

# Polarizacija makrofaga u autoimunim bolestima

---

Ivšić, Valerija

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:995935>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Valerija Ivšić

**Polarizacija makrofaga u autoimunim  
bolestima**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Valerija Ivšić

**Macrophage polarization in autoimmune  
diseases**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

---

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularna Biologija na Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Nade Oršolić.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Završni rad

# Polarizacija makrofaga u autoimunim bolestima

Valerija Ivšić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Makrofagi su visoko plastične stanice koje s obzirom na okolišne stimulanse prisutne u tkivu mijenjaju fenotip i metabolizam. Jednom uspostavljeni stanični programi makrofaga nisu konačni već se dinamično prilagođavaju novim uvjetima s ciljem održavanja homeostaze. Iako u organizmu postoji spektar populacija makrofaga, pojednostavljeno ih možemo grupirati u proupalni M1 fenotip i protupalni fenotip M2 na temelju načina aktivacije i profila genske ekspresije. Poremećaji omjera M1 i M2 populacija uočeni su u nekih autoimunih bolesti poput reumatoidnog artritisa, sistemskog eritemskog lupusa i ulceroznog kolitisa. Manjak M2 makrofaga i produljena aktivacija M1 makrofaga otežava uspostavu homeostaze pogođenih tkiva i smanjuje vrijeme između relapsa. Najistaknutije metode liječenja autoimunih bolesti utišavaju cjelokupni imunosni sustav, a uspostava povoljnog omjera M1/M2 predstavlja perspektivni alternativni pristup. Induciranje stanične smrti M1 ili njihovo reprogramiranje u M2 pokazali su dobre rezultate u kliničkim i laboratorijskim istraživanjima, no potrebno je daljnje razvijanje terapija s većom specifičnošću u ciljanju subpopulacija makrofaga.

Ključne riječi: M1, M2, adaptacija, diferencijacija

(18 stranica, 2 slike, 24 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski )

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Nada Oršolić

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Bachelor thesis

### Macrophage polarization in autoimmune diseases

Valerija Ivšić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Macrophages are highly plastic cells who can change their phenotype and metabolism due to environmental stimuli present in the tissue they inhabit. Cellular programs they have established are not final and macrophages can adapt to new conditions with the aim of maintaining homeostasis. There is a spectrum of macrophage populations but, due to their activation modes and gene expression profiles, they can be divided in two simplified groups; inflammatory M1 phenotype and anti-inflammatory M2 phenotype. Ratio imbalances of M1 and M2 populations have been observed in some autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and ulcerative colitis. With decreased number of M2 macrophages and prolonged activation of M1 macrophages establishment of homeostasis is delayed and time between relapses is reduced. Nowadays, the most prominent methods for treating autoimmune diseases are based on immunosuppressants. Alternative approach could be reestablishment of favorable M1/M2 ratio. Experiments showed promising results when researchers induced M1 cellular death or reprogrammed them into M2 but further development of higher specificity in targeting certain populations is necessary.

Keywords: M1, M2, adaptation, differentiation

(18 pages, 2 figures, 24 references, original in: Croatian )

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: prof. dr. sc. Nada Oršolić

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	2
2. PODRIJETLO MAKROFAGA.....	3
3. POLARIZACIJA MAKROFAGA.....	3
3.1. MEHANIZMI POLARIZACIJE MAKROFAGA.....	6
3.2. METABOLIČKE KARAKTERISTIKE POLARIZIRANIH MAKROFAGA.....	9
4. AUTOIMUNE BOLESTI .....	10
4.1. POLARIZACIJA MAKROFAGA U REUMATOIDNOM ARTRITISU .....	11
4.2. POLARIZACIJA MAKROFAGA U ULCEROZnom KOLITISU .....	11
5. MAKROFAGI KAO META U LJEČENJU AUTOIMUNIH BOLESTI.....	13
5.1. REPROGRAMIRANJE MAKROFAGA .....	13
5.2. INDUKCIJA APOPTOZE MAKROFAGA .....	14
6. ZAKLJUČAK .....	15
7. LITERATURA .....	16
8. SAŽETAK.....	18
9. SUMMARY .....	18



## 1. UVOD

Imunosni sustav čini kompleksni splet specijaliziranih stanica, organa, tkiva i proteina koji omogućuju život u neprestano promjenjivom okolišu. Makrofagi, kao stanice urođenog imunog sustava s brojnim ulogama u organizmu, pobuđuju veliki interes znanstvenika.

Početak dvadesetog stoljeća, prvi su puta opisani kao stanice fagocitirajuće aktivnosti (Liu i sur. 2014). Tek je krajem 1990-tih uočena je njihova visoka plastičnost i spektar populacija koje se osim fenotipom razlikuju i funkcijom. Podjela na klasu M1 proupalnih makrofaga, aktiviranih klasičnim putem, te klasu M2 protuupalnih makrofaga, aktiviranih alternativnim putem, pojednostavljena je klasifikacija ovih imunskih stanica po uzoru na klasifikaciju pomoćničkih limfocita T na  $T_H1$  i  $T_H2$  stanice (Parisi i sur. 2018). Razlike u populacijama makrofaga posljedica su mikrokolišnih uvjeta; citokinskog milijea te fiziološkog stanja tkiva, koji uz modulaciju ekspresije gena mijenjaju i metabolički status stanica.

Proces upale koji završava uspostavom homeostaze tkiva nakon uklanjanja izvora upale zahtjeva određeni vremenski slijed djelovanja imunskih stanica. Makrofagi pritom prolaze polarizaciju od M1 fenotipa temeljenom na ubijanju patogena i novačenju ostalih imunskih stanica na mjesto upale, prema M2 fenotipu koji potiče proliferaciju stanica i popravak tkiva. Autoimune bolesti primjer su upala kod kojih nedostaje razrješenje; izvor upale jesu auto-antigeni koje je nemoguće ukloniti iz organizma (Murray 2017). Poremećaj omjera M1 i M2 populacija makrofaga u tkivu jedno je od uočenih svojstva nekih autoimunih bolesti. Povećani udio M1 makrofaga te njihovih proupalnih produkata, uz manju prisutnost M2 makrofaga, potiče oštećenja tkiva i dugotrajno zadržavanje upale (Mohammadi i sur. 2018). Nije još razjašnjeno jesu li poremećaji M1/M2 omjera uzrok autoimunih bolesti ili njihova posljedica, no svojstvo plastičnosti populacija čini ih potencijalnom metom u liječenju (Funes et al., 2018). Ovaj završni rad osvrnuti će se na mehanizam polarizacije makrofaga, poremećaje polarizacije u autoimunim bolestima te mogućnost njihove modulacije u svrhu liječenja.

## 2. PODRIJETLO MAKROFAGA

Prema nastanku, makrofage dijelimo na one embrionalnog podrijetla i makrofage monocitnog podrijetla. Tijekom embrionalnog razvoja eritrocitno-mijeloidni progenitori iz žumanjčane vreće te naknadno progenitorske stanice iz fetalne jetre premještaju se u organe u nastajanju poput mozga, kože, pluća, gušterače i drugih. Ondje sudjeluju u organizaciji i remodeliranju tkiva, a zadržavaju se i u odrasloj dobi kada se samostalno održavaju proliferacijom, odnosno reaktivacijom staničnog ciklusa.

