

**АНДИЖАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИНСТИТУТ**

Г.Ж.Улугбекова, И.Ю.Маматова

**ТОЛЛПОДОБНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА
ПРОЛИФЕРАЦИЮ МАКРОФАГОВ**

Андижан -2025

Авторы:

Улугбекова Гулрух Жураевна – доцент кафедры анатомии и клинической анатомии Андижанского государственного медицинского института

Маматова Иродахон Юсуповна-заведующая кафедрой биологической химии Андижанского государственного медицинского института, профессор, д.б.н.

Рецензенты:

Кахаров Зафар Абдурахманович - заведующий кафедрой анатомии и клинической анатомии Андижанского государственного медицинского института

Мадаминов Содик Мадаминович - заведующий кафедрой нормальной и клинической анатомии Ферганского медицинского института общественного здоровья, доцент, к.м.н.

Монография была одобрена и рекомендована к публикации Научно-техническим советом, созданным при Министерстве здравоохранения в 2025 году.

Секретарь Научно-технического совета:

Алиева Н.Р.

Аннотация

В ходе исследования было рассмотрено ключевое значение Toll-подобных рецепторов (TLR) в иммунной системе, их влияние на пролиферацию макрофагов и другие молекулы, участвующие в иммунном ответе. TLR играют важную роль в поддержании гомеостаза и защите организма от патогенов. Однако их избыточная активация может приводить к различным заболеваниям, таким как аутоиммунные расстройства и воспалительные заболевания.

Annotation

During the study, the key role of Toll-like receptors (TLRs) in the immune system was examined, including their influence on macrophage proliferation and other molecules involved in the immune response. TLRs play an important role in maintaining homeostasis and protecting the body from pathogens. However, their excessive activation can lead to various diseases, such as autoimmune disorders and inflammatory conditions.

Annotatsiya

Tadqiqot davomida immun tizimidagi Tollga o'xshash retseptorlar (TLR)ning asosiy ahamiyati, ularning makrofaglar ko'payishiga va immun javobda ishtirok etuvchi boshqa molekulalarga ta'siri ko'rib chiqildi. TLRlar gomeostazni saqlash va organizmni patogenlardan himoya qilishda muhim rol o'ynaydi. Biroq ularning ortiqcha faollashuvi avtoimmun kasalliklar va yallig'lanish bilan bog'liq turli xastaliklarga olib kelishi mumkin.

Содержание	1
Введение	6
Глава 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ (TLR)	8
1.1 Исторический обзор и значимость открытия TLR.....	8
1.2 Молекулярная структура TLR и механизм распознавания лиганда.....	8
1.3 Разнообразие TLR у человека и животных.....	11
1.4 Сигнальные каскады, индуцируемые активацией TLR.....	13
1.5 Регуляция TLR-сигналинга.....	14
1.6 Экспрессия и функциональные особенности TLR в клетках иммунной системы.....	16
1.7 TLR в физиологии и патологии.....	19
Глава 2. МАКРОФАГИ: ПРОИСХОЖДЕНИЕ, ФЕНОТИПЫ И ФУНКЦИИ В ИММУННОЙ СИСТЕМЕ	21
2.1. Историческая справка и эволюционная значимость.....	21
2.2. Гематопоз и происхождение макрофагов.....	21
2.3. Разнообразие макрофагов: поляризация и пластичность.....	22
2.4. Биологические функции макрофагов.....	26
2.5. Маркеры макрофагов: иммунологическая идентификация.....	28
2.6. Макрофаги в патологических процессах.....	29
Глава 3. ВЛИЯНИЕ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА АКТИВАЦИЮ И ПОЛЯРИЗАЦИЮ МАКРОФАГОВ	30
3.1. Основы взаимодействия TLR и макрофагов.....	30
3.2. Модуляция поляризации макрофагов через TLR.....	30
3.3. TLR-специфичность поляризации: различия между рецепторами.....	31
3.4. Клеточные и сигнальные механизмы TLR-индуцированной активации макрофагов.....	33
3.5. Влияние TLR-активации на метаболизм макрофагов.....	44
3.6. Взаимодействие TLR-сигналов с другими рецепторами.....	44
3.7. Механизмы “обратной” поляризации макрофагов после активации TLR.....	45

3.8. Экспериментальные модели.....	45
3.9. Клиническое значение: воспаление, иммунопатология, онкология.....	45
Глава 4. TOLL-ПОДОБНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ МАКРОФАГОВ.....	50
4.1. Общие механизмы пролиферации макрофагов.....	50
4.2. Общие принципы пролиферации клеток.....	51
4.3. Специфические механизмы пролиферации макрофагов.....	53
4.4. Ключевые цитокины и факторы роста, способствующие пролиферации макрофагов.....	54
4.5. Основные сигнальные пути, участвующие в пролиферации макрофагов.....	56
4.6. Различные механизмы пролиферации для разных подтипов макрофагов или в разных тканях.....	57
4.7. Роль различных молекул и рецепторов на поверхности макрофагов в процессе их пролиферации.....	58
4.8. Известные механизмы, ингибирующие пролиферацию макрофагов.....	58
4.9. Краткое изложение общих механизмов пролиферации макрофагов.....	59
4.10. Связь TLR-сигналинга и клеточного цикла.....	60
4.11. Пролиферация макрофагов после активации TLR: примеры.....	61
4.12. Клеточный контекст: когда TLR-индукция стимулирует пролиферацию.....	61
4.13. Метаболическая поддержка пролиферации после активации TLR.....	62

4.14. TLR-сигналы как компоненты онкогенного перезапуска пролиферации TAM.....	62
4.15. Модели и методы изучения.....	63
4.16. Терапевтические перспективы: можно ли управлять пролиферацией через TLR.....	63

ГЛАВА 5. ПРОЛИФЕРАЦИЯ МАКРОФАГОВ, ИНДУЦИРОВАННАЯ TOLL-ПОДОБНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ, В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ.....64

5.1. Общая характеристика: патофизиологическая роль TLR-зависимой пролиферации	64
5.2.Онкология: роль TAM и TLR в опухолевом микроокружении.....	66
5.3.Аутоиммунные заболевания: активация TLR и персистирующее воспаление.....	70
5.4. Инфекционные заболевания: защита и патологическая гиперплазия.....	74
5.5. Метаболические заболевания и фиброз.....	77
5.6.Влияние микробиоты и метаболитов на TLR-индуцированную пролиферацию.....	80
5.7. Обобщение: фактор контекста.....	80

ГЛАВА 6. ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СТРАТЕГИИ МОДУЛЯЦИИ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ МАКРОФАГОВ.....81

6.1. Введение в терапевтическую модификацию TLR-сигналов.....	81
6.2. Антагонисты TLR: подавление пролиферации макрофагов при хронических заболеваниях.....	81
6.3. Агонисты TLR: стимуляция пролиферации макрофагов при инфекциях и раке.....	83

6.4. Комбинированные подходы: оптимизация терапии.....	84
6.5. Перспективы: новые подходы и технологии.....	85
ГЛАВА 7. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ TLR В КОНТЕКСТЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ МАКРОФАГОВ.....	
7.1. Введение в экспериментальные методы.....	87
7.2. Модели in vitro.....	87
7.3. Модели in vivo.....	89
7.4. Методы молекулярной биологии для изучения TLR- сигналинга.....	90
7.5. Визуализация пролиферации и активации макрофагов.....	90
ГЛАВА 8. ТЕХНОЛОГИИ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ ДЛЯ МОДУЛЯЦИИ TLR- АКТИВНОСТИ.....	
8.1. Введение в новые терапевтические технологии.....	91
8.2. Системы доставки препаратов.....	91
8.3. Роль RNA-терапии в модуляции TLR.....	93
8.4. Фармакогенетика и персонализированная терапия.....	94
8.5 Ингибиторы TLR-активности.....	95
ГЛАВА 9. ПЕРСПЕКТИВЫ И ВЫЗОВЫ В ИССЛЕДОВАНИЯХ TLR И ИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ.....	
9.1. Перспективы использования TLR в терапии инфекционных заболеваний.....	97

9.2. Применение TLR-агонстов и антагонистов в терапии аутоиммунных заболеваний.....	98
9.3. Применение TLR в онкологии.....	99
9.4. Технологические и экспериментальные вызовы в исследованиях TLR.....	100
9.5. Заключение: вызовы и перспективы в модуляции TLR-активности.....	101
ГЛАВА 10. ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	102
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	108

Введение

Актуальность темы

Иммунная система человека представляет собой сложную сеть клеток и молекул, обеспечивающих защиту организма от патогенов, опухолей и других вредоносных факторов. Центральную роль в запуске врождённого иммунного ответа играют Toll-подобные рецепторы (TLR), распознающие молекулярные

паттерны, ассоциированные с патогенами (PAMP), и повреждённые структуры организма (DAMP). Среди клеток врождённого иммунитета особое значение имеют макрофаги — ключевые эффекторные и регуляторные элементы воспалительного ответа.

В последние годы всё большее внимание уделяется не только роли TLR в активации макрофагов, но и их влиянию на пролиферацию этих клеток. Установлено, что активация TLR может не только изменять функциональное состояние макрофагов (поляризация), но и влиять на их способность к делению и поддержанию численности в тканях. Это особенно актуально в контексте хронических воспалений, онкологических процессов и аутоиммунных заболеваний, где макрофаги играют двоякую роль — как защитников, так и потенциальных промоторов патологии.

Цель и задачи исследования.

Цель данной монографии — обобщить современные данные о Toll-подобных рецепторах и их влиянии на пролиферацию макрофагов, а также рассмотреть механизмы, лежащие в основе этого взаимодействия, и его значение в патологии.

Задачи:

1. Описать структуру, функции и сигнальные пути Toll-подобных рецепторов.
2. Рассмотреть биологию макрофагов, их типы и функции в организме.
3. Изучить влияние TLR на поведение макрофагов, в том числе на их пролиферацию.
4. Проанализировать значение TLR-опосредованной пролиферации макрофагов при различных заболеваниях.
5. Оценить терапевтический потенциал модуляции TLR для контроля макрофагов.

Методы исследования

Монография основана на анализе научной литературы за последние 10–15 лет, включая статьи из баз данных PubMed, Scopus, Web of Science, а также обзоры, экспериментальные и клинические исследования. Акцент сделан на междисциплинарный подход, объединяющий молекулярную биологию, иммунологию, клеточную физиологию и медицину.

Структура работы

Работа состоит из семи глав, охватывающих ключевые аспекты взаимодействия TLR и макрофагов, включая молекулярные механизмы, биологическое значение и клинические перспективы. Завершает монографию заключение с основными выводами и предложениями по направлениям будущих исследований.

ГЛАВА 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ (TLR)

1.1. Исторический обзор и значимость открытия TLR

Первые представления о роли врождённого иммунитета как самостоятельного компонента иммунной защиты человека начали складываться в 80–90-х годах XX века. До этого иммунологи уделяли основное внимание адаптивному иммунитету, считая врождённую реакцию неспецифической и вспомогательной. Однако открытие рецепторов, способных различать патогены по молекулярным паттернам, резко изменило научную парадигму.

Toll был впервые идентифицирован в 1985 году как ген, ответственный за дорсо-вентральную ось эмбриона *Drosophila*. Позднее оказалось, что мутации в этом гене также повышают чувствительность к грибковым инфекциям. В 1996–1997 годах группа Джанвея (Janeway) и Меджавера (Medzhitov) обнаружила TLR4 — первый Toll-подобный рецептор у млекопитающих, связывающийся с липополисахаридом (*LPS*), ключевым компонентом грамотрицательных бактерий.

Это открытие позволило сформулировать концепцию *паттерн-распознающих рецепторов (PRR)* и объяснить, каким образом врождённый иммунитет способен узнавать и отличать патогены от собственных клеток организма.

1.1. Молекулярная структура TLR и механизм распознавания лиганда

Каждый TLR — это типичный трансмембранный белок, обладающий:

- **Внеклеточным доменом**, богатым лейциновыми повторами (LRR), формирующими подковообразную структуру;
- **Трансмембранным сегментом**, фиксирующим рецептор в клеточной мембране;

- Цитоплазматическим доменом TIR (Toll/IL-1R), ассоциированным с сигнальной трансдукцией (рис 1).

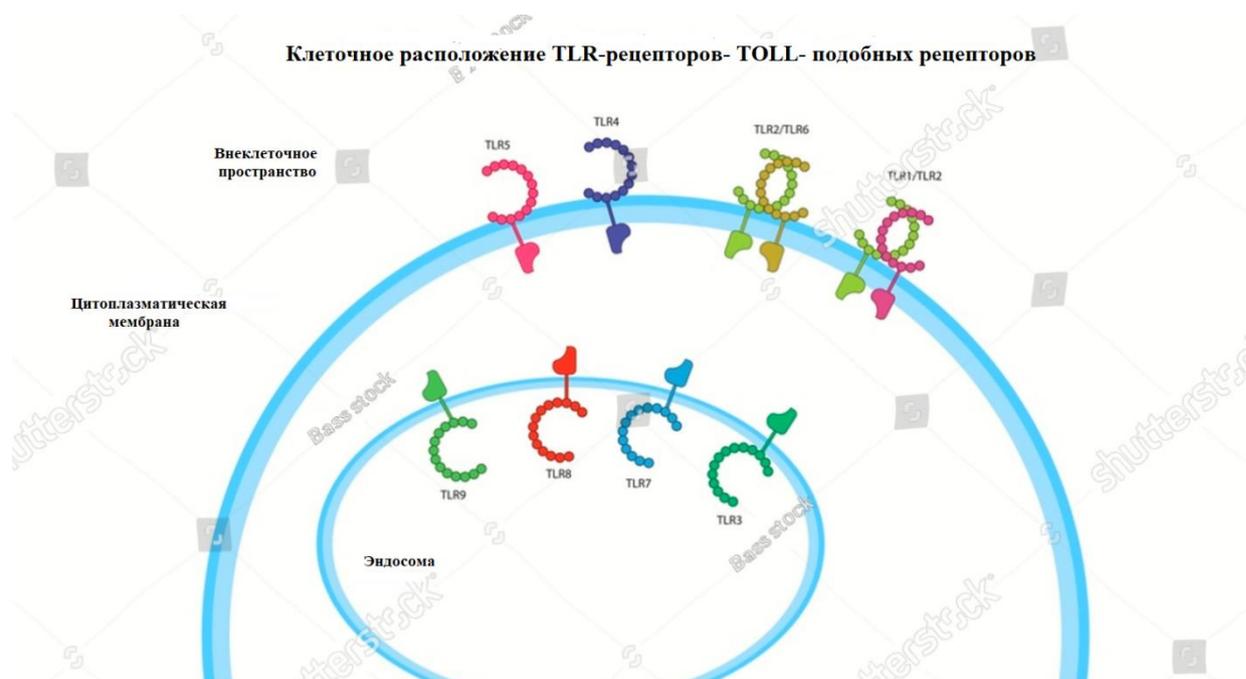
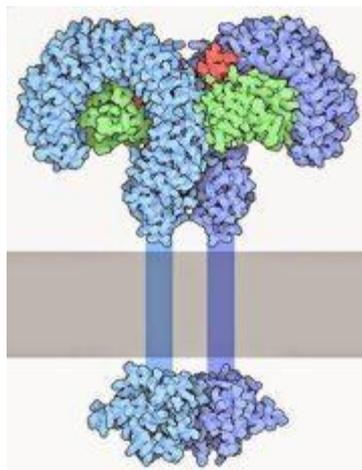


Рис.1. Структура и расположение TLR в мембране

Внеклеточный домен TLR специфически узнаёт PAMP и DAMP — паттерны, не встречающиеся в нормальных клетках человека. Примеры: флагеллин, маннозиллированные белки, вирусные нуклеиновые кислоты, повреждённая ДНК, окисленные липопротеины (рис.2).

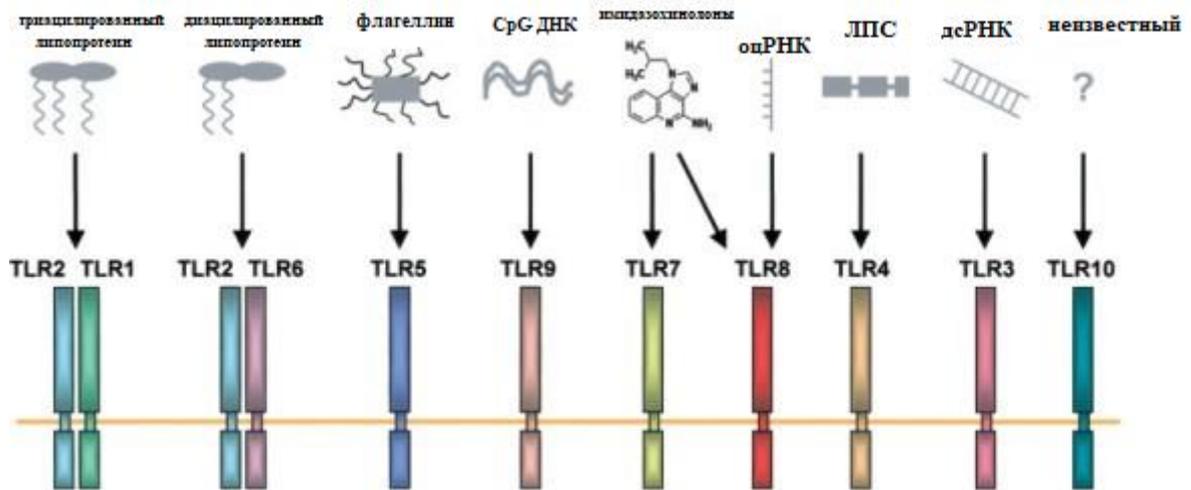


Рис.2. TLR специфические PAMP и DAMP.

После связывания лиганда происходит **димеризация TLR** (гомо- или гетеродимеризация), что приводит к активации TIR-домена и запуску сигнального каскада (рис.3).

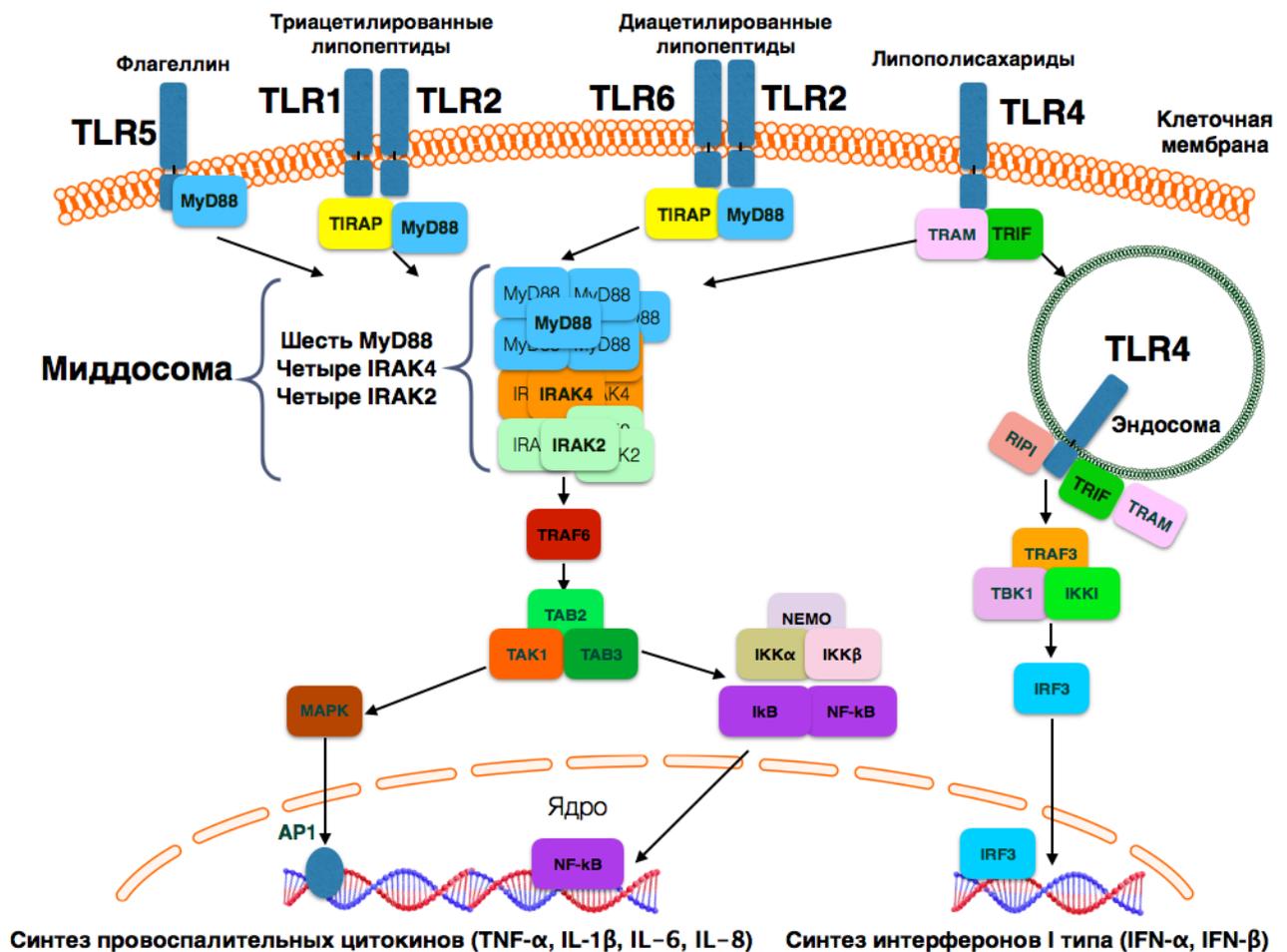


Рис.3. Сигнальные каскады запускаемые TLR

1.1.Разнообразие TLR у человека и животных

У человека обнаружено 10 функциональных TLR (TLR1–TLR10), тогда как у мышей — 12 (TLR1–TLR9 и TLR11–TLR13). Некоторые TLR имеют видовую специфичность:

- TLR10 у человека функционирует как иммунорегулятор, но у мышей он нефункционален (таблица 1, рис.4).
- TLR11–13 присутствуют у мышей, но отсутствуют у человека (рис. 4).

