

Макрофаги, ассоциированные с опухолью: современное состояние исследований и перспективы клинического использования

А.Н. Грачев, Д.В. Самойлова, М.А. Рашидова, А.А. Петренко, О.В. Ковалева

НИИ канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Алексей Николаевич Грачев alexei.gratchev@gmail.com

Макрофаги являются основными клетками системы врожденного иммунитета. Одна из основных функций макрофагов – регуляция воспаления. Будучи распространенными во всех тканях и органах тела человека, тканевые макрофаги контролируют их состояние и гарантируют своевременную и эффективную реакцию на повреждение, проникновение патогена или трансформацию клетки. После устранения причины воспаления макрофаги инициируют процессы заживления и восстановления тканевого гомеостаза. В конце XX века была предложена концепция дихотомии активации макрофагов, которая делила их на классически (M1) и альтернативно (M2) активированные. Развитие данной концепции привело к тому, что на сегодняшний день в литературе описано множество фенотипов макрофагов с разнообразными функциональными особенностями. При этом M2 продолжают считаться прототипом макрофагов, ассоциированных с опухолью (MAO).

MAO являются одними из основных типов клеток опухолевого микроокружения. Как и все макрофаги, они обладают определенным уровнем гетерогенности и способностью адаптировать свой фенотип, который развивается под действием цитокинов и ростовых факторов, производимых опухолевыми клетками. MAO, в свою очередь, секретируют ростовые факторы, цитокины и компоненты внеклеточного матрикса, которые поддерживают прогрессию опухоли и увеличивают ее злокачественный потенциал. Многочисленные клинические исследования показали, что количество MAO часто коррелирует с плохим прогнозом заболевания. MAO выполняют большое количество функций, необходимых для поддержания жизнедеятельности опухоли. Они способны к стимуляции ангиогенеза и неоангиогенеза. С того момента, как связь MAO со злокачественными опухолями стала очевидной, предпринимаются попытки использовать их в клинике. Можно с уверенностью утверждать, что маркеры MAO весьма привлекательны в качестве диагностических и прогностических маркеров различных опухолей или в качестве перспективных мишеней для создания новых таргетных терапевтических препаратов.

Ключевые слова: макрофаг, рак, опухолеассоциированный макрофаг, воспаление

Для цитирования: А.Н. Грачев, Д.В. Самойлова, М.А. Рашидова и др. Макрофаги, ассоциированные с опухолью: современное состояние исследований и перспективы клинического использования. Успехи молекулярной онкологии 2018;5(4):20–8.

DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-20-28

Tumor associated macrophages: current research and perspectives of clinical use

A.N. Gratchev, D.V. Samoilova, M.A. Rashidova, A.A. Petrenko, O.V. Kovaleva

Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia;
24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Macrophages are the key cells of the innate immune system. One of the main functions of macrophages is the regulation of inflammation. Being common in all tissues and organs of the human body, tissue macrophages control their condition and guarantee a timely and effective response to damage, pathogen penetration or cell transformation. After eliminating the cause of inflammation, macrophages initiate the processes of healing and restoration of tissue homeostasis. At the end of the 20th century, the concept of macrophage activation dichotomy was proposed, which divided them into classically (M1) and alternatively (M2) activated ones. The development of this concept has led to the description of a wide variety of macrophage phenotypes. At the same time, M2 continues to be considered a prototype of tumor associated macrophages (TAM).

TAM represent one of the most important cell types in the tumor microenvironment. Like all macrophages, they have a certain level of heterogeneity and plasticity, which develop under the influence of cytokines and growth factors produced by tumor cells. TAM, in turn, produces growth factors, cytokines and extracellular matrix components that support the progression of the tumor and increase its malignant potential. Numerous clinical studies have shown that the amount of TAM is often correlated with a poor prognosis of the disease. TAM perform a large number of functions necessary to maintain tumor progression. They are capable of stimulating angiogenesis and reorganization of the vascular system. Since the role of TAM in tumor development has become apparent, various attempts have been made to use them in the clinic. It can be confidently asserted that various TAM markers are very attractive as diagnostic and prognostic markers of various tumors, and also as promising targets for the development of new targeted therapeutic agents.

Key words: macrophage, cancer, tumor associated macrophage, inflammation

For citation: A.N. Gratchev, D.V. Samoilova, M.A. Rashidova et al. Tumor associated macrophages: current research and perspectives of clinical use. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2018;5(4):20–8.

Введение

Макрофаги являются основными клетками системы врожденного иммунитета. Они происходят из моноцитов, мигрирующих из кровяного русла в ткани. Макрофаги присутствуют во многих тканях человеческого организма: в костном мозге, соединительной ткани, легких (альвеолярные макрофаги), печени (купферовские клетки), селезенке и лимфатических узлах, серозных полостях (брюшной полости, полости плевры, полости перикарда), костной ткани (остеокласты), нервной ткани (микроглиальные клетки), коже (клетки Лангерганса).

В кровотоке моноциты составляют до 11 % всех белых клеток крови (лейкоцитов). Сформировавшись в костном мозге, моноцит находится там от 30 до 60 ч. После этого он делится и поступает в кровоток. Среднее время жизни моноцитов в кровотоке составляет 3 сут, в течение которых они мигрируют в ткани с последующим превращением в резидентные тканевые макрофаги. В отсутствие миграции и стимулов для дальнейшей дифференцировки моноциты погибают посредством запускаемого в них апоптоза. После выхода из кровяного русла моноцит, как правило, больше не может вернуться в циркуляцию. Важнейшая роль в процессе превращения моноцита в зрелый дифференцированный макрофаг принадлежит процессу аутофагии.

Макрофаги в различных тканях человеческого организма имеют ряд общих особенностей. При исследова-

нии альвеолярных макрофагов было выявлено, что они поддерживают свою популяцию не только за счет образования в костном мозге, но также за счет имеющейся у них способности к делению и самоподдержанию. Данная отличительная черта макрофагов становится очевидной в случае подавления образования данных клеток крови в костном мозге под влиянием облучения или препаратов с цитостатическим действием.

