

radicals, so we hypothesized that it can inhibit the COS. This article compares the effects of small (4,2 mg/kg) and of large (16.8 mg/kg) doses of DC with the effects of classical antioxidants, corvutin and aminoguanidine. The COS-markers and activity of antioxidant enzymes were determined in the blood and subcellular heart fractions of the rats with pituitrin-isoproterenol-induced myocardial damage. It has been established that DC exhibits cardioprotective properties, reducing the formation of products of carbonyl and oxidative modification of biomolecules TBA-active substances, fluorescent end products of glycation (fAGE), aldehyde phenylhydrazones (AFH) and ketone phenylhydrazones (CPH), and a more pronounced effect was shown for the low doses of this drug. Simultaneously, the DC activates enzymes of antioxidant protection, first of all, glutathione peroxidase. Effects of small doses of DC are comparable or exceed the action of aminoguanidine and corvutin, so DC can be useful in the treatment of postinfarction heart failure.

Key words: carbonyl-oxidative stress, antioxidant system, doxycycline, pituitrin-isoproterenol myocardial damage.

УДК 571.27

Є. Гурмач, асп., М. Рудик, канд. біол. наук,
В. Святецька, інж. 1-ї кат., Л. Сківка, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ФАГОЦИТІВ ЩУРІВ ІЗ ГЛІОМОЮ С6

Гліоми – пухлини центральної нервової системи - являють собою гетерогенну групу новоутворень, що мають нейроектодермальне походження. Гліоми є найпоширенішими первинними пухлинами головного мозку і складають близько 80% усіх злоякісних новоутворень цієї локалізації. Ріст злоякісних гліом супроводжується формуванням глибокої локальної і системної імуносупресії, котра є відмітною характеристикою цього захворювання. На ранніх стадіях росту злоякісного новоутворення клітини гліоми виділяють численні хемокіни, цитокіни та інші біологічно активні медіатори, котрі сприяють інфільтрації пухлиної тканини клітинами імунної системи: резидентними мікрогліальними клітинами, а також рекрутованими з циркулюючої крові моноцитами, гранулоцитами, Т-клітинами, В-клітинами тощо. Найбільш значну частку серед імуніцитів у мікрооточенні злоякісних гліом складають пухлино-асоційовані фагоцити. Саме цим клітинам належить лідоюча роль у формуванні локальної імуносупресії. Тригерні чинники системної імуносупресії, а також взаємозв'язок між локальною та системною імуносупресією в умовах росту злоякісних гліом практично не досліджені і потребують поглибленого вивчення функціональних та фенотипових характеристик циркулюючих клітин імунної системи. Метою цієї роботи було визначити фенотипово-функціональні характеристики циркулюючих фагоцитів у щурів з гліомою С6. Метаболічні та фенотипові показники циркулюючих фагоцитів досліджували в динаміці росту пухлини. Встановлено, що на пізніх термінах росту пухлини асоціюються зі змінами функціональних характеристик як моно-, так і поліморфнонуклеарних фагоцитів периферичної крові: зниженням окисдативного метаболізму, посиленням фагоцитарної активності у поєднанні зі збільшенням експресії фенотипового маркера альтернативної поляризації CD206. Загалом, зазначені характеристики властиві альтернативно поляризованим фагоцитам, які можуть бути важливими чинниками системної імуносупресії за росту злоякісних гліом.

Ключові слова: циркулюючі фагоцити, гліома, реактивні форми кисню, фагоцитоз.