Разнообразие TLR и распознавание ими специфических патогенов

Таблица 1.

TLR	Основной лиганд	Локализация	Примеры патогенов
TLR1/2	Триациллипопротеины	Поверхность	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
TLR3	Двухцепочечная РНК	Эндосомы	Вирусы (реовирус)
TLR4	Липополисахарид (LPS)	Поверхность	<i>E. coli, Salmonella</i>
TLR5	Флагеллин	Поверхность	<i>Salmonella, Listeria</i>
TLR7/8	Одноцепочечная РНК	Эндосомы	Вирусы (грипп, HIV)
TLR9	Неметилованная CpG-ДНК	Эндосомы	Бактерии, вирусы
TLR10	Предположительно противовоспалительный	Поверхность	Человеческие микробиоты

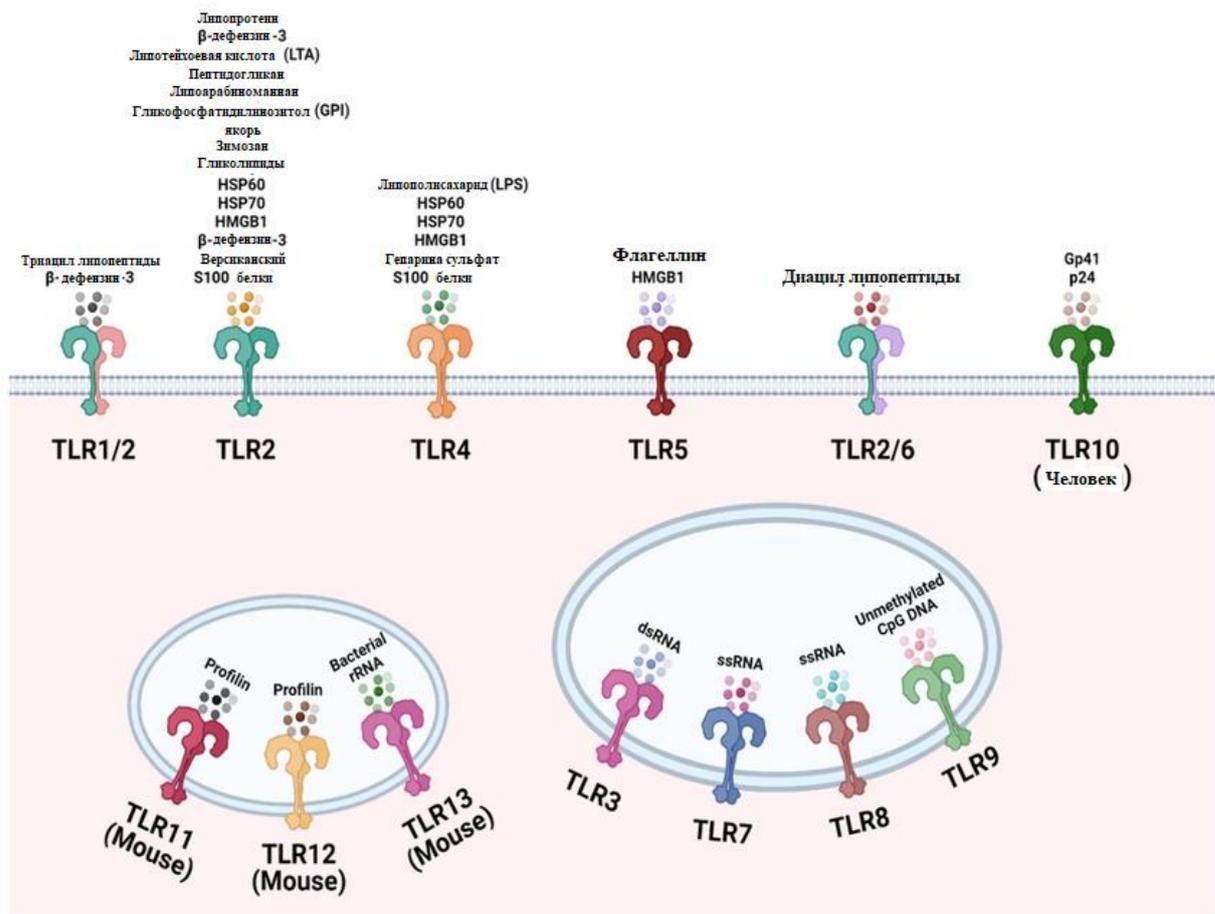


Рис. 4. Расположение TLR человека и мышей.

1.1. Сигнальные каскады, индуцируемые активацией TLR

После активации TLR запускаются сигнальные пути, которые можно условно разделить на **MyD88-зависимые** и **TRIF-зависимые**:

1.4.1 MyD88-зависимый путь (универсальный для TLR1/2, 4–9)

- Активация адаптера MyD88.
- Рекрутирование IRAK4 и IRAK1/2 → активация TRAF6.
- Активация TAK1 → активация ИКК-комплекса.
- Фосфорилирование и деградация IκB → транслокация NF-κB в ядро.
- Запуск транскрипции генов воспаления: **IL-1β**, **TNF-α**, **IL-6**, **COX-2**.

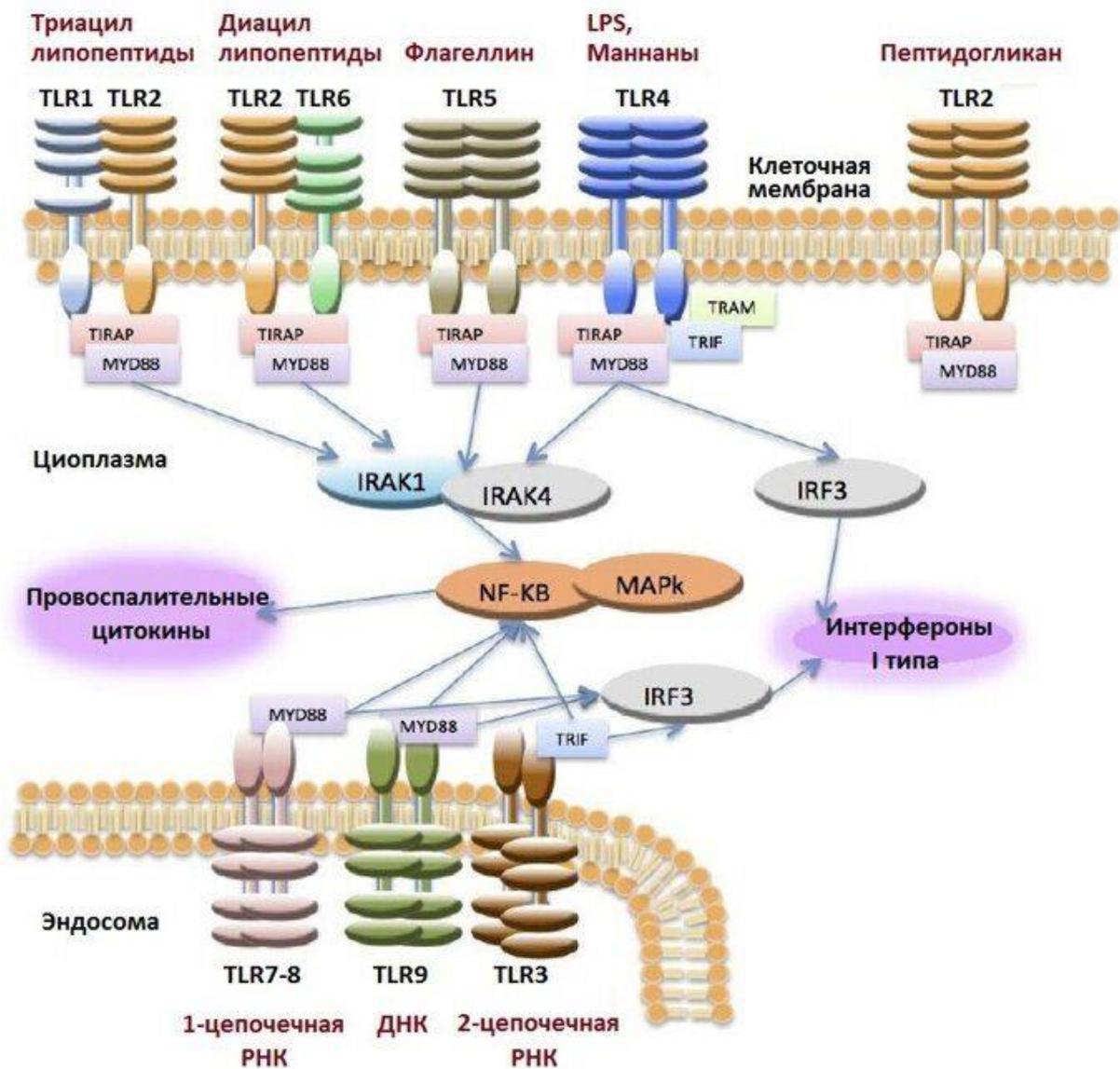


Рис. 5. Сигнальный каскад регулируемый TLR

1.4.2 TRIF-зависимый путь (TLR3 и TLR4)

- Рекрутирование TRIF → активация TBK1 и IKKε.
- Активация IRF3/7 → продукция **интерферонов типа I (IFN-α, IFN-β)**.

Эти пути могут комбинироваться, обеспечивая баланс между провоспалительными и противовирусными ответами.

1.1. Регуляция TLR-сигналинга

Чтобы избежать чрезмерной активации иммунной системы, организмы выработали ряд механизмов негативной регуляции TLR:

- **Супрессоры сигнального пути:** SOCS1/3, A20, IRAK-M.
- **МикроРНК (miRNA):** miR-146a, miR-155 модулируют экспрессию сигнальных белков (рис.6).
- **Эндогенные антагонисты:** растворимые TLR, RP105 (аналог TLR4), и др.

Нарушение регуляции TLR может привести к хроническому воспалению, аутоиммунитету или развитию опухолей.

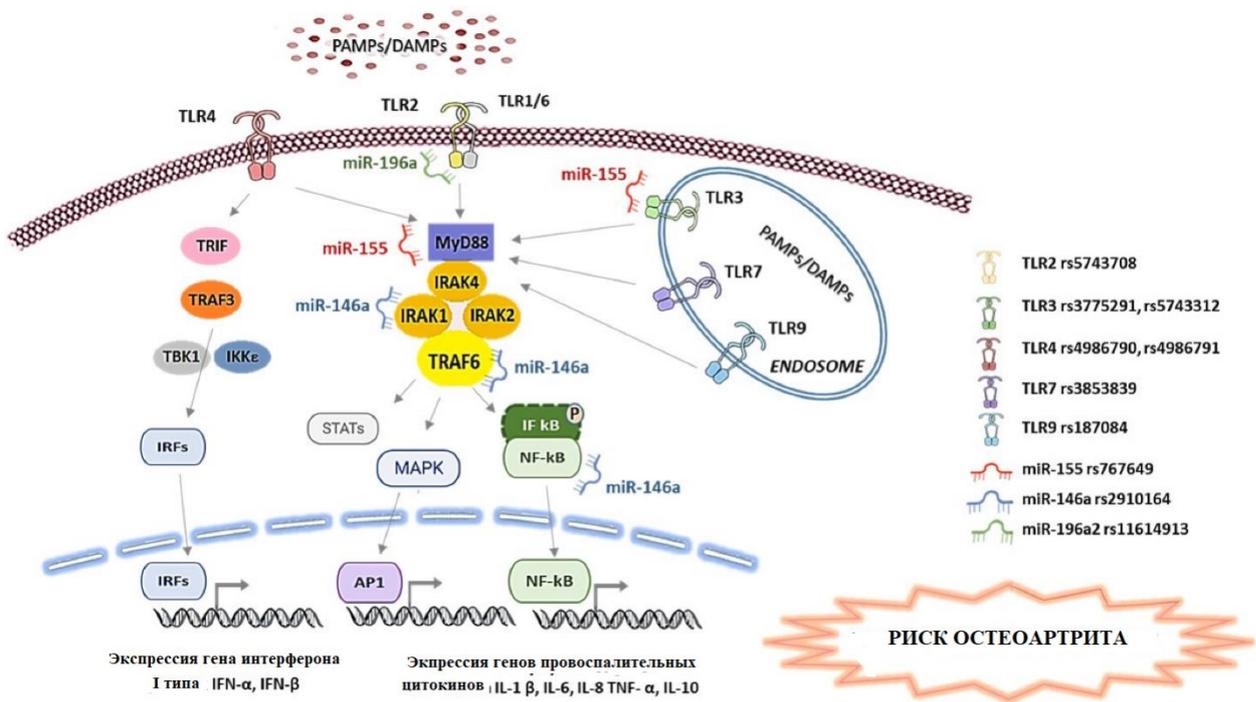
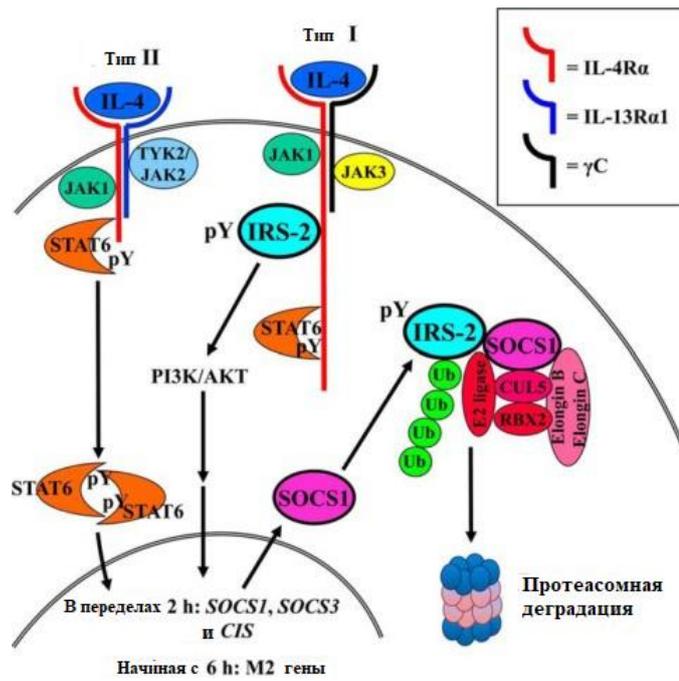


Рис.6. Регуляция TLR сигналинга.

1.1. Экспрессия и функциональные особенности TLR в клетках иммунной системы

Макрофаги экспрессируют почти весь набор TLR; активные TLR4 (на LPS), TLR2 (на липопротеины), TLR9 (на ДНК). Участвуют в продукции цитокинов и поляризации M1/M2 (рис.7).

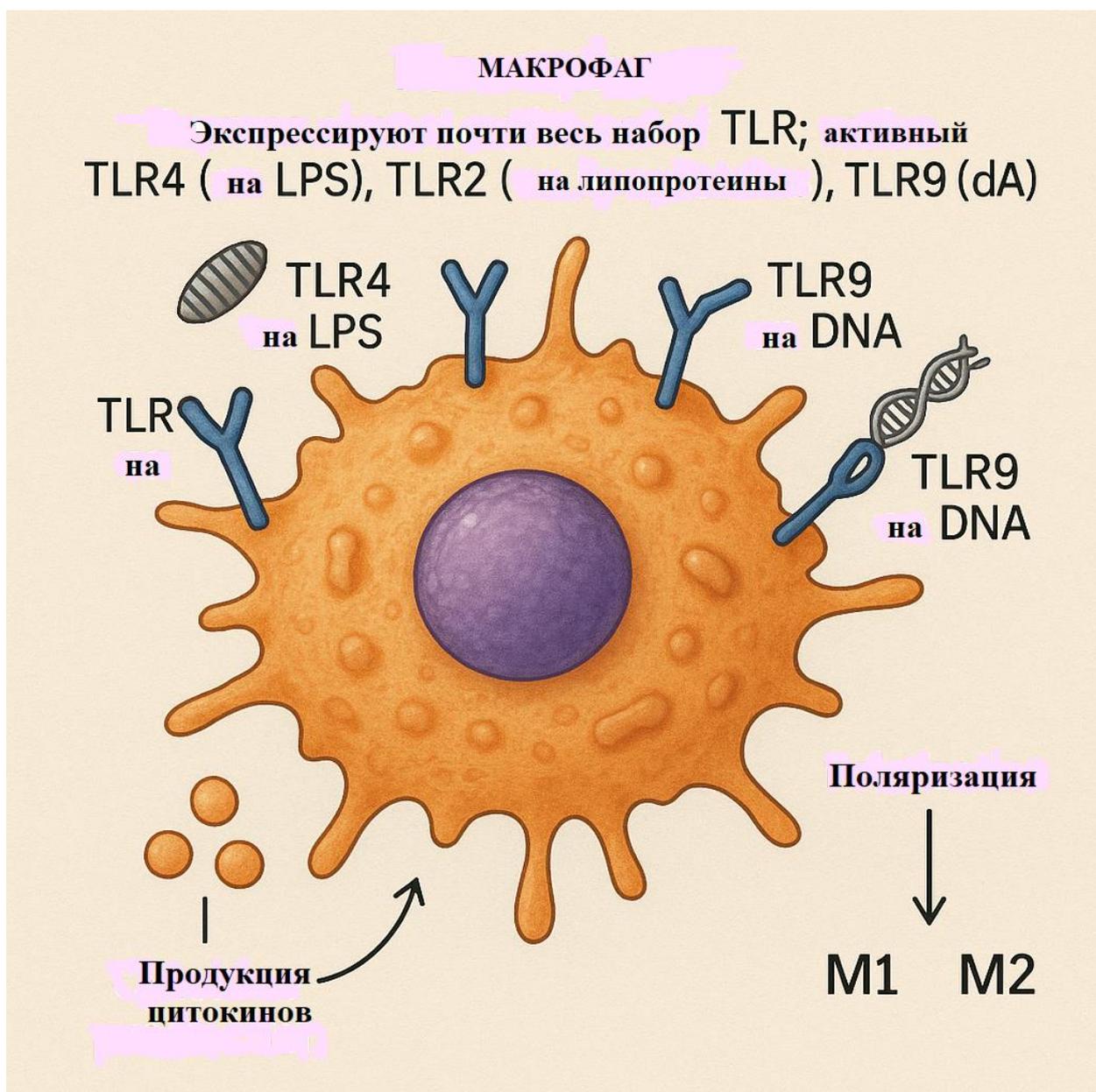


Рис.7. TLR экспрессируемые макрофагами.

Дендритные клетки (DC):

Имеют высокую экспрессию TLR3, 7, 8, 9. Обеспечивают связь врождённого и адаптивного иммунитета через презентацию антигенов (рис. 8).

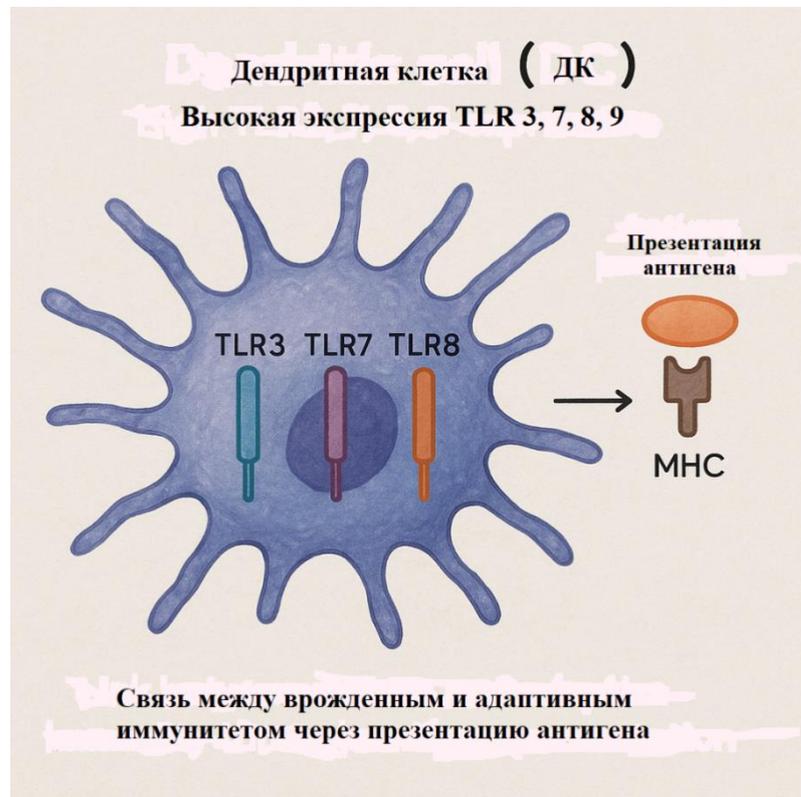


Рис.8. TLR экспрессируемые дендритными клетками.

Нейтрофилы:

TLR2, TLR4, TLR9 — ключевые для распознавания бактерий (рис.9).

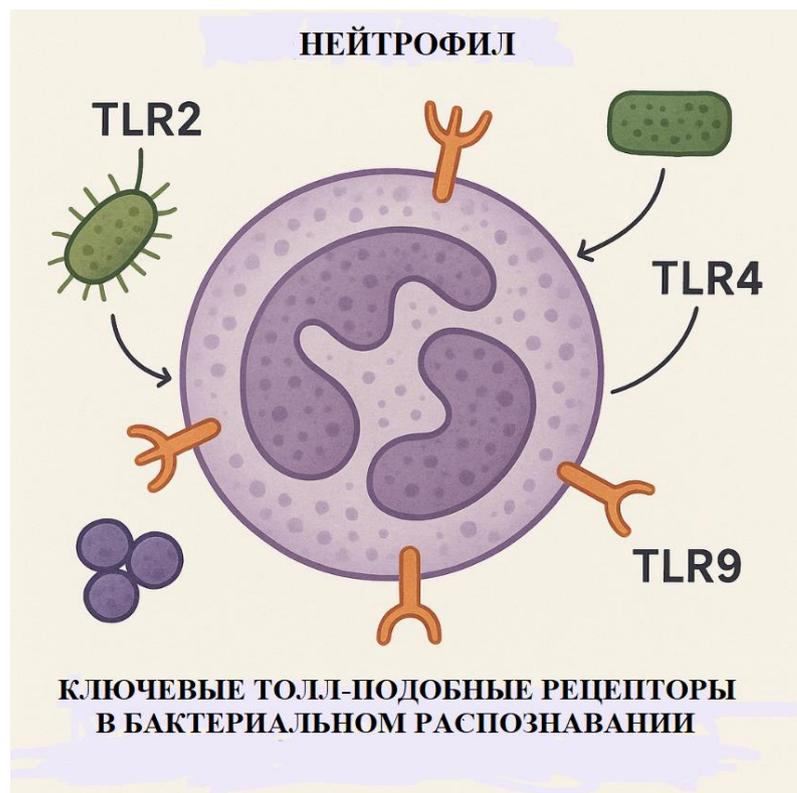


Рис.9. TLR экспрессируемые нейтрофилами.

