

## ГИГАНТСКИЕ КЛЕТКИ ИНОРОДНЫХ ТЕЛ И ТКАНЕВЫЕ РЕАКЦИИ НА ПОВЕРХНОСТИ ИМПЛАНТАТОВ

© Должиков А.А.<sup>1</sup>, Колпаков А.Я.<sup>2</sup>, Ярош А.Л.<sup>1</sup>, Молчанова А.С.<sup>1</sup>, Должикова И.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Медицинский институт,  
<sup>2</sup> научно-исследовательский центр наноструктурных материалов и покрытий  
Белгородского государственного национального исследовательского университета, Белгород  
E-mail: [dolzhikov@bsu.edu.ru](mailto:dolzhikov@bsu.edu.ru)

В обзоре представлен анализ литературных данных по проблеме реакции тканей на имплантаты с различными свойствами. Основная часть посвящена морфологическим и функциональным характеристикам гигантских клеток инородных тел (ГКИТ), механизмам и регулирующим факторам их образования. Данные литературы свидетельствуют, что на границе «ткани – поверхность имплантата» с участием плазменных и тканевых белков формируется особая среда, которая определяет процессы клеточной адгезии, взаимодействия, выживание слияния. Выживание клеток на поверхности имплантата зависит от ее собственных адгезивных свойств или сорбированных плазменных белков. Процесс слияния макрофагов с образованием ГКИТ происходит с участием молекул из семейства интегринов, сопровождается модификациями цитоскелета с образованием специализированных органелл – подосом, регулируется широким спектром цитокинов лимфоцитарного и аутологичного происхождения. Описаны отдельные феномены тканевых и клеточных реакций, такие как эффект Вромана и особый тип апоптоза – аноиксис. Морфологическими критериями оценки гигантоклеточной реакции на светомикроскопическом уровне являются количество ГКИТ, их форма и размеры, количество и расположение ядер, может быть использован фузио-амитотический индекс.

**Ключевые слова:** имплантаты, тканевые реакции, клетки инородных тел.

### GIANT FOREIGN BODY CELLS AND TISSUE REACTIONS ON THE SURFACE OF IMPLANTS

*Dolzhikov A.A.<sup>1</sup>, Kolpakov A.Ya.<sup>2</sup>, Yarosh A.L.<sup>1</sup>, Molchanova A.S.<sup>1</sup>, Dolzhikova I.N.<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup> Medical Institute, <sup>2</sup> Scientific-Research Centre of Nanostructural Materials and Coatings  
of Belgorod State National Research University, Belgorod

The review presents analysis of the literature data concerning the problem of tissue reactions on implantats with different properties. The main part contains the data about morphological and functional characteristics of foreign body giant cells (FBGC), mechanisms and regulatory factors of their formation. The published data show that on the border tissues – surface of implantats the unique medium is formed with participation and interactions of plasma and tissue proteins. The survival of cells on the surface of biomaterials depends on adhesive features of implanted material and absorbed proteins. The fusion of macrophages with the formation of GFBC occurs due to molecules of integrins family, and is followed by cytoskeleton modifications with the formation of specialized organelles – podosomes, is regulated by wide spectrum of cytokines (ILs, TNF and other) of lymphocytic and autologous origin. Lightmicroscopic criteria of GFBC evaluation are following: the number of cells, their size, shape, the number and location of nuclei, fuso-amitotic index (a ratio between the number of cells with signs of fusion and cells with amitotic morphology).

**Keywords:** implantats, tissue reactions, foreign body cells.

Имплантаты из различных материалов давно получили распространение во многих областях медицины, и в настоящее время их перечень продолжает расширяться, прежде всего, в связи с оптимизацией свойств для конкретного применения. Функциональные свойства имплантатов даже при удовлетворении требованиям биосовместимости являются неоднозначными. Прогрессирование фиброзных изменений с возможной последующей фрагментацией биоматериалов является проблемой при использовании маммарных протезов [1, 2]. Отграничение малососудистой фиброзной тканью также нежелательно при имплантации биосенсоров глюкозы [56]. В сосудистой хирургии одним из негативных результатов использования сосудистых протезов и стентов является появление тканевых условий для образования

неоинтимы с возможным последующим рестенозом. В то же время формирование стабильного фиброзного каркаса вокруг имплантата представляет желаемый результат при герниопластике с использованием полимерных сеток. В разработке имплантатов внимание уделяется двум основным аспектам. Во-первых, свойствам поверхности, детерминирующим взаимодействия с окружающими тканями [3, 5]. Во-вторых, характеру тканевых реакций, определяющему оценку свойств имплантата. Анализу современных данных, относящихся ко второму аспекту проблемы, посвящен данный обзор.

Одним из индикаторов тканевых реакций на имплантаты является динамика развития гигантских клеток инородных тел (ГКИТ), представляющих биологически сложные элементы, находя-

щиеся в многочисленных взаимодействиях с другими клетками и межклеточным матриксом.

ГКИТ являются клетками, фенотипически отличающимися от остеокластов и дендритных клеток [15, 44]. Соответственно классическим представлениям [4] они относятся к элементам неиммунных гранул, что изначально отличает их от сходных клеток, формирующихся при инфекционных процессах. Их формирование является процессом более гетерогенным, прежде всего, вследствие физико-химических различий инородных тел, включая материалы медицинского назначения. Однако имеется ряд универсальных механизмов и стадий в связи с динамикой воспалительной реакции на имплантированный материал.

Исследователями из университета Кливленда в моделях *in vitro*, максимально адаптированных к особенностям тканевых реакций у человека, было проведено широкое исследование закономерностей реакций на биоматериалы. Установлено, что реакция на них включает следующие закономерные этапы: повреждение, взаимодействие между компонентами крови и биоматериалами, формирование провизорного матрикса, острое воспаление, хроническое воспаление, формирование грануляционной ткани и образование фиброзной капсулы [15].

