

ИНТЕНСИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ CD36 НА РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЯХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МОНОЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ СУБКЛИНИЧЕСКОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

Долгушин И.И., Генкель В.В., Батурина И.Л., Савочкина А.Ю., Минасова А.А., Кузнецова А.С., Шапошник И.И.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Резюме. На сегодняшний день известно, что хроническая активация врожденного иммунитета и персистирующее низкоинтенсивное воспаление играют важнейшую роль в инициации и прогрессировании атеросклероза. Установлено, что атерогенные липопротеины могут выступать в качестве индукторов воспалительного ответа посредством лиганд-рецепторного взаимодействия с паттерн-распознающими рецепторами иммунокомпетентных клеток, такими как CD36 (SR-B2) и Toll-подобные рецепторы. Предполагается, что экспрессия CD36 на циркулирующих моноцитах может репрезентировать бремя системного атеросклероза и, следовательно, выступать его диагностическим маркером. Целью настоящего исследования являлась оценка интенсивности экспрессии CD36 на циркулирующих моноцитах различных субпопуляций у пациентов без установленных ССЗ в зависимости от распространенности субклинического атеросклероза периферических артерий. В исследование были включены 100 пациентов без установленных атеросклеротических ССЗ, 49 (49,0%) мужчин и 51 (51,0%) женщина. Для фенотипирования субпопуляций моноцитов использовали конъюгаты моноклональных антител. Экспрессию CD36 на CD14⁺CD16⁻-моноцитах (классические моноциты), CD14⁺CD16⁺-моноцитах (промежуточные моноциты), CD14⁺CD16⁺⁺-моноцитах (неклассические моноциты) определяли по средней интенсивности флуоресценции. Наблюдалось статистически значимое снижение интенсивности экспрессии CD36 на классических и неклассических моноцитах по мере увеличения числа пораженных атеросклерозом сосудистых бассейнов. При попарном сравнении было установлено статистически значимое снижение интенсивности экспрессии CD36 на классических и неклассических моноцитах у пациентов с поражением двух сосудистых бассейнов в сравнении с пациентами с поражением одного сосудистого бассейна.

Ключевые слова: моноциты, CD36, интенсивность экспрессии, атеросклероз, классические моноциты

Адрес для переписки:

Генкель Вадим Викторович
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (951) 441-70-61.
E-mail: henkel-07@mail.ru

Address for correspondence:

Genkel Vadim V.
South Ural State Medical University
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64.
Phone: 7 (951) 441-70-61.
E-mail: henkel-07@mail.ru

Образец цитирования:

И.И. Долгушин, В.В. Генкель, И.Л. Батурина, А.Ю. Савочкина, А.А. Минасова, А.С. Кузнецова, И.И. Шапошник «Интенсивность экспрессии CD36 на различных субпопуляциях циркулирующих моноцитов в зависимости от распространенности субклинического атеросклероза» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 4. С. 483-488.
doi: 10.46235/1028-7221-1046-CEI

© Долгушин И.И. и соавт., 2021

For citation:

I.I. Dolgushin, V.V. Genkel, I.L. Baturina, A.Yu. Savochkina, A.A. Minasova, A.S. Kuznetsova, I.I. Shaposhnik "CD36 expression intensity on different subpopulations of circulating monocytes depending on the extent of subclinical atherosclerosis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 4, pp. 483-488.
doi: 10.46235/1028-7221-1046-CEI

DOI: 10.46235/1028-7221-1046-CEI

CD36 EXPRESSION INTENSITY ON DIFFERENT SUBPOPULATIONS OF CIRCULATING MONOCYTES DEPENDING ON THE EXTENT OF SUBCLINICAL ATHEROSCLEROSIS

