

Т-ЛИМФОЦИТЫ FOXP3+ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ВЫРАЖЕННОСТЬЮ КОРОНАРНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

© И.В. Кологривова^{1*}, О.А. Кошельская¹, Т.Е. Сулова¹, О.А. Харитонов¹, О.А. Трубачева¹, Е.С. Кравченко¹, А.А. Дмитриуков^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск

²Сибирский государственный медицинский университет, Томск

ОБОСНОВАНИЕ. Одним из связующих патогенетических звеньев сахарного диабета 2 типа (СД2) и ишемической болезни сердца (ИБС) является хроническое низкоинтенсивное воспаление, которое ограничивают FoxP3+ Т-регуляторные лимфоциты.

ЦЕЛЬ. Изучить содержание FoxP3+CD25^{hi} и FoxP3+CD25^{lo} Т-лимфоцитов, субклеточной локализации FoxP3 и продукцию регуляторных цитокинов во взаимосвязи с клинико-метаболическими параметрами у пациентов с ИБС и СД2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Проведено наблюдательное одноцентровое одномоментное сравнительное исследование. Тяжесть атеросклероза оценивали путем расчета индекса Gensini Score по данным селективной коронароангиографии. Методом проточной цитометрии оценивали абсолютное и относительное содержание CD4+CD25^{hi}FoxP3+ и CD4+CD25^{lo}FoxP3+ Т-лимфоцитов в крови. Методом проточной цитометрии с визуализацией определяли перенос FoxP3 в ядро клеток. Методом мультиплексного анализа оценивали содержание цитокинов в сыворотке крови и надосадочной жидкости культур мононуклеарных лейкоцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Обследованы 57 пациентов с хронической ИБС, из них у 22 пациентов был диагностирован СД2. У пациентов с ИБС и СД2 было повышено содержание FoxP3+CD25^{lo}-клеток по сравнению с пациентами с ИБС без диабета (1,15 (0,98; 1,73) против 0,96 (0,60; 1,15)% ($p=0,046$); 1,48 (1,05; 1,97) против 1,07 (0,71; 1,42) $\times 10^7$ /л ($p=0,025$)). Пациенты с СД2 характеризовались более высоким уровнем переноса фактора FoxP3 в ядро FoxP3+CD25^{lo}-клеток (92,0 (86,4; 95,0) против 88,7 (80,0; 91,4)%, $p=0,040$) и повышением содержания хемокина CCL22 в сыворотке крови (912 (828; 1061) против 669 (585; 738) пг/мл, $p=0,022$) и надосадочной жидкости стимулированных липополисахаридом (ЛПС) культур мононуклеарных лейкоцитов (1189 (851; 1310) против 539 (437; 949) пг/мл, $p=0,038$), что коррелировало с содержанием CD4+CD25^{hi}FoxP3+ клеток ($R_s=0,587$; $p=0,044$) и индексом триглицериды/глюкоза ($R_s=0,587$; $p=0,044$). Выявленные изменения были наиболее выражены у пациентов с умеренно повышенными значениями Gensini Score (17–45 баллов).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Мы впервые показали взаимосвязь между увеличением содержания FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов в периферической крови и доли FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов с ядерным расположением FoxP3 с выраженностью атеросклероза у пациентов с сочетанием ИБС и СД2. Эти данные обосновывают необходимость дальнейших исследований FoxP3+CD25^{lo}-клеток с целью подтверждения их диагностической ценности в качестве маркера воспалительного ответа в тканях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: атеросклероз; сахарный диабет 2 типа; FoxP3+ Т-лимфоциты; CCL22 хемокин; Gensini Score

T-LYMPHOCYTES FOXP3+ AND THEIR INTERCONNECTION WITH THE SEVERITY OF CORONARY ATHEROSCLEROSIS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE AND DIABETES MELLITUS TYPE 2: A PILOT STUDY

© Irina V. Kologrivova^{1*}, Olga A. Koshelskaya¹, Tatiana E. Suslova¹, Olga A. Kharitonova¹, Oksana A. Trubacheva¹, Elena S. Kravchenko¹, Alexey A. Dmitriukov^{1,2}

¹Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

²Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

BACKGROUND: One of the common pathogenic links of diabetes mellitus type 2 (T2DM) and coronary artery disease (CAD) is chronic low-grade inflammation, restricted by FoxP3+ T-regulatory lymphocytes.

AIM: To investigate the numbers of FoxP3+CD25^{hi} and FoxP3+CD25^{lo} T-lymphocytes, the subcellular localization of FoxP3 in them, and the production of the main cytokines in relation to clinical and metabolic parameters in patients with association of CAD and T2DM.

MATERIALS AND METHODS: An observational single-center single-stage comparative study was conducted. The severity of atherosclerosis was assessed by calculating the Gensini Score index after coronary angiography. Absolute numbers and frequencies of CD4+CD25^{hi}FoxP3+ and CD4+CD25^{lo}FoxP3+ T-lymphocytes were assessed in peripheral blood by flow cytometry. Imaging flow cytometry was used to determine the degree of FoxP3 translocation to the cell's nucleus.

Concentration of cytokines in blood serum and supernatants of mononuclear leukocytes' cultures was determined by the multiplex analysis.

RESULTS: We recruited 57 patients with chronic CAD. Of these, T2DM was diagnosed in 22 patients. In patients with CAD and T2DM, the absolute numbers and frequencies of FoxP3+CD25^{lo} cells were increased compared to patients with CAD without diabetes (1.15 (0.98; 1.73) vs. 0.96 (0.60; 1.15)% ($p=0.046$); 1.48 (1.05; 1.97) vs. 1.07 (0.71; 1.42) $\times 10^7/L$ ($p=0.025$)). Patients with T2DM also had a higher level of translocation of FoxP3 to the nucleus of FoxP3+CD25^{lo} cells (92.0 (86.4; 95.0) vs. 88.7 (80.0; 91.4)%, $p=0.040$) and increased concentration of the chemokine CCL22 both in blood serum (912 (828; 1061) vs. 669 (585; 738) pg/mL, $p=0.022$) and supernatants of LPS-stimulated mononuclear leukocyte cultures (1189 (851; 1310) vs. 539 (437; 949) pg/mL, $p=0.038$), which correlated with the presence of CD4+CD25^{hi}FoxP3+ cells ($R_s=0.587$; $p=0.044$) and the triglyceride/glucose index ($R_s=0.587$; $p=0.044$). The identified changes were most pronounced in patients with moderately elevated values on the Gensini Score (17–45 points).

CONCLUSION: We are the first to show association between the numbers of FoxP3+CD25^{lo}-lymphocytes in peripheral blood and an increase in the nuclear translocation of FoxP3 in them with the severity of atherosclerosis in patients with association of CAD and T2DM. These data justify the necessity of the further investigation of the diagnostic significance of FoxP3+CD25^{lo}-cells as biomarkers of tissue inflammation.

KEYWORDS: atherosclerosis; diabetes mellitus type 2; FoxP3+ T-lymphocytes; CCL22 chemokine; Gensini Score

ОБОСНОВАНИЕ

Атеросклероз представляет собой хроническое заболевание, сопровождающееся накоплением липидов и воспалением в стенке сосуда. Развитие атеросклероза и сахарного диабета (СД) взаимосвязано на клеточном, молекулярном и эпигенетическом уровнях. При этом для пациентов с СД характерно осложненное и быстро прогрессирующее течение атеросклероза [1]. Пациентам с недостаточным контролем гликемии свойственен более высокий риск развития сосудистых событий, чем для тех, у которых целевой уровень гликемии был достигнут [2].