На ранней стадии происходит взаимодействие компонентов крови и поверхности биоматериала, в результате чего на поверхности имплантатов и вокруг них формируется провизорный матрикс, основу которого составляют элементы тромбов/свертков крови. Преобладающим компонентом первичного матрикса является фибрин. В 1993 году L. Tang и J.W. Eaton [52] при изучении ранней реакции на инородные тела у мышей, лишенных способности к синтезу комплемента и иммуноглобулина G, обнаружили, что у таких животных сохраняется способность тканей формировать воспалительный и моноцитарно-макрофагальный инфильтрат вокруг инородных тел. В то же время у животных с низким уровнем выработки фибриногена отграничительный воспалительный инфильтрат вокруг имплантатов практически не формировался до тех пор, пока фибриноген не был введен извне или имплантированные материалы не были покрыты его слоем. Аналогичным образом имплантаты, покрытые плазмой с пониженным содержанием фибриногена вызывали крайне слабую клеточную реакцию. Покрытие имплантатов альбумином конкурентно снижало адгезию фибриногена на их поверхности. В последующем идентифицирован пептидный регион (гамма 190-202 регион), ответственный за привлечение макрофагов посредством интреинов. Развивающийся каскад взаимодействия

факторов со свертывающей и противосвертывающей активностью определяет сорбцию и десорбцию белков, описываемую как эффект Вромана [54]. Суть последнего состоит в закономерной конкурентной динамике обмена (адгезии и диссоциации) плазменных белков на поверхности имплантата в зависимости от их концентрации в плазме крови. Начальная последовательность адсорбции следующая: альбумин – иммуноглобулин G – фибриноген и фибронектин – фактор XII и высокомолекулярный кининоген [31, 55]. Присутствие в составе провизорного матрикса митогенов, хемоаттрактантов, цитокинов, факторов роста и других биоактивных соединений определяет его модулирующий эффект на активность клеточных элементов, в том числе моноцитов/макрофагов, и характер последующих отграничительных реакций на биоматериалы.

Вслед за формированием данного матрикса последовательно развиваются острое и хроническое воспаления, степень которых зависит от следующих факторов: 1) степень первичного повреждения тканей при имплантации биоматериалов; 2) особенности тканей органа; 3) выраженность формирования провизорного матрикса. Важными факторами на ранних стадиях острого воспаления, определяющими последующие клеточные реакции, являются интерлейкины (IL-4 и IL-13), а также гистамин, выделяемый из тучных клеток. В фазе острого воспаления вокруг имплантата основными продуцентами IL-4 являются тучные клетки, при хроническом воспалении – Т-хелперы второго типа. Показано, что антагонисты гистаминовых рецепторов как первого, так и второго типа снижают активность реакции моноцитов/макрофагов на имплантаты. Используя три различных вида синтетических полимеров, A. Rodriguez et al. [45] установили, что формирование ГКИТ было сопоставимым у нормальных и Т-лимфоцит-дефицитных мышей. При этом у последних продукция IL-4 отсутствовала, тогда как выработка IL-13 была сходной. В культурах клеток, содержащих моноциты/макрофаги и лимфоциты, установлено повышение продукции IL- $\beta$ , фактора некроза опухолей (TNF- $\alpha$ ), IL-6, IL-8 и MIP-1 $\beta$  в ответ на присутствие биоматериалов, но не выявлено эффекта противовоспалительного цитокина IL-10. Непрямые паракринные механизмы взаимодействия между моноцитами/макрофагами и лимфоцитами в большей степени проявлялись в раннем периоде, тогда как прямые юкстакринные механизмы имели значение в поздние сроки.

Острые воспалительные изменения в большинстве случаев угасают к концу первой недели, сменяясь хроническим воспалением, имеющим более гетерогенный характер в зависимости от

органа, в который имплантирован биоматериал. При реакции на биосовместимые материалы хроническое воспаление длится не более двух недель. Персистенция воспаления больше трех недель обычно свидетельствует об инфицировании имплантата. Последующие изменения при типичном течении реакции на биоматериалы заключаются в формировании грануляционной ткани, гигантоклеточной реакции и развитии фиброзной капсулы. J.M. Anderson, J.F. Jones [7] установили, что белки, абсорбируемые на поверхности имплантатов, в частности, их типы, концентрация, поверхностная конформация, являются критическим фактором, определяющим характер реакций клеток хозяина. Например, в экспериментах на мышях, нокаутных по синтезу плазменного фибронектина, получены неоднозначные результаты изучения тканевых реакций на подкожную имплантацию дисков из полиэтилен-терефталата [32]. У нокаутных мышей толщина фиброзной капсулы парадоксально была в два раза больше, чем у интактных, в три раза больше количество ГКИТ. При этом реакция со стороны мононуклеарных элементов и полиморфноядерных лейкоцитов не отличалась. В составе капсул клеточный фибронектин присутствовал в обеих сериях исследования. При заживлении обычных кожных ран не выявлено специфического значения плазменного фибронектина, что свидетельствует о существенных различиях тканевых реакций на инородные тела и при заживлении обычных ран. При имплантации биоматериалов плазменный фибронектин является скорее модулятором фибропластических процессов, чем прямым индуктором коллагенообразования. Несомненна его роль в развитии гигантоклеточной реакции. M. Shen et al. [51] установили, что адсорбция моноцитов к фибронектиновой поверхности ингибирует формирование ГКИТ.

