

Внесок макрофагів у патогенез хронічного пародонтиту у людини та перспективи дослідження. Огляд літератури

В. І. Шинкевич*, І. П. Кайдашев

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Роль макрофагів при хронічному пародонтиті (ХП) невіддільна, але недостатньо з'ясована.

Мета роботи – тематичний аналіз фахової літератури щодо внеску M1/M2 макрофагів у патогенез хронічного пародонтиту, а також методик досліджень макрофагів для визначення напрямку, підходів наступних досліджень.

Проаналізували наукові статті за темою, що дібрані в пошукових системах Академія Google, РМС, PubMed, та власні дослідження. M1 макрофаги можуть робити внесок на початку загострення ХП у посилення загального запалення, руйнування періодонта, а також зумовлювати пригнічення остеокластогенезу. M2 макрофаги можуть розвивати толерантність (під впливом ЛПС пародонтопатогенних мікроорганізмів) і посилювати власний прозапальний потенціал. Експериментальне виснаження всіх макрофагів (з використанням ліпосом клондронату) може запобігти резорбції кісткової тканини пародонта. Впливи на M1/M2 при ХП для лікування мало досліджені.

Поляризація макрофагів регулюється широким спектром розпізнавальних рецепторів, цитокінів, специфічних сигнальних шляхів і генетичних програм, ряд з них використовують як маркери певного фенотипу макрофагів. Унікальні молекули для M1/M2 відсутні. Фенотипові маркери M1/M1 частково збігаються, тому в дослідженнях визначають їх комбінацію або набір/комбінацію експресованих генів. Наведено перелік маркерів, які використовували в різних дослідженнях для ідентифікації M1 і M2.

Висновки. Більшість відомостей щодо ролі M1/M2 при ХП отримані *in vitro* на макрофагах моноцитарного походження та на моделях у тварин. Макрофаги та їхні субпопуляції M1 і M2 відіграють важливу роль у патогенезі ХП у людини. Фенотипи макрофагів, які переважають, залишається невизначеними, як і наслідки впливів на них. Методи імуногістохімії є незамінними на цьому етапі досліджень у людини, враховуючи доступність біопсійного матеріалу.

Ключові слова:

хронічний пародонтит, макрофаги.

Запорізький медичний журнал.

– 2019. – Т. 21, № 1(112). – С. 137–143

DOI:

10.14739/2310-1210.2019.1.155863

*E-mail:

shinkevichvictoria@gmail.com

Вклад субпопуляцій макрофагів в патогенез хронического пародонтита у человека и перспективы исследования. Обзор литературы

В. И. Шинкевич, И. П. Кайдашев

Роль макрофагов при хроническом пародонтите (ХП) неотъемлема, но недостаточно выяснена.

Цель работы – тематический анализ научной литературы, посвященной вкладу M1/M2 макрофагов в патогенез хронического пародонтита, а также методик исследований этих клеток для определения направления и подходов дальнейших исследований.

Проанализированы научные статьи по теме поисковых систем Академия Google, РМС, PubMed и результаты собственных исследований. M1 макрофаги могут приносить вклад в начале обострения ХП в усиление общего воспаления и в разрушение периодонта, а также способствовать подавлению остеокластогенеза. M2 макрофаги способны развивать толерантность (под влиянием ЛПС пародонтопатогенных микроорганизмов) и усиливать свой провоспалительный потенциал. Экспериментальное истощение всех макрофагов (с использованием липосом клондроната) может предотвращать резорбцию костной ткани пародонта. Воздействие на M1/M2 при ХП для лечения мало исследованы.

Поляризация макрофагов регулируется широким спектром распознающих рецепторов, цитокинов, специфических сигнальных путей и генетических программ, ряд из которых используют как маркеры определенного фенотипа макрофагов. Уникальные молекулы для M1 и M2 отсутствуют. Фенотипические маркеры M1/M2 частично совпадают, поэтому в исследованиях определяют их сочетание или набор/комбинацию экспрессированных генов. Перечислены маркеры, которые использовали в различных исследованиях для идентификации M1 и M2.

Выводы. Большинство сведений о роли M1/M2 при ХП получены *in vitro* на макрофагах моноцитарного происхождения и на моделях у животных. Макрофаги и их субпопуляции M1 и M2 имеют важную роль в патогенезе ХП у человека. Преобладающие фенотипы макрофагов остаются неуловимыми, как и последствия воздействий на них. Методы иммуногистохимии незаменимы на данном этапе исследований у человека, учитывая доступность биопсийного материала.

Ключевые слова:

хронический пародонтит, макрофаги.

Запорожский медицинский журнал.

– 2019. – Т. 21, № 1(112). – С. 137–143

Contribution of macrophage subpopulations to the pathogenesis of chronic periodontitis in humans and perspectives for study. Review of the literature

V. I. Shynkevych, I. P. Kaidashev

The role of macrophages in chronic periodontitis (CP) is essential, but not well understood.

The purpose was a thematic analysis of the literature on contribution of M1/M2 macrophage subpopulations to the pathogenesis of chronic periodontitis, and methodology for macrophages study in order to define directions and approaches for further investigations.

Key words:

chronic periodontitis, macrophages.

Zaporozhye medical journal

2019; 21 (1), 137–143

Our own research findings as well as papers for the topic by searching the electronic databases (Google Scholar, PMC, PubMed) were analyzed.

M1 macrophages can contribute to CP exacerbation, systemic inflammation enhancement, destruction of periodontal ligament, and inhibition of osteoclastogenesis. M2 macrophages are able both to develop tolerance influenced by LPS of periodontopathogens, and to enhance proinflammatory abilities. Experimental depletion of macrophages using clodronate liposomes can prevent the bone resorption. Influences on M1/M2 in CP with the purpose of treatment are not adequately investigated.

Polarization of macrophages is regulated by a wide spectrum of recognizing receptors, cytokines, specific signaling pathways and genetic programs, some of which are used as phenotype markers of certain macrophages. The unique molecules for M1/M2 are absent. Phenotypic markers of M1 and M2 show overlap, so markers combinations are used depending on a purpose and type of macrophages or profile/combination of expressed genes. The article lists markers used in various studies for M1/M2 identification.

Conclusions. Most of the data on the role of M1/M2 in CP was obtained using monocyte-derived macrophages *in vitro* and in animal models. This paper highlights the important role of M1 and M2 subpopulations of macrophages in the pathogenesis of CP in humans. The identification of predominant macrophage phenotypes remains elusive, as well as consequences of influences on them. Immunohistochemical methods are indispensable for human studies at the present stage due to availability of biopsy.

