

Никифоров Н.Г.^{1,2,3}, Корниенко В.Ю.¹, Карагодин В.П.⁴, Орехов А.Н.^{1,3}

Активация макрофагов при атеросклерозе. Сообщение 1. Активация макрофагов в норме и в атеросклеротическом поражении

¹ — Научно-исследовательский институт атеросклероза», «Инновационный центр Сколково», 143025, Сколково, Московская область, Россия, ул. Новая, д. 100

² — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15 а

³ — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

⁴ — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российская экономическая академия им. Г.В. Плеханова», 117997, Москва, Стремянный переулок, 36

Макрофаги играют важнейшую роль в инициации и развитии воспалительного процесса при атеросклерозе. Как в атеросклеротических бляшках сосудов у человека, так и в поражениях, индуцированных у мышей, наблюдается неоднородность фенотипа макрофагов. В атеросклеротическом поражении фенотип макрофагов варьирует между двумя пограничными состояниями: M1 (провоспалительный фенотип) и M2 (противовоспалительный фенотип). При атеросклерозе макрофаги проявляют пластичность фенотипа, а также способны быстро реагировать на изменения в микроокружении. В бляшке можно наблюдать несколько фенотипов макрофагов, причем поляризация является обратимой и может быть изменена под влиянием различных факторов. В данной работе рассматривается ряд фенотипов макрофагов: M1, M2, M4, Mhem, HA-mac, M(Hb) и Mox. В статье освещены свойства различных фенотипов, обсуждается способность макрофагов к изменению фенотипа.

Ключевые слова: атеросклероз; макрофаги; моноциты; активация; воспаление; липопротеиды; липиды

Nikiforov N.G.^{1,2,3}, Kornienko V.Y.¹, Karagodin V.P.⁴, Orekhov A.N.^{1,3}

Macrophage activation in atherosclerosis. Message 1: Activation of macrophages normally and in atherosclerotic lesions

¹ — Institute for Atherosclerosis Research, Skolkovo Innovative Centre, 143025, Skolkovo, Moscow Region, Russia, Novaya street, 100

² — Federal State Institute «Russian Production Complex of Cardiology Research» of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, 121552, Moscow, 3-th Cherepkovskaya street, 15-a

³ — Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia, 125315, Moscow, Baltiyskaya street, 8

⁴ — Plekhanov Russian University of Economics, 117997, Russia, Moscow, Stremyanny Pereulok, 36

Macrophages play important role in initiation and progression of inflammation in atherosclerosis. Plaque macrophages were shown to exhibit a phenotypic range that is intermediate between two extremes, M1 (proinflammatory) and M2 (anti-inflammatory). Indeed, in atherosclerosis, macrophages demonstrate phenotypic plasticity to rapidly adjust to changing microenvironmental conditions. In plaque macrophages demonstrate different phenotypes, and besides macrophage phenotypes could be changed. Phenotypes M1, M2, M4, Mhem, HA-mac, M(Hb) and Mox are described in the article. Ability of macrophages change their phenotype also considered.

Key words: atherosclerosis; macrophage; monocyte; activation; inflammation; lipoproteins; lipids

1. Введение

Общепризнано, что атеросклероз сопровождается хроническим воспалением в сосудистой стенке. Макрофаги играют ключевую роль, как на ранних стадиях, так и в последующем развитии атеросклероза. На ранних

этапах моноциты крови мигрируют из просвета сосуда в субэндотелиальное пространство артериальной стенки, где они накапливаются и дифференцируются в макрофаги. Макрофаги поглощают модифицированные липиды, а затем вследствие перегрузки липидами превращаются в проатерогенные пенистые клетки. Пенистые клетки не могут покинуть очаг начального поражения, поэтому они не способны остановить воспалительную реакцию и способствуют прогрессированию процесса.

Для корреспонденции: Никифоров Никита Геннадьевич, аспирант ФГБНУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, e-mail: nikiforov.mipt@googlemail.com

Макрофаги обычно локализованы в очагах атеросклеротического поражения и в кальцинированных участках. Погибшие макрофаги способствуют развитию некротического ядра и обострению проатерогенной воспалительной реакции. Хотя макрофаги в очагах атеросклеротического поражения представляют собой популяцию окончательно дифференцированных моноцитов, они находятся под влиянием различных стимулов, которые могут вызывать в той или иной степени поляризацию макрофагов по провоспалительному пути. В бляшке можно наблюдать несколько фенотипов макрофагов, причем поляризация является обратимой и может быть изменена под влиянием различных факторов [1].