Функции макрофагов

Одной из основных функций моноцитов и макрофагов является регуляция воспаления [1–3]. Будучи распространенными во всех тканях и органах тела человека, тканевые макрофаги контролируют их состояние и гарантируют своевременную и эффективную реакцию на повреждение, проникновение патогена или трансформацию клетки. После устранения причины воспаления макрофаги инициируют процессы заживления и восстановления тканевого гомеостаза [4] (рис. 1). Таким образом, нарушение функций макрофагов лежит в основе большинства иммунных расстройств, таких как, например, атеросклероз [2, 5, 6]. Макрофаги для эффективного выполнения своих функций в процессе дифференцировки приобретают фенотип, характерный для конкретного микроокружения, т. е. способны адаптировать свой фенотип к изменяющемуся микроокружению [4, 7]. В начале 90-х годов

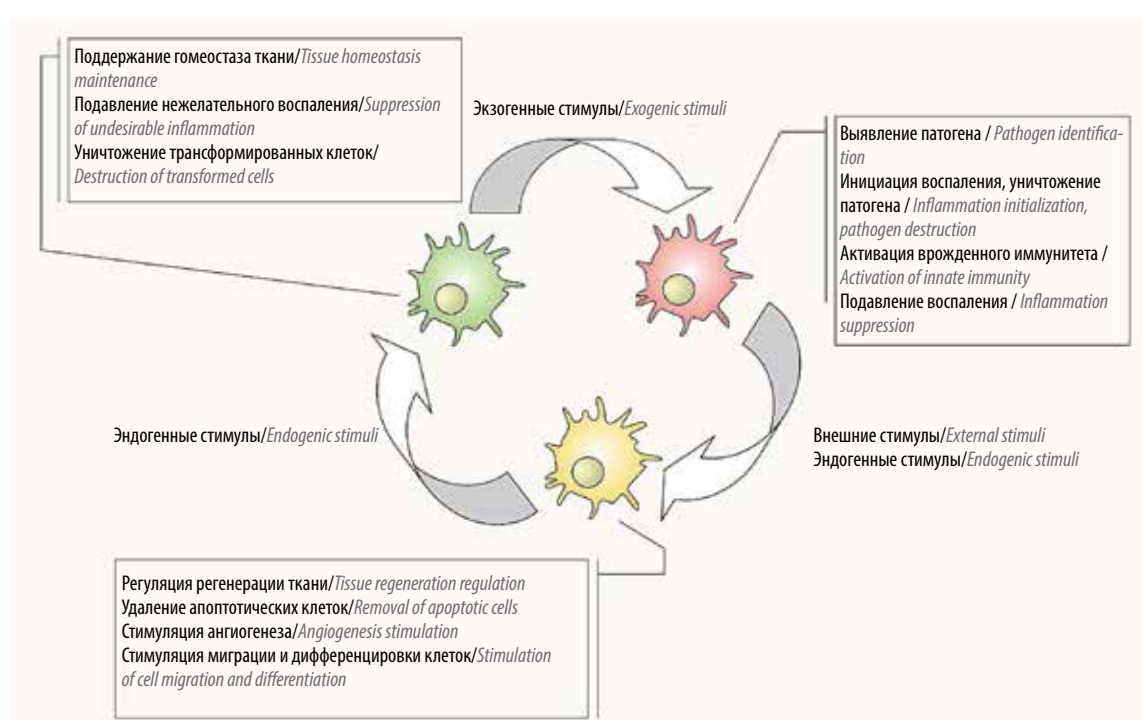


Рис. 1. Функции макрофагов в здоровом организме
Fig. 1. Macrophage functions in a healthy organism

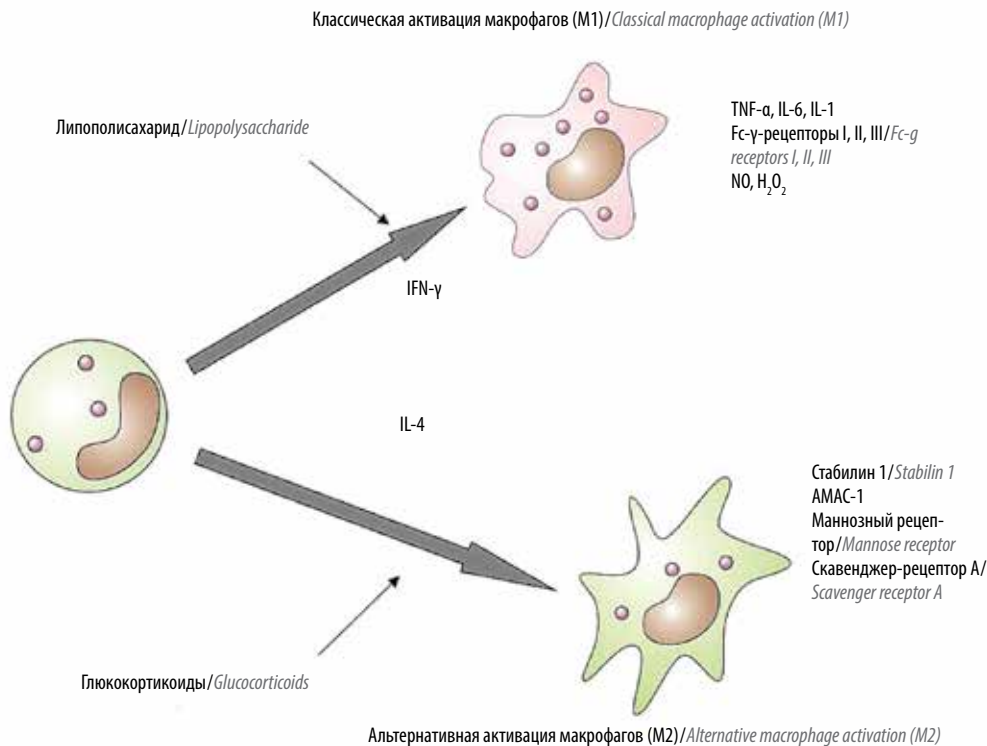


Рис. 2. Концепция дихотомии активации макрофагов
Fig. 2. Concept of macrophage activation dichotomy

прошлого века была предложена концепция дихотомии фенотипа макрофагов, аналогичная Th1/Th2-дихотомии Т-клеток. В рамках этой концепции выделяли классически (M1) и альтернативно (M2) активированные макрофаги [8–10] (рис. 2). Позднее было предложено рассматривать активацию макрофагов как континуум фенотипов с экстремальными вариантами M1 и M2 и практически неограниченным количеством промежуточных состояний. Способность макрофагов отвечать на различные эндогенные и экзогенные про- и противовоспалительные стимулы обеспечивает высокую гетерогенность их фенотипа [11, 12].