Dolgushin I.I., Genkel V.V., Baturina I.L., Savochkina A.Yu., Minasova A.A., Kuznetsova A.S., Shaposhnik I.I.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. It is known that chronic activation of innate immunity and persistent low-intensity inflammation play a crucial role in the initiation and progression of atherosclerosis. It was found that atherogenic lipoproteins can act as inducers of the inflammatory response through ligand-receptor interaction with pattern-recognizing receptors of immunocompetent cells, such as CD36 (SR-B2) and Toll-like receptors. It is suggested that expression of CD36 on circulating monocytes may represent the burden of systemic atherosclerosis and, therefore, act as its diagnostic marker. The aim of the present study was to assess the intensity of CD36 expression on circulating monocytes of different subpopulations in patients without established cardiovascular disease (CVD) depending on the extent of subclinical atherosclerosis of peripheral arteries. One hundred patients without established atherosclerotic CVD, 49 (49.0%) men and 51 (51.0%) women, were included in the study. Monoclonal antibody conjugates were used to phenotype monocyte subpopulations. The expression of CD36 on CD14⁺⁺CD16⁻ monocytes (classical monocytes), CD14⁺CD16⁺ monocytes (intermediate monocytes), CD14⁺CD16⁺⁺ monocytes (non-classical monocytes) was determined by the average fluorescence intensity. There was a statistically significant decrease in CD36 expression intensity on classical and non-classical monocytes with increasing number of vascular basins affected by atherosclerosis. A statistically significant decrease in CD36 expression intensity on classical and non-classical monocytes was found in the patients with two vascular beds lesions in comparison with patients with a single vascular bed lesion upon pairwise comparisons.

Keywords: monocytes, CD36 expression, atherosclerosis

Введение

На сегодняшний день известно, что хроническая активация врожденного иммунитета и персистирующее низкоинтенсивное воспаление играют важнейшую роль в инициации и прогрессировании атеросклероза [4]. Установлено, что атерогенные липопротеины могут выступать в качестве индукторов воспалительного ответа посредством лиганд-рецепторного взаимодействия с паттерн-распознающими рецепторами иммунокомпетентных клеток, такими как CD36 (SR-B2) и Toll-подобные рецепторы [1, 10]. Предполагается, что экспрессия CD36 на циркулирующих моноцитах может репрезентировать бремя системного атеросклероза и, следовательно, выступать его диагностическим маркером [9]. Однако результаты исследований *in vitro* и *in vivo* крайне противоречивы, что диктует необходимость дальнейшего изучения [5]. **Целью настоящего исследования** являлась оценка интенсивности экспрессии CD36 на

циркулирующих моноцитах различных субпопуляций у пациентов без установленных ССЗ в зависимости от распространенности субклинического атеросклероза периферических артерий.

Материалы и методы

В исследование включали пациентов в возрасте 40-64 лет, без установленных атеросклеротических заболеваний. Всеми пациентами было подписано информированное согласие. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 10 от 27.10.2018). Критериями не-включения в исследование и/или исключения из исследования являлись следующие клинические состояния: установленные ранее атеросклеротические ССЗ; тяжелые нарушения функции печени и почек; злокачественные новообразования; установленные хронические воспалительные заболевания (ХВЗ); острые воспалительные или инфекционные заболевания в предшествующие

28 дней; вторичные нарушения липидного обмена.

Определяли показатели липидного обмена, глюкозу, гликированный гемоглобин, креатинин с последующим расчетом скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле СКД-ЕРІ. Фенотипирование субпопуляций циркулирующих моноцитов проводилось методом проточной цитометрии на аппарате Navios 6/2 (Beckman Coulter, USA). Забор крови осуществляли после как минимум 8 часов голодания в пробирки с антикоагулянтом К2 ЭДТА. Для фенотипирования субпопуляций моноцитов использовали конъюгаты моноклональных антител: антитела к антигену CD16, PE-Cy7 (eBioscience, США); антитела к антигену CD14, PerCP-Cy5.5 (eBioscience, США); антитела к антигену CD36, FITC (BD Biosciences, США).

Экспрессию CD36 на CD14⁺CD16⁻-моноцитах (классические моноциты), CD14⁺CD16⁺-моноцитах (промежуточные моноциты), CD14⁺CD16⁺⁺-моноцитах (неклассические моноциты) определяли по средней интенсивности флуоресценции. Анализ полученных данных проводили с использованием пакета статистического анализа данных IBM SPSS Statistics, версия 18. Качественные переменные описывали абсолютными

и относительными частотами (процентами). Количественные переменные описывали медианой (Me) с указанием интерквартильного интервала (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Для оценки значимости различий между тремя группами использовали критерий Краскела–Уоллиса, с последующим попарным сравнением с применением критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при критическом уровне значимости 0,05.

В исследование были включены 100 пациентов без установленных атеросклеротических ССЗ, 49 (49,0%) мужчин и 51 (51,0%) женщина. Клинико-лабораторная характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Интенсивность экспрессии CD36 на моноцитах различных субпопуляций в зависимости от количества пораженных сосудистых бассейнов представлена в таблице 2.