Вступ. Гліома є найбільш поширеною первинною пухлиною головного мозку з високим рівнем летальності: середня виживаність пацієнтів з цією онкологічною патологією становить 12–18 місяців [1, 2]. У пацієнтів з гліомою розвивається глибока локальна і генералізована імуносупресія, котра є відмітною характеристикою цього захворювання. Причинами локальної (в межах головного мозку) імуносупресії за умов розвитку гліоми вважають паракринну дію синтезованих пухлинними клітинами імуносупресивних цитокінів та простагландинів, котрі викликають функціональну поляризацію пухлино-асоційованих фагоцитів до проти-запального, пропухлинного фенотипу. Клітини імунної системи з таким функціональним профілем сприяють пухлинному ангіогенезу, підтримують життєздатність стовбурових пухлинних клітин, забезпечують формування лікарської резистентності злоякісного новоутворення [3]. Тригерні механізми і характер системної імуносупресії в умовах розвитку гліом практично не досліджені, оскільки цитокіновий профіль сироватки крові за розвитку цих злоякісних новоутворень найчастіше не відрізняється від такого у здоровому організмі. Виявлено значні порушення кількісних і функціональних характеристик Т-клітинної ланки імунореактивності: відносна кількість циркулюючих CD4+ Т-лімфоцитів знижена до показників, властивих хворим з набутим імунodefіцитом, а серед субпопуляцій значну частину становлять регуляторні Т-клітини [4]. Ще одним типовим критерієм системної імуносупресії за розвитку гліом є нейтрофілія. Збільшена частка циркулюючих нейтрофілів, а також збільшення кількісного співвідношення циркулюючих нейтрофілів і лім-

фоцитів (≥ 4) вважаються негативними прогностичними критеріями розвитку цього захворювання [5, 6]. Однак, функціональні властивості циркулюючих нейтрофілів за умов розвитку гліом не охарактеризовані. Істотних змін зазнають також кількісні характеристики циркулюючих моноцитів. Саме збільшення частки циркулюючих мононуклеарних фагоцитів з фенотипом незрілих клітин вважають однією з причин зростання кількості регуляторних Т-лімфоцитів, особливо на пізніх стадіях розвитку гліом [7]. При цьому дані стосовно функціонального профілю моноцитів периферичної крові в організмі з гліомою в літературі практично відсутні. Виявлено, що співкультивування моноцитів з клітинами гліоми *in vitro* спричиняє їх диференціювання на мієлоїдні супресорні клітини (Myeloid-Derived Suppressor Cells, MDSC). Зважаючи на відсутність змін цитокінового профілю у сироватці крові в умовах росту гліом, висловлюється припущення, що на ранніх стадіях росту злоякісного новоутворення циркулюючі фагоцити рекрутуються у ділянку пухлинного росту, де під впливом екзосом, що виділяються стовбуровими пухлинними клітинами, набувають пропухлинного функціонального профілю і далі повертаються у циркуляцію й ініціюють системну імуносупресію [8, 9].

Метою цієї роботи було визначити фенотипово-функціональні характеристики циркулюючих фагоцитів у щурів з гліомою С6.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проведені на білих нелінійних статевозрілих щурах масою 40–50 г розведення віварію ННЦ "Інституту біології та медицини" КНУ імені Тараса Шевченка. Після ран-

домізації за вагою тварини були поділені на дві групи по вісім тварин у кожній: 1 група – інтактні тварини, 2 група – тварини, яким перещеплювали пухлину. Усі дослідження на тваринах здійснювали згідно з нормами, визначеними законом України №3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження" і норм, прийнятих в Європейській конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей від 20.09.1985 [10].

Культуру клітин гліоми щурів С6 було отримано з Національного банку клітинних ліній людини та тварин при ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Клітини лінії гліоми щурів С6 культивували у культуральному пластику (Sarsted, Німеччина) у повному культуральному середовищі DMEM у CO₂-інкубаторі за С. Перещеплення гліоми С6 щурам робили після загальної анестезії із застосуванням в/ч кетаміну (0,1 мг/г тварини) і седазину (0,02 мг/г тварини) методом інтрацеребральної інюкації 50 мкл клітинної суспензії (500 тис. клітин на тварину) у праву тім'яну зону (передній ріг правого бокового шлуночку) на відстані 3 мм від для уникнення інтракраніальної кровотечі. Тваринам також безпосередньо перед операцією вводили 0,25 % маркаїну в дозі 0,04 мл/г для полегшення болю протягом 6–8 годин.

