

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-4-57-64>

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ КОЛИЧЕСТВА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК И ЭХОГЕННОСТИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК В СОННЫХ АРТЕРИЯХ

ДОЛГУШИН И.И.*, ГЕНКЕЛЬ В.В., САВОЧКИНА А.Ю., САМУСЕВА И.В., БАТУРИНА И.Л., ЗОТОВА М.А., ЕМЕЛЬЯНОВ И.В., КУЗНЕЦОВА А.С.

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

Резюме

Цель. Изучить взаимосвязи между количеством нейтрофильных внеклеточных ловушек, формируемых циркулирующими нейтрофилами, и эхогенностью атеросклеротических бляшек в сонных артериях.

Материалы и методы. В исследование включали пациентов в возрасте 40–64 лет без установленных атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний, прошедших дуплексное ультразвуковое сканирование артерий каротидного бассейна. В случае выявления атеросклеротических бляшек в продольной проекции достигали наилучшей визуализации атеромы с последующим сохранением изображения и его экспортом. GSM-анализ (GSM – gray scale median, медиана серой шкалы) полученных изображений проводили с использованием программного обеспечения Adobe Photoshop CS6. Для иммунологического исследования использовали венозную кровь, которую забирали в пробирку с литий-гепарином объемом 6 мл. Окрашивание нейтрофилов проводили по описанной ранее методике. Учёт реакции проводили с использованием световой микроскопии. Производили количественный подсчёт сегментоядерных нейтрофилов и нейтрофильных внеклеточных ловушек на 100 клеток.

Результаты. В исследование были включены 72 пациента без установленных атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний. Атеросклеротические бляшки в сонных артериях были выявлены у 69,4% пациентов. GSM атеросклеротических бляшек обратно коррелировала с количеством нейтрофильных внеклеточных ловушек ($r=-0,310$; $p=0,029$). Количество нейтрофильных внеклеточных ловушек у пациентов, имеющих атеросклеротические бляшки с GSM менее 60, было статистически значимо больше в сравнении с пациентами с атеросклеротическими бляшками, имеющими GSM более 60 ($p=0,042$).

Заключение. У пациентов с каротидным атеросклерозом эхогенность атеросклеротических бляшек, оцениваемая с помощью GSM-анализа, обратно коррелировала с количеством нейтрофильных внеклеточных ловушек, формируемых циркулирующими нейтрофилами.

Ключевые слова: атеросклеротические бляшки, GSM-анализ (GSM – gray scale median, медиана серой шкалы), нейтрофильные внеклеточные ловушки.

Конфликт интересов

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

Источник финансирования

Собственные средства.

Для цитирования:

Долгушин И.И., Генкель В.В., Савочкина А.Ю., Самусева И.В., Батурина И.Л., Зотова М.А., Емельянов И.В., Кузнецова А.С. Исследование взаимосвязи количества нейтрофильных внеклеточных ловушек и эхогенности атеросклеротических бляшек в сонных артериях. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2020; 5(4): 57–64. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-4-57-64>

*Корреспонденцию адресовать:

Долгушин Илья Ильич, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, e-mail: henkel-07@mail.ru
© Долгушин И.И. и др.

ORIGINAL RESEARCH

NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS AND ECHOGENICITY OF CAROTID ATHEROSCLEROTIC PLAQUES

ILYA I. DOLGUSHIN **, VADIM V. GENKEL, ALBINA Y. SAVOCHKINA, IRINA V. SAMUSEVA, IRINA L. BATURINA, MARIA A. ZOTOVA, ILYA V. EMEL'YANOV, ALLA S. KUZNETSOVA

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

English ►

Abstract

Aim. To study the association between the number of neutrophil extracellular traps (NETs) formed by circulating neutrophils and echogenicity of carotid atherosclerotic plaques.

Materials and Methods. We enrolled 72 patients (40-64 years of age) without the clinical signs of atherosclerotic vascular disease, who then underwent ultrasound duplex scanning of carotid arteries. Grayscale median analysis of the images was performed using Adobe Photoshop CS6 software. Neutrophils were stained and examined by means of light microscopy to count NETs.

