

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

# Fallas en la remoción de cuerpos apoptóticos, una fuente de autoantígenos

Lina María Yassin<sup>1</sup>, Luis Fernando García<sup>2</sup>, Mauricio Rojas<sup>3</sup>, Gloria Vásquez<sup>4</sup>

## Resumen

La apoptosis es un proceso de muerte celular crítico para mantener la homeostasis de la célula, por ser uno de los procesos más importantes para mantener el balance entre muerte y proliferación y cuyas deficiencias conducen a enfermedades tales como cáncer y autoinmunidad.

Las células apoptóticas expresan en su superficie moléculas como la fosfatidilserina (PS), importantes para su reconocimiento por receptores como los “Scavenger” presentes en fagocitos profesionales y no profesionales, para su posterior remoción. Alteraciones en la capacidad de remover células apoptóticas son una característica común de enfermedades autoinmunes como el Lupus Eritematoso Sistémico, lo que denota la importancia de un mayor conocimiento acerca de los procesos que regulan la remoción de cuerpos apoptóticos. Con esta revisión se pretende comprender mejor la importancia de la remoción de las células apoptóticas en el desarrollo de enfermedades tales como las autoinmunes.

**Palabras clave:** apoptosis, receptores “Scavenger”, remoción, fagocitosis.

## Summary

Apoptosis is a critical process to control proliferation and cell number. Deficiencies in apoptosis/survival balance takes to diseases such as cancer and autoimmunity. Apoptotic cells express phosphatidylserine (PS), at membrane surface and some other molecules, which are important for its recognizing by “scavenger” receptors expressed by professional and not professional phagocytes and posterior clearance.

Disturbances in apoptotic cells removal is a common characteristic in autoimmune diseases like Systemic Lupus Erythematosus and one of the reasons could be the defects in “Scavenger” receptors. The aim of this review is to expose the importance of apoptotic cells clearance for the development of several diseases such as autoimmune ones.

**Key words:** apoptosis, “Scavenger” receptors, clearance, phagocytosis.

## Introducción

### Apoptosis

La apoptosis es un proceso de muerte celular en el que clásicamente se definen dos etapas: iniciación y efectora. La iniciación puede darse por factores

---

1 Bióloga, estudiante de maestría de la Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas.

2 Jefe del Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética (GICIG).

3 Docente, Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética (GICIG).

4 Docente del Grupo de Reumatología, Universidad de Antioquia. Docente del Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética (GICIG).

---

Recibido para publicación: agosto 26/2005

Aceptado en forma revisada: octubre 28/2005

externos o internos y comienza desde cuando se recibe la señal apoptótica sea por una señal extrínseca (apical) o por una señal intrínseca (mitocondrial o nuclear) y termina con la activación de las caspasas efectoras (3, 6 y 7), proteasas de cisteína, que se activan por la acción de las caspasas iniciadoras, las cuales degradan sustratos endógenos generando los cambios necesarios para que estas células apoptóticas inicien la segunda fase que termina con la fagocitosis de la célula muerta o de los cuerpos apoptóticos<sup>1, 2</sup>.

### Cambios morfológicos de las células apoptóticas

Las células apoptóticas tienen una morfología, caracterizada por vesicularización de la membrana plasmática, condensación de la cromatina, fragmentación nuclear, alteraciones en moléculas de adhesión a otras células o a la matriz extracelular, y además en células adherentes hay circularización de la membrana citoplasmática y encogimiento celular.

La vesicularización se da por la escisión de varias proteínas como la gelsolina, lo que produce una disociación de la membrana plasmática del citoesqueleto. Por otra parte, la fragmentación del ADN se debe a la escisión de la caspasa 3 sobre el inhibidor (iCAD/DFF45) de la nucleasa (CAD/DFF40), lo que conlleva a una liberación del inhibidor de la represión de la nucleasa, dando inicio a la degradación de la cromatina.

Además, durante la apoptosis ocurren otros cambios, como la alteración de la membrana plasmática con la exposición de moléculas como la fosfatidilserina, por la inhibición de una translocasa de aminofosfolípidos<sup>3</sup>, evento que facilita que tanto los fagocitos profesionales (macrófagos y/o células dendríticas) como los no profesionales (células epiteliales) reconozcan estas células y las tomen<sup>4</sup>.

### Señales iniciadoras

Los principales ejemplos de señales proapoptóticas externas corresponden a las proteínas de la familia del TNF $\alpha$ , como el FasL, cuyos dominios de muerte presentes en las colas citosólicas de sus receptores, pueden reclutar proteínas adaptadoras que activen a las caspasas iniciadoras<sup>2</sup>. Fas (APO-1/CD95) contactado por su ligando (FasL), media su trimerización, la unión del dominio intracelular de muerte asociado a Fas (FADD) a la cola citoplas-

mática y la formación del complejo de señalización de inducción de muerte (DISC) mediante la unión de las caspasas iniciadoras al FADD, iniciando la cascada de las caspasas y terminando con la activación de las caspasas efectoras, y la escisión de sustratos tales como enzimas de reparación del ADN y endonucleasas<sup>1</sup>. También existen otras señales extrínsecas, como las proteínas líticas, perforinas y granzimas (secretadas por los linfocitos citotóxicos), las cuales entran a la célula y reclutan directamente caspasas iniciadoras y efectoras<sup>2</sup>.