2. Изменение физиологии макрофагов при активации

В процессе кроветворения дифференцировка моноцитов происходит под влиянием факторов, таких как гранулоцитарный-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) и макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), которые приводят к формированию макрофагов, фенотипически сходных с M1 и M2 макрофагами. Классический фенотип M1 индуцируется провоспалительными цитокинами: фактором некроза опухоли альфа (ФНО-α), интерфероном-гамма (ИФН-γ), а также бактериальными компонентами, такими как липополисахариды (ЛПС) и флагеллин, или в ответ на внутриклеточную паразитарную инфекцию. M1 макрофаги экспрессируют широкий спектр цитокинов (ФНО-α, интерлейкин (ИЛ)-1β, ИЛ-12 и ИЛ-23) и хемокинов (хемокины типа C-X-C (CXCL9, CXCL10, CXCL11)) [2-4]. Такие макрофаги также секретируют и обеспечивают высокий уровень активных форм кислорода (АФК), оксида азота (NO) и участвуют в каскаде иммунного ответа, опосредованного клетками Th1. Противовоспалительный фенотип M2 макрофагов индуцируется цитокинами характерными для клеток Th2. Как правило, макрофаги секретируют большое количество ИЛ-10 и участвуют в ремоделировании ткани, васкулогенезе и развитии опухоли [1, 3].

Тем не менее, система M1/M2 не отражает всю сложность фенотипических подмножеств макрофагов. В зависимости от активирующего стимула, M2 макрофаги могут быть разделены на четыре подгруппы [1, 5]. Макрофаги фенотипа M2a индуцируются ИЛ-4 и ИЛ-13 и экспрессируют высокий уровень CD206, рецептора 2 ИЛ-1 и антагониста рецептора ИЛ-1 (IL1RN). Макрофаги фенотипа M2b индуцируются иммунными комплексами и лигандами толл-подобных рецепторов (TLR). Макрофаги фенотипа M2b продуцируют как про- (ИЛ-1β, ИЛ-6 и ФНО-α), так и противовоспалительные цитокины (ИЛ10). M2c клетки проявляют сильные противовоспалительные свойства и могут быть индуцированы глюкокортикоидами и

ИЛ-10 [3, 5, 6]. M2c макрофаги воздействуют на апоптотические клетки и продуцируют пентаксин-3 и большое количество ИЛ10 и трансформирующего фактора роста (TGF) -β. Они также экспрессируют рецептор киназы Мер (MERTK), играющий важную роль в поддержании эффероцитической функции. Субпопуляция макрофагов M2d индуцируется агонистом TLR через рецептор аденозина A2A (ADORA2A). Затем следует подавление продукции провоспалительных цитокинов, индуцируется продукция ИЛ-10, а также фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF), что обеспечивает проангиогенные свойства макрофагов [7]. Наконец, фенотип макрофагов M4 индуцируется CXCL4, который продуцируется активированными тромбоцитами. M4 макрофаги обладают провоспалительными свойствами, продуцируя ИЛ-6, ФНО-α и матричную мателлопротеиназу MMP12. При этом они теряют скэвенджер рецептры к гемоглобин-гаптоглобину (Hb-Hp) CD163, которые играют важную роль при репарации после кровоизлияния в бляшке. Как следствие, отсутствие CD163 приводит к неспособности активировать антиатерогенную гемоксиназу-1 в ответ на комплекс Hb-Hp, что, в свою очередь, и определяет роль M4 макрофагов в атерогенезе [5, 8—10].

3. Активация макрофагов в очаге атеросклеротического поражения

Как упоминалось выше, популяция макрофагов в очаге атеросклеротического поражения гетерогенна. В бляшках цитокины, хемокины, модифицированные липиды и циркулирующие иммунные комплексы способны модулировать фенотип макрофагов. M1 макрофаги были обнаружены при атеросклеротическом поражении несколько десятилетий назад, в то время как M2 макрофаги были выявлены в очаге поражения относительно недавно. Ранее было изучено распределение M1 и M2 макрофагов в очагах атеросклеротического поражения и показано, что популяция обоих фенотипов макрофагов возрастает при прогрессировании поражения, причем популяции распределены равномерно в районе фиброзной покрывки бляшки [11, 12]. Клеточные маркеры M1 макрофагов были обнаружены преимущественно в подверженных разрывам плечевых участках поражения, тогда как маркеры M2 макрофагов преобладали в адвентиции. Макрофаги M2 были обнаружены также в более стабильных участках поражения вне липидного ядра [13, 14]. В участках с большим количеством M2 макрофагов была обнаружена высокая экспрессия ИЛ-4, цитокина, необходимого для поляризации макрофагов по фенотипу M2. Наблюдаемая популяция макрофагов была более устойчива к образованию пенных клеток и имела повышенную способность к сохранению эфиров холестерина по сравнению с M1 и покоящимися макрофагами.