Results. Carotid atherosclerotic plaques were found in 69.4% of asymptomatic patients. Echo-

genicity of atherosclerotic plaques inversely correlated with the number of NETs ($r = -0.310$; $p = 0.029$). The number of NETs in patients with echolucent plaques ($GSM < 60$) was significantly higher in comparison with echogenic plaques ($GSM \geq 60$, $p = 0.042$).

Conclusion. Echogenicity of carotid atherosclerotic plaques inversely correlates with the number of NETs.

Keywords: atherosclerotic plaques, grayscale median analysis, neutrophil extracellular traps.

Conflict of Interest

None declared.

Funding

There was no funding for this project.

For citation:

Ilya I. Dolgushin, Vadim V Genkel, Albina Y. Savochkina, Irina V Samuseva, Irina L. Baturina, Maria A. Zotova, Ilya V. Emelyanov, Alla S. Kuznetsova. Neutrophil extracellular traps and echogenicity of carotid atherosclerotic plaques. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2020;5(4): 57-64. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-4-57-64>

****Corresponding author:**

Dr. Ilya I. Dolgushin, 64, Vorovskogo Street, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation, e-mail: henkel-07@mail.ru

© Ilya I. Dolgushin et al.

Введение

Структурные особенности атеросклеротических бляшек (АСБ) в сонных артериях являются фактором, определяющим риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в различных группах пациентов [1]. Различные неинвазивные методы прижизненной визуализации позволяют идентифицировать разные признаки «нестабильности» атеромы: обширное липидно-некротическое ядро, тонкая покрышка, неоваскуляризация и т.д. [2]. Эхогенность АСБ, оцениваемая при ультразвуковом исследовании, может рассматриваться как интегральный маркер «нестабильности» АСБ [3].

Врожденный иммунитет играет важнейшую роль в эволюции АСБ и ее дестабилизации [4]. В последние несколько лет было установлено, что нейтрофилы могут способствовать деграда-

ции коллагена в атероме, лизису гладкомышечных клеток, истончению покрышки АСБ и эрозии или разрыву атеромы [5,6]. Одним из ключевых механизмов опосредованной нейтрофилами дестабилизации АСБ является формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) [7]. Предполагается, что НВЛ осуществляют коммуникацию нейтрофилов и макрофагов, выполняя роль активатора инфламماسом и стимулируя рекрутирование в сосудистую стенку циркулирующих моноцитов [8].

В настоящее время обсуждается возможность использования НВЛ в качестве маркера атеросклероза и предиктора развития кардиоваскулярных катастроф. Вместе с тем данные о взаимосвязях между способностью циркулирующих нейтрофилов продуцировать НВЛ и эхогенностью АСБ на сегодняшний день отсутствуют.

Цель исследования

Изучить взаимосвязи между количеством НВЛ, формируемых циркулирующими нейтрофилами, и экзогенностью АСБ в сонных артериях.

Материалы и методы

В исследование включали пациентов в возрасте 40–64 лет без установленных атеросклеротических ССЗ, прошедших дуплексное ультразвуковое сканирование (ДУС) 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 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 АССЗ (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 (СКФ) 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. Исследование проводили линейным датчиком с частотой 10 МГц на цифровом ультразвуковом многофункциональном диагностическом сканере «Samsung Medison ЕКО7» (Республика Корея).

АСБ считали фокальное утолщение комплекса интима-медиа более 1,5 мм или на 0,5 мм больше окружающей ТКМ, либо на 50% больше ТКМ прилежащих участков ОСА [9]. Процент стенозирования измеряли планиме-

трически в В-режиме по диаметру в поперечном сечении сосуда согласно методу ECST (The European Carotid Surgery Trial), определяя максимальный процент стеноза у конкретного пациента (МаксСтСА) [10].