A prospect for further scientific research is to study the role of M1 and M2 macrophages in CP pathogenesis in humans.

Хронічний пародонтит (згідно з МКХ-10, хронічний періодонтит) (ХП) уже понад 10 років вважають імунопосередкованим захворюванням [1]. Дослідження імунопатогенезу ХП забезпечили низку фундаментальних змін у розумінні цієї хвороби. Нині визнано, що імунна та запальна відповіді на пародонтопатогенну та коменсальну мікрофлору під'ясенної біоплівки проявляється симптомами запальних хвороб пародонта [2].

Незважаючи на те, що ХП досліджується давно, бракує точних даних про роль макрофагів (Мф) у цьому захворюванні. Ранні морфологічні дослідження виявили збільшення кількості Мф у запальному інфільтраті в ділянках, уражених ХП [3]. За допомогою імуногістохімічної техніки з'ясували, що при ХП Мф/моноцити є основними клітинами, котрі зумовлюють руйнування тканин: збільшення числа Мф/моноцитів (5–30 % клітин інфільтрату уражених тканин) корелювало з посиленням руйнуванням колагену, підвищенням MMP і RANKL; Мф ідентифіковані як основне локальне джерело ІЛ-1; Мф/моноцити здатні диференціюватися в остеокласти у відповідь на TNF- α за наявності RANKL [4].

Інший ранній напрям досліджень продемонстрував відмінності розміщення Мф із певними функціональними ознаками при ХП [3]. У тканинах ясен автори спостерігали відносно менші ознаки активації Мф за експресією HLA-DR, bFGF і тарtrat-резистентної кислоти фосфатази, але на інших Мф, що розміщені вздовж кровоносних судин, виявляли виразну експресію HLA-DR і bFGF. Мф, які експресували кислоту фосфатазу, мали чіткий регіональний розподіл, що не був пов'язаний з вогнищами дегенеративно змінених плазматичних клітин. Очевидно, ці ранні дослідження показують наявність різних за функцією макрофагів в окремих відділах у межах вогнища запалення. Сучасні дослідження підтверджують: M1/M2 макрофаги відрізняються за рівнем експресії MHC-II [5], а також характеризуються різною мікротопографією та спадкоємністю у часі залежно від фази запалення, стадії хвороби, її чинника [6].

Отже, встановлена наявність Мф із різними, майже протилежними функціями – клітинною та репаративною, представниками яких є M1/M2 Мф. Здатність до таких функцій Мф отримує після активації у тканинах у відповідь на сигнали з мікрооточення. Головна відмінність між M1 та M2 полягає у властивості метаболізувати L-аргінін:

макрофаги, які переважно продукують оксид азоту, називаються M1 а ті, що продукують орнітин, – M2 [7].

Впливи та численні сигнали, на які реагують Мф, набуваючи поляризації, M1/M2 та їхня функціональна активність стали важливим напрямом досліджень для встановлення відхилень із боку Мф при хворобах і розладах та їхньої корекції.

Мета роботи

Тематичний аналіз фахової літератури щодо внеску M1/M2 макрофагів у патогенез хронічного пародонтиту, а також методик цих досліджень для визначення напрямку та підходів наступних досліджень.

Проаналізували наукові статті за темою, що дібрані в пошукових системах Академія Google, PMC, PubMed, та результати власних досліджень.

M1/M2 макрофаги та їхні відомі функції. Мф забезпечують полярно протилежні типи відповіді: відновлення-репарація (M2) та клінінг/пригнічення (росту тканин) (M1). M2 метаболізують L-аргінін за допомогою ферменту аргіназа-1 до орнітину та поліамінів; M1 метаболізують L-аргінін за допомогою ферменту індукцибельна оксид азот синтаза (iNOS) до NO і цитруліну. Продукування орнітину M2 сприяє клітинній проліферації та репарації внаслідок синтезу колагену, фіброзу й інших функцій ремодельовання тканини. NO, що його продукують M1, є важливою молекулою-ефектором із бактеріцидною активністю та здатністю пригнічувати проліферацію клітин. Шляхи ферментативного перетворення L-аргініну, ймовірно, є конкуруючими [7].

M1/M2 Мф також широко описані в наукових оглядах як про- та антизапальні клітини відповідно [8]. Крім токсичних молекул-ефекторів (NO та активні форми кисню) M1 ефективно продукують і запальні цитокіни (ІЛ-1 β , ФНП, ІЛ-6), які діють як індуктори Th1 відповіді та опосередковують стійкість проти внутрішньоклітинних паразитів і пухлин. M2 поляризують відповідь як Th2 при алергії, кліренсі від паразитів, пригніченні запалення, ремодельованні тканин, ангіогенезі, імунорегуляції та сприяють розвитку пухлин [9]. Важливо, що залежно від контексту обидва субсети Мф можуть бути і про-, та антизапальними [5]. Прозапальний потенціал обох типів Мф підкреслюється тим, що саме M1/M2 стимулюють Th1/Th2 типи відповідей [7].

Поляризація на M1/M2 та реалізація функцій Mф розгортається у тканинах, де вони характеризуються ще більшою різноманітністю. Циркуючі моноцити, що утворилися в кістковому мозку, розглядали раніше як попередники більшості резидентних тканинних Mф. Але є тканинні резидентні Mф не моноцитарного походження. Резидентні макрофаги є гетерогенними й водночас універсальними клітинами, що знаходяться майже в усіх тканинах, де становлять до 10–15 % від загальної кількості у стані спокою. Спеціалізація макрофагів до мікросередовища пояснює їхню гетерогенність, наприклад, гістіоцити сполучної тканини, клітини Лангерганса (КЛ) шкіри і слизових, остеокласти кісткової тканини тощо. Тканинні різновиди Mф мають настільки різні транскрипційні профілі, що їх можна було б вважати унікальними класами Mф, але їхні функції загалом однакові: регулюють розвиток тканини, імунну відповідь на патогени, підтримують гомеостаз тканини (шляхом апоптозу, ремоделювання та відновлення тканин). КЛ шкіри, як показано, мають походження з клітин жовткового мішка та з фетальної печінки плода (час ембріогенезу), є самовідновною популяцією протягом життя людини. КЛ шкіри не поповнюються у фізіологічних умовах завдяки моноцитам. Аналогічно, твердження, що моноцити крові поповнюють популяцію кісткових Mф у нормальних умовах, зараз переглядається. Резидентні макрофаги кишечника мають моноцитарне (кістковомозкове) походження за фізіологічних умов [9]. (Три лінії Mф можуть мати відношення до тканин пародонту, тому згадані.)