Было обнаружено, что уровень экспрессии маркеров M1 макрофагов выше в атеросклеротических поражениях сонных артерий, а маркеры M2 макрофагов были преимущественно обнаружены в очагах поражения бедренных артерий [15]. Кроме того, макрофаги M1 проявляют повышенную экспрессию некоторых белков ММР. Таким образом, M1 макрофаги накапливаются преимущественно в симптоматических и нестабильных бляшках [13].

В участках атеросклеротических поражений был обнаружен еще один уникальный фенотип макрофагов, который может проявлять как про- так и противоатерогенные свойства. Была описана новая популяция макрофагов (HA-mac) в геморрагических областях бляшек, которая экспрессировала высокий уровень CD163 и низкий уровень антигена лейкоцитов человека (HLA-DR) [5]. Оказалось, что эта популяция проявляет антиатеросклеротические защитные свойства. Макрофаги взаимодействуют с комплексами Hb-Hp через рецептор CD163 с последующей очисткой гемоглобина и снижением окислительного стресса. Очистка гемоглобина сопровождается продукцией противовоспалительного цитокина ИЛ-10. Гемоглобин обладает антиатерогенными свойствами: предотвращает образование пенистых клеток и активацию ядерного фактора транскрипции Nrf2, который вызывает экспрессию гемоксигеназы 1 [6, 12, 16].

Существует другая популяция макрофагов, называемая Mhem, которая тесно связана с HA-mac и также вовлечена в очистку гемоглобина посредством фагоцитоза эритроцитов. Эта популяция характеризуется высокой экспрессией CD163 и гема-зависимого фактора активации транскрипции (ATF)-1. ATF1 вызывает экспрессию гемоксигеназы 1 и X рецептора печени β (LXR- β). Экспрессия LXR- β приводит к индукции других генов, отвечающих за отток холестерина, таких, как LXR- α и ATF-связанный кассетный транспортер 1 (ABCA-1). Фенотип Mhem характеризуется повышенным оттоком холестерина, связанного с повышенной продукцией ИЛ-10 и Апо-Е. Более того, и Mhem, и HA-mac повышают устойчивость к внутренним кровоизлияниям в бляшках [17, 18].

Употребление макрофагами комплексов Hb-Hp стимулирует активность и увеличивает популяцию M(Hb), что приводит к высокой экспрессии CD163 и MR. Эта популяция также характеризуется повышенной устойчивостью к образованию пенистых клеток, но повышенной продукцией АФК. В совокупности макрофаги Mhem, HA-mac и M(Hb) способны снижать кровоизлияния в бляшках и инфильтрацию эритроцитов. Они также участвуют в утилизации и переработке железа, накопленного в бляшках [17, 19, 20].

У мышей тоже есть M1, M2 и M(Hb) макрофаги, но они также имеют свой уникальный фенотип называемый Mox. Mox макрофаги содержатся в большем коли-

честве в очагах поражения у мышей. Этот фенотип может индуцироваться окисленными фосфолипидами, Mox макрофаги продуцируют высокий уровень гемоксигеназы 1. Mox макрофаги проявляют проатерогенные свойства, продуцируя ИЛ-1 β и АФК [21—23].

Ранее рассмотренные M4 макрофаги потенциально могут играть проатерогенную роль в нестабильных бляшках и могут быть вовлечены в поздние атеросклеротические осложнения, такие, как острый коронарный синдром и артериальный тромбоз, так как M4 макрофаги активируются тромбоцитарным CXCL4. Они продуцируют MMP12, белок, вовлеченный в деградацию фиброзной покрывки и дестабилизацию бляшки. Однако, фактическая роль M4 макрофагов в атеросклерозе не известна [24—26].

4. Выводы

Рассмотренные выше данные свидетельствуют о функциональной пластичности фенотипа макрофагов, который изменяется под влиянием различных факторов. При атеросклерозе были обнаружены макрофаги с различными фенотипами. Однако неясно, как разные фенотипы могут сосуществовать в одной и той же области. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что макрофаги в бляшках проявляют свойства, которые соответствуют промежуточным положениям между фенотипами M1 и M2. Следует отметить, что макрофаги M1, M2, и Mox могут изменять свой фенотип, однако поляризация M4 является необратимой.