En la vía intrínseca, la señal de muerte es dirigida a la mitocondria y es regulada principalmente por proteínas de la superfamilia Bcl2. Se aumenta la permeabilidad de la mitocondria liberando el *citocromo c* al citosol, activando a las caspasas iniciadoras y se forma el apoptosoma, activando finalmente caspasas efectoras<sup>1, 2</sup>.

### Eventos que acompañan la apoptosis

Experimentalmente se ha observado que la apoptosis generalmente está asociada con un ambiente antiinflamatorio, como lo indican la supresión de respuestas inflamatorias de monocito/macrófago, por la liberación de TGF $\beta$  posterior a la interacción entre receptores como CD36 y el receptor de vitronectina (involucrados en remoción de cuerpos apoptóticos) con su mutuo ligando, lo que también se ha observado en la unión del PS-R a su ligando.

Al parecer la fagocitosis de células apoptóticas por fagocitos no sólo induce la liberación de citoquinas antiinflamatorias como TGF- $\beta$ , sino además de moléculas como factor activador de plaquetas (PAF) y prostaglandina E (PGE<sub>2</sub>) y la inhibición de citoquinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-1, e IL-18, entre otras<sup>5-8</sup>.

Sin embargo, en ocasiones este proceso puede generar respuestas proinflamatorias. Receptores como CD91, asociado a la calreticulina, captura células apoptóticas opsonizadas con C1q o MBL (lectina de unión a manosa) y tienen el potencial de estimular respuestas proinflamatorias, por un aumento temprano de la secreción de TNF, y por el reclutamiento de monocitos/macrófagos al sitio donde las células están muriendo. Además, si la apoptosis se presenta en un medio proinflamatorio,

hay disponibilidad de moléculas capaces de unir los receptores “toll”, disminución de factores solubles útiles en la opsonización de las células apoptóticas (dificultando así su remoción) y aumento de autoanticuerpos, lo que aumenta el riesgo de autoinmunidad y evidencia la importancia del microambiente en el cual se dé la remoción de los cuerpos apoptóticos<sup>9, 10</sup>.

Los anticuerpos antifosfolípidos (aPLs), que reconocen las moléculas de PS de células apoptóticas, forman complejos inmunes que al ser reconocidos por receptores Fc (Fcγ) de macrófagos y son fagocitados. De esta manera, el proceso de eliminación de células apoptóticas, que no debería generar una respuesta inflamatoria, lleva a la activación de macrófagos y la consecuente liberación de citoquinas proinflamatorias<sup>11-13</sup>.

## Remoción de células apoptóticas

### Definición e importancia de la remoción de las células apoptóticas

La remoción de cuerpos apoptóticos es un proceso en el cual las diferentes moléculas expresadas en los cuerpos apoptóticos son reconocidas por diferentes receptores y células, para luego ser englobadas y degradadas rápidamente, previniendo la exposición del tejido circundante a contenidos celulares potencialmente citotóxicos, inmunogénicos e inflamatorios. El reconocimiento de células apoptóticas es un evento cooperativo que involucra varios receptores que funcionan simultánea o secuencialmente. Luego del reconocimiento, viene la fagocitosis, la cual, en un primer modelo, puede ser como una cremallera que requiere el reclutamiento secuencial de receptores de superficie y en un segundo modelo se sugiere que la unión inicial es suficiente para desencadenar la fagocitosis<sup>14, 15</sup>.

### Células responsables de la fagocitosis

Entre las diferentes células con capacidad fagocítica existen varias involucradas en la fagocitosis de células apoptóticas, tales como células dendríticas, macrófagos<sup>16, 17</sup>, polimorfonucleares e incluso células endoteliales, siendo los dos primeros tipos de células los más relevantes para la remoción de cuerpos apoptóticos y observándose además un balance

*in vivo* entre estos dos grupos para la fagocitosis de células apoptóticas. Las células dendríticas inmaduras pueden reconocer células apoptóticas por medio del receptor vitronectina, y la integrina  $\alpha_v \beta_5$  junto con el receptor “Scavenger” CD36. Se ha observado que las iDCs al fagocitar células Jurkat apoptóticas opsonizadas por iC3b, presentan disminución en la expresión de moléculas marcadoras de maduración como MHC II y CD86, lo que no activa a las células T y al parecer es un mecanismo para mantener la tolerancia. Aunque la unión de iDCs a células apoptóticas se considera un proceso anergizante, y teniendo en cuenta que las iDCs no estaban maduras en este proceso, no se entendía cómo estas células migraban hasta los nódulos linfáticos para tolerizar células T. Lo que se entendió observando que las iDCs que fagocitaban cuerpos apoptóticos aumentaban la expresión del receptor de quimoquinas CCR7, sin expresar otras moléculas de maduración, facilitando la migración de estas células a los nódulos linfáticos<sup>9, 10</sup>.