Monociti jesu mononuklearne stanice koje uz makrofage i dendritičke stanice pripadaju mononuklearnom fagocitnom sustavu. Nastaju iz mijeloidne progenitorske stanice u fetalnoj jetri ili koštanoj srži nakon čega cirkuliraju krvotokom. Osim što mogu, ovisno o tkivu, zamijeniti tkivne makrofage embrionalnog podrijetla na kraju životnog vijeka, na upalne signale diferenciraju u makrofage, izlaze iz krvotoka i infiltriraju pogođena tkiva.

Usporedbom transkriptoma tkivnih makrofaga oba podrijetla uočene su razlike u tek nekoliko mRNA, a funkcionalno se ne mogu razlučiti (Murray 2017).

## 3. POLARIZACIJA MAKROFAGA

Pojam polarizacije odnosi se na svojstvo plastičnosti populacija makrofaga; dinamične prilagodbe (adaptacije) staničnog programa, a time i fenotipa, na uvijete u kojima se nalaze. Opće prihvaćena klasifikacija makrofaga dijeli ih u dvije klase; M1 i M2, prema tipu upalnih medijatora koje izlučuju (Slika 1.). Ova klasifikacija pojednostavljuje stvarnu situaciju u tijelu te prikazuje opažanja *in vitro* istraživanja u pregenomskoj eri znanosti, periodu prije intenzivnih istraživanja koja integriraju analize genoma, transkriptoma i proteoma stanica (Ponzoni i sur. 2018.). Nažalost, bez interdisciplinarnog pristupa ne mogu se oslikati multidimenzijски sustavi kao što je imunosni (Murray 2017).

M1 skupinu makrofaga karakterizira proupalna aktivnost; stvaranje i lučenje proupalnih citokina od kojih su neki tumorski čimbenik nekroze alfa (engl. „*Tumor necrosis factor*“, TNF- $\alpha$ ), interleukini IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 i IL-18 te kemokini CCL5, CXCL9, CXCL10 i CXCL5 kojima se potiče stanični imunosni upalni odgovor. Njihova sposobnost predočavanja antigena pritom se povećava zbog pojačane ekspresije gena glavnoga sustava tkivne snošljivosti skupine 2. (engl. „*Major histocompatibility complex class II*“, MHC II), koji se kod čovjeka nazivaju geni HLA sustava (engl. „*human leukocyte antigens*“). Povećano ekspimiraju i kostimulatorske molekule CD40, CD80 čime se pojačava učinak aktivacije limfocita T<sub>H</sub>1. Zbog povećane sinteze dušikovog oksida (NO) djelovanjem inducibilne dušik oksid sintaze te stvaranja reaktivnih kisikovih oblika (ROS) direktno se oštećuju

fagocitirani mikroorganizmi i sprječava proliferacija stranih stanica te vlastitih promijenjenih stanica (Wang i sur. 2014). Diferencijacija makrofaga u ovu fenotipsku grupu potaknuta je mikrobnim produktima kao što su lipopolisahardi (LPS), lipoteikoična kiselina (LTH), granulocitni-makrofagni stimulirajući čimbenik (engl. „*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*“, GM-CSF) te citokin interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ).

Specifičnosti protuupalnih makrofaga M2 skupine jesu poticanje razrješenja upale, obnova i remodeliranje oštećenog tkiva, obrana od helminta te uključenosti u alergijske reakcije. Na površini nose biljege CD36, transferinske receptore CD71 i CD163 te makrofagni manozni receptor (engl. „*Macrophage mannose receptor*“, MMR ili CD206). Odlikuje ih i povećana ekspresija enzima arginaza-1 (Arg-1) te transglutaminaza 2 kojima potiču sintezu proteinskog izvanstaničnog matriksa. Ovu klasu dalje možemo podijeliti na još 4 skupine; M2a, M2b, M2c, M2d, na temelju stimulansa koji ih aktiviraju. Aktivacija citokinima IL-4, IL-13 usmjerava makrofage prema M2a fenotipu koji uklanja oštećenja i luči protuupalni citokin transformirajući čimbenik rasta- $\beta$  (engl. „*transforming growth factor  $\beta$* “, TGF  $\beta$ ). M2b makrofagi vrše regulatornu ulogu lučenjem glukokortikoida, IL-10, TGF- $\beta$ , a aktiviraju se imunokompleksima, LPS-om i citokinom IL-1. Skupinu regulatornih M2c čine makrofagi M1 koji su deaktivirani djelovanjem glukokortikoida, IL-10 i CCL13, a TGF- $\beta$  je njihov glavni izlučeni medijator. TGF- $\beta$  se pritom ističe u protuupalnom odgovoru smanjenjem sinteze NO i aktivacije signalnog puta TGF- $\beta$ /SMAD potrebnog za diferencijaciju regulatornih limfocita T (Di Benedetto i sur. 2019). Proangiogeni makrofagi M2d, aktivirani IL-6 i adenozinom A2a djeluju putem krvožilnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF) te epidermalnog čimbenika rasta (EGF) kojima potiču cijeljenje tkiva (Mohammadi i sur. 2018; Thapa i Lee 2019).

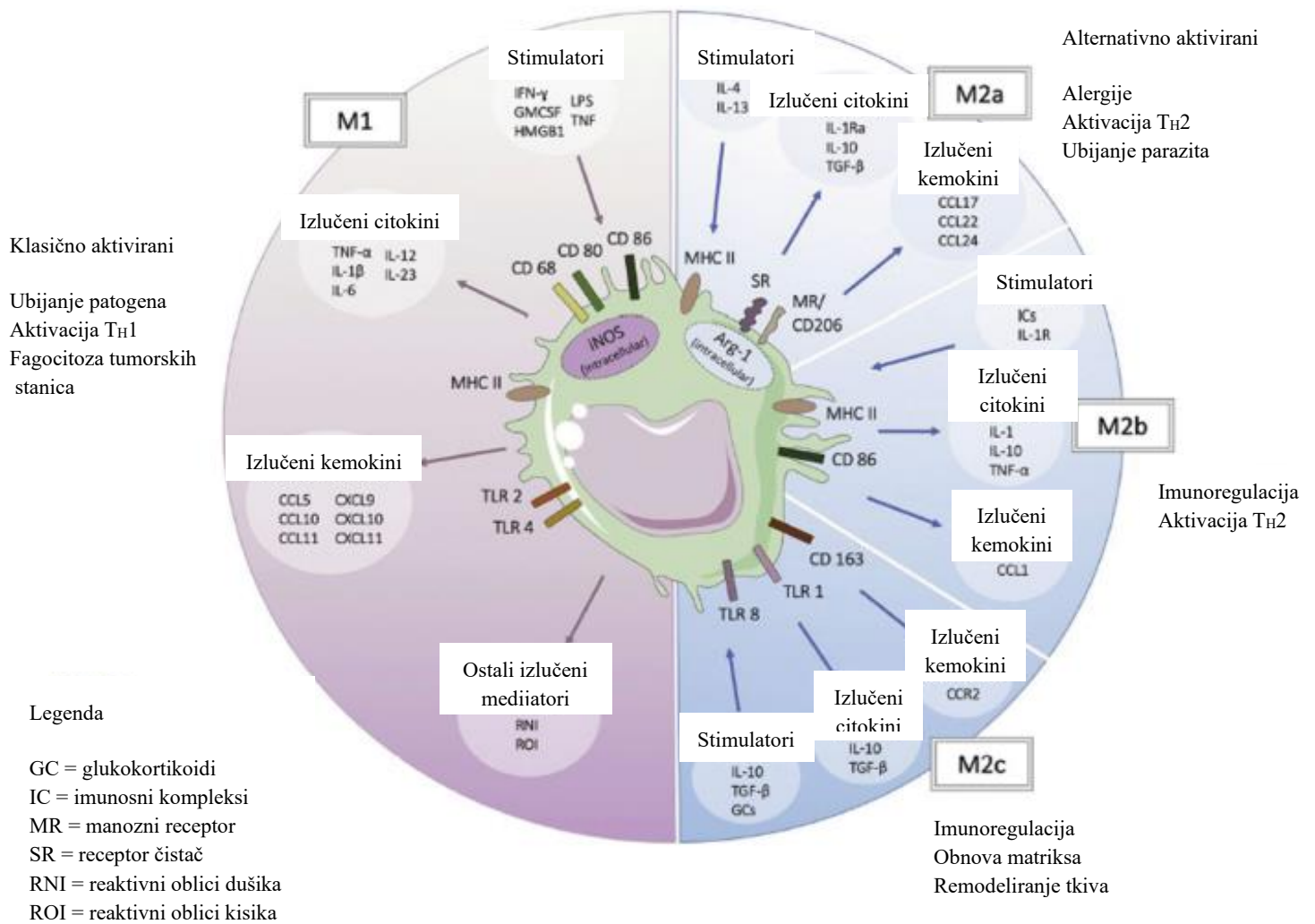
Uz navedene glavne klase, danas se otkriva sve više populacija makrofaga koje na temelju profila genske ekspresije, odnosno preklapanja staničnih biljega ne mogu biti svrstane u postojeće klase čime je potvrđeno postojanje spektra populacija makrofaga.

