

Received: 2014.10.01
Accepted: 2015.06.11
Published: 2015.09.21

Rola leków, egzosomów i cząsteczek miRNA w modulacji aktywności immunologicznej makrofagów*

The role of medicaments, exosomes and miRNA molecules in modulation of macrophage immune activity

Katarzyna Nazimek¹, Iwona Filipczak-Bryniarska², Krzysztof Bryniarski¹

¹Katedra Immunologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

²Klinika Leczenia Bólu i Opieki Paliatywnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Streszczenie

Makrofagi pełnią istotne funkcje w odpowiedzi immunologicznej oraz w utrzymaniu homeostazy organizmu. Pełniąc funkcję komórek prezentujących antygen indukują lub hamują rozwój reakcji zapalnej, natomiast jako komórki efektorowe odgrywają ważną rolę we wrodzonej odporności przeciwzakaźnej oraz w nadwrażliwości typu późnego. Natomiast nadmierna lub zahamowana aktywacja makrofagów upośledza przebieg wielu procesów biologicznych, co może spowodować rozwój różnych schorzeń o podłożu immunologicznym, zapalnym, czy nowotworowym. Dlatego możliwość modulowania aktywności i zmiany właściwości makrofagów może być podstawą strategii terapeutycznych mających na celu wzmożenie (np. odpowiedź przeciwnowotworowa) lub wyhamowanie (np. odpowiedź autoimmunizacyjna, alergiczna, przeciwko tkankom przeszczepu) odpowiedzi immunologicznej. Należy zaznaczyć, iż oddziaływanie związków leczniczych na makrofagi może bezpośrednio mediować ich działanie terapeutyczne lub częściej jest dodatkowym działaniem zwiększającym skuteczność leczenia. Ponadto dojrzewanie makrofagów jest regulowane m.in. przez miRNA-223, natomiast ekspresja miRNA-146 oraz miRNA-155 zdaje się modulować i/lub wynikać z aktualnego fenotypu tych komórek. W pracy zebrano aktualną wiedzę dotyczącą roli leków, egzosomów i mikropepterydów oraz cząsteczek miRNA w modulacji aktywności makrofagów zaangażowanych w utrzymanie homeostazy organizmu, jak również w przebieg procesów chorobowych.

Słowa kluczowe:

makrofagi • leki • miRNA • egzosomy • immunomodulacja • immunoregulacja

Summary

Macrophages play an important role in innate immunity, in induction and orchestration of acquired immune response as well as in the maintenance of tissue homeostasis. Macrophages as antigen presenting cells induce or inhibit the development of immune response and as effector cells play an important role in innate immunity to infectious agents and in delayed-type hypersensitivity as well. Thus, either up- or down-regulation of their activity leads to the impairment of different biological processes. This often results in the development of im-

*Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu ze środków NCN 2013/09/N/NZ6/00753 i MNiSW K/DSC/002102 dla KN oraz 2013/11/B/NZ6/02041 i K/ZDS/003718 dla KB.



	munological diseases or inflammatory response associated with metabolic, cardiovascular or neuroendocrine disorders. Therefore, the possibility of modulation of macrophage function should allow for elaboration of new effective therapeutic strategies. Noteworthy, interaction of medicaments with macrophages may directly mediate their therapeutic activity or is an additional beneficial effect increasing efficacy of treatment. Further, macrophage differentiation is regulated by miRNA-223, while expression of miRNA-146 and miRNA-155 may modulate and/or be a result of the current cell phenotype. Present review is focused on the current knowledge about the action of medicaments, microRNA molecules, exosomes and related vesicles on macrophages leading to modulation of their biological activity.
Key words:	macrophages • medicaments • miRNA • exosomes • immunomodulation • immunoregulation
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1170118
Word count:	6712
Tables:	–
Figures:	–
References:	136

Adres autora: dr hab. n. med. Krzysztof Bryniarski, Katedra Immunologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, 31-121 Kraków, ul. Czysza 18; e-mail: mmbrynia@cyf-kr.edu.pl

Wykaz skrótów: **APC** – komórki prezentujące antygen (antigen presenting cells); **ATP** – trifosforan adenozyiny (adenosine triphosphate); **cAMP** – cykliczny monofosforan adenozyiny (cyclic adenosine monophosphate); **CCL** – chemokina serii CC (CC chemokine); **CD** – kompleks różnicowania (cluster of differentiation); **COX-2** – cyklooksygenaza-2 (cyclooxygenase-2); **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony stimulating factor); **IFN** – interferon (interferon); **Ig** – immunoglobulina (immunoglobulin); **IL** – interleukina (interleukin); **iNOS** – indukowalna syntaza tlenu azotu (inducible nitric oxide synthase); **LDL** – lipoproteina o niewielkiej gęstości (low density lipoprotein); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharyde); **M1** – klasycznie aktywowany fenotyp makrofagów (classically activated macrophage phenotype); **M2** – alternatywnie aktywowany fenotyp makrofagów (alternatively activated macrophage phenotype); **M-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów (macrophage colony stimulating factor); **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex); **miRNA** – mikroRNA (microRNA); **NADPH** – fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate); **NF-κB** – czynnik jądrowy kappa B (nuclear factor kappa B); **PGE₂** – prostaglandyna E₂ (prostaglandin E₂); **PPAR** – receptory aktywowane przez proliferatory peroksyosomów (peroxisome proliferator-activated receptors); **ROIs** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen intermediates); **siRNA** – małe interferujące RNA (small interfering RNA); **Th** – T pomocniczy limfocyt (T helper lymphocyte); **TLR** – receptory Toll-podobne (Toll-like receptors); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **VEGF** – naczyniowo-epitelialne czynniki wzrostu (vascular endothelial growth factors).

WSTĘP

Makrofagi tkankowe, dzięki zdolności do fagocytozy, przygotowania i prezentacji antygeny, pełnią istotną rolę w odporności wrodzonej oraz w indukcji odpowiedzi nabytej. Biologiczne funkcje makrofagów mają znaczenie w utrzymaniu homeostazy organizmu, a ich dysregulacja zwykle zaburza równowagę ustroju. Ze względu na charakterystyczną dla makrofagów ekspresję szerokiego zakresu receptorów i cząsteczek sygnalizacyjnych, aktywność tych komórek podlega modulacji przez wiele czynników pochodzenia endo- i egzogenne, co zna-

miennie wpływa na mediowane przez te komórki procesy w organizmie i może być podstawą nowych strategii terapeutycznych.

Istotną grupą czynników egzogenne modulujących aktywność makrofagów są związki o działaniu leczniczym, nie zawsze bezpośrednio związanym z regulacją procesów zapalnych. Obecnie ważną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej przypisano także niskocząsteczkowym kwasom rybonukleinowym (RNA), w tym głównie cząsteczkom mikroRNA (miRNA), które często w ustroju są transportowane w mikropęcherzykach i/lub egzosomach.

W pracy zebrano aktualną wiedzę o wpływie leków oraz egzosomów i zawartych w nich cząsteczek, m.in. miRNA, na aktywność biologiczną makrofagów, które pełnią istotną rolę w wielu procesach immunologicznych, a także metabolicznych czy neuroendokrynych.

RÓŻNORODNOŚĆ FUNKCJI MAKROFAGÓW

Monocyty krwi obwodowej wywodzą się z komórek prekursorowych linii mieloidalnej różnicujących się z komórki macierzystej hematopoezy pod wpływem m.in. czynnika stymulującego tworzenie kolonii makrofagów (M-CSF) oraz czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF). Monocyty, po opuszczeniu światła naczynia w procesie diapedezy, różnicują w makrofagi tkankowe. Ponadto pewna część makrofagów rezydualnych pochodzi z komórek linii zarodkowej. Makrofagi charakteryzują się różnorodną aktywnością biologiczną, a ich aktualny fenotyp zależy od umiejscowienia tkankowego oraz sygnałów odbieranych z otaczającego mikrośrodowiska. W oparciu o różnice w mechanizmie aktywacji oraz w obrazie charakterystycznych markerów powierzchniowych i cytoplazmatycznych wyróżniono populację klasyczną (tzw. fenotyp M1) oraz alternatywnie (tzw. fenotyp M2) aktywowanych makrofagów. Makrofagi bezpośrednio zaangażowane w odpowiedź immunologiczną często wykazują tzw. fenotypy pośrednie, których aktywacja jest wynikiem adaptacji makrofagów do warunków otoczenia.

Indukcja klasycznie aktywowanego fenotypu makrofagów zachodzi pod wpływem interferonu gamma (IFN- γ) oraz ligandów bakteryjnych receptorów Toll-podobnych (TLR), przede wszystkim lipopolisacharydu (LPS) [76,77]. Populacja makrofagów M1 jest zaangażowana w odpowiedź zapalną związaną z infekcjami, a także z uszkodzeniem tkanek, reakcjami alergicznymi, autoimmunizacją, zespołem metabolicznym czy odrzucaniem przeszczepów. Ich aktywność jest również obserwowana w pierwszym etapie odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko nowotworom. W makrofagach M1 są aktywne wewnątrzkomórkowe szlaki sygnalizacji prozapalnej zależne m.in. od czynnika jądrowego NF- κ B, co prowadzi do wydzielania wielu cytokin i mediatorów zapalenia. Pełnią także funkcję komórek prezentujących antygen (APC).

Podczas ograniczania reakcji zapalnej, w procesach regeneracyjnych oraz w utrzymaniu homeostazy tkankowej obserwowana jest dominacja alternatywnej aktywacji makrofagów. Ponadto aktywność przeciwzapalna populacji makrofagów o fenotypie M2 towarzyszy rozwojowi tolerancji immunologicznej na nowotwór, przewlekłym zakażeniu oraz włóknieniu tkanek. Do indukcji fenotypu M2 w makrofagach dochodzi pod wpływem cytokin limfocytów Th2 (fenotyp M2a) oraz T regulatorowych i glikokortykosteroidów (fenotyp M2c), a także kompleksów immunologicznych, IL-1 β i LPS (fenotyp M2b).

Różnorodność funkcji biologicznych makrofagów zaangażowanych w przebieg procesów fizjologicznych, a także

w patomechanizm wielu schorzeń, niedawno przedstawiono [81]. Poszukiwanie związków wykazujących zdolność modulacji funkcji makrofagów może się przyczynić do wzrostu skuteczności terapii wielu schorzeń, którym towarzyszy nadmierna lub zahamowana aktywność tych komórek.

SUBSTANCJE LECZNICZE W MODULACJI FUNKCJI MAKROFAGÓW

Makrofagi wykazują ekspresję receptorów, na które działają różnorodne substancje lecznicze, stosowane nie tylko jako leki regulujące reakcję zapalną, ale również takie, których działanie na makrofagi obecnie może być dodatkowym skutkiem i może się przyczynić do opracowania ich nowych zastosowań terapeutycznych.

Terapia schorzeń alergicznych

Immunosupresyjne działanie glikokortykosteroidów egzogennych, podobnie jak endogennych hormonów kortykosteroidowych, przez makrofagowy receptor glikokortykosteroidowy (GR) jest głównie wynikiem hamowania procesów transkrypcji i translacji genów dla cytokin prozapalnych [113]. Ponadto glikokortykosteroidy, przez regulację ekspresji genów dla napięciowo zależnych kanałów potasowych, hamują proliferację makrofagów i wydzielanie cytokin prozapalnych [115]. Przeciwwzpalne właściwości glikokortykosteroidów mogą być również związane ze wzmożoną syntezą reaktywnych form tlenu (ROIs) przez makrofagi, zaobserwowaną pod wpływem deksametazonu, która prowadzi do aktywacji limfocytów T regulatorowych [56], odpowiedzialnych za wyciszenie odpowiedzi immunologicznej. Proponuje się także, iż zaburzona aktywność makrofagów płucnych może być przyczyną rozwoju ciężkiej postaci astmy związanej z opornością na leczenie glikokortykosteroidami [124].

W patomechanizmie astmy i alergii związanym z aktywacją immunofagocytozy makrofagów płucnych przez receptor dla fragmentu krystalizującego IgG (Fc γ R) występuje nadmierne wytwarzanie leukotrienów. Dlatego w terapii stanów alergicznych szerokie zastosowanie znalazły związki antagonizujące działanie leukotrienów (np. montelukast). Ponadto leki z tej grupy wykazują zdolność do hamowania fagocytozy i wytwarzania tlenku azotu (NO) oraz samych leukotrienów przez makrofagi pęcherzyków płucnych [104], co może wzmacniać działanie terapeutyczne. Jednak w eksperymentalnym modelu astmy zaobserwowano związek ze stosowaniem antagonistów leukotrienów wzrost podatności na zakażenia patogenami dróg oddechowych [104]. Klemastyna i desloratadyna, przedstawiciele leków przeciwhistaminowych, mają zdolność do hamowania aktywności prozapalnej mysich makrofagów w przebiegu listeriozy, indukując stan immunosupresji podobny do obserwowanego w leczeniu związkami steroidowymi [51]. Stosowanie leków przeciwhistaminowych, które również obniżają zdolność makrofagów do syntezy ROIs i tlenku azotu, może doprowadzić do osłabienia odpowiedzi przeciwważnej [72]. Niemniej jednak obserwowana w modelu posocznicy u myszy zdol-



ność związków o działaniu antyhistaminowym do hamowania wytwarzania TNF- α w ludzkich i mysich makrofagach może pozwolić na potencjalne zastosowanie ich w leczeniu ogólnoustrojowej reakcji zapalnej [51]. Stabilizatory błony bazofilów i mastocytów (kromoglikan sodowy, doksantrazol), stosowane w leczeniu astmy i alergii, znacznie obniżają zdolność makrofagów płucnych do syntezy ROIs. Skutki ich działania, przez złagodzenie stresu oksydacyjnego towarzyszącego astmie, zmniejszają prawdopodobnie ryzyko uszkodzenia dróg oddechowych [95], choć także mogą zaburzać odporność przeciwważką. Również ambroksol, mukolityk stosowany jako lek wykrztuśny, wykazuje zależne od dawki hamowanie wytwarzania ROIs przez makrofagi izolowane z popłuczyn pęcherzykowo-oskrzelowych świnki morskiej [111]. W badaniach eksperymentalnych wykazano także, iż inhibitory konwertazy angiotensynowej (ACEI) mają zdolność hamowania wytwarzania ROIs przez makrofagi pęcherzykowe pobrane od szczurów i świnek morskich. Dawka leku potrzebna do wywołania efektu jest niższa w przypadku ACEI, które w cząsteczce zawierają grupę tiolową (-SH) [110]. Formoterol i salmeterol, β -adrenomimetyki stosowane w leczeniu astmy, mają zdolność hamowania wytwarzania cytokin prozapalnych (TNF- α , IL-1 β , IL-6) oraz GM-CSF w hodowlach ludzkich makrofagów pochodzenia monocytarnego. Zastosowanie wspomnianych adrenomimetyków wraz z budezonidem skutkuje addytywnym działaniem prowadzącym do indukcji przeciwzapalnego fenotypu makrofagów [30]. Leki te wykazują zatem dodatkowy przeciwzapalny mechanizm działania terapeutycznego.