Эффект десорбции белков определяет время их наличия на поверхности имплантата и также влияет на последующие клеточные реакции. На этапе взаимодействия крови с имплантатами и формирования провизорного матрикса тромбоциты и свертки крови выделяют такие хемоаттрактанты, как трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), тромбоцитарный фактор 4, лейкотриены, IL-1, которые определяют миграцию моноцитов/макрофагов к области раны. В свою очередь, макрофаги первой волны миграции продуцируют цитокины, которые привлекают новые клетки моноцитарно/макрофагального типа. Ключевыми молекулами адгезии моноцитов/макрофагов к субстрату вокруг биоматериалов являются интегрин. Моноциты/макрофаги экспрессируют интегрин с тремя различными типами  $\beta$  цепей:  $\beta 1$ ,

$\beta 2$ ,  $\beta 3$ .  $\beta 1$  интегрин включает  $\alpha 4/\beta 1$  и  $\alpha 5/\beta 1$ , которые связывают фибриноген, и  $\alpha 6/\beta 1$ , связывающий ламинин. Среди  $\beta 2$  интегринов три ( $\alpha L/\beta 2$ ,  $\alpha M/\beta 2$  и  $\alpha D/\beta 2$ ) специфичны для молекул межклеточной адгезии (ICAM), а  $\alpha X/\beta 2$  связывает комплемент C3b и фибриноген. Интегрин  $\alpha V/\beta 3$ , продуцируемый моноцитами/макрофагами, связывается с витронектином и содержащими RGD (Arg-Gly-Asp) трипептидную последовательность компонента межклеточного вещества. Индуцированное IL-4 образование ГКИТ в условиях *in vitro* характеризуется экспрессией  $\alpha M/\beta 2$ ,  $\alpha X/\beta 2$ ,  $\alpha 5/\beta 1$ ,  $\alpha 2/\beta 1$  и  $\alpha 3/\beta 1$ , что указывает на роль взаимодействий фрагментов комплемента C3b, фибрина, фибриногена, фибронектина, фактора X и витронектина в местах имплантации биоматериалов. В процессе IL-4 зависимого формирования ГКИТ определена последовательность активности  $\alpha$ -интегринов, которая, по данным Mc Nally et al., [42] следующая:  $\alpha M\beta 2$ ,  $\alpha X\beta 2$ ,  $\alpha 5\beta 1 > \alpha V\beta 1 > \alpha 3\beta 1$  и  $\alpha 2\beta 1$ . В качестве лигандов ранней адгезии с  $\beta 2$  интегринными идентифицированы комплемент и фибриноген [42].

Механизмы формирования других типов гигантских многоядерных клеток имеют отличия. В туберкулезных гранулах, индуцируемых *in vitro*, установлено, что слияние моноцитов/макрофагов с образованием гигантских клеток определяется провоспалительными цитокинами и реализуется через пути, связанные с Toll-подобными рецепторами 2 типа, ADAM9 и  $\beta 1$  интегрин. Основным интегринным остеокластом является интегрин  $\alpha V\beta 3$ , отсутствующий у макрофагов, но появляющийся и прогрессивно экспрессирующийся у остеокластов под действием одного из основных остеокластогенных цитокинов – представителя суперсемейства фактора некроза опухолей – RANKL. Интегрин  $\alpha V\beta 3$  распознает RGD (Arg-Gly-Asp) трипептидную последовательность в отдельных макромолекулах межклеточного матрикса, таких как остеокальцин, фибронектин, витронектин, фибриноген. Кроме интегрин  $\alpha V\beta 3$  остеокласты экспрессируют рецепторы коллагена и ламинина ( $\alpha 2\beta 1$ ) и другой рецептор витронектина ( $\alpha V\beta 1$ ). Другим индуктором остеокластической трансформации макрофагов является макрофагальный колоние-стимулирующий фактор [14].

При образовании ГКИТ связывание интегрина моноцитов/макрофагов с протеинами, покрывающими поверхность имплантатов, активирует систему внутриклеточных сигналов, модулирующих активность клеток. Одним из главных эффектов является реорганизация цитоскелета с формированием адгезивных структур. Специализированными адгезивными структурами макрофагов являются подсосомы, которые представляют

собой точечные комплексы f-актина на мембране клеточных выростов. Подосома состоит из центральной актиновой части, окруженной кольцевидными комплексами из винкулина,  $\alpha$ -актинина, талина и других белков, содержит белки, регулирующие полимеризацию актина [15, 16, 36]. Активность подосом ассоциирована с экспрессией  $\beta 2$  интегринов и обеспечивает адгезию и слияние макрофагов.

Интегрины являются также значимыми факторами контроля клеточного цикла, клеточной гибели, которая необходима для ремоделирования тканей [20]. Потеря адгезивных связей клеток с поддерживающим их матриксом инициирует особый тип апоптоза, получивший название аноиксис (anoikis) [21, 21, 22]. Данный термин-неологизм произошел от трех греческих морфем:  $\acute{\alpha}\nu$ - "без",  $\omicron\iota\kappa$ - "дом", and  $-\iota\varsigma$  (часть слова  $-\sigma\iota\varsigma$  "свойство, атрибут"), буквально обозначающих «лишенный дома». Впервые данный феномен, относящийся к разновидности апоптоза, был описан и назван S.M. Frisch и H. Francis [21, 22]. Пока клетки прикреплены к поддерживающему субстрату, факторы из семейства киназ фокальной адгезии (ФАК) обеспечивают функционирование сигнальных систем выживания клеток. Одним из факторов потери адгезивных свойств является активация каспазы-3, которая, помимо своей роли в апоптотическом каскаде, ингибирует факторы полимеризации актина, необходимого для формирования адгезивных подосом [21]. Одним из активаторов каспазы-3 являются нейтрофилы [51]. Они ингибируют IL-4 зависимое образование ГКИТ в клеточной культуре [323]. Фактором активации апоптоза макрофагов также является TNF- $\alpha$  [12].