Як матеріал для дослідження функціональних характеристик циркулюючих фагоцитів використовували гепаринізовану периферичну кров щурів. Для оцінки функціональних показників методом проточної цитофлюориметрії досліджували продукцію реактивних форм кисню (РФК) та фагоцитарну активність, як фенотиповий маркер. Моноцити й гранулоцити ґейтували за прямим і бічним розсіюванням. Рівень експресії клітинами CD206 молекул оцінювали використовуючи специфічні первинні моноклональні антитіла (Becton Dickinson, США). Продукцію реактивних форм кисню (РФК) визначали з використанням дихлородигідрофлуоресцеїндиацетату (ДФХ-ДА) ("Sigma Aldrich", USA), який під дією РФК перетворюється на флуоресцентну похідну [11]. Рівень продукції РФК характеризували за інтенсивністю флуоресценції клітин. Фагоцитарну активність досліджували з використанням як об'єкт ендоситозу мічені флуоресцеїнізотіоціанатом клітини *S.aureus*. Розраховували відносну кількість фагоцитуючих клітин (коефіцієнт фагоцитозу) та кількість поглинутих мікробних клітин за рівнем флуоресценції фагоцита (фагоцитарний індекс).

Статистичну обробку результатів здійснювали методами варіаційної статистики з розрахунком середнього значення, середнього квадратичного відхилення (σ) та середньої квадратичної похибки (m). Для визначення вірогідної відмінності показників використовували t-критерій Стьюдента [12].

Результати та їх обговорення. Клітини імунної системи, особливо фагоцити, відіграють виключну роль у біології пухлинного росту і в активації протипухлинного

імунітету. Пухлино-асоційовані фагоцити формують імуносупресивне пухлинне мікрооточення і сприяють пухлинній прогресії. З іншого боку, саме фагоцити ініціюють реакції протипухлинного імунітету і з огляду на це є перспективним об'єктом для розробки таргетних методів імунотерапії онкологічної патології [13, 14, 15]. Як зазначено вище, ріст гліом супроводжується розвитком системної імуносупресії. При цьому взаємозв'язок між локальною і генералізованою імуносупресією практично недосліджений і потребує поглибленого вивчення функціональних характеристик циркулюючих клітин імунної системи. Як модель пухлинного росту нами була обрана гліома С6, оскільки ця перещеплювана пухлина головного мозку щурів найбільшою мірою відтворює біологічні властивості гліобластоми людини – високо агресивної форми злоякісних гліом, ріст якої супроводжується розвитком генералізованої імуносупресії [16]. Для оцінки функціональних характеристик циркулюючих фагоцитів у щурів з гліомою ми досліджували продукцію ними РФК, фагоцитарну активність та експресію рецептора CD206.

Посилення генерації РФК є однією з функціональних характеристик класично активованих фагоцитів (як моно-, так і поліморфнонуклеарних), які є дієвими ефекторними клітинами протипухлинного імунітету. Зниження рівня продукції РФК властиве протизапальному пропухлинному зсуву метаболізму фагоцитів [17]. З іншого боку, продукція РФК є одним з ключових імуносупресивних механізмів MDSC. Однак при цьому активація синтезу РФК MDSC зазвичай асоційована з протизапальним зсувом метаболізму цих клітин, наприклад, з посиленням синтезу аргінази І, яка має імуносупресивні властивості [6, 18]. З огляду на те, що згідно з літературними даними [7] РФК-продукуючі MDSC та інші гліома-асоційовані фагоцити з'являються у циркуляції організму з гліомою під час росту злоякісного новоутворення, ми дослідили оксидативний метаболізм моно- та поліморфнонуклеарних фагоцитів периферичної крові щурів в динаміці росту гліоми С6 (на 14 та 24 добу після інюкації пухлинних клітин). За результатами наших досліджень, на 14 добу пухлинного росту показник оксидативного метаболізму циркулюючих гранулоцитів у щурів з гліомою був незначно підвищений порівняно з інтактними тваринами (рис. 1А). Рівень синтезу РФК мононуклеарними фагоцитами периферичної крові тварин-пухлиноносіїв не відрізнявся від такого у інтактних тварин. На більш пізній стадії росту пухлини ми зареєстрували статистично вірогідне зниження рівня генерації РФК як гранулоцитами, так і моноцитами периферичної крові щурів з гліомою (рис. 1Б). Таким чином, істотні зміни функціональних характеристик циркулюючих фагоцитів спостерігаються на пізніх стадіях росту гліоми С6.