### Reconocimiento de las células apoptóticas

Los macrófagos y las células dendríticas expresan diversos receptores que reconocen moléculas de membrana expresadas en las células apoptóticas. Estas moléculas pueden semejar patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), ser proteínas propias alteradas, o moléculas propias involucradas en adhesión a otras células o a la matriz extracelular (patrones moleculares asociados a células apoptóticas ACAMPs).

El reconocimiento de células apoptóticas involucra múltiples receptores como los “Scavenger” (CD68, CD36, SR-A)<sup>18-21</sup>, receptores de reconocimiento de patrones, como CD14, integrinas como el receptor de vitronectina  $\alpha_v \beta_3$  (primer receptor detectado, involucrado en la ingestión de células apoptóticas), CD91 y calreticulina<sup>6, 22, 23</sup>.

La remoción de células apoptóticas puede ser mediada por algunos receptores que fueron inicialmente caracterizados en la fagocitosis de componentes propios alterados. Uno de los primeros en ser reconocido fue el CD36, implicado en la remoción de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (OxLDL)<sup>24, 25</sup>. Sin embargo, el CD36 no es el único receptor que reconoce moléculas propias

alteradas; también se incluyen los receptores "Scavenger" clase A (SRA)<sup>26</sup>, el receptor de fosfatidilserina (PS-R), el receptor Mer quinasa y el receptor de vitronectina ( $\alpha_v \beta_3$ ).

Uno de los receptores antes mencionado, importante para la fagocitosis de cuerpos apoptóticos, es el de la fosfatidilserina (PS-R), inicialmente considerado el mecanismo de remoción de células muertas más importante. Evidencias posteriores, obtenidas *in vivo* e *in vitro*, muestran que la fagocitosis de las células apoptóticas es normal en ratones deficientes para el PS-R, e incluso se encontraron macrófagos con cargas mayores de cuerpos apoptóticos en los mutantes que en los ratones silvestres, demostrando que otros receptores pueden cumplir la misma función<sup>5, 6, 22</sup>. Además se ha visto *in vitro*, que la externalización de la PS aunque necesaria, no es suficiente para la fagocitosis de cuerpos apoptóticos por macrófagos humanos (HMDM). Contrario a lo observado con PS-R, por medio del bloqueo de CD14 con un anticuerpo *monoclonal*, se inhibió la unión de células apoptóticas a macrófagos humanos, demostrando la importancia de CD14 en la remoción<sup>14, 27</sup>.

Recientemente se ha propuesto un modelo de fagocitosis de células apoptóticas, en el cual dos señales "toque y atrapamiento" ("tether and tickle") son requeridas para la respuesta inducida por células apoptóticas: fagocitosis acompañada de transducción de señales antiinflamatorias. En este modelo moléculas como el CD14, unen puntualmente (thetering) células apoptóticas (señal uno) y la segunda señal la provee la fosfatidilserina que interactúa con PS-R<sup>27, 28</sup>.

Otras moléculas importantes en la remoción de células apoptóticas son las moléculas involucradas en adhesión. La molécula de adhesión intercelular 3 (ICAM3), cuando es expresada en células apoptóticas y sólo en estas promueve su fagocitosis ya que normalmente se encuentra regulando funciones de adhesión. Entre otras moléculas involucradas en adhesión que se encuentran alteradas en los procesos apoptóticos, están la trombospondina (para unir leucocitos apoptóticos y vivos), y el CD31 de leucocitos. Este último cambia las señales de repulsión a señales de adhesión durante la apoptosis, de manera que los leucocitos que están muriendo se

unen al CD31 de macrófagos, promoviendo su ingestión<sup>11, 29</sup>.

La remoción de las células apoptóticas también se ve afectada por la presencia o no de componentes del complemento como C1q, iC3b, C3 y C4, entre otros. Uno de los más estudiados ha sido C1q, una proteína estructuralmente similar a SR-A<sup>30</sup>, con un dominio de colágeno y capacidad de unir polianiones. Esta proteína junto con otros productos de degradación del complemento, reconoce moléculas expuestas en las células apoptóticas y las opsoniza, facilitando su remoción. La unión de partículas opsonizadas con iC3b a los receptores del complemento no tiene un efecto inflamatorio, generando incluso una respuesta antiinflamatoria, por disminución de la producción de IL-12 por monocitos e IFN $\gamma$  (citoquinas proinflamatorias)<sup>9, 10, 14</sup>.

La importancia de C3 en la remoción de cuerpos apoptóticos, se evidenció en macrófagos humanos, los cuales en presencia de suero depletado de C3, sufrían alteraciones en la remoción. Igualmente, las deficiencias en la remoción de células apoptóticas provenientes de ratones deficientes en C4 evidencian la importancia de esta proteína en este proceso. Sin embargo, la mayor deficiencia se observó en los ratones carentes de C1q (*in vivo*). Estos resultados evidencian una jerarquía de las proteínas de la vía clásica del complemento (C1q, C3 y C4) en la remoción de células apoptóticas<sup>31</sup>.