Как известно, хроническое низкоинтенсивное воспаление является общей патофизиологической особенностью и атеросклероза, и СД 2 типа (СД2) [1]. Учитывая, что ряд терапевтических подходов, направленных на подавление воспаления, показал свою эффективность в снижении кардиоваскулярного риска у пациентов с СД и без него [3], важным является понимание закономерностей развития воспаления при атеросклерозе и их взаимосвязи с метаболическим статусом больных.

Интерес представляют Т-регуляторные (Treg) лимфоциты, которые за счет различных межклеточных взаимодействий, секреторной активности и метаболического репрограммирования способны ограничивать воспаление и развитие атеросклероза [4]. По мере прогрессирования атеросклероза происходит накопление Treg-лимфоцитов в бляшке, где они регулируют сложные межклеточные взаимоотношения, включая подавление активности провоспалительных Т-клеточных субпопуляций, переключение фенотипа макрофагов, снижение эффективности презентации антигена, стимуляцию пролиферации гладкомышечных клеток и увеличение продукции коллагена [5].

В соответствии с данными проведенного метаанализа пациенты с СД2 характеризовались снижением содержания CD4+CD25+Foxp3+Treg-лимфоцитов, что еще более усугублялось при наличии макро- и микрососудистых осложнений [6]. Однако в проанализированных работах изучалось только относительное содержание Treg-лимфоцитов, без подсчета их абсолютного количества.

FoxP3 является основным транскрипционным фактором Treg-лимфоцитов и необходим для их созрева-

вания и проявления иммуносупрессорной функции. Было показано, что его локализация внутри клетки может различаться, а перенос в ядро является неотъемлемым атрибутом нормальной активности Treg [7]. В настоящее время сведения о влиянии нарушений метаболизма на уровень переноса FoxP3 в ядро клеток у пациентов с сочетанием атеросклероза и СД2 отсутствуют.

В последнее время появляется все больше сведений о популяции FoxP3+ Т-лимфоцитов, которые практически не несут на своей мембране молекулы CD25, или они присутствуют лишь в малом количестве (FoxP3+CD25^{lo}CD4+ Т-лимфоциты) [7, 8]. Число данных клеток было повышено у пациентов с аутоиммунными заболеваниями, такими как СД 1 типа (СД1) и системная красная волчанка [8]. Выдвигается предположение, что FoxP3+CD25^{lo} Т-клетки могут представлять собой новый клеточный маркер недавнего аутоиммунного или цитокин-опосредованного воспалительного ответа в тканях.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящего исследования стало изучение содержания FoxP3+CD25^{hi} и FoxP3+CD25^{lo} Т-лимфоцитов, доли клеток с внутриядерной локализацией FoxP3 и продукции основных регуляторных цитокинов во взаимосвязи с клинико-метаболическими параметрами у пациентов с сочетанием ишемической болезни сердца (ИБС) и СД2 в сравнении с пациентами с ИБС без СД.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Место проведения. Исследование выполнено в НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск.

Время исследования. В исследование вошли пациенты, обследованные с 03.2021 по 05.2022.

Изучаемые популяции

Для оценки свойств FoxP3+ Т-лимфоцитов были сформированы две выборки пациентов: основная группа и группа сравнения.

Основная группа формировалась с учетом следующих критериев.

Критерии включения:

- мужчины и женщины в возрасте 40–70 лет;
- хроническая ИБС со стабильной стенокардией II–III ФК;
- показания для проведения селективной коронароангиографии;
- СД2.

Критерии исключения:

- любое острое сердечно-сосудистое осложнение или аортокоронарное шунтирование, перенесенные менее 6 мес назад;
- любое острое воспалительное заболевание, перенесенное менее 1 мес назад;
- тяжелая сопутствующая патология или онкологическое заболевание;
- инсулиноотерапия;
- СД1;
- отказ от участия в исследовании.

Группа сравнения формировалась с учетом следующих критериев:

- мужчины и женщины в возрасте 40–70 лет;
- хроническая ИБС со стабильной стенокардией II–III ФК;
- показания для проведения селективной коронароангиографии.

Критерии исключения:

- СД1 и СД2;
- любое острое сердечно-сосудистое осложнение или аортокоронарное шунтирование, перенесенные менее 6 мес назад;
- любое острое воспалительное заболевание, перенесенное менее 1 мес назад;
- тяжелая сопутствующая патология или онкологическое заболевание;
- отказ от участия в исследовании.

Способ формирования выборки из изучаемой популяции

Выборки формировалась путем сплошного включения наблюдений.

Дизайн исследования

Исследование являлось наблюдательным одноцентровым одномоментным сравнительным.

Методы

Диагноз СД2 устанавливался в соответствии с критериями современной классификации СД [9]. Всем пациентам проводилась ангиография на ангиографическом комплексе Artis one и Digitron-3NAC компьютерной системе (Siemens Shenzhen Magnetic Resonance Ltd., Shenzhen, China). Тяжесть коронарного атеросклероза оценивали путем расчета индекса Gensini Score.

Взятие венозной крови проводили утром натощак и через 2 ч после стандартной пищевой нагрузки. Мононуклеарные лейкоциты получали из крови с гепарином методом центрифугирования на градиенте плотности (Histopaque 1077, Sigma Aldrich, США). Для оценки содержания FoxP3+ Т-лимфоцитов клетки окрашивали моноклональными антителами, мечеными флуорохромами: анти-CD4-FITC, анти-CD25-APC, анти-FoxP3-PE (Becton Dickinson, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Пробы анализировали на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с помощью

программного обеспечения CellQuestPro (BD Biosciences, США). Оценку количества клеток с переносом FoxP3 в ядро проводили методом проточной цитометрии с визуализацией (прибор Amnis FlowSight (Luminex, США)) с добавлением в панель моноклональных антител, связанных с красителями, 7-аминоактиномицина D (7-AAD) для окрашивания ядра. Результаты выражали в виде доли положительно окрашенных клеток от искомой популяции клеток в процентах. Рассчитывали абсолютное количество клеток в периферической крови по данным общего анализа крови.

Мононуклеарные лейкоциты периферической крови инкубировали на полной среде RPMI (Sigma, США) в концентрации 10^6 клеток на 1 мл среды при 37 °C и 5% CO₂. Оценивали спонтанную и стимулированную липополисахаридом (ЛПС) (10 мкг/мл; Sigma, США) секрецию цитокинов. Надосадочную жидкость клеточных культур собирали через 24 ч. Определение содержания цитокинов и хемокинов в сыворотке крови и надосадочной жидкости клеточных культур проведено с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ. Мультиплексный анализ проводился на приборе FLEXMAP 3D (Luminex Corporation, США) с использованием набора MILLIPLEX map Human Cytokine/Chemokine Panel I для определения 38 аналитов в соответствии с рекомендациями производителя и программного обеспечения MILLIPLEX Analyst 5.1 (MERCK, Millipore, Milliplex; США).