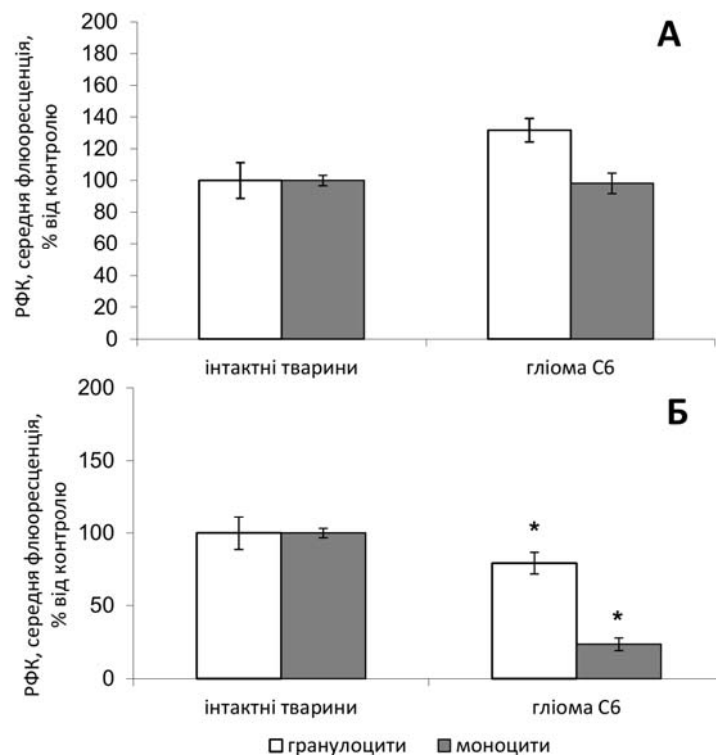


Рис. 1. Продукція реактивних форм кисню циркулюючими фагоцитами щурів на 14 добу (А) та 24 добу (Б) після перещеплення гліоми C6 (n = 8 у всіх групах)

* – $p < 0,05$ стосовно показників інтактних щурів. Результати представлені як відсоток від відповідного показника інтактних тварин.

Фагоцитарна активність є однією з найважливіших функцій як моноцитів, так і гранулоцитів. Ендоцитоз властивий фагоцитам прозапальної функціональної спрямованості і клітинам з протизапальним метаболічним профілем. Однак посилення фагоцитарної функції характерне для альтернативної метаболічної поляри-

зації фагоцитів і особливо притаманне фагоцитам з пропухлинною активністю [19]. За результатами наших досліджень, на 24 добу пухлинного росту спостерігалось статистично вірогідне збільшення частки фагоцитуючих поліморфно- та мононуклеарних мієлоїдних клітин у периферичній крові щурів з гліомою C6 (рис. 2).

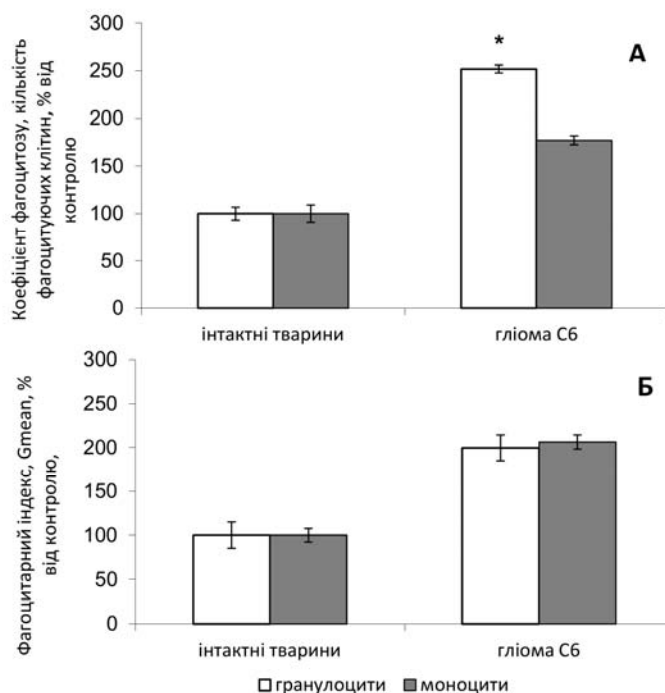


Рис. 2. Коефіцієнт фагоцитозу (А) та фагоцитарний індекс (Б) циркулюючих фагоцитів щурів з гліомою C6. (n = 8 у всіх групах)

* – $p < 0,05$ стосовно показників інтактних щурів. Результати представлені як відсоток від відповідного показника інтактних тварин.