Таким образом, наблюдалось статистически значимое снижение интенсивности экспрессии CD36 на классических и неклассических моноцитах по мере увеличения числа пораженных атеросклерозом сосудистых бассейнов. При попарном сравнении (см. рис. 1) было установлено статистически значимое снижение интенсивности экспрессии CD36 на классических и неклассических моноцитах у пациентов с поражением двух сосу-

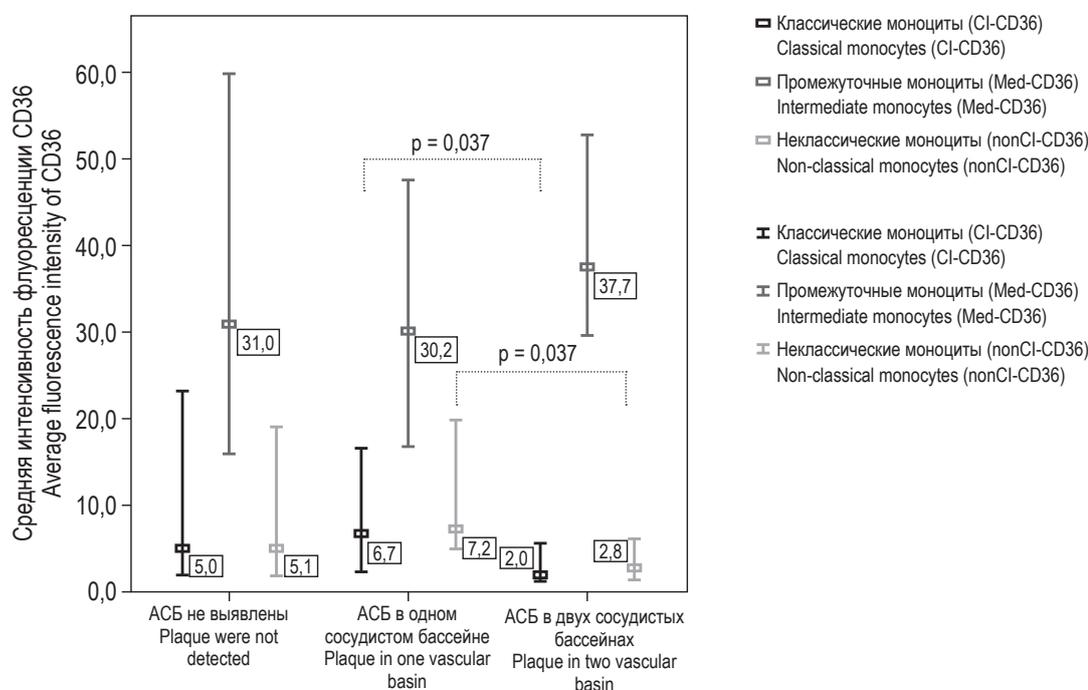


Рисунок 1. Интенсивность экспрессии CD36 на классических, промежуточных и неклассических циркулирующих моноцитах

Figure 1. CD36 expression intensity on classical, intermediate, and non-classical circulating monocytes

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ
TABLE 1. CLINICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF PATIENTS