U nekrotičkim regijama tumorskih, u uvjetima hipoksije i manjka glukoze, prisutna je populacija makrofaga nazvana tumoru pridruženi makrofagi (engl. „*tumor associated macrophages*“, TAM). Pretpostavlja se kako oni potiču remodeliranje strome i supresiju imunog sustava. Izlučuju plazmin i katepsin B kojima pojačavaju invazivnost tumorskih stanica i uzrokuju metastaziranje. Iako su dugo vremena smatrani podtipom M2 klase zbog stvaranja IL10, karakterizira ih signalni put aktivacije nalik M1 makrofagima te poprimaju neke proupalne značajke.

Populacija makrofaga CD169<sup>+</sup>, lokalizirana u koštanoj srži, jetri, slezeni i limfnim čvorovima, predstavlja zasebnu skupinu uključenu u procese eritropoeze, imunosne tolerancije te novačenja prirodno ubilačkih stanica (engl. „*natural killer*“, NK) u virusnim infekcijama. Trenutačno postoje dva modela kojim se objašnjava njihova uloga u održavanju imunosne tolerancije; novačenje regulatornih limfocita T i antigen predočnih stanica ekspresijom CCL22 kemokina te nakupljanje egzosoma iz

cirkulacijskog sustava koji sadržavaju autoantigene čime sprječavaju aktivaciju autoreaktivnih limfocita. Njihova akumulacija primijećena je u nekim bubrežnim bolestima koje karakterizira proteinurija i proliferacija glomerulnih stanica.

Makrofagi, također mogu poprimiti fenotip sa T staničnim receptorom (engl. „*T cell receptor*“, TCR). Receptor  $TCR\alpha\beta^+$  inducira se vrlo rano u diferencijaciji makrofaga iz mijeloidne progenitorske stanice u prisutstvu citokina TNF- $\alpha$ , dok ekspresiju  $TCR\gamma\delta^+$  induciraju bakterijski produkti. Ove populacije karakterizira velika sposobnost fagocitoze i ekspresija kemokina CCL2 kojim se privlače monociti iz krvi (Kishore i sur. 2015).



Slika 1. Prikaz glavnih svojstava i stimulansa potrebnih za aktivaciju M2 i M1 fenotipa makrofaga. Preuzeto i prilagođeno iz He i sur. 2020.

### 3.1. MEHANIZMI POLARIZACIJE MAKROFAGA

Poprmanje određenih funkcijskih staničnih programa makrofaga ovisno je o patofiziološkom statusu tkiva: metaboličkim uvjetima, prisustvu mikrobnih antigena i imunomodulatora poput citokina i kemokina, koji se osim lokalno mijenjaju i u vremenu. U slučaju promijene uvjeta, svojstvo plastičnosti odnosno funkcionalne adaptabilnosti, omogućuje im usmjeravanje prema potrebnim ulogama (Funes i sur. 2018).

Pokazno je kako hipoksija, povećana koncentracija mliječne kiseline i reduciranih metabolita, koji karakteriziraju oštećena tkiva i prisustvo tumorskih stanica, moduliraju funkciju makrofaga aktivirajući čimbenike inducirane hipoksijom (engl. „*hypoxia-inducible factor*“, HIF) (Escribese i sur. 2012). Čimbenik HIF-2 $\alpha$  stimulira obnovu izvanstaničnog matriksa, dok HIF-1 potiče sintezu citokina koji aktiviraju T<sub>H</sub>1 limfocite, odnosno privlači i potiče stečeni imunosni odgovor.

Na svojoj površini, makrofagi nose brojne receptore za identifikaciju citokina te receptore za prepoznavanje patogenih obrazaca (engl. „*pathogen-associated molecular patterns*“, PAMP) kojima prepoznaju mikrobnе produkte. Nakon vezanja liganda na ove receptore, započinje kaskadni prijenos signala unutar stanice koji završava aktivacijom transkripcijskih čimbenika i njihovom translokacijom u jezgru (Slika 2.). Interferon regulirajući čimbenik, IRF te signalni prenositelji i transkripcijski aktivatori STAT (engl. „*signal transducer and activator of transcription*“), su uz nuklearni čimbenik kappa B, NF- $\kappa$ B, najčešći transkripcijski čimbenici koji moduliraju ekspresija gena uključenih u imunosne odgovore. Neki od njih, poput STAT1 i STAT6 te IRF5 i IRF4, međusobno se isključuju (Funes i sur. 2018).

Prema fenotipu M1 makrofagi se usmjeravaju transkripcijskim čimbenicima STAT1, IRF5, NF- $\kappa$ B i aktivator protein 1, AP1. U slučaju STAT1 transkripcijskog čimbenika, signalna kaskada započinje vezanjem interferona tipa 1 za pripadni receptor čime se aktivira kaskada Janus kinaza, JAK. Vezanjem liganda za receptore nalik Tollu (engl. „*Toll like receptors*“, TLR) posebice TLR4 kojim se detektira LPS, signal se prenosi preko adaptorske molekule MyD88 do NF- $\kappa$ B, a adaptor TRIF vodi do aktivacije IRF3 (Wang i sur. 2014). Transkripcijski čimbenik AP1, također je stimuliran aktivacijom TLR4 receptora i funkcija mu se preklapa s NF- $\kappa$ B (Funes i sur. 2018; Schonhaler i sur. 2011). Aktivacija NF- $\kappa$ B moguća je i putem receptora nalik NOD-u (engl. „*NOD like receptors*“, NLR) koji detektiraju endogene čimbenike oštećenja i motive peptidoglikana u stijenkama bakterija. Suprimiranje upalnog odgovora inhibiranjem stvaranja M1 fenotipa makrofaga moguće je postići djelovanjem obitelji supresora citokinske signalizacije, (engl. „*suppressor of cytokine signalling*“, SOCS) ili inhibitornim kinazama Axl, Tyro3 te Mer. Navedeni negativni regulatori potiču imunosupresivne uloge čime se aktivni makrofagi M1 usmjeravaju u M2 tip (Wang i sur. 2014).

