

## ОБЗОРЫ

АПОПТОЗ И ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЯРНЫЕ ЧАСТИЦЫ  
АПОПТОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В АТЕРОГЕНЕЗЕ

Я.Ш. Шварц, М.И. Часовских, С.В. Чересиз, М.В. Кручинина

*ФГБНУ «НИИ терапии и профилактической медицины»  
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1*

В обзоре систематизируются современные представления о роли апоптоза и происходящих из апоптотических клеток внеклеточных везикулярных частиц в атерогенезе, рассматриваются механизмы нарушений эффероцитоза в атеросклеротической бляшке, анализируется значение апоптотической гибели клеток в формировании нестабильной бляшки, приводятся данные о про- и противовоспалительных эффектах внеклеточных везикулярных частиц апоптотических клеток.

**Ключевые слова:** атеросклероз, апоптоз, эффероцитоз, внеклеточные везикулярные частицы.

**СОКРАЩЕНИЯ:** ГМК – гладкомышечные клетки; Лф – лимфоциты; Мн – моноциты; МСК – мезенхимальные стволовые клетки; Мф – макрофаги; ADAM – A Disintegrin And Metalloproteinase; BA11 – brain-specific angiogenesis inhibitor 1; CXCL1b2 – chemokine C-X-C motif ligand 12; DAMP – Danger associated molecular patterns; Gas6 – Growth arrest-specific 6; HIN200 – hemopoietic IFN-inducible nuclear proteins; HMBG1 – High mobility group box 1; KLF2 – Krüppel-like factor 2; LOX-1 – Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1; MCP-1 – monocyte chemotactic protein-1; MFGE8 – milk fat globule-EGF factor 8; MMP – matrix metalloproteinase; MT1-MMP – type-I transmembrane MMP; NLR – NOD-like receptor; p90RSK – p90 ribosomal S6 kinase; PAMP – Pathogen associated molecular patterns; RAGE – receptor for advanced glycation end-products; RIPK3 – Receptor-interacting protein kinase 3; RLR – RIG-I-like receptors; SDF-1 – Stromal cell-derived factor-1; Shh – Sonic hedgehog; SR – сквенджер-рецептор; Tim – T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule; TLR – Toll-like receptor.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АПОПТОЗА В  
АТЕРОГЕНЕЗЕ

Массовая гибель клеток путем апоптоза имеет место при множестве патологических ситуаций, включая опухолевый рост, воспалительный ответ и аутоиммунные расстройства. Важное значение апоптоз имеет при сердечно-сосудистых заболеваниях, в частности при кардиомиопатии, инфаркте миокарда, миокардите и атеросклеротических поражениях сосудов [1, 2]. В атерогенезе апоптозу принадлежит центральная роль.

Действительно, атеросклероз – своеобразный хронический воспалительный процесс в артери-

альной стенке, основным клеточным субстратом которого являются макрофаги (Мф), трансформирующиеся в пенистые клетки. Начиная с ранних стадий развития процесса наблюдается гибель этих клеток путем апоптоза. Каскад апоптотических событий запускается многочисленными факторами атерогенных очагов, такими как окислительный стресс и пероксинитрит, гипоксия, окисленные липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеин (а) (ЛП(а)), окисленные фосфолипиды, свободный холестерин и оксистеролы, депривация факторов роста, высокие концентрации провоспалительных цитокинов и Fas-лиганда, индукторы эндоплазматического стресса [3–7]. По мере развития ате-

Шварц Яков Шмульевич – д-р мед. наук, старший научный сотрудник, e-mail: yshschwartz@mail.ru

Часовских Марина Ивановна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник, e-mail: marion-@ Rambler.ru

Чересиз Сергей Владимирович – канд. биол. наук, старший научный сотрудник, e-mail: cheresiz@yandex.ru

Кручинина Маргарита Витальевна – д-р мед. наук, старший научный сотрудник, e-mail: kruchmargo@yandex.ru

росклеротической бляшки число/действие этих факторов в зоне атерогенеза возрастает. В частности, постепенное увеличение числа пенистых клеток в зоне атеросклеротического поражения сопровождается ростом концентрации неэстерифицированного холестерина. Этот свободный холестерин не только индуцирует апоптоз, но и активирует в Мф инфламмасом-опосредованную провоспалительную реакцию. Провоспалительный ответ, в свою очередь, дополнительно стимулирует образование пенистых клеток, провоцирует эндоплазматический стресс и порождает множество дополнительных апоптогенных факторов. Следует согласиться с мнением I. Tabas [8], что в фокусе атеросклеротического повреждения действует большое количество триггеров апоптоза, и поэтому даже их подпороговые концентрации, действуя синергично, вызывают хронический кумулятивный эффект, с неизбежностью заканчивающийся апоптозом.

Не только Мф, но и иные типы клеток в атеросклеротической бляшке подвергаются апоптозу: эндотелиальные [9], гладкомышечные [10, 11], Т-клетки, возможно, МСК [12] и другие. Весьма вероятно, что последствия апоптоза клеток в атеросклеротической бляшке могут существенно различаться в зависимости от типа гибнущих клеток, их исходного функционального состояния, стадии развития бляшки и локализации процесса. Например, гибель эндотелиальных клеток на люминальной поверхности может инициировать формирование эрозии и последующего тромбоза даже без классического разрыва бляшки. Гибель гладкомышечных клеток фиброзной покрышки уменьшает число продуцентов соединительной ткани и способствует ее дестабилизации. Макрофаги представляют большую часть клеток, гибнущих в области атероматозного повреждения (40 %) [13].

#### АПОПТОЗ И ВТОРИЧНЫЙ НЕКРОЗ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ БЛЯШКИ

Экспериментальная блокада апоптоза у генетически модифицированных мышей повышает численность Мф в зоне формирования атеросклеротической бляшки и ускоряет атерогенез [14–16], а усиление апоптоза на ранних стадиях атерогенеза, наоборот, снижает Мф клеточность в зоне повреждения и препятствует развитию атеросклероза [17, 18]. Иными словами, на ранних стадиях процесса апоптоз Мф и, вероятно, других клеток воспаления оказывает атеропротективный эффект.

Считается, что на более поздних стадиях развития атеросклеротической бляшки апоптоз Мф приобретает противоположный функцио-

нальный смысл. Так, в опытах E.L. Gautier et al. [19] кормление животных атерогенной диетой в течение 5 нед на фоне увеличения чувствительности Мф к апоптозу приводило к уменьшению размеров бляшки, а при кормлении в течение 15 нед – к их увеличению. По современным представлениям неблагоприятный эффект апоптоза на поздних стадиях обусловлен тем, что он способствует некротической гибели клеток и формированию «уязвимой» нестабильной бляшки [8, 20, 21]. Большинство некротических клеток образуется из долго персистирующих, не захваченных фагоцитами клеток: пройдя все фазы апоптоза, они претерпевают далее так называемый постапоптотический или вторичный некроз. Фактически, ключевой признак уязвимой бляшки – липидное ядро – образуется преимущественно за счет массивного постапоптотического некроза пенистых клеток и вместе с усиленными проявлениями воспаления и истончением фиброзной покрышки составляет триаду, характеризующую нестабильность [22, 23]. Значение некроза бляшки преувеличить невозможно, поскольку он, высвобождая из клеток множество белковых и липидных факторов, активирует провоспалительный ответ, протеолиз экстрацеллюлярной матрицы фиброзной покрышки и тромбогенез, тем самым резко катализируя ее разрыв и люминальный тромбоз. Вдобавок, некротическое ядро несет множество внутриклеточных аутоантигенов, стимулируя и поддерживая аутоиммунные процессы.

#### ЭФФЕРОЦИТОЗ И ЕГО ДИСФУНКЦИЯ В АТЕРОГЕНЕЗЕ

Одна из основных причин большой аккумуляции апоптотических и вторично некротических клеток в атероматозном повреждении – нарушение процесса их клиренса («эффероцитоза»\*) макрофагами и близлежащими «непрофессиональными» фагоцитами [24]. В норме в неповрежденной ткани и на ранних стадиях формирования бляшки эффероцитоз происходит очень быстро, и поэтому зарегистрировать апоптотические клетки почти не удается. В то же время в развитых бляшках типичные маркеры апоптоза выявляются повсеместно [25]. Ингибирование эффероцитоза у мышей путем направленного генетического нарушения активности тех или иных молекулярных участников клиринга апоптотических клеток приводит к росту числа TUNEL-позитивных, не ассоциированных с

\* От греческого «effero» – вынос мертвых для погребения.

Мф клеток и к некротическим изменениям в бляшках [26].

Почему при атеросклерозе нарушается клиренс погибших клеток, пока не вполне понятно, хотя очевидно, что причины нарушения многофакторны. Некоторые факторы в настоящее время частично охарактеризованы. Такие провоспалительные стимулы, как бактериальные ЛПС или ФНО- $\alpha$ , ингибируют поглощение апоптотически измененных клеток, по крайней мере частично, за счет гиперпродукции реактивных метаболитов кислорода [27]. Большое количество окисленных липопротеидов в атеросклеротических бляшках препятствует эффероцитозу, связываясь с CD14 [28] и конкурируя с апоптотическими клетками за сайты связывания на плазматической мембране Мф [25, 29]. Окисленные ЛПНП (окЛПНП) и апоптотические клетки имеют сходные антигенные свойства, и аутоантитела к окЛПНП, фиксируясь на погибших клетках, ингибируют поглощение последних [30].

В силу антигенного сходства такие рецепторы для окЛПНП, как *Mertk*, CD36 и LOX-1, являются также рецепторами для апоптотических клеток. При сердечно-сосудистых заболеваниях и системном воспалительном ответе их часто находят в плазме крови в растворимом виде. Эти рецепторы попадают в циркуляцию благодаря активности связывающихся с  $\beta$ 1- и  $\beta$ 3-интегринами металлопротеиназ семейства ADAM, которые отщепляют внеклеточные фрагменты мембранных белков. В Мф уязвимых атеросклеротических бляшек под действием окисленных полиненасыщенных жирных кислот перинекротической зоны [31] экспрессия ADAM-9, ADAM-15 и ADAM-17 значительно повышается [32]. Поэтому, например, сывороточный уровень LOX-1 коррелирует с нестабильностью бляшек в коронарных сосудах и с развитием инфарктов миокарда и является диагностическим и прогностическим маркером тяжелых осложнений атеросклероза [33]. По данным W.S. Driscoll et al. [34, 35] и U. Garbin et al. [33], активность ADAM-17 в Мф вызывает шеддинг CD36 и *Mertk* и, в результате, снижение эффероцитоза.