Очевидно, что выживание клеток вокруг имплантатов зависит от свойств поверхности биоматериалов. Материалы, которые не способствуют адгезии, вызывают потерю первичной адгезии моноцитов/макрофагов и их гибель путем апоптоза. С другой стороны, механизмом избегания апоптотической гибели является слияние клеток с образованием ГКИТ. [9]. Таким образом, степень гигантоклеточной реакции на имплантаты в значительной степени отражает адгезивные свойства поверхности биоматериалов. Влияние поверхности биоматериалов на адгезивные свойства клеток и апоптоз является значимым для обеспечения бактерицидной среды. Индукция апоптоза воспалительных клеток и моноцитов/макрофагов, зависящая от поверхности имплантата, может быть фактором персистенции инфекции, что наблюдается, в частности, в сердечных имплантатах [11].

Слияние моноцитов/макрофагов с формированием ГКИТ является многостадийным процессом с вовлечением большого количества регули-

рующих факторов. В моделях IL-4 индуцированного формирования ГКИТ показано, что начальные этапы слияния клеток характеризуются повышением содержания рецепторов маннозы в точках слияния клеток. Ингибиторы данных рецепторов значительно снижают формирование ГКИТ [40]. Помимо рецепторов маннозы в слиянии клеток участвуют и другие факторы, точное число которых и механизмы до настоящего времени полностью не изучены. IL-4 индуцированное слияние клеток зависит от рецепторов интегринов  $\beta 1$ , тогда как интегрины  $\beta 2$ , как уже отмечено, обеспечивают механизмы начальной адгезии моноцитов/макрофагов. В местах слияния клеток повышается активность CD44 и CD47 [23]. Непосредственно в момент слияния макрофагов определяется высокий уровень экспрессии рецепторов CD44. Внутриклеточный домен CD44 (CD44ICD) отщепляется и транслоцируется в ядра клеток, где он способствует активации NF- $\kappa$ B. Коннексин 43 идентифицирован как фактор, играющий роль в функционировании щелевидных межклеточных контактов в процессе формирования ГКИТ при имплантации наночастиц гидроксиапатита [26]. Другим важным фактором адгезии и слияния макрофагов в ГКИТ является E-кадгерин [24, 36]. Индуктором формирования ГКИТ является  $\alpha$ -токоферол (витамин E) вне зависимости от его антиоксидантной активности, а вероятнее, за счет активации диацил-глицерол киназы. Одним из ключевых факторов поддержания адгезии и слияния макрофагов на поверхности биоматериалов является концентрация витронектина в составе их протеинового покрова. Поверхности, способствующие аккумуляции витронектина, способствуют и формированию ГКИТ [42]. Плазменный фибронектин также является модулирующим фактором образования ГКИТ. У нокаутных по плазменному фибронектину мышей наблюдается большая активность формирования ГКИТ в сравнении с контрольными животными [30]. Остеопонтин – белок внеклеточного матрикса, выработка которого повышается в очагах воспаления, является ингибитором формирования ГКИТ [53]. В целом формирование ГКИТ зависит от двух основных факторов: 1) наличие стимулов адгезии и слияния; 2) способствующая поверхность биоматериалов.

В результате формирования вокруг имплантатов слоя из мононуклеарных фагоцитов и ГКИТ между мембранами клеток и поверхностью биоматериалов формируется особая среда, содержащая факторы, продуцируемые окружающими клетками. К их числу относятся факторы деградации материалов, такие как свободные кислородные радикалы, гидролитические ферменты, снижение pH. Поэтому химические свойства им-

плантатов определяют их биодegradацию. В частности, полиэтилен и полипропилен могут подвергаться оксидации поверхности. Резорбируемые полиэстеры (полилактат, полигликоль, поликапролактон) представлены компонентами, которые деградируют до мономеров, утилизируемых в цикле Кребса. Процессы биодegradации могут быть причиной нежелательных эффектов – разрушения и потери имплантатом необходимых медицинских свойств.

Характер реакций соединительной ткани зависит от структуры поверхности имплантатов, ее пористости [56]. Губчатые материалы (гидроксиэтилметакрилат, поливиниловые губки) вызывают формирование фиброзной капсулы и гигантоклеточной реакции. Капсула вокруг имплантатов достаточно васкуляризована, что определяется по наличию обмена глюкозы между тканями вокруг имплантата и кровью. Имплантаты с гладкой поверхностью вызывают менее выраженную гигантоклеточную реакцию. Формирующаяся капсула образована коллагеновыми волокнами, ориентированными вдоль длинной оси имплантатов. Покрытые тефлоном водители сердечного ритма и передние поверхности силиконовых маммарных имплантатов ограничиваются бессосудистой пластинчатой коллагено-волоконистой капсулой, которая относительно непроницаема. Между капсулой и гладкой поверхностью имплантатов образуется пространство, заполненное транссудатом, который практически не обменивается с плазмой. Материалы с тканной структурой, например сосудистые протезы, вызывают формирование сложно устроенной капсулы, внутренняя часть которой характеризуется выраженной гигантоклеточной реакцией, а снаружи образуется плотная волокнистая бессосудистая зона. Способы модификации поверхности имплантатов с целью достижения эффекта маскировки (биомимикрии) ксеноматериала основываются на концепции использования фосфолипидных покрытий как имитаторов биомембран [60], допамин-подобных и других покрытиях, что в настоящее время является одним из перспективных направлений исследований, по сути представляющих методы биоинженерии. В культуре фибробластов показано, что наноструктурирование поверхности полимерных материалов (политетрафторэтилена, полиэтилентерефталата) повышает их биосовместимость, что проявляется более активной адгезией и пролиферацией клеток.

Существенное влияние на характер клеточных реакций оказывают химические свойства поверхностей биоматериалов. Наибольшую активацию клеток вызывают гидрофильные/нейтральные и гидрофильные/анионные поверхности [8, 15], но степень адгезии выше при реакции на гидрофобные материалы.