Terapia schorzeń z towarzyszącą reakcją zapalną

W patomechanizmie schorzeń metabolicznych istotną rolę odgrywa przewlekły stan zapalny. Badania wskazują, iż pewne grupy leków stosowanych w terapii tych schorzeń również wykazują działanie przeciwzapalne, co może podnieść skuteczność leczenia. Sygnalizacja poprzez receptory PPAR γ moduluje metabolizm lipidów i węglowodanów, jak również syntezę cytokin prozapalnych [86]. Terapia chorych z cukrzycą z zastosowaniem agonistów receptorów PPAR γ , np. tiazolidynodionu, podnosi insulinowrażliwość komórek, a także hamuje towarzyszącą reakcję zapalną [136]. Telmisartan, bloker receptorów typu 1 dla angiotensyny II (AT1) pierwotnie stosowany w leczeniu nadciśnienia tętniczego, jest pozbawiony kardioprotekcyjnego działania pełnych agonistów PPAR γ , natomiast wykazuje podobne właściwości przeciwzapalne. W hodowanych ludzkich monocytach aktywowanych LPS telmisartan znacznie obniża wytwarzanie cytokin prozapalnych, PGE $_2$, ROIs oraz aktywność szlaku sygnalizacyjnego zależnego od czynnika NF- κ B. Zastosowany w hodowli komórek linii THP-1 obniża także indukowaną LPS sekrecję TNF- α i białka chemotaktycznego monocytów (MCP-1) oraz ekspresję receptora dla utlenionej postaci LDL (oxLDL) [86]. Stosowanie telmisartanu dodatkowo wzmacnia ekspresję markerów fenotypu M2, przede wszystkim CD163, CD209 oraz makrofagowej galaktozo-N-acetylogalaktozaminowoswoistej lektyny (Mgl2), a także

hamuje wytwarzanie TNF- α przez makrofagi [37]. Przeciwdziałanie telmisartanu jest blokowane przez działanie antagonistów PPAR γ , co zdaje się potwierdzać, iż jest skutkiem pobudzenia tych receptorów [86]. Duża dawka telmisartanu wzmacnia *in vivo* oraz w hodowli *in vitro* ekspresję PPAR γ na ludzkich monocytach wyizolowanych od osób z zespołem metabolicznym. Ponadto aktywuje transportery cholesterolu, co może się przyczyniać do usuwania go z makrofagów obecnych w zmianach miażdżycowych, choć pod wpływem telmisartanu zaobserwowano również wzmożoną ekspresję CD36, receptora zmiataacza dla oxLDL [8]. Natomiast leki ze wspomnianej wcześniej grupy ACEI wykazały zdolność do hamowania tworzenia komórek piankowatych w hodowli linii komórek makrofagowych THP-1 stymulowanych oxLDL [55], a także do stabilizowania blaszki miażdżycowej w eksperymentalnym modelu miażdżycy [46].

Olmesartan, przedstawiciel leków z grupy blokerów receptora AT1, ma zdolność do hamowania prozapalnych właściwości makrofagów wyrażoną w warunkach hodowlanych przez obniżenie syntezy ROIs, IL-1 β i makrofagowego białka zapalnego-2 (MIP-2), jak również *in vivo* przez złagodzenie stresu oksydacyjnego w ścianie naczyń krwionośnych u myszy knock-out dla apolipoproteiny E (ApoE $^{-/-}$) [99]. U myszy ApoE $^{-/-}$ traktowanych olmesartanem zaobserwowano również obniżenie liczby makrofagów w naczyniowych zmianach miażdżycowych oraz stężenia cytokin prozapalnych w surowicy [25]. Ponadto olmesartan hamuje aktywność metaloproteinaz macierzy (MMP) oraz zdolność do aktywacji makrofagów przez ligandy receptorów TLR2 i TLR4 [25]. Angiotensyna II przez działanie na receptory AT1 na makrofagach indukuje oksydazę NADPH i wytwarzanie ROIs. Efekt ten może być zahamowany przez działanie olmesartanu [99]. Podobne działanie przeciwzapalne wykazuje kandesartan, który w hodowanych *in vitro* ludzkich monocytach obniża indukowaną LPS ekspresję CD14, wytwarzanie TNF- α , IL-1 β , IL-6 i ROIs oraz aktywność czynnika NF- κ B [63]. Korzystne działanie przeciwzapalne tej grupy leków wykazano także w badaniach populacyjnych. U osób przewlekle stosujących losartan stwierdzono w osoczu stężenia metabolitów wystarczające do aktywacji monocytarnego/makrofagowego PPAR γ , co przyniosło dodatkowe korzyści terapeutyczne, oprócz tych, które bezpośrednio wynikają z blokady receptora AT1. Zaobserwowano również, iż podawanie losartanu istotnie zmniejszyło liczbę nowych przypadków cukrzycy niezależnie od obniżenia poziomu ciśnienia krwi wśród osób leczonych losartanem z powodu nadciśnienia [53].

Modulacja aktywności receptorów PPAR γ może mieć znaczenie także w terapii innych schorzeń. Monocyty izolowane z krwi obwodowej osób chorych na reumatoidalne zapalenie stawów, a także makrofagi różnicujące się z monocytów, wykazują istotnie wzmożoną ekspresję PPAR γ w odniesieniu do monocytów osób zdrowych. Zaproponowano, iż ekspresja PPAR γ , która jest skorelowana ze stopniem zaawansowania choroby, może być jego wskaźnikiem, jak również kryterium oceny odpowiedzi

na leczenie. Terapeutyczne dawki metotreksatu i metyloprednizonu wzmagają *in vitro* ekspresję PPARy i hamowały indukowane LPS wytwarzanie metaloproteinazy MMP9. W eksperymentalnych modelach zapalenia stawów stwierdzono działanie przeciwzapalne agonistów PPARy (np. tiazolidynodion czy rozyglitazon, stosowane pierwotnie w cukrzycy) wyrażone przez wzmożenie ekspresji markerów fenotypu M2 na makrofagach. Skutki były podobne do obserwowanych w terapii glikokortykosteroidami. Ponadto indometacyna (przedstawiciel grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych o najsilniejszym działaniu) oraz statyny zastosowane w wysokich stężeniach wykazują agonistyczne działanie na receptory PPARy [85].

Stosowanie agonistów receptora β 3-adrenergicznego w odchudzaniu, przez aktywację lipolizy zmagazynowanych triglicerydów, wzmagало rekrutację makrofagów do tkanki tłuszczowej [21], co prowadziło do indukcji stanu zapalnego towarzyszącego otyłości, zespołowi metabolicznemu i miażdżycy. Natomiast karwedilol, β_1 -bloker, hamuje akumulację makrofagów w zmianach miażdżycowych u myszy ApoE^{-/-}, podobnie jak metoprolol i propranolol, ale dodatkowo hamuje powstawanie ROIs w ścianie naczyń, których głównymi producentami zdają się być makrofagi [98]. Również N-acetylocysteina, stosowana u ludzi w napadowych bólach wieńcowych przy rozwiniętej tolerancji na nitraty, u myszy ApoE^{-/-} łagodzi przebieg miażdżycy naczyń, m.in. przez obniżenie wytwarzania ROIs i akumulacji makrofagów w blaszce miażdżycowej [100]. Stosowanie terutrobanu, leku przeciwzakrzepowego nowej generacji, który hamuje sygnalizację przez receptor tromboksanu, prowadzi do rozwoju bardzo stabilnej postaci blaszki miażdżycowej, prawdopodobnie poprzez hamowanie ekspresji molekuł adhezyjnych na makrofagach [28]. Może to mieć znaczenie w stabilizacji blaszki u osób dotkniętych miażdżycą naczyń.

Związek stosowany jako donator NO, molsydomina, wykazuje pozytywne skutki terapii dystrofii mięśniowej bezpośrednio hamując uszkodzenie tkanki związane z niedoborem NO, a pośrednio przez promowanie nacieku makrofagów o fenotypie M2, które uczestniczą w naprawie uszkodzeń tkanki mięśni [135]. Podjęto próby zastosowania chlorowodoru efedryny w terapii stanów septycznych. W mysim modelu zapalenia otrzewnej indukowanym podaniem peptydoglikanu efedryna wykazała właściwości immunomodulujące, związane z promowaniem wytwarzania IL-10 przez makrofagi otrzewnowe, wraz ze znacznym obniżeniem ich zdolności do wytwarzania cytokin prozapalnych [128].

Leki w terapii nowotworów

Istotne znaczenie ma poszukiwanie nowych strategii terapii nowotworów, m.in. w oparciu o mechanizmy modulacji aktywności komórek immunologicznych. Cyklofosfamid, jako związek o właściwościach alkilujących, w dawce 2 mg/kg masy ciała lub większej u ludzi jest stosowany w onkologii, reakcji przeszczep przeciw gospodarzowi czy

chorobach autoimmunizacyjnych. W dawce 20-100 mg/kg masy ciała u myszy (poniżej 2 mg/kg masy ciała człowieka) wykazuje natomiast właściwości immunoregulacyjne. Moduluje przebieg reakcji immunologicznych działając cytotoksycznie na aktywowane i proliferujące populacje komórek zaangażowanych w odpowiedź zapalną. Mała dawka cyklofosfamidu u myszy aktywuje prozapalny fenotyp makrofagów ze znacznym wytwarzaniem cytokin prozapalnych (IL-6, IL-12, TNF- α) oraz ekspresją molekuł kostymulujących prezentację antygeny i markerów fagocytozy, a także obniżonym wytwarzaniem cytokin przeciwzapalnych. Ponadto małe dawki cyklofosfamidu noszą supresyjną aktywność makrofagów znakowanych haptanem mediowaną przez IL-10 w ich dożylnym transferze. Makrofagi izolowane od myszy traktowanych małą dawką cyklofosfamidu wytwarzały istotnie większe ilości ROIs w porównaniu do makrofagów kontrolnych. Podawanie małych dawek cyklofosfamidu może zatem korzystnie wpływać na aktywację odpowiedzi przeciwnowotworowej i reedukację makrofagów związanych z guzem wraz z przełączeniem ich fenotypu do M1 [15,17]. Wcześniej stwierdzono, iż cyklofosfamid jest zdolny do hamowania aktywności przeciwzapalnej populacji makrofagów, a nie wpływa na populację makrofagów wykazującą fenotyp prozapalny [74].

Wzrost skuteczności terapii przeciwnowotworowej z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych obserwuje się przy zastosowaniu agonistów receptorów TLR (m.in. TLR7 i TLR8), dzięki ich zdolności do wzmożenia ekspresji Fc γ R na makrofagach naciekających guz [19]. Łączona terapia cyklofosfamidem oraz przeciwciałami monoklonalnymi α CD40 z CpG (ligand TLR) zmienia fenotyp makrofagów w guzie na M1, co istotnie wzmagá działanie przeciwnowotworowe [52]. Eksperymentalna terapia z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych α CD40 z CpG poprzedzona terapią łączoną VCD (winkrystyna, cyklofosfamid, doksorubicyna) u myszy prowadzi do reedukacji makrofagów z indukcją prozapalnego fenotypu M1 oraz wytwarzaniem IL-12 i NO [18].

Bestatyna, krótkołańcuchowy dipeptyd o właściwościach przeciwnowotworowych i immunomodulujących, w dawkach terapeutycznych wzmagá wytwarzanie IL-1 β w makrofagach stymulowanych *in vitro* LPS. Ponadto znosi hamowanie wybuchu tlenowego makrofagów obserwowane pod wpływem immunosupresyjnych dawek cyklofosfamidu i wzmagá działanie cytotoksyczne makrofagów. Natomiast w dawkach podprogowych bestatyna hamuje wytwarzanie cytokin prozapalnych i chemokin, a wzmagá wytwarzanie IL-10 oraz czynników wzrostu, pośrednio modulując hematopoezę [70].

Stosowanie inhibitorów receptorów dla czynników wzrostowych VEGF (sorafenib) w terapii nowotworu wątrobowokomórkowego nie przyniosło oczekiwanego skutku terapeutycznego i jednocześnie promowało powstawanie przerzutów. Wykazano, iż za wzmożenie zdolności nowotworu do tworzenia przerzutów odpowiedzialne było zahamowanie tworzenia IL-12 β przez makrofagi pod wpły-



wem inhibitorów angiogenezy [132]. Natomiast częstym powikłaniem terapii nowotworów bisfosfonianami jest destrukcja kości, m.in. w obrębie szczęki. Stwierdzono, że aktywacja pod wpływem IL-17 makrofagów o fenotypie M1 koreluje z natężeniem zmian chorobowych [126].