Эффероцитоз нарушен в пенистых клетках. Отчасти это обусловлено тем, что в Мф, нагруженных свободным холестерином, снижена продукция лактадгерина (или MFGЕ8) – секреторного гликопротеина, связывающего, как «мостик», интегрин  $\alpha$ V $\beta$ 3 и  $\alpha$ V $\beta$ 5 фагоцитов с фосфатидилсерином, экстернализованным на плазматической мембране апоптотических клеток [36]. Вокруг липидно-некротического ядра экспрессия лактадгерина в Мф заметно сни-

жена [37]. У мышей, нокаутных по MFGЕ8, ускоряется атерогенез, в бляшках значительно возрастает содержание апоптотического дебриса и увеличивается размер липидно-некротического ядра [37]. Возможно, в нарушении клиренса участвует и снижение активности стимулирующей эффероцитоз трансглутаминазы-2 – также молекулы-мостика, связывающейся одновременно с интегринными  $\alpha$ V $\beta$ 3/5 и с MFGЕ8. Выступая корцептором интегрин  $\beta$ 3, трансглутаминаза-2 Мф участвует в образовании фагоцитарного портала, поглощающего погибшую клетку [38]. Наряду с усилением клиренса апоптотических клеток трансглутаминаза-2 катализирует активацию латентного ТФР- $\beta$  и усиливает ABCA1-опосредованный обратный транспорт холестерина (повышающий экстернализацию фосфатидилсерины) [39]. Дисфункциональность фермента приводит к формированию большого количества бляшек с крупным некротическим ядром [39].

Еще одна причина нарушения эффероцитоза в пенистых клетках – плохо функционирующая пара рецептор/лиганд *Mertk*/*Gas6*, где *Mertk* – находящийся на поверхности фагоцита тирозинкиназный рецептор *Mer*<sup>+</sup> (член семейства ТАМ-рецепторов), а *Gas6* – лиганд для *Mer*- и других ТАМ-рецепторов, образующий молекулярный мостик с фосфатидилсерином апоптотических клеток [40]. Основным продуцентом *Gas6* в атеросклеротических бляшках – гладкомышечные клетки. В нестабильных бляшках численность этих клеток снижается, создавая относительный дефицит *Gas6* и дисфункциональность *Mer*-опосредованного эффероцитоза [41]. Мутация гена *Mertk* также подавляет эффероцитоз, усиливает аккумуляцию апоптотических клеток и увеличивает зону некроза в атеросклеротической бляшке [42, 43]. Интересно, что *Mertk* проявляет также NF- $\kappa$ B-зависимую противовоспалительную активность, и у мышей, дефицитных по *Mer*, не только снижен клиренс апоптотических клеток, но и резко повышена продукция ФНО- $\alpha$  в Мф в ответ на ЛПС. Поэтому нарушение взаимодействия *Mertk*/*Gas6* может отменять ТАМ-индуцированное подавление продукции провоспалительных цитокинов и усиливать воспалительный ответ в области атероматозного поражения.

Поглощение апоптотических клеток осуществляется также с участием таких опсонических «мостиков», как белок S, высокомолекулярный кининоген, компонент комплемента C1q и некоторые другие. Опсоны C1q, хроматин-ассоциированный материал, фиколины и пентраксины необходимы для связывания постапоп-

тотических клеток и их клиренса через рецепторы FcγRIIA, C1qR, CR1, CD91 и кальретикулин [44]. Среди этих опсоинов наиболее изучена антиатерогенная активность C1q, дефицит которого ускоряет развитие атеросклероза [45].

Кроме молекул-мостиков, эффероцитоз обеспечивает множество других посредников, реальная роль которых в нарушении клиренса апоптотических клеток при атеросклерозе не ясна. На погибших клетках находится большое количество фагоцит-рекрутирующих и стимулирующих фагоцитоз молекул, называемых в англоязычной литературе соответственно «find me» и «eat me». На жизнеспособных клетках, наоборот, экспрессируются молекулы «donot eat me». К «find me»-молекулам относятся лизофосфатидилхолин, CX3CL1/фракталин, сфингозин-1-фосфат, нуклеотиды аденозинтрифосфата (АТФ) и уридинтрифосфата (УТФ), тромбоспондин-1 и другие.

Наиболее исследованный «eat me»-сигнал, появляющийся на внешней поверхности плазматической мембраны апоптотических клеток, — фосфатидилсерин. Имеются указания, что для успешного поглощения апоптотических клеток дополнительно к фосфатидилсерину необходима активность каспазы [46]. Молекулы внеклеточного апоптотического дегриса, связывающиеся с фосфатидилсерином и нарушающие его взаимодействие с рецепторами фагоцитов, — гистон H3, гистон H4 и HMBG1, тормозят процесс эффероцитоза [47, 48]. С другой стороны, такие мембранные белки Мф, как стабилин, ВА11, рецепторы семейства CD300, RAGE, Tim1, Tim3, Tim4, напрямую распознают фосфатидилсерин. Блокада Tim ускоряет атерогенез [49]. Часть рецепторов, задействованных в клиренсе апоптотических клеток, взаимодействует с окисленным или опсонизированным фосфатидилсерином. Это скавенджер-рецепторы CD36, SR-BI, SRA, SCARF1, LOX-1, CD68, CD14 [44, 50]. Все эти поверхностные структуры, как показано в разнообразных модельных системах, способствуют удалению апоптотического дегриса, однако их реальный вклад в нарушение эффероцитоза в атеросклеротической бляшке исследован слабо [44, 51–53]. Некоторое исключение, возможно, представляет скавенджер-рецептор VI типа (SR-BI), являющийся, с одной стороны, рецептором для ЛПВП, а с другой — для фосфатидилсерина и окисленных фосфолипидов («eat me»-сигналы) [54]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* показано, что SR-BI в Мф через сигнальный каскад Src/PI3K/Rac1 опосредует эффероцитоз, а дефицит SR-BI ускоряет атерогенез и приводит к росту числа апоптотических клеток, усилению воспалительных явлений и увеличению зоны некроза в бляшках.

## АНТИВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ЭФФЕРОЦИТОЗА

### Антивоспалительные эффекты. LXR и PPAR.

Апоптотические клетки, особенно происходящие из пенистых клеток, доставляют в фагоциты огромное количество окисленных производных холестерина и жирных кислот, которые служат естественными лигандами, активирующими ядерные рецепторы LXR и PPAR [55, 56]. После связывания с оксистеролами — лигандами LXR, последний димеризуется с RXR и индуцирует транскрипцию большого числа генов, регулирующих гомеостаз холестерина. Окисленные жирные кислоты, такие как 9-NODE, 13-NODE, 15-NETE и другие, активируют PPARγ [57], а тот, в дополнение к оксистеролам, повышает индукцию LXRα и CYP27 (цитохром, на котором образуются оксистеролы-агонисты LXR) [58]. Десмоesterol (прекурсор холестерина), накапливающийся в пенистых клетках, также становится лигандом LXR [59]. Под действием LXR индуцируется продукция постлизосомальных транспортеров холестерина NPC1/2, транслокаторов семейства АТФ-связывающей кассеты ABCA1 и ABCG1, ApoE, ApoC-1/II/IV, фосфолипид переносящего белка, белка, переносящего эфиры холестерина, десатуразы насыщенных жирных кислот SCD-1, синтазы жирных кислот (FAS), липопротеинлипазы, активируются транскрипционные факторы SREBP-1c и IRF8, ядерные рецепторы Rev-erb-α и «аутокринно» — LXRα. Все эти LXR-зависимые факторы связаны с регуляцией липидно-холестеринового гомеостаза и функционально направлены на нейтрализацию и удаление из Мф потенциально токсичного холестерина, а также на синтез жирных кислот. Вместе с холестерин-нейтрализующим действием LXR проявляют в атеросклеротических бляшках противовоспалительную активность, ингибируя экспрессию индуцибельной NO-синтазы, ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-12, циклооксигеназы-2, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, моноцитарных хемотаксических белков MCP-1 и MCP-3 [60] и металлопротеиназы-9, деградирующей фиброзную покрывку [61]. Одновременно LXR подавляет продукцию и активизирует клиренс апоптотических клеток, усиливая экспрессию по крайней мере двух рецепторных участников эффероцитоза — MERTK и трансглутаминазы-2. PPAR-δ также усиливает эффероцитоз, индуцируя продукцию опсоина погибающих клеток — C1q [56]. Иными словами, апоптотические клетки через LXR и PPAR стимулируют свой собственный клиренс и способствуют разрешению воспалительной реакции [55, 62]. Механизмом разрешения воспалительного

ответа может также быть LXR-активированный синтез полиненасыщенных жирных кислот [63], из которых в Мф под действием 12/15-липоксигеназы образуются липоксины, резолвины, протектины и маресины, ингибирующие воспаление и стимулирующие эффероцитоз [64, 65]. Воспалительная Мф инфильтрация в атероме может снижаться за счет LXR-зависимой блокады пролиферации Мф [66, 67]. Интересно, что статины, как правило, снижающие выраженность воспалительного ответа, стимулируют эффероцитоз за счет активации ERK5 и, вероятно, ERK5-зависимой трансактивации PPAR $\gamma$  и PPAR $\delta$  [68].

**LXR-независимые механизмы.** Параллельно с противовоспалительными эффектами ядерных рецепторов эффероцитоз индуцирует другие механизмы down-регуляции воспалительного ответа. Повышение внутриклеточного уровня холестерина и оксистеролов в Мф способно LXR-независимо индуцировать экспрессию и продукцию ключевых противовоспалительных и фиброгенных цитокинов TFP- $\beta$  и ИЛ-10 [69]. Секретируемый апоптотическими клетками сфингозин-1-фосфат вызывает поляризацию Мф по M2-типу, повышая в фагоцитах экспрессию гемоксигеназы-1. Неидентифицированные компоненты культуральной среды апоптотических клеток индуцируют в Мф продукцию индоламин-2,3-диоксигеназы – мощного толерогенного фактора для Мф и Т-клеток [70]. Экстернализованный на поверхности мембраны фосфатидилсерин, взаимодействуя с Мф, ингибирует ЛПС-стимулированную активацию p38 MAPK и NF- $\kappa$ B и индуцирует ERK, что приводит к блокаде секреции ИЛ-1 $\beta$  и усилению секреции ИЛ-10 [71]. Ряд данных указывает, что уже контакта/распознавания апоптотических клеток макрофагами достаточно для стимуляции активности p38 и JNK1/2 и блокады NF- $\kappa$ B, ERK1/2, p90RSK (p90 ribosomal S6 kinase) с ингибированием продукции провоспалительных цитокинов (p90RSK ускоряет атерогенез, блокируя ERK5-активируемый эффероцитоз [72]). Контакт Мф с первично некротическими клетками оказывает прямо противоположный эффект: активность NF- $\kappa$ B, ERK1/2 и p90RSK возрастает, а p38 и JNK1/2 – не меняется; в результате продукция провоспалительных цитокинов увеличивается [73].

