируя цепочки, иногда локализовались рядом по две-три клетки, контактируя друг с другом. Редко они обнаруживались около центральных вен. При перестройке паренхимы с формированием ложных печеночных долек CD68+ клетки крыловидной формы наблюдали вдоль клеточных тяжей, отходящих от междольковых желчных протоков и состоящих в основном из малодифференцированных клеток. Вторая группа CD68+ клеток имела округлую форму и выявлялась в разных местах гистологического среза; например, вокруг междольковых вен, междольковых артерий и междольковых желчных протоков (рисунок, *e*). Часто эти клетки окружали скопления бурого пигмента в соединительнотканых септах, формируя клеточное кольцо. Иногда они скапливались группами вокруг одиночно лежащих или группы гигантских гепатоцитов и печеночных клеток, содержащих в цитоплазме бурый пигмент. CD68+ клетки округлой формы определялись также и в очагах некроза гепатоцитов. Клетки, экспрессирующие CD206 маркер, имели в основном округло вытянутую форму и располагались в синусоидах печени (рисунок, *f*).

На основании полученных результатов можно предположить, что при токсическом фиброзе и циррозе печени крыс, индуцированном ТАА, CD68+ клетки имеют морфофункциональные отличия. CD68+ клетки округлой формы выполняют фагоцитарную функцию, а CD68+ клетки крыловидной формы трансдифференцируются в CD206+ клетки с противовоспалительными свойствами. Для окончательной констатации этого факта и установления источника происхождения CD206+ клеток необходимо проведение дальнейших исследований. В перспективе звездчатые макрофаги могут быть использованы при разработке новых терапевтических стратегий для лечения патологии печени.

Заключение. На разных стадиях тиацетамидиндуцированного фиброза и цирроза изменяются количество, локализация, фенотипический состав и морфофункциональные свойства звездчатых макрофагов вследствие смены состояния микроокружения. CD68⁺ клетки округлой формы, локализованные в портальных зонах, соединительнотканых септах, паренхиме и очагах некроза гепатоцитов, выполняют фагоцитарную функцию, а CD68⁺ клетки крыловидной формы синусоидов трансдифференцируются в CD206⁺ клетки с противовоспалительными свойствами.

Благодарности. Работа выполнена в рамках проекта задания государственной программы научных исследований «Изучить роль экспрессии генов NOTCH- и TWEAK-сигнальных путей, участвующих в процессах пролиферации и дифференцировки клеток печени в норме и при ее токсическом поражении» (номер государственной регистрации 20190107).

Acknowledgments. The research was conducted within the frames of the theme task of State Research Programs (GPNI) of the Republic of Belarus “To study the role of expression of the NOTCH- and TWEAK signaling pathways genes, participating in the processes of proliferation and differentiation of liver cells in the norm and in case of its toxic damage” (№ SR 20190107).

Список использованных источников

1. Papachristoforou, E. Macrophages as key regulators of liver health and disease / E. Papachristoforou, P. Ramachandran // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* – 2022. – Vol. 368. – P. 143–212. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2022.04.006>
2. The role of macrophages in liver fibrosis: New therapeutic opportunities / E. Binatti [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, N 12 – P. 6649. <https://doi.org/10.3390/ijms23126649>
3. Zwicker, C. Hepatic macrophage responses in inflammation, a function of plasticity, heterogeneity or both? / C. Zwicker, A. Bujko, C. L. Scott // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 690813. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.690813>
4. Hepatic macrophages: Key players in the development and progression of liver fibrosis / D. Cheng [et al.] // *Liver Int.* – 2021. – Vol. 41, N 10. – P. 2279–2294. <https://doi.org/10.1111/liv.14940>
5. Elsherif, S. A. Role of macrophages in liver cirrhosis: fibrogenesis and resolution / S. A. Elsherif, A. S. Alm // *Anat. Cell. Biol.* – 2022. – Vol. 55, N 1. – P. 14–19. <https://doi.org/10.5115/acb.21.046>
6. Matsuda, M. Hepatic stellate cell-macrophage crosstalk in liver fibrosis and carcinogenesis / M. Matsuda, E. Seki // *Semin. Liver Dis.* – 2020. – Vol. 40, N 3. – P. 307–320. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1708876>
7. Macrophage phenotype and function in liver disorder / L. Dou [et al.] // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 10. – Art. 3112. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03112>
8. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов / под ред. В. В. Банина, В. Л. Быкова. – М., 2009. – 272 с.
9. Prognostic value of Ishak fibrosis stage: findings from the hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis trial / J. E. Everhart [et al.] // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 51, N 2. – P. 585–594. <https://doi.org/10.1002/hep.23315>
10. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии / под ред. Д. Э. Коржевского. – СПб., 2014. – 119 с.
11. A murine model demonstrating reversal of structural and functional correlates of cirrhosis with progenitor cell transplantation / M. D. Muthiah [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, N 1. – Art. 15446. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51189-7>
12. Role of Hepatic Macrophages in the establishment of the *Echinococcus multilocularis* metacestode in mice / H. Wang [et al.] // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 11. – P. 600635. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.600635>
13. Liver fibrosis and CD206⁺ macrophage accumulation are suppressed by anti-GM-CSF therapy / A. Tan-Garcia [et al.] // *JHEP Rep.* – 2019. – Vol. 2, N 1. – Art. 100062. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2019.11.006>
14. Macrophage polarization and its role in liver disease / C. Wang [et al.] // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. 803037. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.803037>
15. Hepatic macrophages in liver homeostasis and diseases-diversity, plasticity and therapeutic opportunities / Y. Wen [et al.] // *Cell Mol. Immunol.* – 2021. – Vol. 18, N 1. – P. 45–56. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00558-8>