### Redundancia del sistema de fagocitosis

La presencia de múltiples receptores encargados del reconocimiento y fagocitosis de cuerpos apoptóticos demuestra una redundancia en el mecanismo de fagocitosis *in vivo*, lo cual es de suma importancia, y no se debe simplemente a que diferentes poblaciones de fagocitos empleen sistemas de reconocimiento separados; es probable que un fagocito exprese más de un receptor para la fagocitosis y es improbable que el reconocimiento y la fagocitosis de células apoptóticas se deba a un solo receptor.

La redundancia de los receptores fagocíticos puede proteger contra la probabilidad de que ocurra lisis celular antes de que se dé la fagocitosis, lo que tendría probablemente consecuencias proinflamatorias. Además es importante para competir con una gran carga de células apoptóticas, protegiendo

de las consecuencias de sobrepasar el umbral de fagocitosis, como cáncer o enfermedad autoinmune<sup>10</sup>.

**Consecuencias de la remoción**

Con la remoción de células apoptóticas existen tres consecuencias: la primera es que los antígenos propios que contienen las células, sean ignorados por el sistema inmune; la segunda es que la remoción de células apoptóticas resulte en anergia<sup>32, 33</sup>, y la tercera es que la remoción resulte en el procesamiento y presentación de autoantígenos y el desarrollo de una respuesta inmune patogénica (ver figura 1). El hecho de que ocurra una de las tres consecuencias depende de la eficiencia en la remoción, las células que lo median y el ambiente en el que ocurre<sup>34</sup>.

**Consecuencias de las alteraciones en la remoción de las células apoptóticas**

La presencia de autoantígenos como DNA en la sangre es indicativa de alteraciones en la fagocitosis, ya que este sistema generalmente degrada las células muertas sin liberación de DNA, entre otras moléculas. Sin embargo cuando se excede la capacidad de fagocitosis de los macrófagos, o cuando el grado de señales sobrepasa un umbral<sup>35</sup>, por ejemplo en presencia de una gran cantidad de células muertas, pueden suceder ciertos eventos: primero las células muertas pueden ser degradadas sin ser fagocitadas liberando el DNA; segundo, con cantidades excesivas de células englobadas, los procesos de degradación