В случае выявления АСБ в продольной проекции достигали наилучшей визуализации атеромы с последующим сохранением изображения и его экспортом. GSM-анализ (GSM – gray scale median, медиана серой шкалы) полученных изображений проводили с использованием программного обеспечения Adobe Photoshop CS6 (Adobe System Incorporated, USA) по стандартной методике [11–13]. Для этого проводили нормализацию импортированного изображения, принимая за референсные значения черного цвета просвет сосуда, белого цвета – адвентиции сосуда [14]. После этого определяли модифицированную GSM в зоне интереса, соответствующей АСБ. Этапы GSM-анализа представлены на **рисунке 1**.

Лабораторное исследование

Определяли следующие лабораторные показатели: общий холестерин (ОХС), холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС ЛНП), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС ЛВП), триглицериды (ТГ), гликированный гемоглобин, креатинин с последующим расчетом скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле CKD-EPI.

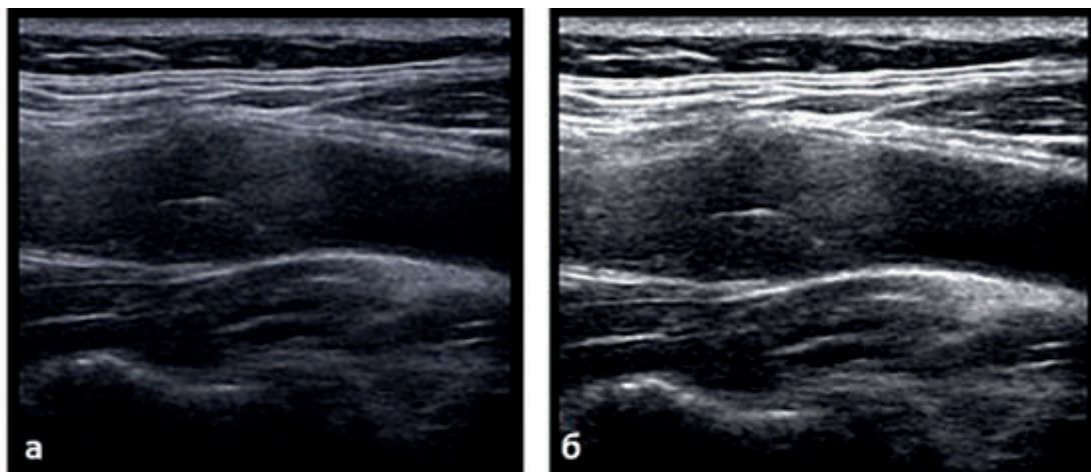
Для иммунологического исследования использовали венозную кровь, которую забирали в пробирку с литий-гепарином объемом 6 мл. Окрашивание нейтрофилов проводили по описанной ранее методике [15]. Учет реакции проводили с использованием световой микроскопии. Производили количественный подсчет сегментоядерных нейтрофилов и НВЛ на 100 клеток.

Статистический анализ

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 [25-й процентиль; 75-й процентиль] в случае несоответствия распределения величины нормальному, средним (M) и стандартным отклонением (SD) – в случае нормального распределения величины. В целях определения взаимосвязей показателей использовали корр-

Рисунок 1.

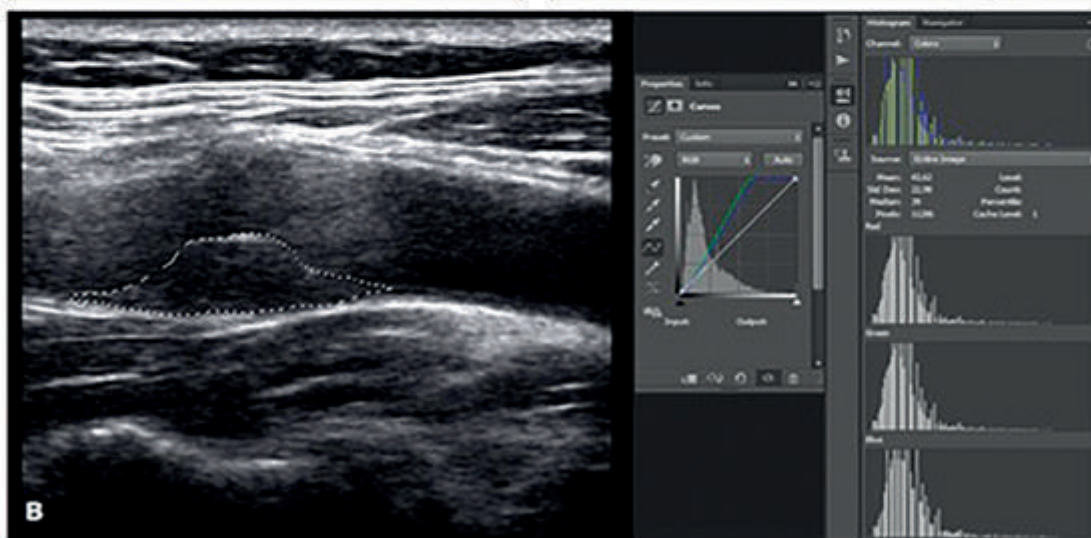
GSM-анализ АСБ: а) экспортированное нативное изображение; б) нормализованное изображение АСБ; в) выделение зоны интереса, соответствующей контурам АСБ, и определение медианы серой шкалы.

