

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-67>

Ассоциация увеличения количества циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов с распространённостью каротидного атеросклероза

Долгушин И.И., Генкель В.В.[✉], Батурина И.Л., Емельянов И.В., Савочкина А.Ю., Шапошник И.И.

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

Аннотация

Введение. Изучение роли нейтрофилов в инициации и прогрессировании атеросклероза и развитии его осложнений активно ведётся лишь на протяжении последних нескольких лет. К настоящему времени имеются данные, свидетельствующие о важной роли оси CXCL12/CXCR4 в поддержании воспаления при различных хронических воспалительных заболеваниях путем задержки нейтрофилов в очагах воспаления.

Цель исследования — установить диагностическую и прогностическую значимость циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов у пациентов с каротидным атеросклерозом.

Материалы и методы. Обследовали 75 пациентов (52% мужчин и 48% женщин) в возрасте 40–64 лет без установленных атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний. Всем пациентам проводили дуплексное сканирование артерий каротидного бассейна. Фенотипирование и дифференцировку субпопуляций нейтрофилов осуществляли методом проточной цитометрии с использованием конъюгатов моноклональных антител CD16, CD11b, CD62L, CD182 (CXCR2) и CD184 (CXCR4).

Результаты. Атеросклеротические бляшки в артериях каротидного бассейна были выявлены у 72% пациентов, при этом у большинства пациентов диагностировано стенозирование более одной сонной артерии (СА). Увеличение количества циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов ассоциировалось с уровнями общего холестерина ($r = 0,377$; $p = 0,001$), холестерина липопротеинов низкой плотности ($r = 0,293$; $p = 0,014$) и триглицеридов ($r = 0,388$; $p = 0,003$). Выявлены прямые корреляционные связи между количеством циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов и суммарным процентом стенозирования СА ($r = 0,300$; $p = 0,011$), а кроме того — с количеством стенозированных СА ($r = 0,291$; $p = 0,034$). Отмечено статистически значимое нарастание количества CXCR4^{hi}-нейтрофилов по мере увеличения количества стенозированных СА ($p = 0,025$). По данным ROC-анализа, увеличение количества CXCR4^{hi}-нейтрофилов ≥ 260 кл/мкл позволяло диагностировать стенозирующее поражение 4 СА с чувствительностью 71,4% и специфичностью 76,6%.

Заключение. У пациентов с каротидным атеросклерозом увеличение количества циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов ассоциировалось с увеличением числа стенозированных СА при отсутствии значимых изменений в других оцениваемых субпопуляциях нейтрофильных гранулоцитов. Увеличение количества CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов позволяло с достаточной чувствительностью и специфичностью диагностировать стенозирующее поражение 4 СА.

Ключевые слова: атеросклероз, нейтрофилы, каротидный атеросклероз, стареющие нейтрофилы

Этическое утверждение. Исследование проводилось при информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ЮУГМУ.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Долгушин И.И., Генкель В.В., Батурина И.Л., Емельянов И.В., Савочкина А.Ю., Шапошник И.И. Ассоциация увеличения количества циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов с распространённостью каротидного атеросклероза. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(2): 176–183. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-67>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-67>

Association of the increased circulating CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophil count with carotid atherosclerosis

Ilya I. Dolgushin, Vadim V. Genkel[✉], Irina L. Baturina, Ilya V. Emelyanov, Albina Y. Savochkina, Igor I. Shaposhnik

South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Abstract

Introduction. The role of neutrophils in the initiation and progression of atherosclerosis as well as in the development of its complications has received scientific attention only in the recent years. Today, there is growing evidence to support a role of the CXCL12/CXCR4 axis in sustained inflammation during different chronic inflammatory diseases by retaining neutrophils at inflammatory sites.

The aim of the study is to assess the diagnostic and prognostic significance of circulating CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophils in patients with carotid atherosclerosis.

Materials and methods. A total of 75 patients (52% of men and 48% of women) aged 40 to 64 years were examined. None of them were diagnosed with atherosclerotic cardiovascular diseases. All the patients underwent carotid artery duplex scanning. The flow cytometry and CD16, CD11b, CD62L, CD182 (CXCR2) and CD184 (CXCR4) conjugated monoclonal antibodies were used for phenotyping and differentiation of neutrophil subpopulations.