Показатели Indicators	Пациенты Patients (n = 100)
Возраст, лет, Ме (ИИ) Age, years, Me (IQR)	48,0 (43,0-56,5)
ИМТ, кг/м², Ме (ИИ) BMI, kg/m ² , Me (IQR)	26,8 (23,3-30,2)
Ожирение, n (%) Obesity, n (%)	25 (25,0)
Курение, n (%) Smoking, n (%)	17 (17,0)
Дислипидемия, n (%) Dyslipidemia, n (%)	81 (81,0)
Артериальная гипертензия (АГ), n (%) Hypertension, n (%)	55 (55,0)
АСБ не выявлены, n (%) No ASP detected, n (%)	22 (22,0)
АСБ в одном сосудистом бассейне, n (%) ASP in one vascular bed, n (%)	39 (39,0)
АСБ в двух сосудистых бассейнах, n (%) ASP in two vascular beds, n (%)	39 (39,0)
Бета-адреноблокаторы, n (%) Beta-blockers, n (%)	13 (13,0)
Ингибиторы РААС, n (%) RAAS inhibitors, n (%)	28 (28,0)
Диуретики, n (%) Diuretics, n (%)	7 (7,00)
Статины, n (%) Statins, n (%)	21 (21,0)
ОХС, ммоль/л, Ме (ИИ) Total cholesterol, mmol/l, Me (IQR)	5,78 (4,79-6,50)
ХС ЛНП, ммоль/л, Ме (ИИ) LDL cholesterol, mmol/l, Me (IQR)	3,50 (2,94-4,30)
ХС ЛВП, ммоль/л, Ме (ИИ) HDL cholesterol, mmol/l, Me (IQR)	1,35 (1,18-1,55)
ТГ, ммоль/л, Ме (ИИ) TG, mmol/l, Me (IQR)	1,20 (0,83-1,60)
ХС не-ЛВП, ммоль/л, Ме (ИИ) Non-HDL cholesterol, mmol/L, Me (IQR)	4,28 (3,53-5,29)
Глюкоза, ммоль/л, Ме (ИИ) Glucose, mmol/l, Me (IQR)	5,02 (4,65-5,50)
Гликированный гемоглобин, %, Ме (ИИ) Glycated hemoglobin, %, Me (IQR)	5,66 (5,26-6,01)
СКФ, мл/мин/1,73 м², Ме (ИИ) GFR, ml/min/1.73 m ² , Me (IQR)	69,0 (62,0-77,0)
вчСРБ, мг/л, Ме (ИИ) hsCRP – high-sensitivity C-reactive protein, mg/L, Me (IQR)	1,96 (1,20-3,01)

Примечание. АСБ – атеросклеротическая бляшка, ИМТ – индекс массы тела, СД – сахарный диабет, РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система, ОХС – общий холестерин, ХС ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС ЛВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ТГ – триглицериды, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, вчСРБ – высокочувствительный С-реактивный белок, Ме – медиана, ИИ – интерквартильный интервал.
Note. ASP, atherosclerotic plaque; BMI, body mass index; DM, diabetes mellitus; RAAS, renin-angiotensin-aldosterone system; TSH, total cholesterol; LDL, low-density lipoprotein cholesterol; HDL, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; GFR, glomerular filtration rate; hsCRP, high-sensitivity C-reactive protein; Me, median; CI, interquartile range.

ТАБЛИЦА 2. ИНТЕНСИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ CD36 НА КЛАССИЧЕСКИХ, ПРОМЕЖУТОЧНЫХ И НЕКЛАССИЧЕСКИХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МОНОЦИТАХ

TABLE 2. CD36 EXPRESSION INTENSITY ON CLASSICAL, INTERMEDIATE, AND NON-CLASSICAL CIRCULATING MONOCYTES

Средняя интенсивность флюоресценции Mean fluorescence intensity	АСБ не выявлены ASP were not detected (n = 22)	АСБ в одном сосудистом бассейне ASP in one vascular basin (n = 39)	АСБ в двух сосудистых бассейнах ASP in two vascular basins (n = 39)	p
CD14⁺CD16⁻CD36⁺	5,03 (1,77-23,50)	6,68 (1,81-18,30)	2,00 (1,20-6,78)	0,038
CD14⁺CD16⁺CD36⁺	31,0 (16,1-54,8)	30,1 (14,9-52,5)	37,6 (27,7-60,1)	0,698
CD14⁺CD16⁺⁺CD36⁺	5,09 (1,74-21,60)	7,19 (2,34-20,20)	2,78 (1,28-8,41)	0,042

Примечание. АСБ – атеросклеротическая бляшка.

Note. ASP, atherosclerotic plaque.

дистых бассейнов в сравнении с пациентами с поражением одного сосудистого бассейна.

Результаты и обсуждение

Результаты клинических исследований, в которых изучались особенности экспрессии CD36 на циркулирующих моноцитах у пациентов с атеросклерозом неоднородны и противоречивы. В целом ряде работ было продемонстрировано увеличение экспрессии CD36 на циркулирующих моноцитах у пациентов с атеросклеротическими ССЗ [2, 6]. В других исследованиях, включавших

пациентов с бессимптомным атеросклерозом, напротив, было установлено снижение экспрессии CD36 на моноцитах в сравнении с группами контроля [3, 8].

Заключение

Таким образом, как увеличение, так и снижение экспрессии CD36 на циркулирующих моноцитах может иметь потенциальную диагностическую и прогностическую значимость при атеросклерозе, что требует дальнейшего изучения [7].