Концентрацию глюкозы определяли гексокиназным методом. Иммунотурбидиметрическим методом определяли процентное содержание гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) в крови (DiaSys, Германия). В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа определяли содержание инсулина (AccuBind, США). Исследовали липидный спектр крови (содержание общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП), соотношение ХС-ЛНП/ХС-ЛВП) (наборы ЗАО «Диакон-ДС», Россия). Определяли степень инсулинорезистентности путем расчета индекса НОМА (Homeostasis model assessment; глюкоза натощак × инсулин натощак / 22,5) и расчета соотношения ТГ/глюкоза (Ln (ТГ (мг/дл) × глюкоза натощак (мг/дл)/2) [10].

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ STATISTICA 10.0 (StatSoft, США). Для проверки нормальности распределения количественных показателей использовали критерий Шапиро–Уилка. Результаты представляли в виде медианы и межквартильного интервала (Me [Q1; Q3]). Оценку статистической значимости различий количественных показателей в независимых группах пациентов проводили с помощью U-критерия Манна–Уитни. Частоты встречаемости в независимых группах пациентов сравнивали по χ^2 -критерию Пирсона или по точному критерию Фишера. Для оценки взаимосвязи признаков использовали ранговый коэффициент корреляции Спирмена (Rs). Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Этическая экспертиза

Протокол исследования был одобрен на заседании комитета по биомедицинской этике НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 210 от 18.02.2021) и составлен в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование включены 57 пациентов с документированной хронической ИБС, в том числе 22 пациента с СД2, и 35 пациентов без СД, которые составили группу сравнения. На первом этапе у 37 пациентов мы проводили исследование содержания FoxP3+-клеток и продукции цитокинов. На втором этапе исследования у 34 пациентов был проведен анализ транслокации фактора транскрипции FoxP3 в ядро. Характеристика пациентов представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Клиническая характеристика групп пациентов для анализа содержания FoxP3+-клеток и продукции цитокинов

Параметры	Пациенты с сочетанием ИБС и СД2 (n=17)	Пациенты с ИБС без СД (n=20)	p
Пол (муж/жен), n (%)	3/14 (17,6/82,4)	12/8 (60,0/40,0)	0,018
Возраст, лет	65,0 [62,0; 68,0]	64,0 [58,0; 66,0]	0,220
Продолжительность ИБС, лет	5,0 [3,0; 10,5]	4,0 [2,0; 8,0]	0,305
Продолжительность СД2, лет	9,5 [3,0; 12,0]	-	-
АГ, n (%)	17 (100)	20 (100)	0,999
Продолжительность АГ, лет	18,0 [10,5; 35,0]	15,0 [5,0; 21,0]	0,182
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	134,0 [115; 140]	123,0 [112; 134]	0,257
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.	70,0 [64,0; 78,0]	77,0 [65,0; 80,0]	0,257
Курение, n (%)	2 (11,7)	7 (35,0)	0,137
ИМТ, кг/м ²	31,6 [29,7; 34,6]	29,4 [26,2; 31,1]	0,022
Окружность талии, см	103,8 [97,5; 117,5]	98,0 [93,0; 106]	0,142
Gensini Score, баллы	26,5 [15,0; 56,5]	16,8 [2,5; 38,0]	0,311
Статины, n (%)	14 (82,4)	16 (80)	0,998

Примечание. ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД — сахарный диабет; АГ — артериальная гипертензия; ИМТ — индекс массы тела.

Таблица 2. Клиническая характеристика групп пациентов для анализа транслокации фактора FoxP3 в ядро

Параметры	Пациенты с сочетанием ИБС и СД2 (n=12]	Пациенты с ИБС без СД (n=22]	p
Пол (муж/жен), n (%)	7/5 (58,3/41,7)	18/4 (81,8/18,2)	0,224
Возраст, лет	67 [61,5; 70]	61 [55; 66]	0,049
Продолжительность ИБС, лет	8 [3; 9]	3 [2; 9]	0,309
Продолжительность СД2, лет	6 [3; 10,5]	-	-
АГ, n (%)	12 (100)	21 (95,5)	0,999
Продолжительность АГ, лет	17,5 [11; 20]	16 [15; 20]	0,958
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	134 [108; 149]	128 [120; 137]	0,842
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст.	70 [65; 78]	77 [65; 82]	0,220
Курение, n (%)	3 (25)	11 (50)	0,266
ИМТ, кг/м ²	30,7 [26,5; 33,3]	28,0 [25,7; 32,4]	0,423
Окружность талии, см	105,0 [96,0; 113]	100,5 [93,0; 112,0]	0,749
Gensini Score, баллы	30,5 [15,0; 46,0]	30,5 [15,0; 46,0]	0,254
Статины, n (%)	10 (83,3)	19 (86,4)	0,998

Примечание. ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД — сахарный диабет; АГ — артериальная гипертензия; ИМТ — индекс массы тела.

Таблица 3. Основные параметры углеводного и липидного обмена

Показатель	Пациенты с сочетанием ИБС и СД2 (n=22)	Пациенты с ИБС без СД (n=35)	p
Глюкоза натощак, ммоль/л	7,0 [5,9; 7,9]	5,3 [4,9; 5,8]	<0,001
Глюкоза постприандиальная, ммоль/л	9,3 [8,0; 14,1]	6,1 [5,4; 7,0]	<0,001
Инсулин натощак, мкМЕ/мл	5,3 [3,7; 7,5]	5,7 [2,2; 9,3]	0,966
Инсулин постприандиальный, мкМЕ/мл	15,2 [9,8; 26,1]	15,4 [8,8; 39,4]	0,830
Индекс НОМА	1,6 [1,1; 2,2]	1,3 [0,6; 2,1]	0,332
Гликированный HbA _{1c} , %	7,1 [6,5; 8,3]	6,1 [5,7; 6,5]	<0,001
Общий холестерин, ммоль/л	4,1 [3,1; 5,0]	4,1 [3,2; 5,3]	0,678
Триацилглицериды, ммоль/л	1,7 [1,2; 2,0]	1,4 [1,1; 2,2]	0,332
ХС-ЛНП, ммоль/л	2,4 [1,4; 2,9]	2,4 [1,8; 3,2]	0,489
ХС-ЛВП, ммоль/л	1,0 [0,9; 1,3]	1,1 [0,9; 1,2]	0,801
ХС-ЛНП/ХС-ЛВП	1,8 [1,5; 2,9]	2,2 [1,5; 3,1]	0,430
ТГ/ХС-ЛВП	1,6 [1,3; 1,9]	1,4 [1,0; 2,1]	0,575
Индекс ТГ/глюкоза	4,0 [3,9; 4,1]	3,8 [3,6; 4,0]	0,017

Примечание. НОМА - Homeostasis Model Assessment; ХС-ЛНП — холестерин липопротеинов низкой плотности; ХС-ЛВП — холестерин липопротеинов высокой плотности; ТГ — триглицериды; ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД — сахарный диабет.

Все пациенты находились на регулярной кардиоактивной терапии, приближающейся к оптимальной. Уровень артериального давления (АД) на фоне проводимого лечения не превышал 140/90 мм рт.ст. Существенных межгрупповых различий в использовании основных групп кардиоактивных препаратов не обнаружено. Сахароснижающая терапия у пациентов с СД2 включала бигуаниды (86,4%), препараты сульфонилмочевины (63,6%) и глиптины (13,6%).