Results. Atherosclerotic plaques in carotid arteries were detected in 72% of the patients; most of the patients were diagnosed with stenosis development in more than one of the carotid arteries (CA). The elevated levels of circulating CXCR4^{hi} neutrophils were associated with the levels of total cholesterol ($r = 0.377$; $p = 0.001$), low-density lipoprotein (LDL) cholesterol ($r = 0.293$; $p = 0.014$) and triglycerides ($r = 0.388$; $p = 0.003$). The study revealed direct correlation between the circulating CXCR4^{hi} neutrophil count and the cumulative percentage of CA stenosis ($r = 0.300$; $p = 0.011$), including the number of stenosed CA ($r = 0.291$; $p = 0.034$). It was also found that CXCR4^{hi} neutrophil counts demonstrated a statistically significant increase along with the increased number of stenosed CA ($p = 0.025$). The ROC analysis findings show that the elevated CXCR4^{hi} neutrophil counts ≥ 260 cells/ μ L made it possible to diagnose stenotic lesion of 4 CAs with a sensitivity of 71.4% and specificity reaching 76.6%.

Conclusion. In patients with carotid atherosclerosis, the increased count of circulating CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophils was associated with the increased number of stenosed CAs, while no significant changes were observed in the other examined subpopulations of neutrophil granulocytes. The increased CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophil count made it possible to diagnose stenotic lesion of 4 CAs with a sufficient sensitivity and specificity.

Keywords: atherosclerosis, neutrophils, carotid atherosclerosis, aged neutrophils

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the South-Ural State Medical University.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Dolgushin I.I., Genkel V.V., Baturina I.L., Emelyanov I.V., Savochkina A.Y., Shaposhnik I.I. Association of the increased circulating CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophil count with carotid atherosclerosis. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98(2): 176–183. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-67>

Введение

Изучение роли нейтрофилов в инициации и прогрессировании атеросклероза и развитии его осложнений активно ведется лишь на протяжении последних нескольких лет [1]. Этому во многом способствовали новые открытия в биологии нейтрофилов, которые позволили пересмотреть традиционные представления о длительности их жизни и неоднородности популяционного состава [2]. Открытие новых патофизиологических механизмов, посредством которых нейтрофильные гранулоциты влияют на атерогенез и развитие сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), привело к рассмотрению их в качестве терапевтической мишени и дало начало целому ряду клинических исследований [3, 4].

Установлено, что на протяжении своей жизни нейтрофилы изменяют фенотип. Это процесс принято обозначать как «старение нейтрофилов» [5]. Центральную роль в данных процессах играет ось C-X-C motif chemokine ligand (CXCL)12/CXCR4 [6]. Также важен тот факт, что старение нейтрофила оказывает существенное влияние на его функциональные особенности: снижается экспрессия CD62L, увеличивается экспрессия CD11b, TLR4,

способность к формированию внеклеточных нейтрофильных ловушек и продукции активных форм кислорода [7]. К настоящему времени имеются данные, свидетельствующие о важной роли оси CXCL12/CXCR4 в поддержании воспаления при различных хронических воспалительных заболеваниях путем задержки нейтрофилов в очагах воспаления [8, 9]. Установлено увеличение экспрессии CXCR4 на циркулирующих нейтрофилах при хронических воспалительных заболеваниях, например при системной красной волчанке [10]. В ряде экспериментальных исследований была показана проатерогенная роль CXCL12, являющегося лигандом для CXCR4 [11]. Наблюдается увеличение экспрессии CXCL12 в нестабильных атеросклеротических бляшках (АСБ) [12]. Диагностическая и прогностическая роль циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов у пациентов с атеросклеротическими ССЗ требует изучения в клинических исследованиях.

Цель исследования: установить диагностическую и прогностическую значимость циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов у пациентов с каротидным атеросклерозом.

Материалы и методы

В исследование включали 75 пациентов (39 (52%) мужчин и 36 (48%) женщин) в возрасте 40–64 лет без установленных атеросклеротических ССЗ, прошедших дуплексное ультразвуковое сканирование артерий каротидного бассейна по направлению лечащего врача с целью уточнения кардиоваскулярного риска (КВР). Необходимым условием включения пациентов в исследование было подписанное информированное согласие. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ЮУГМУ.

Критериями невключения в исследование и/или исключения из исследования являлись следующие клинические состояния:

- установленные ранее атеросклеротические ССЗ (цереброваскулярная болезнь в анамнезе, ишемическая болезнь сердца, заболевание периферических артерий, реваскуляризация коронарных или периферических артерий);
- тяжелые нарушения функции печени и почек (снижение скорости клубочковой фильтрации до уровня менее 30 мл/мин/1,73 м²);
- злокачественные новообразования;
- установленные хронические воспалительные заболевания;
- острые воспалительные или инфекционные заболевания в предшествующие 28 дней.

Ультразвуковое исследование

Всем пациентам проводили дуплексное сканирование артерий каротидного бассейна. Осматривали с обеих сторон в продольном и поперечном сечении на всем протяжении следующие сосуды: общие сонные артерии (ОСА) с бифуркацией ОСА, внутренние сонные артерии (ВСА), наружные сонные артерии (НСА) из переднего, латерального и заднего доступов. Исследование проводили в В-режиме, режиме цветового картирования, импульсной доплерографии, энергетической доплерографии на цифровом ультразвуковом многофункциональном диагностическом сканере «Samsung Medison ЕКО7» с использованием линейного датчика с частотой 10 МГц.