Певна поляризація резидентних Mф є в нормі та наближається до M2. У відповідь на запалення відбуваються різка втрата резидентних макрофагів, відома під назвою «реакція зникнення макрофагів», інфільтрація моноцитами, які підлягають переважно M1 поляризації, та наступне посилення проліферації тканинних Mф. Поляризація резидентних та інфільтрувальних Mф при хронічних захворюваннях надзвичайно складна, особливо в аспекті їхньої долі надалі [9].

Класифікація M1/M2 – це показ крайніх фенотипів, але наявний спектр цих клітинних популяцій із комбінованими фенотипами і в нормі, і при патології [10]. У дослідженнях розрізняють проміжні та перехідні (з M1 у M2), пухлиноасоційовані макрофаги (ПАМ), M4 [11, 12]. Різні фенотипи створюють ілюзорну гетерогенність Mф, що не доведена *in vivo* [9]. Пояснення в тому, що тканинні Mф і щойно рекрутовані моноцити перебувають в ієрархії активаційних станів у результаті динамічного процесу потрапляння, проліферації, старіння, смерті й еміграції [11]. Хоча програми активації M1 та M2 мають відмінності, вони не можуть утворювати чіткі різновиди, і їхні фенотипи, функції частково збігаються [5]. Незалежно від фенотипів Mф, їхні відомі функції *in vivo*: відбір зразків (унаслідок фагоцитозу в мікрооточенні), репарація, пригнічення та антиген-презентація (Sample; Heal; Inhibit; and Present (antigen)) [9, 13].

Широко досліджується роль M1/M2 Mф у патогенезі таких захворювань, як ревматоїдний артрит, синдром подразненого кишечника, хвороба Крона, атеросклероз, астма, фіброз, онкологічні хвороби. Для цих клітин часто описують подвійний, захисний і патогенетичний ефекти [8]. Дослідження Mф при захворюваннях показали труд-

нощі в зіставленні фенотипів і генетичної експресії M1/M2 з їхньою функцією [9].

Відомості про можливість перепрограмування та управління фенотипами і функціями макрофагів спричинили тисячі досліджень для пошуку інструментів впливу на ці клітини для відновлення гомеостазу та лікування хвороб.

Роль макрофагів в імунпатогенезі хронічного пародонтиту. Накопичені результати досліджень про M1/M2 макрофаги при ХП, що отримані на експериментальних моделях у тварин і на культурах клітин людини, і це загалом невеликий обсяг інформації.

Наведені у вступі ранні дослідження [2,4] розглядають Mф при ХП як одноманітні клітини. Запальні Mф моноцитарного походження можуть відрізнятися від резидентних Mф у багатьох тканинах, але нині відсутні дані, які б точно вказували на поляризацію резидентних окремо від рекрутованих Mф [9]. Тому досліджують переважно співвідношення M1/M2.

Загострення ХП пов'язане зі збільшенням кількості Mф (поряд із товстими та плазматичними клітинами) у складі запального інфільтрату ясен [2]. Це дає змогу припускати, що початкові етапи загострення при гінгівіті та ХП пов'язані з M1 макрофагами.

In vitro виявлено, що обидва фенотипи Mф: і M1, і M2, премійовані ліпополісахаридом (ЛПС) (походження від *P. gingivalis*), оброблені холестеролом, здатні помітно посилювати секрецію ІЛ-1 β [14]. Це може показати один із механізмів посилення запалення при атеросклерозі.

Відомо, що хронічна стимуляція PAMP (pathogen associated molecular pattern), представником яких є ЛПС, індукує толерантність, за індукцію якої відповідають M2 Mф. В експерименті *in vitro* вплив *P. gingivalis*-ЛПС та ІЛ-10 на M2 скасовував у них експресію ФНП- α , на відміну від M1. Автори припускають, що селективна толерантність, опосередкована M2, і стимуляція прозапальних M1 одночасно одним і тим самим ЛПС спричиняє розвиток імунпатології при ХП [15].

Враховуючи, що Mф мають широкий спектр патерн-розпізнавальних рецепторів, особливості сигнальної трансдукції від цих рецепторів завдяки їхнім поліморфізмам здатні забезпечувати індивідуальну схильність до ХП [16].

M1/M2 індукують, відповідно, Th1/Th2 адаптивну відповідь [7]; можливо, співвідношення Th клітин при ХП, що досліджені краще, дадуть змогу з'ясувати внесок Mф у патогенез. Відомо, що зміна локального співвідношення Th1/Th2/Th17/Tрег відбувається залежно від загострення, ремісії ХП і ремоделювання пародонта [2]. Крім того, раніше виявили зосередження активних організованих солокалізованих субпопуляцій лімфоцитів і дендритних клітин (як вид Mф), у locus *morbi* при ХП, що підтверджує їхню взаємодію [1]. Але реалізація Th1/Th2 відповіді, навіть локально, не обмежена тільки локальною індукцією.

На моделі ХП у мишей продемонстровано локальне посилення обох фенотипів Mф, коли перемикання на M1 передбачається механізмом руйнування, зокрема кісткової тканини [17].

In vitro (на культурах мишачих кістковомозкових клітин і RAW264.7 лінії мишачих Mф) виявили неочікуваний ефект стерильної слини зі сприяння поляризації у

прозапальний M1 фенотип (встановлено за експресією генів IL-6 і IL-12) через TLR4 залежний механізм. Слина не впливала на гени аргінази-1 та Ym1, які характерні для M2 фенотипу. Результати дослідження в основному не узгоджені з тим, що слина сприяє загоєнню ран у порожнині рота і що при гіпосалівації рівень запалення посилюється [18]. Це може пояснюватися самим об'єктом дослідження – кістковомозковими Мф. З іншого боку, такі результати можуть показувати необхідність M1 на певному етапі загоєння.

Одне дослідження, що здійснене *in vivo* на біоптатах ясен пацієнтів із гінгівітом і ХП, показало: співвідношення M1/M2 підвищувалося при ХП, позитивно корелювало з глибиною пародонтальних кишень та експресією IL-1 і MMP-9 [19].

Отже, стає зрозуміло, що і M1, і M2 Мф мають роль у патогенезі ХП.