Leki w terapii schorzeń neuropsychiatrycznych i leczenia bólu

Działanie na makrofagi wykazują również leki stosowane w leczeniu silnego bólu, chorób neurologicznych i zaburzeń emocjonalnych. Mysie makrofagi izolowane od dawców traktowanych *in vivo* morfina, fentanylem i metadonem wykazują wzmożone wytwarzanie ROIs, a także obniżoną ekspresję powierzchniowych molekuł kostymulujących wraz ze zmniejszoną zdolnością do prezentacji antygeny w odpowiedzi humoralnej. Ponadto morfina i metadon aktywują fazę indukcji nadwrażliwości kontaktowej u myszy oraz wzmagają wytwarzanie IL-6 i TNF- α przez makrofagi stymulowane LPS. W fazie efektorowej metadon, w przeciwieństwie do morfiny, łagodzi objawy reakcji nadwrażliwości kontaktowej [34]. Natomiast w warunkach *in vitro* morfina hamuje chemotaksję, fagocytozę i wybuch tlenowy monocytów/makrofagów oraz indukuje apoptozę makrofagów i komórek mikrogleju [117].

Makrofagi dzięki ekspresji receptorów i białek dopaminergicznych mogą podlegać regulacji przez działanie dopaminy. Zbyt duże stężenie dopaminy utrzymujące się w centralnym systemie nerwowym w wyniku nadużywania leków może zaostrzać przebieg chorób neurologicznych w związku z zaburzeniem funkcji przeciwzapalnej makrofagów infiltrujących przez barierę krew-mózg [41]. Makrofagi wykazują również ekspresję receptorów benzodiazepinowych. Udowodniono, iż diazepam hamuje fagocytozę i aktywność mikrobójczą makrofagów oraz ich zdolność do wytwarzania cytokin. Stosowanie benzodiazepin u pacjentów z migreną i fobiami lękowymi może doprowadzić do upośledzenia odporności, a u osób z wyjściowo obniżoną odpornością może pogłębiać stan immunosupresji i spowodować rozwój ciężkich zakażeń [26].

W piśmiennictwie przedstawiono tzw. makrofagową teorię depresji, według której jedną z istotnych przyczyn jej rozwoju jest przewlekła aktywacja zapalna makrofagów. U osób chorujących na depresję zaobserwowano spadek wrażliwości receptorów na działanie glikokortykosteroidów endogennych i egzogennych, który wywołuje aktywację zapalną komórek odporności, w tym makrofagów i mikrogleju [67], co prowadzi do rozwoju pętli zapalnej pogłębiającej objawy depresji. Stosowany w terapii depresji lit w hodowli *in vitro* aktywuje fagocytozę makrofagów [69], a produkt degradacji tryptofanu, kwas pikolinowy, wzmacnia aktywność prozapalną mysich makrofagów wyrażoną wzrostem syntezy cytokin prozapalnych oraz tlenu azotu [93]. Kwas pikolinowy aktywuje także wytwarzanie chemokin, w tym MIP [14]. Działanie tych substancji może zatem pogłębiać stan zapalny. Natomiast leki z grupy antydepresantów *in vitro* hamują syntezę IL-1, IL-6, TNF- α przez makrofagi. Uważa się, iż trójcykliczne

leki przeciwdepresyjne mogą prawdopodobnie hamować wytwarzanie cytokin przez modulację szlaku zależnego od cAMP [67].

Trifluoperazyne, z grupy fenotiazyn stosowana jako lek przeciwpsychotyczny, działa antagonistycznie do kalmoduliny. Stwierdzono, że ma zdolność do akumulacji w makrofagach oraz wykazuje efektywne działanie przeciwbakteryjne. Trifluoperazyne w makrofagach zakażonych *Mycobacterium tuberculosis* ogranicza zdolność do namnażania się bakterii m.in. przez blokowanie aktywności białka podobnego do kalmoduliny w komórce drobnoustroju [1]. Należy podkreślić, iż działanie to było skuteczne w kwaśnym pH, charakterystycznym dla środowiska fagolizosomów.

Substancje pochodzenia naturalnego oraz obecnie badane związki

Niektóre z substancji pochodzenia naturalnego także zdają się wykazywać działanie lecznicze przez modulację funkcji makrofagów. W przebiegu choroby Alzheimera makrofagi pochodzące z monocytów krwi obwodowej, które infiltrują tkankę nerwową centralnego systemu nerwowego, wykazują upośledzoną zdolność do usuwania złogów amyloidu- β i jego transportu do endosomów i lizosomów, a także obniżoną ekspresję genów dla TLR i 4- β -N-acetyloglukozaminotransferazy-3. Stosowanie naturalnych kurkuminoidów, przede wszystkim bisdemetoksykurkuminy, podnosiło efektywność pochłaniania amyloidu- β przez makrofagi oraz przywracało właściwą ekspresję wspomnianych białek [20,33].

Fracja n-heksanowa ekstraktu z alg *Laminaria japonica* hamuje w makrofagach indukowanych LPS wytwarzanie NO i PGE₂ wraz z ekspresją iNOS oraz COX-2. Poprzez ujemne oddziaływanie na szlak NF- κ B hamuje także sekrecję TNF- α , IL-1 β i IL-6. Wobec tego może być uważana za potencjalny naturalny składnik spożywczy o właściwościach przeciwzapalnych [66]. Podobnie resweratrol, inhibitor proteasomów, przeciwzapalny związek obecny w składnikach diety śródziemnomorskiej, hamuje wytwarzanie NO i cytokin prozapalnych w makrofagach stymulowanych LPS [91].

Mykoepoksydien izolowany z grzybów *Diaporthe* spp. ma zdolność hamowania różnicowania makrofagów do osteoklastów zależnego od ligandu receptora aktywującego jądrowy czynnik kappa B (RANKL). Związek ten nie wykazuje toksyczności względem komórek. U myszy hamuje osteoporozę wywołaną zmianami hormonalnymi po usunięciu jajników [131]. Polifenole zawarte m.in. w czerwonym winie czy zielonej herbacie, a szczególnie galusan epigallokatechiny, wykazują działanie przeciwnowotworowe, pośrednio dzięki swoim właściwościom antyoksydacyjnym, a bezpośrednio przez hamowanie aktywności telomerazy w komórkach nowotworowych. Niedawno wykazano również, iż galusan epigallokatechiny może hamować osteoklastogenezę indukowaną *in vitro* RANKL, a także destrukcję kości indukowaną *in vivo* działa-

niem IL-1 [65]. Może to mieć znaczenie w prewencji zmian osteoporotycznych towarzyszących stanom zapalnym np. w przebiegu chorób autoimmunizacyjnych stawów.

Wybrane związki i czynniki, których mechanizmy działania terapeutycznego są dopiero poznawane w badaniach eksperymentalnych i przedklinicznych, również wykazują zdolność do modulacji funkcji makrofagów. Przebieg reakcji zapalnej w chorobie Leśniowskiego-Crohna i reumatoidalnym zapaleniu stawów jest istotnie łagodzony w wyniku eksperymentalnego zastosowania antagonistów kinazy serynowo-treoninowej TPL-2 [39]. Podstawę nowej strategii terapeutycznej w reumatoidalnym zapaleniu stawów może stanowić również blokada sygnalizacji przez receptor dla IL-21, która w mysim modelu reumatoidalnego zapalenia stawów bezpośrednio indukuje RANKL i osteoklastogenezę, zaostrażając przebieg zapalenia stawów i ich degradację [60].

Nowo syntetyzowane pochodne pirydynowo-imidazolowe mogą znaleźć potencjalne zastosowanie jako leki przeciwzapalne ze względu na aktywność hamowania wytwarzania cytokin prozapalnych. W hodowlach makrofagów stymulowanych LPS pochodne te w sposób istotny obniżyły wydzielanie IL-6 i TNF- α , a także PGE₂ poprzez hamowanie aktywności COX-2 [114]. Niedawno przeprowadzono badania mechanizmu przeciwzapalnego działania pelubiprofenu, analogu ibuprofenu, na makrofagach aktywowanych LPS. Zaobserwowano obniżenie wytwarzania PGE₂, TNF- α , IL-1 β i IL-6 oraz ekspresji iNOS w makrofagach, nie tylko w wyniku hamowania aktywności COX, ale również szlaku NF- κ B, co jest dodatkową właściwością wybranych związków z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych [101].

Inhibitory α 4-integryny wprowadzono do etapu badań klinicznych nad zastosowaniem ich w chorobach przebiegających z masywnym naciekiem leukocytarnym. Związki te zdają się również hamować sygnalizację między naczyniową molekułą adhezyjną VCAM-1 obecną na komórkach nowotworowych a α 4-integryną na makrofagach, której istotne znaczenie wykazano w promowaniu przerzutowania nowotworu piersi zależnym od makrofagów [22]. Ekspresja VCAM-1 na komórkach nowotworu piersi ułatwia przerzutowanie do tkanek bogatych w leukocyty, w tym do płuc [23], jak również ekspansję osteoklastów w mikroprzerzutach nowotworu piersi do kości [73]. Pozytywna sygnalizacja między komórkami guza a makrofagami przez wspomniane molekuly adhezyjne stymuluje przeżycie przerzutujących komórek [23], dlatego możliwość jej zablokowania potencjalnie może hamować zdolność nowotworu do tworzenia przerzutów.

Aktywność makrofagów a niepożądane działanie leków

Aktywność makrofagów może indukować lub potęgować toksyczne działanie związków leczniczych. Uszkodzenie wątroby w wyniku zatrucia paracetamolem może być mediowane przez cytokiny prozapalne wydzielane przez

komórki Browicza-Kupffera [134] oraz makrofagi infiltrujące zmienioną zapalnie tkankę wątroby. Farmakologiczne zablokowanie działania chemokiny MCP-1 zmniejsza nacieki zapalne makrofagów obserwowany m.in. w przebiegu niewydolności wątroby [7]. Wiązanie cząsteczek leków z błoną erytrocytów prowadzi często do aktywacji procesu fagocytozy przez makrofagi, co może skrócić czas życia krwinek czerwonych, a także spowodować rozwój anemii autoimmunohemolitycznej związanej z wytwarzaniem swoistych przeciwciał [40].

Sposób dostarczenia leków do komórek w istotny sposób wpływa na wzrost skuteczności terapii i ograniczanie jej działań niepożądanych. Dostarczenie leków przeciwpasożytniczych (doksorubicyny, mitomycyny C) związanych z biodegradowalnymi polimerycznymi nanocząsteczkami do mysich makrofagów zakażonych *Leishmania* spp. wydłużało czas uwalniania tych leków i obniżało ich toksyczność ogólnoustrojową, co wzmacnia efektywność i bezpieczeństwo terapii. Ponadto nanocząsteczki wydają się bardziej wydajne od liposomów i są degradowane w komórce, gdyż wchodzi w cykl kwasu cytrynowego [102].

Aktywowane makrofagi wykazują ekspresję receptora dla folianów, uważanego za jeden z markerów fenotypu M1. Leki skoniugowane z folianami są na etapie badań klinicznych. Interakcja folianów z receptorem może znacznie usprawnić dostarczenie skoniugowanych z nimi leków do komórek wykazujących ekspresję receptora. Ponadto obecność receptorów dla folianów pozwala na diagnostyczne obrazowanie skupisk makrofagów m.in. aktywowanych makrofagów synowialnych u osób chorych na reumatoidalne zapalenie stawów [120]. Cząsteczka CD163, jako jeden z makrofagowych receptorów zmiataczy i marker aktywacji fagocytarnej makrofagów, stanowi interesujący cel dla działań w kierunku wzmocnienia efektywności terapii lekami przeciwzapalnymi. W badaniach eksperymentalnych podanie deksametazonu z przeciwciałami monoklonalnymi (mAb) anty-CD163 istotnie wzmacniało efektywność pobierania leku przez makrofagi i pośrednio przyczyniało się do obniżenia działań niepożądanych terapii steroidami [32].

ROLA miRNA I EGZOSOMÓW W MODULACJI AKTYWNOŚCI MAKROFAGÓW

W ostatnich latach dostrzeżono udział różnorodnych mikropęcherzyków w transmisji cząsteczek sygnalizacyjnych (mikroRNA, mRNA, białek), które są zaangażowane w modulację wielu procesów toczących się w organizmie, w tym w regulację reakcji immunologicznych. Opisano również znaczący udział mechanizmu interferencji RNA w immunoregulacji [103]. Egzosomy wydzielane w wyniku egzocytozy przez większość komórek organizmu często zawierają cząsteczki mikroRNA (miRNA), które po dostarczeniu do komórek docelowych regulują ekspresję genów przez interferencję w procesy ich transkrypcji i translacji. Spośród komórek immunokompetentnych, również aktywność makrofagów może być modulowana i mediowana przez miRNA oraz egzosomy.