Толщину комплекса интима–медиа (ТКИМ) определяли в автоматическом режиме (функция AutoIMT) с обеих сторон в дистальной трети ОСА на 1 см проксимальнее бифуркации ОСА из переднего доступа. Среднюю ТКИМ ОСА (ТКИМ_{ср}) определяли по формуле:

$$\text{ТКИМ}_{\text{ср}} = \frac{(\text{ТКИМ ОСА}_{\text{слева}} + \text{ТКИМ ОСА}_{\text{справа}})}{2}$$

АСБ считали фокальное утолщение комплекса интима–медиа более 1,5 мм, либо на 0,5 мм больше окружающей ТКИМ, либо на 50% больше ТКИМ прилежащих участков ОСА [13]. Процент стенози-

рования измеряли планиметрически в В-режиме по диаметру в поперечном сечении сосуда. Процент стеноза определяли согласно методу ЕССТ (The European Carotid Surgery Trial) [14]. В случае выявления АСБ, стенозирующих просвет сосудов, определяли максимальный процент стеноза у конкретного пациента и суммарный процент стенозирования СА. Определяли количество стенозированных ОСА и ВСА (максимальное количество — 4).

Лабораторное исследование

Определяли следующие лабораторные показатели: общий холестерин (ХС), ХС липопротеинов низкой (ХС ЛПНП) и высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицериды, гликированный гемоглобин, креатинин с последующим расчетом скорости клубочковой фильтрации по формуле СКД-ЕРІ, высокочувствительный С-реактивный белок.

Фенотипирование и дифференцировку субпопуляций нейтрофилов осуществляли методом проточной цитометрии на аппарате «Navios 6/2» («Beckman Coulter») с использованием конъюгатов моноклональных антител — CD16–PE–Cy7.0 («Invitrogen»), CD11b–FITC, CD62L–PE («Beckman Coulter»), CD182 (CXCR2)–PE–Cy5.0 («BD Biosciences»), CD184 (CXCR4)–PE–CF594 («BD Biosciences»). Фенотипирование нейтрофилов проводили в цельной крови с детекцией не менее 30 000 событий.

Статистический анализ

Анализ полученных данных проводили с использованием пакета статистического анализа данных «IBM SPSS Statistics v.18». Качественные переменные описывали абсолютными и относительными частотами (процентами). Количественные переменные описывали медианой (Me) с указанием интерквартильного интервала (Q₂₅–Q₇₅) в случае несоответствия распределения величины нормальному, средним и стандартным отклонением — в случае нормального распределения величины. В целях определения взаимосвязей показателей использовали корреляционный анализ Спирмена. Для оценки различий между двумя группами использовали критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при критическом уровне значимости 0,05.

Для выявления независимых предикторов зависимости переменной использовали множественный логистический регрессионный анализ, позволяющий выявить зависимость бинарной категориальной переменной от ряда других переменных — как непрерывных, так и категориальных. Для оценки зависимости одной количественной переменной от другой применяли процедуру линейной регрессии. С целью установления пороговых значений исследуемых показателей проводили ROC-анализ с

определением чувствительности и специфичности, а также расчётом площади под характеристической кривой с 95% доверительным интервалом.

Результаты

Клиническая характеристика пациентов представлена в **табл. 1**.