НК-клетки, В-лимфоциты:

В-клетки активно используют TLR9 и TLR7 для активации, особенно в условиях вирусной инфекции (рис.10).



Рис.10 TLR экспрессируемые NK-клетками, В-лимфоцитами.

1.1. TLR в физиологии и патологии

TLR играют важную роль в:

- Защите от инфекций (бактерии, вирусы, грибы, паразиты)
- Модуляции адаптивного иммунитета (через DC и цитокины)
- Формировании иммунной памяти (через врождённые лимфоциты)
- Развитии аутоиммунных заболеваний (SLE, псориаз)
- Иммунопатологии (сепсис, цитокиновый шторм)
- Иммуномодуляции опухолей (через TAM и TLR-активацию в опухолевом микроокружении)

ГЛАВА 2. МАКРОФАГИ: ПРОИСХОЖДЕНИЕ, ФЕНОТИПЫ И ФУНКЦИИ В ИММУННОЙ СИСТЕМЕ

2.1. Историческая справка и эволюционная значимость

Макрофаги были впервые описаны Ильей Мечниковым в 1882 году как фагоцитирующие клетки, обеспечивающие первую линию защиты от патогенов. Они представляют собой одни из самых древних клеток врождённого иммунитета и имеют аналоги у беспозвоночных. В ходе эволюции макрофаги приобрели способность не только к фагоцитозу, но и к презентации антигенов, модуляции воспаления и регенерации тканей, что делает их центральными игроками иммунной гомеостази.

2.2. Гематопоз и происхождение макрофагов

Макрофаги могут происходить из двух источников (таблица 2):

2.2.1 Эмбриональные предшественники (жизненно важные тканевые резиденты)

- Происходят из желточного мешка или фетальной печени.
- Заселяют ткани на ранних стадиях развития.
- Способны к **самоподдерживающейся пролиферации in situ** без участия костного мозга.
- Примеры: **микроглия (мозг), Купферовские клетки (печень), альвеолярные макрофаги (лёгкие).**

2.2.2 Моноцитарное происхождение (воспалительные макрофаги)

- Моноциты продуцируются в костном мозге и мигрируют в ткани при воспалении.

- Дифференцируются в макрофагов под действием M-CSF, GM-CSF, TGF- β и микросреды.

Сравнительная таблица макрофагов

Таблица 2.

Сравнение:

Признак	Эмбриональные макрофаги	Моноцитарные макрофаги
Источник	Желточный мешок	Костный мозг
Пролиферация	Да, in situ	Ограничена
Участие в воспалении	Меньше	Высокое
Стабильность в ткани	Высокая	Зависит от условий

2.3 Разнообразие макрофагов: поляризация и пластичность

Макрофаги — чрезвычайно пластичные клетки, способные менять фенотип под влиянием окружающей среды (рис.11). Существует **двойная классификация**:

2.3.1 Классическая система M1/M2

- **M1 (классически активированные) (рис. 11,12):**
 - Индуцируются IFN- γ , LPS, TLR-лигандами.
 - Продуцируют IL-1 β , IL-6, TNF- α , NO.
 - Борются с патогенами и опухолями.
 - Поддерживают Th1-ответ.
- **M2 (альтернативно активированные) (рис. 11,12):**
 - Индуцируются IL-4, IL-13, TGF- β .
 - Продуцируют IL-10, аргиназу-1, VEGF.

- Участвуют в заживлении, ангиогенезе, подавлении воспаления.
- Поддерживают Th2-ответ и толерантность.

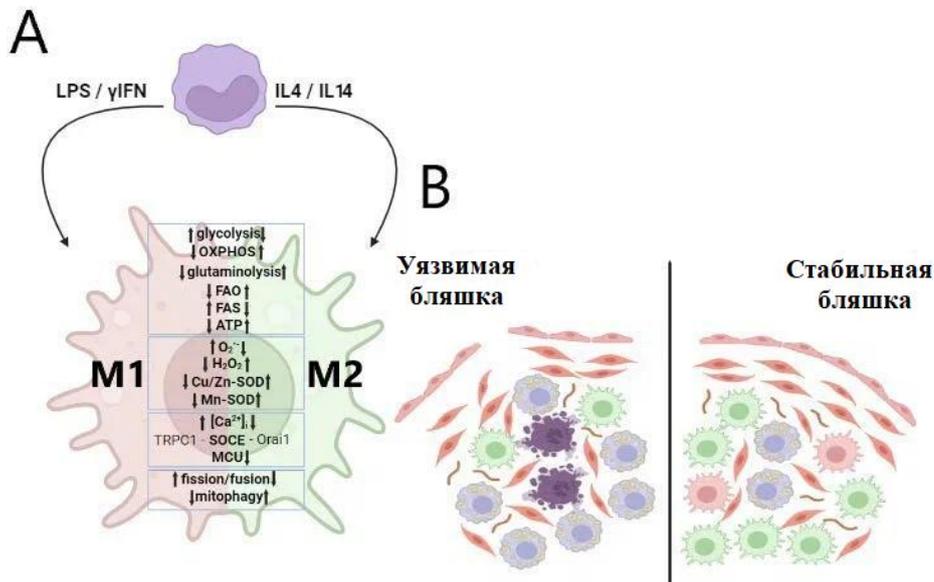


Рис.11. Типы макрофагов

2.3.2 Современные подходы: M2a, M2b, M2c, M2d, TAM, TREM2+ и др.

- В реальности фенотипы макрофагов варьируют по спектру схожи с M2 и способствуют опухолевому росту.
- Также открыты специфические подтипы:
 - **TREM2+ макрофаги** в опухолях.
 - **CX3CR1+ макрофаги** при хронических воспалениях.
 - **F4/80^{hi} CD206⁺ макрофаги** в тканях восстановления.

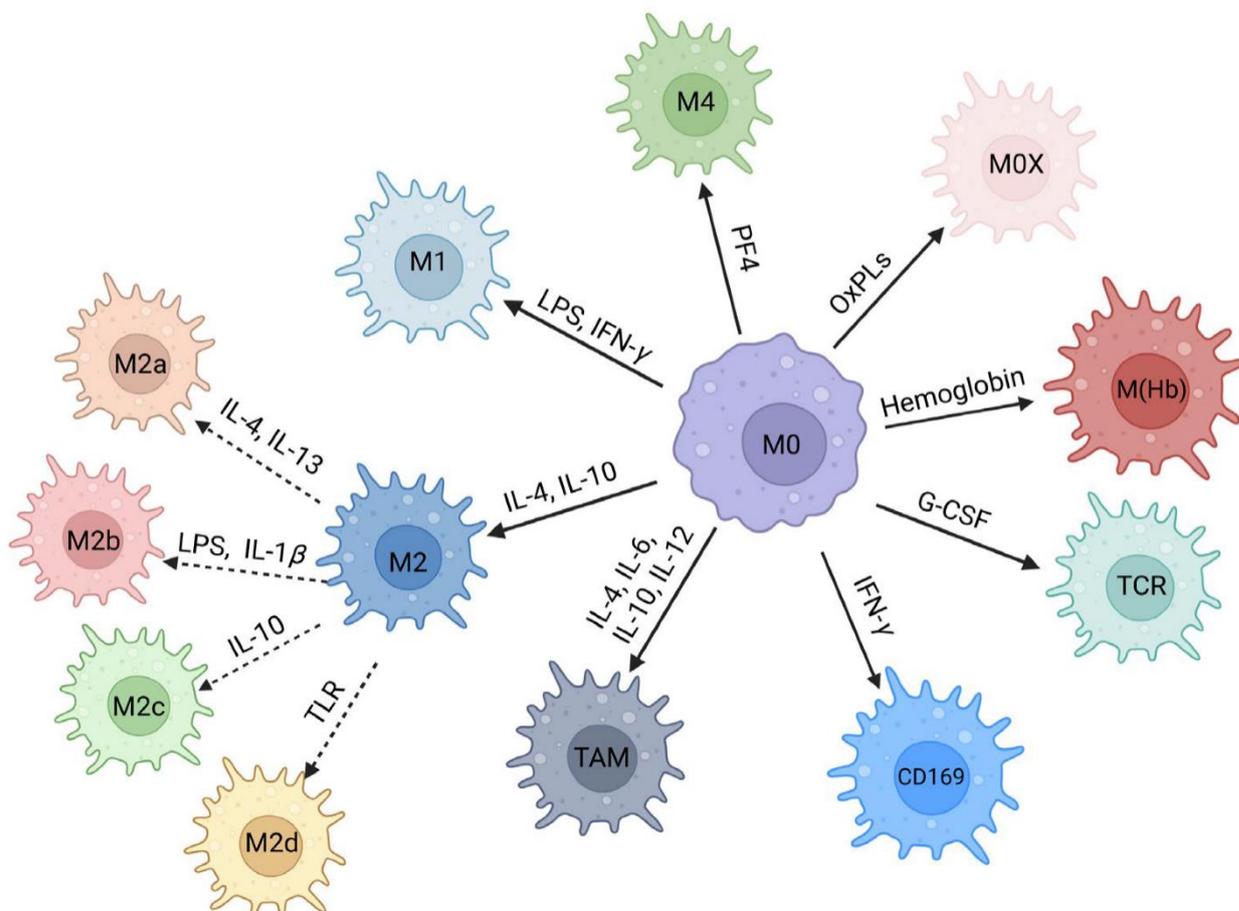


Рис 13. Классификация поляризации макрофагов (Мф).

Под действием различных факторов макрофаги состояния M0 могут поляризоваться в разные фенотипы (рис.13). Макрофаги M1 классически активируются в ответ на липополисахариды (LPS) и интерферон-гамма (IFN- γ). Наоборот, при стимуляции интерлейкинами 4 (IL-4) и 10 (IL-10) активируются макрофаги типа M2, которые, в свою очередь, могут подразделяться на фенотипы M2a, M2b, M2c или M2d в зависимости от конкретных стимулов. При наличии IFN- γ и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) макрофаги могут поляризоваться в CD169⁺ макрофаги и TCR⁺ макрофаги соответственно. При определённых условиях, например в опухолевой микросреде, происходит поляризация опухолеассоциированных макрофагов. При атеросклерозе макрофаги поляризуются в фенотипы M4, Mox и M(Hb) под влиянием тромбоцитарного

фактора 4 (PF4), окисленных фосфолипидов (OxPLs) и гемоглобина соответственно. **TLR** — толл-подобный рецептор.

2.4 Биологические функции макрофагов

Существует множество биологических функций макрофагов такие как (рис.14):

2.4.1 Фагоцитоз и разрушение патогенов

- Узнавание через TLR, Dectin-1, Fc-рецепторы.
- Внутриклеточное уничтожение с участием ROS, NO, лизосомальных ферментов.

2.4.2 Презентация антигенов

- Макрофаги экспрессируют МНС II и ко-стимулирующие молекулы (CD80/86).
- Презентируют антигены Т-хелперам → активация адаптивного иммунитета.

2.4.3 Продукция цитокинов

- IL-1 β , TNF- α , IL-6 — провоспалительные.
- IL-10, TGF- β — противовоспалительные.
- VEGF, PDGF — ангиогенные.

2.4.4 Контроль тканевой гомеостази

- Удаление апоптотических клеток (*эфероцитоз*).
- Поддержание толерантности.
- Стимуляция фиброзных процессов и регенерации.

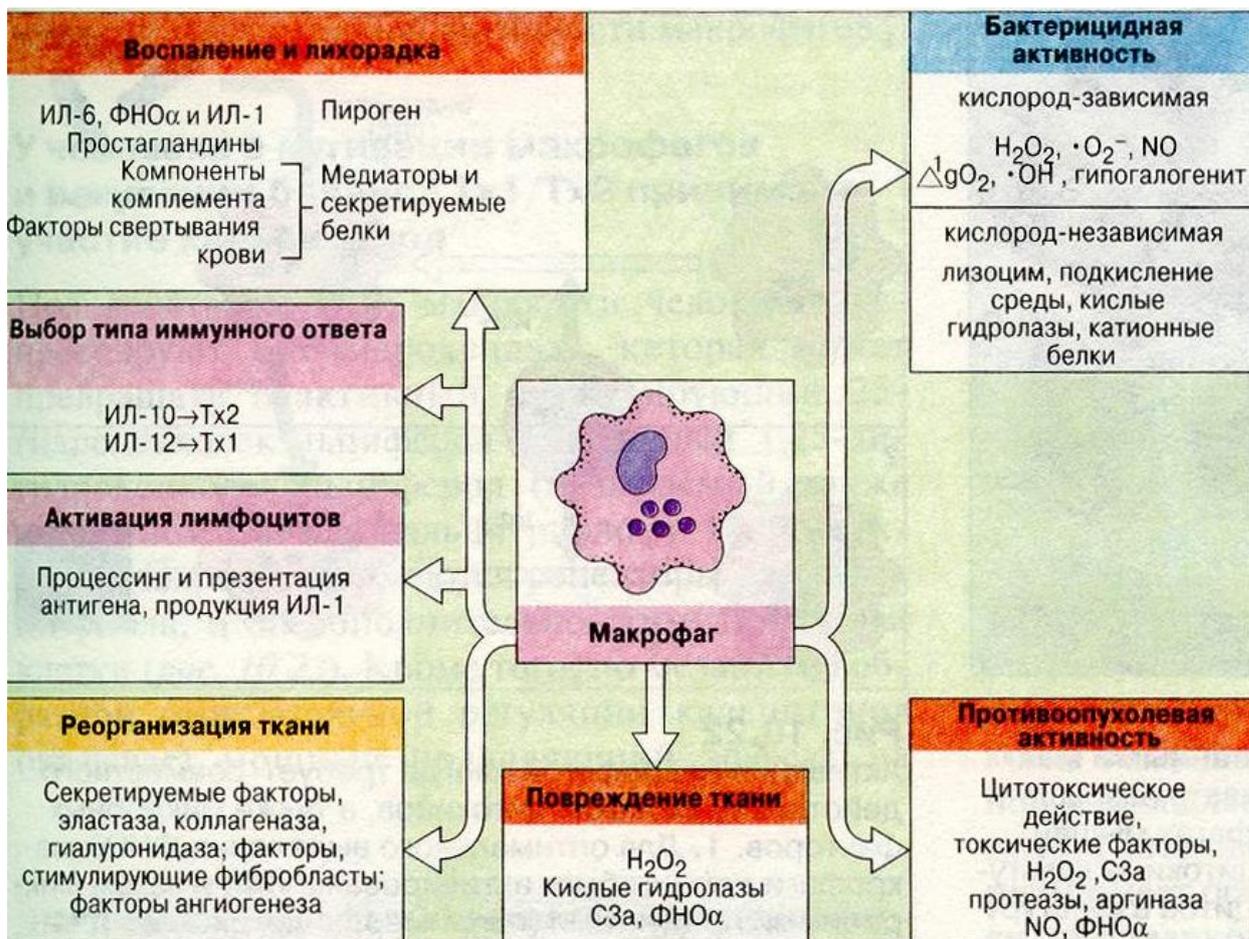


Рис.14 Функции макрофагов.

2.4 Проплиферация макрофагов: миф или реальность?

Долгое время считалось, что макрофаги не делятся и обновляются за счёт моноцитов. Однако современные исследования показали, что **многие тканевые макрофаги способны к пролиферации (рис.13)**, особенно при:

- **Инфекции** (например, *Schistosoma mansoni*, *Listeria monocytogenes*)
- **Опухолевом росте**
- **Хроническом воспалении**
- **Метаболических нарушениях (ожирение, диабет)**

Проплиферация зависит от:

- Микроокружения и цитокинов (IL-4, IL-34, CSF-1)
- Внутриклеточных сигнальных путей (PI3K/АКТ, ERK, mTOR)

- Активации TLR (рис.15).

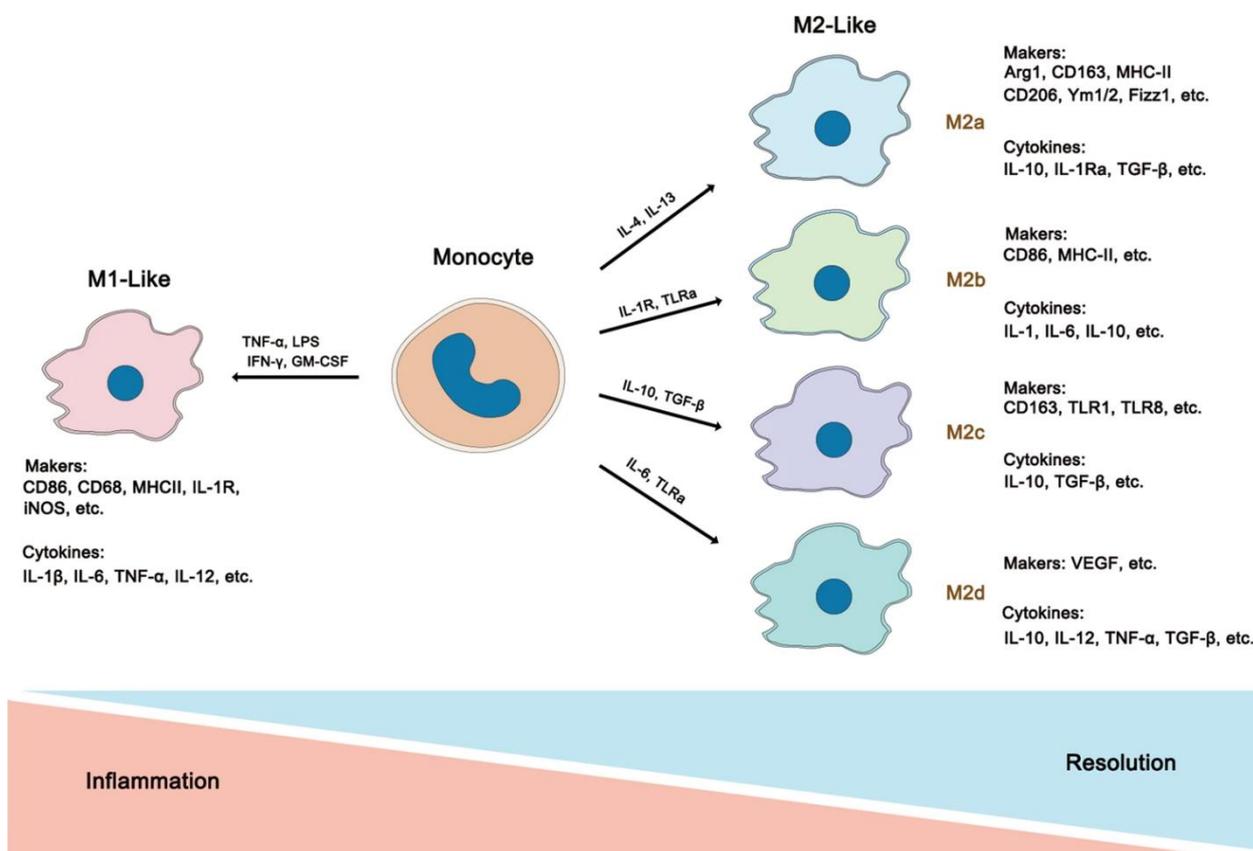


Рис.15 Пролiferация макрофагов

2.5 Маркеры макрофагов: иммунологическая идентификация

Для анализа макрофагов используют панель маркеров (таблица 3):

Панель маркеров макрофагов

Таблица 3.

Маркер	Назначение	Пример
F4/80	Общий маркер (мыши)	Резидентные макрофаги
CD11b	Активация, фагоцитоз	Воспалительные макрофаги
CD68	Общий маркер (человек)	Тканевые макрофаги
CD206 (Mannose-R)	M2-поляризация	Репаративные макрофаги
iNOS	M1-макрофаги	Продукция NO
Arginase-1	M2-макрофаги	Репарация тканей

Также используется мультиплексный иммуногистохимический анализ, цитофлуориметрия и RNA-seq для описания транскриптома.

2.6 Макрофаги в патологических процессах

- **Инфекция:** уничтожение патогенов, формирование гранулём.
- **Аутоиммунитет:** при гиперактивации TLR (например, в SLE).
- **Онкология:** TAM способствуют инвазии, ангиогенезу, иммуносупрессии.
- **Метаболические заболевания:** M1-макрофаги в жировой ткани → инсулинорезистентность.
- **Нейродегенерация:** микроглия при болезни Альцгеймера и Паркинсона.

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА АКТИВАЦИЮ И ПОЛЯРИЗАЦИЮ МАКРОФАГОВ

3.1 Основы взаимодействия TLR и макрофагов

Макрофаги экспрессируют широкий спектр TLR (в основном TLR1–9), что делает их одними из ключевых сенсоров патоген-ассоциированных (PAMP) и повреждение-ассоциированных молекулярных паттернов (DAMP). Связывание этих паттернов с TLR приводит к запуску сигнальных путей, меняющих:

- фенотип макрофага,
- экспрессию цитокинов,
- метаболизм,
- антигенпрезентацию,
- способность к пролиферации и миграции.