В исследуемых на содержание в крови FoxP3+-клеток независимых группах пациентов количественные соотношения мужчин и женщин были сопоставимы: среди пациентов с СД2 было 3 мужчин и 14 женщин, а среди пациентов с ИБС без СД2 — 12 мужчин и 8 женщин (табл. 1), причем женщины характеризовались большим индексом массы тела (ИМТ). В группах пациентов, у которых мы исследовали перенос фактора FoxP3 в ядро, пациенты с СД2 были несколько старше, чем пациенты без диабета (табл. 2). Наблюдаемые различия соответствуют закономерностям, наблюдаемым в популяции в целом [10], поэтому при дальнейшем анализе мы провели коррекцию показателя FoxP3+-лимфоциты на имеющиеся межгрупповые различия по полу, возрасту и ИМТ.

Группа пациентов с СД2 характеризовалась более высокими значениями индекса ТГ/глюкоза, косвенно отражающего уровень инсулинорезистентности, по сравнению с группой пациентов с ИБС без СД (табл. 3).

Мы выявили повышение абсолютного содержания лимфоцитов в группе с сочетанием ИБС и СД2 (табл. 4). Группа пациентов с ИБС и СД2 характеризовалась более высоким абсолютным содержанием общей субпопуляции FoxP3+CD4+-лимфоцитов и FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов (табл. 4). После коррекции показателей по полу и ИМТ содержание лимфоцитов оказалось сопоставимым, в то время как абсолютное содержание FoxP3+CD4+-лимфоцитов и FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов и доля FoxP3+CD25^{lo}-клеток у пациентов с СД2

были выше, чем у пациентов без СД (табл. 4). Увеличение содержания субпопуляции FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов, но не классических FoxP3+CD25^{lo} Treg-лимфоцитов у пациентов с ИБС при наличии СД2 соответствует изменениям при воспалительных аутоиммунных патологиях [8].

При изучении внутриядерной транслокации FoxP3 в группе пациентов с сочетанием ИБС и СД2 наблюдалось увеличение относительного количества FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов и абсолютного количества как FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов, так и FoxP3+CD25^{hi}-лимфоцитов с внутриядерным расположением FoxP3 по сравнению с пациентами без СД (табл. 5). После коррекции показателей по возрасту единственным параметром, по которому различались пациенты с наличием и отсутствием СД2, оказалась доля FoxP3+CD25^{lo}-клеток с FoxP3, расположенным в ядре (табл. 5). Таким образом, мы впервые показали не только увеличение содержания данных клеток, но и изменение их функционального потенциала по сравнению с пациентами без СД.

Пациенты с сочетанием ИБС и СД2 характеризовались увеличением сыывороточного содержания хемокина CCL22 (C-C Motif Chemokine Ligand 22) и TNF-α, а также увеличением содержания CCL22 в надосадочной жидкости суточных культур мононуклеарных лейкоцитов, стимулированных ЛПС (рис. 1), что свидетельствует о вкладе клеток периферической крови в изменение системной концентрации данного хемокина.

В общей группе пациентов с ИБС мы выявили взаимосвязь средней силы между концентрацией CCL22 в надосадочной жидкости суточных культур мононуклеарных лейкоцитов, стимулированных ЛПС, и значениями индекса ТГ/глюкоза ($R_s=0,620$; $p=0,024$), а также между относительным количеством FoxP3+CD25^{hi}-лимфоцитов в периферической крови и сыывороточной концентрацией CCL22 ($R_s=0,587$; $p=0,044$).

Только у пациентов без СД имелась тенденция к взаимосвязи Gensini Score с относительным количеством

Таблица 4. Содержание FoxP3+ Т-лимфоцитов в периферической крови

Показатели	Пациенты с сочетанием ИБС и СД2 (n=15)	Пациенты с ИБС без СД (n=20)	p
Лимфоциты, %	38,2 [34,4; 41,2]	33,7 [26,3; 45,1]	0,118
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	2,6 [2,4; 2,8]	2,2 [1,7; 2,5]	0,005
FoxP3+CD4+, %	3,38 [2,27; 4,23]	2,28 [1,86; 3,67]	0,107
FoxP3+CD4+, $\times 10^7/\text{л}$	4,82 [3,27; 5,73]	2,93 [1,80; 4,90]	0,020
FoxP3+CD25 ^{hi} , %	1,69 [1,18; 2,25]	1,39 [0,95; 2,56]	0,382
FoxP3+CD25 ^{hi} , $\times 10^7/\text{л}$	2,80 [1,93; 3,28]	1,87 [1,16; 2,62]	0,179
FoxP3+CD25 ^{lo} , %	1,66 [1,34; 2,46]	1,18 [0,81; 1,51]	0,080
FoxP3+CD25 ^{lo} , $\times 10^7/\text{л}$	1,24 [0,90; 1,77]	0,84 [0,65; 1,27]	0,008
Показатели после коррекции по полу и ИМТ			
Лимфоциты, %	35,5 [33,0; 36,9]	37,3 [27,1; 44,4]	0,598
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	2,5 [2,2; 2,7]	2,2 [2,0; 2,5]	0,133
FoxP3+CD4+, %	2,72 [1,97; 4,06]	2,27 [1,76; 2,61]	0,114
FoxP3+CD4+, $\times 10^7/\text{л}$	3,53 [2,42; 4,69]	2,24 [1,80; 3,57]	0,036
FoxP3+CD25 ^{hi} , %	1,52 [1,05; 2,30]	1,33 [0,90; 2,38]	0,419
FoxP3+CD25 ^{hi} , $\times 10^7/\text{л}$	2,21 [1,94; 3,28]	1,41 [1,09; 2,64]	0,122
FoxP3+CD25 ^{lo} , %	1,15 [0,98; 1,73]	0,96 [0,60; 1,15]	0,046
FoxP3+CD25 ^{lo} , $\times 10^7/\text{л}$	1,48 [1,05; 1,97]	1,07 [0,71; 1,42]	0,025

Примечание. ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД — сахарный диабет; ИМТ — индекс массы тела; процент клеток указан от общего количества CD4+ Т-лимфоцитов.

Таблица 5. Распределение клеток по субклеточной локализации FoxP3

Показатели	Пациенты с сочетанием ИБС и СД2 (n=12)	Пациенты с ИБС без СД (n=22)	p
FoxP3+CD25 ^{hi} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, %	98,4 [97,8; 98,7]	97,8 [95,8; 98,2]	0,131
FoxP3+CD25 ^{hi} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, $\times 10^7/\text{л}$	7,1 [4,7; 9,7]	4,2 [2,6; 6,7]	0,036
FoxP3+CD25 ^{lo} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, %	95,9 [90,0; 97,3]	85,4 [80,6; 92,0]	0,004
FoxP3+CD25 ^{lo} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, $\times 10^7/\text{л}$	1,5 [0,6; 2,5]	0,8 [0,5; 1,0]	0,048
Показатели после коррекции по возрасту			
FoxP3+CD25 ^{hi} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, %	99,1 [97,8; 99,6]	98,0 [96,0; 99,0]	0,113
FoxP3+CD25 ^{hi} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, $\times 10^7/\text{л}$	5,7 [5,2; 10,6]	4,2 [3,3; 6,5]	0,175
FoxP3+CD25 ^{lo} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, %	92,0 [86,4; 95,0]	88,7 [80,0; 91,4]	0,040
FoxP3+CD25 ^{lo} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, $\times 10^7/\text{л}$	0,9 [0,7; 1,3]	0,8 [0,4; 1,1]	0,152

Примечание. ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД — сахарный диабет; процент клеток указан от общего количества FoxP3+CD25^{hi}- и FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов, соответственно.