Ukoliko u okolišu prevladavaju citokini IL-4, IL-13 dolazi do povećanja udjela M2 makrofaga. Vezanje IL-4 i IL-13 za interleukin 4 receptor alfa (IL-4R $\alpha$ ) vodi aktivaciji čimbenika STAT6 i IRF4. Peroxisom proliferacijski aktivirani receptor  $\gamma$  (engl. „*peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$* “,

PPAR $\gamma$ ), za razliku od ostalih navedenih receptora, dio je jezgrinih receptora koje aktiviraju lipidne molekule poput prostaglandina D2 te nije nužan za diferencijaciju makrofaga, no poticanjem oksidativnog metabolizma održava M2 fenotip (Wang i sur. 2014). Transkripcijski čimbenik CREB (engl. „*cAMP response element binding protein*“) inhibira NF- $\kappa$ B i AP-1, a aktiviran je fosforilacijom protein kinaze A nakon signalnog slijeda započetog vezanjem liganda za TLR4 receptor ili dektin-1 receptor (Wen i sur. 2010).

Osim indukcije transkripcije gena uključenih u sintezu citokina i imunomodulatora, transkripcijski čimbenici potiču ekspresiju enzima potrebnih za modeliranje stupnja kondenzacije nukleosoma. Regulacija ekspresije gena također je pod kontrolom epigenetičke kontrole transkripcije. Ovi enzimi dodavanjem ili uklanjanjem novih funkcionalnih skupina na molekulu DNA, poput metilnih i acetilnih skupina, uz posttranslacijske promjene histona, posebice H3 i H4 histona, postižu utišavanje ili pojačavanje ekspresije gena (Mohammadi i sur. 2018).

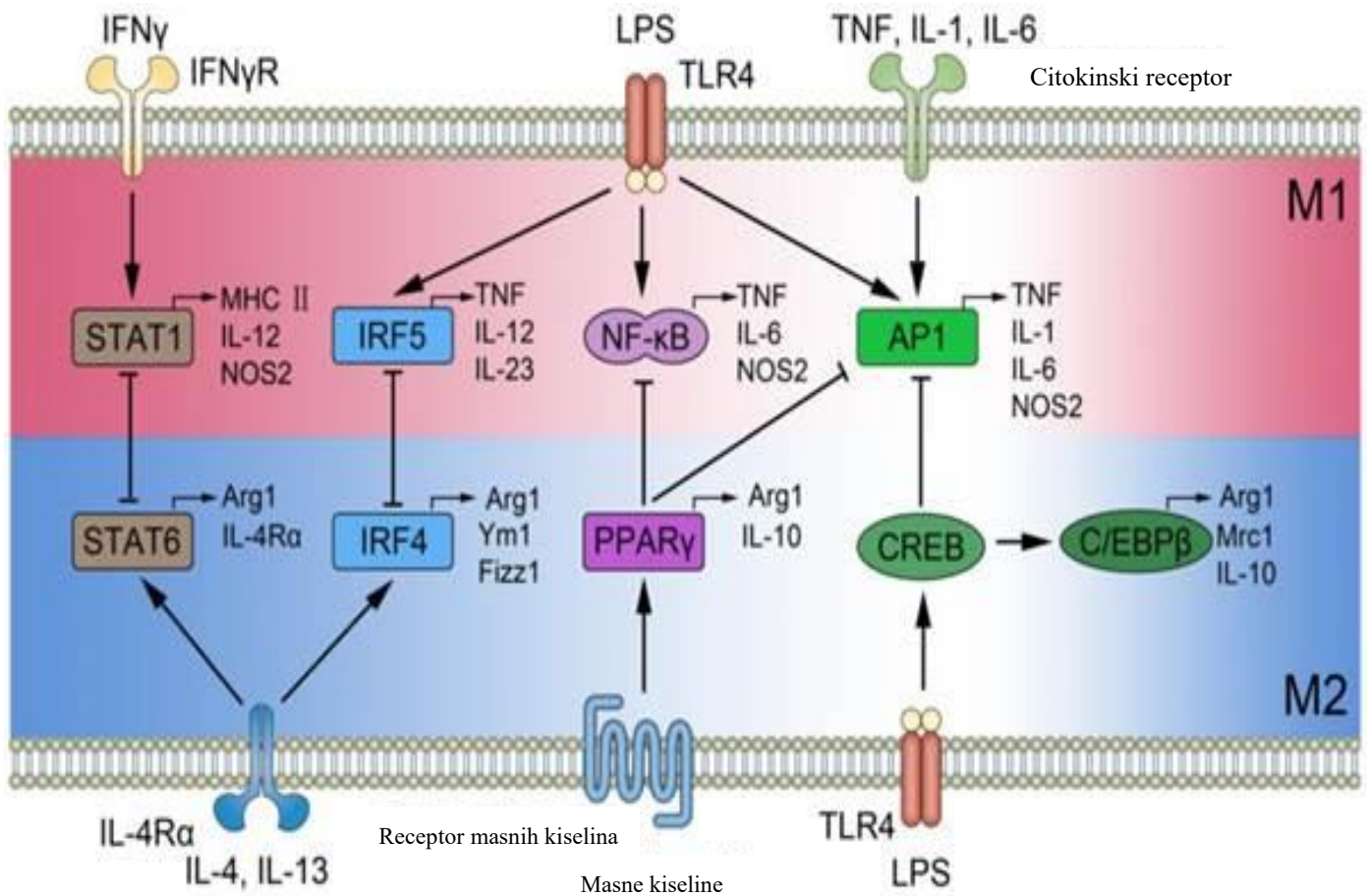
Enzimi histon acetilaze, HAT, provode acetilaciju lizina u histonima čime smanjuju njihov afinitet prema DNA molekuli. Slabije vezanje histona za DNA omogućuje lakši pristup proteinima transkripcijskih mehanizama i ekspresiju gena. Suprotno djeluju enzimi histon deacetilaze, HDAC, koji uklanjanjem acetilne skupine povećavaju afinitet histona za molekulu DNA.

Uz histone, HAT i HDAC modificiraju i druge proteine poput transkripcijskih čimbenika NF- $\kappa$ B, STAT-1, STAT-3 i HIF-1 $\alpha$  čime dodatno utječu na ispoljavanje fenotipa (Mohammadi i sur. 2018; Parisi i sur. 2018). Tip I. HDAC enzima; HDAC1,2,3,8, aktivirani STAT1 čimbenikom, potiču ekspresiju gena stimuliranih IFN, a onemogućuju aktivaciju NF- $\kappa$ B putem TLR receptora. Klasa IIa HDAC enzima; HDAC4, 5, 7 i 9, pozitivno regulira ekspresiju proupalnih citokina i kemokina, dok HDAC11, koji samostalno čini HDAC klasu IV, potiče ekspresiju gena uključenih u predočavanje antigena (Mohammadi i sur. 2018).

Epigenetička kontrola fenotipa makrofaga uključuje i posttranskripcijsku regulaciju malim nekodirajućim jednolančanim RNA; mikoRNA, miRNA. Usporedbom profila miRNA u M1 i M2 stanicama makrofaga miševa i ljudi utvrđena je razlika ekspresije preko 100 različitih miRNA molekula. One onemogućuju translaciju u citoplazmi na temelju komplementarnog spajanja miRNA, unutar RISC ribonukleoproteinskog kompleksa (engl. „*RNA-induced silencing complex*“) s 3' netranslatirajućim dijelom mRNA (Essandoh i sur. 2016). miRNA121 i miRNA 124 potiču ekspresiju M2 molekularnih biljega, dok M1 fenotip potiču miRNA9,127,155, 223, uzrokujući degradaciju mRNA određenih enzima uključenih u sintezu imunomodulatora ili mRNA transkripcijskih čimbenika (Piiper i sur. 2016; Stanciu i sur. 2020).

