

© Коллектив авторов, 2018
УДК 616-092

Раецкая А.А.¹, Калиш С.В.¹, Лямина С.В.¹, Малышева Е.В.¹,
Буданова О.П.², Бахтина Л.Ю.², Малышев И.Ю.^{1,2}

Репрограммированные *in vitro* на М3 фенотип макрофаги останавливают рост солидной карциномы *in vivo*

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный медицинский стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России; 127473, г. Москва, Россия, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

² ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»; 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8

Цель исследования. Доказательство гипотезы, что репрограммированные *in vitro* на М3 фенотип макрофаги при введении в организм будут существенно ограничивать развитие солидной карциномы *in vivo*. **Методика.** Рост солидной опухоли инициировали у мышей *in vivo* путем подкожной инъекции клеток карциномы Эрлиха (КЭ). Инъекцию макрофагов с нативным М0 фенотипом и с репрограммированным М3 фенотипом проводили в область формирования солидной КЭ. Репрограммирование проводили с помощью низких доз сывортки, блокаторов факторов транскрипции STAT3/6 и SMAD3 и липополисахарида. Использовали две схемы введения макрофагов: раннее и позднее. При раннем введении макрофаги вводили на 1-е, 5-е, 10-е и 15-е сут. после инъекции клеток КЭ путем обкалывания макрофагами с четырех сторон область развития опухоли. При позднем введении, макрофаги вводили на 10-е, 15-е, 20-е и 25-е сут. Через 15 и 30 сут. после введения клеток КЭ солидную опухоль иссекали и измеряли ее объем. Эффект введения макрофагов оценивали качественно по визуальной и пальпаторной характеристикам солидной опухоли и количественно по изменению ее объема по сравнению с группой без введения макрофагов (контроль). **Результаты.** Установлено, что М3-STAT3/6-SMAD3 макрофаги при раннем введении от начала развития опухоли оказывают выраженный антиопухолевый эффект *in vivo*, который был существенно более выражен, чем при позднем введении макрофагов. **Заключение.** Установлено, что введение репрограммированных макрофагов М3-STAT3/6-SMAD3 ограничивает развитие солидной карциномы в экспериментах *in vivo*. Противоопухолевый эффект более выражен при раннем введении М3 макрофагов. Обнаруженные в работе факты делают перспективным разработку клинической версии биотехнологии ограничения роста опухоли, путем предварительного программирования антиопухолевого врожденного иммунного ответа «в пробирке».

Ключевые слова: репрограммирование макрофагов; солидная карцинома.

Принятые сокращения:

IFN- γ — интерферон-гамма. IFN-gamma является важнейшим противовоспалительным цитокином.

TGF- β — трансформирующий фактор роста — мультифункциональный цитокин

ЭДТА — этилендиаминтетраацетат

PBS — фосфатно-солевой буфер

Для цитирования: Раецкая А.А., Калиш С.В., Лямина С.В., Малышева Е.В., Буданова О.П., Бахтина Л.Ю., Малышев И.Ю. Репрограммированные *in vitro* на М3 фенотип макрофаги останавливают рост солидной карциномы *in vivo*. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018; 62(1): 41–46.

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.01.41-46

Для корреспонденции: Малышев Игорь Юрьевич, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, руководитель лаб. стресса и адаптации ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», e-mail: iymalyshev1@gmail.com

Финансирование. Статья написана при финансовой поддержке ведущих научных школ, Соглашение № 14.W02.16.9835-НИИ об условиях использования гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ НИИ-9835.2016.7.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.07.2017

Raetskaya A.A.¹, Kalish S.V.¹, Lyamina S.V.¹, Malysheva E.V.¹,
Budanova O.P.², Bakhtina L.Yu.², Malyshev I.Yu.^{1,2}

Macrophages reprogrammed *in vitro* to the M3 phenotype stop growth of solid carcinoma *in vivo*

¹ A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Delegatskaya Str. 20, Bldg.1, Moscow 127473, Russia

² Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8 Baltiyskaya Str., Moscow, 125315, Russia