Итак, распознавание и поглощение апоптотических клеток, как правило, ведет к функциональной поляризации Мф по «M2»-типу. Результаты опытов *in vivo* и *in vitro* показывают, что Мф с таким фенотипом наиболее эффективно захватывают погибшие апоптозом клетки, а противовоспалительные цитокины ускоряют их клиренс и тормозят атерогенез [74]. Нару-

шенный фагоцитоз апоптотических клеток, напротив, сопровождается поляризацией Мф по «M1»-типу [25].

**Провоспалительные эффекты эффероцитоза.** Долгое время считалось твердо установленным, что интериоризация апоптотических клеток, в противоположность постапоптотическим, индуцирует в Мф противовоспалительную, толерогенную поляризацию [75–80]. Это представление сегодня по-прежнему доминирует и основано на предположении об утечке во внешнюю среду потенциально провоспалительного содержимого постапоптотической клетки через компрометированную плазматическую мембрану. Однако в настоящее время появились работы, демонстрирующие, что вторично некротические клетки и клетки, находящиеся на ранних стадиях апоптоза, инициируют в Мф одни и те же пути передачи сигнала и индуцируют сходные противовоспалительные эффекты [73, 81]. В то же время первично некротические клетки высвобождают в межклеточное пространство большое количество молекул группы DAMP, сигнализирующих о повреждении, возникшей опасности и необходимости мобилизовать воспалительный ответ. К молекулам DAMP относятся, в частности, АТФ, HMBG1, белки теплового шока Hsp70 и Hsp90, кристаллы холестерина и др. Распознавание макрофагами таких некротических клеток происходит через семейства рецепторов TLR, RLR, NLR, HIN200 и др., обычно взаимодействующих с типическими молекулами микроорганизмов группы PAMP. Это взаимодействие приводит к «M1»-поляризации Мф и продукции широкого спектра провоспалительных цитокинов. Вероятно, первично и вторично некротические клетки вызывают разные эффекты при эффероцитозе, так как первые имеют литическое, а вторые – процессированное каспазами содержимое [82].

Первично некротическая гибель клеток вызывает провоспалительное действие на фагоциты отнюдь не всегда. В работе G. Vroouckaert et al. [83] в культуральных экспериментах с фибробластами, некротизированными под действием ФНО- $\alpha$ , показано отсутствие провоспалительной реакции Мф при поглощении погибших клеток. В другой работе некротические лимфоидные клетки, погибшие под действием повышенной температуры, были не способны активировать Мф, но усиливали их ЛПС-индуцированную активацию [84]. По-видимому, природа погибших клеток и контекст межклеточного взаимодействия могут иметь решающее значение.

Это же относится и к эффероцитозу апоптотических клеток, который не всегда приводит к противовоспалительным эффектам. В последнее де-

сятилетие существенно расширились представления о формах гибели клеток [85–88]. Наряду с классическим некрозом и апоптозом в литературе рассматриваются такие формы, как аутофагия, онкоз, пироптоз, нетоз, митоптоз, аноиксис, некроптоз, паранекроз и др. Большинство этих форм могут встречаться в развитой атеросклеротической бляшке. При этом такая форма «апоптоза», как, например, пироптоз, вызванный кристаллическим холестерином, может активировать в близлежащих Мф инфламмосомопосредованные сигнальные пути, приводящие к продукции ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-18. По данным Y. Li et al. [41], в модельных экспериментах *in vitro*, имитирующих ситуацию в развитой атеросклеротической бляшке, интактные Мф быстро захватывают нагруженные свободным холестерином апоптотические Мф и приобретают провоспалительный фенотип: продукция ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  увеличивается, а ТФР $\beta$  и ИЛ-10 не меняется. Понятно, что действие гибнущих клеток на формирование фенотипа Мф может существенно зависеть от многих варибельных факторов, генерируемых в процессе апоптоза, в том числе от экспрессии и окислительной модификации фосфатидилсерина [89, 90], аннексинов [91], сфингозин-1-фосфата [92–94], белков теплового шока, кальретикулина [95], собственной продукции ИЛ-10 [96] и ТФР $\beta$  [97] и пр. Каков реальный вклад тех или иных механизмов и сигналов, исходящих от апоптотических клеток, в регуляцию реактивности Мф, остается не ясно. Причем дополнительная неопределенность связана с формированием представлений о большом разнообразии функциональных фенотипов Мф и выявлением таких вариантов трансформации Мф, где одновременно наблюдаются признаки как про-, так и противовоспалительного реагирования [98–100].

#### ЭФФЕКТЫ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛЯРНЫХ ЧАСТИЦ

В процессе апоптоза клетки дезинтегрируются, превращаются в апоптотические тельца и генерируют большое количество микровезикул разного типа. Образование этих частиц может индуцироваться, наряду с апоптозом, провоспалительной стимуляцией клеток. Есть самые серьезные основания думать, что в атерогенезе множество пато- и саногенетических эффектов апоптотических клеток обусловлено, по крайней мере частично, действием происходящих из них внеклеточных везикулярных частиц.

Общепринятой классификации внеклеточных везикул не существует, но чаще всего выделяют три типа частиц: апоптотические тельца, соб-

ственно микровезикулы и экзосомы, существенно отличающиеся по биогенезу. К апоптотическим тельцам (АТ) относят заключенные в плазматическую мембрану крупные, размером 1–5 мкм, клеточные остатки с фрагментами ядра и органеллами. Микровезикулы (МВ), называемые также экзосомы или блебы, формируются как массово отшнуровывающиеся от плазматической мембраны при апоптозе «пузырьки», варьирующие в размерах от 100–200 до 1000 нм. Экзосомы (Э) происходят из секретлируемых путем экзоцитоза эндосомальных мультивезикулярных телец и генерируются как в процессе апоптоза, так и в условиях обычной жизнедеятельности клетки; их размеры колеблются в среднем от 30 до 100 нм [101, 102]. Размеры частиц разного биогенеза – не точный маркер их происхождения, так как они могут частично перекрываться [103]. Специфические типы внеклеточных везикулярных частиц, например онкосомы [104] или ретровирус-подобные частицы, могут образовываться в больших количествах вне связи с апоптозом.

Повышенное количество этих частиц обнаруживается при остром коронарном синдроме [105], гиперлипидемии, артериальной гипертензии, метаболическом синдроме, сахарном диабете [106], искусственном кровообращении [107]. Основные клеточные источники частиц в крови – тромбоциты, эндотелиоциты и Мн-Мф [108]. При атеросклерозе большое количество апоптотических МВ детектируются в кровеносном русле и атеросклеротических бляшках [109, 110]. По данным A.S. Leroyer et al. [111], МВ тромбоцитарного происхождения в атеросклеротических бляшках человека встречаются минимально, МВ из эндотелиоцитов, ГМК, Лф, эритроцитов и Мн-Мф составляют соответственно 8, 13, 15, 27 и 37 % от всей популяции МВ. Как видим, в бляшках больше половины этих частиц происходят из лейкоцитов и Мн-Мф, причем концентрация МВ из Мф выше концентрации лейкоцитарных МВ [111]. Последнее обстоятельство характерно именно для бляшек, но не для крови, по-видимому, отражая усиленную апоптотическую гибель Мф в бляшке [108]. При субклиническом течении атеросклеротического процесса многочисленные микровезикулы лейкоцитарного происхождения обнаруживаются в крови асимптоматических больных [112]. Все исследователи сходятся во мнении, что в скором будущем параметры популяции микровезикулярных частиц смогут использоваться в качестве чувствительных диагностических и прогностических маркеров.

Литературные данные, касающиеся участия внеклеточных везикулярных частиц в атерогене-

зе, появились относительно недавно и до сих пор не систематизированы и противоречивы. Описываются преимущественно провоспалительные, иммуностимулирующие, атерогенные эффекты АТ, МВ и Э, однако отдельные публикации говорят об атеропротективном действии частиц [113]. Считается, что характер влияния частиц зависит от клеточного контекста и частично объясняется их способностью переносить те или иные цитокины, молекулы PAMP и DAMP, инфекционные и неинфекционные антигены, функциональные РНК и малые некодирующие РНК, включая микроРНК. При этом предполагается, что иммуномодулирующие свойства микрочастиц во многом определяются функциональным фенотипом клеток-продуцентов, причем частицы несут специфические маркеры этих клеток. Например, экстрацеллюлярные частицы, происходящие из Т-клеток, несут на себе CD4, CD3 или CD8, из активированных эндотелиоцитов – E-селектин, из тромбоцитов – гликопротеин P-IIIa и P-селектин. Большая часть литературы посвящена роли содержащихся в АТ, МВ и Э микроРНК – высококонсервативных некодирующих РНК длиной 18–24 нуклеотида, ингибирующих трансляцию или стимулирующих деградацию целевых мРНК. Какой тип везикулярных структур является основным переносчиком микроРНК – пока предмет дискуссий [114]. Находясь в этих структурах, микроРНК защищены от внеклеточных РНКаз, поэтому весьма стабильны и способны обеспечивать межклеточную коммуникацию. Описываются как про-, так и противовоспалительные микроРНК с атерогенными и атеропротективными свойствами. Несколько недавних обзоров освещают проблему микроРНК при сердечно-сосудистых заболеваниях относительно подробно [108, 115–119]. Действие других компонентов микрочастиц охарактеризовано более фрагментарно.