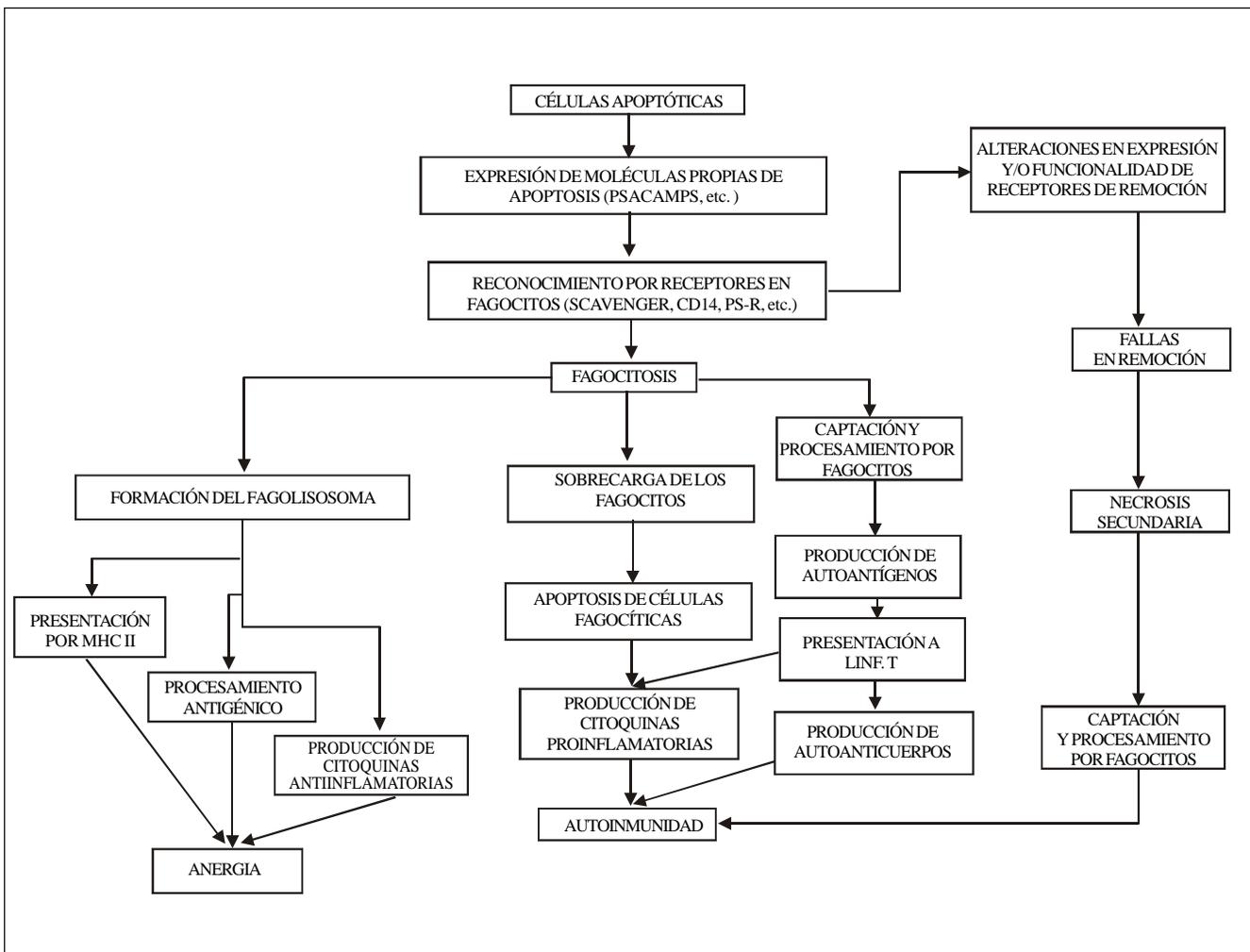


Figura 1. Vías de remoción de células apoptóticas.

pueden ser incompletos y los nucleosomas pueden salir de los macrófagos ya incapaces de mantener la carga, y tercero, cuando la capacidad de fagocitosis y degradación se exceden, los mismos macrófagos sufren apoptosis<sup>5</sup>.

### **Modificaciones de los autoantígenos en la apoptosis**

Se ha demostrado que durante la apoptosis, autoantígenos nucleares e intracelulares se redistribuyen y se concentran dentro de vesículas que se alojan en la superficie celular. Estas vesículas pueden contener componentes citoplasmáticos como RNA o también pueden contener componentes nucleares, como nucleosomas o DNA<sup>36</sup>.

La redistribución de los antígenos intracelulares en vesículas apoptóticas, no sólo puede generar una respuesta inmune, sino que además puede hacer que los antígenos se vuelvan asequibles a autoanticuerpos<sup>34</sup>.

También puede ocurrir que los autoantígenos se presenten en un nuevo contexto o que existan alteraciones bioquímicas de los mismos durante la apoptosis, lo que puede producir versiones alteradas de estas proteínas que son exclusivas de células apoptóticas. Una de las alteraciones es la fosforilación selectiva de autoantígenos por proteínas quinasas activadas por estrés. Sin embargo no todas las células apoptóticas generan los mismos autoantígenos, por lo que algunas pueden ser potencialmente más eficientes para romper la tolerancia<sup>34, 37-39</sup>.

### **Enfermedades asociadas a alteraciones en la remoción de cuerpos apoptóticos**

Recientemente se ha encontrado que la falla en la degradación de la cromatina contenida en los cuerpos apoptóticos o la inapropiada remoción de células apoptóticas, contribuye al desarrollo de autoinmunidad. Igualmente se ha encontrado que esta última situación lleva a un desarrollo de fenotipo autoinmune en modelos murinos, ya que estas células al no ser ingeridas, evolucionan hacia una necrosis secundaria, generando señales de peligro, y quedando disponibles para una ingestión por células dendríticas y macrófagos pero bajo un ambiente inflamatorio. Por ejemplo, en ratones deficientes en C1q se presenta un aumento de células apoptóticas en el glomérulo (sugiriendo células apoptóticas en la periferia), lo que puede ser un resultado directo

de la falla en la remoción de cuerpos apoptóticos *in vivo*<sup>11, 12, 40, 41</sup>.

En ratones con enfermedad tipo lupus (MRL/Mp y NZB/W) se observó un porcentaje mayor de polimorfos nucleares apoptóticos tardíos, comparado con los ratones normales y se observa una disminución significativa en la remoción (porcentaje de macrófagos que contenían residuos apoptóticos), lo que sugiere un defecto fagocítico inherente en los ratones propensos al lupus<sup>42, 43</sup>.

En estudios realizados en timo, se observó que la fagocitosis de timocitos apoptóticos por macrófagos se redujo significativamente en dos cepas de ratones autoinmunes (MRL/Mp y NZB/W) con respecto a los ratones control (C57BL/6 y BALB/c); además en los ratones con fenotipo autoinmune, primaba la remoción por medio del Fc<sub>γ</sub>R, generando respuestas proinflamatorias. De otro lado, en modelos murinos con enfermedad autoinmune, se ha observado una tendencia de los monocitos a no madurar con la consecuente reducción en la expresión de algunos receptores involucrados en la fagocitosis de cuerpos apoptóticos, como los "Scavenger", y por ende en la remoción de los cuerpos apoptóticos<sup>44, 45</sup>.

Otra de las enfermedades que se ha relacionado con deficiencias en la remoción de cuerpos apoptóticos, es la aterosclerosis, la cual se inicia por lesiones en el endotelio, generadas por acumulación de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (OxLDL), citoquinas inflamatorias y complejos inmunes. En este campo se está evaluando la participación de los receptores Scavenger CD36 y CD163<sup>46, 47</sup> ya que estos son responsables de la captación de LDL modificadas y candidatos probables para el desarrollo de aterosclerosis<sup>48-51</sup>.