**Figure 1.**

Grayscale median analysis of (A) raw image; (B) normalised plaque image; (C) demarcation of the plaque and calculation of the grayscale median.

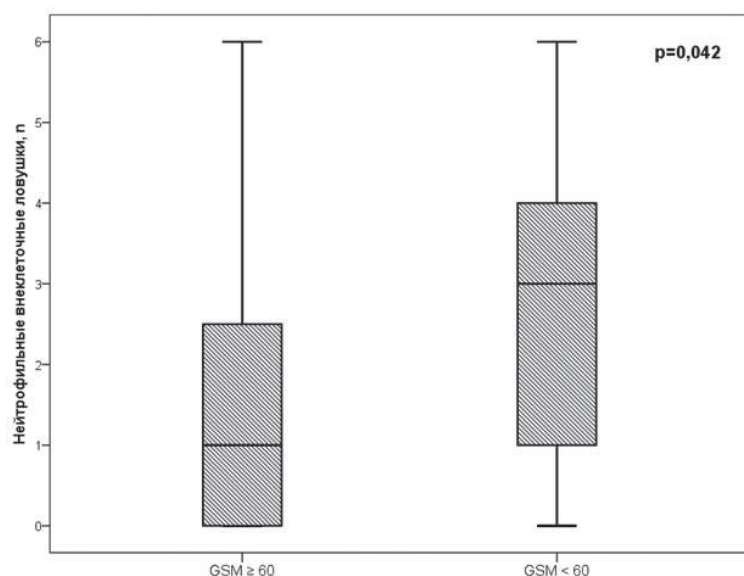
Рисунок 2.

Количество НВЛ в зависимости от эхогенности АСБ в сонных артериях.

**Figure 2.**

Number of neutrophil extracellular traps (NETs) depending on carotid plaque echogenicity.

ляционный анализ Спирмена. Для оценки значимости различий между двумя группами использовали критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при критическом уровне значимости 0,05.



Результаты

В исследование были включены 72 пациента без установленных атеросклеротических ССЗ. Клиническая характеристика пациентов представлена в **таблице 1**.

Результаты ДУС артерий каротидного бассейна представлены в **таблице 2**.

Таким образом, АСБ в сонных артериях были выявлены у 69,4% пациентов. У пациентов, имеющих АСБ в сонных артериях, количество НВЛ статистически значимо не отличалось от пациентов без АСБ ($p=0,969$). С целью выявления взаимосвязей между способностью нейтрофилов продуцировать НВЛ и эхогенностью АСБ в сонных артериях был проведен корреляционный анализ. Было установлено, что GSM АСБ обратно коррелировала с количеством НВЛ ($r=-0,310$; $p=0,029$). Как видно из таблицы 2, медиана значений GSM в исследуемой когорте пациентов составляла 60. Количество НВЛ у пациентов, имеющих АСБ с GSM менее 60, было статистически значимо больше в сравнении с пациентами с АСБ, имеющими GSM АСБ более 60 – 3,00 (1,50; 4,00) про-