**Атерогенные эффекты.** Несколько работ показывают в системе *in vitro*, что МВ, содержащие производные арахидоната, окисленные фосфолипиды или хемокины, могут активировать эндотелиальные клетки, способствуя тем самым адгезии лейкоцитов/Мн к эндотелию [120]. В системе *ex vivo* показано, что МВ разного клеточного происхождения нарушают генерацию NO и эндотелий-зависимую релаксацию мышечной аорты [121, 122], являясь одной из важнейших причин эндотелиальной дисфункции [123]. Введение крысам МВ, происходящих из холестерина-обработанных Мф, вызывает роллинг лейкоцитов и моноцитов и их адгезию к посткапиллярным венулам, указывая на активацию эндотелия. МВ из атеросклеротических бляшек

усиливают экспрессию ICAM-1 на клетках эндотелия, что способствует адгезии и трансэндотелиальной миграции Мн и развитию атеросклеротического повреждения [124]. В свою очередь, МВ из эндотелиоцитов, взаимодействуя с Мн, повышают в них экспрессию интегрина  $\alpha$ M (CD11b), увеличивая тем самым проницаемость интимальной выстилки для этих клеток. Более того, эндотелиальные МВ при введении мышам C57Bl/6 прямо повышают проницаемость эндотелия [125, 126]. Интересно, что ЛПВП тормозят связывание МВ с эндотелиальными клетками [127, 128].

Несколько исследований демонстрируют роль МВ в пролиферации Лф [129, 130]. Вероятный механизм пролиферативной реакции Лф заключается в том, что МВ атеросклеротических бляшек экспрессируют молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса и костимуляторные молекулы, такие как CD40L (в бляшках симптоматических больных уровень CD40L(+) МВ много выше, чем у асимптоматических), способные стимулировать Т-клетки, активирующие В-Лф. При этом последние продуцируют специфические иммуноглобулины против антигенов атеросклеротической бляшки, например против окисленного фосфатидилхолина ЛПНП или апоптотического дегриса [131]. МВ эндотелиальных клеток способны индуцировать созревание плазматоцитидных дендритных клеток (ДК), сопровождающееся продукцией ИЛ-6 и ИЛ-8. Примированные такими ДК наивные CD4<sup>+</sup> Т-клетки продуцируют цитокины Th1-типа [132]. Так же как постапоптотические клетки, МВ – богатый источник аутоантигенов (включая нуклеосомы), индуцирующих атерогенные и хронические аутоиммунные процессы [133].

Механизмами участия МВ в атерогенезе может быть и индукция аутоиммунного ответа к окислительно-модифицированным фосфолипидам, повышающим уровень окисленных иммуногенных эпитопов в атероме [134]. МВ-носители этих эпитопов из нагруженных свободным холестерином Мф ведут себя как переносчики DAMP; причем, в отличие от канонических DAMP, последние, ассоциированные с окислением, взаимодействуют с LOX-1 и нейтрализуются с участием ЛПВП и ассоциированной с ЛПВП параоксоназой-1 [135]. Более того, многие DAMP с окислительно-специфическими эпитопами распознаются классическими рецепторами для провоспалительных PAMP [136].

X. Loyer et al. [131] указывают, что МВ, образованные в атеросклеротических бляшках, стимулируют воспалительный ответ и вносят

вклад в рост липидно-некротического ядра. Одним из факторов этого роста, по-видимому, является способность МВ в сочетании с TLR-лигандами стимулировать образование пенистых клеток [137]. Другим фактором может быть способность апоптотических МВ индуцировать апоптоз Мн-Мф. Апоптогенная активность МВ объясняется двумя механизмами: а) содержащимися в МВ каспазами-1 и 3 и б) интрамакрофагальной, опосредованной фосфолипазой А2 деградацией фосфолипидов поглощенных частиц с генерацией арахидоната – активатора кислоты сфингомиелиназы, метаболизирующей сфингомиелин до церамидов, индуцирующих апоптоз [138–142]. Интенсификация апоптоза апоптоз-генерируемыми частицами представляет собой классический порочный круг и, без сомнения, серьезную движущую силу процесса. Другой фактор увеличения некротического ядра, прогрессирования бляшки и ее дестабилизации – содержащийся в МВ атеросклеротических бляшек ADAM17, вызывающий шеддинг ФНО- $\alpha$  [143] и, как упоминалось выше, рецепторов, необходимых для эффероцитоза. Конкуренция МВ с АТ и окисленными ЛПНП за сайты связывания/рецепторы к фосфатидилсерину на фагоцитах нарушает эффероцитоз и клиренс микрочастиц. При этом высокая концентрация МВ в бляшках оказывается следствием комбинации ускоренного апоптогенеза и нарушенного клиренса частиц.

По некоторым данным не только МВ, но и АТ и Э могут оказывать провоспалительное действие. Так, АТ эндотелиальных клеток переносят прекурсорную и зрелую формы ИЛ-1 $\alpha$ , способного индуцировать хемотаксические факторы MCP-1 и ИЛ-8 [144], а экзосомы активированных CD4+T-клеток повышают аккумуляцию свободного и эстерифицированного холестерина в Мн и продукцию в них ФНО- $\alpha$ , таким образом ускоряя развитие атеросклероза [145].

Еще один механизм участия МВ в патогенезе атеросклеротической бляшки связан со стимуляцией ангиогенеза [146]. В норме артериальная интима практически лишена *Vasa vasorum*, тогда как адвентиций и внешняя медия имеют сосудистую сеть. Утолщение интимы сопровождается ростом происходящих из адвентиция порозных микрососудов, через которые происходит экстравазация разрушающихся эритроцитов, несущих свободный холестерин и внеэритроцитарный гемоглобин, усиливающий окислительные процессы. Плотность интраатероматозной неососудистой сети резко повышает нестабильность бляшки и является отчетливым независимым предиктором исходов сердечно-сосудистых

событий [147]. МВ-индуцированный неоангиогенез обусловлен способностью этих частиц повышать проницаемость эндотелия, усиливать благодаря своим матриксным металлопротеиназам (ММП) протеолиз базальной мембраны, морфоген Shh- или CD40L-опосредованно стимулировать PI3K/Akt-зависимую пролиферацию эндотелия и переносить в своем составе эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF) [148].

МВ, по-видимому, могут участвовать в дестабилизации бляшки, истончая фиброзную покрышку, поскольку: а) переносят ММП-2, ММП-9 и профермент МТ1-ММП, б) индуцируют синтез ММП-1, ММП-3, ММП-9 и ММП-13 в Мф и фибробластах и в) стимулируют апоптоз ГМК [148].

Одно из осложнений атероматозного воспаления – атерокальциноз, т. е. отложение гидроксипатитов и кальцификация атеросклеротической бляшки. Узловым событием этого процесса является образование происходящих из ГМК и Мф апоптотических внеклеточных кальцифицирующих МВ и АТ, которые служат точками формирования и роста микрокальцификатов внутри фиброзной покрышки, провоцируя ее дестабилизацию. По аналогии с микрочастицами костной ткани кальцифицирующие МВ содержат белки, липиды и микроРНК, необходимые для накопления фосфатов и кальция и запуска кальцифицирующего каскада. При этом в МВ находится неспецифическая щелочная фосфатаза, формирующая локальное микроокружение для преципитации эктопических кальцификатов и отложения кристаллов гидроксипатита на коллагеновой матрице. Так же, как МВ, из остеобластов и хондроцитов, кальцифицирующие МВ сосудистой ткани нуждаются для формирования минеральных депозитов в аннексинах II, V и VI. Кальцификация коронарных сосудов сопровождается увеличением концентрации МВ в системной циркуляции. Недавно вышло несколько важных статей и обзоров, посвященных роли микрочастиц в патогенезе атерокальциноза [149–153].

Непосредственной причиной атеросклеротических сосудистых катастроф служат, как правило, индуцированное повреждением фиброзной покрышки тромбообразование и тромбоэмболия. Около четверти всех фатальных тромбозов коронарных артерий происходит при эрозивном повреждении поверхности покрышки [154], которое может возникать из-за интенсивного, индуцированного микрочастицами апоптоза эндотелия [155]. Микрогеморрагии и тромбы внутри бляшки возникают в сформированной при участии МВ неоваскулярной сети. По данным



M.L. Liu et al. [7], нагрузка Мф неэстерифицированным холестерином индуцирует апоптоз и генерацию фосфатидилсерин(+) МВ, несущих большое количество тканевого фактора, что во многом объясняет высокую тромбогенную активность в уязвимой атеросклеротической бляшке и повышенную прокоагулянтную активность сыворотки крови при гиперхолестеринемиях [134]. Тромбогенная активность блеббинг-генерируемых МВ отмечена во многих исследованиях [110, 156–159].

**Антиатерогенные эффекты.** Взаимодействие внеклеточных везикул апоптотических клеток с Мф и с непрофессиональными фагоцитами, по-видимому, может оказывать и атеропротективное действие.

Интересная гипотеза выдвинута M.N. Abid Hussein et al. [140], которые обнаружили высокую активность каспазы-3 в МВ культивируемых эндотелиоцитов и предположили, что эндотелий из зон напряжения сдвига использует МВ для удаления апоптогенных белков из клеток в «последней попытке» избежать гибели. Тем не менее эта интерпретация ставится под сомнение, так как образующиеся МВ стимулируют атерогенные события и, вероятно, апоптоз в соседних клетках [148].

МВ, формирующиеся на ранних стадиях апоптоза, эффективно нейтрализуют реактивные метаболиты кислорода, так как содержат активные ферменты-антиоксиданты, включая каталазу и супероксиддисмутазу (СОД), а в эндотелиальных клетках-реципиентах стимулируют экспрессию митохондриальной СОД-2 [160].

В состав микрочастиц входят противовоспалительные, эффероцитоз-стимулирующие липидные медиаторы резолвины, протектины и маресины, высвобождающиеся в среду под действием макрофагальной фосфолипазы А2 [65]. В Мф, захвативших микрочастицы, усиливается собственный биосинтез липоксинов [161]. МВ из активированных нейтрофилов повышают макрофагальную продукцию ТФР- $\beta$ , снижая, очевидно, воспалительный ответ и стабилизируя бляшку [162].

По данным A. Zernecke et al. [163], вазопротективное действие оказывают АТ, переносящие эндотелиоцитам-реципиентам эндотелиальную микроРНК-126. У АпоЕ<sup>-/-</sup> мышей miR-126-богатые эндотелиальные АТ репрессируют в фагоцитах регулятор G-белка RGS16, тем самым индуцируя продукцию SDF-1/CXCL12 – хемоаттрактанта для эндотелиальных и соединительнотканых клеток-предшественников, несущих рецептор CXCR4. В результате АТ рекрутируют в бляшку клеточные прекурсоры, необходимые для стабилизации бляшки [131]. Наряду с SDF-1

мобилизация в зону интимы и фиброзной покрышки клеток-предшественников, таких как МСК, осуществляется за счет MCP-1, RANTES, PDGF-BB, VEGF-A и других [164]. Сами активированные предшественники также генерируют везикулярные частицы, способные усиливать выживание и пролиферацию эндотелиоцитов. Эндотелиальная микроРНК на МВ переносится также к гладкомышечным клеткам. Напряжение сдвига или статины индуцируют в эндотелии транскрипционный фактор KLF2, а он в свою очередь – комплекс микроРНК miR143/145, который в составе МВ переносится ГМК и формирует в них атеропротективный фенотип. Введение таких МВ АпоЕ<sup>-/-</sup> мышам тормозит формирование атеросклеротических повреждений [165].