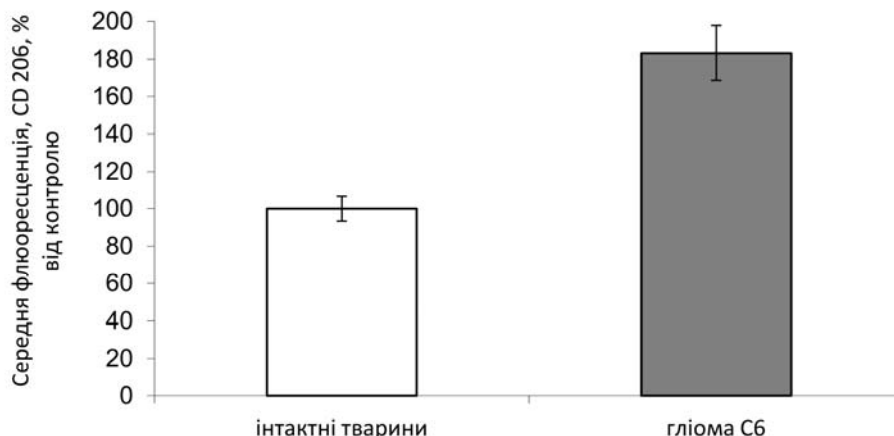


Рис. 3. Експресія CD206 циркулюючими фагоцитами щурів із гліомою C6 (n = 8 у всіх групах)

Результати виражені як відсоток від кожного контролю.

Одним із рецепторів мієлоїдних клітин, залучених у фагоцитарну функцію, є рецептор CD206. Цей рецептор є одним із загально визнаних фенотипових маркерів аальтернативної (пропухлинної) метаболічної поляризації фагоцитів різних популяцій [13]. Крім того, підвищена експресія CD206 властива MDSC [20]. Згідно з результатами наших досліджень, рівень експресії CD206 циркулюючими фагоцитами щурів з гліомою C6 на 24 добу пухлинного росту статистично вірогідно перевищував аналогічний показник у інтактних тварин (рис. 3).

Висновок. Пізні стадії гліоми C6 у щурів асоціюються зі змінами функціональних характеристик моноцитарно-лімфоцитарних фагоцитів периферичної крові: зниженням окислювального метаболізму, посиленням фагоцитарної активності у поєднанні зі збільшенням експресії фенотипового маркера альтернативної (пропухлинної) поляризації CD206. У сукупності зазначені характеристики властиві альтернативно поляризованим фагоцитам, які можуть бути основним джерелом формування системної імуносупресії за розвитку злоякісних гліом.

Список використаних джерел:

1. Epidemiology of Intracranial Gliomas / Q. Ostrom, H. Gittleman, L. Stetson et al. // *Prog. Neurol. Surg.* – 2018. – Vol. 30. – P. 1–11.
2. Multiple high-grade gliomas: epidemiology, management, and outcome. A systematic review and meta-analysis / D. Di Carlo, F. Cagnazzo, N. Benedetto et al. // *Neurosurg. Rev.* – 2017.
3. Mangani D. The network of immunosuppressive pathways in glioblastoma / D. Mangani, M. Weller, P. Roth // *Biochem. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 130. – P. 1–9.
4. Gustafson M. Systemic immune suppression in glioblastoma: the interplay between CD14+HLA-DR^{lo}/monocytes, tumor factors and dexamethasone / M. Gustafson, Y. Lin, K. New // *Neuro. Oncol.* – 2010. – Vol. 12. – P. 631–644.
5. Neutrophilia as a biomarker for overall survival in newly diagnosed high-grade glioma patients undergoing chemoradiation / A. Schernberg, A. Nivet, F. Dhermain et al. // *Clin. Transl. Radiat. Oncol.* – 2018. – Vol. 10. – P. 47–52.
6. Neutrophils in Gliomas / Matteo Massara, Pasquale Persico, Ornella Bonavita et al. // *Front Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1349.
7. Cells Immunosuppression of Glioma Stem Cell-Derived Exosomes Is Mediated by Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells / R. Domenis, D. Cesselli, B. Toffoletto et al. // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, № 1:e0169932.
8. Increasing glioma-associated monocytes leads to increased intratumoral and systemic myeloid-derived suppressor cells in a murine model / M. Chae, T. Peterson, A. Balgeman et al. // *NeuroOncol.* – 2015. – Vol. 17, № 7. – P. 978–991.
9. Systemic T Cells Immunosuppression of Glioma Stem Cell-Derived Exosomes Is Mediated by Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells

/ R. Domenis, D. Cesselli, B. Toffoletto et al. // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, № 1:e0169932.