Aim. To verify a hypothesis that macrophages reprogrammed *in vitro* to the M3 phenotype and injected into the body substantially restrict the development of solid carcinoma *in vivo*. **Methods.** Growth of a solid tumor was initiated in mice *in vivo* with a subcutaneous injection of Ehrlich carcinoma (EC) cells. Macrophages with a native M0 phenotype or reprogrammed towards the M3 phenotype were injected into the region of developing solid EC. Reprogramming was performed using low doses of serum, STAT3/6 and SMAD3 transcription factor blockers, and lipopolysaccharide. Two schemes of macrophage administration were used: early and late. With the early administration, macrophages were injected on days 1, 5, 10, and 15 following the injection of EC cells at four sides of the tumor development area. With the late administration, macrophages were injected on days 10, 15, 20, and 25. At 15 and 30 days after the EC cell injection, the solid tumor was excised and its volume was measured. The effect of macrophage administration was assessed both qualitatively by visual and palpation characteristics of solid tumor and quantitatively by changes in the tumor volume compared with the group without the macrophage treatment. **Results.** M3-STAT3/6-SMAD3 macrophages administered early after the onset of tumor development exerted a pronounced antitumor effect *in vivo*, which was significantly greater than the antitumor effect of the late administration of M3-STAT3/6-SMAD3 macrophages. **Conclusion.** The observed significant inhibition of *in vivo* growth of solid carcinoma by M3 macrophages makes promising the development of a clinical version of the biotechnology for restriction of tumor growth by *in vitro* pre-programming of the antitumor, innate immune response.

Keywords: macrophages, carcinoma, reprogramming.

For citation: Raetskaya A.A., Kalish S.V., Lyamina S.V., Malysheva E.V., Budanova O.P., Bakhtina L.Yu., Malyshev I.Yu. Reprogrammed *in vitro* on M3 phenotype macrophages stop the growth of solid carcinoma *in vivo*. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62(1): 41–46. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2018.01.41-46

For correspondence: Igor Yu. Malyshev, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Pathological Physiology of the Moscow State University of Medicine and Dentistry n.a. A.I. Evdokimov; 20, str. 1, ul. Delegatskaya, d., Moscow, 127473, Russia, Head of stress and adaptation laboratory of the Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8, ul. Baltiyskaya, Moscow, 125315, Russian Federation, e-mail: iymalyshev1@gmail.com

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study was conducted with the Governmental financial support represented by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Agreement dated May 5, 2016, № 14.W02.16.9835-НШ)

Information about authors:

Malyshev I.Yu., <http://orcid.org/0000-0002-2381-9612>

Budanova O.P., <http://orcid.org/0000-0002-6650-5082>

Received 10.07.2017

Введение

Макрофаги играют ключевую роль в нарушениях иммунного ответа при канцерогенезе [1, 2]. В зависимости от действующих факторов и микроокружения, макрофаги приобретают либо провоспалительный M1, либо противовоспалительный M2 фенотип [3–7]. M1 макрофаги способствуют уничтожению опухолевых клеток благодаря усиленной продукции оксида азота (NO) [8], провоспалительных цитокинов [9, 10], активации натуральных киллеров [11] и презентации опухолевых антигенов лимфоцитам [12]. Однако опухоли, как правило, продуцируют много противовоспалительных цитокинов TGF- β , IL-10, IL-13 и др. [13, 14], которые, активируя факторы транскрипции M2 фенотипа STAT3, STAT6 и SMAD3, перепрограммируют противоопухолевые M1 макрофаги в проопухолевые M2 [15, 16]. При этом M2 фенотип макрофагов начинает продуцировать большое количество противовоспалительных цитокинов, плохо представлять опухолевые антигены лимфоцитам [17–19], что способствует росту опухоли [1, 2].