К 1-му типу активации относят макрофаги, развивающиеся при стимуляции Th1 цитокином интерферон γ (INF- γ) или бактериальными продуктами, такими как, например, липополисахарид (LPS). Ко 2-му типу активации относят макрофаги, развивающиеся в результате воздействия Th2-ассоциированных цитокинов интерлейкин 4 (IL-4), IL-13, IL-10, трансформирующего фактора роста β , и противовоспалительных факторов, таких как глюкокортикоиды и ретиноиды [13]. Макрофаги 1-го типа продуцируют провоспалительные цитокины, фактор некроза опухоли (TNF) и IL-1 β и экспрессируют Fc- γ -рецепторы на поверхности клеток [10, 14]. Макрофаги 2-го типа продуцируют противовоспалительные цитокины и хемокины IL-1Ra, IL-10, CCL18, экспрессируют различные белки внеклеточного матрикса и поверхностные скавенджер-рецепторы, такие как макрофагальный маннозный рецептор и стабилин 1 [15–17].

Механизм активации макрофагов очень сложен и включает несколько различных сигнальных каскадов [18, 19]. Однако обнаружено, что факторы, которые ранее рассматривались как инактивирующие (противовоспалительные факторы), зачастую приводят к специфичной активации макрофагов и приобретению ими новых свойств [20, 21]. Например, показано, что IL-4 приводит к повышению продукции белков внеклеточного матрикса и ферментов для его перестройки, что указывает на участие макрофагов 2-го типа активации (M2_{IL-4}) в заживлении повреждений [16]. При этом глюкокортикоиды подавляли продукцию компонентов внеклеточного матрикса и повышали экспрессию скавенджер-рецепторов, а также эндоцитозный и фагоцитарный потенциал макрофагов [4, 15]. Кроме того, обнаружено, что независимо от типа активации макрофаги сохраняют способность реагировать на бактериальные стимулы, обеспечивая тем самым достаточную иммунную защиту организма [4]. В целом анализ баланса про- и противовоспалительной активности первичных моноцитов-макрофагов человека является привлекательной возможностью для выявления иммунопатологий.

Несмотря на то что макрофаги впервые описаны более 100 лет назад, многие их свойства остаются неизученными. Например, в последние годы был предложен новый фенотип макрофагов (M3), сочетающий черты, характерные как для M1, так и для M2. Данный тип клеток был получен *in vitro* путем совместного культивирования мезенхимальных стволовых клеток

с первичными моноцитами [22]. М3 демонстрировали высокий уровень экспрессии CD206, являющегося маркером М2. Также они продуцировали много IL-10, мало IL-12 и TNF- α , что также свойственно М2-типу поляризации макрофагов. Одновременно с этим наблюдалась активная секреция IL-6, характерная для макрофагов 1-го типа активации. Кроме того, М3 демонстрировали повышенную фагоцитарную активность. Таким образом, авторы работы выделяют новый и уникальный тип макрофагов, обладающих перспективной ролью в регенеративной медицине. Можно предположить, что концепция дихотомии макрофагальной активации имеет лишь ограниченное право на существование и должна уточняться с учетом различий макрофагальных фенотипов, образующихся в результате стимуляции макрофагов тем или иным цитокином или гормоном. На сегодняшний день в литературе описано огромное количество различных фенотипов макрофагов [23], однако их клиническую значимость еще предстоит установить.

Роль макрофагов в канцерогенезе

В 1863 г. Вирхов выдвинул гипотезу возникновения рака в результате хронического воспаления. На сегодняшний день причинно-следственная связь воспаления, врожденного иммунитета с опухолью стала практически общепризнанной, несмотря на то что многие молекулярные и клеточные элементы механизма этого взаимодействия до конца не ясны. Каким же образом макрофаги, стимулирующие воспалительную реакцию, способствуют возникновению опухолей? Статистика показывает, что возникновение более 15 % злокачественных опухолей может быть косвенно связано с той или иной инфекцией [24–27]. Персистирующая инфекция, как и нарушение механизмов регуляции процесса воспаления, приводит к развитию хронического воспаления. В этой ситуации основные компоненты воспалительного инфильтрата — макрофаги и нейтрофилы — не получают ингибирующего сигнала достаточной силы и пребывают в состоянии провоспалительной активности, которое характеризуется повышенной продукцией бактерицидных соединений кислорода и азота. Будучи высокоактивными, сами по себе эти соединения способны реагировать и приводить к образованию пероксонитрита, являющегося мутагеном [28]. Таким образом, при хроническом воспалении в ткани одновременно активированы 2 процесса: 1) повреждение ткани патогеном и/или бактерицидной активностью макрофагов; 2) стимуляция регенерации. Комбинация этих процессов приводит к повышенной пролиферации эпителиальных клеток на фоне высоких концентраций мутагенных соединений, что ведет к ускорению накопления таких геномных aberrаций, как точечные мутации, делеции и перестройки. Результаты экспериментов показали, что частота мутаций гена *p53*, обнаруживаемых при таких хронических воспалительных заболеваниях, как

ревматоидный артрит или воспалительные заболевания кишечника, близка к частоте подобных мутаций в опухолях [29].

Наиболее сильная корреляция хронического воспаления с развитием злокачественных опухолей наблюдается в случае таких воспалительных заболеваний кишечника, как неспецифический язвенный колит и болезнь Крона. Хроническая инфекция вирусом гепатита С также приводит к повышению риска развития гепатоклеточной карциномы. Хроническое воспаление, вызываемое *Helicobacter pylori*, считается одной из основных причин развития рака желудка [30]. Несмотря на то что прямое повреждение ДНК считается основным механизмом, способствующим появлению злокачественной опухоли на фоне хронического воспаления, существуют данные, позволяющие утверждать, что клетки воспалительного инфильтрата способствуют инициации опухолей и за счет секреции цитокинов. Так, производимый макрофагами MIF (macrophage inhibitory factor) подавляет активность *p53* [31], что приводит к недостаточно эффективному ответу на повреждение ДНК, увеличению продолжительности жизни клеток и, как следствие, к еще более эффективному накоплению мутаций. Таким образом, можно утверждать, что нарушение функционирования контроля воспалительной реакции может приводить к инициации опухолевого роста.

Макрофаги в солидных опухолях

Солитарные опухоли представляют собой гетерогенную популяцию, состоящую как из непосредственно неопластических клеток, так и из рекрутированных мезенхимальных и эпителиальных клеток организма, которые формируют так называемое опухолевое микроокружение. Известно, что злокачественность первичной опухоли и способность ее к метастазированию в сильной степени зависят от микроокружения.

Опухолевое микроокружение, или поддерживающая строма опухоли, состоит из различных специфических компонентов внеклеточного матрикса, фибробластов, эндотелиальных клеток, клеток гладкой мускулатуры и клеток гематопоетической системы (в особенности клеток лейкоцитарного ряда, а именно нейтрофилов и макрофагов). Еще до недавнего времени основное внимание исследователей и их экспериментальные работы были сосредоточены на изучении непосредственно опухолевых клеток. Только в последние 2 десятилетия начало появляться огромное количество исследований, указывающих на то, что именно клетки опухолевого микроокружения определяют поведение опухоли. Паракринные взаимодействия клеток опухоли со своим микроокружением регулируют процессы опухолевого роста и прогрессии. Изменение микроокружения опухолевых клеток дает им возможность роста и инвазии. Анализ клеточного состава опухолевого микроокружения имеет большую прогностическую ценность, что лишний раз подчеркивает его значимость.