10. Резников О. Проблеми етики при проведенні експериментальних медичних і біологічних досліджень на тваринах / О. Резников // *Вісн. НАН України.* – 2001. – № 1. – С. 5–7.

11. Classen Andrea. Macrophage Activation: Classical Vs. Alternative / Andrea Classen // *Macrophages and Dendritic Cells. Methods and Protocols.* – New York : Humana press. – 2009. – P. 29–43.

12. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных / О. Ю. Реброва. – М. : Медиа Сфера. – 2002. – С. 312.

13. Mantovani A. Tumor-associated macrophages as a paradigm of macrophage plasticity, diversity, and polarization: lessons and open questions / A. Mantovani, M. Locati // *Arterioscler. Thromb. Vasc Biol.* – 2013. – Vol. 33, № 7. – P. 1478–83.

14. Petty A. Tumor-associated macrophages: implications in cancer immunotherapy / A. Petty, Y. Yang // *Immunotherapy.* – 2017. – Vol. 9, № 3. – P. 289–302.

15. Suyang Hao. Detection of immune suppressive neutrophils in peripheral blood samples of cancer patients / Hao Suyang, Mary Andersen, Hongbo Yu. *Am J. Blood Res.* – 2013. – Vol. 3, № 3. – P. 239–245.

16. Grobden B. Rat C6 glioma as experimental model system for the study of glioblastoma growth and invasion / B. Grobden, P. De Deyn, H. Slegers // *Cell Tissue Res.* – 2002. – Vol. 10, № 3. – P. 257–70.

17. Mills C. Anatomy of adiscovery: m1 and m2 macrophages. *Front. Immunol.* / C. Mills. – 2015. – Vol. 6. – P. 212.

18. Mechanism regulating reactive oxygen species in tumor-induced myeloid-derived suppressor cells / C. Corzo, M. Cotter, P. Cheng et al. // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 182, № 9. – P. 5693–701.

19. Modulation of macrophage antitumor potential by apoptotic lymphoma cells / J. Voss, C. Ford, S. Petrova et al. // *Cell Death Differ.* – 2017. – Vol. 24, № 6. – P. 971–983.

20. Tumor-infiltrating myeloid-derived suppressor cells are pleiotropically-inflamed monocytes/macrophages that bear M1- and M2-type characteristics / N. Umemura, M. Saio, T. Suwa et al. // *J. Leukoc. Biol.* – 2008. – Vol. 83, № 5. – P. 1136–44.

References:

1. Ostrom Q., Gittleman H., Stetson L., Virk S., Barnholtz-Sloan J. Epidemiology of Intracranial Gliomas. *Prog Neurol Surg.* 2018;30:1-11. doi: 10.1159/000464374
2. Di Carlo D., Cagnazzo F., Benedetto N., Morganti R., Perrini P. Multiple high-grade gliomas: epidemiology, management, and outcome. A systematic review and meta-analysis. *Neurosurg. Rev.* 2017. doi: 10.1007/s10143-017-0928-7
3. Mangani D., Weller M., Roth P. The network of immunosuppressive pathways in glioblastoma. *Biochem Pharmacol.* 2017;130:1-9. doi: 10.1016/j.bcp.2016.12.011
4. Gustafson M., Lin Y., New K. Systemic immune suppression in glioblastoma: the interplay between CD14+HLA-DR^{lo}/monocytes, tumor factors, and dexamethasone. *Neuro Oncol.* 2010;12(7):631-644.
5. Schernberg A., Nivet A., Dhermain F., Ammari S., Escande A., Pallud J., Louvel G., Deutsch E. Neutrophilia as a biomarker for overall survival in newly diagnosed high-grade glioma patients undergoing chemoradiation. *Clin Transl Radiat Oncol.* 2018;10:47-52. doi: 10.1016/j.ctro.2018.04.002
6. Matteo Massara, Pasquale Persico, Ornella Bonavita, Valeria Mollica Poeta, Massimo Locati, Matteo Simonelli, Raffaella Bonocchi. Neutrophils in Gliomas. *Front Immunol.* 2017;8:1349. doi: 10.3389/fimmu.2017.01349