Para comprobar si realmente existía una relación entre el desarrollo de aterosclerosis y autoinmunidad, se usaron cepas de ratones *gld* y *lpr* que poseen mutaciones inactivadoras de FasL y Fas respectivamente y sufren de desórdenes autoinmunes tipo LES. Además, estos ratones *gld* también tenían un genotipo *apo E*<sup>-/-</sup>, como un modelo de aterosclerosis acelerada. Los ratones doblemente mutados mostraron aumento en la aterosclerosis comparada con los ratones *apo E*<sup>-/-</sup>, además de poseer altos niveles de material apoptótico en tejido y circulantes. Esto se debe en parte a alteraciones en la habilidad

de remoción de los cuerpos apoptóticos, sugiriendo que el sinergismo entre la aterosclerosis y la autoinmunidad pueden estar mediados por una alteración en la remoción de estos<sup>12</sup>.

Como los SR participan en la formación de células espumosas y a su vez en la remoción de cuerpos apoptóticos, un fino balance en su función o expresión podría determinar el desarrollo de autoinmunidad y/o aterosclerosis.

El desarrollo del Lupus Eritematoso Sistémico se ha asociado con el desarrollo de aterosclerosis temprana, e incluso esta comorbilidad se ha considerado como la principal causa de mortalidad tardía en pacientes lúpicos, según lo reportado por Urowitz<sup>52</sup>.

El LES ha sido considerado un factor de riesgo por sí mismo para el desarrollo de la placa aterosclerótica, observándose presencia de citoquinas proinflamatorias y liberación de especies reactivas del oxígeno, que modifican lipoproteínas de baja densidad, las cuales son captadas por los receptores "Scavenger" de macrófagos, convirtiéndose en células espumosas, componentes importantes de la placa aterosclerótica.

Adicionalmente, los receptores "Scavenger" se encargan de la remoción de cuerpos apoptóticos, pero pueden saturarse si la carga apoptótica es muy grande, reduciendo la fagocitosis y generando situaciones inflamatorias<sup>52-54</sup>. Sin embargo, la remoción de cuerpos apoptóticos, no es la única función de estos receptores, ellos también tienen gran afinidad por lipoproteínas de baja densidad modificadas.

En una especie de competencia de los receptores "Scavenger" por la captación de los cuerpos apoptóticos generados y lipoproteínas modificadas generadas en el medio inflamatorio, existiría una mayor afinidad de los "Scavenger" por las LDL modificadas que por las células apoptóticas, y favoreciéndose la aterogénesis.

Podría pensarse entonces que estos receptores participan en la concomitancia de autoinmunidad y aterogénesis acelerada como la observada en LES ya sea por alteraciones en su expresión o en su funcionalidad.

Aunque existe bastante información sobre la relación entre LES y desarrollo de aterosclerosis, todavía se sabe muy poco sobre la participación de los SR, por lo que es un campo aún por explorar, tanto para diseñar técnicas de diagnóstico como para tratamiento de LES y de la aterosclerosis asociada.

## Referencias

1. Mor G, Straszewski S, Kamsteeg M. Role of the Fas/Fas ligand system in female reproductive organs: survival and apoptosis. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 1305-1315.
2. Garavito E. Apoptosis. In: Juan Manuel Anaya YS, Paula A. Correa, Mario García Carrasco, Ricard Cervera, ed. *Autoinmunidad y enfermedad autoinmune*, 2005; 171-178.
3. Verhoven B, Schlegel RA, Williamson P. Mechanisms of phosphatidylserine exposure, a phagocyte recognition signal, on apoptotic T lymphocytes. *J Exp Med* 1995; 182: 1597-1601.
4. Green DR. Apoptosis and the immune response. In: H. AFFMAJC, ed. *Samter's immunologic diseases*, 2001: 127-136.
5. Jiang N, Reich CF, 3rd, Pisetsky DS. Role of macrophages in the generation of circulating blood nucleosomes from dead and dying cells. *Blood* 2003; 102: 2243-2250.
6. Kim S, Chung EY, Ma X. Immunological consequences of macrophage-mediated clearance of apoptotic cells. *Cell Cycle* 2005; 4: 231-234.
7. Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM. 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; 101: 890-898.
8. Huynh ML, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002; 109: 41-50.
9. Verbovetski I, Bychkov H, Trahtemberg U, Shapira I, Hareuveni M, Ben-Tal O, Kutikov I, Gill O, Mevorach D. Opsonization of apoptotic cells by autologous iC3b facilitates clearance by immature dendritic cells, down-regulates DR and CD86, and up-regulates CC chemokine receptor 7. *J Exp Med* 2002; 196: 1553-1561.
10. Platt N, Suzuki H, Kodama T, Gordon S. Apoptotic thymocyte clearance in scavenger receptor class A-deficient mice is apparently normal. *J Immunol* 2000; 164: 4861-4867.
11. Savill J, Dransfield I, Gregory C, Haslett C. A blast from the past: clearance of apoptotic cells regulates immune responses. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 965-975.
12. Aprahamian T, Rifkin I, Bonegio R, Hugel B, Freyssinet JM, Sato K, Castellot JJ, Jr., Walsh K. Impaired clearance of apoptotic cells promotes synergy between atherogenesis and autoimmune disease. *J Exp Med* 2004; 199: 1121-1131.
13. Manfredi AA, Rovere P, Galati G, Heltai S, Bozzolo E, Soldini L, Davoust J, Balestrieri G, Tincani A, Sabbadini MG. Apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus. I. Opsonization by antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 205-214.