Одним из основных типов клеток опухолевого микроокружения являются макрофаги, ассоциированные с опухолью (MAO). Как уже было сказано, макрофаги представляют собой многофункциональные клетки, фенотип которых развивается под действием факторов окружающей среды. Макрофаги, фенотип которых развивается в ответ на цитокины и ростовые факторы, производимые опухолевыми клетками, поддерживают прогрессию опухоли и увеличивают ее злокачественный потенциал [6, 32, 33]. Результаты многочисленных клинических исследований показали, что количество MAO часто коррелирует с плохим прогнозом заболевания [6]. Особо следует отметить, что для тех типов опухолей, в которых большое количество MAO является индикатором плохого прогноза, на плохой прогноз также указывает повышенная экспрессия ростовых факторов и хемокинов, производимых макрофагами. Так, β -хемокин CCL2 часто экспрессируется в опухолях яичника, шейки матки, мочевого пузыря, молочной железы и глиоме, при этом в случае рака молочной железы, шейки матки и мочевого пузыря повышенная экспрессия CCL2 указывает на плохой прогноз [33–35]. M-CSF – цитокин, отвечающий за выживание и дифференцировку макрофагов, также экспрессируется клетками опухолей яичника, матки, молочной железы и предстательной железы [26, 36–39], причем повышенная экспрессия M-CSF всегда коррелирует с плохим прогнозом [36, 38]. При раке молочной железы повышенная экспрессия M-CSF коррелирует с плохим прогнозом и ассоциирована с повышенной инфильтрацией опухоли макрофагами в 90 % исследованных случаев [26]. Таким образом, можно утверждать, что клинические исследования в полной мере поддерживают гипотезу о том, что в большинстве типов солидных опухолей MAO поддерживают прогрессию опухолей за счет продукции хемокинов и ростовых факторов.

MAO выполняют большое количество функций, необходимых для поддержания ее жизнедеятельности. Они способны к стимуляции ангиогенеза и неоангиогенеза. В MAO, находящихся в условиях гипоксии, активируется транскрипционный фактор HIF2 α (hypoxia-inducible factor 2 α). HIF2 α , в свою очередь, активирует продукцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [40]. Кроме того, продукция VEGF усиливается стимуляцией макрофагов M-CSF [41]. Помимо ангиогенной активности, VEGF обладает свойствами хемоаттрактанта для макрофагов [42, 43] и, таким образом, формирует положительную обратную связь, которая обеспечивает ускоренную васкуляризацию опухоли. Помимо VEGF, MAO производят и другие проангиогенные цитокины [33, 44]. Так, макрофаги являются основным источником TNF, экспрессия которого повышается при инвазии опухоли [45] и IL-1 [46]. TNF, в свою очередь, активирует экспрессию MMP-9 – протеиназы, которая способна активировать латентную форму VEGF [47]. IL-1 β посредством

циклооксигеназы 2 активирует транскрипционный фактор HIF1, усиливающий транскрипцию VEGF [46]. Кроме ростовых факторов MAO производят и другие белки, стимулирующие ангиогенез. Урокиназный активатор плазминогена (uPA), например, активируется в результате стимуляции макрофагов M-CSF [48] и/или TGF- β 1 [49]. Экспрессия uPA и его ингибитора PAI-1 (plasminogen-activator inhibitor type 1) имеет прогностическое значение [50]. Так, uPA и его рецептор, экспрессируемые макрофагами в опухолях молочной железы [51], участвуют в деградации внеклеточного матрикса, что необходимо для прорастания новых сосудов. Тот факт, что экспрессия рецептора uPA коррелирует с плотностью сосудов в опухоли и плохим прогнозом заболевания, служит подтверждением этой гипотезы [50, 52]. В дополнение к этому обнаружена статистически достоверная корреляция экспрессии PAI-1 с ростом сосудов и стадией опухолевого процесса [53–55]. Эти данные указывают на важность системы uPA, регулируемой MAO, в неоангиогенезе.

Еще одним важным свойством MAO является секреция ростовых факторов, стимулирующих рост и подвижность опухолевых клеток [33, 56]. Среди этих факторов следует отметить фактор роста фибробластов (FGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), лиганды рецепторов семейства EGFR, тромбоцитарный ростовой фактор (PDGF) и белки семейства трансформирующего фактора роста β (TGF β). Лиганды рецепторов семейства EGFR особенно важны для развития опухолей молочной железы и легкого, так как экспрессия рецепторов этого семейства – ERBB3 и ERBB2 – часто повышена в клетках опухолей, именно эти рецепторы используются как мишени для терапии [57]. Кроме того, повышенная экспрессия ERBB1 (также известного как EGFR) при раке молочной железы коррелирует с плохим прогнозом и имеет диагностическое значение [58]. MAO являются основным источником EGF в опухолях [59] и в комбинации с повышенной экспрессией EGFR [43] указывают на плохой прогноз заболевания. EGF способен стимулировать пролиферацию опухолевых клеток и, кроме того, является хемоаттрактантом для клеток опухолей молочной железы [60]. На мышинной модели показано, что опухолевые клетки реагируют на производимый макрофагами EGF усилением пролиферации, инвазии и метастазирования. Эти данные хорошо согласуются с данными, полученными на другой мышинной модели, в которой полностью отсутствуют макрофаги. У этих мышей развитие опухолей отличалось значительно сниженным метастазированием [61].

Как уже упоминалось выше, макрофаги стимулируют прогрессию опухолей, а именно инвазию и экстравазию, путем секреции различных протеаз, таких как MMP-2, MMP-10, MMP-12, способных к деградации внеклеточного матрикса. В исследованиях, проведенных с использованием мышинных моделей [62], обнаружено, что в процессе инвазии MAO почти

всегда присутствовали в местах нарушения базальной мембраны и выхода опухолевых клеток. Показано, что MAO вызывают устойчивость опухолевых клеток к химио- и радиотерапии [63, 64].

Таким образом, на основании данных клинических и лабораторных исследований можно утверждать, что MAO в большинстве своем представляют собой макрофаги 2-го типа активации и играют немаловажную роль в прогрессии опухоли.