Таблица 1. Клиническая и лабораторная характеристика пациентов

Table 1. Clinical characteristics of patients

Показатель Parameter	Значение Value
Возраст, лет, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Age, years, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	50,0 (44,5; 56,0)
Индекс массы тела, кг/м ² , Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Body mass index, kg/m ² , Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	27,4 (25,0; 31,2)
Ожирение, <i>n</i> (%) Obesity, <i>n</i> (%)	23 (30,6)
Абдоминальное ожирение, <i>n</i> (%) Abdominal obesity, <i>n</i> (%)	45 (60,0)
Курение, <i>n</i> (%) Smoking, <i>n</i> (%)	16 (21,3)
Сахарный диабет 2-го типа, <i>n</i> (%) Type 2 diabetes mellitus, <i>n</i> (%)	5 (6,66)
Артериальная гипертензия, <i>n</i> (%) Hypertension, <i>n</i> (%)	38 (50,6)
Дезагреганты, <i>n</i> (%) Antiplatelets, <i>n</i> (%)	9 (12,0)
β-Адреноблокаторы, <i>n</i> (%) β-Blockers, <i>n</i> (%)	19 (25,3)
Ингибиторы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, <i>n</i> (%) Inhibitors of renin-angiotensin system, <i>n</i> (%)	19 (25,3)
Диуретики, <i>n</i> (%) Diuretics, <i>n</i> (%)	8 (10,6)
Статины, <i>n</i> (%) Statins, <i>n</i> (%)	23 (30,6)
Пероральные сахароснижающие препараты, <i>n</i> (%) Oral hypoglycemic agents, <i>n</i> (%)	6 (8,00)
Общий ХС, ммоль/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Total cholesterol, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	5,80 (5,14; 6,50)
ХС ЛПНП, ммоль/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Low-density lipoproteins cholesterol, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	3,46 (2,96; 4,26)
ХС ЛПВП, ммоль/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) High-density lipoproteins cholesterol, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	1,40 (1,19; 1,61)
Триглицериды, ммоль/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Triglycerides, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	1,33 (1,00; 1,80)
Высокочувствительный С-реактивный белок, мг/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) High sensitivity C-reactive protein, mg/l, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	1,40 (0,85; 3,48)
Гликированный гемоглобин, %, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Glycated hemoglobin, %, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	5,67 (5,20; 6,05)
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м ² , Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Estimated glomerular filtration rate, ml/min/1.73 m ² , Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	73,0 (61,8; 96,5)

В соответствии с актуальными европейскими рекомендациями на момент включения в исследование очень высокий КВР был установлен у 13 (17,3%) пациентов, высокий КВР — у 11 (14,6%), умеренный КВР — у 31 (41,3%), низкий — у 20 (26,6%) [15].

АСБ в артериях каротидного бассейна были выявлены у 72% пациентов (**табл. 2**). При этом у большинства пациентов было диагностировано стенозирование более одной СА.

По данным корреляционного анализа установлено, что увеличение количества циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов (**табл. 3**) ассоциировалось с уровнями общего ХС ($r = 0,377$; $p = 0,001$), ХС ЛПНП ($r = 0,293$; $p = 0,014$), триглицеридов ($r = 0,388$; $p = 0,003$). Также выявлены прямые кор-

Таблица 2. Результаты дуплексного ультразвукового сканирования каротидных артерий

Table 2. Results of carotid duplex ultrasound scanning

Показатель Parameter	Значение Value
ТКИМ _{ср} ОСА, мм, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Mean carotid intima-media thickness, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	0,65 (0,56; 0,71)
АСБ в СА, <i>n</i> (%) Carotid plaque, <i>n</i> (%)	54 (72,0)
Максимальный процент стеноза у конкретного пациента, %, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Maximal carotid stenosis, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	24,0 (0,00; 32,0)
Суммарный процент стенозирования СА, %, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Total carotid stenosis, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	27,0 (0,00; 73,0)
Стенозы СА ≥50%, <i>n</i> (%) Carotid stenosis ≥50%, <i>n</i> (%)	5 (6,66)
Количество стенозированных СА, <i>n</i> (%) Number of carotid arteries with stenosis, <i>n</i> (%)	
1	19 (25,3)
2	16 (21,3)
3	12 (16,0)
4	7 (9,33)

Таблица 3. Дифференцировка нейтрофилов в исследуемой когорте пациентов

Table 3. Differentiation of neutrophils in the studied cohort of patients

Фенотип нейтрофилов Neutrophil phenotype	Значение, кл/мкл Value, cells/μl
CD16 ^{hi} CD11b ^{hi} CD62L ^{hi} (взрослые нейтрофилы) (mature neutrophils)	2666 (2111; 3313)
CD16 ^{hi} CD11b ^{hi} CD62L ^{lo} (активированные нейтрофилы) (activated neutrophils)	27,5 (14,0; 46,2)
CD16 ^{hi} CD11b ^{br} CD62L ^{lo} CXCR4 ^{hi} (старющиеся нейтрофилы) (aging neutrophils)	185 (98,5; 269)

реляционные связи между количеством циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов и суммарным процентом стенозирования СА ($r = 0,300$; $p = 0,011$), а кроме того — с количеством стенозированных СА ($r = 0,291$; $p = 0,034$).

Как видно из **рис. 1**, количество CXCR4^{hi}-нейтрофилов значимо нарастало по мере увеличения количества стенозированных СА ($p = 0,025$). Так, у пациентов с поражением 4 СА количество CXCR4^{hi}-нейтрофилов (341 (229; 420) кл/мкл) было статистически значимо выше, чем у пациентов с поражением 1 СА (182 (85,0; 267) кл/мкл; $p = 0,042$) и 2 СА (110 (60,5; 232) кл/мкл; $p = 0,006$). Количество CD16^{hi}CD11b^{br}CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов также было значимо выше у пациентов со стенозами 3 СА в сравнении с пациентами, имеющими стенозы в 2 СА, — 240 (176; 311) кл/мкл против 110 (60,5; 232) кл/мкл ($p = 0,020$).