J.H. Brauker et al. [9] на примере политетрафторэтилена (E-PTFE) установили, что пористость биоматериалов и размер пор определяет выраженность ангиогенеза непосредственно вокруг них. A.A. Sharkawy et al. [46-480] выявили, что оптимальный диаметр пор составляет 60 мкм – существенно больше, чем диаметр пор по данным J.H. Brauker et al. [9]. W.K. Ward et al. [55, 56] установили, что подкожная имплантация пористых материалов с разным размером пор (поливиниловые губки, E-PTFE) ведет к активному ангиогенезу в сравнении с солидными гладкими мембранами. Из большого количества исследований влияния геометрии структуры биоматериалов на тканевую реакцию можно сделать два основных вывода: 1) большинство клеток лучше связываются с пористыми поверхностями, чем с гладкими; 2) количество новообразованных капилляров больше на поверхности преимущественно пористых и тканых материалов в сравнении с гладкими. Однако расценивать это как критерий биосовместимости не следует, в связи с широким пониманием данного термина в зависимости от назначения имплантата. Отрицательная заряженность пористых имплантатов [46] способствует вращению в них кровеносных сосудов.

Характер поверхности имплантатов влияет и на последующие взаимодействия между клетками. Установлены отличия в экспрессии цитокинов при имплантации материалов, ингибирующих адгезию моноцитов, и материалов с поверхностью, способствующей адгезии и слиянию моноцитов/макрофагов [13]. Макрофаги на поверхности биоматериалов, которые не способствуют слиянию клеток, отличаются более высоким уровнем продукции провоспалительных цитокинов, IL-1 $\beta$  и IL-6. Макрофаги на адгезивных поверхностях биоматериалов активизируются по альтернативному пути [28]. Классический путь активации макрофагов формируется после их активации  $\gamma$ -интерфероном и воздействия микробных факторов, таких как липополисахарид. Классически активированные макрофаги, функция которых заключается в киллинге внутриклеточных патогенов, продуцируют провоспалительные цитокины, ингибируют выработку противовоспалительных цитокинов и продуцируют окись азота. Альтернативная стимуляция макрофагов происходит под действием IL-4, IL-13, глюкокортикоидов. Они вырабатывают противовоспалительные цитокины, ингибируют продукцию провоспалительных, повышают экспрессию рецепторов маннозы [23, 51], играют роль при аллергических реакциях, при элиминации паразитов и ремоделировании межклеточного матрикса [34]. В отличие от классически активированных макрофагов, IL-4/IL-13 стимулированные макрофаги характе-

ризируются снижением выработки IL-1, 6, 12, TNF- $\alpha$ , повышением экспрессии IL-10. Фенотипическое переключение макрофагов с классического пути на альтернативный не является полным, однако особый цитокиновый профиль альтернативно активированных макрофагов свидетельствует об уникальности влияний биоматериалов.

Важным, но мало изученным вопросом являются процессы ремоделирования межклеточного матрикса при имплантации биоматериалов. Альтернативно активированные макрофаги отличаются повышенной выработкой фибронектина и поэтому расцениваются как непосредственные участники изменений межклеточного вещества при заживлении ран [23]. Фактором, определяющим адгезию, миграцию, дифференцировку и трансформацию клеток, являются свойства межклеточного матрикса и регулирующие их факторы. К числу последних относятся цинк-зависимые эндопептидазы – металлопротеиназы различного типа. Широким спектром биологического действия обладает металлопротеиназа 9 типа (ММР-9). Она участвует в метаболизме коллагенов I, IV, V, VII, X и XI типов, эластина, фибронектина и ламинина [38]. Кроме этого, ММР-9 может расщеплять или активировать ряд цитокинов. Роль ММР-9 в характере отграничительных реакций соединительной ткани вокруг имплантатов показана как *in vivo*, так и *in vitro* [35]. В экспериментах *in vitro* установлено, что блокирование ММР-9 антителами более чем в 2 раза снижает интенсивность слияния моноцитов/макрофагов, образующиеся ГКИТ отличаются меньшими размерами и втрое меньшим количеством ядер на 7-е сутки эксперимента. Макрофаги, лишённые активности ММР-9 через 24 часа после обработки IL-4, не претерпевали изменений актинового цитоскелета, происходящих в контрольных клетках и характерных для их слияния с формированием ГКИТ. Структуры цитоскелета оставались равномерно распределёнными на периферии клеток. В контрольных клетках происходило формирование ламеллоподий, клетки удлинялись, точечные агрегаты цитоскелетных филамент концентрировались в краевых участках цитоплазмы. В экспериментах *in vivo* при имплантации мышам миллиметровых фильтров и поливиниловых губок иммуногистохимически выявлено повышение уровня экспрессии ММР-9. У генетически модифицированных мышей, лишённых активности ММР-9, соединительнотканная капсула, формирующаяся вокруг имплантатов, характеризовалась низкой степенью организации коллагеновых волокон, но толщина капсулы достоверно не отличалась. Образующиеся у ММР-9-нулевых мышей ГКИТ отличались столбчатой

формой и апикальной ориентацией ядер, количество клеток достоверно снижено, однако количество макрофагов в области реакции на имплантаты не отличалось, что свидетельствует о значении ММР-9 в слиянии макрофагов, но не в регуляции воспалительного ответа. Обнаружено также менее активное формирование кровеносных сосудов в области расположения имплантатов у ММР-9-нулевых мышей. Выработка ММР-9 в большей степени возрастает на поверхностях, которые ингибируют адгезию клеток [31]. Макрофаги являются источником трансформирующего фактора роста (TGF). R. Hernandez-Pando et al. [28] на модели с инъекцией частиц нитроцеллюлозы выявили длительную секрецию TGF макрофагами и связь ее с прогрессирующим развитием фиброзной ткани. W.K. Ward et al. [55] при имплантации сенсоров глюкозы, покрытых полиуретаном, выявили длительную высокую экспрессию РНК TGF1 и белка в ГКИТ, с наибольшим уровнем на 7-е сутки эксперимента. При этом выявлено нарастающее количество коллагена I типа вокруг имплантатов. Высокий уровень продукции TGF1 и 2 выявлен в ГКИТ вокруг маммарных имплантатов, но не в интактной ткани молочной железы [33].