Перспективы клинического применения

С того момента, как связь MAO со злокачественными опухолями стала очевидной, предпринимаются различные попытки использовать их в клинике. Наиболее часто различные маркеры MAO применяют в качестве диагностических и прогностических маркеров различных опухолей или в качестве перспективных мишеней для создания новых таргетных терапевтических препаратов.

Например, показано, что макрофаги CD163+/CD14+ могут быть использованы в качестве потенциального диагностического маркера злокачественного плеврального выпота (MPE) [65]. Кроме того, количество растворимого CD163 в плазме крови может служить маркером множественной миеломы [66]. Также X. Tang и соавт. показали потенциальную возможность использования MAO в качестве диагностического и прогностического маркера при раке молочной железы [67]. Предпринимаются попытки поиска циркулирующих в кровотоке MAO, отсутствующих у здоровых доноров, в качестве маркеров опухолей при раке молочной, предстательной и поджелудочной железы [68]. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что циркулирующие MAO могут служить диагностическими маркерами солидных опухолей на поздних стадиях заболевания.

Прогностическая значимость MAO продемонстрирована для большинства солидных опухолей и на сегодняшний день практически не вызывает сомнений. В целом для большинства типов опухолей показана корреляция количества MAO различных фенотипов (CD68+, CD163+, CD204+, CD206+) с прогнозом течения заболевания, а именно большое количество MAO ассоциировано с плохим прогнозом. Однако для некоторых типов опухолей, например для рака толстой кишки [69], желудка [70] и предстательной железы [71], показана и обратная корреляция.

Сегодня предпринимаются различные попытки использования таргетного воздействия на макрофаги в целях противоопухолевой терапии. Например, на мышиной модели рака молочной железы показано, что привлечение макрофагов в опухоль происходит посредством экспрессии опухолевыми клетками хемокина CCL5. После систематической обработки животных с помощью антагониста рецептора данного хемокина наблюдалось значительное снижение размера опухоли и количества макрофагов, ее инфильтрирую-

щих [72]. Результаты недавних исследований *in vivo* показали, что совместная терапия карциномы печени с помощью сорафениба в комбинации с золедроновой кислотой значительно усиливает эффективность сорафениба и способствует регрессии опухоли за счет изменения фенотипа макрофагов ее микроокружения [64, 73]. Некоторые другие лекарственные препараты, например талидомид, пентоксифеллин и генистеин, также способны ингибировать макрофагальную инфильтрацию опухоли, способствуя ее уменьшению. Большинство исследователей в качестве мишеней воздействия на макрофаги выбирают их рецепторы, такие как CSF1R (colony stimulating factor 1 receptor). Моноклональные антитела к CSF1R находятся на разных стадиях клинических испытаний [74].

Ввиду того, что фенотип MAO соответствует фенотипу M2, перспективной представляется возможность перепрограммирования MAO в макрофаги 1-го типа. Ожидается, что лечение, направленное на ингибирование M2-дифференцировки, будет эффективным [75]. В процесс приобретения макрофагами M2-фенотипа вовлечены несколько путей регуляции с участием сигнальных молекул, таких как NF-κB, Stat3, Stat6, с-Мус [76–79]. Известно, что транскрипционные факторы NF-κB и Stat3 играют значительную роль в опухолевой прогрессии, и таргетные препараты к ним находятся в процессе разработки. В настоящее время уже используются лекарства, действие которых направлено также и на макрофаги. Например, циклоспорин А и трабектидин не только ингибируют рост непосредственно опухолевых клеток, но и подавляют активацию макрофагов [80, 81]. Бифосфонаты предотвращают разрушение кости остеокластами, но кроме этого, блокируют приобретение MAO фенотипа макрофагов 2-го типа [82]. Еще одной разрабатываемой на данный момент стратегией является блокирование дифференцировки макрофагов из M1- в M2-фенотип путем ингибирования необходимых для этого сигналов, в которых участвуют такие молекулы, как PPARs (proliferator-activated receptor), HIFs и mTOR (mammalian target of rapamycin). PPAR-γ представляют собой транскрипционный ингибитор NF-κB, а PPAR-α играет роль антагониста M1-состояния и поддерживает M2-статус [83, 84]. Показано, что нацеленное на макрофаги удаление HIF1α вызывает уменьшение опухолевого роста у мышей [85]. Широко в опухолевой иммунотерапии используется GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), также способный перепрограммировать MAO в M1-состояние. Другой цитокин — IL-12 — также снижает опухолевые свойства макрофагов [86].

Такой уже известный таргетный препарат, как бевацизумаб (моноклональные антитела к VEGF), являющийся ингибитором ангиогенеза, помимо непосредственного антиангиогенного влияния, способен подавлять и миграцию макрофагов [87, 88].

Таким образом, можно выделить 4 стратегии противоопухолевой терапии, направленной на макрофаги: ингибирование миграции макрофагов в опухоль, подавление выживания MAO в опухоли, увеличение противоопухолевой активности MAO, свойственной M1-фенотипу, а также подавление активности MAO, способствующей опухолевому росту.

Нужно отметить, что накопленные за последнее время данные сильно изменили представление о фор-