С целью определения возможной предиктивной ценности количества циркулирующих CD16^{hi}CD11b^{br}CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов в отношении наличия распространённого атеросклероза артерий каротидного бассейна с формированием стенотического поражения 4 СА был проведен ROC-анализ (**рис. 2**).

Увеличение количества CXCR4^{hi}-нейтрофилов ≥ 260 кл/мкл позволяло диагностировать стенозирующее поражение 4 СА с чувствительностью 71,4% и специфичностью 76,6%. Увеличение порогового значения до 333 кл/мкл позволяло повысить специфичность до 90,6% при снижении чувствительности до 57,1%. По данным логистического регрессионного анализа, при увеличении количества циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов ≥ 260 кл/мкл отношение шансов наличия стенозирующего поражения 4 СА составляло 14,1 (95% ДИ 1,6–119; $p = 0,015$) с поправкой на пол, возраст, наличие сахарного диабета 2-го типа и артериальной гипертензии, курения и уровня ХС ЛПНП.

Обсуждение

Исследования участия клеток врождённого и адаптивного иммунитета в атерогенезе традиционно фокусируются на моноцитах, макрофагах и Т-лимфоцитах. Важнейшая роль нейтрофилов в развитии атеросклероза и его осложнений в настоящее время не вызывает сомнений. Однако имеющиеся данные крайне неоднородны, фрагментарны и требуют дальнейших исследований *in vivo* [16].

Основными результатами проведённого исследования являются следующие:

- 1) в исследуемой нами группе пациентов количество «старееющих» нейтрофилов прямо коррелировало с уровнями общего ХС, ХС ЛПНП и триглицеридов;
- 2) по мере увеличения числа стенозированных СА отмечалось увеличение циркулирующих

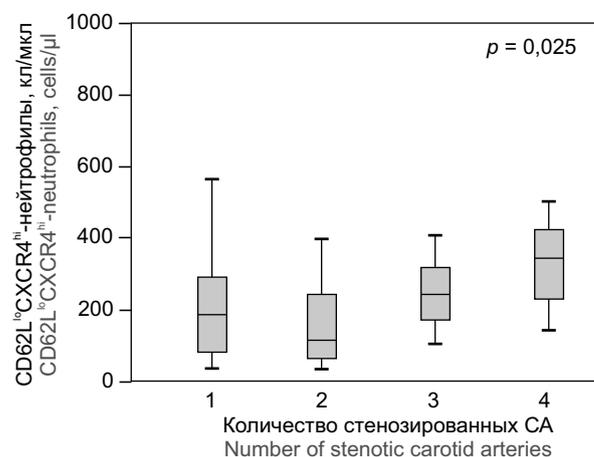


Рис. 1. Количество циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов в зависимости от числа поражённых СА.
Fig. 1. The circulating CXCR4^{hi} neutrophil count in relation to the number of the affected CAs.

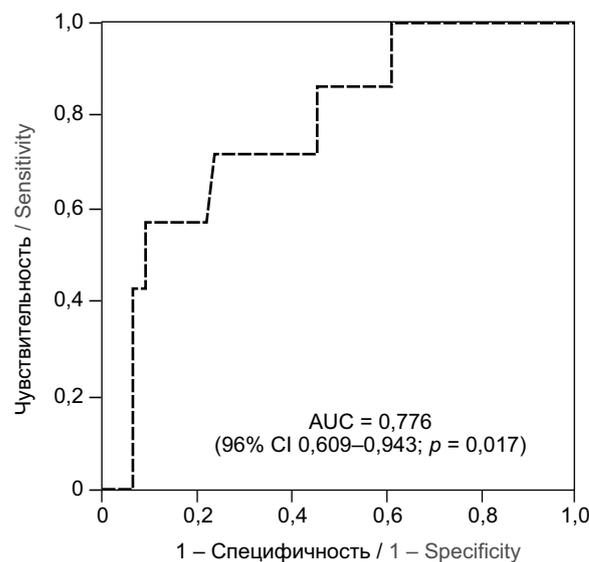


Рис. 2. ROC-кривая для CD16^{hi}CD11b^{br}CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов.

Fig. 2. ROC-curve for CD16^{hi}CD11b^{br}CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-neutrophils.

CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов при отсутствии значимых изменений в других оцениваемых субпопуляциях нейтрофильных гранулоцитов;

3) увеличение количества CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов позволяло с достаточной чувствительностью и специфичностью диагностировать стенозирующее поражение 4 СА.