Работа проведена при финансовой поддержке Российской Федерации в лице Министерства образования и науки России (проект RFMEFI61614X0021).

References

- Leitinger N, Schulman IG. Phenotypic polarization of macrophages in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33(6):1 120–6.
- Lovren F, Pan Y, Quan A, Singh KK, Shukla PC, Gupta N, Steer BM, Ingram AJ, Gupta M, Al-Omran M, Teoh H, Marsden PA, Verma S. MicroRNA-145 targeted therapy reduces atherosclerosis. *Circulation.* 2012; 126(11 Suppl 1): S81–90.
- Odegaard JI, Ricardo-Gonzalez RR, Goforth MH, Morel CR, Subramanian V, Mukundan L, Eagle AR, Vats D, Brombacher F, Ferrante AW, Chawla A. Macrophage-specific ppargamma controls alternative activation and improves insulin resistance. *Nature.* 2007; 447(7148): 1116–20.
- Odegaard JI, Ricardo-Gonzalez RR, Red Eagle A, Vats D, Morel CR, Goforth MH, Subramanian V, Mukundan L, Ferrante AW, Chawla A. Alternative M2 activation of Kupffer cells by ppardelta ameliorates obesity-induced insulin resistance. *Cell Metab.* 2008; 7960: 496–507.
- Boyle JJ, Harrington NA, Piper E, Elderfield K, Stark J, Landis RC, Haskard DO. Coronary intraplaque hemorrhage evokes a novel atheroprotective macrophage phenotype. *Am J Pathol.* 2009; 174(3): 1097–108. Ishiyama J, Ta-

guchi R, Yamamoto A, Murakami K. Palmitic acid enhances lectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1) expression and promotes uptake of oxidized LDL in macrophage cells. *Atherosclerosis*. 2010; 209(1): 118-24.

6. Urtasun R, Cubero FJ, Nieto N. Oxidative stress modulates KLF6Full and its splice variants. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012; 36(11): 1851-62. doi: 10.1111/j.1530-0277.2012.01798.x

van Tits LJ, Stienstra R, van Lent PL, Netea MG, Joosten LA, Stalenhoef AF. Oxidized LDL enhances pro-inflammatory responses of alternatively activated M2 macrophages: a crucial role for Kruppel-like factor 2. *Atherosclerosis*. 2011; 214: 345-9.

7. Dhaouadi N, Li JY, Feugier P, Gustin MP, Dab H, Kacem K, Bricca G, Cerutti C. Computational identification of potential transcriptional regulators of TGF- β 1 in human atherosclerotic arteries. *Genomics*. 2014; 103(5-6): 357-70.

8. Chao LC, Soto E, Hong C, Ito A, Pei L, Chawla A, Conneely OM, Tangirala RK, Evans RM, Tontonoz P. Bone marrow NR4A expression is not a dominant factor in the development of atherosclerosis or macrophage polarization in mice. *J Lipid Res*. 2013; 54(3): 806-15.

9. Chen H, Jacobson BA, Mason L, Wolf SF, Bowman MR. FIZZ1 potentiates the carbachol-induced tracheal smooth muscle contraction. *Eur Respir J*. 2010; 36(5): 1165-73.

10. Ghisletti S, Huang W, Ogawa S, Pascual G, Lin ME, Wilson TM, Rosenfeld MG, Glass CK. Parallel sumoylation-dependent pathways mediate gene- and signal-specific transrepression by LXRs and PPAR γ . *Mol Cell*. 2007; 25(1): 57-70.

11. Feig JE, Rong JX, Shamir R, Sanson M, Vengrenyuk Y, Liu J, Rayner K, Moore K, Garabedian M, Fisher EA. HDL promotes rapid atherosclerosis regression in mice and alters inflammatory properties of plaque monocyte-derived cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108(17): 7166-71.

12. Stüger JL, Gijbels MJ, van der Velden S, Manca M, van der Loos CM, Biessen EA, Daemen MJ, Lutgens E, de Winther MP. Distribution of macrophage polarization markers in human atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2012; 225: 461-68.

13. Chinetti-Gbaguidi G, Baron M, Bouhrel MA, Vanhoutte J, Copin C, Sebti Y, Derudas B, Mayi T, Bories G, Tailleux A, Haulon S, Zawadzki C, Jude B, Staels B. Human atherosclerotic plaque alternative macrophages display low cholesterol handling but high phagocytosis because of distinct activities of the PPAR γ and LXRA pathways. *Circ Res*. 2011; 108(8): 985-95.