Ovisno o tipu stimulansa u izvanstaničnom prostoru i njihovoj koncentraciji, moguća je istovremena ekspresija proteina karakterističnih za oba fenotipa. Različiti profili genske ekspresije, kao

i pleiotropnost uključenih gena rezultiraju stvaranjem spektra populacija makrofaga koji se teško razlučuje na isključivo M1 ili M2 fenotip (He i sur. 2020).



Slika 2. Shematski prikaz biokemijskih signalnih puteva aktivacije transkripcije potrebnih za usmjeravanje makrofaga u pojedine fenotipske populacije. Preuzeto i prilagođeno iz Liu i sur. 2014.

### 3.2. METABOLIČKE KARAKTERISTIKE POLARIZIRANIH MAKROFAGA

Za sintezu potrebnih imunomodulatora, enzima i rasta makrofaga potrebna je energija na čiju raspoloživost direktno utječe stanje tkiva. Lokalnom mikrokolišu, makrofagi prilagođavaju kataboličke i anaboličke reakcije, odnosno metabolički se reprogramiraju. Samo reprogramiranje rezultat je pojačane ekspresije enzima nužnih za odvijanje metaboličkih reakcija, a dobiveni metabolički produkti podržavaju djelovanje određenih transkripcijskih čimbenika. Temeljem metaboličkih analiza i analiza transkriptoma *in vitro* aktiviranih makrofaga, uočene su jasne osobitosti M1 i M2 populacija makrofaga.

Ukoliko izvan stanice postoji obilje glukoze ili je aktivacija makrofaga potaknuta LPS-om, potiče se glikolitički put za dobivanje ATP-a, adenzin trifosfata. Značajan je i put pentozna 5-fosfata koji podržava reducirajući okoliš potreban za biotsintezu lipida proupalnog karaktera. Ciklus limunske kiseline u tim stanicama isprekidan je s ciljem nakupljanja intermedijera citrata i sukcinata. Citrat osim u biogenezi membranskih lipidnih vezikula i lipidnih imunomodulatora, sudjeluje u stvaranju velikih količina dušikovog oksida koji djeluje protumikrobno i utišava oksidacijski put u mitohondriju.

M2 fenotip makrofaga do energije većinski dolazi oksidacijom masnih kiselina i respiratornim lancem u mitohondriju, no glikolitički put se također odvija. Metabolizam aminokiselina glutamina i arginina ključne su osobitosti alternativno aktiviranih makrofaga. Glutamin pogoduje regulatornoj funkciji potičući stvaranje IL-10 i staničnog biljega CD206. Za oblikovanje izvanstaničnog matriksa i poticanje cijeljenja potreban je enzim arginaza 1 koji prevodi arginin u ornitin, metabolit uključen u biosintetski put aminokiseline prolin nužne za stvaranje kolagena. No, arginin može poslužiti u stvaranju dušikovog oksida pomoću enzima inducibilna sintaza dušikova oksida, čime potiče fenotip M1 (Wang i sur. 2014).



#### 4. AUTOIMUNE BOLESTI

Autoimune bolesti tip su patoloških stanja s neuravnoteženim mehanizama uklanjanja uzroka upalnih reakcija i regulacije imunosnog odgovora. Vlastiti antigeni, u ovom slučaju nazvani autoantigeni, bivaju prepoznati od imunoglobulina ili T-staničnih receptora nastalih prilikom nasumične rekombinacije gena. Nepravilnosti u mehanizmima uspostave tolerancije; delecije autoreaktivnih klonova, klonalne anergije ili inhibicije putem interakcije sa regulatornim imunosnim stanicama, iniciraju upalni odgovor koji nije moguće razriješiti zbog stalnog prisustva autoantigena. Autoreaktivnost imunoglobulina i T-staničnih receptora može zahvatiti određene organe ili se razvija sustavni odgovor s obzirom na rasprostranjenost autoantigena (Sogkas i sur. n.d.).

Etiologija ovih kompleksnih bolesti uključuje kombinaciju genetičkih i okolišnih uzroka, no njihova interakcija nije još razjašnjena. Polimorfizam gena uključenih u imunosni sustav, vanjski stimulansi poput mikrobnih produkata, poremećaji mikrobioma uz defektne mehanizme regulacije imunosnih stanica potiču aktivaciju autoreaktivnih limfocita T ili B. Nakon inicijacije upalnih odgovora nastupa propagacija; okolno tkivo biva oštećeno i brojni se proteini modificiraju u nove epitope koji potiču daljnju aktivaciju upalnog odgovora. Imunosna reakcija dodatno se pojačava nakupljanjem efektorskih stanica stečene i adaptivne imunosti koje luče imunosne medijatore i direktno uništavaju okolne stanice. Stadij rezolucije otežano se uspostavlja djelovanjem regulatornih stanica T i inhibicijskih receptora CD28, CTLA-4 i PD-1 te često dolazi do relapsa; povratka u upalno stanje (Rosenblum i sur. 2015).

Nemogućnost razrješavanja upalnog odgovora povezana je s neuravnoteženim omjerom M1 i M2 fenotipa makrofaga u zahvaćenim tkivima. U normalnim imunosnim upalnim odgovorima, nakon dominacije M1 makrofaga nastupa povećanje udjela M2 makrofaga, no autoimune bolesti karakterizira produljeno trajanje aktivnosti M1 fenotipa i manjak M2 fenotipa. Poremećaj diferencijacije i aktivacije populacije makrofaga M2b i M2c, posebice su važni zbog njihove sposobnosti inhibicije djelovanja proupalnog IL12 i lučenja regulatornih IL10 i TGF- $\beta$ . M1 populacija makrofaga pritom uz proupalne citokine i koaktivacijske signalne molekule na površini potiču aktivaciju stanica stečene i urođene imunosti, a produljena proizvodnja ROS-a dodatno oštećuje lokalno tkivo (Di Benedetto i sur. 2019; Funes i sur. 2018)

Zbog kompleksnosti upale, brojnosti uključenih efektorskih stanica i razlika u patologiji autoimunih bolesti još nije određeno je li poremećaj ravnoteže M1/M2 njihova posljedica ili uzrok (Di Benedetto i sur. 2019).

#### 4.1. POLARIZACIJA MAKROFAGA U REUMATOIDNOM ARTRITISU

Reumatoidni artritis (RA) je autoimuna bolest sinovialne membrane perifernih zglobova u kojoj dolazi do progresivne erozije hrskavice i kostiju. Kao i kod svih autoimunih bolesti oboljeli prolaze kroz faze remisije i relapsa, koju karakterizira stvaranje panusa; hiperplazije sinovijske membrane. Pretpostavlja se kako inicijaciju upalnih procesa potiče interakcija gena, posebice HLA-DR1 i HLA-DR5, te okolišnih čimbenika poput mikrobioma gastrointestinalnog sustava, udisanja dima i nanočestica silike. Okolišni čimbenici pritom potiču citrulinizaciju proteina; pretvaranje arginina u cirulin, pogotovo unutar histona, kolagena tipa II. i fibrinogena. Ovu posttranslacijsku modifikaciju kod nekih pacijenata prati sinteza anti-cikličkih citruliniranih peptidnih protutijela koji mogu služiti u dijagnosticiranju.