3.2 Модуляция поляризации макрофагов через TLR

3.2.1 Классическая активация через TLR4 (на LPS) и IFN- γ → M1-фенотип

- Приводит к экспрессии провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α).
- Активирует iNOS → продукция NO (ингибитор пролиферации и антимикробный агент).
- Усиливает экспрессию MHC II и CD86 — повышается антигенпрезентация.
- Подавляет регенераторные и фибротические процессы.

Пример: при сепсисе или инфекции *M. tuberculosis* доминирует M1-фенотип, индуцированный через TLR4/2.

3.2.2 Альтернативная активация через TLR2/TLR4 + IL-4 → M2-фенотип

- Повышается экспрессия Arg-1, Ym1, Fizz1, CD206.
- Продукция противовоспалительных цитокинов (IL-10, TGF-β).
- Участие в ангиогенезе, ремоделировании тканей, подавлении воспаления.
- Часто наблюдается при заживлении ран, паразитарных инфекциях, в опухолях.

Пример: в опухолевом микроокружении M2-макрофаги (TAM) часто активируются через TLR2 и IL-10-сигналинг.

3.2.3 Переходные и гибридные фенотипы ("M1.5", TAM, M4, Mox, Mhem и др.)

- Некоторые макрофаги экспрессируют как провоспалительные, так и репаративные маркеры.
- Это отражает динамический и адаптивный характер TLR-индуцированной поляризации.

3.3 TLR-специфичность поляризации: различия между рецепторами

TLR2

- В гетеродимере с TLR1 или TLR6 реагирует на липопротеины, лупоидные антигены.
- Может индуцировать как M1-, так и M2-ответ, в зависимости от ко-сигналов.
- Участвует в активации макрофагов при инфекции *Mycobacterium*, *Candida albicans* (таблица 4).

Роль TLR2 в поляризации макрофагов

Таблица 4:

Условие/Лиганд	Ответ макрофагов	Ссылка
Сигнализация TLR2 в целом	Может индуцировать как M1, так и M2-ответ в зависимости от ко-сигналов	[Quero L, 2017]
TLR1/TLR2	Способствует дифференцировке моноцитарных ММСК в макрофаги M1	[Kruzick, S., 2005]
HMGB1	Индуцирует поляризацию макрофагов M1 через TLR2 и TLR4	[Wang J, 2020.]
Пальматин	Ослабляет поляризацию макрофагов M1 через NAMPT/TLR2/CCR1	[Wang L, 2024]
Агонисты TLR2 + IL-1R	Индуцируют поляризацию макрофагов M2b	[Peng Y 2023]
Стимуляция TLR2	Может нарушать противовоспалительную активность M2-подобных макрофагов	[Quero L, 2017]
HBsAg	Нарушает поляризацию M2, способствует провоспалительным цитокинам	[Yi H 2020]

TLR3

- Реагирует на dsRNA вирусов → активация IRF3 → продукция IFN-β.
- Преобладает антивирусный M1-подобный ответ.
- Может усиливать противоопухолевые функции макрофагов.

TLR4

- Классическая активация на LPS → M1-поляризация.
- В опухолевом контексте может способствовать и иммуносупрессии через экспрессию PD-L1.

TLR7/8/9

- Эндосомальные TLR, реагируют на вирусные и бактериальные нуклеиновые кислоты.
- Способны индуцировать как воспаление, так и продукцию IL-10.
- При хронической активации — сдвиг в сторону толерантности.

3.4 Клеточные и сигнальные механизмы TLR-индуцированной активации макрофагов

Макрофаги, неотъемлемые компоненты врожденной иммунной системы, представляют собой первую линию защиты организма от вторжения патогенов и играют многогранную роль в поддержании гомеостаза и восстановлении тканей.¹ Эти универсальные иммунные клетки оснащены арсеналом рецепторов распознавания образов (PRR), которые позволяют им обнаруживать консервативные молекулярные паттерны, связанные с патогенами (PAMPs), и эндогенные сигналы опасности (DAMPs), инициируя каскад событий, приводящих к их активации.¹ Среди этих PRR семейство Toll-подобных рецепторов (TLRs) занимает видное место, служа в качестве важнейшего интерфейса, через который макрофаги воспринимают свою среду и реагируют на нее.³ В этом отчете рассматриваются сложные клеточные и сигнальные механизмы, которые регулируют TLR-индуцированную активацию макрофагов, исследуются структурные характеристики TLR, разнообразный спектр распознаваемых ими лигандов, задействованные ими нижестоящие сигнальные пути, ключевые факторы транскрипции, которые впоследствии активируются, результирующие клеточные ответы и глубокое влияние сигнализации TLR на поляризацию макрофагов.

Toll-подобные рецепторы: стражи активации макрофагов

Toll-подобные рецепторы представляют собой семейство трансмембранных белков, которые имеют консервативную структурную архитектуру, включающую внеклеточный домен, состоящий из лейцин-богатых повторов (LRR), ответственных за распознавание лиганда, единственный трансмембранный домен, который заякоривает рецептор в клеточной мембране, и внутриклеточный домен Toll/IL-1 рецептора (TIR), который оркестрирует нижестоящую передачу сигнала.³ Эта модульная

конструкция обеспечивает как замечательное разнообразие в распознавании лигандов, так и определенную степень консервативности в сигнальном механизме, который впоследствии активируется. После связывания лиганда TLR обычно подвергаются димеризации, образуя либо гомодимеры, либо гетеродимеры, процесс, который имеет решающее значение для сближения TIR-доменов и инициации внутриклеточных сигнальных каскадов.

Макрофаги экспрессируют широкий репертуар TLR, стратегически локализованных в различных клеточных компартментах, что позволяет осуществлять надзор за патогенами в различных нишах. Определенные TLR, включая TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10, находятся на клеточной поверхности, готовые к обнаружению внеклеточных патогенов, в то время как другие, такие как TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9, обнаруживаются внутри внутриклеточных везикул, таких как эндосомы, что позволяет распознавать интернализированные микробы и их нуклеиновые кислоты.³ Уровни экспрессии этих TLR на макрофагах не являются статичными и могут динамически регулироваться различными факторами, включая возраст организма, наличие воспалительных стимулов и специфическое функциональное состояние или поляризацию макрофага.³² Эта динамическая регуляция подчеркивает замечательную пластичность макрофагов, позволяя им точно настраивать свои ответы на конкретные угрозы и адаптироваться к изменяющимся сигналам окружающей среды.

TLR распознают широкий спектр PAMPs, полученных из различных микробных источников, включая бактерии, вирусы, грибы и паразиты.¹ Кроме того, они могут также распознавать DAMPs, высвобождаемые из подвергшихся стрессу или поврежденных клеток хозяина, что подчеркивает их участие в процессах, выходящих за рамки инфекции, таких как стерильное воспаление и восстановление тканей.¹ Эта двойная способность к распознаванию подчеркивает роль TLR как ключевых сенсоров, которые

позволяют макрофагам реагировать на широкий спектр проблем для гомеостаза.

Специфические TLR и их лиганды в активации макрофагов

Макрофаги используют разнообразный набор TLR для обнаружения широкого спектра патогенов и сигналов опасности. Специфические задействованные TLR определяются природой стимула, и это взаимодействие впоследствии определяет внутриклеточные сигнальные пути, которые активируются, и результирующие клеточные ответы.

TLR2 выделяется своей замечательной универсальностью в распознавании широкого спектра микробных компонентов, включая бактериальные липопептиды (как диацилированные, так и триацилированные), липотейхоевую кислоту (LTA) из грамположительных бактерий, пептидогликаны и маннозо-кэпированные липоарабиноманнаны (ManLAM) из микобактерий.⁴ Его репертуар распознавания лигандов еще больше расширяется благодаря его способности образовывать гетеродимеры с TLR1, который обычно распознает триацилированные липопептиды, или с TLR6, который предпочтительно распознает диацилированные липопептиды и LTA. TLR2 играет решающую роль в ответах макрофагов на различные патогены, включая *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida albicans* и различные вирусы.⁴² Примечательно, что сигнализация TLR2 может влиять на поляризацию макрофагов как в сторону фенотипа M1, так и M2, что подчеркивает контекстно-зависимый характер его эффектов.

TLR4 служит основным рецептором для липополисахарида (LPS), основного компонента наружной мембраны грамотрицательных бактерий, что делает его ключевым сенсором этого класса патогенов. TLR4 может также распознавать другие лиганды, включая определенные вирусные компоненты. Примечательно, что сигнализация TLR4 в макрофагах может активировать как MyD88-зависимые, так и -независимые (TRIF-зависимые) пути, что приводит к разнообразным клеточным ответам и играет роль в выживании макрофагов.

TLR3, расположенный в эндосомах, является важнейшим сенсором двухцепочечной РНК (дцРНК), характерного признака вирусной инфекции. Он сигнализирует преимущественно через MyD88-независимый (TRIF-зависимый) путь, что приводит к активации IRF3 и выработке интерферонов I типа, играя решающую роль в противовирусных ответах в макрофагах. Стимуляция TLR3 может также влиять на поляризацию макрофагов в сторону фенотипа M1.

TLR7 и TLR8, также расположенные в эндосомах, распознают одноцепочечную РНК (оцРНК) вирусов. Они преимущественно сигнализируют через MyD88-зависимый путь, что приводит к активации NF-κB и выработке цитокинов. Связывание TLR7 и TLR9 может снижать презентацию антигена макрофагами.

TLR9, также находящийся в эндосомах, является ключевым сенсором для неметилированной CpG ДНК бактерий и вирусов. Он сигнализирует через MyD88-зависимый путь, что приводит к активации NF-κB и выработке цитокинов. TLR9 может также взаимодействовать с IRF3 для индукции воспалительных реакций. Аналогично TLR7, связывание TLR9 может также снижать презентацию антигена макрофагами.

TLR5, расположенный на клеточной поверхности, распознает бактериальный флагеллин, позволяя макрофагам обнаруживать подвижные бактерии. Он сигнализирует через MyD88-зависимый путь, что приводит к активации NF-κB и выработке провоспалительных цитокинов.

TLR10, поверхностный TLR, может образовывать гетеродимеры с TLR2. Хотя его лиганды все еще исследуются, он может распознавать бактериальные и вирусные белки (таблица 5).

Ключевые TLR, экспрессируемые макрофагами, и их основные лиганды

Таблица 5:

TLR	Локализация	Основные лиганды
-----	-------------	------------------

TLR1	Клеточная поверхность	Триацилированные липопептиды (часто гетеродимеризуется с TLR2)
TLR2	Клеточная поверхность	Диацил- и триацил-липопептиды, LTA, ManLAM (часто гетеродимеризуется с TLR1 или TLR6)
TLR3	Эндосомы	Двухцепочечная РНК (дцРНК)
TLR4	Клеточная поверхность/Эндосомы	Липополисахарид (ЛПС)
TLR5	Клеточная поверхность	Флагеллин
TLR6	Клеточная поверхность	Диацил-липопептиды, LTA (часто гетеродимеризуется с TLR2)
TLR7	Эндосомы	Одноцепочечная РНК (оцРНК)
TLR8	Эндосомы	Одноцепочечная РНК (оцРНК)
TLR9	Эндосомы	CpG ДНК
TLR10	Клеточная поверхность	Лиганды исследуются (может распознавать бактериальные и вирусные белки) (может гетеродимеризоваться с TLR2)

MyD88-зависимый сигнальный путь в макрофагах

MyD88-зависимый сигнальный путь представляет собой основной канал для активации макрофагов ниже большинства TLR, за исключением TLR3. После связывания лиганда и димеризации рецептора TIR-домен TLR претерпевает конформационные изменения, что приводит к рекрутированию адаптерного белка MyD88 к рецептору. Это взаимодействие облегчается гомотипическими взаимодействиями между TIR-доменами TLR и MyD88.

MyD88, в свою очередь, рекрутирует другие адаптерные белки, включая TIRAP/MAL, который, по-видимому, специфичен для сигнализации TLR4 и TLR2, добавляя уровень специфичности к пути.⁴³ Затем комплекс MyD88

рекрутирует членов семейства киназ, связанных с рецептором интерлейкина-1 (IRAK), в основном IRAK4 и IRAK1, которые активируются путем фосфорилирования внутри комплекса.³

Активированные IRAK впоследствии активируют фактор 6, связанный с рецептором фактора некроза опухоли (TRAF6), E3 убиквитинлигазу, которая имеет решающее значение для нижестоящей передачи сигнала.² TRAF6, посредством своей активности убиквитинлигазы, приводит к активации комплекса IκB киназы (IKK), который состоит из каталитических субъединиц IKKα и IKKβ и регуляторной субъединицы NEMO (NF-κB essential modulator).²

Затем IKKβ фосфорилирует IκBα, ингибитор фактора транскрипции NF-κB (ядерный фактор каппа-легкой цепи усилителя активированных В-клеток).² Фосфорилирование IκBα запускает его убиквитинирование и последующую деградацию протеасомой, высвобождая NF-κB из ингибиторного комплекса. Освобожденный NF-κB, теперь активный, перемещается в ядро, где связывается со специфическими последовательностями ДНК и способствует транскрипции огромного количества провоспалительных цитокинов, хемокинов и других иммунных медиаторов. MyD88-путь также приводит к активации митоген-активированных протеинкиназ (MAP-киназ), таких как ERK, JNK и p38, через TRAF6 и вышестоящие киназы. Эти MAP-киназы, в свою очередь, активируют факторы транскрипции, такие как AP-1, который также участвует в регуляции воспалительных реакций и других клеточных процессов в макрофагах. Кроме того, в ответ на активацию TLR7 и TLR9 MyD88-путь может также рекрутировать и активировать фактор 7, регулирующий интерферон (IRF7), что приводит к выработке интерферонов I типа. Примечательно, что кальциевая сигнализация и киназа CaMKII могут также модулировать MyD88-зависимый путь, непосредственно активируя TAK1, киназу, расположенную выше NF-κB и MAP-киназ.¹¹¹

MyD88-независимый (TRIF-зависимый) сигнальный путь в макрофагах MyD88-независимый, или TRIF-зависимый, сигнальный путь обеспечивает альтернативный путь активации макрофагов, преимущественно задействованный TLR3 и TLR4. В то время как TLR3 непосредственно рекрутирует адаптерный белок TRIF (TIR domain-containing adapter inducing IFN- β) посредством взаимодействий TIR-доменов, TLR4 использует мостиковый адаптерный белок TRAM (TRIF-related adaptor molecule) для ассоциации с TRIF, часто после интернализации рецептора в эндосомы.

После рекрутирования TRIF взаимодействует с TRAF3 (TNF receptor-associated factor 3), который, в свою очередь, активирует киназы TBK1 (TANK-binding kinase 1) и IKK ϵ (IkB kinase epsilon). Эти киназы имеют решающее значение для фосфорилирования фактора 3, регулирующего интерферон (IRF3), ключевого фактора транскрипции в противовирусном иммунитете. Фосфорилированный IRF3 димеризуется, перемещается в ядро и индуцирует транскрипцию генов интерферонов I типа, в первую очередь IFN- β , который играет центральную роль в установлении противовирусного состояния в инфицированных и соседних клетках. Белок DOK3 (Downstream of tyrosine kinase 3) играет позитивную роль в сигналинге TLR3, способствуя формированию комплекса TRAF3/TBK1 и активации TBK1 и IRF3.¹²⁰ Также в рекрутировании TRIF к TLR3 после стимуляции дцРНК участвуют белки WDFY1 и ZCCHC3, что указывает на многокомпонентность начальных этапов передачи сигнала.

Интересно, что TRIF может также способствовать активации NF- κ B через взаимодействия с RIPK1 и TRAF6, хотя кинетика этой активации может отличаться от таковой, наблюдаемой в MyD88-зависимом пути. Это указывает на то, что TRIF-путь не предназначен исключительно для выработки интерферона, но также способствует более широкому воспалительному ответу. Кроме того, сигнальный путь PI3K/Akt может пересекаться с TRIF-путем, причем Akt способствует активации IRF3 ниже TBK1, что

подчеркивает взаимосвязь сигнальных сетей внутри макрофагов.⁶⁰ В некоторых случаях отсутствие сигнализации MyD88 может приводить к усиленному TRIF-зависимому ответу, что предполагает потенциальные негативные регуляторные взаимодействия между этими двумя основными сигнальными путями TLR.³³

Активация ключевых факторов транскрипции нижестоящих сигнальных путей TLR

Активация TLR в макрофагах завершается активацией нескольких ключевых факторов транскрипции, которые оркестрируют сложные клеточные ответы. К ним относятся NF-κB, AP-1, IRF3 и IRF7.

NF-κB представляет собой семейство факторов транскрипции, которые играют центральную роль в регуляции экспрессии огромного количества генов, участвующих в воспалении и иммунитете. Активируемый как MyD88-зависимым, так и TRIF-зависимым путями ниже различных TLR, NF-κB перемещается в ядро и индуцирует транскрипцию многочисленных провоспалительных цитокинов, хемокинов и других иммунных медиаторов. В зависимости от конкретного контекста NF-κB может также влиять на поляризацию макрофагов как в сторону фенотипа M1, так и M2.

AP-1 - еще одно семейство факторов транскрипции, активируемых нижестоящими сигнальными путями TLR, в частности, через активацию путей MAP-киназ (ERK, JNK, p38) как MyD88-зависимым, так и TRIF-зависимым путями. AP-1 регулирует экспрессию различных цитокинов, хемокинов и других воспалительных медиаторов, способствуя активации и функционированию макрофагов.

IRF3 является ключевым фактором транскрипции, преимущественно активируемым TRIF-зависимым путем ниже TLR3 и TLR4. Фосфорилирование TBK1 и IKKε запускает его димеризацию и ядерную транслокацию, что приводит к индукции интерферонов I типа, особенно IFN-β, который имеет решающее значение для противовирусных ответов.

Интересно, что IRF3 может также ингибировать воспалительные сигнальные пути в макрофагах и может взаимодействовать с TLR9 для индукции воспалительных реакций.⁹³

IRF7 - еще один важнейший фактор транскрипции, участвующий в выработке интерферона I типа, активируемый TLR7, TLR8 и TLR9 через MyD88-зависимый путь, а также потенциально TLR3 и TLR4 через TRIF-зависимый путь. Его фосфорилирование приводит к димеризации и ядерной транслокации, играя жизненно важную роль в мощной выработке как IFN- α , так и IFN- β , особенно в плазмацитоидных дендритных клетках (pDCs), а также в макрофагах. IRF7 может проявлять как провоспалительные, так и противовоспалительные свойства¹²¹, и его активация TLR2 требует обоих адаптерных белков Mal и TRAM.⁵⁰

Клеточные ответы макрофагов после активации TLR

Активация TLR в макрофагах запускает каскад клеточных ответов, включая выработку цитокинов и хемокинов, усиление фагоцитоза и модуляцию презентации антигена.

Выработка цитокинов и хемокинов: Характерной чертой активации TLR в макрофагах является быстрая и мощная выработка широкого спектра провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23 и интерферонов I типа (IFN- α/β). Этот цитокиновый шторм необходим для инициации и усиления иммунного ответа, рекрутирования других иммунных клеток, их активации и непосредственной борьбы с патогенами. Кроме того, макрофаги вырабатывают различные хемокины, такие как CXCL8, CCL5, CCL3, CCL4 и CXCL10, которые играют решающую роль в привлечении других иммунных клеток, включая нейтрофилы, моноциты и Т-клетки, к месту инфекции или воспаления. Экспрессия этих цитокинов и хемокинов строго регулируется активированными факторами транскрипции NF- κ B, AP-1 и IRF.

Фагоцитоз: Активация TLR обычно усиливает фагоцитарную способность макрофагов, позволяя им более эффективно поглощать и удалять

патогены и апоптотические клетки. Различные TLR могут оказывать различное влияние на фагоцитоз, причем некоторые способствуют поглощению бактерий, в то время как другие могут ингибировать фагоцитоз апоптотических нейтрофилов. MyD88-зависимый путь и нижестоящие сигнальные молекулы, такие как IRAK4 и p38, участвуют в TLR-индуцированном усилении фагоцитоза, потенциально за счет повышения регуляции рецепторов-мусорщиков.

Презентация антигена: Активация TLR модулирует антигенпрезентирующие способности макрофагов, влияя на экспрессию молекул MHC класса I и II и костимулирующих молекул, таких как CD80 и CD86. В то время как некоторые TLR (например, TLR3, TLR4) обычно увеличивают экспрессию этих молекул и усиливают презентацию антигена, другие (например, TLR7, TLR9) могут оказывать супрессивное влияние на MHCII и CD86, потенциально приводя к снижению презентации антигена в определенных контекстах. Сигнализация TLR может также стимулировать образование мембранных трубочек на фагосомах, облегчая перенос содержимого и способствуя оптимальной презентации антигена.

Сигнализация TLR и поляризация макрофагов в фенотипы M1 и M2

Сигнализация TLR играет ключевую роль в направлении поляризации макрофагов в функционально различные фенотипы M1 (классически активированные, провоспалительные) и M2 (альтернативно активированные, противовоспалительные/восстановление тканей). Взаимодействие TLR с лигандами, такими как LPS (TLR4) и Pam3CSK4 (TLR1/2), обычно способствует поляризации M1, характеризующейся выработкой провоспалительных цитокинов (например, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12) и высокой экспрессией костимулирующих молекул. Сигнальные пути ниже TLR, включая MyD88, NF- κ B и STAT1, участвуют в управлении этой поляризацией M1.

В определенных контекстах сигнализация TLR, особенно через TLR2, была связана с содействием поляризации M2, которая ассоциируется с противовоспалительными функциями, восстановлением тканей и иммунной регуляцией. Стимуляция TLR3 также показала способность смещать макрофаги M2 в сторону фенотипа M1 через сигнализацию IFN- $\alpha\beta$. Конечное состояние поляризации макрофагов определяется сложным балансом между различными сигнальными путями TLR и другими сигналами окружающей среды, присутствующими в ткани.

3.4.1 NF- κ B путь

- Центральный путь активации макрофагов.
- Ответственен за экспрессию провоспалительных генов, включая цитокины, хемокины, ферменты (COX-2, iNOS).
- Модулируется через ингибиторы (I κ B α , A20).