Экзосомы интактных эндотелиоцитов и циркулирующие Э интактных мышей оказывают толерогенное действие на Мн-Мф; подавление активации мононуклеарных фагоцитов при введении этих Э животным частично объясняется переносом микроРНК-10a [166]. Экзосомы, полученные из дендритных клеток или Treg, подавляют активацию Т-клеток [167, 168]. Обобщение нескольких работ позволяет утверждать, что экзосомы Мф, Т-клеток и дендритных клеток способны смещать функциональную трансформацию Мф и Т-клеток в сторону противовоспалительного регуляторного реагирования [169]. По нашим собственным данным, все три типа частиц (АТ, МВ и Э), происходящих из разных типов апоптотизирующих, исходно интактных клеток (Мф, Лф и МСК), подавляют ЛПС-индуцированную провоспалительную активацию Мф-реципиентов и продукцию в них оксида азота.

Итак, АТ, МВ и Э могут оказывать как провоспалительное и атерогенное, так и противовоспалительное и атеропротективное действие. Высокое содержание циркулирующих везикулярных микрочастиц у больных с атеротромбозом, где они могут служить полезным биомаркером повреждения сосудов и потенциальным предиктором сосудистых катастроф, отражает действие важного элемента патогенеза атеросклеротического повреждения сосудов, а не просто появление инертной «клеточной пыли», как считалось долгое время. Аккумуляция в атеросклеротической бляшке большого количества таких частиц из Мф, ГМК, эндотелиоцитов, тромбоцитов и эритроцитов коррелирует с разными стадиями формирования, прогрессии и осложнений в зоне атероматозного повреждения. Значительное число данных указывает на роль микрочастиц в нарушении функции эндотелия, снижении в нем продукции окиси азота, повышении экспрессии молекул адгезии, таких

как ICAM-1, усилении рекрутирования Мн; многие факты свидетельствуют о существенной роли везикулярных микрочастиц в атерогенном провоспалительном ответе, интраатероматозном ангиогенезе, тромбогенезе, атерокальцинозе. Биологические эффекты частиц зависят от сложного комплекса составляющих их белков, липидов и нуклеиновых кислот; содержание которых в свою очередь зависит от клеточного происхождения, актуального микроокружения и условий кондиционирования источников частиц. Поскольку везикулярные микрочастицы имеют целый ряд преимуществ перед клетками, используемыми в клеточной терапии (высокая стабильность, низкая иммуногенность, способность преодолевать гистогематические барьеры, спонтанное рекрутирование в зоны поражения, возможность таргетирования к существующим мембранным рецепторам и др.), они рассматриваются в настоящее время не только как потенциальные высокоинформативные инструменты диагностики, но и как крайне перспективные средства «бесклеточной клеточной терапии», и как возможные средства направленного транспорта биологически активных препаратов. На сегодняшний день имеется ряд примеров успешного применения внеклеточных везикул в качестве средств лечения экспериментальных патологических процессов. В отношении терапии атеросклероза такие исследования только начинаются.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Mallat Z., Tedgui A. Current perspective on the role of apoptosis in atherothrombotic disease // *Circ. Res.* 2001. Vol. 88. P. 998–1003.
- Freyssinet J.M., Toti F., Hugel B. et al. Apoptosis in vascular disease // *Thromb. Haemost.* 1999. Vol. 82. P. 727–735.
- Zhu M., Du J., Chen S. et al. L-Cystathionine inhibits the mitochondria-mediated apoptosis induced by oxidized low density lipoprotein // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15. P. 23059–23073.
- Tavakoli S., Asmis R. Reactive oxygen species and thiol redox signaling in the macrophage biology of atherosclerosis // *Antioxid. Redox. Signal.* 2012. Vol. 17, N 12. P. 1785–1795.
- Seimon T.A., Nadolski M.J., Liao X. et al. Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress // *Cell. Metab.* 2010. Vol. 12, N 5. P. 467–482.
- Tabas I., Seimon T., Timmins J. et al. Macrophage apoptosis in advanced atherosclerosis // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2009. Vol. 1173 (Suppl. 1). P. E40–E45.
- Liu M.-L., Reilly M.P., Casasanto P. et al. Cholesterol enrichment of human monocyte/macrophages induces surface exposure of phosphatidylserine and the release of biologically-active tissue factor-positive microvesicles // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007. Vol. 27. P. 430–435.
- Seimon T., Tabas I. Mechanisms and consequences of macrophage apoptosis in atherosclerosis // *J. Lipid Res.* 2009. Vol. 50 (Suppl). S382–S387.
- Tricot O., Mallat Z., Heymes C. et al. Relation between endothelial cell apoptosis and blood flow direction in human atherosclerotic plaques // *Circulation.* 2000. Vol. 101. P. 2450–2453.
- Mallat Z., Tedgui A. Apoptosis in the vasculature: mechanisms and functional importance // *Br. J. Pharmacol.* 2000. Vol. 130. P. 947–962.
- Ding Z., Liu S., Yang B. et al. Effect of oxidized low-density lipoprotein concentration polarization on human smooth muscle cells' proliferation, cycle, apoptosis and oxidized low-density lipoprotein uptake // *J. R. Soc. Interface.* 2012. Vol. 9, N 71. P. 1233–1240.
- Psaltis P.J., Simari R.D. Vascular wall progenitor cells in health and disease // *Circ. Res.* 2015. Vol. 116. P. 1392–1412.
- Van Vré E.A., Ait-Oufella H., Tedgui A., Mallat Z. Apoptotic cell death and efferocytosis in atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012. Vol. 32. P. 887–893.
- Liu J., Thewke D.P., Su Y.R. et al. Reduced macrophage apoptosis is associated with accelerated atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-null mice // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25. P. 174–179.
- Yamada S., Ding Y., Tanimoto A. et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 deficiency accelerates hyperlipidemia-induced atheromatous plaques via suppression of macrophage apoptosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011. Vol. 31. P. 1555–1564.
- Bolick D.T., Skafien M.D., Johnson L.E. et al. G2A deficiency in mice promotes macrophage activation and atherosclerosis // *Circ. Res.* 2009. Vol. 104. P. 318–327.
- Arai S., Shelton J.M., Chen M. et al. A role for the apoptosis inhibitory factor AIM/Spa/Ap1b in atherosclerosis development // *Cell. Metab.* 2005. Vol. 1. P. 201–213.
- Babaev V.R., Chew J.D., Ding L. et al. Macrophage EP4 deficiency increases apoptosis and suppresses early atherosclerosis // *Cell. Metab.* 2008. Vol. 8. P. 492–501.
- Gautier E.L., Huby T., Witztum J.L. et al. Macrophage apoptosis exerts divergent effects on atherogenesis as a function of lesion stage // *Circulation.* 2009. Vol. 119. P. 1795–1804.
- Tabas I. Consequences and therapeutic implications of macrophage apoptosis in atherosclerosis: the importance of lesion stage and phagocytic efficiency // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25. P. 2255–2264.
- Thorp E., Li Y., Bao L. et al. Brief report: increased apoptosis in advanced atherosclerotic lesions of ApoE-/- mice lacking macrophage Bcl-2 // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009. Vol. 29. P. 169–172.
- Tabas I. Macrophage apoptosis in atherosclerosis: consequences on plaque progression and the role of endoplasmic reticulum stress // *Antioxidants & Redox. Signaling.* 2009. Vol. 11, N 9. P. 2333–2339.
- Шварц Я.Ш., Чересиз Е.А. Фиброзный процесс при атеросклерозе // *Атеросклероз.* 2011. Т. 7, № 2. С. 57–66.