Щодо впливу M1/M2 на RANKL-індукований остеокластогенез, припускається можливість саме M1 пригнічувати його внаслідок розчинних факторів IFN- γ або IL-12. Ці результати отримані в дослідженні *in vitro* (як попередники остеокластів і Мф використали лінію клітин RAW264.7 і культуру кістковомозкових клітин), результати підтверджені адаптивним перенесенням M0/M1/M2 на модель ХП у мишей [20]. Це додає певної неузгодженості з іншими даними, оскільки M1 поляризація при ХП, як вважалося, сприяла остеокластогенезу завдяки продукції ФНП- α (модель ХП у мишей), як і солокалізація Мф і пре-остеокластів. Крім того, виснаження макрофагів із використанням ліпосом клондронату запобігало резорбції кістки (на моделі *P.gingivalis*-індукованого ХП у мишей) [20]. Хоча ці дані не дають чіткої відповіді, які саме Мф сприяють остеокластогенезу. Пояснення також можуть полягати в походженні Мф, їх місцевій ієрархії активаційних станів і частково спільних функціях M1/M2.

Щодо досліджень лікувальних впливів на Мф при ХП, наявний досвід використання аргініну як сапліментатції харчування, що поліпшує стан кісткової тканини при експериментальному ХП у щурів [21]. Аргінін у складі зубних паст розглядають як можливий новий стандарт профілактики, один із механізмів якої – зміна метаболізму зубної біоплівки та залуження середовища [22].

Якщо аргінази викликають дефіцит L-аргініну [7], в результаті чого знижується продукція NO ендотеліальною eNOS (дисфункція ендотелію) та iNOS у макрофагах (функція M2) [5], то гостра сапліментатція, можливо, сприятлива для M1. Це відповідає наведеним вище даним [20,21]. Але аргіназа-II пов'язана з функцією M1, а аргіназа-I – з M2, тобто з Мф із протилежними ефектами. Питань додає так званий «аргініновий парадокс», що пов'язаний із плейотропним ефектом, зокрема аргінази-II [5].

Транспортні ферментні системи аргініну у Мф, імовірно, тісно пов'язані з активацією наступних систем метаболізму цієї амінокислоти. Отже, в науковій літературі постає питання щодо регуляції метаболізму аргініну в M2 кінцевим продуктом орнітином як субстрата для тих самих транспортерів, що переносять до клітини аргінін [7].

Більшість відомостей про роль M1-M2 при ХП отримані *in vitro* й на тваринних моделях, а переважний фенотип Мф у людини залишається невідомим.

Методи дослідження M1-M2 макрофагів. Поляризація макрофагів регулюється широким спектром розпізнавальних рецепторів, цитокінів, специфічних сигнальних шляхів і генетичних програм. Деякі з них використовують як маркери або функціональний репертуар фенотипу макрофагів [8,5].

M1/M2 Мф широко досліджені *in vitro*, оскільки моноцити периферичної крові доволі доступні. Методи дослідження включають прийоми імуноцитохімії, ІФА-аналіз, кількісний ПЛР-аналіз клітинних продуктів цитокінів, хемокінів; протеомний аналіз, ДНК-мікроматричний аналіз, глибоке секвенування (визначення ДНК-последовностей), проточну цитометрію. M1/M2 відрізняють за зовнішнім фенотипом та експресованим генетичним профілем.

Незважаючи на те, що узгоджений між лабораторіями перелік маркерів для *in vitro*-генерованих макрофагів людини ще розробляється [8], M1 охарактеризовані *in vitro* за фенотипом IL-12^{hi}IL-23^{hi}IL-10^{lo}. M2 клітини охарактеризовані *in vitro* за фенотипом IL-12^{lo}IL-23^{lo}IL-10^{hi}ТФР- β ^{hi} і зазвичай мають високий рівень скавенджер-, маннозних і галактозних рецепторів. M2-подібна поляризація відбувається *in vitro* у відповідь на Th2-цитокіни IL-4 або IL-13, сигнал від Fc γ -рецепторів і TLR, імунні комплекси, антизапальні молекули типу IL-10, ТФР- β та глюкокортикоїди, створюючи фенотипи, які різняться. Різноманітність функціональних програм, прийнятих макрофагами у відповідь на ці подразники, названо M2a (стимульовані за допомогою IL-4 і IL-13; альтернативне запалення), M2b (імунні комплекси, Fc γ R/TLR-стимуляція), і M2c (IL-10, ТФР- β , глюкокортикоїди; деактивація) [9].

Прогресивними стратегіями вивчення M1/M2 спектра є технології генетичної модифікації *in vitro*, що призводять до зміни активаційного фенотипу. Ці методи можливі для виділених клітин і незамінні під час вивчення реакцій клітин на препарати [8].

Від початку стан M1 та M2 макрофагів розрізняли переважно шляхом вимірювання цитокінів у культуральному середовищі, рівні яких можуть змінюватися в певні проміжки часу, внутрішньо- і позаклітинно, а співвідношення показують M1/M2 поляризацію клітин-продуцентів і функціональну активність [8].

При проточній цитометрії M1 (генеровані за допомогою стимулів від ЛПС/IFN- γ) ідентифікують як CD64⁺CD80⁺; M2 (IL-4/IL-13) – як CD11b⁺CD209⁺. Поляризовані M1 секретують CXCL10 (IP-10), IFN- γ , IL-8, ФНП- α , IL-1 β і RANTES. M2 секретують IL-13, CCL17 і CCL18 і мають високий рівень ендцитозу [23].

CD80 валідовано як надійний фенотиповий маркер для M1 (IFN- γ) людини. Кількісна зміна експресії CD200R (апрегуляція) та CD14 (специфічна даунрегуляція) відповідає M2 (IL-4). CD163 і CD16 є специфічними маркерами для M2 (IL-10) під час проточної цитометрії і кількісної ПЛР [10].

В інших дослідженнях M1 (ЛПС/IFN- γ) характеризують за поверхневою експресією CD68: CD14⁺CD16⁺CD68⁺; а M2 – як CD163⁺CD206⁺CX3CR1⁺ [24].