3.4.2 MAPK каскад (p38, JNK, ERK)

- p38 MAPK — участвует в продукции IL-1 β , TNF- α .
- JNK — контролирует апоптоз и метаболизм.
- ERK — вовлечён в продукцию IL-10, регулирует репаративный ответ.

3.4.3 IRF3/7 путь (при TLR3/4)

- Индуцирует продукцию IFN-I.
- Вирусная защита, усиление антигенпрезентации.
- Может ограничивать пролиферацию за счёт стимуляции p53.

3.5 Влияние TLR-активации на метаболизм макрофагов

- **M1-макрофаги (TLR4-активация):**
 - Смещение на гликолиз, накопление сукцината.
 - Угнетение ОФД (оксфос), митохондриальная дисфункция.
 - Повышение продукции ROS и NO.

- **M2-макрофаги (TLR2 + IL-4):**

- **Фаворизация β -окисления жирных кислот, OXPHOS.**
- **Высокий уровень митохондриальной активности и снижение ROS.**

Пример: ингибирование сукцинатдегидрогеназы в M1-макрофагах → усиление воспаления.

3.6 Взаимодействие TLR-сигналов с другими рецепторами

- **TLR + NLR (NOD-like receptors):** усиливают продукцию IL-1 β (через инфламмасому NLRP3).
- **TLR + STING:** кооперация при активации на ДНК, вирусный иммунитет.
- **TLR + пуринергические рецепторы (P2X7):** модуляция поляризации и воспаления.
- **TLR + CD47/SIRP α :** сигнал «не ешь меня» может нарушаться в опухолях → модуляция функции макрофагов.

3.7 Механизмы “обратной” поляризации макрофагов после активации TLR

- Возврат M1→M2 возможен при устранении патогена или заживлении.
- Включает репрессоры сигналов:
 - **SOCS1/3, A20, SHIP1, miR-146a, miR-155.**
- Феномен “толерантности к TLR” — десенситизация рецепторов после длительной стимуляции.

3.8 Экспериментальные модели

- **Клеточные линии:** RAW264.7, THP-1, J774.

- **Прайминг макрофагов TLR-лигандами in vitro:** изучение цитокинового профиля, экспрессии маркеров, метаболизма.
- **Модели на мышах:** TLR-knockout мыши (TLR4^{-/-}, MyD88^{-/-}, TRIF^{-/-}), для изучения поляризации in vivo.
- **scRNA-seq:** определение субтипов макрофагов в тканях после TLR-стимуляции.

3.9 Клиническое значение: воспаление, иммунопатология, онкология

Толл-подобные рецепторы (TLRs), экспрессируемые макрофагами, играют ключевую роль в развитии различных клинически значимых состояний, включая воспаление, иммунопатологию и онкологию. Активация этих рецепторов распознавания образов (PRR) запускает сложные клеточные и сигнальные механизмы, которые могут приводить как к защитным иммунным реакциям, так и к патологическим процессам.

Воспаление и иммунопатология

Активация TLR в макрофагах является важнейшим звеном в инициации и регуляции воспалительных процессов. Распознавание патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMPs) и молекул, связанных с повреждением (DAMPs), различными TLR (в частности, TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8 и TLR9) приводит к активации ключевых факторов транскрипции, таких как NF-κB и IRF3, и последующей выработке провоспалительных цитокинов и хемокинов. Эти медиаторы способствуют привлечению других иммунных клеток к месту инфекции или повреждения, усиливая воспалительный ответ.

Несмотря на защитную роль воспаления в борьбе с патогенами, неконтролируемая или хроническая активация TLR может приводить к развитию иммунопатологических состояний. Например, чрезмерная

выработка провоспалительных цитокинов может вызывать повреждение тканей и способствовать развитию аутоиммунных заболеваний. Различные TLR могут по-разному влиять на воспалительный ответ. TLR2, в зависимости от контекста и лиганда, может участвовать как в провоспалительных, так и в противовоспалительных реакциях. TLR4 является ключевым рецептором в развитии воспаления, индуцированного липополисахаридом (LPS). TLR3, распознающий вирусную двухцепочечную РНК, также может способствовать воспалению. TLR7 и TLR8, реагирующие на одноцепочечную РНК вирусов, и TLR9, распознающий CpG ДНК, также могут индуцировать выработку провоспалительных медиаторов.

Важную роль в TLR-индуцированной воспалительной реакции играют сигнальные пути, опосредованные адаптерными белками MyD88 и TRIF, которые приводят к активации NF-κB и IRF3.

Онкология

TLRs, экспрессируемые макрофагами, также играют сложную роль в контексте онкологических заболеваний. В зависимости от типа опухоли и микроокружения, TLR могут проявлять как противоопухолевую, так и проопухолевую активность. В частности, TLR3 привлекает внимание как потенциальная терапевтическая мишень в онкологии. Агонисты TLR3 могут стимулировать иммунную систему и способствовать переключению макрофагов из проопухолевого фенотипа M2 в противоопухолевый фенотип M1. Макрофаги M1 характеризуются выработкой провоспалительных цитокинов и обладают цитотоксической активностью в отношении опухолевых клеток.

Активация TLR3 в макрофагах может усиливать их противоопухолевые функции. Например, агонисты TLR3 могут усиливать действие ингибиторов CD47 при остром миелоидном лейкозе. Кроме того, TLR3-опосредованная активация дендритных клеток в опухолевой ткани может изменять состав

иммунного инфильтрата и способствовать развитию противоопухолевого иммунитета.

TLR2 также может играть роль в онкогенезе. Сигнализация через TLR2 может способствовать дифференцировке моноцитарных миелоидных супрессорных клеток в макрофаги M1, обладающие противоопухолевой активностью.

Таким образом, TLR-индуцированная активация макрофагов имеет важное клиническое значение в контексте воспалительных и иммунопатологических заболеваний, а также в онкологии, где TLR могут выступать в качестве терапевтических мишеней для модуляции иммунного ответа против опухолей. Дальнейшее изучение механизмов действия TLR в макрофагах может способствовать разработке новых методов лечения различных заболеваний.

Коротко можно представить следующим образом:

- **Сепсис:** гиперактивация TLR4 → цитокиновый шторм → повреждение тканей.
- **Аутоиммунные заболевания:** TLR7/9 в В-клетках и макрофагах → активация при SLE.
- **Рак:** TLR4+ TAM способствуют ангиогенезу, инвазии и подавлению Т-клеток.
- **Терапевтический потенциал:**
 - Таргетинг TLR для переориентации TAM в противоопухолевый фенотип.
 - Агонисты TLR как адьюванты в иммунотерапии (напр., TLR9-лиганды в вакцинах против меланомы).

Активация TLR в макрофагах инициирует сложную и взаимосвязанную сеть клеточных и сигнальных событий, подчеркивая решающую роль этих

рецепторов в врожденном иммунитете.¹ Специфические задействованные TLR, нижестоящие сигнальные пути, которые впоследствии активируются (как MyD88-зависимые, так и -независимые), и результирующая активация ключевых факторов транскрипции (NF-κB, AP-1, IRF3, IRF7) коллективно определяют разнообразные клеточные ответы макрофагов, охватывающие выработку цитокинов и хемокинов, фагоцитоз и презентацию антигена. Кроме того, сигнализация TLR играет ключевую роль в поляризации макрофагов в фенотипы M1 и M2, подчеркивая замечательную способность этих иммунных клеток адаптироваться к широкому спектру сигналов окружающей среды. Всестороннее понимание сложных механизмов, регулирующих TLR-индуцированную активацию макрофагов, является не только фундаментальным для области базовой иммунологии, но и имеет значительный трансляционный потенциал для разработки эффективных терапевтических стратегий, направленных на модуляцию иммунных ответов при различных заболеваниях, включая инфекции, рак и аутоиммунные расстройства.

ГЛАВА 4. TOLL-ПОДОБНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ МАКРОФАГОВ

4.1 Общие механизмы пролиферации макрофагов

Макрофаги ключевые компоненты врожденной иммунной системы, играющие многообразные роли в защите организма, поддержании гомеостаза тканей и патогенезе различных заболеваний. Эти клетки обладают способностью к фагоцитозу, презентации антигенов и выработке широкого спектра цитокинов и хемокинов, что делает их незаменимыми участниками иммунных реакций. Пролиферация макрофагов является фундаментальным процессом, необходимым для поддержания популяции резидентных

макрофагов в тканях, быстрого реагирования на воспалительные стимулы и обеспечения эффективного иммунного ответа.¹ Нарушения в регуляции пролиферации макрофагов могут способствовать развитию таких патологических состояний, как рак и хроническое воспаление.

Настоящий отчет посвящен детальному рассмотрению общих механизмов пролиферации клеток, включая клеточный цикл и его регуляцию, а также специфических механизмов, лежащих в основе пролиферации макрофагов. В отчете будет подробно исследована роль ключевых цитокинов и факторов роста, способствующих пролиферации макрофагов, описаны основные сигнальные пути, участвующие в этом процессе, такие как пути, связанные с M-CSF (колоние стимулирующий фактор макрофагов). Кроме того, будут рассмотрены вопросы, касающиеся существования различных механизмов пролиферации для разных подтипов макрофагов или в различных тканях, роли молекул и рецепторов на поверхности макрофагов, а также известных механизмов, ингибирующих их пролиферацию.

Пролиферация макрофагов представляет собой сложный процесс, который подвергается многоуровневому контролю и может существенно различаться в зависимости от микроокружения и функционального состояния клетки. Гетерогенность происхождения и функций макрофагов подчеркивает необходимость детального изучения механизмов, регулирующих их размножение в различных контекстах. Понимание этих процессов имеет важное значение для разработки новых терапевтических стратегий, направленных на модуляцию активности макрофагов при различных заболеваниях.

4.2. Общие принципы пролиферации клеток

4.2.1. Эукариотический клеточный цикл

Клеточный цикл эукариотических клеток представляет собой упорядоченную последовательность событий, направленных на удвоение генетического материала и разделение клетки на две дочерние клетки. Этот процесс состоит из четырех основных фаз:

- Фаза G1 (gap 1): Первая фаза клеточного цикла, начинающаяся после митоза. В течение этой фазы клетка растет в размерах, синтезирует белки и органеллы, необходимые для последующих этапов. Клетка также накапливает энергию и молекулярные строительные блоки, необходимые для репликации ДНК.¹³ Продолжительность фазы G1 может значительно варьировать в зависимости от типа клетки и внешних условий.
- Фаза S (синтез): В этой фазе происходит репликация ДНК, в результате чего каждая хромосома удваивается и состоит из двух идентичных сестринских хроматид, соединенных в области центромеры. Количество ДНК в клетке удваивается, хотя пloidность и число хромосом остаются неизменными.
- Фаза G2 (gap 2): Вторая фаза роста, следующая за репликацией ДНК. В течение фазы G2 клетка продолжает расти, синтезирует белки, необходимые для митоза и цитокинеза, и готовится к делению. На этой стадии также происходит проверка корректности репликации ДНК.
- Фаза M (митоз): Фаза деления клетки, включающая митоз (деление ядра) и цитокинез (деление цитоплазмы), что приводит к образованию двух генетически идентичных дочерних клеток. Митоз, в свою очередь, подразделяется на несколько стадий: профазы, прометафазы, метафазы, анафазы и телофазы.

Период между митотическими делениями, включающий фазы G1, S и G2, называется интерфазой. Клетки, временно или обратимо прекратившие деление, выходят из клеточного цикла и переходят в состояние покоя, известное как фаза G0.

4.2.2. Регуляция клеточного цикла

Прогрессия клетки по фазам клеточного цикла строго контролируется различными механизмами, обеспечивающими правильное и своевременное выполнение всех необходимых процессов. Ключевую роль в регуляции клеточного цикла играют циклины и циклин-зависимые киназы (CDK).

- Циклины представляют собой семейство белков, концентрация которых в клетке циклически изменяется в течение клеточного цикла. Различные типы циклинов активируют определенные CDK в специфические фазы клеточного цикла, направляя их активность к соответствующим белкам-мишеням, что приводит к инициации ключевых событий, таких как репликация ДНК или конденсация хромосом.
- Циклин-зависимые киназы (CDK) являются семейством серин/треонинкиназ, активность которых зависит от связывания с циклинами. Комплексы циклин-CDK фосфорилируют белки-мишени, изменяя их активность и способствуя переходу клетки из одной фазы клеточного цикла в другую. Ингибиторы CDK (CKI) представляют собой белки, которые связываются с комплексами циклин-CDK и ингибируют их активность, обеспечивая отрицательную регуляцию клеточного цикла. Существуют различные семейства CKI, такие как семейство Cip/Kip (p21CIP1, p27KIP1, p57KIP2) и семейство INK4 (p16INK4A, p15INK4B, p18INK4C, p19INK4D), которые специфически ингибируют активность различных комплексов циклин-CDK.

Важную роль в регуляции клеточного цикла играют контрольные точки — механизмы, которые останавливают прогрессию клетки по циклу при обнаружении повреждений ДНК, ошибок репликации или нарушений в формировании митотического веретена. Существуют три основные контрольные точки:

- Контрольная точка G1/S (точка рестрикции): Контролирует готовность клетки к репликации ДНК, проверяя ее размер, наличие питательных веществ,

целостность ДНК и сигналы от факторов роста. Прохождение этой контрольной точки означает необратимое решение клетки вступить в фазу S.

- Контрольная точка G2/M: Проверяет завершение репликации ДНК и отсутствие повреждений ДНК перед вступлением в митоз.
- Контрольная точка веретена (M): Контролирует правильность прикрепления хромосом к нитям веретена деления во время метафазы, прежде чем произойдет разделение сестринских хроматид в анафазе.

Нарушения в регуляции клеточного цикла могут привести к неконтролируемой пролиферации клеток, что является ключевой характеристикой раковых заболеваний.

4.3. Специфические механизмы пролиферации макрофагов

4.3.1. Способность макрофагов к самообновлению

В отличие от ранее существовавшего представления о том, что макрофаги являются терминально дифференцированными клетками, способными образовываться исключительно из моноцитов крови, современные исследования выявили, что многие популяции резидентных макрофагов обладают способностью к самообновлению путем локальной пролиферации. Этот процесс позволяет поддерживать популяцию макрофагов в тканях в гомеостатических условиях, независимо от постоянного притока моноцитов из костного мозга.

Примерами самообновляющихся популяций макрофагов являются микроглия в головном мозге, альвеолярные макрофаги в легких, и клетки Купфера в печени. Механизмы самообновления макрофагов могут иметь сходство с механизмами, наблюдаемыми в стволовых клетках, включая общие регуляторные сети.

Следует отметить, что моноциты крови также могут мигрировать в ткани и давать начало новым макрофагам, особенно в условиях воспаления, и эти

моноцит-происходящие макрофаги также могут восстанавливать способность к пролиферации.

4.3.2. Проллиферация в ответ на сигналы микроокружения

Проллиферация макрофагов строго регулируется сигналами, поступающими из микроокружения тканей, включая цитокины, факторы роста и межклеточные взаимодействия. Баланс между пролиферацией и остановкой клеточного цикла имеет решающее значение для поддержания гомеостаза макрофагов и адекватного ответа на различные стимулы.

4.4. Ключевые цитокины и факторы роста, способствующие пролиферации макрофагов

Ряд цитокинов и факторов роста играют ключевую роль в стимуляции пролиферации макрофагов:

- Макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF/CSF-1) является основным регулятором выживания, пролиферации и дифференцировки макрофагов. M-CSF взаимодействует со своим рецептором CSF1R, запуская внутриклеточные сигнальные пути, способствующие пролиферации. M-CSF также усиливает способность макрофагов уничтожать опухолевые клетки и микроорганизмы и необходим для пролиферации предшественников остеокластов.
- Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) способствует дифференцировке миелоидных предшественников в гранулоциты, моноциты/макрофаги и дендритные клетки. Он играет важную роль в развитии и функционировании альвеолярных макрофагов. GM-CSF может действовать как молекулярный реостат, и его концентрация определяет, какой тип миелоидных клеток будет преобладать.

- Интерлейкин-4 (IL-4) является ключевым активатором макрофагов M2, индуцируя противовоспалительный фенотип. IL-4 непосредственно сигнализирует резидентным макрофагам в тканях, стимулируя их пролиферацию сверх уровня, контролируемого CSF-1. В некоторых случаях IL-4 может способствовать пролиферации независимо от M-CSF.
- Трансформирующий фактор роста бета (TGF- β) обладает бифункциональной ролью в регуляции пролиферации макрофагов, выступая как в качестве стимулятора, так и ингибитора в зависимости от контекста и присутствия других факторов, таких как CSF. TGF- β может продуцироваться самими макрофагами.
- Существует также макрофагальный фактор роста (MDGF), секретируемый макрофагами и стимулирующий пролиферацию мезенхимальных клеток. Значительная часть MDGF представлена PDGF (тромбоцитарным фактором роста). Другие факторы роста, такие как EGF (эпидермальный фактор роста) и FGF (фактор роста фибробластов), также могут продуцироваться макрофагами или воздействовать на них.

Таким образом, пролиферация макрофагов регулируется сложным взаимодействием различных цитокинов и факторов роста. Эффект одного и того же фактора может варьировать в зависимости от подтипа макрофага, присутствия других сигналов и специфического микроокружения ткани. M-CSF и GM-CSF представляются ключевыми позитивными регуляторами, в то время как IL-4 стимулирует пролиферацию макрофагов M2. TGF- β демонстрирует более сложную, контекстно-зависимую роль.

4.5. Основные сигнальные пути, участвующие в пролиферации макрофагов

Пролиферация макрофагов опосредуется активацией специфических внутриклеточных сигнальных каскадов, инициируемых связыванием факторов роста и цитокинов со своими рецепторами на поверхности клетки:

- Сигнальный путь рецептора M-CSF (CSF1R): Связывание M-CSF с CSF1R приводит к аутофосфорилированию рецептора и последующей активации нескольких ключевых сигнальных путей, включая путь MAPK/ERK, участвующий в пролиферации, путь PI3K/Akt, задействованный в выживании и пролиферации, и путь JAK/STAT, активирующий STAT3 и STAT5.
- Сигнальный путь рецептора GM-CSF: Взаимодействие GM-CSF со своим рецептором приводит к активации JAK2 и последующей активации сигнальных путей STAT5, PI3K и MAPK/ERK, которые влияют на выживание и пролиферацию клеток.
- Сигнальный путь рецептора IL-4: IL-4 взаимодействует с рецепторами типа I и II, что приводит к активации STAT6. Также отмечается участие членов семейства MAPK, таких как JNK1, и пути PI3K/Akt в пролиферации, индуцированной IL-4.
- Сигнальный путь рецептора TGF- β : Связывание TGF- β с рецепторами типа I и II активирует белки SMAD. Кроме того, могут активироваться неканонические пути, такие как MAPK (ERK, JNK, p38).

Различные сигнальные пути могут взаимодействовать и влиять друг на друга, что позволяет тонко настраивать ответы макрофагов на пролиферативные стимулы.

4.6. Различные механизмы пролиферации для разных подтипов макрофагов или в разных тканях

Пролиферация макрофагов не является однородным процессом и может существенно различаться в зависимости от подтипа макрофага (например, M1 и M2) и ткани, в которой они находятся:

- M-CSF и GM-CSF могут индуцировать различные состояния поляризации и пролиферативные ответы в макрофагах. IL-4 преимущественно стимулирует

пролиферацию макрофагов M2, в то время как провоспалительные сигналы, связанные с поляризацией M1, могут подавлять пролиферацию.¹ Сигнализация через TLR также может влиять на поляризацию макрофагов и косвенно на их пролиферацию. Например, стимуляция TLR3 может переключать макрофаги M2 в фенотип M1.

- Скорость пролиферации и регуляторные механизмы могут значительно различаться между популяциями макрофагов, резидентными в разных тканях. Например, альвеолярные макрофаги зависят от GM-CSF и M-CSF, микроглия — от M-CSF и GM-CSF, клетки Купфера могут пролиферировать в ответ на эритропоэтин, а пролиферация перитонеальных макрофагов зависит от mTORC2.

4.7. Роль различных молекул и рецепторов на поверхности макрофагов в процессе их пролиферации

- Рецепторы факторов роста, такие как CSF1R и IL-4R, играют решающую роль в передаче сигналов, стимулирующих пролиферацию, при связывании со своими лигандами.
- Толл-подобные рецепторы (TLR), хотя в первую очередь участвуют в иммунных ответах, могут косвенно влиять на пролиферацию макрофагов, модулируя выработку цитокинов и поляризацию клеток. Например, стимуляция TLR3 может влиять на пролиферацию, изменяя фенотип макрофагов.
- Молекулы адгезии и другие поверхностные маркеры могут косвенно влиять на пролиферацию, воздействуя на сигнальные пути, участвующие в этом процессе.

4.8. Известные механизмы, ингибирующие пролиферацию макрофагов

Пролиферация макрофагов не только стимулируется, но и активно подавляется различными механизмами для предотвращения неконтролируемого роста:

- Провоспалительные цитокины, такие как TNF- α и IFN- γ , связанные с поляризацией M1, могут ингибировать пролиферацию макрофагов.
- Аденозин является ингибитором M-CSF-зависимой пролиферации. Белки SOCS могут негативно регулировать сигнальные пути цитокинов, участвующие в пролиферации. Декорин способен обращать вспять подавляющий эффект TGF- β на активацию макрофагов, косвенно влияя на контроль пролиферации.
- Воспалительные сигналы могут индуцировать остановку клеточного цикла макрофагов в различных контрольных точках. Белки-супрессоры опухолей, такие как p53, играют роль в остановке клеточного цикла в ответ на стресс или повреждение.

4.9. Краткое изложение общих механизмов пролиферации макрофагов

Пролиферация макрофагов представляет собой сложный и многогранный процесс, который регулируется как общими клеточными механизмами, такими как клеточный цикл и его контрольные точки, так и специфическими факторами, характерными для этих иммунных клеток. Макрофаги обладают способностью к самообновлению в тканях, что позволяет поддерживать их популяцию независимо от притока моноцитов из костного мозга. Этот процесс регулируется различными цитокинами и факторами роста, включая M-CSF, GM-CSF и IL-4, каждый из которых может оказывать специфическое воздействие на пролиферацию в зависимости от подтипа макрофага и тканевого окружения.