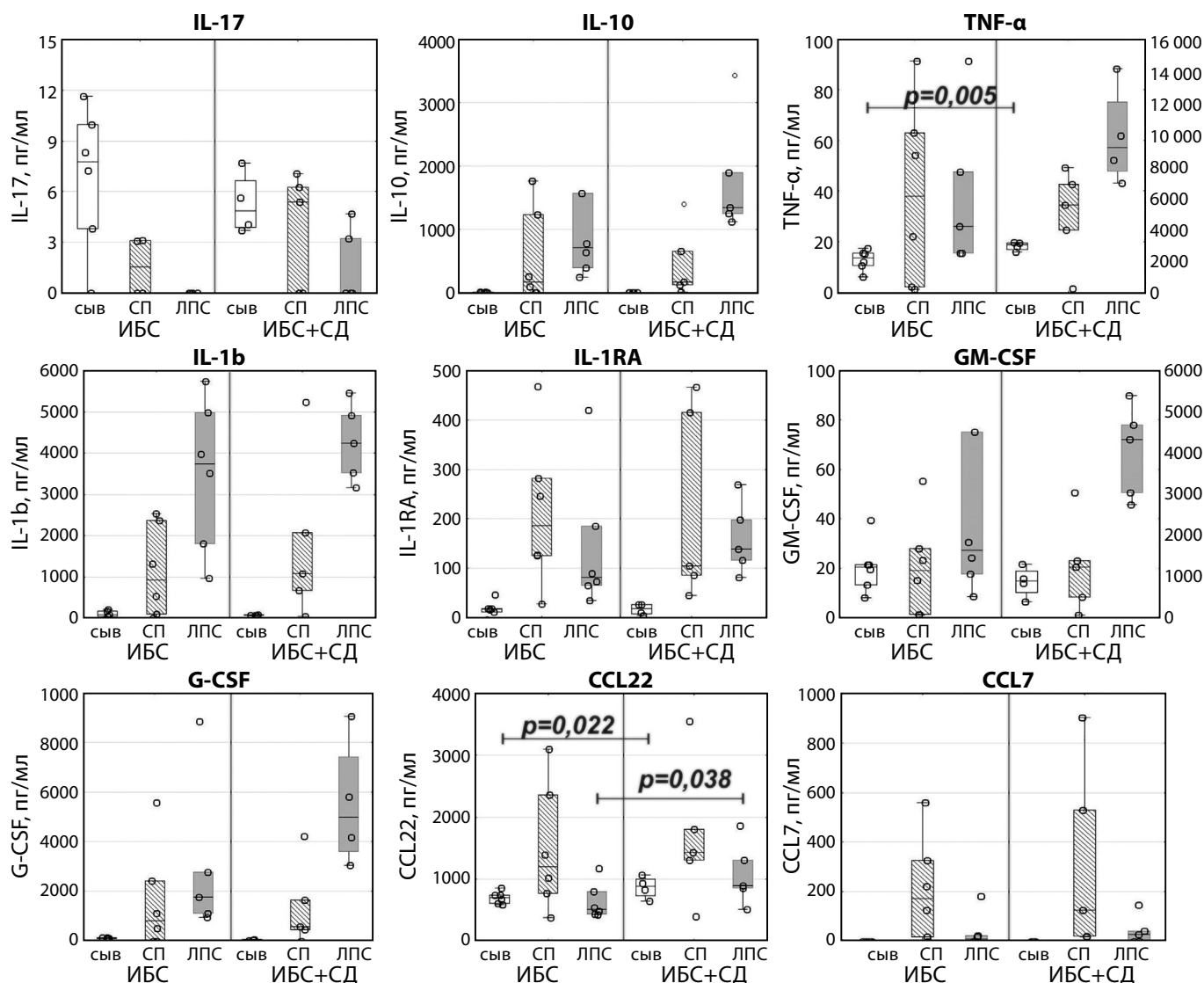


Рисунок 1. Содержание ключевых цитокинов и хемокинов в сыворотке и надосадочной жидкости суточных культур мононуклеарных лейкоцитов.

Примечание. IL-17 — интерлейкин-17, IL-10 — интерлейкин-10, TNF- α — фактор некроза опухолей α , IL-1b — интерлейкин-1b, IL-1RA — интерлейкин-1RA, GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, G-CSF — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, CCL22 — C-C-хемокиновый лиганд 22, CCL7 — C-C-хемокиновый лиганд 7.

FoxP3+CD25^{hi} Treg-клеток с внутриядерным расположением FoxP3 ($R_s=-0,471$; $p=0,076$). При сочетании ИБС с СД2 наиболее сильная взаимосвязь была выявлена между Gensini Score и абсолютным количеством лимфоцитов ($R_s=0,564$; $p=0,015$), а также содержанием ХС-ЛВП ($R_s=-0,515$; $p=0,029$).

Мы разделили всю группу пациентов с ИБС на подгруппы в зависимости от величины тертилей Gensini Score: первый тертиль (Gensini Score < 17 баллов; низкие значения Gensini Score); второй тертиль (Gensini Score 17–45 баллов; средние значения Gensini Score); третий тертиль (Gensini Score > 45 баллов; высокие значения Gensini Score). Следует отметить, что тертили в нашей выборке оказались близкими к таковым в крупномасштабных исследованиях [11].

У пациентов с СД2 и без СД различались значения индекса ТГ/глюкоза (у пациентов первого тертиля) (табл. 6), тогда как межгрупповых различий метаболических показателей в зависимости от величины Gensini Score у пациентов с СД выявлено не было (табл. 6).

При анализе данных проточной цитометрии и проточной цитометрии с визуализацией оказалось, что для пациентов с ИБС и СД2 со средними значениями Gensini

Score (2-й тертиль Gensini Score) была характерна тенденция к увеличению абсолютного содержания FoxP3+CD25^{hi} и FoxP3+CD25^{lo} Т-клеток с FoxP3, расположенных в ядре, по сравнению с пациентами с низкими значениями Gensini Score, а также увеличению абсолютного содержания FoxP3+CD25^{lo} Т-лимфоцитов, содержания FoxP3+CD25^{hi} и FoxP3+CD25^{lo} Т-клеток с переносом FoxP3 в ядро и относительного содержания FoxP3+CD25^{lo} Т-клеток с переносом FoxP3 в ядро по сравнению с пациентами без СД (табл. 7). У пациентов со средними значениями Gensini Score без диабета мы выявили тенденцию к снижению относительного содержания FoxP3+CD25^{lo} Т-лимфоцитов по сравнению с пациентами с низкими значениями Gensini Score (табл. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ

Большинство сведений о функционировании FoxP3+ Т-регуляторных лимфоцитов опирается на оценку их процентного содержания и не учитывает субпопуляцию FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов [5]. В нашем пилотном исследовании мы впервые выявили увеличение абсолютного содержания FoxP3+ Т-лимфоцитов у пациентов

Таблица 6. Параметры углеводного и липидного обмена в зависимости от величины Gensini Score у пациентов с наличием и отсутствием сахарного диабета 2 типа