Rola egzosomów i miRNA w dojrzewaniu oraz aktywacji fenotypu makrofagów

Wykazano, że egzosomy zawierające krótkoniciowe RNA, wydzielane do osocza, śliny oraz kobiecego mleka są aktywnie pobierane przez makrofagi [64]. Stwierdzono także, iż monocyty i makrofagi mają zdolność do wydzielania mikropęcherzyków i egzosomów zawierających cząsteczki miRNA [2]. Wyniki wielu badań przyczyniają się do odkrywania nowych cząsteczek miRNA oraz ich funkcji. Szacuje się, że ekspresja 30-90% ludzkich genów jest regulowana w mechanizmie interferencji cząsteczek miRNA [87]. Dojrzewanie i różnicowanie monocytów jest regulowane m.in. przez cząsteczki miRNA-17-5p, miRNA-20a oraz miRNA-106a, które modulują ekspresję genów czynnika transkrypcyjnego AML1 oraz receptora M-CSF [36]. Cząsteczka miRNA-424 także indukuje wzrost ekspresji receptora M-CSF, co aktywuje proces różnicowania mieloidalnych komórek prekursorowych do monocytów, które następnie wędrują ze szpiku kostnego do krwi obwodowej [87]. Podczas różnicowania monocytów do makrofagów pod wpływem M-CSF dochodzi do obniżenia ekspresji miRNA-142-3p, co wiąże się ze wzrostem aktywności czynnika transkrypcyjnego Egr2 (early growth response 2) [61]. Ponadto makrofagi przez wydzielanie mikropęcherzyków transportujących miRNA, mogą odpowiadać za indukcję różnicowania naiwnych monocytów. Ten mechanizm aktywacji dojrzewania monocytów prawdopodobnie zależy od miRNA-223 [48]. Inne badania dowodzą natomiast, iż miRNA-223 hamuje ekspresję genu *NLRP3* kodującego białko zaangażowane w utrzymanie homeostazy wewnątrzkomórkowej, co w ludzkich komórkach monocytarnych hodowanych *in vitro* skutkowało zablokowaniem procesu różnicowania do makrofagów [43]. W czasie różnicowania monocytów do makrofagów zaobserwowano również ekspresję cząsteczek miRNA-29b, miRNA-146a, miRNA-155, miRNA-193b oraz miRNA-222. W makrofagach o fenotypie M1 wykazano ekspresję miRNA-125a, miRNA-155 oraz miRNA-26a, w makrofagach o fenotypie M2a miRNA-193b, natomiast w makrofagach fenotypu M2b miRNA-27a, miRNA-29b, miRNA-132, miRNA-155 i miRNA-222 [42]. Indukowana pod wpływem IL-4 aktywność miRNA-378-3p moduluje przekaznictwo sygnałów w szlaku sygnalizacyjnym czynnika Akt odpowiedzialnym między innymi za regulację proliferacji i alternatywnej aktywacji makrofagów [94]. Również miRNA *let-7c* moduluje aktywność fagocytarną i polaryzację makrofagów, promując przeciwzapalny fenotyp M2 [10]. Znaczenie tych cząsteczek miRNA w modulacji aktywności makrofagów jeszcze nie zostało dokładnie poznane i jest przedmiotem wielu badań.

Pionierskie badania nad znaczeniem regulacji odporności wrodzonej mediowanej przez cząsteczki miRNA dotyczyły ludzkiej linii monocytarnej THP-1, w której wykazano indukowaną przez LPS ekspresję miRNA-146, miRNA-132 oraz miRNA-155. Następnie opisana została ekspresja cząsteczek miRNA odpowiedzialnych za regulację wydzielania TNF- α (miRNA-16, miRNA-125b, miRNA-155, miRNA-221, miRNA-579) oraz modulujących aktywność szlaku sygnalizacji receptora TLR4 (*let-7i*, miRNA-223). Dalsze badania umożliwiły zidentyfikowanie cząsteczki miRNA odpowiedzialnej

za zahamowanie aktywności zapalnej komórek odporności wrodzonej (miRNA-146, miRNA-147, miRNA-9, miRNA-21) [125]. Ponadto komórki linii THP-1 mają zdolność wydzielania egzosomów zawierających miRNA-150 [122], jednak ich znaczenie nie zostało jak dotąd określone.

Cząsteczki miRNA, które wpływają na proces aktywacji makrofagów, modulują przebieg reakcji zapalnej. Ekspresja miRNA-155 aktywuje w makrofagach fenotyp M1 i jednocześnie blokuje możliwość indukcji fenotypu M2 przez obniżenie ekspresji receptora IL-13 [87], hamowanie sygnalizacji przez receptor IL-13 [94] i zahamowanie odpowiedzi makrofagów na TGF- β [87]. Ekspresja miRNA-101 aktywuje wydzielanie przez makrofagi M1 cytokin prozapalnych, a miRNA-125 wzmacnia w makrofagach odpowiedź na IFN- γ i ekspresję markerów charakterystycznych dla APC [87]. Jednocześnie dojrzała postać miRNA-125b-5p hamuje wytwarzanie TNF- α przez makrofagi [94]. Natomiast miRNA-146, indukowane w makrofagach przez pobudzenie receptorów TLR2, TLR4 i TLR5 [38], redukuje aktywność makrofagów M1 [87], a dojrzała cząsteczka miRNA-146a-5p na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego hamuje nadmierną reakcję zapalną [94]. miRNA-146 wykazuje również działanie tolerogenne przez obniżenie w makrofagach wytwarzania cytokin prozapalnych (TNF- α , IL-1 β oraz IL-6) [47] oraz jest negatywnym regulatorem sygnalizacji indukowanej przez ligandy receptorów TLR [109]. Stymulacja TLR4 w makrofagach indukuje także ekspresję miRNA-147, zaangażowanego w hamowanie nadmiernej reakcji zapalnej w mechanizmie sprzężenia zwrotnego ujemnego [71]. Sugeruje się, że również miRNA-203 może regulować odpowiedź makrofagów na aktywację TLR przez obniżenie ekspresji białka adaptorowego MyD88 [118]. Natomiast miRNA-21 wzmacnia funkcje przeciwzapalne makrofagów przez blokowanie działania inhibitora syntezy IL-10 [87]. LPS hamuje w makrofagach ekspresję miRNA-34a, który wykazuje działanie przeciwzapalne przez modulację wytwarzania cytokin [50]. Nowo odkryte u myszy miRNA *mmu-ca-65* działa jako negatywny regulator odpowiedzi immunologicznej, a jego ekspresja w makrofagach jest indukowana różnymi ligandami receptorów TLR w sposób zależny od NF- κ B. W wyniku blokowania działania czynnika transkrypcyjnego aktywującego szlak NF- κ B przez *mmu-ca-65*, hamowane jest wydzielanie cytokin prozapalnych, w tym TNF- α i IL-6, przez makrofagi [125]. Aktywność tego miRNA jest prawdopodobnie istotnym elementem pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego, którego celem jest wygaszenie aktywnego procesu zapalnego. Odpowiednia regulacja ekspresji cząsteczek miRNA w komórkach immunokompetentnych, w tym w makrofagach, może się przyczynić do opracowania nowoczesnych strategii modulowania reakcji zapalnej.

Modulacja funkcji biologicznych makrofagów przez egzosomy i miRNA

Biologiczna i immunologiczna aktywność makrofagów, która odpowiada za utrzymanie homeostazy oraz za przebieg wielu procesów toczących się w organizmie, może również podlegać modulacji przez działanie cząsteczek miRNA i egzosomów. Cząsteczki ATP poprzez pobudzenie kanałów

receptorowych P2X7 aktywują w mysich makrofagach egzocytosomów zawierających kaspazę-1 oraz prekursor IL-1 β , co pozwala na bardzo szybkie uczynnienie tej cytokiny w miejscu aktywacji prozapalnej makrofagów [89]. Pod wpływem ATP-zależnej aktywacji P2X7 makrofagi mogą także wydzielać egzosomy z cząsteczkami MHC klasy II na powierzchni [90], co może ułatwiać proces prezentacji antygenów i indukcji oraz organizacji odpowiedzi zapalnej. Egzosomy wydzielane przez ludzkie komórki prezentujące antygen, w tym makrofagi, zawierają enzymy niezbędne do miejscowej syntezy leukotrienów, odpowiedzialnych za rozwój i zaostrzenie objawów alergii, astmy i przewlekłych stanów zapalnych, m.in. przez promowanie migracji granulocytów [31]. Egzosomy wytwarzane pod wpływem IL-13 przez komórki epitelialne w drogach oddechowych myszy z zaindukowaną astmą stymulują różnicowanie i chemotaksję monocytów/makrofagów. Zablockowanie możliwości ich uwalniania prowadzi do zahamowania aktywacji monocytów i złagodzenia objawów astmy [58]. Regulatorowe białko sygnałowe α (signal-regulatory protein α , SIRP α) moduluje odpowiedź zapalną leukocytów. Wykazano, iż w makrofagach stymulowanych LPS obserwuje się obniżenie aktywności SIRP α mediowane przez miRNA-17, miRNA-20a oraz miRNA-106a. Dochodzi do aktywacji zapalnej makrofagów ze wzmocnieniem ich zdolności do migracji, fagocytozy i wytwarzania cytokin prozapalnych [130].

Natomiast rezolucja (wyciszenie) ostrego stanu zapalnego jest skutkiem np. aktywacji wytwarzania resolwin, m.in. pod wpływem niewielkich dawek aspiryny [57]. Zaobserwowano, iż resolwina D1 wzmacnia ekspresję miRNA-219 oraz miRNA-208a. Ponadto wzrost ekspresji miRNA-208 w ludzkich makrofagach pochodzących z monocytów koreluje ze wzmocnionym wytwarzaniem IL-10 [57]. Natomiast w ludzkich monocytach różnicujących do makrofagów o fenotypie M1 miRNA-9 reguluje ekspresję receptora PPAR δ , który jest zaangażowany w odpowiedź przeciwzapalną makrofagów [112]. Również witamina D $_3$ ma właściwości immunomodulujące. W makrofagach hamuje ekspresję miRNA-155, prowadząc do aktywacji białka supresorowego SOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1). Dochodzi do zahamowania reakcji zapalnej mediowanej przez makrofagi [24].

Nowo odkryty mechanizm supresji nadwrażliwości kontaktowej u myszy mediowany jest przez limfocyty T CD8+ supresyjne, które wydzielają regulacyjne egzosomy zawierające miRNA-150 (czynnik T supresyjny) [16]. Makrofagi zdają się pośredniczyć w przekazywaniu sygnału supresji limfocytom efektorowym reakcji nadwrażliwości kontaktowej. Ponadto egzosomalny czynnik T supresyjny jest zdolny do modulacji wytwarzania ROIs przez makrofagi [82], a także ich zdolności do indukcji odpowiedzi humoralnej skierowanej przeciwko antygenom korpuskularnym.

Różne czynniki endokrynne regulują odpowiedź makrofagów. Silnymi czynnikami immunosupresyjnymi są m.in. hormony kortykosteroidowe. Progesteron obniża reaktywność makrofagów indukowaną przez ligandy receptorów TLR przez zahamowanie ekspresji miRNA-155, co wpływa na obniżenie wytwarzania cytokin prozapalnych [109]. Stan

supresji układu immunologicznego pod wpływem progesteronu obserwowany jest m.in. w okresie ciąży i może wynikać ze zmienionej ekspresji regulacyjnych cząsteczek miRNA w mechanizmie działania endogennego progesteronu [109]. Egzosomy wydzielane przez łożysko rekrutują monocyty i stymulują ich dojrzewanie do makrofagów o fenotypie prozapalnym [5]. Fibronektyna na powierzchni egzosomów wydzielanych przez ludzki trofoblast w I trymestrze ciąży indukuje sekrecję IL-1 β przez makrofagi bez internalizacji egzosomów trofoblastu. Makrofagowa IL-1 β jest jednym z niezbędnych mediatorów rekrutacji komórek immunologicznych i prawidłowego formowania się łożyska [6], które stanowi barierę ochronną dla rozwijającego się płodu.

Immunologiczne funkcje makrofagów w centralnym systemie nerwowym pełni głównie mikroglej, jako populacja wyspecjalizowanych rezydualnych makrofagów tkankowych o fenotypie przeciwzapalnym. Dla aktywowanego mikrogleju natomiast charakterystyczna jest ekspresja miRNA-124, którego aktywność w komórkach mikrogleju prowadzi do obniżenia ekspresji MHC klasy II i molekuł stymulujących oraz zahamowania wytwarzania TNF- α i IL-6 [87], co zdaje się stanowić element sprzężenia zwrotnego ujemnego, który odpowiada za supresję reakcji immunologicznej i utrzymanie stanu tolerancji w obrębie centralnego systemu nerwowego. Makrofagi transfekowane *in vitro* plazmidowym DNA kodującym katalazę podane myszom wydzielały egzosomy zawierające podany materiał genetyczny, jak również zsyntetyzowane białko enzymatyczne [44]. Egzosomy, po pobraniu przez neurony, aktywowały w tych komórkach syntezę katalazy, która pełni funkcję neuroprotekcijną. Zredukowano przebieg reakcji zapalnej i uzyskano poprawę sprawności motorycznej u myszy z indukowanym modelem choroby Parkinsona [44].

W makrofagach kostnych różnicowanie się komórek prekursorowych do osteoklastów wydaje się pozostawać pod kontrolą cząsteczek miRNA. miRNA-21 stymuluje osteoklastogenezę indukowaną RANKL. Również miRNA-223 jest odpowiedzialny za regulację osteoklastogenezy [97], przez pośredni wpływ na ekspresję błonową receptora dla M-CSF, którego aktywacja mediuje proces różnicowania komórek prekursorowych w kierunku osteoklastów [121]. Ekspresję miRNA-223 wykazano także w komórkach synowialnych osób chorujących na reumatoidalne zapalenie stawów, w tym w makrofagach. W hodowlach *in vitro* wykazano jednak, iż nadekspresja miRNA-223 blokuje osteoklastogenezę, co pośrednio może się przyczyniać do zahamowania procesu destrukcji kości u osób z zapaleniem stawów [97]. Natomiast miRNA-146, jako negatywny regulator procesu zapalnego i osteoklastogenezy [97], wydaje się pełnić bezpośrednią funkcję ochronną dla mikrośrodowiska kostno-stawowego.