Сигнальные пути, такие как MAPK/ERK, PI3K/Akt и JAK/STAT, опосредуют эффекты этих факторов на клеточный цикл макрофагов, способствуя их росту и делению. Важно отметить, что пролиферация макрофагов демонстрирует значительную гетерогенность в зависимости от их фенотипа (M1 или M2) и локализации в различных тканях, что отражает их разнообразные функции в организме. Поверхностные молекулы и рецепторы, включая рецепторы факторов роста и TLR, играют ключевую роль в восприятии внешних сигналов и модуляции пролиферативных ответов. Наконец, существуют различные механизмы, ингибирующие пролиферацию макрофагов, такие как провоспалительные цитокины и негативные регуляторные молекулы, обеспечивающие баланс между ростом и остановкой клеточного цикла.

Понимание этих сложных механизмов пролиферации макрофагов имеет решающее значение для разработки эффективных терапевтических стратегий при различных заболеваниях, включая рак, хронические воспалительные процессы и нарушения регенерации тканей. Будущие исследования должны быть направлены на дальнейшее изучение тканеспецифичных механизмов самообновления, роли различных сигнальных путей в разных подтипах макрофагов и разработку таргетных методов лечения, способных избирательно модулировать пролиферацию макрофагов *in vivo*.

Пролиферация макрофагов — это результат сложной регуляции, включающей:

- сигналы от факторов роста (M-CSF, GM-CSF),
- метаболическую активацию,
- взаимодействие с цитокинами и рецепторами распознавания паттернов (PRR), включая TLR.

TLR не просто активируют иммунный ответ — они **модулируют клеточный цикл, метаболизм и выживаемость**, влияя на то, будут ли макрофаги пролиферировать, оставаться в покое или погибать.

4.10 Связь TLR-сигналинга и клеточного цикла

4.10.1 Влияние на циклины и ингибиторы клеточного цикла

- TLR-сигналы (особенно TLR2 и TLR4) способны активировать транскрипционные факторы, такие как NF-κB и AP-1, которые:
 - усиливают экспрессию **Cyclin D1, Cyclin E** → переход G1/S;
 - подавляют экспрессию **p21, p27**, ингибиторов клеточного цикла;
 - стимулируют синтез **c-Мус**, критически важного для пролиферации.

4.10.2 Участие PI3K/АКТ/mTOR пути

- TLR4 и TLR2 активируют PI3K → АКТ → mTORC1:
 - повышает белковый синтез, метаболизм, рост клеток;
 - активирует **S6K, 4E-BP1** — критические факторы для клеточной пролиферации;
 - торможение mTOR снижает пролиферацию макрофагов, особенно опухолевых TAM.

4.11 Пролиферация макрофагов после активации TLR: примеры

4.11.1 TLR4 (LPS): двойственный эффект

- При острой стимуляции → **ингибирование пролиферации**, активация iNOS и NO → цитостатическое действие.

- При хронической слабой стимуляции → активация mTOR и Cyclin D1 → **индукция пролиферации.**

Пример: LPS в низких дозах индуцирует локальную пролиферацию макрофагов в лёгких (S. Jenkins et al., *Immunity*, 2011).

4.11.2 TLR2: пролиферация при стимуляции липопротеинами

- В моделях атеросклероза активация TLR2 увеличивает пролиферацию резидентных макрофагов аорты.
- Связано с усилением ERK1/2 → G1/S переход.

4.11.3 TLR9 (CpG): усиление пролиферации и экспансии TAM

- CpG-ОДН в опухолевой модели увеличивает количество TAM.
- Особенно эффективно в присутствии GM-CSF.

4.12 Клеточный контекст: когда TLR-индукция стимулирует пролиферацию

4.12.1 Резиденты против моноцит-производных макрофагов

- Резидентные макрофаги (микроглия, альвеолярные, купферовские) способны к самопролиферации при TLR-стимуляции.
- Моноцит-производные чаще переходят в активное воспалительное состояние без деления.

4.12.2 Зависимость от факторов роста

- Без M-CSF или GM-CSF TLR-сигналы часто вызывают **G0** или **апоптоз**.
- При наличии факторов роста → TLR способствует **синергичной пролиферации**.

4.12.3 Тканевая микросреда

- В опухоли или при хроническом воспалении TLR-сигналы могут поддерживать **поддерживающую пролиферацию TAM**, особенно при наличии IL-10 и VEGF.

4.13 Метаболическая поддержка пролиферации после активации TLR

- **Гликолиз** активируется через HIF-1 α → необходим для быстрого деления.
- **Глутаминолиз** (через MYC и mTOR) обеспечивает азотистый обмен.
- Угнетение митохондриальной функции (в M1) может ограничивать пролиферацию.
- M2-макрофаги (под действием TLR2 и IL-4) активируют OXPHOS → благоприятная среда для деления.

4.14 TLR-сигналы как компоненты онкогенного перезапуска пролиферации TAM

- **В опухолевом микроокружении TLR-сигналы могут способствовать поддержке TAM, стимулируя:**
 - экспрессию PD-L1,
 - экспансию через GM-CSF/TLR2/TLR4 ко-сигналы,
 - усиление экспрессии пролиферативных генов: *Myc*, *HIF1 α* , *CDK4*.
- Пример: в глиобластоме стимуляция TLR2+TAM увеличивает локальную пролиферацию макрофагов (Hong et al., *Nat Commun*, 2020).

4.15 Модели и методы изучения

In vitro:

- Стимуляция макрофагов TLR-лигандами + M-CSF → измерение Ki-67, BrdU, CFSE.
- RNA-seq после TLR-стимуляции для анализа транскриптома.

In vivo:

- Fate-mapping и lineage tracing макрофагов при TLR-стимуляции.
- Использование мышей с нокаутом TLR или адаптеров (MyD88, TRIF) → определение зависимости пролиферации.

4.16 Терапевтические перспективы: можно ли управлять пролиферацией через TLR?

- **TLR-антагонисты** → подавление гиперплазии макрофагов в хроническом воспалении (напр., артрит, фиброз).
- **TLR-агонисты** → индуцировать пролиферацию антиопухолевых макрофагов.
- **Комбинации с ингибиторами mTOR или PI3K** → выборочное подавление опухолевой пролиферации TAM.

ГЛАВА 5. ПРОЛИФЕРАЦИЯ МАКРОФАГОВ, ИНДУЦИРОВАННАЯ TOLL-ПОДОБНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ, В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

5.1 Общая характеристика: патофизиологическая роль TLR-зависимой пролиферации

Toll-подобные рецепторы (TLR, Toll-like receptors) представляют собой ключевые сенсоры врождённого иммунитета, способные распознавать молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами (PAMPs), а также сигналы повреждённых клеток (DAMPs). Активация TLR запускает каскад сигнальных путей, которые регулируют не только воспалительный ответ, но и

клеточную пролиферацию, особенно в контексте макрофагов и других иммунокомпетентных клеток.

5.1.1. Физиологическая роль TLR-индуцированной пролиферации

В условиях нормального иммунного ответа TLR-сигналы стимулируют ограниченную пролиферацию макрофагов и дендритных клеток для быстрого усиления локального иммунного ответа. Это необходимо для:

- Увеличения числа эффекторных клеток в зоне инфекции;
- Поддержания воспалительного микроокружения;
- Координации врождённого и адаптивного иммунитета.

Такая пролиферация строго регулируется и самоограничивается после элиминации возбудителя.

5.1.2. Патологические аспекты

При хронической активации TLR (например, при аутоиммунных заболеваниях, хроническом воспалении, опухолевом росте) наблюдается персистирующая пролиферация макрофагов и моноцитарных производных, что ведёт к следующим патологиям:

Хроническое воспаление

Постоянная активация TLR приводит к избыточной продукции провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- α , IL-1 β), что поддерживает цикл воспаления и клеточной активации. Пролиферация макрофагов становится неконтролируемой, что способствует тканевому повреждению, фиброзу и нарушению функции органов (например, при ревматоидном артрите, атеросклерозе).

Аутоиммунные заболевания

TLR-зависимая активация и пролиферация антиген-презентирующих клеток способствует поддержанию аутоиммунного ответа. Некоторые TLR

(например, TLR7 и TLR9) вовлечены в патологическую активацию В-клеток и продукцию аутоантител при системной красной волчанке (СКВ), при этом пролиферирующие макрофаги и дендритные клетки усиливают антигенную стимуляцию.

Онкологические процессы

В опухолевой микросреде TLR-сигналы могут как поддерживать противоопухолевый иммунитет, так и способствовать прогрессии опухоли. Некоторые опухоли используют TLR-опосредованную пролиферацию TAM (tumor-associated macrophages) для создания иммунодепрессивной среды, стимуляции ангиогенеза и ремоделирования внеклеточного матрикса. Это характерно, например, для глиобластомы, панкреатической аденокарциномы и рака молочной железы.

Инфекционные заболевания

Некоторые патогены (например, *Mycobacterium tuberculosis*) способны манипулировать TLR-сигналами для создания "персистентного" резервуара макрофагов, которые активно пролиферируют и служат укрытием для внутриклеточной репликации возбудителя.

5.1.3. Молекулярные механизмы пролиферации

TLR-индуцированная пролиферация опосредуется несколькими сигнальными каскадами:

- Активация NF-κB и MAPK путей;
- Индукция экспрессии циклинов (Cyclin D1, Cyclin E);
- Подавление апоптотических сигнальных путей;
- Стабилизация β-катенина и активация пути Wnt;
- Взаимодействие с рецепторами роста (например, EGFR, CSF1R).

Пролиферация макрофагов под действием TLR-сигналов может играть как защитную, так и патологическую роль, в зависимости от контекста:

- **При острой инфекции** — способствует локальному увеличению количества фагоцитов.
- **При хроническом воспалении или опухоли** — может усиливать патологический процесс, поддерживать иммуносупрессивную среду.

Ключевым фактором становится **баланс между активацией, пролиферацией и дифференцировкой**, а также то, какой TLR активируется, в каком типе ткани, и при наличии каких ко-сигналов (например, IL-4, IFN- γ , M-CSF).

5.2 Онкология: роль TAM и TLR в опухолевом микроокружении

Опухолевое микроокружение (TME, tumor microenvironment) представляет собой сложную экосистему, включающую опухолевые клетки, иммунные клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки и внеклеточный матрикс. Одним из ключевых компонентов TME являются опухоль-ассоциированные макрофаги (TAM, tumor-associated macrophages), на которых активно действуют Toll-подобные рецепторы (TLR). Их взаимодействие оказывает двоякое влияние на прогрессию опухоли, модулируя как противоопухолевые, так и проопухолевые эффекты.

5.2.1 TAM (tumor-associated macrophages) и их происхождение

TAM не являются однородными клетками — их фенотип варьирует от классически активированных (M1-подобных) макрофагов, обладающих противоопухолевыми свойствами, до альтернативно активированных (M2-подобных), которые способствуют росту опухоли и подавляют иммунитет.

Основные характеристики M1 и M2 TAM

Таблица 6.

Фенотип	Основные маркеры	Функции
M1	CD86, iNOS, HLA-DR	Продукция TNF- α , IL-12, ROS, активация Т-клеток
M2	CD163, CD206, Arg1	Секреция IL-10, TGF- β , ангиогенез, ремоделирование ткани, подавление Т-клеток

TLR-сигналы могут способствовать как M1-, так и M2-поляризации, в зависимости от контекста (таблица 6).

5.2.2. Влияние TLR-сигналов на TAM

Активация противоопухолевого иммунитета (через TLR3, TLR4, TLR9)

Некоторые TLR могут активировать TAM в сторону M1-фенотипа, усиливая:

- Продукцию интерферона типа I и II;
- Экспрессию ко-стимулирующих молекул;
- Фагоцитарную активность;
- Антиген-презентирующую функцию.

Примеры:

- TLR3 (лиганд — dsRNA, поли(I:C)) индуцирует продукцию IFN- β и усиливает апоптоз опухолевых клеток;
- TLR9 (CpG-ДНК) стимулирует Th1-ответ и активирует NK-клетки.

Промоция опухолевого роста (через TLR2, TLR4, TLR7/8)

Другие TLR, напротив, при хронической активации или воздействии опухолевых DAMP, способствуют поляризации TAM в сторону M2:

- TLR4 может активироваться HMGB1, высвобождаемым умирающими опухолевыми клетками, что усиливает ангиогенез через VEGF;
- TLR2 участвует в продукции IL-10 и CCL22, способствующих иммуносупрессии и рекрутированию Treg;

- Активация TLR7/8 в опухолевом контексте может увеличивать экспрессию PD-L1 и снижать способность макрофагов стимулировать Т-клеточный ответ.

5.2.3. TLR и TAM в разных типах опухолей

Глиобластома

- Высокая экспрессия TLR2 и TLR4;
- Пролиферация иммунодепрессивных TAM, способствующих инвазивности опухоли;
- Сигналы TLR поддерживают выживаемость опухоли через NF-κB и STAT3.
- TLR2+ макрофаги в ответ на DAMP из некротических опухолевых клеток активируют mTOR и c-Myc → пролиферация TAM.
 - Присутствует ось TLR2–HIF1α–IL-10.

Рак молочной железы

- TLR9 экспрессируется как опухолевыми клетками, так и TAM;
- CpG-стимуляция может переключать TAM в M1-фенотип, тормозя прогрессию;
- Но в агрессивных формах (например, тройной негативный рак) TLR4 способствует инвазии.
- Экспрессия TLR4 коррелирует с количеством TAM и плохим прогнозом.
- Пролиферация макрофагов внутри опухоли усиливается при наличии LPS-подобных молекул бактериального происхождения из микробиоты.

Меланома:

- CpG-ODN (TLR9-лиганд) используется как адъювант, но также может вызывать экспансию макрофагов с разной поляризацией.

Панкреатическая аденокарцинома

- Хроническая активация TLR4 и TLR9;
- Преобладание M2-TAM, индуцирующих коллагенез и фиброз;
- Снижение эффективности иммунных терапий из-за блокировки эффекторной инфильтрации.

5.2.4. Терапевтические стратегии

TLR-агонисты

- Используются как иммуномодуляторы (напр., агонисты TLR9 — CpG-олигонуклеотиды);
- Повышают чувствительность опухолей к чекпоинт-ингибиторам (anti-PD-1, anti-CTLA-4);
- Комбинация с вакцинами или CAR-T усиливает эффективность терапии.

TLR-антагонисты

- Подавление TLR4 в опухолях с выраженным воспалением (например, в глиоме) может уменьшить рост за счёт ослабления TAM-опосредованной поддержки;
- Ингибирование TLR2/4 снижает экспрессию проангиогенных и иммунодепрессивных факторов.

Перепрограммирование TAM

- Использование молекул, переключающих TAM из M2 в M1 (например, TLR3- или STING-агонисты);
- Применение наночастиц с TLR-лигандами для направленного воздействия на TAM.

5.3 Аутоиммунные заболевания: активация TLR и персистирующее воспаление

Роль TLR в аутоиммунных заболеваниях

Аутоиммунные заболевания характеризуются нарушением регуляции иммунной системы, что приводит к атаке иммунных клеток на собственные ткани организма. Одной из ключевых молекул, играющих важную роль в активации иммунного ответа при аутоиммунных заболеваниях, являются Toll-подобные рецепторы (TLR). Эти рецепторы не только участвуют в защите организма от инфекций, но и способствуют хроническому воспалению, являющемуся основой патогенеза многих аутоиммунных расстройств.

TLR играет ключевую роль в активации врожденного иммунитета, распознавая молекулы, характерные для патогенов (PAMPs), а также молекулы, высвобождающиеся из поврежденных клеток (DAMPs). В нормальных условиях активация TLR направлена на защиту от инфекций. Однако при аутоиммунных заболеваниях чрезмерная или неправильная активация этих рецепторов может привести к хроническому воспалению и повреждению тканей.

Характер активации TLR при аутоиммунных заболеваниях

При аутоиммунных расстройствах наблюдается длительная активация TLR, что может происходить через:

- Постоянное высвобождение DAMP, таких как HMGB1, S100, или молекулы ультракоротких пептидов, которые активируют TLR при повреждении тканей.
- Абнормальное распознавание собственного ДНК или РНК как чуждого материала. Например, TLR7 и TLR9 могут распознавать аутоантитела и аутоантигенные комплексы, что приводит к развитию воспаления.

- Хронические инфекционные процессы, которые создают фон для постоянной активации TLR.

5.3.1 Примеры аутоиммунных заболеваний, связанных с активацией TLR:

Системная красная волчанка (SLE)

СКВ характеризуется активацией аутоиммунного ответа, при котором иммунная система начинает атаковать собственные клетки и ткани. Одним из ключевых механизмов является активация TLR9, который распознает комплексы аутоантител с ДНК. Это приводит к активации NF-κB и других молекулярных путей воспаления, что способствует:

- Продукции провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-6, IL-1β);
- Рекрутированию и активации аутоиммунных клеток (например, Т-лимфоцитов и макрофагов);
- Повреждению тканей через образование иммунных комплексов.
- TLR7 и TLR9 активируются собственными нуклеиновыми кислотами.
- В макрофагах это ведёт к:
 - Продукции IFN-I,
 - Повышению экспрессии BAFF,
 - Активации и пролиферации макрофагов в почках (волчаночный нефрит).
- Нарушается апоптоз — увеличение пролиферирующих CD68⁺ макрофагов.

Ревматоидный артрит (РА)

При РА хроническое воспаление в суставах связано с активацией TLR2 и TLR4, которые распознают молекулы, высвобождающиеся при тканевом повреждении (например, из хрящевых клеток). TLR4 может быть активирован молекулами HMGB1, что приводит к активному воспалению и усилению боли.

Также наблюдается нарушение механизма толерантности к аутоантигенам, что ведет к повреждению суставов.

- Синовиальные макрофаги экспрессируют TLR2/4/8.
- В ответ на DAMP из разрушенного хряща активируется NF-κB → пролиферация и секреция IL-1β, MMP.
- Пролиферация усиливается в присутствии M-CSF и GM-CSF (Zhou et al., *Nat Immunol*, 2014).

Множественный склероз (МС)

- Микроглия/макрофаги в ЦНС пролиферируют в очагах демиелинизации.
- Активация TLR4 и TLR9 усиливает локальное воспаление и экспансию макрофагов.

5.3.2. Механизмы TLR-опосредованной активации воспаления

Сигнальные пути TLR

Активация TLR при аутоиммунных заболеваниях активирует несколько молекулярных каскадов, которые способствуют хроническому воспалению:

- **MyD88-зависимый путь:** Активирует NF-κB и MAPK, что приводит к продукции провоспалительных цитокинов, таких как IL-1β, TNF-α, и IL-6.
- **TRIF-зависимый путь:** Активирует IRF3, что способствует продукции интерферонов типа I, участвующих в аутоиммунных реакциях.

Эти молекулы играют ключевую роль в хронизации воспаления и поддержании патогенеза аутоиммунных заболеваний.

Продукция цитокинов и хемокинов

Активированные TLR могут индуцировать продукцию ряда цитокинов и хемокинов, которые способствуют хроническому воспалению:

- **IL-6 и TNF- α** : Эти цитокины способствуют воспалению и разрушению тканей;
- **IL-1 β** : Участвует в активации T-клеток и поддерживает воспаление в тканях;
- **CXCL10 и CCL5**: Хемокины, которые рекрутируют эффекторные клетки, такие как T-клетки и макрофаги, в очаг воспаления.

5.3.3. Терапевтические стратегии

Ингибиторы TLR

Ингибирование TLR может быть перспективным подходом для лечения аутоиммунных заболеваний, направленным на подавление чрезмерной активации воспаления:

- **TLR9-антагонисты**: Могут подавлять активацию аутоиммунных реакций при СКВ;
- **TLR4-антагонисты**: Могут снизить воспаление при ревматоидном артрите и других заболеваниях.

Модуляция сигналов TLR

Использование молекул, которые модулируют TLR-сигналы, например:

- **Стимуляторы TLR7/8**: для усиления антиинфекционного ответа и уменьшения воспаления;
- **Иммуносупрессоры**: такие как метотрексат, которые регулируют активацию иммунных клеток через TLR-пути.

Применение интерферонов и антицитокиновых терапий

Использование интерферонов типа I или блокаторов цитокинов, таких как анти-TNF- α или анти-IL-6, может помочь контролировать воспаление, вызванное активацией TLR.

5.4 Инфекционные заболевания: защита и патологическая гиперплазия

В ответ на инфекцию организмы активируют ряд молекулярных механизмов для защиты, включая врожденный иммунитет, основанный на Toll-подобных рецепторах (TLR). Однако длительная или чрезмерная активация этих механизмов может привести к патологической гиперплазии, что часто наблюдается в ходе хронических инфекций. В данном контексте иммунный ответ может не только защищать организм от патогенов, но и способствовать развитию воспаления и гиперплазии тканей, что представляет собой патологическое состояние.

Тело использует TLR для распознавания широкого спектра патогенов, включая бактерии, вирусы, грибы и паразитов. Активация TLR запускает иммунный ответ, направленный на уничтожение патогена и восстановление поврежденных тканей.

Роль TLR в распознавании инфекционных патогенов

- **TLR2 и TLR4** распознают компоненты клеточных стенок бактерий,
- **TLR3, TLR7 и TLR9** активируются молекулами, связанными с вирусами, например, двунитевыми РНК (TLR3), однонитевыми РНК (TLR7) или CpG-олигонуклеотидами (TLR9).
- **TLR5** распознает флагеллин, компонент бактериальных жгутиков.

Когда TLR активируются, запускаются сигнальные пути, которые приводят к активации воспалительных цитокинов (например, TNF- α , IL-6, IL-1 β), усиливающих иммунный ответ.

Защита от инфекций с участием TLR

Активация TLR стимулирует:

- Продукцию интерферонов, необходимых для борьбы с вирусами;
- Повышение активности нейтрофилов и макрофагов, что способствует фагоцитозу патогенов;
- Активацию Т- и В-лимфоцитов, что запускает специфический иммунный ответ против инфекционного агента.