7. Domenis R., Cesselli D., Toffoletto B., Bourkoulas E., Caponnetto F., Beltrami A., Lus T., Skrap M., Di Loreto C., Gri G. Systemic T Cells Immunosuppression of Glioma Stem Cell-Derived Exosomes Is Mediated by Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells. *PLoS One*. 2017;12(1):e0169932. doi: 10.1371/journal.pone.0169932
8. Chae M., Peterson T., Balgeman A., Chen S., Zhang L., Renner D., Johnson A., Parney I. Increasing glioma-associated monocytes leads to increased intratumoral and systemic myeloid-derived suppressor cells in a murine model. *Neuro Oncol*. 2015;17(7):978-91. doi: 10.1093/neuonc/nou343
9. Domenis R., Cesselli D., Toffoletto B., Bourkoulas E., Caponnetto F., Manini I., Beltrami A., Lus T., Skrap M., Di Loreto C., Gri G. Systemic T Cells Immunosuppression of Glioma Stem Cell-Derived Exosomes Is Mediated by Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells. *PLoS One*. 2017;12(1):e0169932. doi: 10.1371/journal.pone.0169932
10. Reznikov A. Problemy etiki pri provedenii eksperimental'nykh medicinskih i biologicheskikh issledovaniy na zhivotnykh. *Vestn. NAN Ukrainy*. 2001;1:5-7. Russian.
11. Classen Andrea. Macrophage Activation: Classical Vs. Alternative. In: Reiner, Neil E., editors. *Macrophages and Dendritic Cells. Methods and Protocols*. New York: Humana press; 2009:29-43.
12. Rebrova O. Statisticheskij analys medicine danuch. *Media sfera*. 2002;312. Russian.
13. Mantovani A., Locati M. Tumor-associated macrophages as a paradigm of macrophage plasticity, diversity, and polarization: lessons and open questions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(7):1478-83.
14. Petty A., Yang Y. Tumor-associated macrophages: implications in cancer immunotherapy. *Immunotherapy*. 2017;9(3):289-302. doi: 10.2217/imt-2016-0135

15. Suyang Hao., Mary Andersen., Hongbo Yu. Am. Detection of immune suppressive neutrophils in peripheral blood samples of cancer patients. *J Blood Res*. 2013; 3(3):239-245.
16. Grobbs B., De Deyn P., Slegers H. Rat C6 glioma as experimental model system for the study of glioblastoma growth and invasion. *Cell Tissue Res*. 2002;310(3):257-70.
17. Mills C. Anatomy of a discovery: m1 and m2 macrophages. *Front. Immunol*. 2015;6:212.
18. Corzo C., Cotter M., Cheng P., Cheng F., Kusmartsev S., Sotomayor E., Padhya T., Mc Caffrey T., Mc Caffrey J., Gabrilovich D. Mechanism regulating reactive oxygen species in tumor-induced myeloid-derived suppressor cells. *J Immunol*. 2009;182(9):5693-701. doi: 10.4049/jimmunol.0900092
19. Voss J.J., Ford C., Petrova S., Melville L., Paterson M., Pound J., Holland P., Giotti B., Freeman T., Gregory C. Modulation of macrophage antitumor potential by apoptotic lymphoma cells. *Cell Death Differ*. 2017;24(6):971-983. doi: 10.1038/cdd.2016.132
20. Umemura N., Saio M., Suwa T., Kitoh Y., Bai J., Nonaka K., Ouyang G., Okada M., Balazs M., Adany R., Shibata T., Takami T. Tumor-infiltrating myeloid-derived suppressor cells are pleiotropic-inflamed monocytes/macrophages that bear M1- and M2-type characteristics. *J Leukoc Biol*. 2008;83(5):1136-44. doi: 10.1189/jlb.0907611