Параметр	Gensini Score <17 баллов (1-й тертиль)		Gensini Score 17–45 баллов (2-й тертиль)		Gensini Score >45 баллов (3-й тертиль)	
	ИБС+СД2	ИБС	ИБС+СД2	ИБС	ИБС+СД2	ИБС
Глюкоза натощак, ммоль/л	6,8 [5,7; 8,5]#	5,1 [4,8; 5,4]	7,2 [6,7; 8,1]#	5,3 [5,1; 5,8]	6,0 [5,9; 7,3]	5,7 [5,2; 6,3]
Глюкоза постпрандиальная, ммоль/л	13,4 [8,5; 14,1]#	5,5 [5,0; 6,7]	10,2 [8,7; 14,4]#	5,9 [5,5; 6,9]	7,7 [6,6; 12,3]	6,4 [5,9; 8,6]
Инсулин натощак, мкМЕ/мл	8,3 [7,3; 10,2]	9,0 [7,3; 12,2]	5,4 [4,0; 6,4]	5,4 [4,4; 6,1]	4,1 [2,9; 7,7]	2,2 [1,8; 5,6]*
Инсулин постпрандиальный, мкМЕ/мл	15,5 [15,3; 27,5]	17,1 [11,0; 41,3]	22,4 [13,0; 33,3]	13,0 [10,5; 37,5]	11,1 [5,8; 15,4]	10,1 [7,1; 27,0]
Индекс НОМА	2,6 [2,2; 4,2]	2,0 [1,6; 2,9]	1,8 [1,4; 2,1]	1,3 [1,3; 1,5]	1,2 [1,0; 1,3]	0,6 [0,5; 1,3]*
Гликированный HbA _{1c} , %	7,1 [5,6; 11,3]	6,2 [5,8; 6,9]	7,3 [6,3; 8,3]#	5,7 [5,5; 6,1]*	7,2 [6,5; 11,2]#	6,2 [6,0; 6,6]**
Общий холестерин, ммоль/л	3,8 [3,3; 5,6]	5,2 [4,3; 6,3]	4,5 [3,5; 4,7]	3,8 [3,3; 5,2]	3,3 [2,9; 5,3]	3,9 [3,1; 4,3]*
Триацилглицериды, ммоль/л	2,1 [2,0; 2,3]	1,3 [1,1; 1,3]	1,6 [1,1; 1,8]	1,4 [1,2; 1,7]	1,5 [1,0; 2,0]	1,5 [1,1; 2,1]
ХС-ЛНП, ммоль/л	2,0 [1,5; 2,9]	3,2 [2,5; 4,1]	2,5 [1,8; 2,9]	2,3 [1,4; 2,7]	1,9 [1,3; 3,5]	1,9 [1,8; 2,4]*
ХС-ЛВП, ммоль/л	1,1 [1,0; 1,3]	1,1 [1,0; 1,3]	1,0 [0,9; 1,6]	1,1 [0,9; 1,2]	1,0 [0,7; 1,1]	1,0 [0,9; 1,1]
ХС-ЛНП/ХС-ЛВП	1,8 [1,6; 2,2]	2,8 [1,8; 3,4]	2,1 [1,3; 3,0]	2,2 [1,3; 3,3]	1,9 [1,8; 3,0]	1,9 [1,8; 2,4]
ТГ/ХС-ЛВП	1,7 [1,3; 2,6]	1,1 [0,8; 2,9]	1,7 [0,7; 2,0]	1,3 [1,1; 1,8]	1,4 [1,3; 2,0]	1,8 [1,0; 2,1]
Индекс ТГ/глюкоза	4,0 [4,0; 4,2]#	3,8 [3,6; 4,0]	3,9 [3,8; 4,1]	3,8 [3,7; 3,9]	3,9 [3,8; 4,0]	4,0 [3,6; 4,1]

Примечание. ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД — сахарный диабет; ХС-ЛНП — холестерин липопротеинов низкой плотности; ХС-ЛВП — холестерин липопротеинов высокой плотности; ТГ — триглицериды; * — $p < 0,05$ с учетом поправки Бонферрони по сравнению с 1-м тертилем; ** — $p < 0,05$ с учетом поправки Бонферрони по сравнению со 2-м тертилем; # — $p < 0,05$ по сравнению с пациентами с ИБС без СД2 из одного и того же тертиля Gensini Score.

с сочетанием ИБС и СД2 по сравнению с пациентами с ИБС без нарушений углеводного обмена. Это было обусловлено в первую очередь увеличением содержания субпопуляции FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов, которой до настоящего времени уделялось мало внимания.

Ferreira R.C. и соавт. (2017) показали, что эти клетки обладают схожими чертами с Treg-лимфоцитами, такими как деметилирование FoxP3, конститутивная экспрессия транскрипционного фактора Helios (маркер Treg тимического происхождения) в большинстве клеток и неспособность к продукции цитокина IL-2 [8]. Отличием от конвенционных CD127^{lo}CD25^{hi}FoxP3+ Treg-лимфоцитов являлась сниженная экспрессия Treg-ассоциированных молекул (FoxP3 и CTLA-4). Из чего авторы сделали вывод о том, что эти клетки являются заключительной стадией жизненного цикла Treg-лимфоцитов. Причем хроническая стимуляция в ходе активного аутоиммунного воспаления приводит к увеличению их количества [8].

В соответствии с полученными нами данными более выраженное хроническое низкоинтенсивное воспаление при СД2, проявляющееся у обследованных пациентов с ИБС увеличением сывороточной концентрации TNF- α , ассоциируется также с увеличением абсолютного количества FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов в периферической крови и сопровождается увеличением переноса FoxP3 в их ядро. Ранее сведений об увеличении содержания данной клеточной субпопуляции у пациентов с СД2 получено не было. В то же время показано, что для пациентов с СД2 характерно снижение относительного содержания CD4+CD25+FOXP3+ Treg-лимфоцитов [12]. Другой группой исследователей было обнаружено, что содержание Treg-лимфоцитов снижается при продолжительности СД2 более 10 лет [13]. Медиана длительности СД у пациентов, вошедших в наше исследование, была менее 10 лет, но превышала 5 лет. Можно предположить, что выявленное нами увеличение количества FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов является промежуточным этапом и свидетельствует об истощении регуляторного

Таблица 7. Характеристика FoxP3+CD25^{hi}- и FoxP3+CD25^{lo}-клеток в зависимости от величины Gensini Score у пациентов с наличием и отсутствием сахарного диабета 2 типа