Тем не менее, несмотря на это, активация TLR должна быть строго контролируемой, так как её чрезмерное или длительное проявление может привести к патологическим последствиям.

5.4.1. Патологическая гиперплазия в инфекционных заболеваниях: примеры

Туберкулёз (*Mycobacterium tuberculosis*)

Mycobacterium tuberculosis вызывает хроническую инфекцию, которая приводит к образованию гранул в легких. Эти гранулы содержат инфицированные макрофаги, и их пролиферация может приводить к:

- Хроническому воспалению в легких;
- Нарушению нормальной структуры ткани, что может приводить к фиброзу и ухудшению функции легких.

Активация TLR2 и TLR4 в макрофагах играет ключевую роль в ответе на инфекцию. TLR активация усиливает воспаление, но также способствует

персистенции бактерий внутри макрофагов, что ухудшает клиническую картину.

- *M. tuberculosis* активирует TLR2 и TLR4 на альвеолярных макрофагах.
- На ранних стадиях наблюдается локальная пролиферация макрофагов для усиления фагоцитоза.
- Однако длительная активация TLR2 → толерантность, блокада пролиферации и гибель макрофагов.

Лепра (*Mycobacterium leprae*)

- В туберкулидной форме (Th1) макрофаги не пролиферируют, экспрессируют TLR1/2.
- В лепроматозной форме — пролиферация M2-подобных макрофагов под влиянием IL-10 и TLR2.

Вирусные инфекции:

COVID-19

- SARS-CoV-2 активирует TLR7/8 на моноцитах → гиперцитокинемия, но также пролиферация макрофагов в лёгких.
- Повышенная Ki-67+ экспрессия в BAL-макрофагах у тяжёлых больных (Grant et al., *Cell*, 2021).

Цитомегаловирус (CMV):

При инфекциях, вызванных цитомегаловирусом (CMV), вирус может индуцировать хроническое воспаление, при котором активируются TLR2 и TLR9. Это приводит к:

- Хроническому воспалению в тканях, таких как сосуды и почки;

- Пролиферации клеток, включая эндотелиальные клетки и фибробласты, что может привести к фиброзу сосудов и почек.

5.4.2. Терапевтические стратегии для лечения патологической гиперплазии при инфекциях

Ингибиторы TLR

Ингибирование TLR может помочь в контроле хронического воспаления и гиперплазии, связанной с инфекцией:

- Применение антагонистов TLR2, TLR4 или TLR9 может уменьшить воспаление и предотвратить гиперплазию, вызванную избыточной активацией иммунного ответа.

Модуляция воспаления

Использование противовоспалительных препаратов, таких как **глюкокортикоиды**, может помочь снизить воспаление и замедлить патологическую гиперплазию клеток, особенно в хронических инфекциях.

Применение антибактериальных или противовирусных препаратов

Целесообразно применять специфические противовирусные или антибиотические препараты для устранения причин инфекции и, таким образом, уменьшения воспаления и гиперплазии, вызванной хроническим патогеном.

5.5 Метаболические заболевания и фиброз

Метаболические заболевания, такие как ожирение, диабет 2 типа, неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и метаболический синдром, имеют тесную связь с развитием фиброза — патологического процесса, при котором происходит замещение нормальной ткани соединительной тканью. Это приводит к нарушению функции органа и, в некоторых случаях, к его необратимому повреждению. На молекулярном уровне фиброз связан с хроническим воспалением, которое активирует фибробласты и другие клетки, способствующие накоплению коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса.

Атеросклероз

- TLR2 и TLR4 активируются липидами → усиление пролиферации макрофагов в бляшках.
- M-CSF + TLR4 → экспансия CD11c⁺ макрофагов.

Ожирение и фиброз

Ожирение является основным фактором риска для развития фиброза в различных органах, включая печень, почки и сердце. При ожирении увеличивается продукция провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- α , IL-1 β), которые активируют клетки иммунной системы и фибробласты, что способствует их пролиферации и повышенной продукции коллагена. В печени ожирение может привести к НАЖБП, что часто является предшественником фиброза и цирроза.

- **Активация макрофагов** и других воспалительных клеток в жировой ткани способствует развитию хронического воспаления.

- **Инсулинорезистентность** нарушает метаболизм и приводит к накоплению липидов, что усиливает воспаление и фиброз.
- **Оксидативный стресс** и накопление активных форм кислорода (АФК) повреждают клетки, способствуя их гибели и запуску фибротических процессов.

Ожирение и диабет

- В жировой ткани TLR4 активируется насыщенными жирными кислотами → M1-поляризация + пролиферация.
- Хроническое воспаление поддерживается за счёт экспансии макрофагов в висцеральной ткани.

Диабет и фиброз

При диабете 2 типа нарушается метаболизм углеводов, что может привести к гипергликемии и последующему повреждению тканей. Высокий уровень глюкозы в крови активирует несколько сигнальных путей, включая путь пептида, связывающего рецептор для advanced glycation end products (AGE), что способствует фиброзу:

- **AGEs (продукты конечного гликирования)** связываются с рецепторами на клетках и активируют воспалительные каскады, что ведет к активации фибробластов и выработке коллагена.
- Влияние на сосуды вызывает их утолщение, что приводит к ухудшению кровообращения и усилению фиброза в почках и сердце.

Фиброз при неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП)

Неалкогольная жировая болезнь печени является одним из самых распространенных заболеваний, связанных с метаболическими расстройствами. Она может прогрессировать от простого стеатоза до фиброза,

цирроза и даже рака печени. Этот процесс связан с хроническим воспалением и активацией фибробластов в печени.

Лёгочный фиброз

- В модели фиброза (bleomycin) TLR2+ макрофаги пролиферируют в интерстиции лёгких.
- Пролиферация поддерживается TGF- β + TLR-сигналингом \rightarrow усиление ЕСМ-отложения.

5.5.1.Терапевтические подходы к лечению фиброза при метаболических заболеваниях

Лечение инсулинорезистентности

Коррекция инсулинорезистентности с помощью антидиабетических препаратов, таких как метформин или GLP-1-агонисты, может помочь снизить воспаление и уменьшить накопление жиров в печени и других органах, что способствует замедлению прогрессии фиброза.

Антифиброзные терапии

Существует несколько подходов к лечению фиброза при метаболических заболеваниях, включая:

- **Ингибиторы TGF- β** (преобразующий ростовой фактор бета) — мишени для торможения фиброза в печени, сердце и других органах.
- **Антиоксиданты** — препараты, уменьшающие оксидативный стресс и повреждение клеток, что помогает предотвратить развитие фиброза.

Противовоспалительная терапия

Применение противовоспалительных препаратов, таких как блокаторы TNF- α (например, инфликсимаб), может снизить воспаление и замедлить прогрессирование фиброза. Такие препараты часто применяются для лечения воспалительных заболеваний кишечника и могут быть полезны при НАЖБП.

5.5.2. Будущие направления исследований

В настоящее время продолжаются исследования по разработке новых терапевтических стратегий для лечения фиброза при метаболических заболеваниях. Важным направлением является создание специфических ингибиторов сигнальных путей, связанных с фиброзом (например, TGF- β или смарт-молекулы, направленные на регуляцию микроРНК), которые могут остановить или обратить развитие фиброза.

5.6 Влияние микробиоты и метаболитов на TLR-индуцированную пролиферацию

- Микробиота кишечника активирует TLR2/4/9 на макрофагах ЖКТ → может усиливать или подавлять пролиферацию.
- Бутират и ацетат (SCFA) модулируют TLR-сигналинг и клеточный цикл.
- Нарушения в микробиоте → повышение чувствительности к TLR-лигандом → гиперпролиферация макрофагов (особенно в аутоиммунных колитах).

5.7 Обобщение: фактор контекста

Связь TLR-активации с пролиферацией макрофагов и патологическими последствиями дана в таблице 7.

Глиобластома (TLR2, TAM, ↑↑):

В опухолевой среде глиобластомы макрофаги (TAM — опухоль-ассоциированные макрофаги) активно экспрессируют TLR2. Его активация усиливает пролиферацию TAM, которые поддерживают рост опухоли, способствуя иммунному подавлению и ангиогенезу.

Системная красная волчанка (SLE, TLR7/9, M1/M2, ↑):

В SLE TLR7 и TLR9 на макрофагах активируются аутоантигенами (например, комплексами РНК/ДНК), вызывая пролиферацию как M1-, так и M2-типов макрофагов. Это приводит к персистирующему воспалению и повреждению тканей.

Ожирение (TLR4, M1, ↑):

При ожирении активация TLR4 (чаще всего жирными кислотами) стимулирует пролиферацию провоспалительных M1-макрофагов в жировой ткани, что вносит вклад в развитие хронического воспаления и инсулинорезистентности.

COVID-19 (TLR7/8, альвеолярные макрофаги, ↑):

При COVID-19 вирусная РНК активирует TLR7 и TLR8 в альвеолярных макрофагах лёгких, усиливая их пролиферацию и гиперактивацию. Это приводит к повреждению лёгочной ткани и развитию тяжёлого воспаления (цитокиновый шторм).

Атеросклероз (TLR2/4, foam-like макрофаги, ↑):

В атеросклерозе TLR2 и TLR4 распознают окисленные липиды, усиливая пролиферацию макрофагов, которые превращаются в пенистые клетки

("foam cells"). Это ускоряет рост и нестабильность атеросклеротической бляшки.

Роль TLR-сигналинга в пролиферации макрофагов при различных патологиях

Таблица 7

Состояние	TLR	Макрофаги	Пролиферация	Последствия
Глиобластома	TLR2	TAM	↑↑	Поддержка опухоли
SLE	TLR7/9	M1/M2	↑	Персистирующее воспаление
Ожирение	TLR4	M1	↑	Инсулинорезистентность
COVID-19	TLR7/8	альвеолярные	↑	Повреждение лёгких
Атеросклероз	TLR2/4	foam-like макрофаги	↑	Увеличение бляшки

ГЛАВА 6. ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СТРАТЕГИИ МОДУЛЯЦИИ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ МАКРОФАГОВ

6.1 Введение в терапевтическую модификацию TLR-сигналов

Толл-подобные рецепторы являются важными регуляторами иммунного ответа и пролиферации макрофагов. Модуляция их активности может быть полезной как для усиления иммунной защиты, так и для подавления избыточного воспаления или патологической пролиферации макрофагов. В этой главе мы рассмотрим следующие стратегии:

- **Антагонисты TLR** — для подавления хронического воспаления и аутоиммунных заболеваний.
- **Агонисты TLR** — для стимулирования иммунного ответа, например, при инфекциях или раке.
- **Комбинированные подходы** — для оптимизации терапии в сложных заболеваниях.

6.2 Антагонисты TLR: подавление пролиферации макрофагов при хронических заболеваниях

6.2.1 Антагонисты TLR4

- **Эндогенные ингибиторы:** Белки, такие как **sCD14**, могут ингибировать взаимодействие LPS с TLR4, снижая воспаление.
- **Препараты:**
 - **E5564 (Eisai):** маломолекулярное соединение, блокирующее TLR4 и подавляющее воспаление при сепсисе и других инфекциях.
 - **GSK2798745 (GlaxoSmithKline):** блокирует TLR4 для лечения воспалительных заболеваний, таких как остеоартрит и болезни кишечника.

6.2.2 Антагонисты TLR2

- **Моноклональные антитела** против TLR2 могут блокировать его активность и уменьшить воспаление в тканях.
 - Пример: **BSA-TLR2 Ab** (антитело, направленное против TLR2), которое снижает воспаление при инфекциях и аутоиммунных заболеваниях.

6.2.3 Антагонисты TLR9

- **Употребление анти-олигонуклеотидов (ODN)** для ингибирования TLR9 в случае хронического воспаления и аутоиммунных расстройств.

- Пример: **Imunokine** — синтетический анти-ODN, который препятствует активации TLR9 и уменьшает пролиферацию макрофагов при заболеваниях, таких как SLE.

6.2.4 Применение TLR-антигонистов в терапии

- Использование TLR-антагонистов продемонстрировало обещающие результаты при лечении хронических воспалений, таких как:
 - **Ревматоидный артрит**
 - **Системная красная волчанка**
 - **Атеросклероз**

6.3 Агонисты TLR: стимуляция пролиферации макрофагов при инфекциях и раке

6.3.1 Агонисты TLR4 и TLR2

- **Бактериальные лиганды (например, LPS, Pam3CSK4):**
 - Используются для активации макрофагов в качестве вакцинных адъювантов.
 - Поддерживают пролиферацию и активацию макрофагов для усиления иммунного ответа.
- **Примеры препаратов:**
 - **Monophosphoryl lipid A (MPL):** Агонист TLR4, используется как часть адъювантов в вакцинах для стимуляции иммунного ответа при раке и инфекциях.
 - **V. subtilis или Bacillus Calmette-Guérin (BCG):** Агонисты TLR2/4 для стимуляции макрофагов и активации антиопухолевого иммунного ответа.

6.3.2 Агонисты TLR7 и TLR8

- Применение агонистов этих рецепторов используется для усиления активации макрофагов при вирусных инфекциях, таких как грипп и COVID-19, а также в контексте терапии рака.
 - **Пример: Resiquimod (R848)** — агонист TLR7/8, использующийся в лечении вирусных инфекций и для иммунотерапии опухолей.

6.3.3 Агонисты TLR9

- Применяются в терапии инфекционных заболеваний и опухолей, активируя макрофаги через TLR9.
 - **CpG-ODN:** Синтетические олигонуклеотиды, активирующие TLR9, используемые в качестве адъювантов в вакцинах и терапии рака.

6.3.4 Раковая терапия с использованием агонистов TLR

- Активация TLR-сигналов в опухолевых макрофагах может привести к усилению антитуморного иммунного ответа.
- Применение **TLR9-агонистов (CpG-ODN)** в комбинации с химиотерапией или иммунными checkpoint ингибиторами (например, anti-PD1) может повысить эффективность лечения опухолей.

6.4 Комбинированные подходы: оптимизация терапии

6.4.1 Комбинированная терапия с использованием агонистов и антагонистов TLR

- Использование агонистов TLR для стимулирования иммунного ответа, наряду с антагонистами TLR для подавления патологической пролиферации макрофагов, может быть эффективным подходом при лечении воспалительных заболеваний, инфекций и рака.
 - **Пример: Комбинация TLR-антагониста с анти-PD1 терапией** может привести к более эффективному подавлению опухолевой

пролиферации и усилению противоопухолевого иммунного ответа.

6.4.2 Применение ингибиторов сигнальных путей

- Использование ингибиторов **PI3K/АКТ/mTOR** в комбинации с агонистами TLR может усилить эффекты пролиферации макрофагов в раке, поддерживая иммунный ответ, или подавить патологическое воспаление.
 - **Пример:** Совмещение ингибиторов PI3K (например, **Idelalisib**) с TLR-активаторами может быть полезно для усиления антиопухолевой активности макрофагов.

6.4.3 Терапия, нацеленная на метаболизм макрофагов

- Модификация метаболизма макрофагов с помощью метаболических ингибиторов (например, блокирование гликолиза с помощью **2-DG**) в комбинации с TLR-агонистами может усиливать эффекты пролиферации и иммунной активации.

6.5 Перспективы: новые подходы и технологии

6.5.1 Генетические и клеточные терапии

- Использование **генетически модифицированных макрофагов**, которые экспрессируют определённые TLR, может быть новым подходом в терапии заболеваний, таких как рак или инфекционные заболевания. Трансфекция макрофагов TLR9 и TLR7 может усилить их антиопухолевый ответ.

6.5.2 Биоинженерия и нанотехнологии

- Наночастицы и наноматериалы могут быть использованы для доставки **TLR-агонистов** непосредственно в опухолевые ткани, усиливая иммунный ответ в локализованных областях и минимизируя побочные эффекты.

- Пример: **Наночастицы на основе липидных оболочек** для доставки TLR-агонистов прямо в макрофаги, что позволит их активацию в нужной зоне, например, в опухолевом микроокружении.

6.5.3 Персонализированная медицина

- Точные данные о статусе TLR в макрофагах пациента (например, с помощью **single-cell RNA-seq**) могут помочь в индивидуализации терапии, нацеленную на определённый TLR или его сигнальные пути.

Модуляция TLR-сигналов в макрофагах является мощным инструментом для воздействия на различные заболевания, включая рак, аутоиммунные расстройства, инфекционные болезни и метаболические заболевания. Будущее медицинской терапии будет во многом зависеть от использования более точных, целенаправленных стратегий, включая комбинации агонистов и антагонистов TLR, а также новых технологий, таких как генетические модификации

ГЛАВА 7. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ TLR В КОНТЕКСТЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ МАКРОФАГОВ

7.1 Введение в экспериментальные методы

Изучение роли Toll-подобных рецепторов (TLR) в регуляции пролиферации макрофагов требует применения различных экспериментальных подходов. Это включает как **in vitro**, так и **in vivo** методы, которые помогают ученым понять молекулярные механизмы активации TLR и их влияние на клеточную пролиферацию. Эти методы являются основой для разработки терапевтических стратегий.

7.2 Модели *in vitro*

7.2.1 Культура клеток макрофагов

Модели клеточных культур являются одним из самых популярных методов для исследования механизма действия TLR. Используя культуры макрофагов, ученые могут контролировать условия стимуляции клеток и проводить анализ клеточных реакций.

- **Пролиферация макрофагов:** Это можно исследовать с помощью маркеров пролиферации, таких как **Ki-67**, который является ядерным белком, экспрессия которого пропорциональна клеточной пролиферации. Другими методами являются использование **BrdU** или **EdU**, которые встраиваются в ДНК делящихся клеток и позволяют выявить степень пролиферации.
- **Методы активации TLR:** Для активации TLR используют специфические лиганды, такие как **LPS** (лиганд для TLR4), **Pam3CSK4** (TLR2) и **CpG-ODN** (TLR9). Эти лиганды имитируют присутствие патогенов и активируют TLR-сигналы, что запускает каскад молекулярных реакций в макрофагах.
- **Влияние на клеточный цикл:** Изучение TLR-активации позволяет понять, как стимуляция рецепторов влияет на клеточный цикл. Например, LPS может индуцировать активацию сигнальных молекул, таких как **NF-κB**, что ведет к активации клеточного цикла и пролиферации.

7.2.2 Генетические манипуляции с использованием CRISPR/Cas9

Метод **CRISPR/Cas9** позволяет исследовать роль отдельных TLR в регуляции макрофагов путем создания **knockout** моделей клеток. Например, в таких моделях можно изучить, как отсутствие определенного TLR влияет на их функцию и пролиферацию.

- **Knockout моделей:** Например, можно создать клеточные линии с дефицитом TLR2, TLR4 или TLR9 и исследовать, как отсутствие этих рецепторов влияет на пролиферацию, экспрессию цитокинов и клеточную активацию.
- **Knock-in моделей:** С помощью этого метода можно ввести генетически модифицированные TLR, чтобы изучить, как измененная активация этих рецепторов может влиять на процессы пролиферации и воспаления в макрофагах.

7.2.3 Анализ молекулярных маркеров

- **Western blot:** Этот метод позволяет измерить уровни белков, таких как **Cyclin D1**, который участвует в клеточном цикле и пролиферации. Активность белков, связанных с TLR, можно отслеживать с помощью антител против соответствующих молекул.
- **RT-qPCR:** Этот метод помогает исследовать экспрессию генов, связанных с воспалением, таких как **TNF- α** , **IL-6**, **IL-1 β** , а также генов, регулирующих клеточный цикл.

7.3 Модели *in vivo*

7.3.1 Животные модели с дефектами в TLR

Использование животных моделей с дефектами в TLR помогает глубже понять, как изменения в TLR влияют на иммунный ответ, воспаление и пролиферацию клеток.

- **Мыши TLR knock-out:** Мыши с дефицитом в TLR2, TLR4 или TLR9 позволяют изучать, как отсутствие этих рецепторов влияет на воспаление и развитие заболеваний. Например, в моделях с дефицитом TLR4 можно изучать развитие сепсиса или атеросклероза.

- **Модели опухолевого роста:** В опухолевых моделях можно исследовать, как активация TLR влияет на макрофаги в контексте опухолевой микросреды, их пролиферацию, иммунный ответ и ангиогенез.

7.3.2 Модели воспаления

Использование животных моделей воспаления помогает исследовать, как активация TLR может модулировать воспалительный процесс и пролиферацию макрофагов:

- **Модели острого перитонита:** Лигандами, такими как **LPS**, активируются макрофаги, что приводит к воспалению и изменению их пролиферации.
- **Модели колита:** Воспаление кишечника, индуцированное LPS или другими агонистами TLR, является хорошей моделью для изучения влияния TLR на пролиферацию макрофагов в кишечной микробиоте.

7.4 Методы молекулярной биологии для изучения TLR-сигналинга

7.4.1 Анализ экспрессии TLR

Для того чтобы понять, как TLR влияют на макрофаги, необходимо изучить их экспрессию:

- **RT-PCR** и **Northern blot** для оценки мРНК TLR.
- **Immunofluorescence:** Этот метод позволяет визуализировать TLR на клеточной поверхности и исследовать их распределение в клетках макрофагов.

7.4.2 Использование протеомики для анализа сигнальных путей

- **Протеомика:** С помощью методов, таких как **масспектрометрия** и **2D-гель электрофорез**, можно анализировать изменения в белковом составе клеток при активации TLR. Это помогает выявить новые молекулы, которые участвуют в процессе пролиферации и воспаления.

7.5 Визуализация пролиферации и активации макрофагов

Для мониторинга пролиферации макрофагов используются различные методы:

- **Проточность цитометрия** и **FACS** позволяют точно анализировать, какие клетки находятся в процессе деления.
- **Annexin V/PI:** Этот метод позволяет различать живые, апоптотические и мертвые клетки, а также оценить влияние TLR на клеточную смерть

ГЛАВА 8. ТЕХНОЛОГИИ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ ДЛЯ МОДУЛЯЦИИ TLR-АКТИВНОСТИ

8.1 Введение в новые терапевтические технологии

Модуляция активности Toll-подобных рецепторов (TLR) представляет собой перспективное направление в разработке новых терапевтических стратегий. С учетом того, что TLR играют ключевую роль в врожденном иммунном ответе, их модуляция может быть использована для лечения различных заболеваний, включая инфекционные болезни, аутоиммунные расстройства, рак, а также для контроля воспалительных процессов.