Upalne procese započinju makrofagi u sinovialnoj membrani iznad vezivnog tkiva koji se primarno aktiviraju TLR2 receptorima. Zatim slijedi infiltracija efektorskih imunskih stanica u zglobnu čahuru od kojih prvi dolaze neutrofil, a potom limfociti T, dendritičke stanice te monociti koji diferenciraju u makrofage. Ključne stanice u fazi progresije imunskog odgovora jesu pridošli makrofagi od kojih je čak 68% M1 fenotipa. Citrulinirani proteini vezanjem za TLR protutijela putem NF- $\kappa$ B aktiviraju sintezu IL-1 $\beta$ , IL-6 te TNF- $\alpha$ . Povećano se luče IL-12 i IL-23 aktivacijom puta IRF5. Stvoreni proupalni citokini potiču stvaranje metaloproteaza te aktivaciju osteoklasta i hondrocita koji degradiraju okolnu hrskavicu i kost. Potiče se i proliferacija sinovialnih fibroblasta te se privlače limfociti T<sub>H</sub>17. Lokalno najzastupljeniji citokini su IL-1 i TNF- $\alpha$  kojima je potaknuto stvaranje inducibilne sintaze NO, lipidnih imunomodulatora te aktivacija HAT enzima.

U stadiju remisije ističe se populacija makrofaga MerTK<sup>+</sup> koji sudjeluju u održavanju homeostaze. Za njih je karakteristična pojačana ekspresija transkripcijskih čimbenika koji potiču stvaranje protuupalnih lipidnih medijatora i rezolvina. Molekularni biljeg MerTK jest receptorska tirozin kinaza koja po aktivaciji potiče fagocitozu apoptotskih stanica u zglobnoj čahuri (Di Benedetto i sur. 2019; Cutolo i sur. 2022).

Današnja istraživanja na miševima ukazuju na supresiju razvoja reumatoidnog artritisa sprječavanjem rane aktivacije M1 makrofaga i usmjeravanjem u M2 fenotip. Citokin IL-10 alternativno aktivira makrofage u M2c fenotip, kao i citokin IL-9 koji dodatno aktivira Treg (Di Benedetto i sur. 2019).

#### 4.2. POLARIZACIJA MAKROFAGA U ULCEROZNOM KOLITISU

Jedan od poremećaja gastrointestinalnog sustava sa sve češćom prevalencijom u populaciji jest ulcerozni kolitis (UK), kronična upala mukoze i submukoze u kolonu i rektumu. Kod oboljelih zahvaćeni dijelovi probavila postaju izbrazdani; stvaraju se plitki čirevi. Etiologija ove upalne bolesti

temelji se na interakciji okolišnih čimbenika, nepravilno reguliranog imunskog sustava, genetičkih čimbenika i poremećajima epitelne barijere debelog crijeva. Od Chronove bolesti, koja može zahvatiti cijelu duljinu crijeva, razlikuje se prisustvom protu-neutrofilno citoplazamatskog protutijela (Kaur i Goggolidou 2020).

Okidač autoimunosti najvjerojatnije predstavlja disbioza mikrobioma uslijed dolaska patogenih organizama koji dijele neke epitopske determinante s površinskim biljezima vrčastih stanica i s mucinom. Zbog poremećene sinteze mucina, proteina čvrstih spojišta i manjka kratkih masnih kiselina koje luče komezalne bakterije, epitelna barijera se perforira i stanjuje, a mikromiom prodire do lamne proprie. Lokalni makrofagi i antigen predodne stanice ih prepoznaju, luče proupalne kemokine i citokine što potiče dolazak neutrofila, a naknadno limfocita T i monocita. Pridošli makrofagi usmjeravaju se u M1 fenotip i potiču upalni odgovor stvaranjem TNF- $\alpha$  koji dodatno narušava epitelnu barijeru te IL-6, IL-12 i IL-23. Kombinacija IL-23 i IL-6 usmjerava CD4<sup>+</sup> T limfocite u patogeni fenotip T<sub>H</sub>17 koji pojačano luči IFN- $\gamma$  i druge proupalne citokine. Ukoliko je zahvaćenom području prisutan samo IL-6, novonastali T<sub>H</sub>17 su nepatogenog fenotipa kojeg karakterizira stvaranje imunosupresivnog citokina IL-10. Oštećene epitelne stanice pridonose razvoju upalnog odgovara sprečavajući aktivaciju Treg stanica stvaranjem IL-36 $\gamma$  koji dodatno potiče fibrozu (Kaur i Goggolidou 2020).

Moguća strategija u liječenju ulceroznog kolitisa jest uspostavljanje tolerancije i popravljanje mukoznog sloja debelog crijeva transplantacijom M2a fenotipa. M2a fenotip istovremeno promovira diferencijaciju T limfocita u nepatogene T<sub>H</sub>17 i Treg koji se inače aktiviraju suprotnim transkripcijskim čimbenicima STAT3 i STAT5. Ovi transkripcijski čimbenici međusobno su u kompeticiji za vezna mjesta na promotorima, zbog čega je rijetka istovremena prisutnost.

## 5. MAKROFAGI KAO META U LJEČENJU AUTOIMUNIH BOLESTI

Današnje terapije autoimunih bolesti temelje se na upotrebi immunosupresivnih pripravaka kojima se oslabljuje čitavi imunski sustav, a pacijent postaje podložan oportunističkim infekcijama i razvoju tumorskih stanica. Novije terapije razvijaju se s ciljem inaktiviranja autoreaktivnih stanica ili ponovnom uspostavom mehanizama tolerancije, čime se smanjuju popratne nuspojave (Rosenblum i sur. 2012).

Makrofagi u liječenju autoimunih bolesti predstavljaju dobru metu kao stanice uključene u proces upale od njene inicijacije pa do njene rezolucije. Osim direktnog utjecaja na aktivaciju analozima liganda receptora, moguća je modulacija lučenja imunomodulatora i citokina. Reprogramiranjem populacija ili uklanjanjem pojedinih populacija makrofaga, odgađa se inicijacija i ubrzava stadij rezolucije upalnog procesa. Fenotip M2, pritom postaje željeni zbog protuupalnih funkcija (He i sur. 2020; Ponzoni i sur. 2018).

Najveći problem s kojima se znanstvenici susreću jest nepostojanje jasnih populacija makrofaga kod kojih se bilježi M1 i M2 fenotipa ne preklapaju. Dinamični uvjeti u tkivima, kao i razlike u kontekstu upalnih odgovora, onemogućuju raspoznavanje makrofaga koje je potrebno modulirati za uspostavljanje homeostaze (Ponzoni i sur. 2018).

Same metode primjene terapeutika također se mijenjaju. Sve više znanstvenika okreće se nanotehnologiji; liposomskim nanočesticama, nanočesticama zlata i biopolimernim nanočesticama kojima je moguće precizno dostaviti kemijske spojeve do željenog tkiva. Liposomi, strukture zatvorene slojevima fosfolipida, imaju najveći potencijal za buduću primjenu zbog direktne endocitoze u stanicu gdje njihov sadržaj biva ispušten nakon djelovanja lizosomalnih fosfolipaza. U tkiva zahvaćenim upalom krvne žile su proširene i povećane permeabilnosti što olakšava dolazak lizosoma (Ponzoni i sur. n.d.).

### 5.1. REPROGRAMIRANJE MAKROFAGA

Posttranslacijskom regulacijom transkripcijskih čimbenika inhibitorima HDAC enzima ili posttranskripcijskom regulacijom uz miRNA moguće je usmjeriti makrofage prema određenoj funkciji.