Ранее нами показано, что блокирование STAT3, STAT6 и SMAD3 предупреждает проопухолевое репрограммирование M1 макрофагов. M1 макрофаги с заблокированными STAT3, STAT6 и SMAD3, в отличие от исходных M1 макрофагов, в ответ на действие проопухолевых противовоспалительных цитокинов отвечали усилением продукции антиопухолевых провоспалительных цитокинов, благодаря чему сохраняли свои антиопухолевые свойства, замедляя деление опухолевых клеток *in vitro* и увеличивая *in vivo* продолжительность жизни мышей с асцитной КЭ [20]. Мы обозначили такой фенотип макрофагов как фенотип переключения, или как M3 фенотип [16, 20].

Учитывая эти данные, мы предположили, что с помощью репрограммированных *in vitro* M3 макрофагов можно ограничить не только развитие асцитной КЭ, но и солидной КЭ *in vivo*. Цель исследования состояла в проверке этой гипотезы.

Методика

Экспериментальные животные. Эксперименты проведены на мышах линии C57BL/6J и BALB/c с учетом требований рy ВОЗ (www.cioms.ch/publica-

tions/guidelines). Мыши были получены из питомника «Андреевка» (<http://andreevka.msk.ru>). Протокол экспериментов был одобрен Комитетом по этике Московского государственного медико-стоматологического университета.

Реактивы. Stat3 ингибитор (S3I204) (Axon Medchem, USA, cat# 2312), Stat6 ингибитор (As1517499) (Axon Medchem, USA, cat# 1992), IFN- γ (Invitogen, USA, cat# PMC4034), LPS (Sigma-Aldrich, USA, cat# L3755), SMAD3 inhibitor (SIS3) (Calbiochem, USA, cat# 566405), FBS (Thermo Hyclone, UK, cat# SV30160.03).

Моделирование и характеристика солидной карциномы Эрлиха. Опухолевый рост инициировали подкожным введением мышам 500 тысяч клеток КЭ в 5 мкл физиологического раствора. Клетки КЭ были предоставлены «Российским онкологическим научным центром им. Н.Н. Блохина». Выбор модели солидной КЭ мышей определяется тем, что:

1) солидная КЭ воспроизводит многие аспекты канцерогенеза опухоли поджелудочной железы, рака яичников, простаты, толстой и прямой кишки [21, 22, 24];

2) мышиную модель солидной КЭ обычно используется для оценки противоопухолевых эффектов [25, 26];

3) солидная КЭ легко воспроизводится экспериментально и легко оценивается характер её роста. Через 15 и 30 сут. после введения клеток КЭ солидную опухоль иссекали, измеряли ее размеры и объем, помещая иссеченную опухоль в наполненную водой мензурку с мерной шкалой.

Выделение макрофагов. Нативные макрофаги (M0 фенотип) были выделены путем перитонеального смыва у мышей [27]. После выделения из перитонеальной жидкости макрофаги культивировали в питательной среде RPMI-1640 (10% фетальная бычья сыворотка (FBS), пенициллин 100 ЕД/мл, стрептомицин 100 мкг/мл) при 37°C в 5% CO₂.

In vitro репрограммирование макрофагов на M3-STAT3/6-SMAD3 фенотип. Были получены макрофаги с M0 фенотипом и с M3-STAT3/6-SMAD3 фенотипом. Для получения M0 фенотипа макрофаги культивировали в течение 12 ч с 10% FBS, затем стимулировали липополисахаридом (ЛПС) (500 нг/мл) в течение 24 ч. Для получения M3-STAT3/6-SMAD3 фенотипа макрофаги культивировали в течение 12 ч без FBS [4] с добавлением IFN- γ (20 нг/мл) [28], ингибитора STAT3 (5 мкг/мл), ингибитора STAT6 (10 мкг/мл) и ингибитора SMAD3 (2 нмоль/мл) [20], после чего стимулировали ЛПС в концентрации 500 нг/мл еще в течение 24 ч.