Показатели Features	Пациенты Patients (n = 72)
Возраст, лет, Me (ИИ) Age, years, Me	51,5 (44,5; 56,0)
ИМТ, кг/м ² , Me (ИИ) Body mass index, kg/m ² , Me	27,5 (24,8; 30,9)
Ожирение, n (%) Obesity, n (%)	20 (27,7)
Абдоминальное ожирение, n (%) Abdominal obesity, n (%)	43 (61,4)
Курение, n (%) Smoking, n (%)	17 (23,6)
СД 2 типа, n (%) Type 2 diabetes mellitus, n (%)	6 (8,33)
Артериальная гипертензия (АГ), n (%) Arterial hypertension, n (%)	36 (50,0)
Дезагреганты, n (%) Antiplatelet drugs, n (%)	9 (12,5)
Бета-адреноблокаторы, n (%) Beta-blockers, n (%)	17 (23,6)
Ингибиторы РААС, n (%) Angiotensin-converting enzyme inhibitors, n (%)	17 (23,6)
Диуретики, n (%) Diuretics, n (%)	6 (8,33)
Статины, n (%) Statins, n (%)	20 (27,7)
Пероральные сахароснижающие препараты, n (%) Glucose-lowering drugs, n (%)	5 (6,94)
ОХС, ммоль/л, Me (ИИ) Total cholesterol, mmol/L, Me	5,98 (5,18; 6,72)
ХС ЛНП, ммоль/л, Me (ИИ) High-density lipoprotein cholesterol, mmol/L, Me	3,73 (2,96; 4,38)
ХС ЛВП, ммоль/л, Me (ИИ) Low-density lipoprotein cholesterol, mmol/L, Me	1,38 (1,19; 1,61)
ТГ, ммоль/л, Me (ИИ) Triglycerides, mmol/L, Me	1,40 (1,00; 1,86)
Гликированный гемоглобин, %, Me (ИИ) Glycated haemoglobin, %, Me	5,66 (5,23; 6,05)
СКФ, мл/мин/1,73 м ² , Me (ИИ) Glomerular filtration rate, mL/min/1.73 m ² , Me	71,0 (60,0; 89,5)
НВЛ, n, Me (ИИ) Neutrophil extracellular traps, n, Me	2,00 (0,00; 4,00)

Примечания: 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; НВЛ – нейтрофильные внеклеточные ловушки.

Показатели Features	Пациенты Patients (n = 72)
АСБ в сонных артериях, n (%) Carotid atherosclerotic plaques, n (%)	50 (69,4)
МаксСтСА, %, Me (ИИ) Maximum stenosis, %, Me	25,0 (0,00; 34,0)
Стенозы СА ≥ 50%, n (%) > 50% stenosis, n, %	5 (6,94)
GSM, Me (ИИ) Grayscale median, Me	60,0 (46,0; 77,5)

Примечания: СА – сонные артерии; АСБ – атеросклеротические бляшки; МаксСтСА – максимальный стеноз сонных артерий; GSM – grayscale median.

тив 1,00 (0,00; 2,50) (рисунок 2).

Обсуждение

На сегодняшний день НВЛ рассматриваются как одно из связующих звеньев между воспале-

нием, атеросклерозом и атеротромбозом [16]. Результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о том, что нейтрофилы и их способность к формированию НВЛ играют важную роль в дестабилизации АСБ и

Таблица 1.
Сравнительная характеристика полиморфизма UGT1A1 у европеоидных этносов с учетом половой принадлежности.

Table 1.
Allele and genotype frequencies of the rs8175347 polymorphism within the UGT1A1 gene.

Таблица 2.
Результаты ДУС каротидных артерий.

Table 2.
Ultrasound duplex scanning of carotid arteries in asymptomatic patients.

развитии атеротромботических сердечно-сосудистых событий. Так, например, по данным иммуногистохимического анализа коронарных атером было продемонстрировано, что нейтрофилы и НВЛ в большом количестве содержатся во всех типах осложненных АСБ, но не в стабильных бляшках [17]. Кроме того, было обнаружено увеличение содержания нейтрофилов и НВЛ в кластерах апоптоза гладкомышечных и эндотелиальных клеток в АСБ [18,19]. Предполагается, что одним из основных механизмов НВЛ-опосредованной дестабилизации АСБ является активация тканевых провоспалительных М1-макрофагов и дендритных клеток, что приводит к продукции большого количества воспалительных цитокинов, активных форм кислорода и матриксных металлопротеиназ [20,21]. Это, в свою очередь, ведет к увеличению размера липидно-некротического ядра бляшки и уменьшению толщины покрышки атеромы, что существенно увеличивает вероятность ее разрыва или эрозии.