CXCL12, также известный как SDF-1 (stromal cell-derived factor-1), — хемокин, играющий ключевую роль в хоуминге нейтрофилов, чьё значение в патогенезе атеросклероза на сегодняшний день точно не установлено [11]. Тем не менее доказано, что в АСБ отмечается увеличение экспрессии CXCL12, а увеличение содержания CXCL12 в сыворотке является фактором прогрессирования атеросклероза и

прямо коррелирует с тяжестью коронарного атеросклероза [17, 18]. Известно, что клиренс циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов происходит преимущественно в ночные часы, когда концентрация CXCL12 в костном мозге достигает пиковых значений [19]. Возможно, что в условиях системного персистирующего низкоинтенсивного воспаления, наблюдающегося при атеросклерозе, и повышения содержания CXCL12 в системной циркуляции и АСБ нарушается миграция стареющих нейтрофилов в костный мозг, увеличиваются продолжительность их жизни и содержание в крови [7]. В свою очередь, субпопуляция CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов, отличающаяся наиболее активной миграцией в очаги воспаления и способностью к формированию внеклеточных нейтрофильных ловушек и продукции активных форм кислорода, имеет максимальный потенциал для миграции в субэндотелиальное пространство с последующим поддержанием сосудистого воспаления и прогрессирования атеросклероза [8, 19, 20].

По нашему мнению, увеличение количества CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов по мере увеличения числа СА свидетельствует о большей интенсивности системного воспаления у пациентов, имеющих распространённый поливаскулярный фенотип атеросклероза [21]. Также это может подтверждать активацию одного из воспалительных сигнальных путей — CXCL12/CXCR4. Продемонстрированная в исследовании диагностическая значимость CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов в отношении атеросклеротического поражения СА говорит о возможном практическом применении количественной оценки популяционного состава нейтрофилов в диагностике и прогнозировании атеросклеротических ССЗ.

Представленное исследование имеет ряд ограничений:

- небольшое количество включённых в исследование пациентов;
- отсутствие определения сывороточной концентрации CXCL12.

Заключение

У пациентов с каротидным атеросклерозом повышение содержания циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов ассоциировалось с увеличением числа стенозированных СА. Количество CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов ≥ 260 кл/мкл позволяло диагностировать стенозирующее поражение 4 СА с чувствительностью 71,4% и специфичностью 76,6%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Silvestre-Roig C., Braster Q., Ortega-Gomez A., Soehnlein O. Neutrophils as regulators of cardiovascular inflammation. *Nat. Rev. Cardiol.* 2020; 17(6): 327–40. <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0326-7>

2. Долгушин И.И. Нейтрофильные гранулоциты: новые лица старых знакомых. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019; 18(1): 30–7. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-30-37>
3. Xue Y., Wu Y., Wang Q., Xue L., Su Z., Zhang C. Cellular vehicles based on neutrophils enable targeting of atherosclerosis. *Mol. Pharm.* 2019; 16(7): 3109–20. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00342>
4. Geng S., Zhang Y., Lee C., Li L. Novel reprogramming of neutrophils modulates inflammation resolution during atherosclerosis. *Sci. Adv.* 2019; 5(2): eaav2309. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav2309>
5. Adrover J.M., Nicolás-Ávila J.A., Hidalgo A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol.* 2016; 37(5): 334–45. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.03.005>
6. Rosales C. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types? *Front. Physiol.* 2018; 9: 113. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>
7. Bonaventura A., Montecucco F., Dallegri F., Carbone F., Lüscher T.F., Camici G.G., et al. Novel findings in neutrophil biology and their impact on cardiovascular disease. *Cardiovasc. Res.* 2019; 115(8): 1266–85. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz084>
8. Isles H.M., Herman K.D., Robertson A.L., Loynes C.A., Prince L.R., Elks P.M., et al. The CXCL12/CXCR4 signaling axis retains neutrophils at inflammatory sites in zebrafish. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1784. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01784>
9. Hartl D., Krauss-Etschmann S., Koller B., Hordijk P.L., Kuijpers T.W., Hoffmann F., et al. Infiltrated neutrophils acquire novel chemokine receptor expression and chemokine responsiveness in chronic inflammatory lung diseases. *J. Immunol.* 2008; 181(11): 8053–67. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.11.8053>
10. García-Cuesta E.M., Santiago C.A., Vallejo-Díaz J., Juarranz Y., Rodríguez-Frade J.M., Mellado M. The role of the CXCL12/CXCR4/ACKR3 axis in autoimmune diseases. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2019; 10: 585. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00585>
11. Li L., Du Z., Rong B., Zhao D., Wang A., Xu Y., et al. Foam cells promote atherosclerosis progression by releasing CXCL12. *Biosci. Rep.* 2020; 40(1): BSR20193267. <https://doi.org/10.1042/BSR20193267>
12. Merckelbach S., van der Vorst E.P.C., Kallmayer M., Rischpler C., Burgkart R., Döring Y., et al. Expression and cellular localization of CXCR4 and CXCL12 in human carotid atherosclerotic plaques. *Thromb. Haemost.* 2018; 118(1): 195–206. <https://doi.org/10.1160/TH17-04-0271>
13. Sprynger M., Rigo F., Moonen M., Aboyns V., Edvardsen T., de Alcantara M.L., et al. Focus on echovascular imaging assessment of arterial disease: complement to the ESC guidelines (PARTIM 1) in collaboration with the Working Group on Aorta and Peripheral Vascular Diseases. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2018; 19(11): 1195–221. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jey103>
14. Mozzini C., Roscia G., Casadei A., Cominacini L. Searching the perfect ultrasonic classification in assessing carotid artery stenosis: comparison and remarks upon the existing ultrasound criteria. *J. Ultrasound.* 2016; 19(2): 83–90. <https://doi.org/10.1007/s40477-016-0193-6>
15. Mach F., Baigent C., Catapano A.L., Koskinas K.C., Casula M., Badimon L., et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur. Heart J.* 2020; 41(1): 111–88. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
16. Саранчина Ю.В., Дутова С.В., Килина О.Ю., Ханарин Н.В., Кулакова Т.С. Роль нейтрофилов в патогенезе атеросклероза. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2018; 17(6): 110–6. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2018-6-110-116>
17. Sjaarda J., Gerstein H., Chong M., Yusuf S., Meyre D., Anand S.S., et al. Blood CSF1 and CXCL12 as causal mediators