Trenutačna istraživanja miRNA većinski se temelje se na miRNA223 koja inhibira otpuštanje IL-6 i IL-1 $\beta$  potaknuto LPS-om. miRNA124 smanjuje proupalnu aktivnost M1 makrofaga djelujući na STAT3 koji potiče ekspresiju IL-6 te enzime potrebne za otpuštanje TNF $\alpha$ . Liposomskim nanočesticama moguće ih je dopremiti do makrofaga, ali problem predstavlja ciljanje specifičnih populacija makrofaga u organizmu (Essandoh i sur. 2016; Piiper i sur. 2016; Stanciu i sur. 2020).

Inhibitori HDAC enzima; valproična kiselina (VPA), trihostatin (TSA) i natrijev butirat (SB), suberoilanolid hidroksamaska kiselina (SAHA), jesu kemijski spojevi koji keliranjem cinka u aktivnom mjestu inaktiviraju HDAC. Ovisno o ciljnom enzimu kojeg inhibiraju moguće je regulirati transkripcijske čimbenike nužne za diferencijaciju stanica, potaknuti proliferaciju ili apoptozu te zaustaviti stanični ciklus. Po prvi puta upotrebljeni su u tumorskim terapijama, no u novim istraživanjima koriste se u liječenju autoimunih bolesti oslabljivanjem upalnog odgovora usmjeravanjem u makrofaga u M2 fenotip te aktivacijom Treg limfocita.

Za istraživanja utjecaja HDAC inhibitora na M1/M2 omjera koriste se stanične kulture mišjih makrofaga. Kod makrofaga tretiranih SB-om aktiviran je STAT6 čime je postignuto pojačana ekspresija Arg-1, a pojačalo se i lučenje citokina IL-10 i IL-4. Administracija VPA smanjila je ekspresiju kostimulatornih molekula karakterističnih za M1 fenotip; CD-40, CD-80 i CD-86 te sintezu proupalnih citokina zbog inaktivacije acetiliranog STAT1 i NF- $\kappa$ B međusobnim vezanjem. Tretiranjem makrofaga sa TSA je, uz povećanu ekspresiju površinskog biljega CD206, usmjerilo makrofage prema oksidativnoj razgradnji masnih kiselina što odgovara fenotipu M2. TSA je smanjio stvaranje NF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , i IFN- $\gamma$  potaknuto LPS-om (Mohammadi i sur. 2018).

Regulacija ekspresije gena može se postići i blokiranjem aktivacije receptora uključenih u unutarstanično signaliziranje ili transfekcijom stanica plazmidima koji nose informaciju za sintezu protuupalnih citokina.

Monoklonalna protutijela na proupalne citokine analogna proupalnim citokinima ispituju se u kliničkim istraživanjima raznih autoimunih bolesti. Adalimumab i infliksimab vezanjem za TNF- $\alpha$  sprječavaju njegovo vezanje za receptor. Analozi citokina anti-IL-6 ili anti-IL-15 s druge strane, direktno vežu citokinske receptore i tako sprječavaju aktivaciju transkripcijskih čimbenika. Transfekcijom makrofaga sa plazmidnom DNA koja kodira IL-10 u nanočesticama biopolimera alginata smanjen je udio M1 fenotipa. U istraživanju na štakorima oboljelima od RA, intradermalnim ubrizgavanjem nanočestica sa plazmidnom DNA uspješno je povećana ekspresija IL-10 u zglobovima i smanjena jačina upalne reakcije (Jain i sur. 2015; He i sur. 2020).

## **5.2. INDUKCIJA APOPTOZE MAKROFAGA**

Smanjenje upalnog imunskog odgovora moguće je deplecijom ili indukcijom apoptoze makrofaga M1 u zahvaćenom tkivu.

Klondronatske liposomske čestice u makrofagima potiču apoptozu. Klondronat ili diklormetilen-bifosfonat, koji ukoliko nije upakiran u nanočestice biva uklanjen ekskrecijom iz

organizma, unutar makrofaga se prerađuje u nehidrolizabilni analog ATP-a i potiče apoptozu (He i sur. 2020; Ponzoni i sur. 2018).

HDAC inhibitori, u prisustvu LPS-a i TNF- $\alpha$  koji oponašaju upalno stanje, mogu smanjenjem ekspresije anti-apoptotskih proteina, u kulturama mišjih makrofaga, uspješno inducirati apoptozu makrofaga. Administracija inhibitora TSA uzrokuje i staničnu smrt u oksidacijskim uvjetima blokiranjem transkripcijskih čimbenika uključenih u zaštitu makrofaga od oksidativnog stresa (Mohammadi i sur. 2018).

## 6. ZAKLJUČAK

Najčešća klasifikacija makrofaga dijeli ih na M1 proupalni fenotip i M2 protuupalni fenotip, koji se osim po molekularnim biljezima i izlučenim medijatorima razlikuju i metaboličim statusom. Danas se sve više naglašavaju nedostaci ove podjele s obzirom na kompleksnost uspostave staničnih programa unutarstaničnom signalizacijom i mogućnošću istovremene ekspresije molekularnih biljega oba fenotipa.

M1 fenotip zastupljeniji je u početnim stadijima upale kada djeluje citotoksično i potiče aktivaciju ostalih stanica adaptivnog i stečenog imunskog sustava. U završnoj fazi upalnih reakcija povećan je udio M2 fenotipa koji potiče uspostavljanje homeostaze. Autoimune bolesti karakterizira otežano razrješavanje upale koje je ponekad povezano povećanjem udjela M1 makrofaga.

Uspostavljanje omjera M1/M2 jedna je od mogućih strategija u liječenju autoimunih bolesti koja se sve više istražuje na laboratorijskim miševima i u kliničkim istraživanjima. Deplecijom M1 populacija klondronatskim liposomskim česticama ili inhibitorima HDAC enzima moguće je direktno smanjiti upalne reakcije, a usmjeravanjem prema M2 fenotipu omogućena je uspostava tolerancije i inaktivacija proupalnih efektorskih stanica. Reprogramiranje M1 fenotipa moguće je i na razini aktivacije receptora, posttranskripcijskom regulacijom miRNA ili posttranslacijskom modifikacijom enzima HDAC djelovanjem HDAC inhibitora.

Kao stanice prisutne u svim tkivima sa velikom sposobnošću polarizacije te reguliranja stečenog i adaptivnog imunskog odgovora, makrofagi predstavljaju odlične protagoniste u liječenju autoimunih bolesti. Preciznom modulacijom određenih populacija makrofaga u zahvaćenim tkivima izbjeglo bi se dosadašnje korištenje imunosupresivnih lijekova s ozbiljnim nuspojavama. Veliki izazov pritom jest smanjenje nespecifičnog djelovanje terapije na ostale populacije makrofaga i dugoročnost rezultata s obzirom na kontinuirano obnavljanje populacija cirkulirajućim monocitima.