Активность лимфоцитов на поверхности имплантатов в большей степени определяется их взаимодействиями с макрофагами, в том числе стимуляцией слияния, чем свойствами самого имплантата [13]. В свою очередь, макрофаги являются стимуляторами пролиферации лимфоцитов.

Таким образом, формирование ГКИТ имеет целый ряд общих закономерностей, несмотря на гетерогенность условий, создаваемых особенностями имплантатов, а клетки отличаются от индуцируемых инфекционными процессами. В инициации формирования ГКИТ установлена ведущая роль IL-4. Выживание моноцитов/макрофагов и динамика их трансформации в ГКИТ на ранних стадиях определяются как физико-химическими свойствами поверхности имплантата, так и связанными с ними процессами адсорбции белков и формирования первичного матрикса. Между поверхностью имплантата и клеточным инфильтратом, включающим в себя ГКИТ, создается особая среда, динамика межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий в которой определяют как последующие процессы инкапсуляции имплантата, так и возможные изменения его структуры. Процессы ремоделирования соединительнотканного окружения имплантатов, их молекулярные и биохимические механизмы являются одним из малоизученных и перспективных направлений. Вторым большим направлением является разработка способов про-

граммируемой модификации физико-химических свойств поверхности имплантатов с учетом желаемого медицинского эффекта. К числу таких способов, фактически представляющих собой методы биоинженерии, относится создание имплантатов с наноструктурированными поверхностями с заданными свойствами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Майбородин И.В., Шевела А.И., Баранник М.И., Кузнецова И.В., Майбородина В.И. Некоторые морфологические аспекты имплантации силиконовых материалов в клинике // *Новости хирургии*. – 2013. – 21(3). – С. 16-22.
2. Майбородин И.В., Шевела А.И., Кузнецова И.В., Баранник М.И., Майбородина В.И. Тканевые реакции на силиконовые материалы в организме // *Архив патологии*. – 2013. – № 4. – С. 28-33.
3. Ремеева Е.А., Розанова И.Б., Елинсон В.М., Севастьянов В.И. Влияние способа формирования углеродного покрытия на физико-химические и биологические свойства полиэтилентерефталата // *Перспективные материалы*. – 2006. – № 2. – С. 56-62.
4. Струков А.И., Кауфман О.Я. Гранулематозное воспаление и гранулематозные болезни // *АМН СССР*. – М.: Медицина, 1989. – 189 с.
5. Трубин В.В., Лиштван С.П., Мансуров С.П. Реакция мягких тканей на введение имплантатов из различных металлов // *Вестник РУДН, серия Медицина*. – 2009. – № 4. – С. 112-114.
6. Amy K. Mc Nally A. K., Anderson J.M. Foreign Body-Type Multinucleated Giant Cell Formation Is Potently Induced by  $\alpha$ -Tocopherol and Prevented by the Diacylglycerol Kinase Inhibitor R59022 // *American Journal of Pathology*. – Vol. 163, № 3. – P. 1147-1156.
7. Anderson J.M., Jones J.F. Phenotypic Dichotomies in the Foreign Body Reaction // *Biomaterials* – 2007. – Vol. 28, N 34. – P. 5114-5120.
8. Anderson J.M., Rodriguez A., Chang D. Foreign body reaction to biomaterials // *Semin Immunol*. – 2008. – Vol. 20, N 2. – P. 86-100.
9. Brauker J.H., Carr-Brendel V.E., Martinson L.A., Crudele J., Johnston W.D., Johnson R.C. Neovascularization of synthetic membranes directed by membrane microarchitecture // *J Biomed. Mater. Res*. – 1995. – Vol. 29, N 12. – P. 1517-1524.
10. Brodbeck W.G., Shive M.S., Colton E., Nakayama Y., Matsuda T., Anderson J.M. Influence of biomaterial surface chemistry on the apoptosis of adherent cells // *J Biomed. Mater. Res*. – 2001. – Vol. 55, N 4. – P. 661-668.
11. Brodbeck W.G., Nakayama Y., Matsuda T., Colton E., Ziats N.P., Anderson J.M. Biomaterial surface chemistry dictates adherent monocyte/macrophage cytokine expression in vitro // *Cytokine*. – 2002. – Vol. 18, N 6. – P. 311-319.
12. Brodbeck W.G., Patel J., Voskerjian G., Christenson E., Shive M.S., Nakayama Y., Matsuda T., Ziats N.P., Anderson J.M. Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates in vivo // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 2002. – Vol. 99, N 16. – P. 10287-10292.
13. Brodbeck W.G., Shive M.S., Colton E., Ziats N.P., Anderson J.M. Interleukin-4 inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced and spontaneous apoptosis of biomaterial-adherent macrophages // *J Lab. Clin. Med*. – 2002. – Vol. 139, N 2. – P. 90-100.
14. Brodbeck W.G., Macewan M., Colton E., Meyerson H., Anderson J.M. Lymphocytes and the foreign body response: lymphocyte enhancement of macrophage adhesion and fusion // *J Biomed. Mater. Res*. – 2005. – Vol. 74, N 2. – P. 222-229.
15. Brodbeck W.G., Anderson J.M. Giant cell formation and function // *Curr. Opin. Hematol*. – 2009. – Vol. 16, N 1. – P. 53-57.
16. Buccione R., Orth J.D., Mc Niven M.A. Foot and mouth: podosomes, invadopodia and circular dorsal ruffles // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol*. – 2004. – Vol. 5, N 8. – P. 647-657.
17. Calle Y., Burns S., Thrasher A.J., Jones G.E. The leukocyte podosome // *Eur. J Cell Biol*. – 2006. – Vol. 85, N 3-4. – P. 151-157.
18. Chang D.T., Colton E., Anderson J.M. Paracrine and juxtacrine lymphocyte enhancement of adherent macrophage and foreign body giant cell activation // *J Biomed. Mater. Res*. – 2008. – Vol. 89, N 2. – P. 490-498. – doi: 10.1002/jbm.a.31981.
19. Cui W., Ke J.Z., Zhang Q., Ke H.Z., Chalouni C., Vignery A. The intracellular domain of CD44 promotes the fusion of macrophages // *Blood*. – 2006. – Vol. 107, N 2. – P. 796-805.
20. Damsky C.H., Ilic D. Integrin signaling: it's where the action is // *Curr. Opin. Cell Biol*. – 2002. – Vol. 14, N 5. – P. 594-602.
21. Frisch S.M., Francis H. Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis // *J of Cell Biology*. – 1994. – Vol. 124, N 4. – P. 619-626.
22. Frisch S.M., Sreanion R.A. Anoikis mechanisms // *Curr. Opin. Cell Biol*. – 2001. – Vol. 13, N 5. – P. 555-562.
23. Gordon S. Alternative activation of macrophages // *Nat. Rev. Immunol*. – 2003. – Vol. 3, N 1. – P. 23-35.
24. Gratchev A., Guillot P., Hakiy N., Politz O., Orfanos C.E., Schledzewski K., Goerdts S. Alternatively activated macrophages differentially express fibronectin and its splice variants and the extracellular matrix protein betaIG-H3 // *Scand. J. Immunol*. – 2001. – Vol 53, N 4. – P. 386-392.
25. Han X., Sterling H., Chen Y., Saginario C., Brown E.J., Frazier W.A., Lindberg F.P., Vignery A. CD47, a ligand for the macrophage fusion receptor, participates in macrophage multinucleation // *J Biol. Chem*. – 2000. – Vol. 275, N 48. – P. 37984-37992.
26. Helming L., Gordon S. Macrophage fusion induced by IL-4 alternative activation is a multistage process involving multiple target molecules // *Eur. J Immunol*. – 2007. – Vol. 37, N 1. – P. 33-42.
27. Herde K., Hartmann S., Brehm R., Kilian O., Heiss C., Hild A., Alt V., Bergmann M., Schnettler R., Wenisch S. Connexin 43 expression of foreign body giant cells after implantation of nanoparticulate hydroxyapatite // *Biomaterials*. – 2007. – Vol. 28, N 33.