Rola egzosomów i miRNA modulujących aktywność makrofagów w chorobach metabolicznych

Obserwowane w otyłości obniżenie ekspresji miRNA-146 w monocytach jest skorelowane z upośledzeniem prze-



ciwzpalnego działania adiponektyny oraz rozwojem stresu oksydacyjnego [47]. Natomiast indukowana pod wpływem IL-4 ekspresja miRNA-7a-1 (let7a-1) hamuje zależną od IL-4 fuzję makrofagów do wielojądrowych komórek olbrzymich [108], których obecność wykazuje się w przebiegu miażdżycy i otyłości. Mechanizm regulacyjny z udziałem miRNA-223 hamuje aktywację fenotypu M1 makrofagów u osób przyjmujących dietę bogatą w tłuszcze nasycone, co w pewnym stopniu przeciwdziała rozwojowi stanu zapalnego [133]. Jednak pobieranie przez monocyty egzosomów wydzielanych przez tkankę tłuszczową skutkuje aktywacją prozapalną tych komórek i rozwojem oporności insulinowej [29]. Wykazano jednak, iż galektyna-5 obecna na powierzchni szczyrków egzosomów pochodzenia retikulocytarnego hamuje internalizację pęcherzyków z błoną makrofagów [11]. Obserwacja ta może się przyczynić do wypracowania strategii hamowania internalizacji egzosomów i niepożądanego aktywacji makrofagów przez zawarte w nich cząsteczki.

Opisano również ochronną rolę miRNA-193b oraz miRNA-126, których ekspresja koreluje z obniżeniem wytwarzania CCL2 przez makrofagi i adipocyty oraz ekspresji α -X-integriny, markera aktywacji prozapalnej makrofagów. miRNA-126, przez związanie sekwencji mRNA dla CCL2, hamuje syntezę chemokiny, która indukuje nacieki komórek immunologicznych w obrębie tkanki tłuszczowej i promuje rozwój zapalenia towarzyszącego otyłości. Zahamowanie ekspresji miRNA-126 i miRNA-193b obserwowane jest w białej tkance tłuszczowej osób otyłych [4]. Modulacja ekspresji wspomnianych cząsteczek miRNA mogłaby mieć korzystny wpływ przez hamowanie stanu zapalnego towarzyszącego zespołowi metabolicznemu.

Utloniona postać LDL (oxLDL), podobnie jak IFN- γ , indukuje w makrofagach ekspresję miRNA-155. U myszy ApoE^{-/-} z dodatkowym niedoborem miRNA-155 zaobserwowano redukcję nacieku makrofagów w obrębie zmian miażdżycowych w porównaniu do myszy ApoE^{-/-} bez upośledzenia funkcji miRNA-155. Ponadto utrata miRNA-155 w makrofagach blaszki miażdżycowej redukuje stężenie CCL2, która jest odpowiedzialna za rekrutację monocytów do blaszki, a obecność miRNA-155 wzmacnia przebieg reakcji zapalnej w ścianie naczyń krwionośnych [80]. Zastosowanie u myszy ApoE^{-/-} antagonisty miRNA-342-5p spowalnia powstawanie zmian miażdżycowych oraz hamuje miRNA-155-zależną prozapalną aktywację makrofagów [119]. Natomiast ligandy receptorów wątrobowych X (LXR) wzmagają w makrofagach ekspresję miRNA-144, które zdaje się regulować metabolizm cholesterolu i jego pochłanianie przez makrofagi [92].

Aktywacja TLR4 obniża w makrofagach ekspresję miRNA-107, którego ekspresja jest wzmożona w mysich modelach otyłości i oporności insulinowej. Sekwencja docelowa dla miRNA-107 jest obecna w genie dla czynnika CDK6, który jest odpowiedzialny m.in. za migrację komórek, a także w genie dla kawedyny-1 (cavedin-1). Białko to jest zaangażowane w rozwój oporności insu-

linowej, a w makrofagach dodatkowo w regulację ekspresji powierzchniowej receptorów CD14 i CD36. Ponadto kawedyna-1 wiąże się z receptorem TLR4, dochodzi do osłabienia sygnalizacji indukowanej w makrofagach przez LPS. Zatem miRNA-107 obniżając w makrofagach ekspresję kawedyny-1 może zahamować rozwój tolerancji na LPS, a także może się przyczyniać do rozwoju przewlekłej aktywacji prozapalnej makrofagów indukowanej ligandami TLR4 [35].

Modulacja funkcji makrofagów w przebiegu nowotworów i zakażeń przez egzosomy oraz cząsteczki miRNA

Uważa się, iż komórki nowotworowe prawdopodobnie komunikują się z makrofagami towarzyszącymi nowotworom (tumor associated macrophages, TAMs) nie tylko przez kontakt bezpośredni czy cytokinowy, ale także przez wydzielane mikropęcherzyki transportujące m.in. mRNA do monocytów krwi obwodowej [9]. Jednym z potencjalnych mechanizmów promocji wzrostu i przerzutowania nowotworów przez TAMs może być zaobserwowana w nowotworze piersi sygnalizacja przez egzosomy pochodzenia makrofagowego, które dostarczają do komórek nowotworu cząsteczki miRNA odpowiedzialne za stymulację inwazyjności. Wydzielane w hodowli egzosomy zawierały cząsteczki miRNA-223 charakterystyczne dla alternatywnie aktywowanych makrofagów, które mogą promować inwazyjność komórek nowotworowych [123]. Ponadto zaobserwowano, iż poziom ekspresji miRNA-92a w komórkach nowotworu piersi wykazywał odwrotną korelację do liczby makrofagów naciekających guz [84], co zdaje się wskazywać na udział miRNA w interakcjach komórek nowotworowych i immunologicznych.

Ekspresja miRNA-223 hamuje wytwarzanie IL-1 β przez makrofagi. Podobnie działają wirusowe cząsteczki RNA wydzielane i transportowane m.in. egzosomalnie przez zainfekowane limfocyty B. Obserwowane jest znaczne upośledzenie odporności przeciwwirusowej [43]. Egzosomy wydzielane przez limfocyty B zakażone wirusem Epsteina-Barr zawierają miRNA pochodzenia wirusowego i hamują cytotoksyczność monocytów oraz makrofagów [106]. Aktywność miRNA-4661 pośrednio wzmacnia sekrecję IL-10, natomiast bezpośrednio hamuje wydzielanie IFN- α/β w makrofagach zakażonych wirusami, przez co zdaje się hamować przeciwwirusową odpowiedź makrofagów [68]. Przez ligandy receptorów TLR3 i TLR9 oraz IFN- α/β w makrofagach indukowana jest ekspresja miRNA-155 [78], który, przez indukcję ich fenotypu prozapalnego, może potęgować odpowiedź przeciwwirusową makrofagów.

Namnażające się w zakażonych makrofagach wirusy ludzkiego niedoboru odporności (HIV) są upakowywane do egzosomów, które po egzocytozie do otoczenia ułatwiają zakażanie następnych makrofagów [83]. W monocytach i makrofagach zaobserwowano obecność cząsteczek tzw. anty-HIV-1 miRNA (miRNA-28, miRNA-125b, miRNA-150 oraz miRNA-382) [88,116,117]. Stwierdzono

wyższą ekspresję tych cząsteczek miRNA w monocytach w porównaniu z makrofagami, co czyni komórki monocytarne bardziej odpornymi na zakażenie [116]. Cząsteczki te wykazują zdolność do regulacji zakaźności i stanu latencji wirusa. Modułacja ich ekspresji wpływa na odporność monocytów/makrofagów na zakażenie wirusem HIV oraz na ciężkość przebiegu infekcji. Morfina w hodowli ludzkich monocytów obniżała ekspresję anty-HIV miRNA przez działanie na receptory mi [88]. Hamuje także ekspresję anty-HIV miRNA indukowaną interferonem. Cząsteczki miRNA hamują replikację wirusowego materiału genetycznego w makrofagach [117]. Podobnie obniżoną ekspresję cząsteczek miRNA wykazują monocyty izolowane z krwi osób uzależnionych od heroiny. Morfina wzmacnia dodatkowo ekspresję receptora CCR5 dla chemokin na powierzchni monocytów, makrofagów i komórek mikrogleju, który jest jednym z koreceptorów umożliwiających wejście wirusa HIV do komórki gospodarza [88]. Dlatego uważa się, iż morfina wzmacnia podatność makrofagów na zakażenie wirusem HIV. Zastosowanie antagonistów receptora mi, np. naltreksonu, odwraca niekorzystne działanie terapii morfiną [117]. Ponadto w monocytach/makrofagach nosicieli wirusa HIV przyjmujących morfinę wykazano wzrost ekspresji miRNA-15b i zahamowanie miRNA-181b. Działanie morfiny może się przyczyniać również do indukcji nacieku zakażonych makrofagów do centralnego systemu nerwowego i szerzenia zmian neurologicznych [27]. Natomiast aktywacja TLR3 w makrofagach przez poli I:C hamuje zdolność do zakażenia makrofagów i do replikacji wirusa HIV, przez indukcję białek przeciwwirusowych, w tym IFN- α/β , a także ekspresji wcześniej wymienionych cząsteczek uważanych za anty-HIV miRNA. Ponadto wzmacnia syntezę chemokinowych ligandów dla wspomnianego wyżej receptora CCR5, których nadmiar blokuje możliwość wejścia wirusa do komórki. Uważa się, że dodatkowa stymulacja ligandami TLR3 będzie korzystna w terapii zakażenia HIV [129].

Ekspresja miRNA-92a w makrofagach jest hamowana w odpowiedzi na stymulację TLR, co pozwala na rozwinięcie reakcji zapalnej z wytwarzaniem cytokin prozapalnych [62]. Natomiast za rozwój tolerancji makrofagów na LPS indukowanej przewlekłą stymulacją TLR4 najprawdopodobniej odpowiada miRNA-146a, którego nadekspresja obserwowana jest w makrofagach podczas zakażeń bakteryjnych i pod działaniem IL-1 β oraz TNF- α [78]. LPS izolowany ze ściany *Porphyromonas gingivalis* indukuje w makrofagach ekspresję miRNA-146a, podobnie jak LPS *E. coli*, co również może się przyczyniać do rozwoju tolerancji na LPS. Ponadto LPS indukuje ekspresję miRNA-9 oraz miRNA-155 w makrofagach [45]. Podobnie, kilkukrotna stymulacja TLR2 *in vitro* przez peptydoglikan natychmiast wzmacnia ekspresję miRNA-132 oraz miRNA-212 w makrofagach, co prowadziło do indukcji tolerancji mediowanej przez te cząsteczki miRNA [79].

W hodowli makrofagów wykazano, iż kontakt z *Candida albicans* indukuje ekspresję miRNA-155, miRNA-125a, miRNA-146a oraz miRNA-455 w sposób zależny od aktywa-

cji NF- κ B [75]. Podobnie zakażenie *Listeria monocytogenes* indukuje w mysich makrofagach ekspresję miRNA-155, miRNA-125a, miRNA-146a oraz miRNA-149 [96]. Natomiast egzosomy *Cryptococcus neoformans* aktywują wzrost wytwarzania cytokin przeciwzapalnych przez makrofagi, jak również tlenu azotu, który jest toksyczny dla komórek grzyba [106].

Makrofagi zakażone patogenami wewnątrzkomórkowymi mają zdolność do wydzielania egzosomów zawierających na powierzchni cząsteczki wzorców molekularnych budowy patogennej (PAMPs). Egzosomy te ułatwiają indukcję odpowiedzi przeciwzakaźnej makrofagów niezakażonych, przez aktywację ich TLR, która wywołuje wytwarzanie IL-12 i TNF- α [13]. Zaobserwowano również, iż egzosomy wydzielane przez mysie makrofagi zakażone *Mycobacterium* spp. są zdolne do rekrutacji i aktywacji komórek immunologicznych, w tym naiwnych makrofagów, a także do indukcji wytwarzania cytokin prozapalnych (TNF- α) oraz chemokin (CCL5, MIP). Jednocześnie egzosomy blokują odpowiedź makrofagów na IFN- γ [107]. Ponadto związki lipidowe prątków gruźlicy obecne w błonie egzosomów indukują w makrofagach proces różnicowania do wielojądrowych komórek olbrzymich, promując tworzenie ziarniaków [107]. Wykazano również, iż *Mycobacterium* spp. modulują aktywność fagocytarną makrofagów przez indukcję miRNA-142-3p, które unieczynnia białko wiążące aktyne, co w konsekwencji upośledza fagocytozę bakterii [12]. Makrofagi zakażone *M. tuberculosis* wykazują nadekspresję miRNA-155. Hamowanie aktywności miRNA-155 utrudnia przeżycie prątków w makrofagach. miRNA-155 w makrofagach hamuje aktywność COX-2 i IL-6 oraz pośrednio aktywuje hemooksygenazę-1, która prawdopodobnie jest odpowiedzialna za przejście prątków w postać spoczynkową [59]; miRNA-155 wykazuje działanie anty-apoptotyczne. W makrofagach zakażonych *Helicobacter pylori* wzrasta ekspresja miRNA-155 [54], co może wpływać na wzrost przeżywalności zakażonych makrofagów. Natomiast zakażenie makrofagów *Brucella* spp. zmienia profil ekspresji cząsteczek miRNA w makrofagach, co przyczynia się do rozwoju przewlekłej postaci brucelozy. W hodowli komórek linii RAW w odpowiedzi na zakażenie *Brucella* spp. zaobserwowano wzmożoną ekspresję miRNA-1981, który również hamuje procesy apoptotyczne w komórce [127].

Supresja odpowiedzi makrofagów w przebiegu leiszmaniozy może być wynikiem zaburzenia szlaków sygnalizacji wewnątrzkomórkowej przez cząsteczki wytwarzane w mikropęcherzykach wewnątrzkomórkowych przez *Leishmania* spp. Zainfekowane makrofagi wytwarzają wówczas IL-10, zamiast cytokin prozapalnych [106]. *Leishmania* spp. Indukuje również wydzielanie przez zakażone makrofagi egzosomów, które następnie są pochłaniane przez naiwne makrofagi i stymulują je do wytwarzania IL-8 odpowiedzialnej za migrację neutrofilów [105], które mogą mediować odpowiedź przeciwzakaźną.