Численні дослідження з'ясували: відсутні унікальні молекули для M1 чи M2. Фенотипові маркери M1/M2 частково можуть перекриватися. Тому в дослідженнях використовують комбінацію маркерів або набір/комбінацію експресованих генів. Маркери, що використовували

Таблиця 1. Маркери для ідентифікації M1/M2 фенотипів, які використовували в різних дослідженнях

Маркер	Характеристика, функції	Джерела, переважно огляди літератури
STAT1	Маркер M1. Транскрипційний фактор. Залучений до активації M1 (ЛПС+ІФН- γ), M1(ІФН- γ).	[8,25,26]
STAT6	Маркер M2. ІЛ-4/STAT6-регулятор мікроРНК є ознакою альтернативної активації Мф людини.	[8,25]
IRF5	Фактор транскрипції, що залучений до активації M1.	[8]
IRF4	Фактор транскрипції, що залучений до активації M2 (ІЛ-4).	[8]
CD80	Валідовано як надійний маркер M1(ІФН- γ). Мембранний рецептор, що активується через зв'язування CD28 або CTLA-4. Розчинний CD80 секретують циркулюючі В клітини. Джерела мембранної форми: тубулярні клітини, дендритні клітини, подоцити.	[10]
CD16	Маркер M2(ІЛ-10). CD16 (Fc γ RIII) – низькоафінний рецептор до Fc-фрагмента IgG. Бере участь у видаленні комплексів [антиген-антитіло з кровообігу, в інших антитіло-залежних відповідях. Під час запалення стимулює продукцію прозапальних цитокінів та антигенну презентацію для Т-клітин. Кілька досліджень припускають, що CD16 може бути індикатором запального програмування моноцитів.	[10]
CD14	Допоміжний маркер для M1. Ко-рецептор TLR-4. Специфічно даунрегулюється на M2(ІЛ-4).	[24]
CD11c	Додатковий маркер M1. Вважають маркером дендритних клітин. Маркер субсету прозапальних Мф жирової тканини, т. з. «потрійно позитивних» (експресують також і CD11b, і F4/80 маркери). α -ланцог інтегрину. Експресований на багатьох клітинах моноцитарного походження, в т. ч. на Мф.	[27]
CD11b	Додатковий маркер M2 (ІЛ-4/ІЛ-13). Експресований на всіх клітинах мієлоїдної лінії, у т. ч. на нейтрофілах. Інтегрин CD11b/CD18 (також відомий як Mac-1) – гетеродимер, що складається з α_M (CD11b) і β_2 (CD18) субодиниць, має вирішальне значення для адгезії та міграції лейкоцитів і для імунних функцій.	[23]
CD64	Маркер M1 (ЛПС/ІФН- γ). Fc γ RI.	[23]
CD68	Функціонально важливий для M1 макрофагів. Скавенджер рецептор. Рецептор для окислених ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), після зв'язування з ними може активувати фагоцитоз M1 макрофагів і посилювати продукцію прозапальних цитокінів ними. Маркер ПАМ під час досліджень пухлин. На високому рівні експресується на моноцитах і тканинних макрофагах людини. Використовують для імуногістохімії, зокрема на парафінових зрізах тканин людини.	[24,26]
CD163	Вважають маркером M2. Скавенджер рецептор для гемоглобін/гаптоглобінового комплексу. Експресований на більшості тканинних макрофагів. Використовують для імуногістохімії, в т. ч. на парафінових зрізах тканин людини. Не відрізняє M1/M2 Мф.	[10,24,26]
CD206	Маркер M2. Манозинний рецептор макрофагів. Рецептор ендцитозу з широким специфічністю лігандів мікробного й ендогенного походження. Має роль у клітинному розпізнаванні, сироватковому обігу глікопротеїнів і нейтралізації патогенів. На відміну від інших маркерів Мф (CD11b, CD14, CD68, CD163) не експресується моноцитами.	[5,24,26]
CCL2 (MCP-1)	Маркер прозапальних M1. Хемокин під родини CC проявляє хемотактичну активність щодо моноцитів і базофілів, але не до нейтрофілів або еозинофілів. Зв'язує хемокінові рецептори CCR2 та CCR4. Моноцити/Мф є основним джерелом CCL2.	[28]
CD209	Експресія характерна для M1. Додатковий маркер M2 (ІЛ-4/ІЛ-13). Трансмембранний рецептор, часто згадуваний як DC-SIGN внаслідок його експресії на поверхні ДК і Мф. Залучений до вродженої імунної системи і розпізнає ряд еволюційно різноманітних патогенів від паразитів до вірусів.	[23]
CD200R	Агрегується на M2(ІЛ-4). Рецептор для OX-2 мембранного глікопротеїна. Рестриктований мієлоїдною клітинною лінією. Рецептор-субстрат взаємодія може функціонувати як мієлоїдний даунрегулювальний сигнал.	[10]
S100A8	Конституційно експресований і секретується нейтрофілами і мієлоїдними клітинами. Експресію описували як унікальну для M4. S100A8 імуногенний протеїн, разом з S100A9 формують кальпротектин. Локалізований внутрішньоклітинно в різних клітинах. Може залучатися до пригнічення казеїнкінази і як цитокін. Порушення експресії пов'язане з кістозним фіброзом. Може виступати важливим прозапальним медіатором при хронічних і гострих запальних захворюваннях.	[29]
CD150 (IPO3/SLAM)	Додатковий маркер M2. Експресується на клітинах гематопоетичної лінії: тимоцитах, активованих Т, В лімфоцитах, ДК, Мф та активованих моноцитах. Сигнальна лімфоцитарна активаційна молекула. Член SLAM родини у суперродині імуноглобулінових поверхневих рецепторів.	[30]
STAB1	M2-асоційований ген. Кодує протеїн стабільін 1, який є рецептором типу скавенджер, що опосередковує ендцитоз ЛПНЩ, грампозитивних і грамотригативних бактерій, а також глікозилітованих продуктів метаболізму.	[27]
CD163L1	M2-асоційований ген; кодує CD163-подібну молекулу 1. Член суперродини збагачених цистеїном скавенджер рецепторів (SRCR).	[27]
SEPP1	Додатковий маркер M2. Ген кодує селенопротеїн 1, який залучений до транспорту селену до позапечіткових тканин через аполіпопротеїн Е рецептор-2 (ApoER2).	[27]
IL1RN (IL1Ra)	Додатковий маркер M2. Антагоніст рецептора ІЛ-1. Член сімейства цитокінів ІЛ-1. Пригнічує ефекти ІЛ-1 α , ІЛ-1 β , модулює різні ІЛ-1-пов'язані імунні та запальні відповіді.	[27]
PPBP	M1-пов'язаний маркер. Ген одного з тромбоцитарних факторів, який належить до сімейства хемокінів CXC. Є сильним хемоаттрактантом та активатором нейтрофілів. Стимулює різні клітинні процеси, у т. ч. утворення та секрецію активатора плазміногена. Є також антимікробним протеїном.	[27]
Аргіназа-II	M1-маркер.	[5]
Аргіназа-I	Фермент, асоційований з M2 макрофагами	[5]
EGF	Маркер M2. Епідермальний фактор росту, потужний мітогенний фактор, який відіграє роль у рості, проліферації і диференціюванні різних типів клітин.	[5]
VEGF	Маркер M2. Васкулярний ендотеліальний фактор росту; індукує проліферацію і міграцію судинних ендотеліальних клітин, має значення для фізіологічного та патологічного ангіогенезу.	[5]
TGF- β	Маркер M2, TGF- β .	[5]
ІЛ-10 ^{hi}	Маркер M2.	[9]
ІЛ-23 ^{hi}	Маркер M1.	[9]
ІЛ-12	Експресія гена цього ІЛ посилена у M1. Прозапальний цитокін.	[5]
iNOS	Генетична експресія посилена в M1.	
MHC II	Генетична експресія посилена в M1.	
ІЛ-8	Генетична експресія посилена в M1. Хемокин.	