Инъекция макрофагов в область подкожного развития солидной карциномы Эрлиха. Клетки групп «M0» и «M3-STAT3/6-SMAD3» удалялись со дна лунки

культурального планшета путем инкубирования при 37°C в присутствии PBS, содержащий 5 мМ ЭДТА [5]. Концентрация макрофагов доводилась до 8×10^6 клеток в 0,2 мл PBS. Использовали 2 схемы введения макрофагов: раннее и позднее введение. При раннем введении — на 1-е, 5-е, 10-е и 15-е сут. после подкожной инъекции клеток КЭ мышам, место развития опухоли обкалывали с четырех сторон макрофагами по 2×10^6 макрофагов на инъекцию/сторону (рис. 1).

При позднем введении макрофаги вводили на 10-е, 15-е, 20-е и 25-е сут. после подкожной инъекции клеток КЭ мышам, тем же способом и в тех же концентрациях, что и при раннем введении. В итоге было сформировано 5 групп животных:

- Группа «Опухоль» — мыши, которым подкожно вводили клетки КЭ (n = 8);
- Группа «Опухоль + M0-раннее введение» — мыши, которым подкожно вводили клетки КЭ и макрофаги группы M0 на ранних стадиях развития опухоли (n = 8);
- Группа «Опухоль + M3-STAT3/6-SMAD3-раннее введение» — мыши, которым подкожно вводили клетки КЭ и макрофаги группы M3-STAT3/6-SMAD3 на ранних стадиях развития опухоли (n = 8);
- Группа «Опухоль + M0-позднее введение» — мыши, которым подкожно вводили клетки КЭ и макрофаги группы M0 на поздних стадиях развития опухоли (n = 8);
- Группа «Опухоль + M3-STAT3/6-SMAD3-позднее введение» — мыши, которым подкожно вводили клетки КЭ и макрофаги группы M3-STAT3/6-SMAD3 на поздних стадиях развития опухоли (n = 8).

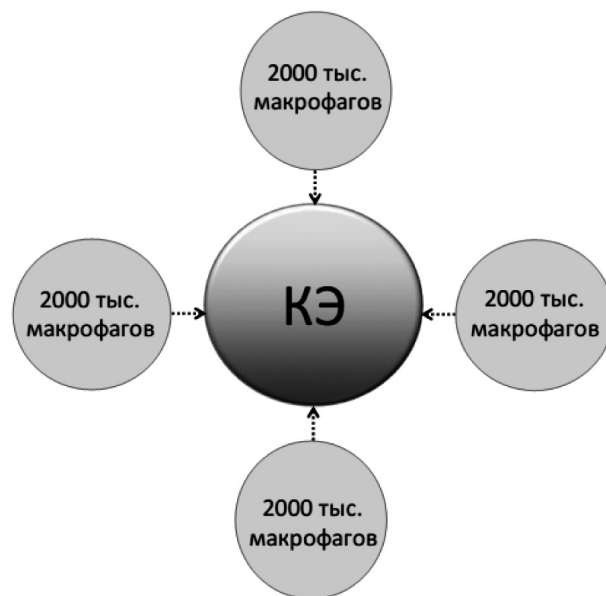


Рис. 1. Топографическая схема обкалывания КЭ макрофагами. КЭ — клетки карциномы Эрлиха.

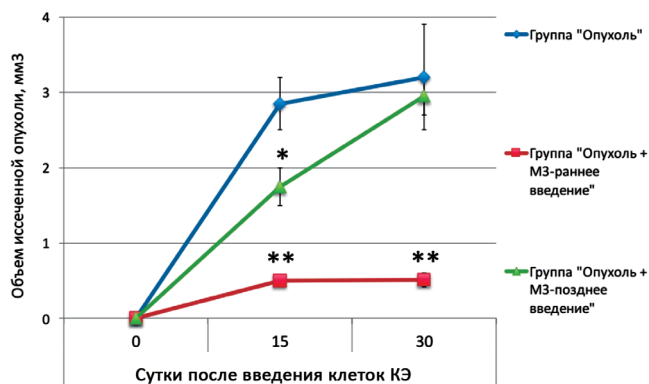


Рис. 2. Эффект раннего и позднего введения М3-STAT3/6-SMAD макрофагов на объем иссеченной опухоли КЭ. Значимые отличия: между группами «Опухоль» и «М3-STAT3/6-SMAD3-раннее введение»: ** $p < 0,01$; между группами «Опухоль» и «М3-STAT3/6-SMAD3-позднее введение»: * $p < 0,05$

Эффект введения макрофагов оценивали качественно по визуальной и пальпаторной характеристике формирующейся солидной опухоли и количественно по изменению объема опухоли по сравнению с группой «Опухоль» на 15-е и 30-е сут. после введения клеток КЭ.