В проведенном исследовании, по имеющимся у нас данным, впервые продемонстрированы обратные корреляционные взаимосвязи между экзогенностью каротидных АСБ и количеством НВЛ, формируемых циркулирующими нейтрофилами. Ранее в исследовании J. Borisoff et al., включавшем 282 пациента с подозрением на стабильную ИБС, увеличение количества циркулирующих маркеров НВЛ (нуклеосомы) являлось независимым предиктором наличия значимых стенозов коронарных артерий [22]. M.S. Langseth et al. установили, что увеличение содержания двухцепочечной ДНК (маркер НВЛ) в сыворотке крови пациентов со стабильной ИБС независимо ассоциировалось с риском развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в течение двух лет

наблюдения [23]. Также была зарегистрирована прогностическая значимость повышенной генерации НВЛ циркулирующими нейтрофилами у пациентов с острым коронарным синдромом [24]. С другой стороны, в представленном исследовании количество НВЛ, формируемых циркулирующими нейтрофилами, у пациентов с каротидным атеросклерозом значимо не отличалось от пациентов с интактными сонными артериями. Полученные результаты, по нашему мнению, могут подтверждать точку зрения, что НВЛ в большей степени репрезентируют распространенный атеросклероз и наличие осложненных АСБ, угрожаемых по развитию атеротромбоза, а не атеросклероз *per se* [25,26].

Дальнейшее изучение данного вопроса имеет важное практическое значение. Во-первых, НВЛ являются одним из перспективных маркеров воспалительного резидуального риска сердечно-сосудистых осложнений. Во-вторых, НВЛ также могут представлять собой мишень новых терапевтических агентов для лечения атеросклеротических ССЗ. Так, например, в экспериментальных исследованиях установлено уменьшение объема атеросклеротического поражения при использовании ингибитора пептидиларгинин деаминазы (peptidylarginine deiminase, PAD) хлорамидина [27].

Представленное исследование имеет ряд ограничений: 1) небольшой объем выборки; 2) отсутствие определения сывороточных маркеров НВЛ.

Заключение

У пациентов с каротидным атеросклерозом экзогенность АСБ, оцениваемая по GSM, обратно коррелировала с количеством НВЛ, формируемых циркулирующими нейтрофилами.

Литература / References:

1. Sun J, Zhao XQ, Balu N, Neradilek MB, Isquith DA, Yamada K, Cantón G, Crouse JR 3rd, Anderson TJ, Huston J 3rd, O'Brien K, Hippe DS, Polissar NL, Yuan C, Hatsukami TS. Carotid Plaque Lipid Content and Fibrous Cap Status Predict Systemic CV Outcomes: The MRI Substudy in AIM-HIGH. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017;10(3):241-249. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2016.06.017>
2. Fabiani I, Palombo C, Caramella D, Nilsson J, De Caterina R. Imaging of the vulnerable carotid plaque: Role of imaging techniques and a research agenda. *Neurology*. 2020;26;94(21):922-932. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000009480>
3. Mitchell CC, Stein JH, Cook TD, Salamat S, Wang X, Varghese T, Jackson DC, Sandoval Garcia C, Wilbrand SM, Dempsey RJ. Histopathologic Validation of Grayscale Carotid Plaque Characteristics Related to Plaque Vulnerability. *Ultrasound Med Biol*. 2017;43(1):129-137. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2016.08.011>
4. Жидкова И.И., Понасенко А.В., Хуторная М.В., Кутихин А.Г., Барбараш О.Л. Генетические факторы (гены рецепторов врожденного иммунитета – TLRs) в патогенезе атеросклероза и его осложнений. *Медицинская иммунология*. 2017;19(3):241-254 [Zhidkova II, Ponasenko AV, Khutomaya MV, Kutikhin AG, Barbarash OL. Genomic factors (toll-like receptors genes) in development of atherosclerosis and its clinical manifestations. *Medical Immunology (Russia)*. 2017;19(3):241-254. (In Russ.).] <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-3-241-254>
5. Cochain C, Ait-Oufella H, Zernecke A. Neutrophils promote atherosclerotic plaque destabilization in a mouse model of endotoxaemia. *Cardiovasc Res*. 2018;114(12):1573-1574. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy168>
6. Silvestre-Roig C, Braster Q, Wichapong K, Lee EY, Teulon JM, Berrebeh N, Winter J, Adrover JM, Santos GS, Froese A, Lemnitzer P, Ortega-Gómez A, Chevre R, Marschner J, Schumski