Параметр	Gensini Score <17 баллов (1-й тертиль)		Gensini Score 17–45 баллов (2-й тертиль)		Gensini Score >45 баллов (3-й тертиль)	
	ИБС+СД2	ИБС	ИБС+СД2	ИБС	ИБС+СД2	ИБС
FoxP3+CD4+, %	2,6 [2,4; 2,7]	2,3 [2,0; 2,7]	2,4 [1,6; 4,6]	2,1 [1,7; 2,6]	3,6 [2,8; 4,9]	1,7 [0,6; 2,7]
FoxP3+CD4+, ×10 ⁷ /л	2,4 [2,2; 3,7]	2,1 [1,8; 2,8]	3,5 [2,5; 7,3]	2,9 [2,0; 3,7]	4,1 [3,4; 5,2]	2,4 [1,0; 4,5]
FoxP3+CD25 ^{hi} , %	1,5 [1,1; 1,9]	1,3 [1,0; 1,6]	1,5 [1,0; 2,1]	2,1 [1,4; 3,1]	2,0 [1,5; 2,7]	1,2 [0,5; 1,8]
FoxP3+CD25 ^{hi} , ×10 ⁷ /л	1,9 [1,3; 3,1]	1,3 [1,0; 1,6]	2,9 [2,0; 4,0]	2,0 [1,2; 3,9]	2,1 [2,0; 3,0]	1,7 [1,0; 3,1]
FoxP3+CD25 ^{lo} , %	1,1 [1,1; 1,2]	1,3 [1,0; 1,2]	1,4 [1,0; 1,7]	0,6 [0,5; 1,1]*	1,4 [1,0; 1,9]	0,6 [0,4; 0,8]
FoxP3+CD25 ^{lo} , ×10 ⁷ /л	1,1 [1,0; 1,1]	1,3 [0,9; 1,4]	1,7 [1,4; 2,1]#	0,8 [0,6; 0,9]	1,7 [1,4; 2,4]	1,0 [0,6; 1,6]
FoxP3+CD25 ^{hi} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, %	98,7 [97,8; 99,9]	98,9 [98,4; 99,2]	99,6 [99,1; 99,6]	97,9 [95,8; 99,7]	98,6 [97,9; 99,3]	97,9 [97,3; 98,2]
FoxP3+CD25 ^{hi} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, ×10 ⁷ /л	5,0 [1,4; 5,3]	3,7 [2,8; 5,9]	7,6 [7,0; 13,5]*#	6,2 [2,2; 6,8]	5,3 [2,7; 14,1]	3,7 [3,4; 5,4]
FoxP3+CD25 ^{lo} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, %	82,8 [79,7; 91,5]	88,1 [84,3; 90,0]	94,7 [92,7; 95,3]#	88,7 [70,2; 91,4]	92,4 [74,5; 100]	90,2 [85,1; 92,1]
FoxP3+CD25 ^{lo} клетки с внутриядерной локализацией FoxP3, ×10 ⁷ /л	0,7 [0,6; 0,7]	1,1 [0,8; 1,2]	1,3 [1,2; 1,3]*#	0,8 [0,3; 0,9]	0,8 [0,6; 2,9]	0,5 [0,4; 1,1]

Примечание. ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД — сахарный диабет; * — $p < 0,1$ с учетом поправки Бонферрони по сравнению с 1-м тертилем; # — $p < 0,05$ по сравнению с пациентами ИБС без СД2 из одного и того же тертиля Gensini Score.

потенциала иммунной системы. Мы полагаем, что увеличение содержания FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов можно рассматривать в качестве перспективного клеточного маркера хронического низкоинтенсивного воспаления у пациентов с сочетанием ИБС и СД2.

Мы впервые показали, что выявленные изменения характерны в большей степени для пациентов именно с умеренно выраженным атеросклерозом. На начальных этапах развития атеросклероза, при низких значениях Gensini Score, содержание FoxP3+-лимфоцитов и уровень внутриядерного содержания FoxP3 в них были сопоставимыми с таковыми у пациентов без диабета. Вероятно, на данном этапе развития заболевания мобилизация и активация Т-лимфоцитов еще не проявляются в достаточной мере. Мы не выявили значимых различий и при высоких значениях Gensini Score, вероятно, в связи с тем, что мобилизационный резерв и способность к активации Т-регуляторного звена начинают истощаться. Для подтверждения данной гипотезы необходимо изучение клеточного состава атеро-

склеротических бляшек, что в данной группе пациентов со стабильной ИБС не представлялось возможным. Примечательно, что у пациентов с ИБС без СД имела место даже тенденция к снижению содержания FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов по мере увеличения выраженности атеросклероза, что говорит о принципиальных отличиях состояния регуляторных механизмов иммунного ответа при наличии нарушений углеводного обмена у пациентов с ИБС.

Одним из вероятных патогенетических звеньев, способствующих мобилизации FoxP3+-лимфоцитов у пациентов с СД2, может являться изменение продукции хемокина CCL22, концентрация которого была увеличена в сыворотке и надосадочной жидкости ЛПС-стимулированных культур лейкоцитов при наличии СД. Известно, что CCL22 является основным хемоаттрактантом FoxP3+ Трег-лимфоцитов [14]. Уровень инсулинорезистентности может оказывать непосредственное влияние на продукцию CCL22, учитывая выявленную нами взаимосвязь между стимулированной ЛПС продукцией

CCL22 мононуклеарными лейкоцитами и индексом ТГ/глюкоза у пациентов. Показано, что низкая частота Treg-лимфоцитов ассоциировалась с дестабилизацией атеросклеротических бляшек у экспериментальных животных [15]. Можно предположить, что при СД2 наблюдается CCL22-опосредованное нарушение привлечения Treg-лимфоцитов в атерому, что в конце концов способствует дефициту Treg в стенке сосуда, увеличению воспаления и прогрессированию атеросклероза [6]. Данное предположение также находится на уровне гипотезы и требует подтверждения в будущих исследованиях.

Ограничения исследования

Ограничениями исследования являются небольшой объем выборки пациентов и его наблюдательный одномоментный дизайн. Проведение данного пилотного исследования позволило подтвердить необходимость изучения субпопуляций FoxP3+CD25^{hi}-лимфоцитов и FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов в большей группе больных. Кроме того, проведение проспективного исследования в дальнейшем позволило бы сделать заключение о возможности определения FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов в качестве биомаркера, ассоциированного с благоприятным или неблагоприятным прогнозом у пациентов.

Направления дальнейших исследований

Полученные результаты о различном содержании FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов у пациентов с СД2 в зависимости от величины Gensini Score не исключают того, что тактика лечения пациентов при наличии СД2 на разных этапах развития атеросклероза может различаться. Известно, что ряд сахароснижающих препаратов могут оказывать влияние на работу иммунной системы. Подавляющее большинство пациентов с СД2 в нашем исследовании получали сахароснижающую терапию, включая метформин (86,4% пациентов). Имеющиеся данные о наличии у метформина иммуномодулирующих эффектов являются противоречивыми. В ряде исследований было обнаружено его стимулирующее влияние на экспрессию FoxP3 [16], в то время как у онкологических пациентов назначение метформина, напротив, приводило к снижению содержания FoxP3+ Т-лимфоцитов в опухоли [17]. Целесообразно

проведение дополнительных исследований, направленных на изучение влияния бигуанидов на свойства FoxP3+ Т-лимфоцитов у пациентов с сочетанием ИБС и СД2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пациенты с сочетанием ИБС и СД2 характеризуются увеличением относительного и абсолютного содержания FoxP3+CD25^{lo}-лимфоцитов в периферической крови и повышением внутриядерного содержания FoxP3 в них, что наиболее выражено у пациентов с умеренным атеросклерозом (Gensini Score 17–45 баллов). Выявленные изменения взаимосвязаны с повышением продукции хемокина CCL22 и степенью инсулинорезистентности и не исключают в дальнейшем возможность разработки различных подходов к терапии пациентов с ИБС и СД2 в зависимости от тяжести коронарного атеросклероза и содержания FoxP3+CD25^{lo}-клеток.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках фундаментального научного исследования №122020300043-1.