14. Feig JE, Rong JX, Shamir R, Sanson M, Vengrenyuk Y, Liu J, Rayner K, Moore K, Garabedian M, Fisher EA. HDL promotes rapid atherosclerosis regression in mice and alters inflammatory properties of plaque monocyte-derived cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108(17): 7166-71.

15. Kansanen E, Bonacci G, Schopfer FJ, Kuosmanen SM, Tong KI, Leinonen H, Woodcock SR, Yamamoto M, Carlberg C, Yla-Herttuala S, Freeman BA, Levenon AL. Electrophilic nitro-fatty acids activate NRF2 by a KEAP1 cysteine 151-independent mechanism. *J Biol Chem*. 2011; 286(16): 14019-27.

16. Spann NJ, Garmire LX, McDonald JG, Myers DS, Milne SB, Shibata N, Reichart D, Fox JN, Shaked I, Heu-

dobler D et al. Regulated accumulation of desmosterol integrates macrophage lipid metabolism and inflammatory responses. *Cell*. 2012; 151(1): 138-52.

17. Boyle JJ. Heme and haemoglobin direct macrophage Mhem phenotype and counter foam cell formation in areas of intraplaque haemorrhage. *Curr Opin Lipidol*. 2012; 23(5): 453-61.

18. Urtasun R, Cubero FJ, Nieto N. Oxidative stress modulates KLF6Full and its splice variants. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012; 36(11): 1851-62. doi: 10.1111/j.1530-0277.2012.01798.x

19. Rader DJ. Molecular regulation of HDL metabolism and function: Implications for novel therapies. *J Clin Invest*. 2006; 116(12): 3090-100.

20. Ribas V, Drew BG, Le JA, Soleymani T, Daraei P, Sitz D, Mohammad L, Henstridge DC, Febbraio MA, Hewitt SC, Korach KS, Bensinger SJ, Hevener AL. Myeloid-specific estrogen receptor alpha deficiency impairs metabolic homeostasis and accelerates atherosclerotic lesion development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108(39): 16457-62.

21. Grover V, Malhotra R, Kapoor A, Singh J, Sachdeva S. Proresolvement mediators and receptors: novel drug targets for enhancing pharmacological armamentarium against periodontal inflammation. *Infect Disord Drug Targets*. 2013; 13(1): 75-84.

22. Hanna RN, Carlin LM, Hubbeling HG, Nackiewicz D, Green AM, Punt JA, Geissmann F, Hedrick CC. The transcription factor NR4A1 (Nur77) controls bone marrow differentiation and the survival of Ly6C⁺ monocytes. *Nat Immunol*. 2011; 12(8): 778-85.

23. Joseph SB, Bradley MN, Castrillo A, Bruhn KW, Mak PA, Pei L, Hogenesch J, O'Connell RM, Cheng G, Saez E, Miller JF, Tontonoz P. LXR-dependent gene expression is important for macrophage survival and the innate immune response. *Cell*. 2004; 119(2): 299-309.

24. Joseph SB, McKilligin E, Pei L, Watson MA, Collins AR, Laffitte BA, Chen M, Noh G, Goodman J, Hagger GN, Tran J, Tippin TK, Wang X, Lusic AJ, Hsueh WA, Law RE, Collins JL, Willson TM, Tontonoz P. Synthetic LXR ligand inhibits the development of atherosclerosis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99(11): 7604-9.

25. Kang K, Reilly SM, Karabacak V, Gangl MR, Fitzgerald K, Hatano B, Lee CH. Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPAR δ regulate macrophage polarization and insulin sensitivity. *Cell Metab*. 2008; 7: 485-95.

26. Khoo NK, Freeman BA. Electrophilic nitro-fatty acids: anti-inflammatory mediators in the vascular compartment. *Curr Opin Pharmacol*. 2010; 10(2): 179-84.

Received 24.02.15

Сведения об авторах:

Корниенко Владимир Юрьевич, канд. биол. наук, науч. сотр. «НИИ атеросклероза», e-mail: uniprain@yandex.ru
Карагодин Василий Петрович, канд. биол. наук, доцент Российского экономического университета им. Г.В. Плеханова, e-mail: vpk@mail.ru

Орехов Александр Николаевич, доктор биол. наук, проф., зав. лаб. клеточных механизмов атерогенеза ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»