в різних дослідженнях для ідентифікації M1/M2, наведені в таблиці 1.

Фенотипи тканинних Мф у нормі, а тим більше при патології, дуже різноманітні. Суперечливі результати досліджень у *locus morbi* демонструють фундаментальне значення мікросередовища й безлічі потенційних чинників, що діють на макрофаги в умовах *in vivo* і не можуть бути відтворені *in vitro* [11, 13].

Імуногістохімічна методика дає змогу визначати різноманітні молекули, експресовані на поверхні або внутрішньоклітинно у зразках-біоптатах. Щодо M1-M2 маркерів, то їх вибір значно варіює залежно від мети дослідження, захворювання, специфічності тканини та *locus morbi*. Відомо про використання MCP-1 як маркера M1 макрофагів; CD206 (маннозного рецептора) та CD163 (гемоглобін-гаптоглобінний рецептор) – для ідентифікації субпопуляцій M2, локалізованих в атеросклеротичних бляшках [5, 10, 24, 26].

Щодо інтерпретації фенотипів і генетичної експресії Мф, то ці показники зазвичай визначають особливості фізіології, але є набагато більше маркерів, ніж макрофаг має функцій [13].

Висновки

1. Більшість відомостей про роль M1/M2 при ХП отримані *in vitro* на макрофагах моноцитарного походження та на моделях ХП у тварин.

2. Макрофаги та їхні субпопуляції M1 і M2 відіграють важливу роль у патогенезі ХП, але фенотип, який домінує, не з'ясовано, як і наслідки впливів на макрофаги.

3. Методи імуногістохімії є важливими на цьому етапі досліджень у людини, враховуючи доступність біопсійного матеріалу.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні M1 і M2 макрофагів для з'ясування їхньої ролі в патогенезі ХП.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Шинкевич В. І., канд. мед. наук, доцент каф. післядипломної освіти лікарів-стоматологів, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.

Кайдашев І. П., д-р мед. наук, професор, проректор з наукової роботи, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.

Сведения об авторах:

Шинкевич В. И., канд. мед. наук, доцент каф. последипломного образования врачей-стоматологов, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.

Кайдашев И. П., д-р мед. наук, профессор, проректор по научной работе, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.

Information about authors:

Shynkevych V. I., MD, PhD, Associate Professor, Department of Postgraduate Education for Dentists, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.

Kaidashev I. P., MD PhD, DSc, Professor, Pro-rector for Research, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.

Надійшла до редакції / Received: 16.04.2018

Після доопрацювання / Revised: 25.04.2018

Прийнято до друку / Accepted: 10.05.2018

Список літератури

- [1] Шинкевич В.И. Роль клеточных факторов иммунитета в ремоделировании тканей десны при хроническом генерализованном пародонтите / В.И. Шинкевич, И.П. Кайдашев // Стоматология. – 2012. – Т. 91. – №1. – С. 23–27.
- [2] Host response mechanisms in periodontal diseases / N. Silva, L. Abusleme, D. Bravo, et al. // Journal Of Applied Oral Science. – 2015. – Vol. 23. – Issue 3. – P. 329–355.
- [3] Chapple C. Failure of macrophage activation in destructive periodontal disease / C. Chapple, M. Srivastava, N. Hunter // The Journal Of Pathology. – 1998. – Vol. 186. – Issue 3. – P. 281–286.
- [4] Kayal R. The Role of Osteoimmunology in Periodontal Disease / R. Kayal // BioMed Research International. – 2013. – Vol. 2013. – P. 639368.
- [5] Yang Z. Functions of Arginase Isoforms in Macrophage Inflammatory Responses: Impact on Cardiovascular Diseases and Metabolic Disorders / Z. Yang, X. Ming // Frontiers In Immunology. – 2014. – Vol. 5. – P. 533.
- [6] Harris R. Spatial, Temporal, and Functional Aspects of Macrophages during "The Good, the Bad, and the Ugly" Phases of Inflammation / R. Harris // Frontiers In Immunology. – 2014. – Vol. 5. – P. 612.
- [7] Metabolism via arginase or nitric oxide synthase: two competing arginine pathways in macrophages / M. Rath, I. Müller, P. Kropf, et al. // Front. Immunol. – 2014. – Vol. 5. – P. 532.
- [8] Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines / P.J. Murray, J.E. Allen, S.K. Biswas, et al. // Immunity. – 2014. – Vol. 41. – Issue 1. – P. 14–20.
- [9] Italiani P. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation / P. Italiani, D. Boraschi // Frontiers in Immunology. – 2014. – Vol. 5. – P. 514.
- [10] Systematic validation of specific phenotypic markers for in vitro polarized human macrophages / C.A. Ambarus, S. Krausz, M. van Eijk, et al. // J Immunol Methods. – 2012. – Vol. 375. – Issue 1–2. – P. 196–206.
- [11] Gordon S. Macrophage heterogeneity in tissues: phenotypic diversity and functions / S. Gordon, A. Plüddemann, F.M. Estrada // Immunol Rev. – 2014. – Vol. 262. – Issue 1. – P. 36–55.
- [12] Much More than M1 and M2 Macrophages. There are also CD169⁺ and TCR⁺ Macrophages / L. Chávez-Galán, M.L. Olleros, D. Vesin, I. Garcia // Frontiers in Immunology. – 2015. – Vol. 6. – P. 263.
- [13] Macrophage: SHIP of Immunity / C.D. Mills, A.C. Thomas, L.L. Lenz, M. Munder // Frontiers in Immunology. – 2014. – Vol. 5. – P. 620.
- [14] Differential inflammasome activation by Porphyromonas gingivalis and cholesterol crystals in human macrophages and coronary artery endothelial cells / C. Champaiboon, M. Poolgesorn, W. Wisitrasameewong, et al. // Atherosclerosis. – 2014. – Vol. 235. – Issue 1. – P. 38–44.
- [15] Porphyromonas gingivalis-stimulated macrophage subsets exhibit differential induction and responsiveness to interleukin-10 / A.D. Foey, N. Habil, K. Al-Shaghdaei, S. Crean // Arch Oral Biol. – 2017. – Vol. 73. – P. 282–288.
- [16] Шинкевич В.И. Роль Toll-рецепторів у патогенезі захворювань слизової оболонки порожнини рота / В.И. Шинкевич, И.П. Кайдашев // Проблеми екології та медицини. – 2010. – Т. 14. – №3–4. – С. 12–16.
- [17] Enhanced Activity of the Macrophage M1/M2 Phenotypes and Phenotypic Switch to M1 in Periodontal Infection / T. Yu, L. Zhao, X. Huang, et al. // J Periodontol. – 2016. – Vol. 87. – Issue 9. – P. 1092–1102.
- [18] Saliva initiates the formation of pro-inflammatory macrophages in vitro / S. Pourgonabadi, H.D. Müller, J.R. Mendes, R. Gruber // Arch Oral Biol. – 2017. – Vol. 73. – P. 295–301.
- [19] Enhanced activity of macrophage M1/M2 phenotypes in periodontitis / J. Yang, Y. Zhu, D. Duan, et al. // Archives Of Oral Biology. – 2018. – Vol. 96. – P. 234–242.
- [20] Proinflammatory M1 Macrophages Inhibit RANKL-Induced Osteoclastogenesis / T. Yamaguchi, A. Movila, S. Kataoka, et al. // Infection and Immunity. – 2016. – Vol. 84. – Issue 10. – P. 2802–2812.
- [21] Dietary arginine silicate inositol complex inhibits periodontal tissue loss in rats with ligature-induced periodontitis / S. Dunder, A. Eltas, S. Hakkı, et al. // Drug Design, Development And Therapy. – 2016. – Vol. 10. – P. 3771–3778.
- [22] Combinatorial Effects of Arginine and Fluoride on Oral Bacteria / X. Zheng, X. Cheng, L. Wang, et al. // Journal Of Dental Research. – 2015. – Vol. 94. – Issue 2. – P. 344–353.
- [23] Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages / A.A. Tarique, J. Logan, E. Thomas, et al. // Am J Respir Cell Mol Biol. – 2015. – Vol. 53. – Issue 5. – P. 676–688.
- [24] Phenotypic activation and pharmacological outcomes of spontaneously differentiated human monocyte-derived macrophages / S. Tedesco, C. Bolego, A. Toniolo, et al. // Immunobiology. – 2015. – Vol. 220. – Issue 5. – P. 545–554.