24. Schrijvers D.M., de Meyer G.R., Herman A.G., Martinet W. Phagocytosis in atherosclerosis: molecular mechanisms and implications for plaque progression and stability // *Cardiovasc. Res.* 2007. Vol. 73. P. 470–480.
25. Schrijvers D.M., de Meyer G.R., Kockx M.M. et al. Phagocytosis of apoptotic cells by macrophages is impaired in atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25. P. 1256–1261.
26. Tabas I. Mouse models of apoptosis and efferocytosis // *Curr. Drug Targets.* 2008. Vol. 8. P. 1288–1296.
27. McPhillips K., Janssen W.J., Ghosh M. et al. TNF- $\alpha$  inhibits macrophage clearance of apoptotic cells via cytosolic phospholipase A2 and oxidant-dependent mechanisms // *J. Immunol.* 2007. Vol. 178. P. 8117–8126.
28. Miller Y.I., Viriyakosol S., Binderet C.J. et al. Minimally modified LDL binds to CD14, induces macrophage spreading via TLR4/MD-2, and inhibits phagocytosis of apoptotic cells // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 1561–1566.
29. Chang M.K., Bergmark C., Laurila A. et al. Monoclonal antibodies against oxidized low density lipoprotein bind to apoptotic cells and inhibit their phagocytosis by elicited macrophages: evidence that oxidation-specific epitopes mediate macrophage recognition // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 6353–6358.
30. Dennis E.A., Witztum J.L. Monoclonal antibodies against oxidized low density lipoprotein bind to apoptotic cells and inhibit their phagocytosis by elicited macrophages: evidence that oxidation-specific epitopes mediate macrophage recognition // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. Vol. 96. P. 6353–6358.
31. Garbin U., Baggio E., Stranieri C. et al. Expansion of necrotic core and shedding of Merck receptor in human carotid plaques: a role for oxidized polyunsaturated fatty acids? // *Cardiovascular Research.* 2013. Vol. 97. P. 125–133.
32. Oksala N., Levula M., Airla N. et al. ADAM-9, ADAM-15, and ADAM-17 are upregulated in macrophages in advanced human atherosclerotic plaques in aorta and carotid and femoral arteries-Tampere vascular study // *Ann. Med.* 2009. Vol. 41, N 4. P. 279–290.
33. Pirillo A., Catapano A.L. Soluble lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 as a biochemical marker for atherosclerosis-related diseases // *Dis. Markers.* 2013. Vol. 35, N 5. P. 413–418.
34. Driscoll W.S., Vaisner T., Tang J. et al. Macrophage ADAM17 deficiency augments CD36-dependent apoptotic cell uptake and the linked anti-inflammatory phenotype // *Circ. Res.* 2013. Vol. 113. P. 52–61.
35. Novak M.L., Thorp E.B. Shedding light on impaired efferocytosis and nonresolving inflammation // *Circ. Res.* 2013. Vol. 113. P. 9–12.
36. Su Y.R., Dove D.E., Major A.S. et al. Reduced ABCA1-mediated cholesterol efflux and accelerated atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice lacking macrophage-derived ACAT1 // *Circulation.* 2005. Vol. 111. P. 2373–2381.
37. Ait-Oufella H., Kinugawa K., Zoll J. et al. Lactadherin deficiency leads to apoptotic cell accumulation and accelerated atherosclerosis in mice // *Circulation.* 2007. Vol. 115. P. 2168–2177.
38. Tyth B., Garabuczi E., Sarang Z. et al. Transglutaminase 2 is needed for the formation of an efficient phagocyte portal in macrophages engulfing apoptotic cells // *J. Immunol.* 2009. Vol. 182. P. 2084–2092.
39. Boisvert W.A., Rose D.M., Boullier A. et al. Leukocyte transglutaminase 2 expression limits atherosclerotic lesion size // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006. Vol. 26. P. 563–569.
40. Dransfield I., Zagyrskaya A., Lew E.D. et al. Mer receptor tyrosine kinase mediates both tethering and phagocytosis of apoptotic cells // *Cell. Death and Disease.* 2015. Vol. 6. e1646. doi:10.1038/cddis.2015.18.
41. Li Y., Gerbod-Giannone M.C., Seitz H. et al. Cholesterol-induced apoptotic macrophages elicit an inflammatory response in phagocytes, which is partially attenuated by the Mer receptor // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281, N 10. P. 6707–6717.
42. Ait-Oufella H., Poursmail V., Simon T. et al. Defective Mer receptor tyrosine kinase signaling in bone marrow cells promotes apoptotic cell accumulation and accelerates atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008. Vol. 28, N 8. P. 1429–1431.
43. Thorp E., Cui D., Schrijvers D.M. et al. Merck receptor mutation reduces efferocytosis efficiency and promotes apoptotic cell accumulation and plaque necrosis in atherosclerotic lesions of apoE-/- mice // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008. Vol. 28, N 8. P. 1421–1428.
44. Kimani S.G., Geng K., Kasikara C. et al. Contribution of defective PS recognition and efferocytosis to chronic inflammation and autoimmunity // *Front. In Immunol.* 2014. Vol. 5. doi: 10.3389/fimmu.2014.00566
45. Bhatia V.K., Yun S., Leung V. et al. Complement C1q reduces early atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice // *Am. J. Pathol.* 2007. Vol. 170. P. 416–426.
46. Shklyar B., Levy-Adam F., Mishnaevski K., Kurant E. Caspase activity is required for engulfment of apoptotic cells // *Mol. Cell. Biol.* 2013. Vol. 33, N 16. P. 3191–3201.
47. Friggeri A., Banerjee S., Xie N. et al. Extracellular histones inhibit efferocytosis // *Mol. Med.* 2012. Vol. 18. P. 825–833.
48. Friggeri A., Yang Y., Banerjee S. et al. HMGB1 inhibits macrophage activity in efferocytosis through binding to the  $\alpha\beta 3$ -integrin // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2010. Vol. 299. P. 1267–127.
49. Foks A.C., Ran I.A., Wasserman L. et al. T-cell immunoglobulin and mucin domain 3 acts as a negative regulator of atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013. Vol. 33. P. 2558–2565.
50. Ramirez-Ortiz Z.G., Pendergraft III W.F., Prasad A. et al. The scavenger receptor SCARF1 mediates the clearance of apoptotic cells and prevents autoimmunity // *Nature Immunology.* 2013. Vol. 14. P. 917–926.
51. Ravichandran K.S. Find-me and eat-me signals in apoptotic cell clearance: progress and conundrums // *J. Exp. Med.* Vol. 207, N 9. P. 1807–1817.
52. Szondy Z., Garabuczi É., Joys G. et al. Impaired clearance of apoptotic cells in chronic inflammatory diseases: therapeutic implications // *Front. Immunol.* 2014. Vol. 5. doi: 10.3389/fimmu.2014.00354
53. Poon I.K.H., Lucas C.D., Rossi A.G., Ravichandran K.S. Apoptotic cell clearance: basic biology and therapeutic potential // *Nature Reviews Immunol.* 2014. Vol. 14, N 3. P. 166–180.

54. **Tao H., Yancey P.G., Babaev V.R. et al.** Macrophage SR-B1 mediates efferocytosis via Src/PI3K/Rac1 signaling and reduces atherosclerotic lesion necrosis // *J. Lipid Res.* Jun 2015. doi: 10.1194/jlr.M056689.
55. **A-Gonzalez N., Bensinger S.J., Hong C. et al.** Apoptotic cells promote their own clearance and immune tolerance through activation of the nuclear receptor LXR // *Immunity.* 2009. Vol. 31. P. 245–258. doi:10.1016/j.immuni.2009.06.01.
56. **Mukundan L., Odegaard J.I., Morel C.R. et al.** PPAR-delta senses and orchestrates clearance of apoptotic cells to promote tolerance // *Nat. Med.* 2009. Vol. 15. P. 1266–1272. doi:10.1038/nm.2048
57. **Itoh T., Fairall L., Amin K. et al.** Structural basis for the activation of PPAR $\gamma$  by oxidized fatty acids // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2008. Vol. 15, N 9. P. 924–931.
58. **Shiffman D., Mikita T., Tai J.T. et al.** Large scale gene expression analysis of cholesterol-loaded macrophages // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 37324–37332.
59. **Spann N.J., Garmire L.X., McDonald J.G. et al.** Regulated accumulation of desmosterol integrates macrophage lipid metabolism and inflammatory responses // *Cell.* 2012. Vol. 151. P. 138–152.
60. **Joseph S.B., Castrillo A., Laffitte B.A. et al.** Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors // *Nat. Med.* 2003. Vol. 9. P. 213–219.
61. **Castrillo A., Joseph S.B., Marathe C. et al.** Liver X receptor dependent repression of matrix metalloproteinase-9 expression in macrophages // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 10443–10449.
62. **Rebe C., Raveneau M., Chevriaux A. et al.** Induction of transglutaminase 2 by a liver X receptor/retinoic acid receptor- $\alpha$  pathway increases the clearance of apoptotic cells by human macrophages // *Circ. Res.* 2009. Vol. 105, N 4. P. 393–401.
63. **Varin A., Thomas C., Ishibashi M. et al.** Liver X Receptor Activation Promotes Polyunsaturated Fatty Acid Synthesis in Macrophages Relevance in the Context of Atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015. Vol. 35. P. 1357–1365.
64. **Rong S., Cao Q., Liu M. et al.** Macrophage 12/15 lipoxygenase expression increases plasma and hepatic lipid levels and exacerbates atherosclerosis // *J. Lipid Res.* 2012. Vol. 53. P. 686–695.
65. **Serhan C.N.** Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology // *Nature.* 2014. Vol. 510. P. 92–101.
66. **Pascual-Garcna M., Carby J.M., Leyn T. et al.** Liver X receptors inhibit macrophage proliferation through downregulation of cyclins D1 and B1 and cyclin-dependent kinases 2 and 4 // *J. Immunol.* 2011. Vol. 186, N 8. P. 4656–4667.
67. **Reddy S.M., Hsiao K.H.K., Abernethy V.E. et al.** Phagocytosis of apoptotic cells by macrophages induces novel signaling events leading to cytokine-independent survival and inhibition of proliferation: activation of Akt and inhibition of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 // *J. Immunol.* 2002. Vol. 169. P. 702–713.
68. **Heo K.-S., Cushman H.J., Akaike M. et al.** ERK5 activation in macrophages promotes efferocytosis and inhibits atherosclerosis // *Circulation.* 2014. Vol. 130. P. 180–191.
69. **Шварц Я.Ш., Хощенко О.М., Душкин М.И., Феофанова Н.А.** Действие холестерина и агонистов гормональных ядерных рецепторов на продукцию трансформирующего фактора роста- $\beta$  в макрофагах // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 2009. Т. 148, № 9. С. 294–297.
70. **Weis N., Weigert A., von Knethen A., Brune B.** Heme oxygenase-1 contributes to an alternative macrophage activation profile induced by apoptotic cell supernatants // *Mol. Biol. Cell.* 2009. Vol. 20. P. 1280–1288.
71. **Ma H.M., Wu Z., Nakanishi H.** Phosphatidylserine-containing liposomes suppress inflammatory bone loss by ameliorating the cytokine imbalance provoked by infiltrated macrophages // *Lab. Invest.* 2011. Vol. 91. P. 921–931. doi:10.1038/labinvest.2011.54
72. **Heo K., Akaike M., Taunton J. et al.** Macrophage P90rsk accelerates atherosclerosis by inhibiting efferocytosis // *Circulation.* 2014. Vol. 130. A15966.
73. **Patel V.A., Longacre-Antoni A., Cvetanovic M. et al.** The affirmative response of the innate immune system to apoptotic cells // *Autoimmunity.* 2007. Vol. 40, N 4. P. 274–280.
74. **Thorp E.B.** Contrasting inflammation resolution during atherosclerosis and post myocardial infarction at the level of monocyte/macrophage phagocytic clearance // *Front. In Immunol.* 2012. Vol. 3. article 39, doi: 10.3389/fimmu.2012.00039.
75. **Rathmell J.C., Thompson C.B.** The central effectors of cell death in the immune system // *Annu. Rev. Immunol.* 1999. Vol. 17. P. 781–828.
76. **Savill J., Dransfield I., Gregory C., Haslett C.** A blast from the past: clearance of apoptotic cells regulates immune responses // *Nat. Rev. Immunol.* 2002. Vol. 2. P. 965–975.
77. **Voll R.E., Herrmann M., Roth E.A. et al.** Immunosuppressive effects of apoptotic cells // *Nature.* 1997. Vol. 390. P. 350–351.
78. **Fadok V.A., Bratton D.L., Konowal A. et al.** Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF- $\beta$ , PGE2, and PAF // *J. Clin. Invest.* 1998. Vol. 101. P. 890–898.
79. **Birge R.B., Ucker D.S.** Innate apoptotic immunity: the calming touch of death // *Cell. Death Differ.* 2008. Vol. 15. P. 1096–1102.
80. **Freire-de-Lima C.G., Nascimento D.O., Soares M.B. et al.** Uptake of apoptotic cells drives the growth of a pathogenic trypanosome in macrophages // *Nature.* 2000. Vol. 403. P. 199–203.
81. **Patel V.A., Longacre A., Hsiao K. et al.** Apoptotic cells, at all stages of the death process, trigger characteristic signaling events that are divergent from and dominant over those triggered by necrotic cells. Implications for the delayed clearance model of autoimmunity // *JBC.* 2006. Vol. 281, N 8. P. 4663–4670.
82. **Krysko D.V., D’Herde K., Vandenabeele P.** Clearance of apoptotic and necrotic cells and its immunological consequences // *Apoptosis.* 2006. Vol. 11. P. 1709–1726.
83. **Brouckaert G., Kalai M., Krysko D.V. et al.** Phagocytosis of necrotic cells by macrophages is phosphatidylserine dependent and does not induce inflammatory cytokine production // *Mol. Biol. Cell.* 2004. Vol. 15, N 3. P. 1089–1100.
84. **Cocco R.E., Ucker D.S.** Distinct modes of macrophage recognition for apoptotic and necrotic cells are not specified exclusively by phosphatidylserine exposure // *Mol. Biol. Cell.* 2001. Vol. 12, N 4. P. 919–930.