мировании и функционировании опухоли в целом и о роли ее микроокружения в частности. Таким образом, исследование механизмов различных аспектов влияния опухолевого микроокружения на возникновение опухоли и ее прогрессию дает возможность для поиска новых мишеней для специфической противоопухолевой терапии и профилактики распространения опухолевых клеток, т. е. создает перспективы для борьбы с прогрессирующим онкологическим заболеванием.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Fernandez-Velasco M., Gonzalez-Ramos S., Bosca L. Involvement of monocytes/macrophages as key factors in the development and progression of cardiovascular diseases. *Biochem J* 2014;458(2):187–93. DOI: 10.1042/BJ20131501. PMID: 24524191.
- Chavez-Sanchez L., Espinosa-Luna J.E., Chavez-Rueda K. et al. Innate immune system cells in atherosclerosis. *Arch Med Res* 2014;45(1):1–14. DOI: 10.1016/j.arcmed.2013.11.007. PMID: 24326322.
- Gordon S., Taylor P.R. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol* 2005;5(12):953–64. DOI: 10.1038/nri1733. PMID: 16322748.
- Gratchev A., Kzhyshkowska J., Kothe K. et al. Mphi1 and Mphi2 can be re-polarized by Th2 or Th1 cytokines, respectively, and respond to exogenous danger signals. *Immunobiology* 2006;211(6–8):473–86. DOI: 10.1016/j.imbio.2006.05.017. PMID: 16920487.
- Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352(16):1685–95. DOI: 10.1056/NEJMr043430. PMID: 15843671.
- Bingle L., Brown N.J., Lewis C.E. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol* 2002;196(3):254–65. DOI: 10.1002/path.1027. PMID: 11857487.
- Stout R.D., Suttles J. Functional plasticity of macrophages: reversible adaptation to changing microenvironments. *J Leukoc Biol* 2004;76(3):509–13. DOI: 10.1189/jlb.0504272. PMID: PMC1201486.
- Stein M., Keshav S., Harris N., Gordon S. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. *J Exp Med* 1992;176(1):287–92. PMID: 1613462.
- Locati M., Mantovani A., Sica A. Macrophage activation and polarization as an adaptive component of innate immunity. *Adv Immunol* 2013;120:163–84. DOI: 10.1016/B978-0-12-417028-5.00006-5. PMID: 24070384.
- Gratchev A., Schledzewski K., Guillot P., Goerdts S. Alternatively activated antigen-presenting cells: molecular repertoire, immune regulation, and healing. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001;14(5):272–9. DOI: 10.1159/000056357. PMID: 11586068.
- Mantovani A. Chemokines in neoplastic progression. *Semin Cancer Biol* 2004;14(3):147–8. DOI: 10.1016/j.semcancer.2003.10.010. PMID: 15246048.
- Ferreira M.A. Cytokine expression in allergic inflammation: systematic review of *in vivo* challenge studies. *Mediators Inflamm* 2003;12(5):259–67. DOI: 10.1080/09629350310001619717. PMID: 14760932.
- Goerdts S., Polit O., Schledzewski K. et al. Alternative versus classical activation of macrophages. *Pathobiology* 1999;67(5–6):222–6. DOI: 10.1159/000028096. PMID: 10725788.
- Gordon S., Clarke S., Greaves D. et al. Molecular immunobiology of macrophages: recent progress. *Curr Opin Immunol* 1995;7(1):24–33. PMID: 7772278.
- Gratchev A., Kzhyshkowska J., Utikal J., Goerdts S. Interleukin-4 and dexamethasone counterregulate extracellular matrix remodelling and phagocytosis in type-2 macrophages. *Scand J Immunol* 2005;61(1):10–7. DOI: 10.1111/j.0300-9475.2005.01524.x. PMID: 15644118.
- Gratchev A., Guillot P., Hakiy N. et al. Alternatively activated macrophages differentially express fibronectin and its splice variants and the extracellular matrix protein betaIG-H3. *Scand J Immunol* 2001;53(4):386–92. PMID: 11285119.
- Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol* 2003;3(1):23–35. DOI: 10.1038/nri978. PMID: 12511873.
- Gratchev A., Kzhyshkowska J., Kannokadan S., et al. Activation of a TGF-beta-specific multistep gene expression program in mature macrophages requires glucocorticoid-mediated surface expression of TGF-beta receptor II. *J Immunol* 2008;180(10):6553–65.
- Gratchev A. TGF-beta signalling in tumour associated macrophages. *Immunobiology* 2017;222(1):75–81. DOI: 10.1016/j.imbio.2015.11.016.
- Anderson C.F., Gerber J.S., Mosser D.M. Modulating macrophage function with IgG immune complexes. *J Endotoxin Res.* 2002;8(6):477–81. DOI: 10.1179/096805102125001118. PMID: 12697094.
- Herrero C., Hu X., Li W.P. et al. Reprogramming of IL-10 activity and signaling by INF-gamma. *J Immunol* 2003;171(10):5034–41. PMID: 14607900.
- Kim J., Hematti P. Mesenchymal stem cell-educated macrophages: a novel type of alternatively activated macrophages. *Exp Hematol* 2009;37(12):1445–53. DOI: 10.1016/j.exphem.2009.09.004. PMID: 19772890.
- Chevrier S., Levine J.H., Zanotelli V.R.T. et al. An immune atlas of clear cell renal cell carcinoma. *Cell* 2017;169(4):736–49. e18. DOI: 10.1016/j.cell.2017.04.016. PMID: 28475899.
- Blaser M.J., Perez-Perez G.I., Kleantous H. et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res* 1995;55(10):2111–5. PMID: 7743510.
- Kuper H., Adami H.O., Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Intern Med* 2000;248(3):171–83. PMID: 10971784.
- Scholl S.M., Pallud C., Beuvon F. et al. Anti-colony-stimulating factor-1 antibody staining in primary breast adenocarcinomas correlates with marked inflammatory cell infiltrates and prognosis. *J Natl Cancer Inst* 1994;86(2):120–6. PMID: 8271294.
- Shacter E., Weitzman S.A. Chronic inflammation and cancer. *Oncology (WillistonPark)* 2002;16(2):217–26.
- Maeda H., Akaike T. Nitric oxide and oxygen radicals in infection, inflammation, and cancer. *Biochemistry (Mosc)* 1998;63(7):854–65. PMID: 9721338.
- Yamanishi Y., Boyle D.L., Rosengren S. et al. Regional analysis of p53 mutations