- [25] Wang N. Molecular Mechanisms That Influence the Macrophage M1–M2 Polarization Balance / N. Wang, H. Liang, K. Zen // *Frontiers in Immunology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 614.
- [26] Macrophage polarisation: an immunohistochemical approach for identifying M1 and M2 macrophages / M.H. Barros, F. Hauck, J.H. Dreyer, et al. // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – Issue 11. – P. e80908.
- [27] Chinetti-Gbaguidi G. Macrophage polarization in metabolic disorders: functions and regulation / G. Chinetti-Gbaguidi, B. Staels // *Curr Opin Lipidol*. – 2011. – Vol. 22. – Issue 5. – P. 365–372.
- [28] Adipokines, diabetes and atherosclerosis: an inflammatory association / L. Freitas Lima, V. Braga, M. do Socorro de França Silva, et al. // *Frontiers In Physiology*. – 2015. – Vol. 6. – P. 304.
- [29] CXCL4-induced plaque macrophages can be specifically identified by co-expression of MMP7+S100A8+in vitro and in vivo / C. Erbel, M. Tyka, C. Helmes, et al. // *Innate Immunity*. – 2015. – Vol. 21. – Issue 3. – P. 255–265.
- [30] Expression of CD150 in Tumors of the Central Nervous System: Identification of a Novel Isoform / O. Romanets-Korbut, A. Najakshin, M. Yurchenko, et al. // *PLOS ONE*. – 2015. – Vol. 10. – Issue 2. – P. e0118302.