85. Galluzzi L., Vitale I., Abrams J.M. et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012 // *Cell. Death and Differentiation*. 2012. Vol. 19. P. 107–120.
86. Shalini S., Dorstyn L., Dawar S., Kumar S. Old, new and emerging functions of caspases // *Cell. Death and Differentiation*. 2015. Vol. 22. P. 526–539.
87. Vanden-Berghe T., Linkermann A., Jouan-Lanhouet S. et al. Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2014. Vol. 15. P. 135–147.
88. Sanz A.B., Sanchez-Nino M.D., Izquierdo M.C. et al. Macrophages and recently identified forms of cell death // *Intern. Reviews Immunol.* 2013. Early Online: 1–14, doi: 10.3109/08830185.2013.771183.
89. Fadok V.A., Bratton D.L., Frasch C.S. et al. The role of phosphatidylserine in recognition of apoptotic cells by phagocytes // *Cell. Death Differ.* 1998. Vol. 5, N 7. P. 551–562.
90. Lee S.H., Meng X.W., Flatten K.S. et al. Phosphatidylserine exposure during apoptosis reflects bidirectional trafficking between plasma membrane and cytoplasm // *Cell. Death Differ.* 2013. Vol. 20, N 1. P. 64–76. doi: 10.1038/cdd.2012.93.
91. Arur S., Uche U.E., Rezaul K. et al. Annexin I is an endogenous ligand that mediates apoptotic cell engulfment // *Dev. Cell*. 2003. Vol. 4. P. 587–598.
92. Weigert A., Johann A. M., von Knethen A. et al. Apoptotic cells promote macrophage survival by releasing the antiapoptotic mediator sphingosine-1-phosphate // *Blood*. 2006. Vol. 108. P. 1635–1642.
93. Weigert A., Tzieply N., von Knethen A. et al. Tumor cell apoptosis polarizes macrophages role of sphingosine-1-phosphate // *Mol. Biol. Cell*. 2007. Vol. 18. P. 3810–3819.
94. Hughes J.E., Srinivasan S., Lynch K.R. et al. Sphingosine-1-phosphate induces an antiinflammatory phenotype in macrophages // *Circ. Res.* 2008. Vol. 102. P. 950–958.
95. Krysko D.V., Garg A.D., Kaczmarek A. et al. Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy // *Nature Reviews – Cancer*. 2012. Vol. 12. P. 860–875.
96. Gao Y., Herndon J.M., Zhang H. et al. Antiinflammatory effects of CD95 ligand (FasL)-induced apoptosis // *J. Exp. Med.* 1998. Vol. 188. P. 887–896.
97. Chen W., Frank M.E., Jin W., Wahl S.M. TGF-beta released by apoptotic T cells contributes to an immunosuppressive milieu // *Immunity*. 2001. Vol. 14. P. 715–725.
98. Mantovani A., Biswas S.K., Galdiero M.R. et al. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodeling // *J. Pathol.* 2013. Vol. 229, N 2. P. 176–185.
99. Biswas S.K., Chittechath M., Shalova I.N., Lim J.Y. Macrophage polarization and plasticity in health and disease // *Immunol. Res.* 2012. Vol. 53 (1-3). P. 11–24.
100. Schwartz Y.Sh., Svistelnik A.V. Functional Phenotypes of Macrophages and the M1–M2 Polarization Concept. Part I. Proinflammatory Phenotype // *Biochemistry (Moscow)*. 2012. Vol. 77, N 3. P. 246–256.
101. Akers J.C., Gonda D., Kim R. et al. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies // *J. Neurooncol.* 2013. Vol. 113. P. 1–11.
102. Buzas E.I., György B., Nagy G. et al. Emerging role of extracellular vesicles in inflammatory diseases // *Nat. Rev. Rheumatol.* Advance online publication 18 February 2014. doi:10.1038/nrrheum.2014.19.
103. Witwer K.W., Buzás E.I., Bemis L.T. et al. Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research // *J. Extracell. Vesicles*. 2013. Vol. 2. P. 20360. <http://dx.doi.org/10.3402/jev.v2i0.20360>.
104. Morello M., Minciacchi V.R., de Candia P. et al. Large oncosomes mediate intercellular transfer of functional microRNA // *Cell Cycle*. 2013. Vol. 12, N 22. P. 3526–3536.
105. Mallat Z., Benamer H., Hugel B. et al. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes // *Circulation*. 2000. Vol. 101. P. 841–843.
106. Nomura S., Suzuki M., Katsura K. et al. Platelet-derived microparticles may influence the development of atherosclerosis in diabetes mellitus // *Atherosclerosis*. 1995. Vol. 116. P. 235–243.
107. Nieuwland R., Berckmans R.J., Rotteveel-Eijkman R.C. et al. Cell-derived microparticles generated in patients during cardiopulmonary bypass are highly procoagulant // *Circulation*. 1997. Vol. 96. P. 3534–354.
108. Hulsmans M., Holvoet P. MicroRNA-containing microvesicles regulating inflammation in association with atherosclerotic disease // *Cardiovasc. Res.* 2013. Vol. 100. P. 7–18.
109. Boulanger C.M., Amabile N., Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease // *Hypertension*. 2006. Vol. 48. P. 180–186.
110. Mallat Z., Hugel B., Ohan J. et al. Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques: a role for apoptosis in plaque thrombogenicity // *Circulation*. 1999. Vol. 99. P. 348–353.
111. Leroyer A.S., Isobe H., Leseche G. et al. Cellular origins and thrombogenic activity of microparticles isolated from human atherosclerotic plaques // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007. Vol. 49. P. 772–777.
112. Chironi G., Simon A., Hugel B. et al. Circulating leukocyte-derived microparticles predict subclinical atherosclerosis burden in asymptomatic subjects // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006. Vol. 26. P. 2775–2780.
113. Robbins P.D., Morelli A.E. Regulation of immune responses by extracellular vesicles // *Nature Reviews: Immunology*. 2014. Vol. 14. P. 195–208. doi:10.1038/nri3622.
114. Xu L., Yang B.F., Ai J. MicroRNA transport: a new way in cell communication // *J. Cell. Physiol.* 2013. Vol. 228. P. 1713–1719.
115. Raitoharju E., Oksala N., Lehtimäki T. MicroRNAs in the atherosclerotic plaque // *Clin. Chem.* 2013. Vol. 59. P. 1708–1721.
116. Fernandez-Hernando C., Ramirez C.M., Goedeker L., Suarez Y. MicroRNAs in metabolic disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013. Vol. 33. P. 178–185.