- of coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018; 72(3): 300–10. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.04.067>
18. Tavakolian Ferdousie V., Mohammadi M., Hassanshahi G., Khorramdelazad H., Khanamani Falahati-Pour S., Mirzaei M., et al. Serum CXCL10 and CXCL12 chemokine levels are associated with the severity of coronary artery disease and coronary artery occlusion. *Int. J. Cardiol.* 2017; 233: 23–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.02.011>
 19. De Filippo K., Rankin S.M. CXCR4, the master regulator of neutrophil trafficking in homeostasis and disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2018; 48(Suppl. 2): e12949. <https://doi.org/10.1111/eci.12949>
 20. Uhl B., Vadlau Y., Zuchtriegel G., Nekolla K., Sharaf K., Gaertner F., et al. Aged neutrophils contribute to the first line of defense in the acute inflammatory response. *Blood.* 2016; 128: 2327–37. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-718999>
 21. Gutierrez J.A., Aday A.W., Patel M.R., Jones W.S. Polyvascular disease: reappraisal of the current clinical landscape. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2019; 12(12): e007385. <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.119.007385>
 10. García-Cuesta E.M., Santiago C.A., Vallejo-Díaz J., Juarranz Y., Rodríguez-Frade J.M., Mellado M. The role of the CXCL12/CXCR4/ACKR3 axis in autoimmune diseases. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2019; 10: 585. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00585>
 11. Li L., Du Z., Rong B., Zhao D., Wang A., Xu Y., et al. Foam cells promote atherosclerosis progression by releasing CXCL12. *Biosci. Rep.* 2020; 40(1): BSR20193267. <https://doi.org/10.1042/BSR20193267>
 12. Merckelbach S., van der Vorst E.P.C., Kallmayer M., Rischpler C., Burgkart R., Döring Y., et al. Expression and cellular localization of CXCR4 and CXCL12 in human carotid atherosclerotic plaques. *Thromb. Haemost.* 2018; 118(1): 195–206. <https://doi.org/10.1160/TH17-04-0271>
 13. Sprynger M., Rigo F., Moonen M., Aboyans V., Edvardsen T., de Alcantara M.L., et al. Focus on echovascular imaging assessment of arterial disease: complement to the ESC guidelines (PARTIM 1) in collaboration with the Working Group on Aorta and Peripheral Vascular Diseases. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2018; 19(11): 1195–221. <https://doi.org/10.1093/ehjci/ehy103>
 14. Mozzini C., Roscia G., Casadei A., Cominacini L. Searching the perfect ultrasonic classification in assessing carotid artery stenosis: comparison and remarks upon the existing ultrasound criteria. *J. Ultrasound.* 2016; 19(2): 83–90. <https://doi.org/10.1007/s40477-016-0193-6>
 15. Mach F., Baigent C., Catapano A.L., Koskinas K.C., Casula M., Badimon L., et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur. Heart J.* 2020; 41(1): 111–88. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
 16. Saranchina Yu.V., Dutova S.V., Kilina O.Yu., Khanarin N.V., Kulakova T.S. The role of neutrophils in the pathogenesis of atherosclerosis. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika.* 2018; 17(6): 110–6. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2018-6-110-116> (in Russian)
 17. Sjaarda J., Gerstein H., Chong M., Yusuf S., Meyre D., Anand S.S., et al. Blood CSF1 and CXCL12 as causal mediators of coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018; 72(3): 300–10. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.04.067>
 18. Tavakolian Ferdousie V., Mohammadi M., Hassanshahi G., Khorramdelazad H., Khanamani Falahati-Pour S., Mirzaei M., et al. Serum CXCL10 and CXCL12 chemokine levels are associated with the severity of coronary artery disease and coronary artery occlusion. *Int. J. Cardiol.* 2017; 233: 23–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.02.011>
 19. De Filippo K., Rankin S.M. CXCR4, the master regulator of neutrophil trafficking in homeostasis and disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2018; 48(Suppl. 2): e12949. <https://doi.org/10.1111/eci.12949>
 20. Uhl B., Vadlau Y., Zuchtriegel G., Nekolla K., Sharaf K., Gaertner F., et al. Aged neutrophils contribute to the first line of defense in the acute inflammatory response. *Blood.* 2016; 128: 2327–37. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-718999>
 21. Gutierrez J.A., Aday A.W., Patel M.R., Jones W.S. Polyvascular disease: reappraisal of the current clinical landscape. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2019; 12(12): e007385. <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.119.007385>