References

- [1] Shinkevich, V. I., & Kaïdashev, I. P. (2012) Rol' kletochnykh faktorov immuniteta v remodelirovaniï tkanej desny pri khronicheskom generalizovannom parodontite [The role of immune cells factors in the remodeling of gingiva at chronic generalized periodontal disease]. *Stomatologiya*, 91(1), 23–7. [in Russian].
- [2] Silva, N., Abusleme, L., Bravo, D., Dutzan, N., Garcia-Sesnich, J., Vernal, R., et al. (2015). Host response mechanisms in periodontal diseases. *Journal of Applied Oral Science*, 23(3), 329–355. doi: 10.1590/1678-775720140259.
- [3] Chapple, C., Srivastava, M., & Hunter, N. (1998). Failure of macrophage activation in destructive periodontal disease. *The Journal of Pathology*, 186(3), 281–286. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(1998110)186:3<281::AID-PATH200>3.0.CO;2-7.
- [4] Kayal, R. (2013). The Role of Osteoimmunology in Periodontal Disease. *BioMed Research International*, 2013, 639368. doi: 10.1155/2013/639368.
- [5] Yang, Z., & Ming, X. (2014). Functions of Arginine Isoforms in Macrophage Inflammatory Responses: Impact on Cardiovascular Diseases and Metabolic Disorders. *Frontiers in Immunology*, 5, 533. doi: 10.3389/fimmu.2014.00533.
- [6] Harris, R. (2014). Spatial, Temporal, and Functional Aspects of Macrophages during "The Good, the Bad, and the Ugly" Phases of Inflammation. *Frontiers In Immunology*, 5, 612. doi: 10.3389/fimmu.2014.00612.
- [7] Rath, M., Müller, I., Kropf, P., Closs, E. I., & Munder, M. (2014) Metabolism via arginase or nitric oxide synthase: two competing arginine pathways in macrophages *Front. Immunol.*, 5,532. doi: 10.3389/fimmu.2014.00532.
- [8] Murray, P. J., Allen, J. E., Biswas, S. K., Fisher, E. A., Gilroy, D. W., Goerdts, S., et al. (2014). Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*, 41(1), 14–20. doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.008.
- [9] Italiani, P., & Boraschi, D. (2014) From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation. *Frontiers in Immunology*, 5, 514. doi: 10.3389/fimmu.2014.00514.
- [10] Ambarus, C. A., Krausz, S., van Eijk, M., Hamann, J., Radstake, T. R., Reedquist, K. A., Tak, P. P. & Baeten, D. L. (2012) Systematic validation of specific phenotypic markers for in vitro polarized human macrophages. *J Immunol Methods*, 375(1–2), 196–206. doi: 10.1016/j.jim.2011.10.013.
- [11] Gordon, S., Plüddemann, A. & Estrada, F. M. (2014) Macrophage heterogeneity in tissues: phenotypic diversity and functions. *Immunol Rev*, 262(1), 36–55. doi: 10.1111/imr.12223.
- [12] Chávez-Galán, L., Olleros, M. L., Vesin, D., & Garcia, I. (2015) Much More than M1 and M2 Macrophages, There are also CD169⁺ and TCR⁺ Macrophages. *Frontiers in Immunology*, 6, 263. doi: 10.3389/fimmu.2015.00263.
- [13] Mills, C. D., Thomas, A. C., Lenz, L. L., & Munder, M. (2014) Macrophage: SHIP of Immunity. *Frontiers in Immunology*, 5, 620. doi: 10.3389/fimmu.2014.00620.
- [14] Champai boon, C., Poolgesorn, M., Wisitrasameewong, W., Sa-Ard-lam, N., Rerkyen, P., & Mahanonda, R. (2014) Differential inflammasome activation by Porphyromonas gingivalis and cholesterol crystals in human macrophages and coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis*, 235(1), 38–44. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.04.007.
- [15] Foey, A. D., Habil, N., Al-Shaghдали, K., & Crean, S. (2017) Porphyromonas gingivalis-stimulated macrophage subsets exhibit differential induction and responsiveness to interleukin-10. *Arch Oral Biol*, 73, 282–288. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.10.029.
- [16] Shinkevich, V., & Kaidashev, I. (2010) Rol' Toll-retseptoriv u patohenezï zakhvoriuvan slyzovoi obolonky porozhnyy rota [The role of toll-receptors in oral mucosa disease process]. *Problemy ekolohii ta medytsyny*, 14(3–4), 12–16. [in Ukrainian].
- [17] Yu, T., Zhao, L., Huang, X., Ma, C., Wang, Y., Zhang, J., & Xuan, D. (2016) Enhanced Activity of the Macrophage M1/M2 Phenotypes and Phenotypic Switch to M1 in Periodontal Infection. *J Periodontol*, 87(9), 1092–102. doi: 10.1902/jop.2016.160081.
- [18] Pourgonabadi, S., Müller, H. D., Mendes, J. R., & Gruber, R. (2017) Saliva initiates the formation of pro-inflammatory macrophages in vitro. *Arch Oral Biol*, 73, 295–301. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.10.012.
- [19] Yang, J., Zhu, Y., Duan, D., Wang, P., Xin, Y., Bai, L., et al. (2017). Enhanced activity of macrophage M1/M2 phenotypes in periodontitis. *Arch Oral Biol*, 96, 234–242. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.03.006.
- [20] Yamaguchi, T., Movila, A., Kataoka, S., Wisitrasameewong, W., Ruiz Torruella, M., Murakoshi, M., et al. (2016). Proinflammatory M1 Macrophages Inhibit RANKL-Induced Osteoclastogenesis. *Infection and Immunity*, 84(10), 2802–2812. doi: 10.1128/IAI.00461-16.
- [21] Dunder, S., Eltas, A., Hakki, S., Malkoc, S., Uslu, M., Tuzcu, M., et al. (2016) Dietary arginine silicate inositol complex inhibits periodontal tissue loss in rats with ligature-induced periodontitis. *Drug Design, Development and Therapy*, 10, 3771–3778. doi: 10.2147/DDDT.S115088.
- [22] Zheng, X., Cheng, X., Wang, L., Qiu, W., Wang, S., Zhou, Y., et al. (2015) Combinatorial Effects of Arginine and Fluoride on Oral Bacteria. *Journal of Dental Research*, 94(2), 344–353. doi: 10.1177/0022034514561259.
- [23] Tarique, A. A., Logan, J., Thomas, E., Holt, P. G., Sly, P. D., & Fantino, E. (2015) Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 53(5), 676–688. doi: 10.1165/rcmb.2015-00120C.
- [24] Tedesco, S., Bolego, C., Toniolo, A., Nassi, A., Fadini, G., Locati, M., & Cignarella, A. (2015) Phenotypic activation and pharmacological outcomes of spontaneously differentiated human monocyte-derived macrophages. *Immunobiology*, 220(5), 545–554. doi: 10.1016/j.imbio.2014.12.008.
- [25] Wang, N., Liang, H., & Zen, K. (2014) Molecular Mechanisms That Influence the Macrophage M1–M2 Polarization Balance. *Frontiers in Immunology*, 5, 614. doi: 10.3389/fimmu.2014.00614.
- [26] Barros, M. H., Hauck, F., Dreyer, J. H., Kempkes, B., & Niedobitek, G. (2013) Macrophage polarisation: an immunohistochemical approach for identifying M1 and M2 macrophages. *PLoS One*, 8(11), e80908. doi: 10.1371/journal.pone.0080908.
- [27] Chinetti-Gbaguidi, G., & Staels, B. (2011) Macrophage polarization in metabolic disorders: functions and regulation. *Curr Opin Lipidol*, 22(5), 365–372. doi: 10.1097/MOL.0b013e32834a77b4.
- [28] Freitas Lima, L., Braga, V., do Socorro de França Silva, M., Cruz, J., Sousa Santos, S., de Oliveira Monteiro, M., & Balarini, C. (2015) Adipokines, diabetes and atherosclerosis: an inflammatory association. *Frontiers in Physiology*, 6, 304. doi: 10.3389/fphys.2015.00304.
- [29] Erbel, C., Tyka, M., Helmes, C., Akhavanpoor, M., Rupp, G., Domschke, G., et al. (2015) CXCL4-induced plaque macrophages can be specifically identified by co-expression of MMP7+S100A8+ in vitro and in vivo. *Innate Immunity*, 21(3), 255–265. doi: 10.1177/1753425914526461.
- [30] Romanets-Korbut, O., Najakshin, A., Yurchenko, M., Malysheva, T., Kovalevska, L., Shlapatska, L., et al. (2015). Expression of CD150 in Tumors of the Central Nervous System: Identification of a Novel Isoform. *PLOS ONE*, 10(2), e0118302. doi: 10.1371/journal.pone.0118302.