- P. 4912-4929. – doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.07.027
28. *Hernandez-Pando R., Bornstein Q.L., Aguilar Leon D., Orozco E.H., Madrigal V.K., Martinez Cordero E.* Inflammatory cytokine production by immunological and foreign body multinucleated giant cells // *Immunology*. – 2000. – Vol. 100, N 3. – P. 352-358.
  29. *Horbett T.* The role of adsorbed proteins in tissue response to biomaterials. // *Biomaterials Science: An Introduction to Biomaterials in Medicine.* / Ratner B. et al., editors. – San Diego, CA: Elsevier Academic Press, 2004. – P. 237-246.
  30. *Jones J.A., Chang D.T., Meyerson H., Colton E., Kwon I.K., Matsuda T., Anderson J.M.* Proteomic analysis and quantification of cytokines and chemokines from biomaterial surface-adherent macrophages and foreign body giant cells // *J Biomed Mater Res A*. – 2007. – Vol. 83, N 3. – P. 585-596. – doi: 10.1002/jbm.a.31221
  31. *Jones J.A., McNally A.K., Chang D.T., Qin L.A., Meyerson H., Colton E., Kwon I.L., Matsuda T., Anderson J.M.* Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the foreign body reaction on biomaterials // *J Biomed Mater Res A*. – 2008. – Vol. 84, N 1. – P. 158-166. – doi: 10.1002/jbm.a.31220
  32. *Keselowsky B.G., Bridges A.W., Burns K.L., Tate C.C., Babensee J.E., LaPlaca M.C., Garcia A.J.* Role of plasma fibronectin in the foreign body response to biomaterials // *Biomaterials*. – 2007. – Vol. 28, N 25. – P. 3626-3631. – doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.04.035
  33. *Kirk J.T., McNally A.K., Anderson J.M.* Polymorphonuclear Leukocyte Inhibition of Monocytes/Macrophages in the Foreign Body Reaction // *J Biomed Mater Res A*. – 2010. – Vol. 94, N 3. – P. 683-687. – doi: 10.1002/jbm.a.32682.
  34. *Kuhn A., Singh S., Smith P.D., Ko F., Falcone R., Lyle W.G., Maggi S.P., Wells K.E., Robson M.C.* Periprosthetic breast capsules contain the fibrogenic cytokines TGF-beta1 and TGF-beta2, suggesting possible new treatment approaches // *Ann. Plast. Surg.* – 2000. – Vol. 44, N 4. – P. 387-391.
  35. *MacLauchlan S., Skokos E.A., Mezmarich N., Zhu D.H., Raoof S., Shipley J.M., Senior R.M., Bornstein P., Kyriakides T.R.* Macrophage fusion, giant cell formation, and the foreign body response require matrix metalloproteinase 9 // *J of Leukoc. Biol.* – 2009. – Vol. 85, N 4. – P. 617-626. – doi: 10.1189/jlb.1008588. – doi: 10.1189/jlb.1008588.
  36. *Mantovani A., Sica A., Sozzani S., Allavena P., Vecchi A., Locati M.* The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization // *Trends Immunol.* – 2004. – Vol. 25, N 12. – P. 677-686. – doi: 10.1016/j.it.2004.09.015
  37. *Marx J.* Cell biology. Podosomes and invadopodia help mobile cells step lively // *Science*. – 2006. – Vol. 312, N 5782. – P. 1868-1869. – doi: 10.1126/science.312.5782.1868.
  38. *Moreno J.L., Mikhailenko I., Tondravi M.M., Keegan A.D.* IL-4 promotes the formation of multinucleated giant cells from macrophage precursors by a STAT6-dependent, homotypic mechanism: contribution of E-cadherin // *J Leukoc. Biol.* – 2007. – Vol. 82, N 6. – P. 1542-1553. – doi: 10.1189/jlb.0107058.
  39. *Mott J.D., Werb X.* Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 16, N 5. – P. 558-564. – doi: 10.1016/j.ceb.2004.07.010
  40. *McNally A.K., DeFife K.M., Anderson J.M.* Interleukin-4-induced macrophage fusion is prevented by inhibitors of mannose receptor activity // *Am. J Pathol.* – 1996. – Vol. 149, N 3. – P. 975-985.
  41. *McNally A.K., Anderson J.V.* Foreign body-type multinucleated giant cells induced by interleukin-4 express select lymphocyte co-stimulatory molecules and are phenotypically distinct from osteoclasts and dendritic cells // *Exp. Mol. Pathol.* – 2011. – Vol. 91, N 3. – P. 673-681. – doi: 10.1016/j.yexmp.2011.06.012.
  42. *McNally A.K., Jones J.A., Mac Ewan S.R., Colton E., Anderson J.M.* Vitronectin as a critical protein adhesion substrate for IL-4-induced foreign body giant cell formation // *J Biomed. Mater. Res.* – 2007. – Vol. 86, N 2. – P. 535-543. – doi: 10.1002/jbm.a.31658.
  43. *Reddig P.J., Juliano R.L.* Clinging to life: cell to matrix adhesion and cell survival // *Cancer Metastasis Rev.* – 2005. – Vol. 24, N 3. – P. 425-439. – doi: 10.1007/s10555-005-5134-3
  44. *Rodriguez A., Macewan S.R., Meyerson H., Kirk J.T., Anderson J.M.* The foreign body reaction in T-cell-deficient mice // *J Biomed. Mater. Res.* – 2009. – Vol. 90, N 1. – P. 106-113. – doi: 10.1002/jbm.a.32050.
  45. *Sanders J.E., Lamont S.E., Karchin A., Gollledge S.L., Ratner B.D.* Fibro-porous meshes made from polyurethane micro-fibers: effects of surface charge on tissue response // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26, N 7. – P. 813-818. – doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.03.030.
  46. *Sharkawy A.A., Klitzman B., Truskey G.A., Reichert W.M.* Engineering the tissue which encapsulates subcutaneous implants. I. Diffusion properties // *J Biomed. Mater. Res.* – 1997. – Vol. 37, N 3. – P. 401-412.
  47. *Sharkawy A.A., Klitzman B., Truskey G.A., Reichert W.M.* Engineering the tissue which encapsulates subcutaneous implants. II. Plasma-tissue exchange properties // *J Biomed. Mater. Res.* – 1998. – Vol. 40, N 4. – P. 586-597.
  48. *Sharkawy A.A., Klitzman B., Truskey G.A., Reichert W.M.* Engineering the tissue which encapsulates subcutaneous implants. III. Effective tissue response times // *J Biomed. Mater. Res.* – 1998. – Vol. 40, N 4. – P. 598-605.
  49. *Shen M., Garcia I., Maier R.V., Horbett T.A.* The effects of adsorbed proteins and surface chemistry on foreign body giant cell formation, TNF $\alpha$  release, and procoagulant activity of monocytes // *J Biomed. Mater. Res.* – 2004. – Vol. 70, N 4. – P. 533-541. – doi: 10.1002/jbm.a.30069.
  50. *Shive M.S., Brodbeck W.G., Anderson J.M.* Activation of caspase 3 during shear stress-induced neutrophil apoptosis on biomaterials // *J Biomed. Mater. Res.* – 2002. – Vol. 62, N 2. – P. 163-168. – doi: 10.1002/jbm.10225