Статистический анализ проводили с использованием критерия Стюдента—Ньюмана—Келса. Данные представлены в виде среднего значения (M), учитывающего стандартную ошибку среднего значения ($\pm SEM$). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Для подтверждения воспроизводимости *in vivo*, обнаруженного нами ранее противоопухолевого эффекта репрограммированных макрофагов *in vitro* [20], было оценено действие макрофагов фенотипа «М3-STAT3/6-SMAD3» на объем солидной КЭ у мышей.

Качественный визуальный анализ развития солидной КЭ после подкожного введения клеток КЭ показал следующее. Во всех пяти группах на 10-е сут. после введения клеток КЭ у мышей всех групп в месте инъекции клеток КЭ стали обнаруживаться едва различимые опухолевидные образования без признаков изменения кожного покрова. На 15-е сут. после введения клеток КЭ во всех группах мышей опухолевидные образования стали более отчетливо различимы, характеризовались эластично-твердой консистенцией, были подвижны при пальпации, признаки изменения кожного покрова отсутствовали.

Существенные качественные отличия между группами стали обнаруживаться на 30-е сут. после введения клеток КЭ. В группах «Опухоль», «Опухоль + М0-раннее введение» и «Опухоль + М0-позднее введение» видимые опухолевидные образования увеличились в объеме, имели плотную консистенцию и были малоподвижны при пальпации. В группе «Опухоль + М3-STAT3/6-SMAD3-раннее введение» видимые опухолевидные образования при качественной оценке практически не изменились, а в группе «Опу-

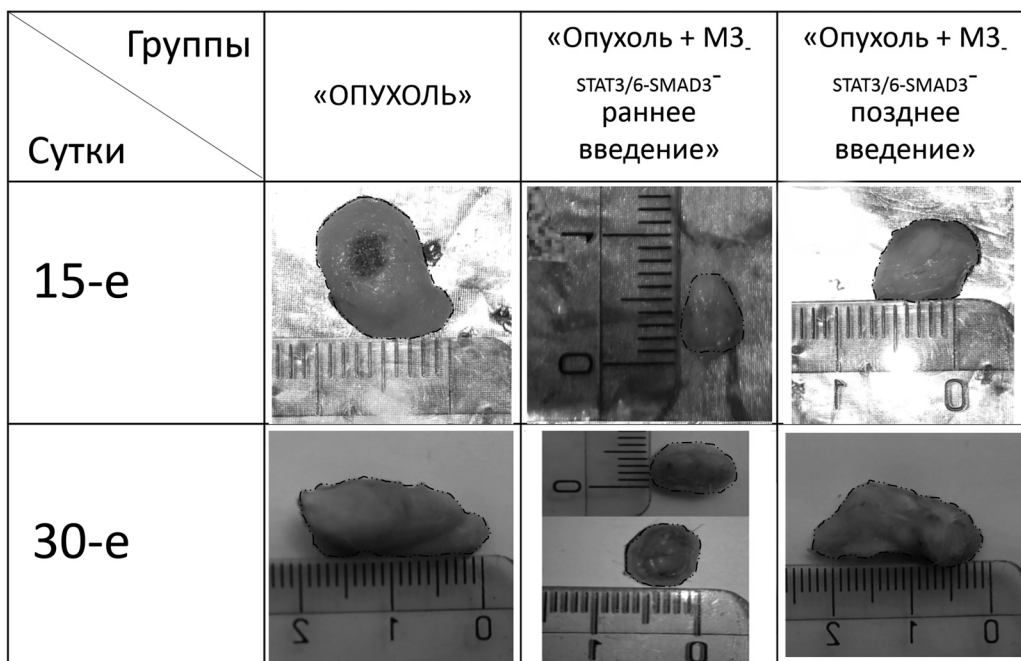


Рис. 3. Репрезентативные примеры размера иссеченных опухолей у мышей разных групп на разных сроках. (Границы опухоли обведены пунктирной линией).