- in rheumatoid arthritis synovium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(15):10025–30. DOI: 10.1073/pnas.152333199. PMID: 12119414.
30. Ernst P.B., Gold B.D. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:615–40. PMID: 11018139.
 31. Hudson J.D., Shoaibi M.A., Maestro R. et al. A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity. *J Exp Med* 1999;190(10):1375–82. PMID: 10562313.
 32. Brigati C., Noonan D.M., Albini A., Benelli R. Tumors and inflammatory infiltrates: friends or foes? *Clin Exp Metastasis* 2002;19(3):247–58. PMID: 12067205.
 33. Leek R.D., Harris A.L. Tumor-associated macrophages in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002;7(2):177–89. PMID: 12463738.
 34. Saji H., Koike M., Yamori T. et al. Significant correlation of monocyte chemoattractant protein-1 expression with neovascularization and progression of breast carcinoma. *Cancer* 2001;92(5):1085–91. PMID: 11571719.
 35. Ueno T., Toi M., Saji H. et al. Significance of macrophage chemoattractant protein-1 in macrophage recruitment, angiogenesis, and survival in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6(8):3282–9. PMID: 10955814.
 36. Kacinski B.M. CSF-1 and its receptor in ovarian, endometrial and breast cancer. *Ann Med* 1995;27(1):79–85. PMID: 7742005.
 37. Kacinski B.M. CSF-1 and its receptor in breast carcinomas and neoplasms of the female reproductive tract. *Mol Reprod Dev* 1997;46(1):71–4. DOI: 10.1002/(SICI)1098-2795(199701)46:1<71::AID-MRD11>3.0.CO;2-6. PMID: 8981366.
 38. Lin E.Y., Gouon-Evans V., Nguyen A.V. et al. The macrophage growth factor CSF-1 in mammary gland development and tumor progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002;7(2):147–62. PMID: 12465600.
 39. Smith H.O., Anderson P.S., Kuo D.Y. et al. The role of colony-stimulating factor 1 and its receptor in the etiopathogenesis of endometrial adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 1995;1(3):313–25. PMID: 9815987.
 40. Lewis J.S., Landers R.J., Underwood J.C. et al. Expression of vascular endothelial growth factor by macrophages is up-regulated in poorly vascularized areas of breast carcinomas. *J Pathol* 2000;192(2):150–8. DOI: 10.1002/1096-9896(2000)9999:9999<::AID-PATH687>3.0.CO;2-G. PMID: 11004690.
 41. Eubank T.D., Galloway M., Montague C.M. et al. M-CSF induces vascular endothelial growth factor production and angiogenic activity from human monocytes. *J Immunol* 2003;171(5):2637–43. PMID: 12928417.
 42. Barleon B., Sozzani S., Zhou D. et al. Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1. *Blood* 1996;87(8):3336–43. PMID: 8605350.
 43. Leek R.D., Hunt N.C., Landers R.J. et al. Macrophage infiltration is associated with VEGF and EGFR expression in breast cancer. *J Pathol* 2000;190(4):430–6. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(200003)190:4<430::AID-PATH538>3.0.CO;2-6. PMID: 10699991.
 44. Boudreau N., Myers C. Breast cancer-induced angiogenesis: multiple mechanisms and the role of the microenvironment. *Breast Cancer Res* 2003;5(3):140–6. DOI: 10.1186/bcr589. PMID: 12793895.
 45. Miles D.W., Happerfield L.C., Naylor M.S. et al. Expression of tumour necrosis factor (TNF alpha) and its receptors in benign and malignant breast tissue. *Int J Cancer* 1994;56(6):777–82. PMID: 8119765.
 46. Jung Y.J., Isaacs J.S., Lee S. et al. IL-1beta-mediated up-regulation of HIF1alpha via an NFkappaB/COX-2 pathway identifies HIF1 as a critical link between inflammation and oncogenesis. *FASEB J* 2003;17(14):2115–7. DOI: 10.1096/fj.03-0329fje. PMID: 12958148.
 47. Balkwill F., Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001;357(9255):539–45. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)04046-0. PMID: 11229684.
 48. Stacey K.J., Fowles L.F., Colman M.S. et al. Regulation of urokinase-type plasminogen activator gene transcription by macrophage colony-stimulating factor. *Mol Cell Biol* 1995;15(6):3430–41. PMID: 7760840.
 49. Hildenbrand R., Jansen C., Wolf G. et al. Transforming growth factor-beta stimulates urokinase expression in tumor-associated macrophages of the breast. *Lab Invest* 1998;78(1):59–71. PMID: 9461122.
 50. Foekens J.A., Peters H.A., Look M.P. et al. The urokinase system of plasminogen activation and prognosis in 2780 breast cancer patients. *Cancer Res* 2000;60(3):636–43. PMID: 10676647.
 51. Hildenbrand R., Dilger I., Horlin A. et al. Urokinase and macrophages in tumour angiogenesis. *Br J Cancer* 1995;72(4):818–23.
 52. Hildenbrand R., Glienke W., Magdolen V. et al. Urokinase receptor localization in breast cancer and benign lesions assessed by in situ hybridization and immunohistochemistry. *Histochem Cell Biol* 1998;110(1):27–32. PMID: 9681686.
 53. Fox S.B., Taylor M., Grondahl-Hansen J. et al. Plasminogen activator inhibitor-1 as a measure of vascular remodelling in breast cancer. *J Pathol* 2001;195(2):236–43. DOI: 10.1002/path.931. PMID: 11592104.
 54. Hildenbrand R., Wolf G., Bohme B. et al. Urokinase plasminogen activator receptor (CD87) expression of tumor-associated macrophages in ductal carcinoma in situ, breast cancer, and resident macrophages of normal breast tissue. *J Leukoc Biol* 1999;66(1):40–9. PMID: 10410988.
 55. Knoop A., Andreasen P.A., Andersen J.A. et al. Prognostic significance of urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in primary breast cancer. *Br J Cancer* 1998;77(6):932–40. PMID: 9528837.
 56. Ogmundsdottir H.M., Petursdottir I., Gudmundsdottir I. Interactions between the immune system and breast cancer. *Acta Oncol* 1995;34(5):647–50. PMID: 7546833.
 57. Menard S., Tagliabue E., Campiglio M., Pupa S.M. Role of *HER2* gene overexpression in breast carcinoma. *J Cell Physiol* 2000;182(2):150–62. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(200002)182:2<150::AID-JCP3>3.0.CO;2-E. PMID: 10623878.
 58. Nicholson S., Richard J., Sainsbury C. et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR); results of a 6 year follow-up study in operable breast cancer with emphasis on the node negative subgroup. *Br J Cancer* 1991;63(1):146–50. PMID: 1846551.
 59. O'Sullivan C., Lewis C.E., Harris A.L., McGee J.O. Secretion of epidermal growth factor by macrophages associated with breast carcinoma. *Lancet* 1993;342(8864):148–9. PMID: 8101258.
 60. Wyckoff J.B., Segall J.E., Condeelis J.S. The collection of the motile population of cells from a living tumor. *Cancer Res* 2000;60(19):5401–4. PMID: 11034079.
 61. Lin E.Y., Nguyen A.V., Russell R.G., Pollard J.W. Colony-stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumors to malignancy. *J Exp Med* 2001;193(6):727–40. PMID: 11257139.
 62. Arnott C.H., Scott K.A., Moore R.J. et al. Tumour necrosis factor-alpha mediates tumour promotion via a PKC alpha- and AP-1-dependent pathway. *Oncogene* 2002;21(31):4728–38. DOI: 10.1038/sj.onc.1205588. PMID: 12101411.
 63. Fischer C., Jonckx B., Mazzone M. et al. Anti-PIGF inhibits growth of VEGF(R)-inhibitor-resistant tumors without affecting healthy vessels. *Cell* 2007;131(3):463–75. DOI: 10.1016/j.cell.2007.08.038. PMID: 17981115.
 64. Zhang W., Zhu X.D., Sun H.C. et al. Depletion of tumor-associated macrophages enhances the effect of sorafenib in metastatic liver cancer models by antimetastatic and antiangiogenic effects. *Clin Cancer Res* 2010;16(13):3420–30. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2904. PMID: 20570927.
 65. Wang F., Yang L., Gao Q. et al. CD163+CD14+ macrophages, a potential immune biomarker for malignant pleural effusion. *Cancer Immunol Immunother* 2015;64(8):965–76. DOI: 10.1007/s00262-015-1701-9. PMID: 25944005.
 66. Andersen M.N., Abildgaard N., Maniecki M.B. et al. Monocyte/macrophage-de-