Список литературы / References

1. Гусев Е.Ю., Зотова Н.В., Журавлева Ю.А., Черешнев В.А. Физиологическая и патогенетическая роль рецепторов-мусорщиков у человека // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 1. С. 7-48. [Gusev E.Yu., Zotova N.V., Zhuravleva Yu.A., Chereshevnev V.A. Physiological and pathogenic role of scavenger receptors in humans. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, Vol. 22, no. 1, pp. 7-48. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-PAP-1893.
2. Chandran J., Wadhwa N., Madhu S.V., Kumar R., Sharma S. Monocyte CD36 expression associates with atherosclerotic burden in diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2020, Vol. 163, 108156. doi:10.1016/j.diabres.2020.108156.
3. Gómez-Bañuelos E., Martín-Márquez B.T., Martínez-García E.A., Figueroa-Sanchez M., Nuñez-Atahualpa L., Rocha-Muñoz A.D., Sánchez-Hernández P.E., Navarro-Hernandez R.E., Madrigal-Ruiz P.M., Saldaña-Millan A.A., Duran-Barragan S., Gonzalez-Lopez L., Gamez-Nava J.I., Vázquez-Del Mercado M. Low levels of CD36 in peripheral blood monocytes in subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis: a cross-sectional study in a Mexican population. *Biomed Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 736786. doi: 10.1155/2014/736786.
4. Liberale L., Montecucco F., Tardif J.C., Libby P., Camici G.G. Inflamm-aging: the role of inflammation in age-dependent cardiovascular disease. *Eur. Heart J.*, 2020, Vol. 41, no. 31, pp. 2974-2982.
5. Park Y.M. CD36, a scavenger receptor implicated in atherosclerosis. *Exp. Mol. Med.*, 2014, Vol., 46, no. 6, e99. doi: 10.1038/emm.2014.38.
6. Piechota M., Banaszewska A., Dudziak J., Slomczynski M., Plewa R. Highly upregulated expression of CD36 and MSR1 in circulating monocytes of patients with acute coronary syndromes. *Protein J.*, 2012, Vol. 31, no. 6, pp. 511-518.

7. Tian K., Xu Y., Sahebkar A., Xu S. CD36 in atherosclerosis: pathophysiological mechanisms and therapeutic implications. *Curr. Atheroscler. Rep.*, 2020, Vol. 22, no. 10, 59. doi: 10.1007/s11883-020-00870-8.
8. Yassin L.M., Londoño J., Montoya G., De Sanctis J.B., Rojas M., Ramírez L.A., García L.F., Vásquez G. Atherosclerosis development in SLE patients is not determined by monocytes ability to bind/endocytose Ox-LDL. *Autoimmunity*, 2011, Vol. 44, no. 3, pp. 201-210.
9. Yazgan B., Sozen E., Karademir B., Ustunsoy S., Ince U., Zarkovic N., Ozer N.K. CD36 expression in peripheral blood mononuclear cells reflects the onset of atherosclerosis. *Biofactors*, 2018, Vol. 44, no. 6, pp. 588-596.
10. Zhao L., Varghese Z., Moorhead J.F., Chen Y., Ruan X.Z. CD36 and lipid metabolism in the evolution of atherosclerosis. *Br. Med. Bull.*, 2018, Vol. 126, no. 1, pp. 101-112.

Авторы:

- Долгушин И.И.** — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, президент ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, директор НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Генкель В.В.** — к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Батурина И.Л.** — к.м.н., старший научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Савочкина А.Ю.** — д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, главный научный сотрудник НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Минасова А.А.** — к.б.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Кузнецова А.С.** — к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия
- Шапошник И.И.** — д.м.н., заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

- Dolgushin I.I.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, President of South-Ural State Medical University, Head, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, Director, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Genkel V.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department for Propaedeutics of Internal Diseases, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Baturina I.L.**, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Savochkina A.Yu.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, Chief Research Associate, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Minasova A.A.**, PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Kuznetsova A.S.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Hospital Therapy, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation
- Shaposhnik I.I.**, MD, PhD (Medicine), Professor, Head, Department for Propaedeutics of Internal Diseases, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 12.07.2021
Принята к печати 20.08.2021

Received 12.07.2021
Accepted 20.08.2021