- A, Winter C, Perez-Olivares L, Pan C, Paulin N, Schoufour T, Hartwig H, González-Ramos S, Kamp F, Megens RTA, Mowen KA, Gunzer M, Maegdefessel L, Hackeng T, Lutgens E, Daemen M, von Blume J, Anders HJ, Nikolaev VO, Pellequer JL, Weber C, Hidalgo A, Nicolaes GAF, Wong GCL, Soehnlein O. Externalized histone H4 orchestrates chronic inflammation by inducing lytic cell death. *Nature*. 2019;569(7755):236-240. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1167-6>
7. Mozzini C, Garbin U, Fratta Pasini AM, Cominacini L. An exploratory look at NETosis in atherosclerosis. *Intern Emerg Med*. 2017;12(1):13-22. <https://doi.org/10.1007/s11739-016-1543-2>
 8. Warnatsch A, Ioannou M, Wang Q, Papayannopoulos V. Inflammation. Neutrophil extracellular traps license macrophages for cytokine production in atherosclerosis. *Science*. 2015;349(6245):316-20. <https://doi.org/10.1126/science.aaa8064>
 9. Sprynger M, Rigo F, Moonen M, Aboyans V, Edvardsen T, de Alcantara ML, Brodmann M, Naka KK, Kownator S, Simova I, Vlachopoulos C, Wautrecht JC, Lancellotti P; EACVI Scientific Documents Committee. 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):1195-1221. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jej103>
 10. 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>
 11. Asciutto G, Dias NV, Persson A, Nilsson J, Gonçalves I. Treatment with betablockers is associated with higher grey-scale median in carotid plaques. *BMC Cardiovasc Disord*. 2014;14:111. <https://doi.org/10.1186/1471-2261-14-111>
 12. Östling G, Persson M, Hedblad B, Gonçalves I. Comparison of grey scale median (GSM) measurement in ultrasound images of human carotid plaques using two different softwares. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2013;33(6):431-5. <https://doi.org/10.1111/cpf.12049>
 13. Трипотень М.И., Погорелова О.А., Хамчиева Л.Ш., Порожа А.Н., Балахонова Т.В. Сравнительная оценка методов определения эхогенности атеросклеротических бляшек в сонных артериях. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2015;5S:174-175 [Tripoten' M.I., Pogorelova O.A., Hamchieva L.Sh., Rogoza A.N., Balahonova T.V. Sravnitel'naja ocenka metodov opredelenija jehogennosti ateroskleroticheskikh bljashek v sonnyh arterijah. *Ultrasound and Functional diagnostics*. 2015;5S:174-175. (In Russ.)]
 14. Погорелова О.А., Трипотень М.И., Гучаева Д.А., Шахнович Р.М., Руда М.Я., Балахонова Т.В. Признаки нестабильности атеросклеротической бляшки в сонных артериях у больных с острым коронарным синдромом по данным ультразвукового дуплексного сканирования. *Кардиология*. 2017;57(12):5-15 [Pogorelova OA, Tripoten MI, Guchaeva DA, Shahnovich RM, Ruda MYa, Balakhonova TV. Carotid plaque instability in patients with acute coronary syndrome as assessed by ultrasound duplex scanning. *Cardiology*. 2017;57(12):5-15. (In Russ.)] <https://doi.org/10.18087/cardio.2017.12.10061>
 15. Долгушин И.И., Шишкова Ю.С., Савочкина А.Ю., Рыжкова А.И., Курносенко И.В., Евтушенко В.П. Технологии определения и роль нейтрофильных внеклеточных ловушек в антимикробной защите. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2010;4:26-30 [Dolgushin II, Shishkova YuS, Savochkina AYU, Ryzhkova AI, Kurnosenko IV, Evtushenko VP. Technology of detection and role of extracellular neutrophil traps in antimicrobial protection. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2010;4:26-30. (In Russ.)]