References

1. Papachristoforou E., Ramachandran P. Macrophages as key regulators of liver health and disease. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 2022, vol. 368, pp. 143–212. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2022.04.006>
2. Binatti E., Gerussi A., Barisani D., Invernizzi P. The role of macrophages in liver fibrosis: New therapeutic opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, no. 12, pp. 6649. <https://doi.org/10.3390/ijms23126649>
3. Zwicker C., Bujko A., Scott C. L. Hepatic macrophage responses in inflammation, a function of plasticity, heterogeneity or both? *Frontiers in Immunology*, 2021, vol. 12, art. 690813. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.690813>
4. Cheng D., Chai J., Wang H., Fu L., Peng S., Ni X. Hepatic macrophages: Key players in the development and progression of liver fibrosis. *Liver International*, 2021, vol. 41, no. 10, pp. 2279–2294. <https://doi.org/10.1111/liv.14940>
5. Elsherif S. A., Alm A. S. Role of macrophages in liver cirrhosis: fibrogenesis and resolution. *Anatomy and Cell Biology*, 2022, vol. 55, no. 1, pp. 14–19. <https://doi.org/10.5115/acb.21.046>
6. Matsuda M., Seki E. Hepatic stellate cell-macrophage crosstalk in liver fibrosis and carcinogenesis. *Seminars in Liver Disease*, 2020, vol. 40, no. 3, pp. 307–320. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1708876>

7. Dou L., Shi X., He X., Gao Y. Macrophage phenotype and function in liver disorder. *Frontiers Immunology*, 2020, vol. 10, art. 3112. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03112>
8. Banin V. V., Bykov V. L. (eds.). *International terms in human cytology and histology with an official list of Russian equivalents*. Moscow, 2009. 272 p. (in Russian).
9. Everhart J. E., Wright E. C., Goodman Z. D., Dienstag J. L., Hoefs J. C., Kleiner D. E., Ghany M. G. [et al.]. Prognostic value of Ishak fibrosis stage: findings from the hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis trial. *Hepatology*, 2010, vol. 51, no. 2, pp. 585–594. <https://doi.org/10.1002/hep.23315>
10. Korzhevsky D. E. (ed.). *Theoretical foundations and practical application of immunohistochemistry methods*. Saint Petersburg, 2014. 119 p. (in Russian).
11. Muthiah M. D., Huang D. Q., Zhou L., Jumat N. H., Choolani M., Chan J. K. Y., Wee A., Lim S. G., Dan Y.-Y. A murine model demonstrating reversal of structural and functional correlates of cirrhosis with progenitor cell transplantation. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, no. 1, art. 15446. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51189-7>
12. Wang H., Zhang C. S., Fang B. B., Hou J., Li W. D., Li Z. D., Li L., Bi X. J., Li L., Abulizi A., Shao Y. M., Lin R. Y., Wen H. Dual role of hepatic macrophages in the establishment of the *Echinococcus multilocularis* metacestode in mice. *Frontiers in Immunology*, 2021, vol. 11, art. 600635. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.600635>
13. Tan-Garcia A., Lai F., Sheng Yeong J. P., Irac S. E., Ng P. Y., Msallam R., Lim J. C. T. [et al.]. Liver fibrosis and CD206+ macrophage accumulation are suppressed by anti-GM-CSF therapy. *Journal of High Energy Physic Reports*, 2019, vol. 2, no. 1, art. 100062. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2019.11.006>
14. Wang C., Ma C., Gong L., Guo Y., Fu K., Zhang Y., Zhou H., Li Y. Macrophage polarization and its role in liver disease. *Frontiers in Immunology*, 2021, vol. 12, art. 803037. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.803037>
15. Wen Y., Lambrecht J., Ju C., Tacke F. Hepatic macrophages in liver homeostasis and diseases-diversity, plasticity and therapeutic opportunities. *Cellular and Molecular Immunology*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 45–56. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00558-8>

Информация об авторах

Лебедева Елена Ивановна – канд. биол. наук, доцент. Витебский государственный медицинский университет (пр. Фрунзе, 27, 210009, Витебск, Республика Беларусь). E-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1309-4248.

Щастный Анатолий Тадеушевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Витебский государственный медицинский университет (пр. Фрунзе, 27, 210009, Витебск, Республика Беларусь). E-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-2796-4240.

Бабенко Андрей Сергеевич – канд. хим. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: labmdbt@gmail.com. ORCID: 0000-0002-5513-970X.

Information about the authors

Lebedeva Elena I. – Ph. D. (Biology), Associate Professor. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1309-4248.

Shchastniy Anatoly T. – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-2796-4240.

Babenka Andrei S. – Ph. D. (Chemistry), Associate Professor. Belarussian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labmdbt@gmail.com. ORCID: 0000-0002-5513-970X.