- rived soluble CD163: a novel biomarker in multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2014;93(1):41–7. DOI: 10.1111/ejh.12296. PMID: 24612259.
67. Tang X. Tumor-associated macrophages as potential diagnostic and prognostic biomarkers in breast cancer. *Cancer Lett* 2013;332(1):3–10. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.01.024. PMID: 23348699.
 68. Adams D.L., Martin S.S., Alpaugh R.K. et al. Circulating giant macrophages as a potential biomarker of solid tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(9):3514–9. DOI: 10.1073/pnas.1320198111. PMID: 24550495.
 69. Forsell J., Oberg A., Henriksson M.L. et al. High macrophage infiltration along the tumor front correlates with improved survival in colon cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13(5):1472–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2073. PMID: 17332291.
 70. Wang B., Xu D., Yu X. et al. Association of intra-tumoral infiltrating macrophages and regulatory T cells is an independent prognostic factor in gastric cancer after radical resection. *Ann Surg Oncol* 2011;18(9):2585–93. DOI: 10.1245/s10434-011-1609-3. PMID: 21347781.
 71. Shimura S., Yang G., Ebara S. et al. Reduced infiltration of tumor-associated macrophages in human prostate cancer: association with cancer progression. *Cancer Res* 2000;60(20):5857–61. PMID: 11059783.
 72. Robinson S.C., Scott K.A., Wilson J.L. et al. A chemokine receptor antagonist inhibits experimental breast tumor growth. *Cancer Res* 2003;63(23):8360–5. PMID: 14678997.
 73. Coscia M., Quaglini E., Iezzi M. et al. Zole-dronic acid repolarizes tumour-associated macrophages and inhibits mammary carcinogenesis by targeting the mevalonate pathway. *J Cell Mol Med* 2010;14(12):2803–15. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00926.x. PMID: 19818098.
 74. Hamilton J.A., Achuthan A. Colony stimulating factors and myeloid cell biology in health and disease. *Trends Immunol* 2013;34(2):81–9. DOI: 10.1016/j.it.2012.08.006. PMID: 23000011.
 75. Komohara Y., Jinushi M., Takeya M. Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors. *Cancer Sci* 2014;105(1):1–8. DOI: 10.1111/cas.12314. PMID: 24168081.
 76. Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: *in vivo* veritas. *J Clin Invest* 2012;122(3):787–95. DOI: 10.1172/JCI59643. PMID: 22378047.
 77. Pello O.M., De Pizzol M., Mirolo M. et al. Role of c-Myc in alternative activation of human macrophages and tumor-associated macrophage biology. *Blood* 2012;119(2):411–21. DOI: 10.1182/blood-2011-02-339911. PMID: 22067385.
 78. Satoh T., Takeuchi O., Vandenbon A. et al. The *Jmjd3-Irf4* axis regulates M2 macrophage polarization and host responses against helminth infection. *Nature Immunol* 2010;11(10):936–44. DOI: 10.1038/ni.1920.
 79. Lawrence T., Natoli G. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity. *Nat Rev Immunol* 2011;11(11):750–61. DOI: 10.1038/nri3088. PMID: 22025054.
 80. Germano G., Frapolli R., Belgiovine C. et al. Role of macrophage targeting in the antitumor activity of trabectedin. *Cancer Cell* 2013;23(2):249–62. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.01.008. PMID: 23410977.
 81. Gabrusiewicz K., Ellert-Miklaszewska A., Lipko M. et al. Characteristics of the alternative phenotype of microglia/macrophages and its modulation in experimental gliomas. *PLoS One* 2011;6(8):e23902. DOI: 10.1371/journal.pone.0023902. PMID: 21901144.
 82. Rogers T.L., Holen I. Tumour macrophages as potential targets of bisphosphonates. *J Transl Med* 2011;9:177. DOI: 10.1186/1479-5876-9-177. PMID: 22005011.
 83. van Ginderachter J.A., Movahedi K., Van den Bossche J. et al. Macrophages, PPARs, and Cancer. *PPAR Res* 2008;2008:169414. DOI: 10.1155/2008/169414.
 84. Lewis C., Murdoch C. Macrophage responses to hypoxia: implications for tumor progression and anti-cancer therapies. *Am J Pathol* 2005;167(3):627–35. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62038-X. PMID: 16127144.
 85. Doedens A.L., Stockmann C., Rubinstein M.P. et al. Macrophage expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha suppresses T-cell function and promotes tumor progression. *Cancer Res* 2010;70(19):7465–75. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1439. PMID: 20841473.
 86. Watkins S.K., Egilmez N.K., Suttles J. et al. IL-12 rapidly alters the functional profile of tumor-associated and tumor-infiltrating macrophages *in vitro* and *in vivo*. *J Immunol* 2007;178(3):1357–62. PMID: 17237382.
 87. Qian B.Z., Li J., Zhang H. et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis. *Nature* 2011;475(7355):222–5. DOI: 10.1038/nature10138. PMID: 21654748.
 88. Roland C.L., Dineen S.P., Lynn K.D. et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor reduces angiogenesis and modulates immune cell infiltration of orthotopic breast cancer xenografts. *Mol Cancer Ther* 2009;8(7):1761–71. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0280. PMID: 19567820.

Вклад авторов

А.Н. Грачев: формирование концепции, написание обзора;
 Д.В. Самойлова, М.А. Рашидова, А.А. Петренко: анализ данных литературы;
 О.В. Ковалева: анализ данных литературы, написание обзора.

Authors' contributions

A.N. Gratchev: concept formulation, review writing;
 D.V. Samoilova, M.A. Rashidova, A.A. Petrenko: literature data analysis;
 O.V. Kovaleva: literature data analysis, review writing.

ORCID авторов/ORCID of authors

А.Н. Грачев/A.N. Gratchev: <https://orcid.org/0000-0003-2137-1866>
 Д.В. Самойлова/D.V. Samoilova: <https://orcid.org/0000-0001-5639-0835>
 А.А. Петренко/A.A. Petrenko: <https://orcid.org/0000-0001-6951-3996>
 О.В. Ковалева/O.V. Kovaleva: <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 17-04-01857.

Financing. This research was supported by Russian Foundation for Basic Research (grant No 17-04-01857).

Статья поступила: 12.09.2018. **Принята к публикации:** 31.10.2018.

Article received: 12.09.2018. **Accepted for publication:** 31.10.2018.