W badaniach eksperymentalnych podejmowane są także próby modulacji aktywności makrofagów przez egzogen-



ne cząsteczki siRNA dostarczane do komórek różnymi drogami. Niedawno porównano skuteczność, wydajność oraz potencjalną toksyczność kilku nośników siRNA, które wyciszało ekspresję genu TNF- α w makrofagach [49]. Wykazano, iż aktywność zapalna makrofagów może podlegać regulacji w wyniku interferencji RNA przez związane z nośnikami siRNA nawet po podaniu doustnym [3].

Różnorodne cząsteczki miRNA są zaangażowane zarówno w pozytywną, jak i w negatywną regulację reakcji zapalnej mediowanej przez makrofagi. Podobnie mikropęcherzyki i egzosomy transportujące różnorodne czynniki regulacyjne, enzymy czy receptory i cząsteczki sygnałowe mają zdolność do modulowania funkcji makrofagów, modulując pozytywne lub negatywne mechanizmy regulacji stanu homeostazy organizmu.

PODSUMOWANIE

Makrofagi charakteryzują się ekspresją różnorodnych cząsteczek i receptorów, a ich aktywność podlega regulacji przez wiele różnorodnych czynników endo- i egzogenych. Możliwość modulowania aktywności makrofagów oraz ich aktualnego fenotypu staje się obiecującym celem strategii terapeutycznych wielu schorzeń.

Makrofagi są populacją komórek docelowych immunosupresyjnego działania glikokortykosteroidów egzogenych. Podobnie jak dla wielu leków przeciwzapalnych,

których działanie terapeutyczne wywierane jest przez bezpośrednie lub pośrednie wpływanie na makrofagi. Ponadto niektóre leki przeciwnowotworowe oraz stosowane w terapii schorzeń metabolicznych czy neuropsychiatrycznych również mają zdolność do wzmagania lub hamowania wybranych funkcji makrofagów, co może dodatkowo podnosić efektywność terapii.

Negatywna regulacja reakcji zapalnej mediowanej przez makrofagi zależy przede wszystkim od ekspresji cząsteczek miRNA-146a oraz miRNA-147, natomiast miRNA-155 jest głównym aktywatorem prozapalnego fenotypu makrofagów. Dojrzewanie komórek prekursorowych do monocytów/makrofagów oraz osteoklastów jest natomiast wynikiem aktywności miRNA-223. Zidentyfikowano wiele cząsteczek miRNA, które regulują aktywację makrofagów w przebiegu nowotworów, zakażeń oraz chorób metabolicznych i neuroendokrynnych. Natomiast ekspresja cząsteczek miRNA-28, miRNA-125b, miRNA-150 oraz miRNA-382 czyni monocyty/makrofagi bardziej odpornymi na zakażenie wirusem HIV.

W pracy podjęto próbę zebrania aktualnej wiedzy dotyczącej możliwości modulowania funkcji makrofagów przez substancje lecznicze oraz cząsteczki miRNA i egzosomy. Mediatorzy te wykazują silne właściwości modulujące aktywność makrofagów, a mechanizmy ich działania i potencjalne nowe zastosowania w terapii są tematem wielu badań podstawowych i klinicznych.

PIŚMIENICTWO

- [1] Advani M.J., Siddiqui I., Sharma P., Reddy H.: Activity of trifluoperazine against replicating, non-replicating and drug resistant *M. tuberculosis*. *PLoS One*, 2012; 7: e44245
- [2] Akao Y., Iio A., Itoh T., Noguchi S., Itoh Y., Ohtsuki Y., Naoe T.: Microvesicle-mediated RNA molecule delivery system using monocytes/macrophages. *Mol. Ther.*, 2011; 19: 395-399
- [3] Aouadi M., Tesz G.J., Nicoloso S.M., Wang M., Chouinard M., Soto E., Ostroff G.R., Czech M.P.: Orally delivered siRNA targeting macrophage Map4k4 suppresses systemic inflammation. *Nature*, 2009; 458: 1180-1184
- [4] Arner E., Mejhert N., Kulyte A., Balwierz P.J., Pachkov M., Cormont M., Lorente-Cebrian S., Ehrlund A., Laurencikiene J., Heden P., Dahlman-Wright K., Tanti J.F., Hayashizaki Y., Ryden M., Dahlman I., van Nimwegen E., Daub C.O., Arner P.: Adipose tissue microRNAs as regulators of CCL2 production in human obesity. *Diabetes*, 2012; 61: 1986-1993
- [5] Atay S., Gercel-Taylor C., Suttles J., Mor G., Taylor D.D.: Trophoblast-derived exosomes mediate monocyte recruitment and differentiation. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2011; 65: 65-77
- [6] Atay S., Gercel-Taylor C., Taylor D.D.: Human trophoblast-derived exosomal fibronectin induces pro-inflammatory IL-1 β production by macrophages. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2011; 66: 259-269
- [7] Baeck C., Wehr A., Karlmark K.R., Heymann F., Vucur M., Gassler N., Huss S., Klussmann S., Eulberg D., Luedde T., Trautwein C., Tacke F.: Pharmacological inhibition of the chemokine CCL2 (MCP-1) diminishes liver macrophage infiltration and steatohepatitis in chronic hepatic injury. *Gut*, 2012; 61: 416-426
- [8] Bahr I.N., Tretter P., Kruger J., Stark R.G., Schimkus J., Unger T., Kappert K., Scholze J., Parhofer K.G., Kintscher U.: High-dose treatment with telmisartan induces monocytic peroxisome proliferator-activated receptor- γ target genes in patients with the metabolic syndrome. *Hypertension*, 2011; 58: 725-732
- [9] Baj-Krzyworzeka M., Szatanek R., Weglarczyk K., Baran J., Zembla M.: Tumour-derived microvesicles modulate biological activity of human monocytes. *Immunol. Lett.*, 2007; 113: 76-82
- [10] Banerjee S., Xie N., Cui H., Tan Z., Yang S., Icyuz M., Abraham E., Liu G.: MicroRNA let-7c regulates macrophage polarization. *J. Immunol.*, 2013; 190: 6542-6549
- [11] Barres C., Blanc L., Bette-Bobillo P., Andre S., Mamoun R., Gabius H.J., Vidal M.: Galectin-5 is bound onto the surface of rat reticulocyte exosomes and modulates vesicle uptake by macrophages. *Blood*, 2010; 115: 696-705
- [12] Bettencourt P., Marion S., Pires D., Santos L.F., Lastrucci C., Carmo N., Blake J., Benes V., Griffiths G., Neyrolles O., Lugo-Villario G., Anes E.: Actin-binding protein regulation by microRNAs as a novel microbial strategy to modulate phagocytosis by host cells: the case of *N-Wasp* and miR-142-3p. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2013; 3: 1-17
- [13] Bhatnagar S., Shinagawa K., Castellino F.J., Schorey J.S.: Exosomes released from macrophages infected with intracellular pathogens stimulate a proinflammatory response in vitro and in vivo. *Blood*, 2007; 110: 3234-3244
- [14] Bosco M.C., Rapisarda A., Massazza S., Melillo G., Young H., Varesio L.: The tryptophan catabolite picolinic acid selectively induces

the chemokines macrophage inflammatory protein-1 α and -1 β in macrophages. *J. Immunol.*, 2000; 164: 3283-3291

[15] Bryniarski K.: The influence of cyclophosphamide on immune function of murine macrophages. *W: Pharmacology. Red.: L. Gallelli. InTech, Rijeka 2012, 143-160*

[16] Bryniarski K., Ptak W., Jayakumar A., Püllmann K., Caplan M., Chairoungdua A., Lu J., Adams B., Sikora E., Nazimek K., Marquez S., Kleinstein S.H., Sangwung P., Iwakiri Y., Delgado E., Redegeld F., Blokhuis B.R., Wojcikowski J., Daniel A.W., Groot Kormelink T., Askenase P.W.: Antigen specific, antibody coated, exosome-like nanovesicles deliver suppressor T-cell miRNA-150 to effector T cells to inhibit contact sensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013; 132: 170-181

[17] Bryniarski K., Szczepanik M., Ptak M., Zemelka M., Ptak W.: Influence of cyclophosphamide and its metabolic products on the activity of peritoneal macrophages in mice. *Pharmacol. Rep.*, 2009; 61: 550-557

[18] Buhtoiarov I.N., Sondel P.M., Wigginton J.M., Buhtoiarova T.N., Yanke E.M., Mahvi D.A., Rakhmievich A.L.: Anti-tumour synergy of cytotoxic chemotherapy and anti-CD40 plus CpG-ODN immunotherapy through repolarization of tumour-associated macrophages. *Immunology*, 2011; 132: 226-239

[19] Butchar J.P., Mehta P., Justiniano S.E., Guenterberg K.D., Kondadasula S., Mo X., Chemudupati M., Kanneganti T., Amer A., Muthasamy N., Jarjoura D., Marsh C.B., Carson W.E., Byrd J.C., Tridandapani S.: Reciprocal regulation of activating and inhibitory Fc γ receptors by TLR7/8 activation: implications for tumor immunotherapy. *Clin. Cancer Res.*, 2010; 16: 2065-2075

[20] Cashman J.R., Ghirmai S., Abel K.J., Fiala M.: Immune defects in Alzheimer's disease: new medications development. *BMC Neurosci.*, 2008; 9 (Suppl. 2): S13

[21] Chawla A., Nguyen K.D., Goh Y.P.: Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011; 11: 738-749

[22] Chen Q., Massague J.: Molecular pathways: VCAM-1 as a potential therapeutic target in metastasis. *Clin. Cancer Res.*, 2012; 18: 5520-5525

[23] Chen Q., Zhang X.H., Massague J.: Macrophage binding to receptor VCAM-1 transmits survival signals in breast cancer cells that invade the lungs. *Cancer Cell*, 2011; 20: 538-549

[24] Chen Y., Liu W., Sun T., Huang Y., Wang Y., Deb D.K., Yoon D., Kong J., Thadhani R., Li Y.C.: 1,25-dihydroxyvitamin D promotes negative feedback regulation of TLR signaling via targeting microRNA-155-SOCS1 in macrophages. *J. Immunol.*, 2013; 190: 3687-3695

[25] Cheng X.W., Song H., Sasaki T., Hu L., Inoue A., Bando Y.K., Shi G-P., Kuzuya M., Okumura K., Murohara T.: Angiotensin type 1 receptor blocker reduces intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Hypertension*, 2011; 57: 981-989

[26] Covelli V., Maffione A.B., Nacci C., Tato E., Jirillo E.: Stress, neuropsychiatric disorders and immunological effects exerted by benzodiazepines. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 1998; 20: 199-209

[27] Dave R.S., Khalili K.: Morphine-treatment of human monocyte-derived macrophages induces differential miRNA and protein expression: impact on inflammation and oxidative stress in the central nervous system. *J. Cell. Biochem.*, 2010; 110: 834-845

[28] Davi G., Santilli F., Vazzana N.: Thromboxane receptors antagonists and/or synthase inhibitors. *W: Antiplatelet Agents, Handbook of Experimental Pharmacology. Red.: P. Gresele. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2012; 210: 261-286*

[29] Deng Z., Poliakov A., Hardy R.W., Clements R., Liu C., Liu Y., Wang J., Xiang X., Zhang S., Zhuang X., Shah S.V., Sun D., Michalek S., Grizzle W.E., Garvey T., Mobley J., Zhang H.: Adipose tissue exosome-like vesicles mediate activation of macrophage-induced insulin resistance. *Diabetes*, 2009; 58: 2498-2505

[30] Donnelly L.E., Tudhope S.J., Fenwick P.S., Barnes P.J.: Effects of formoterol and salmeterol on cytokine release from monocyte-derived macrophages. *Eur. Res. J.*, 2010; 36: 178-186

[31] Esser J., Gehrman U., D'Alexandri F.L., Hidalgo-Estevéz A.M., Wheelock C.E., Scheynius A., Gabrielsson S., Radmark O.: Exosomes from human macrophages and dendritic cells contain enzymes for leukotriene biosynthesis and promote granulocyte migration. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010; 126: 1032-1040

[32] Etzerodt A., Moestrup S.K.: CD163 and inflammation: biological, diagnostic and therapeutic aspects. *Antioxid. Redox Signal.*, 2013; 18: 2352-2363

[33] Fiala M., Liu P.T., Espinosa-Jeffrey A., Rosenthal M.J., Bernard G., Ringman J.M., Sayre J., Zhang L., Zaghi J., Dejbakhsh S., Chiang B., Hui J., Mahanian M., Baghaee A., Hong P., Cashman J.: Innate immunity and transcription of MGAT-III and Toll-like receptors in Alzheimer's disease patients are improved by bisdemethoxycurcumin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 12849-12854

[34] Filipczak-Bryniarska I., Nowak B., Sikora E., Nazimek K., Wo-roń J., Wordliczek J., Bryniarski K.: The influence of opioids on the humoral and cell-mediated immune responses in mice. The role of macrophages. *Pharmacol. Rep.*, 2012; 64: 1200-1215

[35] Foley N.H., O'Neill L.A.: miR-107: a Toll-like receptor-regulated miRNA dysregulated in obesity and type II diabetes. *J. Leukoc. Biol.*, 2012; 92: 521-527

[36] Fontana L., Pelosi E., Greco P., Racanicchi S., Testa U., Liuzzi F., Croce C.M., Brunetti E., Grignani F., Peschle C.: MicroRNAs 17-5p-20a-106a control monocytopoiesis through AML1 targeting and M-CSF receptor upregulation. *Nat. Cell Biol.*, 2007; 9: 775-787