REFERENCES

1. Silvestre-Roig C., Braster Q., Ortega-Gomez A., Soehnlein O. Neutrophils as regulators of cardiovascular inflammation. *Nat. Rev. Cardiol.* 2020; 17(6): 327–40. <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0326-7>
2. Dolgushin I.I. Neutrophil granulocytes: new faces of old acquaintances. *Byulleten' sibirskoy meditsiny.* 2019; 18(1): 30–7. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-30-37> (in Russian)
3. Xue Y., Wu Y., Wang Q., Xue L., Su Z., Zhang C. Cellular vehicles based on neutrophils enable targeting of atherosclerosis. *Mol. Pharm.* 2019; 16(7): 3109–20. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00342>
4. Geng S., Zhang Y., Lee C., Li L. Novel reprogramming of neutrophils modulates inflammation resolution during atherosclerosis. *Sci. Adv.* 2019; 5(2): eaav2309. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav2309>
5. Adrover J.M., Nicolás-Ávila J.A., Hidalgo A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol.* 2016; 37(5): 334–45. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.03.005>
6. Rosales C. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types? *Front. Physiol.* 2018; 9: 113. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>
7. Bonaventura A., Montecucco F., Dallegri F., Carbone F., Lüscher T.F., Camici G.G., et al. Novel findings in neutrophil biology and their impact on cardiovascular disease. *Cardiovasc. Res.* 2019; 115(8): 1266–85. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz084>
8. Isles H.M., Herman K.D., Robertson A.L., Loynes C.A., Prince L.R., Elks P.M., et al. The CXCL12/CXCR4 signaling axis retains neutrophils at inflammatory sites in zebrafish. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1784. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01784>
9. Hartl D., Krauss-Etschmann S., Koller B., Hordijk P.L., Kuijpers T.W., Hoffmann F., et al. Infiltrated neutrophils acquire novel chemokine receptor expression and chemokine responsiveness in chronic inflammatory lung diseases. *J. Immunol.* 2008; 181(11): 8053–67. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.11.8053>

Информация об авторах

Долгушин Илья Ильич — д.м.н., проф., академик РАН, зав. каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, директор НИИ иммунологии, президент ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0901-8042>

Information about the authors

Ilya I. Dolgushin — D. Sci. (Med.), Prof., Full member of the Russian Academy of Sciences, Head, Department of microbiology, virology, immunology and clinical laboratory diagnostics, Director, Institute of Immunology, President, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0901-8042>

Генкель Вадим Викторович[✉] — к.м.н., доц. каф. пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, henkel-07@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5902-3803>

Батурина Ирина Леонидовна — к.м.н., с.н.с. НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5960-4189>

Емельянов Илья Владимирович — старший лаборант НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0425-4596>

Савочкина Альбина Юрьевна — д.м.н., проф. каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, г.н.с. НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0536-0924>

Шапошник Игорь Иосифович — д.м.н., проф., зав. каф. пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7731-7730>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 17.07.2020;
принята к публикации 22.01.2021;
опубликована 20.03.2021

Vadim V. Genke[✉] — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of propedeutics of internal medicine, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, e-mail: henkel-07@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5902-3803>

Irina L. Baturina — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Research Institute of Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5960-4189>

Ilya V. Emelyanov — research assistant, Research Institution of Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0425-4596>

Albina Y. Savochkina — D. Sci. (Med.), Prof., Department of microbiology, virology, immunology and clinical laboratory diagnostics, principal researcher, Research Institute of Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0536-0924>

Igor I. Shaposhnik — D. Sci. (Med.), Prof., Head, Department of propedeutics of internal medicine, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7731-7730>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 17.07.2020;
accepted for publication 22.01.2021;
published 20.03.2021