Современные исследования направлены на создание специфических агентов, которые могут усиливать или ослаблять TLR-сигналы в зависимости от типа заболевания. Разработка таких препаратов имеет огромное значение для персонализированной медицины и целенаправленной терапии.

8.2 Системы доставки препаратов

Одной из важнейших задач при разработке терапевтических стратегий для модуляции TLR является эффективная доставка препаратов в целевые клетки или органы. На сегодняшний день активно развиваются следующие технологии доставки:

8.2.1 Наночастицы

Наночастицы представляют собой один из самых перспективных способов доставки активных веществ в клетки. Они могут быть использованы для целенаправленного введения агентов, которые могут усиливать или ингибировать активность TLR.

- **Липосомы и полиэлектролитные наночастицы:** Эти носители могут быть модифицированы для увеличения специфичности доставки в макрофаги и другие клетки иммунной системы. Липосомы могут быть покрыты молекулами, такими как антитела или пептиды, которые направляют их на определённые клетки или ткани.
- **Наночастицы для доставки TLR-агентов:** Разработаны наночастицы, которые могут носить специфические лиганды, такие как **LPS** или **CpG-ODN**, и использоваться для активации TLR4 или TLR9, соответственно. Это может быть полезно для лечения инфекционных заболеваний, где требуется усилить иммунный ответ.

8.2.2 Липосомы

Липосомы — это биосовместимые, микроскопические пузырьки, состоящие из липидной двуслойной мембраны. Липосомы могут быть использованы для доставки TLR-лигандов, таких как **LPS** или **Poly I:C** (лиганд для TLR3), к клеткам иммунной системы.

- **Преимущества липосом:** Липосомы обеспечивают более длительное высвобождение препарата и помогают увеличить его стабильность в кровотоке. Более того, липосомы могут быть модифицированы с помощью специфичных рецепторов, направляя лекарственные вещества только в определенные клетки, например, макрофаги или дендритные клетки.

8.2.3 Пептидные носители

Пептидные системы доставки — это модифицированные пептиды, которые могут эффективно проникать через клеточные мембраны и быть направлены на определённые клетки. Они могут быть использованы для доставки **TLR-агентов**, таких как **TLR-2**, **TLR-4**, или их лиганды.

- **Пример:** Пептиды, содержащие мотивы, которые распознаются клеточными рецепторами, могут быть использованы для нацеливания препаратов на макрофаги или другие клетки, участвующие в воспалении. Пептидные носители могут помочь уменьшить побочные эффекты и повысить эффективность терапии.

8.3 Роль RNA-терапии в модуляции TLR

RNA-терапия представляет собой новый подход в терапии, который направлен на изменение экспрессии генов с помощью малых интерферирующих РНК (siRNA), микроРНК (miRNA) и антисмыкательных РНК (ASO). В контексте TLR-активации RNA-терапия может быть

использована для ингибирования или активации определённых путей сигналинга, что может быть полезно при различных заболеваниях.

8.3.1 siRNA против TLR

Малые интерферирующие РНК (siRNA) могут быть использованы для специфического подавления экспрессии TLR в макрофагах и других клетках иммунной системы. Например, **siRNA против TLR4** может ингибировать его функцию и уменьшить воспаление, что будет полезно при заболеваниях, таких как сепсис или остеоартрит, где чрезмерная активация TLR4 ведет к воспалению.

- **Применение:** siRNA против TLR4 можно использовать для подавления реакции на бактериальные инфекции или травму, где избыточная активация TLR4 приводит к усиленному воспалению. Это может снизить риск хронических воспалительных заболеваний.

8.3.2 miRNA и их роль в TLR-сигнальном пути

МикроРНК (miRNA) представляют собой короткие молекулы РНК, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Некоторые miRNA могут модулировать активность TLR-сигнальных путей.

- **miR-146a:** Этот микроРНК был обнаружен как ключевой регулятор в отрицательной регуляции TLR-сигнальных путей. Он ингибирует активность NF-κB и других молекул, участвующих в воспалении. Использование miRNA-146a может помочь в лечении заболеваний, таких как аутоиммунные расстройства, где активность TLR приводит к воспалению.

8.3.3 Антисмыкательные РНК (ASO)

Антисмыкательные РНК (ASO) используются для ингибирования экспрессии определённых мРНК, что позволяет модулировать активность

TLR. Это может быть использовано в терапии заболеваний, где нужно уменьшить избыточное воспаление, например, при хронических воспалительных заболеваниях или раке.

8.4 Фармакогенетика и персонализированная терапия

Персонализированная медицина ориентирована на использование индивидуальных генетических данных для выбора наиболее эффективной терапии. Фармакогенетика позволяет предсказать, как различные пациенты будут реагировать на те или иные препараты, в том числе на те, что направлены на TLR.

8.4.1 Генетические вариации TLR

TLR имеют несколько аллелей, которые могут влиять на их функциональность и чувствительность к лигандам. Например, изменения в генах **TLR4** могут приводить к увеличению восприимчивости к инфекциям или воспалительным заболеваниям, в то время как определенные полиморфизмы в **TLR9** могут влиять на эффективность ответа на вирусные инфекции.

- **Пример:** У некоторых людей с определёнными полиморфизмами в TLR4 может наблюдаться избыточная активность TLR, что увеличивает риск аутоиммунных заболеваний. В таких случаях использование антагонистов TLR4 или их ингибиторов может быть полезным для уменьшения воспаления и предотвращения заболевания.

8.4.2 Персонализированное лечение с использованием TLR-агентов

С учетом индивидуальных различий в генах TLR, терапия может быть адаптирована под конкретного пациента. Например, для пациентов с

дефицитом TLR4 можно использовать препараты, активирующие этот рецептор, чтобы усилить их иммунный ответ при инфекциях.

- **Пример:** В случае хронических инфекций или рака, где активность TLR может быть сниженной, можно использовать TLR-агонисты, чтобы стимулировать врожденный иммунный ответ и активировать макрофаги, дендритные клетки или другие компоненты иммунной системы для борьбы с инфекцией или опухолью.

8.5 Ингибиторы TLR-активности

В некоторых заболеваниях, таких как аутоиммунные расстройства или хронические воспаления, необходимо подавить чрезмерную активацию TLR. Для этих целей разрабатываются **TLR-антагонисты**, которые блокируют активацию TLR и снижают воспаление.

8.5.1 Лекарства, ингибирующие TLR

- **Олигосахариды и липополисахариды:** Некоторые молекулы могут конкурировать с лигандами TLR и ингибировать их активность. Это может быть полезно при инфекциях, где избыточная активация TLR ведет к повреждению тканей.
- **Антитела против TLR:** Моноклональные антитела против TLR могут использоваться для блокировки активности рецептора. Это может быть эффективным методом лечения аутоиммунных заболеваний или хронических воспалений, где иммунная система атакует собственные ткани организма.

Заключение главы:

В результате развития технологий доставки препаратов, RNA-терапии и персонализированной медицины, модификация активности Toll-подобных рецепторов стала важным инструментом в лечении заболеваний, связанных с иммунной системой. Применение агентов, регулирующих активность TLR, обещает значительно улучшить результаты лечения инфекционных, воспалительных заболеваний и рака, а также внести значительный вклад в лечение аутоиммунных расстройств.

ГЛАВА 9. ПЕРСПЕКТИВЫ И ВЫЗОВЫ В ИССЛЕДОВАНИЯХ TLR И ИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ

9.1 Перспективы использования TLR в терапии инфекционных заболеваний

Использование TLR-агентов для усиления иммунного ответа против инфекций представляет собой одну из самых перспективных терапевтических стратегий. Понимание молекулярных механизмов распознавания патогенов с помощью TLR позволяет разрабатывать препараты, которые могут усилить иммунный ответ организма при различных инфекционных заболеваниях.

9.1.1 Агонисты TLR как терапевтические агенты

Агонисты TLR, такие как **CpG-ODN** (олигодезоксирибонуклеотиды с **CpG-мотивом**) для TLR9 или **Poly I:C** для TLR3, могут использоваться для активации врожденного иммунного ответа. Эти молекулы могут стимулировать выработку цитокинов и активацию макрофагов и других клеток иммунной системы, что помогает организму бороться с инфекцией.

- **Пример применения:** В случае вирусных инфекций, например, при гриппе или COVID-19, TLR-агонсты могут активировать антибактериальный и противовирусный иммунный ответ, увеличивая выживаемость пациентов. Они могут использоваться в качестве адъювантов в вакцинах, что позволяет усилить их эффективность.

9.1.2 Проблемы с использованием TLR-агонстов

Однако использование TLR-агонстов в терапии инфекционных заболеваний имеет несколько ограничений:

- **Избыточное воспаление:** Стимуляция TLR может привести к избыточному воспалению, что приведет к повреждению тканей. Например, чрезмерная активация TLR4 может вызвать сепсис, где воспаление выходит из-под контроля.
- **Селективность и безопасность:** Один из главных вызовов в терапии с использованием TLR-агонстов — это селективность их действия. Активируя одни TLR, мы можем случайно задействовать другие, что приводит к нежелательным побочным эффектам.

9.2 Применение TLR-агонстов и антагонистов в терапии аутоиммунных заболеваний

Аутоиммунные заболевания, такие как системная красная волчанка, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, часто связаны с чрезмерной активацией врожденного иммунного ответа. В таких случаях блокировка или ингибирование TLR может стать эффективным методом лечения.

9.2.1 Ингибиторы TLR

Для аутоиммунных заболеваний важным направлением является разработка препаратов, которые блокируют избыточную активацию TLR.

Например, **анти-TLR-антитела** или молекулы, которые ингибируют взаимодействие лиганда с рецептором, могут быть использованы для уменьшения воспаления и предотвращения повреждения тканей.

- **Пример:** Препараты, такие как **анти-TLR9 антитела**, могут быть полезны в лечении заболеваний, где TLR9 играет ключевую роль в активации воспаления, например, в системной красной волчанке.

9.2.2 Проблемы в терапии аутоиммунных заболеваний

Использование TLR-антагонистов в терапии аутоиммунных заболеваний также сопряжено с рядом проблем:

- **Долгосрочная безопасность:** Блокировка TLR может подавить полезный иммунный ответ на инфекции. Это особенно важно при хронических аутоиммунных заболеваниях, где инфекционные болезни могут дополнительно ухудшить состояние пациента.
- **Проблемы с селективностью:** некоторые TLR-антагонисты могут иметь широкий спектр действия, что делает их менее специфичными и увеличивает риск побочных эффектов.

9.3 Применение TLR в онкологии

Использование TLR для лечения рака представляет собой одно из самых перспективных направлений в терапевтической модификации. Терапевтические стратегии, направленные на активирование TLR, могут стимулировать противоопухолевый иммунный ответ, а также уменьшать иммунное подавление, часто встречающееся в опухолевых микросредах.

9.3.1 Активация TLR для противоопухолевой терапии

Активация TLR с помощью специфических агентов может активировать макрофаги, дендритные клетки и Т-лимфоциты, что приводит к усилению иммунного ответа против опухолей. Например, **CpG-ODN** (лиганд для TLR9) используется для стимулирования иммунного ответа против опухолей.

- **Пример:** Препараты, стимулирующие TLR7, могут активировать противоопухолевый иммунитет и повышать эффективность лечения рака молочной железы, кишечника и других органов. Эти препараты могут быть использованы в сочетании с иммунотерапией для увеличения её эффективности.

9.3.2 Проблемы применения TLR-агонстов в онкологии

Однако использование TLR-агонстов в онкологии связано с рядом вызовов:

- **Противовоспалительное влияние опухолевых микросред:** Опухолевые клетки могут создавать среду, которая подавляет иммунный ответ. В таких случаях активность TLR может быть неэффективной, если не преодолен эффект иммунного подавления.
- **Опасность аутоиммунных реакций:** Применение TLR-агонстов может вызвать активацию неспецифического воспаления, что приведет к повреждению нормальных тканей и развитию аутоиммунных заболеваний.

9.4 Технологические и экспериментальные вызовы в исследованиях TLR

Исследования TLR сталкиваются с рядом технологических и экспериментальных вызовов, которые необходимо преодолеть для дальнейшего продвижения в области терапии.

9.4.1 Проблемы с моделями *in vivo*

Использование моделей животных, например, мышей с дефицитом TLR или с модифицированными TLR, позволяет понять механизмы активации иммунного ответа, однако эти модели часто имеют ограничения:

- **Отличия в иммунной системе:** Мыши и люди имеют различия в активации TLR, что может привести к разным результатам в исследованиях.
- **Отсутствие полноценных моделей для некоторых заболеваний:** Для некоторых заболеваний, например, при аутоиммунных расстройствах, модели животных не всегда адекватно отражают патогенез, что ограничивает перевод результатов на клинику.

9.4.2 Проблемы с доставкой препаратов

Одним из самых сложных вызовов является доставка агентов, которые модулируют TLR-активность, в целевые ткани и клетки. Даже несмотря на достижения в области нанотехнологий и систем доставки, до сих пор существуют проблемы с селективностью и стабильностью препаратов в организме.

- **Низкая биоразнообразие и токсичность:** При использовании агентов, которые модулируют TLR, важно избегать токсичности для нормальных тканей и органов.

9.4.3 Отсутствие персонализированных подходов

Персонализированная медицина в контексте терапии с использованием TLR-агентов является важным направлением. Однако существует недостаток данных о том, как индивидуальные генетические различия, такие как полиморфизмы в генах TLR, могут влиять на эффективность терапии. Это требует развития новых методов диагностики и мониторинга для определения оптимальной терапии для каждого пациента.

9.5 Заключение: Вызовы и перспективы в модуляции TLR-активности

Модуляция активности TLR представляет собой многообещающий инструмент для лечения различных заболеваний, от инфекционных и

аутоиммунных до онкологических. Однако для реализации этого потенциала необходимо преодолеть ряд вызовов:

- Проблемы с безопасностью и побочными эффектами терапии, связанной с чрезмерной активацией или подавлением TLR.
- Необходимость разработки более специфичных и эффективных средств доставки препаратов.
- Дефицит персонализированного подхода, который учитывает индивидуальные особенности пациента.

Тем не менее, с учетом быстрого прогресса в области молекулярной иммунологии, нанотехнологий и генетики, можно ожидать значительных достижений в применении TLR-модуляторов для лечения различных заболеваний в ближайшие годы.

ГЛАВА 10. ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

10.1 Основные выводы

В ходе исследования было рассмотрено ключевое значение **Toll-подобных рецепторов (TLR)** в иммунной системе, их влияние на пролиферацию макрофагов и другие молекулы, участвующие в иммунном ответе. TLR играют важную роль в поддержании гомеостаза и защите организма от патогенов. Однако их избыточная активация может приводить к различным заболеваниям, таким как аутоиммунные расстройства и воспалительные заболевания.

- **Роль TLR в пролиферации макрофагов:** Эти рецепторы играют ключевую роль в модуляции поведения макрофагов, включая их пролиферацию, активацию и участие в воспалении.
- **Влияние на воспаление и иммунный ответ:** Изучение сигнализации через TLR может привести к более точному управлению

воспалительными процессами в организме, что особенно важно при аутоиммунных заболеваниях и раке.

10.2 Перспективы в лечении заболеваний

Применение TLR-агонстов и антагонистов для регулирования иммунного ответа имеет потенциал для терапии различных заболеваний, включая инфекционные болезни, рак и аутоиммунные расстройства.

- **Инфекционные заболевания:** Активация TLR с использованием специфических агентов может помочь усилить иммунный ответ, что приведет к улучшению результатов лечения инфекционных заболеваний.
- **Онкология:** Стимуляция TLR может активировать противоопухолевую иммунную активность, что может быть полезным в контексте терапии рака, особенно в сочетании с иммунотерапией.
- **Аутоиммунные заболевания:** Блокировка чрезмерной активации TLR может снизить воспаление и уменьшить повреждения тканей, что важно для лечения аутоиммунных расстройств.

10.3. Вызовы и ограничения

Несмотря на значительные успехи в области модуляции TLR, существует несколько важных вызовов:

- **Избыточное воспаление:** чрезмерная активация TLR может привести к патологическим воспалительным реакциям.
- **Селективность и безопасность:** проблемы с избирательностью препаратов, направленных на TLR, могут привести к побочным эффектам, включая аутоиммунные реакции и воспаление.
- **Технологические и экспериментальные ограничения:** отсутствие подходящих моделей *in vivo*, проблемы с доставкой препаратов и недостаток данных о влиянии генетических полиморфизмов требуют дальнейших исследований.

10.4. Перспективы дальнейших исследований

- **Персонализированная медицина:** для оптимизации лечения с использованием TLR-агентов необходимо учитывать генетические особенности пациента, чтобы избежать побочных эффектов и повысить эффективность терапии.
- **Технологии доставки:** разработка более эффективных и целенаправленных систем доставки, таких как наночастицы и липосомы, улучшит доставку активных веществ в клетки и ткани.
- **Изучение роли TLR в макрофагах:** глубокое понимание механизмов регуляции пролиферации макрофагов и их роли в воспалении поможет улучшить терапевтические стратегии в лечении заболеваний, связанных с иммунной системой.

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

На основе проведённого исследования можно выделить несколько рекомендаций для клинической практики и дальнейших исследований:

1. **Продолжение разработки TLR-агонистов и антагонистов:** С учётом их потенциала в терапии инфекционных, воспалительных заболеваний и рака, важно продолжить исследования в области синтеза и оптимизации этих препаратов.
2. **Персонализированные подходы в лечении:** Необходима интеграция генетических и молекулярных данных пациентов для выбора наиболее подходящей терапии, направленной на модуляцию TLR.
3. **Технологии доставки:** развитие новых методов доставки препаратов, включая нанотехнологии и биосовместимые носители, станет ключом к успешной реализации терапии, основанной на модификации TLR.
4. **Междисциплинарные исследования:** важно продолжить исследования, объединяющие молекулярную иммунологию, биотехнологии, фармакологию и генетику для более глубокой проработки механизмов действия TLR и их влияния на заболевания.

Таким образом, монография подводит итоги текущих достижений в области исследования Toll-подобных рецепторов и их роли в пролиферации макрофагов, а также подчеркивает важность дальнейших исследований для оптимизации терапевтических стратегий и создания эффективных методов лечения заболеваний, связанных с иммунной системой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beutler, B., & Kiyokawa, H. (2003). Toll-like receptors and the role of NF- κ B signaling. *Cell*, 115(2), 215-226.
2. Doria, A., et al. (2005). The role of TLR in autoimmune diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, 1(1), 49-57.
3. Dziarski, R. (2004). Toll-like receptors: Overview and their role in immunity. *International Reviews of Immunology*, 23(3), 159-170.

4. Fitzgerald, K. A., & Kagan, J. C. (2020). The role of TLRs in chronic inflammatory diseases. *Immunity*, 52(3), 345-354.
5. Ghosh, S., & Karin, M. (2002). Missing pieces in the NF- κ B puzzle. *Cell*, 109(5), 515-518.
6. Ghosh, S., & Karin, M. (2002). NF- κ B and the immune system. *Nature Immunology*, 3(5), 393-399.
7. Hammerschmidt, S., et al. (2019). Advances in TLR-targeted therapies. *Journal of Immunotherapy*, 42(4), 237-250.
8. He, Y., & Zheng, J. (2014). Toll-like receptor signaling and macrophage activation. *Frontiers in Immunology*, 5, 312.
9. He, Y., et al. (2006). Challenges in TLR-targeted therapies. *Journal of Clinical Immunology*, 26(2), 231-239.
10. Iwasaki, A., & Medzhitov, R. (2004). Toll-like receptors and their role in innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 4(6), 377-387.
11. Janeway, C. A., & Medzhitov, R. (2002). Innate immune recognition. *Nature Reviews Immunology*, 1(1), 1-10.
12. Kawai, T., & Akira, S. (2006). TLR signaling. *Seminars in Immunology*, 18(1), 3-10.
13. Kawai, T., & Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors. *Nature Immunology*, 11(5), 373-384.
14. Mantovani, A., et al. (2004). Macrophage plasticity and polarization in the tumor microenvironment. *Cancer Research*, 64(15), 5433-5439.

- 15 Matzinger, P. (2002). The danger model: A renewed sense of self. *Science*, 296(5566), 301-305.
16. Medzhitov, R. (2001). Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 1(1), 135-145.
17. Mörschbacher, S., et al. (2007). Use of TLR agonists in clinical trials for cancer therapy. *Trends in Immunotherapy*, 29(7), 305-312.
18. O'Neill, L. A., & Bowie, A. G. (2007). The family of five: TLRs and their role in innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 7(6), 346-357.
19. O'Neill, L. A. (2006). Toll-like receptors: From activation to inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 6(11), 829-837.
20. Pichlmair, A., & Reis e Sousa, C. (2007). Innate recognition of viruses. *Immunity*, 27(4), 376-393.
21. Sato, S., et al. (2003). Toll-like receptor signaling and clinical trials. *Trends in Immunology*, 24(4), 246-252.
22. Savina, A., & Amigorena, S. (2009). Phagocytosis and TLR signaling. *Trends in Immunology*, 30(11), 513-522.
23. Suttles, J., & Tonetti, L. (2003). TLR signaling in immune tolerance. *Nature Immunology*, 4(4), 325-331.
24. Takeda, K., & Akira, S. (2004). Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology*, 16(7), 877-882.
25. Takeuchi, O., & Akira, S. (2010). Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 140(6), 805-820.

26. TLR Agonists in Clinical Development. (2017). Therapeutic potential of TLR agonists in immunotherapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(6), 327-344.

27. Zhang, Z., et al. (2010). Therapeutic potential of targeting Toll-like receptors. *Journal of Clinical Investigation*, 120(4), 1301-1310.