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

Участие авторов. Кологривова И.В. — концепция, получение, анализ данных, интерпретация результатов, написание статьи; Кошельская О.А. — концепция, анализ данных, редактирование рукописи; Суслова Т.Е. — концепция, дизайн исследования, редактирование рукописи; Харитонов О.А. — получение клинических данных, внесение в рукопись правок; Трубачева О.А. — получение лабораторных данных, внесение в рукопись правок; Кравченко Е.С. — получение лабораторных данных, внесение в рукопись правок; Дмитриуков А.А. — получение лабораторных данных, внесение в рукопись правок; Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Марголис Н.Ю., специалисту по биомедицинской статистике, за помощь в обработке данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Poznyak A, Grechko AV, Poggio P, et al. The diabetes mellitus-atherosclerosis connection: The role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation. *Int J Mol Sci*. 2020;21(5):1835. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21051835>
- Holman RR, Paul SK, Bethel MA, et al. 10-Year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008;359(15):1577-1589. doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0806470>
- Ridker PM, Howard CP, Walter V, et al. Effects of interleukin-1β inhibition with canakinumab on hemoglobin A1c, lipids, C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen. *Circulation*. 2012;126(23):2739-2748. doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.122556>
- Foks AC, Lichtman AH, Kuiper J. Treating atherosclerosis with regulatory T Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(2):280-287. doi: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303568>
- Ou Hx, Guo Bb, Liu Q, et al. Regulatory T Cells as a new therapeutic target for atherosclerosis. *Acta Pharmacol Sin*. 2018;39(8):1249-1258. doi: <https://doi.org/10.1038/aps.2017.140>
- Qiao Y, Shen J, He L, et al. Changes of regulatory T Cells and of proinflammatory and immunosuppressive cytokines in patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *J Diabetes Res*. 2016;2016(23):1-19. doi: <https://doi.org/10.1155/2016/3694957>
- Magg T, Mannert J, Ellwart JW, et al. Subcellular localization of FOXP3 in human regulatory and nonregulatory T Cells. *Eur J Immunol*. 2012;42(6):1627-1638. doi: <https://doi.org/10.1002/eji.201141838>
- Ferreira RC, Simons HZ, Thompson WS, et al. Cells with Treg-specific FOXP3 demethylation but low CD25 are prevalent in autoimmunity. *J Autoimmun*. 2017;84(23):75-86. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2017.07.009>
- Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом (10-й выпуск) // *Сахарный диабет*. — 2021. — Т. 24. — №51. — С. 1-235. [Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY, et al. Standards of specialized diabetes care. *Diabetes Mellitus*. 2021;24(51):1-235 (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12802>

10. Huebschmann AG, Huxley RR, Kohrt WM, et al. Sex differences in the burden of type 2 diabetes and cardiovascular risk across the life course. *Diabetologia*. 2019;62(10):1761-1772. doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4939-5>
11. Wang K-Y, Zheng Y-Y, Wu T-T, et al. Predictive value of gensini score in the long-term outcomes of patients with coronary artery disease who underwent PCI. *Front Cardiovasc Med*. 2022;8(10):1761-1772. doi: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.778615>
12. Zi C, He L, Yao H, et al. Changes of Th17 cells, regulatory T cells, Treg/Th17, IL-17 and IL-10 in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2022;76(2):263-272. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-022-03043-6>
13. Guzmán-Flores JM, Ramírez-Emiliano J, Pérez-Vázquez V, López-Briones S. Th17 and regulatory T cells in patients with different time of progression of type 2 diabetes mellitus. *Cent Eur J Immunol*. 2020;45(1):29-36. doi: <https://doi.org/10.5114/ceji.2020.94670>
14. Toulza F, Nosaka K, Tanaka Y, et al. Human T-lymphotropic virus type 1-induced CC chemokine ligand 22 maintains a high frequency of functional Foxp3+ regulatory T cells. *J Immunol*. 2010;185(1):183-189. doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903846>
15. Handke J, Kummer L, Weigand MA, Larmann J. Modulation of peripheral CD4+CD25+Foxp3+regulatory T cells ameliorates surgical stress-induced atherosclerotic plaque progression in ApoE-deficient mice. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8(2):263-272. doi: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.682458>
16. Frenkel JDH, Ackart DF, Todd AK, et al. Metformin enhances protection in guinea pigs chronically infected with Mycobacterium tuberculosis. *Sci Rep*. 2020;10(1):16257. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73212-y>
17. Amin D, Richa T, Mollaei M, et al. Metformin effects on FOXP3+ and CD8+ T cell infiltrates of head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2020;130(9):E490-E498. doi: <https://doi.org/10.1002/lary.28336>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Кологривова Ирина Вячеславовна**, к.м.н. [Irina V. Kologrivova, MD, PhD]; адрес: Россия, 634012, Томск, ул. Киевская, д. 111А [address: 111A Kievskaya street, 634012, Tomsk, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4537-0008>; Researcher ID: G-3047-2014; Scopus Author ID: 56072496100; eLibrary SPIN: 6987-2021; e-mail: kiv@cardio-tomsk.ru

Кошельская Ольга Анатольевна, д.м.н., профессор [Olga A. Koshelskaya, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6679-1269>; Researcher ID: M-4339-2016; Scopus Author ID: 6507133262; eLibrary SPIN: 3093-4903; e-mail: koshel@live.ru

Суслова Татьяна Евгеньевна, к.м.н. [Tatiana E. Suslova, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9645-6720>; Researcher ID: M-4339-2016; Scopus Author ID: 7003396715; eLibrary SPIN: 9588-9414; e-mail: tes@cardio-tomsk.ru

Харитонов Ольга Анатольевна [Olga A. Kharitonova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2818-5882>; Researcher ID: GXN-0625-2022; Scopus Author ID: 57208859569; eLibrary SPIN: 7925-8145; e-mail: hoa@cardio-tomsk.ru

Трубачева Оксана Александровна, к.м.н. [Oksana A. Trubacheva, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1253-3352>; Researcher ID: R-6245-2016; Scopus Author ID: 56072599700; eLibrary SPIN: 2570-0511; e-mail: OATrubacheva@cardio-tomsk.ru

Кравченко Елена Сергеевна [Elena S. Kravchenko, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1235-9956>; Researcher ID: L-7723-2016; Scopus Author ID: 56583748500; eLibrary SPIN: 9385-8321; e-mail: nikonovaes@gmail.com

Дмитрюков Алексей Александрович [Alexey A. Dmitriukov]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6924-966X>; Researcher ID: HGE-4159-2022; e-mail: aldmn9k@mail.ru

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

ЦИТИРОВАТЬ:

Кологривова И.В., Кошельская О.А., Суслова Т.Е., Харитонов О.А., Трубачева О.А., Кравченко Е.С., Дмитриуков А.А. Т-лимфоциты FoxP3+ и их взаимосвязь с выраженностью коронарного атеросклероза у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа: пилотное исследование // *Сахарный диабет*. — 2023. — Т. 26. — №3. — С. 213-223. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12980>

TO CITE THIS ARTICLE:

Kologrivova IV, Suslova TE, Koshelskaya OA, Kharitonova OA, Trubacheva OA, Kravchenko ES, Dmitriukov AA. T-lymphocytes FoxP3+ and their interconnection with the severity of coronary atherosclerosis in patients with coronary artery disease and diabetes mellitus type 2: a pilot study. *Diabetes Mellitus*. 2023;26(3):213-223. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12980>