холь + M3-STAT3/6-SMAD3-позднее введение» незначительно увеличились, по сравнению с 15-ми сут.

Количественная оценка эффектов раннего и позднего введения M3-STAT3/6-SMAD3 макрофагов на объем солидной карциномы Эрлиха у мышей представлена на рис. 2. В группе «Опухоль» на 15-е сут. после введения клеток КЭ объем иссеченной опухоли составлял $2,85 \pm 0,35$ мм³, а на 30-е сут. — $3,20 \pm 0,70$ мм³. В группах «Опухоль + M0-раннее введение» и «Опухоль + M0-позднее введение» количественные характеристики развития опухоли статистически значимо не отличались от группы «Опухоль», и поэтому на рис. 2 не представлены.

В группе «Опухоль + M3-STAT3/6-SMAD3-раннее введение» на 15-е сут. после введения клеток КЭ объем иссеченной опухоли составлял $0,50 \pm 0,07$ мм³, а на 30-е — $0,51 \pm 0,09$ мм³. В группе «Опухоль + M3-STAT3/6-SMAD3-позднее введение» на 15-е сут. после введения клеток КЭ объем иссеченной опухоли составлял $1,75 \pm 0,25$ мм³, а на 30-е сут. — $2,95 \pm 0,25$ мм³.

На рис. 3 представлены размеры иссеченных опухолей у мышей разных групп на разных сроках.

Как видно на рис. 3, раннее введение M3 макрофагов существенно ограничило развитие солидной карциномы Эрлиха: на 15-е и 30-е сут. объем опухоли был почти в 6 раз меньше по сравнению с группой «Опухоль», которой макрофаги не вводили. Антиопухолевый эффект M3 макрофагов при позднем введении был выражен существенно слабее, по сравнению с эффектом раннего введения M3 макрофагов.

Результаты проведенного исследования подтвердили наше предположение о том, что рост солидной КЭ может быть эффективно ограничен с помощью M3 макрофагов. Макрофаги уже давно привлекают внимание в качестве мишеней для антиопухолевой терапии. Антиопухолевую активность макрофагов пытались усилить путем стимуляции Toll-like рецепторов и ингибирования рецепторов к TGF- β [29]; культивирования в среде без сыворотки [5]; усиления активности генов, отвечающих за экспрессию IFN- γ и IL-12 [30]; связывания проопухолевых факторов или их рецепторов на макрофагах [31, 32] и т.д. Все эти подходы направлены на формирование противоопухолевой M1 фенотипа макрофагов, но опухоль перепрограммирует M1 фенотип в M2 [15], что снижает эффективность противоопухолевого эффекта [33].

По сравнению с M1 макрофагами, M3 макрофаги оказывали более выраженное антиопухолевое действие *in vitro* и способствовали увеличению продолжительности жизни экспериментальных мышей с асцитной КЭ [20, 33]. Более выраженный противоопухолевый эффект этих макрофагов по сравнению с M1

может быть связан с большей воспалительной активностью M3 макрофагов и способностью сохранять антиопухолевые свойства в проопухолевой среде.

Ранее мы показали, что инъекции M3 макрофагов мышам с асцитной карциномой Эрлиха, увеличивают продолжительность жизни этих мышей примерно на 100% [20]. Макрофаги являются клетками врожденного иммунного ответа, поэтому в данной работе, по сути, была продемонстрирована возможность программирования антиопухолевого врожденного иммунного ответа *in vitro*, в условиях отсутствия влияния опухоли, и дальнейшего эффективного его использования в условиях *in vivo*.