Надійшла до редколегії 30.08.2018

Отримано виправлений варіант 1.10.2018

Підписано до друку 1.10.2018

Received in the editorial 30.08.2018

Received a revised version on 1.10.2018

Signed in the press on 1.10.2018

Е. Гурмач, асп., М. Рудик, канд. биол. наук,
В. Святецкая, инж. 1-й кат., Л. Скивка, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ФАГОЦИТОВ КРЫС С ГЛИОМОЙ С6

Глиомы - опухоли центральной нервной системы – представляют собой гетерогенную группу новообразований, имеющих нейроэктодермальное происхождение. Глиомы являются наиболее распространенными первичными опухолями головного мозга и составляют около 80% всех злокачественных новообразований этой локализации. Рост злокачественных глиом сопровождается формированием глубокой локальной и системной иммуносупрессии, которая является отличительной характеристикой этого заболевания. На ранних стадиях роста злокачественного новообразования клетки глиомы выделяют многочисленные хемокины, цитокины и другие биологически активные медиаторы, которые способствуют инфильтрации опухолевой ткани клетками иммунной системы: резидентными микроглиальными клетками, а также рекрутированными из циркулирующей крови моноцитами, гранулоцитами, Т-клетками, В-клетками и т.п. Наиболее значительную часть среди иммунных клеток в микроокружении злокачественных глиом составляют опухоле-ассоциированные фагоциты. Именно этим клеткам принадлежит лидирующая роль в формировании локальной иммуносупрессии. Триггерные факторы системной иммуносупрессии, а также взаимосвязь между локальной и системной иммуносупрессией в условиях роста злокачественных глиом практически не исследованы и требуют углубленного изучения функциональных и фенотипических характеристик циркулирующих клеток иммунной системы. Целью настоящей работы было определить фенотипические и функциональные характеристики циркулирующих фагоцитов у крыс с глиомой С6. Метаболические и фенотипические показатели циркулирующих фагоцитов исследовали в динамике роста опухоли. Установлено, что поздние сроки роста опухоли ассоциируются с изменениями функциональных характеристик как моно-, так и полиморфноядерных фагоцитов периферической крови: снижением оксидативного метаболизма, усилением фагоцитарной активности в сочетании с увеличением экспрессии фенотипического маркера альтернативной поляризации CD206. В целом, указанные характеристики свойственны альтернативно поляризованным фагоцитам, которые могут быть важными факторами системной иммуносупрессии при росте злокачественных глиом.

Ключевые слова: циркулирующие фагоциты, глиома, реактивные формы кислорода, фагоцитоз.

Y. Hurmach, PhD stud., M. Rudyk, PhD,
V. Svyatetska, master, L. Skivka, DSc
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF CIRCULATING PHAGOCYTES IN RATS WITH C6 GLIOMA

Gliomas, tumors of the central nervous system, are a heterogeneous group of neoplasms of neuroectodermal origin. Gliomas are the most common primary brain tumors and comprise about 80% of all malignant neoplasms of this location. The growth of malignant glioma is accompanied by the development of local and systemic immunosuppression that is a distinctive characteristics of the disease. At the early stages of tumor growth, glioma cells secrete numerous chemokines, cytokines and other biologically active mediators that contribute to the infiltration of tumor tissue by immune cells: resident microglial cells, as well as monocytes, granulocytes, T-cells, B-cells etc. Tumor-associated phagocytes comprise most significant part of the immunocytes in the microenvironment of malignant gliomas. These cells play a leading role in the development of local immunosuppression. The triggers of systemic immunosuppression, as well as the relationship between local and systemic immunosuppression is virtually unexplored and requires an in-depth study of the functional characteristics of circulating cells of the immune system. The aim of this work was to determine the phenotypic and functional characteristics of circulating phagocytes in rats with C6 glioma. Metabolic and phenotypic indices of circulating phagocytes were examined at different time point of tumor growth. It has been established that the late stages of C6 glioma growth in rats are associated with changes in the functional characteristics of peripheral blood mono- and polymorphonuclear phagocytes: a decrease in oxidative metabolism, an increase in phagocytic activity along with an increase CD206 expression. Taken together these alteration are characteristic for alternatively activated phagocytes that can participate in the development of glioma-associated systemic immunosuppression.

Keywords: circulating phagocytes, glioma, reactive oxygen species, phagocytosis.