51. *Stein M., Keshav S., Harris N., Gordon S.* Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation // *J Exp. Med.* – 1992. – Vol. 176, N 1. – P. 287-292.
52. *Tang L., Eaton J.W.* Fibrin(ogen) mediates acute inflammatory responses to biomaterials // *J Exp. Med.* – 1993. – Vol. 178, N 6. – P. 2147-2156.
53. *Tsai A.T., Rice J., Scatena M., Liaw L., Ratner B.D., Giachelli C.M.* The role of osteopontin in foreign body giant cell formation // *Biomaterials.* – 2005. – Vol. 26, N 29. – P. 5835-5843. – doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.03.003.
54. *Vroman L.* The life of an artificial device in contact with blood: initial events and their effect on its final state // *Bull N Y Acad Med.* – 1988. – Vol. 64, N 4. – P. 352-357.
55. *Ward W.K., Slobodzian E.P., Tiekotter K.L., Wood M.D.* The effect of microgeometry, implant thickness and polyurethane chemistry on the foreign body response to subcutaneous implants // *Biomaterials.* – 2002. – Vol. 23, N 21. – P. 4185-4192.
56. *Ward W.K.* A Review of the Foreign-body Response to Subcutaneously-implanted Devices: The Role of Macrophages and Cytokines in Biofouling and Fibrosis // *J Diabetes Sci Technol.* – 2008. – Vol. 2, N 5. – P. 768-777. – doi: 10.1177/193229680800200504.
57. *Woodward S.C.* How fibroblasts and giant cells encapsulate implants: considerations in design of glucose sensors // *Diabetes care.* – 1982. – Vol. 5, N 3. – P. 278-281.
58. *Xu L.C., Siedlecki C.A.* Effects of surface wettability and contact time on protein adhesion to biomaterial surfaces // *Biomaterials.* – 2007. – Vol. 28, N 22. – P. 3273-3283. – doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.03.032.
59. *Yung L.Y., Cooper S.L.* Neutrophil adhesion on phosphorylcholine-containing polyurethanes // *Biomaterials.* – 1998. – Vol. 19, N 1-3. – P. 31-40.