Обнаруженные в работе факты, существенного подавления роста опухоли M3 макрофагами делают перспективной разработку клинической версии биотехнологии ограничения роста опухоли M3 макрофагами путем предварительного программирования антиопухолевого иммунного ответа «в пробирке».

References

1. Condeelis J., Pollard J.W. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell* 2006; 124(2): 263-6.
2. Sica A., Schioppa T., Mantovani A., Allavena P. Tumor-associated macrophages are a distinct M2 polarized population promoting tumor progression: potential targets of anti-cancer therapy. *European Journal of Cancer* 2006; 42(6): 717-27.
3. Mills C.D., Thomas A.C., Lenz L.L., Munder M. Macrophage: SHIP of Immunity. *Frontiers in Immunology* 2014; 5: 620.
4. Mills C.D., Kincaid K., Alt J.M., Heilman M.J., Hill A.M. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *The Journal of Immunology* 2000; 164(12): 6166-73.
5. Rey-Giraud F., Hafner M., Ries C.H. In vitro generation of monocyte-derived macrophages under serum-free conditions improves their tumor promoting functions. *PLoS One* 2012; 7(8): e42656.
6. Gordon S., Taylor P.R. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature Reviews Immunology* 2000; 5: 953-64.
7. Mantovani A., Sozzani S., Locati M., Allavena P., Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends in Immunology* 2002; 23(11): 549-55.
8. Zeini M., Traves P.G., Lopez-Fontal R., Pantoja C., Matheu A., Serrano M. et al. Specific contribution of p19 (ARF) to nitric oxide-dependent apoptosis. *The Journal of Immunology* 2006; 177(5): 3327-36.
9. Tsung K., Dolan J.P., Tsung Y.L., Norton J.A. Macrophages as effector cells in interleukin 12-induced T cell-dependent tumor rejection. *Cancer Research* 2002; 62(17): 5069-75.
10. Ibe S., Qin Z., Schuler T., Preiss S., Blankenstein T. Tumor rejection by disturbing tumor stroma cell interactions. *The Journal of Experimental Medicine* 2001; 194(11): 1549-59.
11. Sharma M. Chemokines and their receptors: orchestrating a fine balance between health and disease. *Critical Reviews in Biotechnology* 2009; 30(1): 1-22.

12. Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity* 2004; 21(2): 137-48.
13. Khong H.T., Restifo N.P. Natural selection of tumor variants in the generation of «tumor escape» phenotypes. *Nature Immunology* 2002; 3(11): 999-1005.
14. Zou W. Regulatory T cells, tumor immunity and immunotherapy. *Nature Reviews Immunology* 2006; 6(4): 295-307.
15. Stout R.D., Watkins S.K., Suttles J. Functional plasticity of macrophages: in situ reprogramming of tumor-associated macrophages. *Journal of Leukocyte Biology* 2009; 86(5): 1105-9.
16. Malyshev I., Malyshev Yu. Current concept and update of the macrophage plasticity concept: intracellular mechanisms of reprogramming and M3 macrophage «switch» phenotype. *BioMed Research International* 2015; 2015: 341308.
17. Gabrilovich D. Mechanisms and functional significance of tumor-induced dendritic-cell defects. *Nature Reviews Immunology* 2004; 4 (12): 941-52.
18. Kono Y., Kawakami S., Higuchi Y., Maruyama K., Yamashita F., Hashida M. Antitumor effect of nuclear factor- κ B decoy transfer by mannose-modified bubble lipoplex into macrophages in mouse malignant ascites. *Cancer Science* 2014; 105(8): 1049-55.
19. Kalish S.V., Lyamina S.V., Usanova E.A., Manukhina E.B., Larionov N.P., Malyshev I.Yu. Macrophages reprogrammed in vitro towards the M1 phenotype and activated with LPS extend lifespan of mice with ehrlich ascites carcinoma. *Medical Science Monitor Basic Research* 2015; 21: 226-34.
20. Kalish S., Lyamina S., Manukhina E., Malyshev Y., Raetskaya A., Malyshev I. M3 Macrophages Stop Division of Tumor Cells In Vitro and Extend Survival of Mice with Ehrlich Ascites Carcinoma. *Medical science monitor basic research* 2017; 23: 8-19.
21. Cavazzoni E., Bugiantella W., Graziosi L., Franceschini M.S., Donini A. Malignant ascites: pathophysiology and treatment. *International Journal of Clinical Oncology* 2013; 18(1): 1-9.
22. Becker G., Galandi D., Blum H.E. Malignant ascites: systematic review and guideline for treatment. *European Journal of Cancer* 2006; 42(5): 589-97.
23. Ahmed N., Stenvers K.L. Getting to know ovarian cancer ascites: opportunities for targeted therapy-based translational research. *Frontiers in Oncology* 2013; 3: 256.
24. Saif M.W., Siddiqui I.A., Sohail M.A. Management of ascites due to gastrointestinal malignancy. *Annals of Saudi Medicine* 2009; 29(5): 369-77.
25. Kono Y., Kawakami S., Higuchi Y., Maruyama K., Yamashita F., Hashida M. Antitumor effect of nuclear factor- κ B decoy transfer by mannose-modified bubble lipoplex into macrophages in mouse malignant ascites. *Cancer Science* 2014; 105(8): 1049-55.
26. Ray T., Chakrabarti M.K., Pal A. Hemagglutinin protease secreted by *V. cholerae* induced apoptosis in breast cancer cells by ROS mediated intrinsic pathway and regresses tumor growth in mice model. *Apoptosis* 2016; 21(2): 143-54.
27. Zhang X., Goncalves R., Mosser D.M. The Isolation and Characterization of Murine Macrophages. *Current Protocols in Immunology* 2008; Chapter 14: Unit 14.1.
28. Martinez F.O., Sica A., Mantovani A., Locati M. Macrophage activation and polarization. *Frontiers in Bioscience* 2008; 1(13): 453-61.
29. Peng J., Tsang J.Y., Li D., Niu N., Ho D.H., Lau K.F. et al. Inhibition of TGF- β signaling in combination with TLR7 ligation re-programs a tumoricidal phenotype in tumor-associated macrophages. *Cancer Letters* 2013; 331(2): 239-49.
30. Satoh T., Saika T., Ebara S., Kusaka N., Timme T.L., Yang G. et al. Macrophages transduced with an adenoviral vector expressing IL-12 suppress tumor growth and metastasis in a preclinical metastatic prostate cancer model. *Cancer Research* 2003; 63(22): 7853-7860.
31. Baay M., Brouwer A., Pauwels P., Peeters M. and Lardon F. Tumor cells and tumor-associated macrophages: secreted proteins as potential targets for therapy. *Clinical and Developmental Immunology* 2011; 2011: 565187.
32. Aharinejad S., Abraham D., Paulus P., Abri H., Hofmann M., Grossschmidt K. Colony-stimulating factor-1 antisense treatment suppresses growth of human tumor xenografts in mice. *Cancer Research* 2002; 62(18): 5317-24.
33. Malyshev I.Yu. Phenomena and signaling mechanisms reprogramming of macrophages. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* 2015; 59(2): 99-111. (in Russian)

Сведения об авторах:

Раецкая Анастасия Александровна, лаб. каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, e-mail: mohnush@mail.ru;

Калиш Сергей Валерьевич, ст. лаб. каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, e-mail: anahorettes@mail.ru;

Лямина Светлана Владимировна, доктор мед. наук, проф. каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, e-mail: svlvs@mail.ru;

Малышева Елена Васильевна, доктор мед. наук, проф., каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, e-mail: iymalyshev1@gmail.com;

Буданова Ольга Петровна, ст. науч. сотр. лаб. регуляторных механизмов стресса и адаптации ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», e-mail: ova17@list.ru;

Бахтина Лидия Юрьевна, вед. науч. сотр. лаб. регуляторных механизмов стресса и адаптации ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»;

Малышев Игорь Юрьевич, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, руководитель лаб. стресса и адаптации ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», e-mail: iymalyshev1@gmail.com