14. Platt N, da Silva RP, Gordon S. Recognizing death: the phagocytosis of apoptotic cells. *Trends Cell Biol* 1998; 8: 365-372.
15. Swanson JA, Baer SC. Phagocytosis by zippers and triggers. *Trends Cell Biol* 1995; 5: 89-93.
16. Herrmann M, Voll RE, Zoller OM, Hagenhofer M, Ponner BB, Kalden JR. Impaired phagocytosis of apoptotic cell material by monocyte-derived macrophages from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1241-1250.
17. Ying PTZ. The role of macrophages in apoptosis: initiation; regulation; scavenger. reviews in *Undergraduate Research* 2003; 2: 7-11.
18. Fadok VA, Warner ML, Bratton DL, Henson PM. CD36 is required for phagocytosis of apoptotic cells by human macrophages that use either a phosphatidylserine receptor or the vitronectin receptor (alpha v beta 3). *J Immunol* 1998; 161: 6250-6257.
19. Mukhopadhyay S, Gordon S. The role of scavenger receptors in pathogen recognition and innate immunity. *Immunobiology* 2004; 209: 39-49.
20. Kunjathoor VV, Febbraio M, Podrez EA, Moore KJ, Andersson L, Koehn S, Rhee JS, Silverstein R, Hoff HF, Freeman MW. Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem* 2002; 277: 49982-49988.
21. Kodama T, Freeman M, Rohrer L, Zabrecky J, Matsudaira P, Krieger M. Type I macrophage scavenger receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coils. *Nature* 1990; 343: 531-535.
22. Bose J, Gruber AD, Helming L, Schiebe S, Wegener I, Hafner M, Beales M, Kontgen F, Lengeling A. The phosphatidylserine receptor has essential functions during embryogenesis but not in apoptotic cell removal. *J Biol* 2004; 3: 15.
23. Ogden CA, De Cathelineau A, Hoffmann PR, Bratton D, Ghebrehiwet B, Fadok VA, Henson PM. C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells. *J Exp Med* 2001; 194: 781-795.
24. Peiser L, Gordon S. The function of scavenger receptors expressed by macrophages and their role in the regulation of inflammation. *Microbes Infect* 2001; 3: 149-159.
25. Van Berkel TJ, De Rijke YB, Kruijt JK. Different fate in vivo of oxidatively modified low density lipoprotein and acetylated low density lipoprotein in rats. Recognition by various scavenger receptors on Kupffer and endothelial liver cells. *J Biol Chem* 1991; 266: 2282-2289.
26. Gronlund J, Vitved L, Lausen M, Skjodt K, Holmskov U. Cloning of a novel scavenger receptor cysteine-rich type I transmembrane molecule (M160) expressed by human macrophages. *J Immunol* 2000; 165: 6406-6415.
27. Devitt A, Pierce S, Oldreive C, Shingler WH, Gregory CD. CD14-dependent clearance of apoptotic cells by human macrophages: the role of phosphatidylserine. *Cell Death Differ* 2003; 10: 371-382.
28. Hoffmann PR, De Cathelineau AM, Ogden CA, Leverrier Y, Bratton DL, Daleke DL, Ridley AJ, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine (PS) induces PS receptor-mediated macropinocytosis and promotes clearance of apoptotic cells. *J Cell Biol* 2001; 155: 649-659.
29. Wilkinson R, Lyons AB, Roberts D, Wong MX, Bartley PA, Jackson DE. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1/CD31) acts as a regulator of B-cell development, B-cell antigen receptor (BCR)-mediated activation, and autoimmune disease. *Blood* 2002; 100: 184-193.
30. Rohrer L, Freeman M, Kodama T, Penman M, Krieger M. Coiled-coil fibrous domains mediate ligand binding by macrophage scavenger receptor type II. *Nature* 1990; 343: 570-572.
31. Taylor PR, Carugati A, Fadok VA, Cook HT, Andrews M, Carroll MC, Savill JS, Henson PM, Botto M, Walport MJ. A hierarchical role for classical pathway complement proteins in the clearance of apoptotic cells in vivo. *J Exp Med* 2000; 192: 359-366.
32. Steinman RM, Turley S, Mellman I, Inaba K. The induction of tolerance by dendritic cells that have captured apoptotic cells. *J Exp Med* 2000; 191: 411-416.
33. Huang FP, Platt N, Wykes M, Major JR, Powell TJ, Jenkins CD, MacPherson GG. A discrete subpopulation of dendritic cells transports apoptotic intestinal epithelial cells to T cell areas of mesenteric lymph nodes. *J Exp Med* 2000; 191: 435-444.
34. Navratil JS, Sabatine JM, Ahearn JM. Apoptosis and immune responses to self. *Rheum Dis Clin North Am* 2004; 30: 193-212.
35. Hayakawa K, Takemura G, Koda M, Kawase Y, Maruyama R, Li Y, Minatoguchi S, Fujiwara T, Fujiwara H. Sensitivity to apoptosis signal, clearance rate, and ultrastructure of fas ligand-induced apoptosis in vivo adult cardiac cells. *Circulation* 2002; 105: 3039-3045.
36. Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J Exp Med* 1994; 179: 1317-1330.
37. Utz PJ, Hottel M, van Venrooij WJ, Anderson P. Association of phosphorylated serine/arginine (SR) splicing factors with the U1-small ribonucleoprotein (snRNP) autoantigen complex accompanies apoptotic cell death. *J Exp Med* 1998; 187: 547-560.
38. Utz PJ, Hottel M, Schur PH, Anderson P. Proteins phosphorylated during stress-induced apoptosis are common targets for autoantibody production in patients with systemic lupus erythematosus. *J Exp Med* 1997; 185: 843-854.
39. Utz PJ, Hottel M, Le TM, Kim SJ, Geiger ME, van Venrooij WJ, Anderson P. The 72-kDa component of signal recognition particle is cleaved during apoptosis. *J Biol Chem* 1998; 273: 35362-35370.
40. Cohen PL, Caricchio R, Abraham V, Camenisch TD, Jennette JC, Roubey RA, Earp HS, Matsushima G, Reap EA. Delayed apoptotic cell clearance and lupus-like autoimmunity in mice lacking the c-mer membrane tyrosine kinase. *J Exp Med* 2002; 196: 135-140.
41. Botto M, Dell'Agno C, Bygrave AE, Thompson EM, Cook HT, Petry F, Loos M, Pandolfi PP, Walport MJ. Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. *Nat Genet* 1998; 19: 56-59.
42. Hughes J, Johnson RJ, Mooney A, Hugo C, Gordon K, Savill J. Neutrophil fate in experimental glomerular capillary injury in the rat. Emigration exceeds in situ clearance by apoptosis. *Am J Pathol* 1997; 150: 223-234.
43. Hughes J, Liu Y, Van Damme J, Savill J. Human glomerular mesangial cell phagocytosis of apoptotic neutrophils:

- mediation by a novel CD36-independent vitronectin receptor/thrombospondin recognition mechanism that is uncoupled from chemokine secretion. *J Immunol* 1997; 158: 4389-4397.
44. Potter PK, Cortés-Hernández J, Quartier P, Botto M, Walport MJ. Lupus-prone mice have an abnormal response to thioglycolate and an impaired clearance of apoptotic cells. *J Immunol* 2003; 170: 3223-3232.
  45. Abraham R, Choudhury A, Basu SK, Bal V, Rath S. Disruption of T cell tolerance by directing a self antigen to macrophage-specific scavenger receptors. *J Immunol* 1997; 158: 4029-4035.
  46. Madsen M, Moller HJ, Nielsen MJ, Jacobsen C, Graversen JH, van den Berg T, Moestrup SK. Molecular characterization of the haptoglobin-hemoglobin receptor CD163. Ligand binding properties of the scavenger receptor cysteine-rich domain region. *J Biol Chem* 2004; 279: 51561-51567.
  47. Graversen JH, Madsen M, Moestrup SK. CD163: a signal receptor scavenging haptoglobin-hemoglobin complexes from plasma. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 309-314.
  48. Van Berkel TJ, Van Velzen A, Kruijt JK, Suzuki H, Kodama T. Uptake and catabolism of modified LDL in scavenger-receptor class A type I/II knock-out mice. *Biochem J* 1998; 331 (Pt 1): 29-35.
  49. Zhang W, Yancey PG, Su YR, Babaev VR, Zhang Y, Fazio S, Linton MF. Inactivation of macrophage scavenger receptor class B type I promotes atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2003;108: 2258-2263.
  50. Kiyoshi Takahashi MT, Naomi Sakashita, Mika Yoshimatsu y Katsunori Jinnouchi. The role of macrophage Scavenger receptors in atherogenesis. In: Yehuda Shoenfeld DH, Georg Wick, ed. *Atherosclerosis and autoimmunity*, 2001; 29-40.
  51. Huh HY, Pearce SF, Yesner LM, Schindler JL, Silverstein RL. Regulated expression of CD36 during monocyte-to-macrophage differentiation: potential role of CD36 in foam cell formation. *Blood* 1996; 87: 2020-2028.
  52. Rubin LA, Urowitz MB, Gladman DD. Mortality in systemic lupus erythematosus: the bimodal pattern revisited. *Q J Med* 1985; 55: 87-98.
  53. Asanuma Y, Oeser A, Shintani AK, Turner E, Olsen N, Fazio S, Linton MF, Raggi P, Stein CM. Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 2407-2415.
  54. Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, Crow MK, Schwartz JE, Paget SA, Devereux RB, Salmon JE. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 2399-2406.