[37] Fujisaka S., Usui I., Kanatani Y., Ikutani M., Takasaki I., Tsuneyama K., Tabuchi Y., Bukhari A., Yamazaki Y., Suzuki H., Senda S., Aminuddin A., Nagai Y., Takatsu K., Kobayashi M., Tobe K.: Telmisartan improves insulin resistance and modulates adipose tissue macrophage polarization in high-fat-fed mice. *Endocrinology*, 2011; 152: 1789-1799

[38] Gantier M.P., Sadler A.J., Williams B.R.: Fine-tuning of the innate immune response by microRNAs. *Immunol. Cell Biol.*, 2007; 85: 458-462

[39] Gantke T., Sriskantharajah S., Ley S.C.: Regulation and function of TPL-2, an I κ B kinase-regulated MAP kinase kinase kinase. *Cell Res.*, 2011; 21: 131-145

[40] Garratty G.: Drug-induced immune hemolytic anemia. *Hematology*, 2009; 2009: 73-79

[41] Gaskill P.J., Carvallo L., Eugenin E.A., Berman J.W.: Characterization and function of the human macrophage dopaminergic system: implications for CNS disease and drug abuse. *J. Neuroinflammation*, 2012; 9: 203-218

[42] Graff J.W., Dickson A.M., Clay G., McCaffrey A.P., Wilson M.E.: Identifying functional microRNAs in macrophages with polarized phenotypes. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 21816-21825

[43] Haneklaus M., Gerlic M., Kurowska-Stolarska M., Rainey A., Pich D., McInnes I.B., Hammerschmidt W., O'Neill L.A., Masters S.L.: Cutting edge: miR-223 and EBV miR-BART15 regulate the NLRP3 inflammasome and IL-1 β production. *J. Immunol.*, 2012; 189: 3795-3799

[44] Haney M.J., Zhao Y., Harrison E.B., Mahajan V., Ahmed S., He Z., Suresh P., Hingtgen S.D., Klyachko N.L., Mosley R.L., Gendelman H.E., Kabanov A.V., Batrakova E.V.: Specific transfection of inflamed brain by macrophages: a new therapeutic strategy for neurodegenerative diseases. *PLoS One*, 2013; 8: e61852

[45] Honda T., Takahashi N., Miyauchi S., Yamazaki K.: *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide induces miR-146a without altering the production of inflammatory cytokines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2012; 420: 918-925

[46] Hotchi J., Hoshiga M., Takeda Y., Yuki T., Fujisaka T., Ishihara T., Hanafusa T.: Plaque-stabilizing effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor and/or angiotensin receptor blocker in a rabbit plaque model. *J. Atheroscler. Thromb.*, 2012; 20: 257-266



- [47] Hulsmans M., Van Dooren E., Mathieu C., Holvoet P.: Decrease of miR-146b-5p in monocytes during obesity is associated with loss of the anti-inflammatory but not insulin signaling action of adiponectin. *PLoS One*, 2012; 7: e32794
- [48] Ismail N., Wang Y., Dakhllallah D., Moldovan L., Agarwal K., Bate K., Shah P., Wisler J., Eubank T.D., Tridandapani S., Paulaitis M.E., Piper M.G., Marsh C.B.: Macrophage microvesicles induce macrophage differentiation and miR-223 transfer. *Blood*, 2013; 121: 984-995
- [49] Jensen L.B., Griger J., Naeye B., Varkouhi A.K., Raemdonck K., Schiffelers R., Lammers T., Storm G., de Smedt S.C., Sproat B.S., Nielsen H.M., Foged C.: Comparison of polymeric siRNA nanocarriers in a murine LPS-activated macrophage cell line: gene silencing, toxicity and off-target gene expression. *Pharm. Res.*, 2012; 29: 669-682
- [50] Jiang P., Liu R., Zheng Y., Liu X., Chang L., Xiong S., Chu Y.: miR-34a inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through targeting Notch1 in murine macrophages. *Exp. Cell Res.*, 2012; 318: 1175-1184
- [51] Johansen P., Weiss A., Bunter A., Waeckerle-Men Y., Fettelschoss A., Odermatt B., Kundig T.M.: Clemastine causes immune suppression through inhibition of extracellular signal-regulated kinase-dependent proinflammatory cytokines. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011; 128: 1286-1294
- [52] Johnson E., Buhtoiarov I.N., Baldeshwiler M.J., Felder M.A., van Rooijen N., Sondel P.M., Rakhmilevich A.L.: Enhanced T cell-independent antitumor effect of cyclophosphamide combined with anti-CD40 mAb and CpG in mice. *J. Immunother.*, 2011; 34: 76-84
- [53] Kappert K., Tsuprykov O., Kaufmann J., Fritzsche J., Ott I., Goebel M., Bahr I.N., Hassle P-L., Gust R., Fleck E., Unger T., Stawowy P., Kintscher U.: Chronic treatment with losartan results in sufficient serum levels of the metabolite EXP3179 for PPAR γ activation. *Hypertension*, 2009; 54: 738-743
- [54] Koch M., Mollenkopf H-J., Klemm U., Meyer T.F.: Induction of microRNA-155 is TLR- and type IV secretion system-dependent in macrophages and inhibits DNA-damage induced apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: E1153-E1162
- [55] Kojima C., Ino J., Ishii H., Nitta K., Yoshida M.: MMP-9 inhibition by ACE inhibitor reduces oxidized LDL-mediated foam-cell formation. *J. Atheroscler. Thromb.*, 2010; 17: 97-105
- [56] Kraaij M.D., van der Kooij S.W., Reinders M.E., Koekkoek K., Rabelink T.J., van Kooten C., Gelderman K.A.: Dexamethasone increases ROS production and T cell suppressive capacity by anti-inflammatory macrophages. *Mol. Immunol.*, 2011; 49: 549-557
- [57] Krishnamoorthy S., Recchiuti A., Chiang N., Fredman G., Serhan C.N.: Resolvin D1 receptor stereoselectivity and regulation of inflammation and proresolving MicroRNAs. *Am. J. Pathol.*, 2012; 180: 2018-2027
- [58] Kulshreshtha A., Ahmad T., Agrawal A., Ghosh B.: Proinflammatory role of epithelial cell-derived exosomes in allergic airway inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013; 131: 1194-1203
- [59] Kumar R., Halder P., Sahu S.K., Kumar M., Kumari M., Jana K., Ghosh Z., Sharma P., Kundu M., Basu J.: Identification of a novel role of ESAT-6-dependent miR-155 induction during infection of macrophages with *Mycobacterium tuberculosis*. *Cell. Microbiol.*, 2012; 14: 1620-1631
- [60] Kwok S.K., Cho M.L., Park M.K., Oh H.J., Park J.S., Her Y.M., Lee S.Y., Youn J., Ju J.H., Park K.S., Kim S.I., Kim H.Y., Park S.H.: Interleukin-21 promotes osteoclastogenesis in humans with rheumatoid arthritis and in mice with collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2012; 64: 740-751
- [61] Lagrange B., Martin R.Z., Droin N., Aucagne R., Paggetti J., Largeot A., Itzykson R., Solary E., Delva L., Bastie J.N.: A role for miR-142-3p in colony-stimulating factor 1-induced monocyte differentiation into macrophages. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1833: 1936-1946
- [62] Lai L., Song Y., Liu Y., Chen Q., Han Q., Chen W., Pan T., Zhang Y., Cao X., Wang Q.: MicroRNA-92a negatively regulates TLR-triggered inflammatory response in macrophages by targeting MKK4 kinase. *J. Biol. Chem.*, 2013; 288: 7956-7967
- [63] Larrayoz I.M., Pang T., Benicky J., Pavel J., Sanchez-Lemus E., Saavedra J.M.: Candesartan reduces the innate immune response to lipopolysaccharide in human monocytes. *J. Hypertens.*, 2009; 27: 2365-2376
- [64] Lasser C., Alikhani V.S., Ekstrom K., Eldh M., Paredes P.T., Bossios A., Sjostrand M., Gabrielsson S., Lotvall J., Valadi H.: Human saliva, plasma and breast milk exosomes contain RNA: uptake by macrophages. *J. Transl. Med.*, 2011; 9: 9-17
- [65] Lee J.H., Jin H., Shim H.E., Kim H.N., Ha H., Lee Z.H.: Epigallocatechin-3-gallate inhibits osteoclastogenesis by down-regulating c-Fos expression and suppressing the nuclear factor- κ B signal. *Mol. Pharmacol.*, 2010; 77: 17-25
- [66] Lee J.Y., Lee M.S., Choi H.J., Choi J.W., Shin T., Woo H.C., Kim J.I., Kim H.R.: Hexane fraction from *Laminaria japonica* exerts anti-inflammatory effect on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages via inhibiting NF- κ B pathway. *Eur. J. Nutr.*, 2013; 52: 409-421
- [67] Leonard B.E.: The immune system, depression and the action of antidepressants. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2001; 25: 767-780
- [68] Li Y., Fan X., He X., Sun H., Zou Z., Yuan H., Xu H., Wang C., Shi X.: MicroRNA-4661 inhibits antiviral innate immune response by targeting interferon-alpha. *Cell. Mol. Immunol.*, 2012; 9: 497-502
- [69] Lieb J.: The immunostimulating and antimicrobial properties of lithium and antidepressants. *J. Infect.*, 2004; 49: 88-93
- [70] Lis M., Obmińska-Mrukowicz B.: Effects of bestatin on phagocytic cells in cyclophosphamide-treated mice. *Pharmacol. Rep.*, 2011; 63: 1481-1490
- [71] Liu G., Friggeri A., Yang Y., Park Y.J., Tsuruta Y., Abraham E.: miR-147, a microRNA that is induced upon Toll-like receptor stimulation, regulates murine macrophage inflammatory responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 15819-15824
- [72] Lojek A., Ciz M., Pekarova M., Ambrozova G., Vasicek O., Moravcova J., Kubala L., Drabikova K., Jancinova V., Perecko T., Pecivova J., Macickova T., Nosal R.: Modulation of metabolic activity of phagocytes by antihistamines. *Interdiscip. Toxicol.*, 2011; 4: 15-19
- [73] Lu X., Mu E., Wei Y., Riethdorf S., Yang Q., Yuan M., Yan J., Hua Y., Tiede B.J., Lu X., Haffty B.G., Pantel K., Massague J., Kang Y.: VCAM-1 promotes osteolytic expansion of indolent bone micrometastasis of breast cancer by engaging α 4 β 1-positive osteoclast progenitors. *Cancer Cell*, 2011; 20: 701-714
- [74] Marcinkiewicz J., Bryniarski K., Ptak W.: Cyclophosphamide uncovers two separate macrophage subpopulations with opposite immunogenic potential and different patterns of monokine production. *Cytokine*, 1994; 6: 472-477
- [75] Monk C.E., Hutvagner G., Arthur J.S.: Regulation of miRNA transcription in macrophages in response to *Candida albicans*. *PLoS One*, 2010; 5: e13669
- [76] Murray P.J., Wynn T.A.: Obstacles and opportunities for understanding macrophage polarization. *J. Leukoc. Biol.*, 2011; 89: 557-563
- [77] Murray P.J., Wynn T.A.: Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011; 11: 723-737
- [78] Nahid M.A., Satoh M., Chan E.K.: MicroRNA in TLR signaling and endotoxin tolerance. *Cell. Mol. Immunol.*, 2011; 8: 388-403
- [79] Nahid M.A., Yao B., Dominguez-Gutierrez P.R., Kesavalu L., Satoh M., Chan E.K.: Regulation of TLR2-mediated tolerance and cross-tolerance through IRAK4 modulation by miR-132 and miR-212. *J. Immunol.*, 2013; 190: 1250-1263
- [80] Nazari-Jahantigh M., Wei Y., Noels H., Akhtar S., Zhou Z., Koenen R.R., Heyll K., Gremse F., Kiessling F., Grommes J., Weber C., Schober

A.: MicroRNA-155 promotes atherosclerosis by repressing *Bcl6* in macrophages. *J. Clin. Invest.*, 2012; 122: 4190-4202

[81] Nazimek K., Bryniarski K.: The biological activity of macrophages in health and disease. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 507-520

[82] Nazimek K., Nowak B., Ptak W., Bryniarski K.: Exosomal T cell suppressor factor inhibits the generation of reactive oxygen intermediates in murine peritoneal macrophages. *Immunology*, 2012; 137 (Suppl. 1): 693

[83] Nguyen D.G., Booth A., Gould S.J., Hildreth J.E.: Evidence that HIV budding in primary macrophages occurs through the exosome release pathway. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 52347-52354

[84] Nilsson S., Moller C., Jirstrom K., Lee A., Busch S., Lamb R., Landberg G.: Downregulation of miR-92a is associated with aggressive breast cancer features and increased tumour macrophage infiltration. *PLoS One*, 2012; 7: e36051

[85] Palma A., Sainaghi P.P., Amoruso A., Fresu L.G., Avanzi G., Piri-si M., Brunelleschi S.: Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression in monocytes/macrophages from rheumatoid arthritis patients: relation to disease activity and therapy efficacy – a pilot study. *Rheumatology*, 2012; 51: 1942-1952

[86] Pang T., Benicky J., Wang J., Orecna M., Sanchez-Lemus E., Saavedra J.M.: Telmisartan ameliorates lipopolysaccharide-induced innate immune response through *peroxisome proliferator-activated receptor-y* activation in human monocytes. *J. Hypertens.*, 2012; 30: 87-96

[87] Ponomarev E.D., Veremeyko T., Weiner H.L.: MicroRNAs are universal regulators of differentiation, activation, and polarization of microglia and macrophages in normal and diseased CNS. *Glia*, 2013; 61: 91-103

[88] Purohit V., Rapaka R.S., Rutter J., Shurtleff D.: Do opioids activate latent HIV-1 by down-regulating anti-HIV microRNAs? *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 2012; 7: 519-523