## 7. LITERATURA

- Benedetto P. Di, Ruscitti P., Vadasz Z., Toubi E., Giacomelli R. (2019): Macrophages with regulatory functions, a possible new therapeutic perspective in autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*. doi:10.1016/j.autrev.2019.102369
- Cutolo M., Campitiello R., Gotelli E., Soldano S. (2022): The Role of M1/M2 Macrophage Polarization in Rheumatoid Arthritis Synovitis. *Frontiers in Immunology*. doi: 10.3389/fimmu.2022.867260
- El-Shebiny E.M., Zahran E.S., Shoeib S.A., Habib E.S. (2021): Bridging autoinflammatory and autoimmune diseases. *The Egyptian Journal of Internal Medicine*. doi:10.1186/s43162-021-00040-5
- Escribese M.M., Casas M., Corbí ángel L. (2012): Influence of low oxygen tensions on macrophage polarization. *Immunobiology* **217**:1233–1240. doi:10.1016/J.IMBIO.2012.07.002
- Essandoh K., Li Y., Huo J., Fan G.C. (2016): MiRNA-mediated macrophage polarization and its potential role in the regulation of inflammatory response. *Shock* **46**(2):122–131. doi: 10.1097/SHK.0000000000000604
- Funes S.C., Rios M., Escobar-Vera J., Kalergis A.M. (2018): Implications of macrophage polarization in autoimmunity. *Immunology* **154**(2):186-195. doi: 10.1111/imm.12910
- He W., Kapate N., Shields C.W., Mitragotri S. (2020): Drug delivery to macrophages: A review of targeting drugs and drug carriers to macrophages for inflammatory diseases. *Adv Drug Deliv Rev* **165–166**:15–40. doi: 10.1016/j.addr.2019.12.001
- Jain S., Tran T.-H., Amiji M. (2015): Macrophage Repolarization with Targeted Alginate Nanoparticles Containing IL-10 Plasmid DNA for the Treatment of Experimental Arthritis HHS Public Access. *Biomaterials* **61**:162–177. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.05.028
- Kaur A., Goggolidou P. (2020): Ulcerative colitis: Understanding its cellular pathology could provide insights into novel therapies. *Journal of Inflammation (United Kingdom)*. doi:10.1186/s12950-020-00246-4
- Kishore U., Adam Harris R., Institutet K., Geanncarlo Lugo-Villarino S., Chávez-Galán L., Olleros M.L., Vesin D., Garcia I. (2015): Much more than M1 and M2 macrophages, there are also CD169 + and TCR + macrophages. *Immunology*. doi: 10.3389/fimmu.2015.00263
- Liu Y.C., Zou X.B., Chai Y.F., Yao Y.M. (2014): Macrophage polarization in inflammatory diseases. *International Journal of Biological Sciences* **10**:520–529. doi:10.7150/ijbs.8879
- Mohammadi A., Sharifi A., Pourpaknia R., Mohammadian S., Sahebkar A. (2018): Manipulating macrophage polarization and function using classical HDAC inhibitors: Implications for

- autoimmunity and inflammation. *Critical Reviews Oncology/Hematology* **128**:1–18. doi:10.1016/j.critrevonc.2018.05.009
- Murray P.J. (2017): Macrophage Polarization. *The Annual Review of Physiology* **79**:541–566. doi:10.1146/annurev-physiol-022516-034339
- Parisi L., Gini E., Bac D., Tremolati M., Fanuli M., Bassani B., Farronato G., Bruno A., Mortara L. (2018): Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders? *J Immunology Research* **2018**:1–25. doi:10.1155/2018/8917804
- Piiper A., Liu X., Su D.-F., Qin Z., Wang P.-Y., P-y W., D-f S., Liu X. (2016): miRNA-124 in Immune System and Immune Disorders. *Frontiers in Immunology*. doi:10.3389/fimmu.2016.00406
- Ponzoni M., Pastorino F., Di Paolo D., Perri P., Brignole C. (2018): Targeting Macrophages as a Potential Therapeutic Intervention: Impact on Inflammatory Diseases and Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* **19**(7):1953-1970. doi:10.3390/ijms19071953
- Rosenblum M.D., Gratz I.K., Paw J.S., Abbas A.K. (2012): Treating Human Autoimmunity: Current Practice and Future Prospects. *Science Translational Medicine*. doi:10.1126/scitranslmed.3003504.
- Rosenblum M.D., Remedios K.A., Abbas A.K. (2015): Mechanisms of human autoimmunity. *Journal of Clinical Investigation* **125**:2228–2233. doi:10.1172/JCI78088
- Schonthaler H.B., Guinea-Viniegra J., Wagner E.F. (2011): Targeting inflammation by modulating the Jun/AP-1 pathway. *Annals of the Rheumatic Diseases* **70**: 109–112. doi:10.1136/ard.2010.140533
- Sogkas G., Atschekzei F., Adriawan I.R., Dubrowskaja N., Witte T., Schmidt R.E. (2021): Cellular and molecular mechanisms breaking immune tolerance in inborn errors of immunity. *Cellular&Molecular Immunology*. doi:10.1038/s41423-020-00626-z.
- Stanciu L.A., Guy Z., Pasca S., Jurj A., Petrushev B., Tomuleasa C., Matei D. (2020): MicroRNA-155 Implication in M1 Polarization and the Impact in Inflammatory Diseases. *Frontiers in Immunology*. doi:10.3389/fimmu.2020.00625.
- Thapa B., Lee K. (2019): Metabolic influence on macrophage polarization and pathogenesis. *BMB Reports* **52**:360–372. doi:10.5483/BMBRep.2019.52.6.140
- Wang N., Liang H., Zen K. (2014): Molecular Mechanisms That Influence the Macrophage M1-M2 Polarization Balance. *Frontiers in Immunology*. doi:10.3389/fimmu.2014.00614.
- Wen A.Y., Sakamoto K.M., Miller L.S. (2010): The Role of the Transcription Factor CREB in Immune Function. *The Journal of Immunology* **185**(11):6413-6419. doi: 10.4049/jimmunol.1001829.



## 8. SAŽETAK

Makrofagi su visoko plastične stanice koje s obzirom na okolišne stimulanse prisutne u tkivu mijenjaju fenotip i metabolizam. Jednom uspostavljeni stanični programi makrofaga nisu konačni već se dinamično prilagođavaju novim uvjetima s ciljem održavanja homeostaze.

Iako u organizmu postoji spektar populacija makrofaga, pojednostavljeno ih možemo grupirati u proupalni M1 fenotip i protupalni fenotip M2 na temelju načina aktivacije i profila genske ekspresije. Poremećaji omjera M1 i M2 populacija uočeni su u nekih autoimunih bolesti poput reumatoidnog artritisa, sistemskog eritemskog lupusa i ulceroznog kolitisa. Manjak M2 makrofaga i produljena aktivacija M1 makrofaga otežava uspostavu homeostaze pogođenih tkiva i smanjuje vrijeme između relapsa.

Najistaknutije metode liječenja autoimunih bolesti utišavaju cjelokupni imunosni sustav, a uspostava povoljnog omjera M1/M2 predstavlja perspektivni alternativni pristup. Induciranje stanične smrti M1 ili njihovo reprogramiranje u M2 pokazali su dobre rezultate u kliničkim i laboratorijskim istraživanjima, no potrebno je daljnje razvijanje terapija s većom specifičnošću u ciljanju subpopulacija makrofaga.

## 9. SUMMARY

Macrophages are highly plastic cells who can change their phenotype and metabolism due to environmental stimuli present in the tissue they inhabit. Cellular programs they have established are not final and macrophages can adapt to new conditions with the aim of maintaining homeostasis.

There is a spectrum of macrophage populations but, due to their activation modes and gene expression profiles, they can be divided in two simplified groups; inflammatory M1 phenotype and anti-inflammatory M2 phenotype. Ratio imbalances of M1 and M2 populations have been observed in some autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and ulcerative colitis. With decreased number of M2 macrophages and prolonged activation of M1 macrophages establishment of homeostasis is delayed and time between relapses is reduced.

Nowadays, the most prominent methods for treating autoimmune diseases are based on immunosuppressants. Alternative approach could be reestablishment of favorable M1/M2 ratio. Experiments showed promising results when researchers induced M1 cellular death or reprogrammed them into M2 but further development of higher specificity in targeting certain populations is necessary.