117. **Thum T., Mayr M.** Review focus on the role of microRNA in cardiovascular biology and disease // *Cardiovasc. Res.* 2012. Vol. 93. P. 543–544.
118. **Schroen B., Heymans S.** Small but smart – microRNAs in the centre of inflammatory processes during cardiovascular diseases, the metabolic syndrome, and ageing // *Cardiovasc. Res.* 2012. Vol. 93. P. 605–613.
119. **Goettsch C., Hutcheson J.D., Aikawa E.** MicroRNA in cardiovascular calcification: focus on targets and extracellular vesicle delivery mechanisms // *Circ. Res.* 2013. Vol. 112. P. 1073–1084.
120. **Huber J., Vales A., Mitulovic G. et al.** Oxidized membrane vesicles and blebs from apoptotic cells contain biologically active oxidized phospholipids that induce monocyte-endothelial interactions // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002. Vol. 22. P. 101–107.
121. **Martin S., Tesse A., Hugel B. et al.** Shed membrane particles from T lymphocytes impair endothelial function and regulate endothelial protein expression // *Circulation.* 2004. Vol. 109. P. 1653–1659.
122. **Tesse A., Martinez M.C., Hugel B. et al.** Upregulation of proinflammatory proteins through NF-kappaB pathway by shed membrane microparticles results in vascular hyporeactivity // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25. P. 2522–2527.
123. **Martinez M.C., Tesse A., Zobairi F., Andriantsitohaina R.** Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005. Vol. 288. P. H1004–H1009.
124. **Rautou P.-E., Leroyer A.S., Ramkhalawon B. et al.** Microparticles from human atherosclerotic plaques promote endothelial ICAM-1-dependent monocyte adhesion and transendothelial migration // *Circ. Res.* 2011. Vol. 108. P. 335–343.
125. **Densmore J.C., Signorino P.R., Ou J. et al.** Endothelium-derived microparticles induce endothelial dysfunction and acute lung injury // *Shock.* 2006. Vol. 26. P. 464–471.
126. **Perez-Casal M., Downey C., Cutillas-Moreno B. et al.** Microparticle-associated endothelial protein C receptor and the induction of cytoprotective and anti-inflammatory effects // *Haematologica.* 2009. Vol. 94. P. 387–394.
127. **Scanu A., Molnarfi N., Brandt K.J. et al.** Stimulated T cells generate microparticles, which mimic cellular contact activation of human monocytes: differential regulation of pro- and anti-inflammatory cytokine production by high-density lipoproteins // *J. Leukoc. Biol.* 2008. Vol. 83. P. 921–927.
128. **Carpintero R., Gruaz L., Brandt K.J. et al.** HDL interfere with the binding of T cell microparticles to human monocytes to inhibit pro-inflammatory cytokine production // *PLoS One.* 2010. Vol. 5. e11869.
129. **Mayr M., Grainger D., Mayr U. et al.** Proteomics, metabolomics and immunomics on microparticles derived from human atherosclerotic plaques // *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2009. Vol. 2. P. 379–388.
130. **Obregon C., Rothen-Rutishauser B., Gitahi S.K. et al.** Exovesicles from human activated dendritic cells fuse with resting dendritic cells, allowing them to present alloantigens // *Am. J. Pathol.* 2006. Vol. 169. P. 2127–2136.
131. **Loyer X., Vion A.-C., Tedgui A., Boulanger C.M.** Microvesicles as cell–cell messengers in cardiovascular diseases // *Circ. Res.* 2014. Vol. 114. P. 345–353.
132. **Angelot F., Seillès E., Biichlé S. et al.** Endothelial cell-derived microparticles induce plasmacytoid dendritic cell maturation: potential implications in inflammatory diseases // *Haematologica.* 2009. Vol. 94. P. 1502–1512.
133. **Cocca B.A., Cline A.M., Radic M.Z.** Blebs and apoptotic bodies are B cell autoantigens // *J. Immunol.* 2002. Vol. 169. P. 159–166.
134. **Liu M.-L.** Cholesterol-Induced Membrane Microvesicles: Novel Contributors to Atherothrombosis // *IAS Commentaries.* 2007. <http://www.athero.org/commentaries/comm654.asp>.
135. **Liu M.-L., Scalia R., Mehta J.L., Williams K.J.** Cholesterol-induced membrane microvesicles as novel carriers of damage-associated molecular patterns. Mechanisms of formation, action, and detoxification // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012. Vol. 32. P. 2113–2121.
136. **Miller Y.I., Choi S.-H., Wiesner P. et al.** Oxidation-specific epitopes are danger-associated molecular patterns recognized by pattern recognition receptors of innate immunity // *Circ. Res.* 2011. Vol. 108. P. 235–248.
137. **Keyel P.A., Tkacheva O.A., Larregina A.T., Salter R.D.** Coordinate stimulation of macrophages by microparticles and TLR ligands induces foam cell formation // *J. Immunol.* 2012. Vol. 189. P. 4621–4629.
138. **Boing A.N., Hau C.M., Sturk A., Nieuwland R.** Platelet microparticles contain active caspase 3 // *Platelets.* 2008. Vol. 19. P. 96–103.
139. **Huber L.C., Jungel A., Distler J.H.** The role of membrane lipids in the induction of macrophage apoptosis by microparticles // *Apoptosis.* 2007. Vol. 12. P. 363–374.
140. **Abid Hussein M.N., Boing A.N., Sturk A. et al.** Inhibition of microparticle release triggers endothelial cell apoptosis and detachment // *Thromb. Haemost.* 2007. Vol. 98. P. 1096–1107.
141. **Sarkar A., Mitra S., Mehta S. et al.** Monocyte derived microvesicles deliver a cell death message via encapsulated caspase-1 // *PLoS One.* 2009. Vol. 4. e7140.
142. **Distler J.H., Huber L.C., Hueber A.J. et al.** The release of microparticles by apoptotic cells and their effects on macrophages // *Apoptosis.* 2005. Vol. 10. P. 731–741.
143. **Canault M., Leroyer A.S., Peiretti F. et al.** Microparticles of human atherosclerotic plaques enhance the shedding of the tumor necrosis factor-alpha converting enzyme/ADAM17 substrates, tumor necrosis factor and tumor necrosis factor receptor-1 // *Am. J. Pathol.* 2007. Vol. 171. P. 1713–1723.
144. **Berda-Haddad Y., Robert S., Salers P. et al.** Sterile inflammation of endothelial cell-derived apoptotic bodies is mediated by interleukin-1 $\alpha$  // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. Vol. 108. P. 20684–20689.
145. **Zakharova L., Svetlova M., Fomina A.F.** T cell exosomes induce cholesterol accumulation in human monocytes via phosphatidylserine receptor // *J. Cell Physiol.* 2007. Vol. 212. P. 174–181.
146. **Leroyer A.S., Rautou P.E., Silvestre J.S. et al.** CD40 ligand+ microparticles from human atherosclerotic

- plaques stimulate endothelial proliferation and angiogenesis a potential mechanism for intraplaque neovascularization // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008. Vol. 52. P. 1302–1311.
147. **Hellings W.E., Peeters W., Moll F.L. et al.** Composition of carotid atherosclerotic plaque is associated with cardiovascular outcome: a prognostic study // *Circulation.* 2010. Vol. 121. P. 1941–1950.
  148. **Rautou P.-E., Vion A.-C., Amabile N. et al.** Microparticles, Vascular Function, and Atherothrombosis // *Circ. Res.* 2011. Vol. 109. P. 593–606.
  149. **Paloian N.J., Giachelli C.M.** A current understanding of vascular calcification in CKD // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2014. Vol. 307, N 8. P. F891–F900.
  150. **Bobryshev Y.V., Killingsworth M.C., Lord R.S.A., Grabs A.J.** Matrix vesicles in the fibrous cap of atherosclerotic plaque: possible contribution to plaque rupture // *J. Cell. Mol. Med.* 2008. Vol. 12 (5B). P. 2073–2082.
  151. **Demer L.L., Tintut Y.** ATVB in focus: Vascular calcification: basic mechanisms to clinical perspectives inflammatory, metabolic, and genetic mechanisms of vascular calcification // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014. Vol. 34. P. 715–723.
  152. **New S.E., Aikawa E.** Role of extracellular vesicles in de novo mineralization: an additional novel mechanism of cardiovascular calcification // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013. Vol. 33. P. 1753–1758.
  153. **New S.E., Goettsch C., Aikawa M. et al.** Macrophage-derived matrix vesicles: an alternative novel mechanism for microcalcification in atherosclerotic plaques // *Circ. Res.* 2013. Vol. 113. P. 72–77.
  154. **Farb A., Burke A.P., Tang A.L. et al.** Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core: a frequent cause of coronary thrombosis in sudden death // *Circulation.* 1996. Vol. 93. P. 1354–1363.
  155. **Aharon A., Tamari T., Brenner B.** Monocyte-derived microparticles and exosomes induce procoagulant and apoptotic effects on endothelial cells // *Thromb. Haemost.* 2008. Vol. 100. P. 878–885.
  156. **Morel O., Toti F., Hugel B. et al.** Procoagulant-microparticles: disrupting the vascular homeostasis equation? // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006. Vol. 26. P. 2594–2604.
  157. **Ghosh A., Li W., Febbraio M., Espinola R.G. et al.** Platelet CD36 mediates interactions with endothelial cell-derived microparticles and contributes to thrombosis in mice // *J. Clin. Invest.* 2008. Vol. 118. P. 1934–1943.
  158. **Owens III A.P., Mackman N.** Microparticles in Hemostasis and Thrombosis // *Circ. Res.* 2011. Vol. 108. P. 1284–1297.
  159. **Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д.** Микровезикулы в крови. Функции и их роль в тромбообразовании. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 168 с.
  160. **Soleti R., Laurent E., Andriantsitohaina R., Carmen Martinez M.** Internalization and induction of antioxidant messages by microvesicles contribute to the antiapoptotic effects on human endothelial cells // *Free Radic. Biol. Med.* 2012. Vol. 53. P. 2159–2170.
  161. **Dalli J., Serhan C.N.** Specific lipid mediator signatures of human phagocytes: microparticles stimulate macrophage efferocytosis and pro-resolving mediators // *Blood.* 2012. Vol. 120 (15). P. e60–e72.
  162. **Gasser O., Schifferli J.A.** Activated polymorphonuclear neutrophils disseminate anti-inflammatory microparticles by ectocytosis // *Blood.* 2004. Vol. 104. P. 2543–2548.
  163. **Zernecke A., Bidzhikov K., Noels H. et al.** Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection // *Sci. Signal.* 2009. Vol. 2 (100). ra81.
  164. **Grudzinska M.K., Kurzejamska E., Bojakowski K. et al.** Monocyte chemoattractant protein 1-mediated migration of mesenchymal stem cells is a source of intimal hyperplasia // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013. Vol. 33. P. 1271–1279.
  165. **Hergenreider E., Heydt S., Tréguer K. et al.** Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs // *Nature Cell. Biol.* 2012. Vol. 14, N 3. P. 249–256. doi: 10.1038/ncb244.
  166. **Njock M.-S., Cheng H.S., Dang L.T. et al.** Endothelial cells suppress monocyte activation through secretion of extracellular vesicles containing antiinflammatory microRNAs // *Blood.* 2015. Vol. 125, N 20. P. 3202–3212.
  167. **Yu X., Huang C., Song B. et al.** CD4(+)CD25(+) regulatory T cells-derived exosomes prolonged kidney allograft survival in a rat model // *Cell. Immunol.* 2013. Vol. 285. P. 62–68.
  168. **Li X., Li J.-J., Yang J.-Y. et al.** Tolerance induction by exosomes from immature dendritic cells and rapamycin in a mouse cardiac allograft model // *PLoS One.* 2012. Vol. 7. e44045.
  169. **Sluijter J.P.G., Verhage V., Deddens J.C. et al.** Microvesicles and exosomes for intracardiac communication // *Cardiovasc. Res.* 2014. Vol. 102. P. 302–311.

## APOPTOSIS AND APOPTOTIC EXTRACELLULAR VESICULAR PARTICLES IN ATHEROGENESIS

Yu.Sh. Shwartz, M.I. Chasovskikh, S.V. Cheresiz, M.V. Kruchinina

*FSBSI «Institute of Internal and Preventive Medicine»  
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

The review summarizes current notions on the role of apoptosis and apoptotic cell-derived extracellular vesicles in atherogenesis. The mechanisms of efferocytosis impairment and its significance in atherosclerotic vulnerable plaque formation are discussed. The data on the pro- and anti-inflammatory effects of apoptotic extracellular vesicular particles are presented.

**Keywords:** atherosclerosis, apoptosis, efferocytosis, extracellular vesicular particles.

*Статья поступила 16 сентября 2015 г.*