[89] Qu Y., Franchi L., Nunez G., Dubyak G.R.: Nonclassical IL-1 β secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages. *J. Immunol.*, 2007; 179: 1913-1925

[90] Qu Y., Ramachandra L., Mohr S., Franchi L., Harding C.V., Nunez G., Dubyak G.R.: P2X7 receptor-stimulated secretion of MHC class-II-containing exosomes requires the ASC/NLPR3 inflammasome but is independent of caspase-1. *J. Immunol.*, 2009; 182: 5052-5062

[91] Qureshi A.A., Guan X.Q., Reis J.C., Papasian C.J., Jabre S., Morrison D.C., Qureshi N.: Inhibition of nitric oxide and inflammatory cytokines in LPS-stimulated murine macrophages by resveratrol, a potent proteasome inhibitor. *Lipids Health Dis.*, 2012; 11: 76-92

[92] Ramirez C.M., Rotllan N., Vlassov A.V., Davalos A., Li M., Goedeke L., Aranda J.F., Cirera-Salinas D., Araldi E., Salerno A., Wanschel A., Zavadil J., Castrillo A., Kim J., Suarez Y., Fernandez-Hernando C.: Control of cholesterol metabolism and plasma high-density lipoprotein levels by microRNA-144. *Circ. Res.*, 2013; 112: 1592-1601

[93] Rapisarda A., Pastorino S., Massazza S., Varesio L., Bosco M.C.: Antagonistic effect of picolinic acid and interferon- γ on macrophage inflammatory protein-1 α/β production. *Cell. Immunol.*, 2002; 220: 70-80

[94] Ruckerl D., Jenkins S.J., Laqtom N.N., Gallagher I.J., Sutherland T.E., Duncan S., Buck A.H., Allen J.E.: Induction of IL-4R α -dependent microRNAs identifies PI3K/Akt signaling as essential for IL-4-driven murine macrophage proliferation in vivo. *Blood*, 2012; 120: 2307-2316

[95] Sadeghi-Hashjin G., Nijkamp F.P., Henricks P.A., Folkerts G.: Sodium cromoglycate and doxantrazole are oxygen radical scavengers. *Eur. Respir. J.*, 2002; 20: 867-872

[96] Schnitger A.K., Machova A., Mueller R.U., Androulidaki A., Schermer B., Pasparakis M., Kronke M., Papadopoulos N.: *Listeria monocytogenes* infection in macrophages induces vacuolar-dependent host miRNA response. *PLoS One*, 2011; 6: e27435

[97] Shibuya H., Nakasa T., Adachi N., Nagata Y., Ishikawa M., Deie M., Suzuki O., Ochi M.: Overexpression of microRNA-223 in rheumatoid arthritis synovium controls osteoclast differentiation. *Mod. Rheumatol.*, 2013; 23: 674-685

[98] Shimada K., Hirano E., Kimura T., Fujita M., Kishimoto C.: Carvedilol reduces the severity of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice via reducing superoxide production. *Exp. Biol. Med.*, 2012; 237: 1039-1044

[99] Shimada K., Murayama T., Yokode M., Kita T., Fujita M., Kishimoto C.: Olmesartan, a novel angiotensin II type 1 receptor antagonist, reduces severity of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice associated with reducing superoxide production. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 2011; 21: 672-678

[100] Shimada K., Murayama T., Yokode M., Kita T., Uzui H., Ueda T., Lee J.D., Kishimoto C.: N-acetylcysteine reduces the severity of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by reducing superoxide production. *Circ. J.*, 2009; 73: 1337-1341

[101] Shin J.S., Baek S.R., Sohn S., Cho Y., Lee K.T.: Anti-inflammatory effect of pelubipropfen, 2-[4-(oxocyclohexylidene)methyl]-phenyl] propionic acid, mediated by dual suppression of COX activity and LPS-induced inflammatory gene expression via NF- κ B inactivation. *J. Cell. Biochem.*, 2011; 112: 3594-3603

[102] Shukla A.K., Patra S., Dubey V.K.: Nanospheres encapsulating anti-leishmanial drugs for their specific macrophage targeting, reduced toxicity, and deliberate intracellular release. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2012; 12: 953-960

[103] Sikora E., Ptak W., Bryniarski K.: Immunoregulacja poprzez interferencyjny RNA – mechanizmy, rola, perspektywy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 482-495

[104] Silva R.C., Landgraf M.A., Hiyane M.I., Pacheco-Silva A., Camara N.O., Landgraf R.G.: Leukotrienes produced in allergic lung inflammation activate alveolar macrophages. *Cell. Physiol. Biochem.*, 2010; 26: 319-326

[105] Silverman J.M., Clos J., de'Oliveira C.C., Shirvani O., Fang Y., Wang C., Foster L.J., Reiner N.E.: An exosome-based secretion pathway is responsible for protein export from *Leishmania* and communication with macrophages. *J. Cell Sci.*, 2010; 123: 842-852

[106] Silverman J., Reiner N.: Exosomes and other microvesicles in infection biology: organelles with unanticipated phenotypes. *Cell. Microbiol.*, 2011; 13: 1-9

[107] Singh P.P., Smith V.L., Karakousis P.C., Schorey J.S.: Exosomes isolated from mycobacteria-infected mice or cultured macrophages can recruit and activate immune cells in vitro and in vivo. *J. Immunol.*, 2012; 189: 777-785

[108] Sissons J.R., Peschon J.J., Schmitz F., Suen R., Gilchrist M., Adrem A.: Cutting edge: microRNA regulation of macrophage fusion into multinucleated giant cells. *J. Immunol.*, 2012; 189: 23-27

[109] Sun Y., Cai J., Ma F., Lu P., Huang H., Zhou J.: miR-155 mediates suppressive effect of progesterone on TLR3, TLR4-triggered immune response. *Immunol. Lett.*, 2012; 146: 25-30

[110] Suzuki M., Teramoto S., Katayama H., Ohga E., Matsuse T., Ouchi Y.: Effects of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors on oxygen radical production and generation by murine lung alveolar macrophages. *J. Asthma*, 1999; 36: 665-670

[111] Teramoto S., Suzuki M., Matsuse T., Ouchi Y.: Effect of ambroxol on oxygen radical production and generation by bronchoalveolar lavage cells in young and aged guinea pigs. *Jpn. J. Pharmacol.*, 1998; 78: 429-434

[112] Thulin P., Wei T., Werngren O., Cheung L., Fisher R.M., Grander D., Corcoran M., Ehrenborg E.: MicroRNA-9 regulates the expression of peroxisome proliferator-activated receptor δ in human monocytes during the inflammatory response. *Int. J. Mol. Med.*, 2013; 31: 1003-1010



- [113] Tuckermann J., Kleiman A., Moriggl R., Spanbroek R., Neumann A., Illing A., Clausen B., Stride B., Förster I., Habenicht A., Reichardt H., Tronche F., Schmid W., Schütz G.: Macrophages and neutrophils are the targets for immune suppression by glucocorticoids in contact allergy. *J. Clin. Invest.*, 2007; 117: 1381-1390
- [114] Vicentino A.R.R., Carneiro V.C., Amarante A. de M., Benjamim C.F., de Aguiar A.P., Fantappie M.R.: Evaluation of 3-(3-chloro-phenyl)-5-(4-pyridyl)-4,5-dihydroisoxazole as a novel anti-inflammatory drug candidate. *PLoS One*, 2012; 7: e39104
- [115] Villalonga N., David M., Bielanska J., Vicente R., Comes N., Valenzuela C., Felipe A.: Immunomodulation of voltage-dependent K⁺ channels in macrophages: molecular and biophysical consequences. *J. Gen. Physiol.*, 2010; 135: 135-147
- [116] Wang X., Ye L., Hou W., Zhou Y., Wang Y.J., Metzger D.S., Ho W.Z.: Cellular microRNA expression correlates with susceptibility of monocytes/macrophages to HIV-1 infection. *Blood*, 2009; 113: 671-674
- [117] Wang X., Ye L., Zhou Y., Liu M.Q., Zhou D.J., Ho W.Z.: Inhibition of anti-HIV microRNA expression. A mechanism for opioid-mediated enhancement of HIV infection of monocytes. *Am. J. Pathol.*, 2011; 178: 41-47
- [118] Wei J., Huang X., Zhang Z., Jia W., Zhao Z., Zhang Y., Liu X., Xu G.: MyD88 as a target of microRNA-203 in regulation of lipopolysaccharide or Bacille Calmette-Guerin induced inflammatory response of macrophage RAW264.7 cells. *Mol. Immunol.*, 2013; 55: 303-309
- [119] Wei Y., Nazari-Jahantigh M., Chan L., Zhu M., Heyll K., Corbalan-Campos J., Hartmann P., Thiemann A., Weber C., Schober A.: The microRNA-342-5p fosters inflammatory macrophage activation through an Akt1- and microRNA-155-dependent pathway during atherosclerosis. *Circulation*, 2013; 127: 1609-1619
- [120] Xia W., Hilgenbrink A.R., Matteson E.L., Lockwood M.B., Cheng J.X., Low P.S.: A functional folate receptor is induced during macrophage activation and can be used to target drugs to activated macrophages. *Blood*, 2009; 113: 438-446
- [121] Xia Z., Chen C., Chen P., Xie H., Luo X.: MicroRNAs and their roles in osteoclast differentiation. *Front. Med.*, 2011; 5: 414-419
- [122] Xiao C., Calado D.P., Galler G., Thai T.H., Patterson H.C., Wang J., Rajewsky N., Bender T.P., Rajewsky K.: MiR-150 controls B cell differentiation by targeting the transcription factor c-Myb. *Cell*, 2007; 131: 146-159
- [123] Yang M., Chen J., Su F., Yu B., Su F., Lin L., Liu Y., Huang J-D., Song E.: Microvesicles secreted by macrophages shuttle invasion-potentiating microRNAs into breast cancer cells. *Mol. Cancer*, 2011; 10: 117-129
- [124] Yang M., Kumar R.K., Hansbro P.M., Foster P.S.: Emerging roles of pulmonary macrophages in driving the development of severe asthma. *J. Leukoc. Biol.*, 2012; 91: 557-569
- [125] Zhang J., Xie S., Ma W., Teng Y., Tian Y., Huang X., Zhang Y.: A newly identified miRNA, mmu-miR-7578, functions as a negative regulator on inflammatory cytokines TNF α and IL6 via targeting *EGR1* in vivo. *J. Biol. Chem.*, 2013; 288: 4310-4320
- [126] Zhang Q., Atsuta I., Liu S., Chen C., Shi S., Shi S., Le A.D.: IL-17-mediated M1/M2 macrophage alteration contributes to pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Clin. Cancer Res.*, 2013; 19: 3176-3188
- [127] Zheng K., Chen D.S., Wu Y.Q., Xu X.J., Zhang H., Chen C.F., Chen H.C., Liu Z.F.: MicroRNA expression profile in RAW246.7 cells in response to *Brucella melitensis* infection. *Int. J. Biol. Sci.*, 2012; 8: 1013-1022
- [128] Zheng Y., Yang Y., Li Y., Xu L., Wang Y., Guo Z., Song H., Wang M., Luo B., Zheng A., Li P., Zhang Y., Ji G., Yu Y.: Ephedrine hydrochloride inhibits PGN-induced inflammatory responses by promoting IL-10 production and decreasing proinflammatory cytokine secretion via the PI3K/Akt/GSK3 β pathway. *Cell. Mol. Immunol.*, 2013; 10: 330-337
- [129] Zhou Y., Wang X., Liu M., Hu Q., Song L., Ye L., Zhou D., Ho W.: A critical function of toll-like receptor-3 in the induction of anti-human immunodeficiency virus activities in macrophages. *Immunology*, 2010; 131: 40-49
- [130] Zhu D., Pan C., Li L., Bian Z., Lv Z., Shi L., Zhang J., Li D., Gu H., Zhang C.Y., Liu Y., Zen K.: MicroRNA-17/20a/106a modulate macrophage inflammatory responses through targeting signal-regulatory protein α . *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013; 132: 426-436.e8
- [131] Zhu J., Chen Q., Xia X., Mo P., Shen Y., Yu C.: Mycoepoxydiene suppresses RANKL-induced osteoclast differentiation and reduces ovariectomy-induced bone loss in mice. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2013; 97: 767-774
- [132] Zhu X.D., Sun H.C., Xu H.X., Kong L.Q., Chai Z.T., Lu L., Zhang J.B., Gao D.M., Wang W.Q., Zhang W., Zhuang P.Y., Wu W.Z., Wang L., Tang Z.Y.: Antiangiogenic therapy promoted metastasis of hepatocellular carcinoma by suppressing host-derived interleukin-12b in mouse models. *Angiogenesis*, 2013; 16: 809-820
- [133] Zhuang G., Meng C., Guo X., Cheruku P.S., Shi L., Xu H., Li H., Wang G., Evans A.R., Safe S., Wu C., Zhou B.: A novel regulator of macrophage activation: miR-223 in obesity-associated adipose tissue inflammation. *Circulation*, 2012; 125: 2892-2903
- [134] Zimmermann H.W., Trautwein C., Tacke F.: Functional role of monocytes and macrophages for the inflammatory response in acute liver injury. *Front. Physiol.*, 2012; 3: 1-18
- [135] Zordan P., Sciorati C., Campana L., Cottone L., Clementi E., Querinì P.R., Brunelli S.: The nitric oxide-donor molsidomine modulates the innate inflammatory response in a mouse model of muscular dystrophy. *Eur. J. Pharmacol.*, 2013; 715: 296-303
- [136] Zorzanelli Rocha V., Folco E.J.: Inflammatory concepts of obesity. *Int. J. Inflam.*, 2011; 2011: ID 529061

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.