 16. Döring Y, Libby P, Soehnlein O. Neutrophil Extracellular Traps Participate in Cardiovascular Diseases: Recent Experimental and Clinical Insights. *Circ Res*. 2020;24:126(9):1228-1241. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.315931>
 17. Pertiwi KR, van der Wal AC, Pabittei DR, Mackaaij C, van Leeuwen MB, Li X, de Boer OJ. Neutrophil Extracellular Traps Participate in All Different Types of Thrombotic and Haemorrhagic Complications of Coronary Atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2018;118(6):1078-1087. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1641749>
 18. Franck G, Mawson TL, Folco EJ, Molinaro R, Ruvkun V, Engelbertsen D, Liu X, Tesmenitsky Y, Shvartz E, Sukhova GK, Michel JB, Nicoletti A, Lichtman A, Wagner D, Croce KJ, Libby P. Roles of PAD4 and NETosis in experimental atherosclerosis and arterial injury: implications for superficial erosion. *Circ Res*. 2018;123:33-42. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.312494>
 19. Quillard T, Araújo HA, Franck G, Shvartz E, Sukhova G, Libby P. TLR2 and neutrophils potentiate endothelial stress, apoptosis and detachment: implications for superficial erosion. *Eur Heart J*. 2015;36:1394-1404. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv044>
 20. Josefs T, Barrett TJ, Brown EJ, Quezada A, Wu X, Voisin M, Amengual J, Fisher EA. Neutrophil extracellular traps promote macrophage inflammation and impair atherosclerosis resolution in diabetic mice. *JCI Insight*. 2020;5(7):e134796. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.134796>
 21. Долгушина А.И. Функциональная активность нейтрофилов, оксид азота и перекисное окисление липидов у больных с атеросклерозом в бассейне брюшной аорты. *Российский иммунологический журнал*. 2011;5(14):170-176 [Dolgushina AI. Functional activity of neutrophils, nitric oxide and lipid peroxidation in patients with atherosclerosis of the abdominal aorta. *Russian Journal of Immunology*. 2011;5(14):170-176. (In Russ.)]
 22. Borissoff JI, Joosen IA, Versteylen MO, Brill A, Fuchs TA, Savchenko AS, Gallant M, Martinod K, Ten Cate H, Hofstra L, Crijns HJ, Wagner DD, Kietselaer BLJH. Elevated levels of circulating DNA and chromatin are independently associated with severe coronary atherosclerosis and a prothrombotic state. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(8):2032-2040. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.301627>
 23. Langseth MS, Opstad TB, Bratseth V, Solheim S, Arnesen H, Pettersen AA, Seljeflot I, Helseth R. Markers of neutrophil extracellular traps are associated with adverse clinical outcome in stable coronary artery disease. *Eur J Prev Cardiol*. 2018;25(7):762-769. <https://doi.org/10.1177/2047487318760618>
 24. Liu J, Yang D, Wang X, Zhu Z, Wang T, Ma A, Liu P. Neutrophil extracellular traps and dsDNA predict outcomes among patients with ST-elevation myocardial infarction. *Sci Rep*. 2019;9(1):11599. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47853-7>
 25. Döring Y, Soehnlein O, Weber C. Neutrophil Extracellular Traps in Atherosclerosis and Atherothrombosis. *Circ Res*. 2017;120(4):736-743. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309692>
 26. Moschonas IC, Tselepis AD. The pathway of neutrophil extracellular traps towards atherosclerosis and thrombosis. *Atherosclerosis*. 2019;288:9-16. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2019.06.919>
 27. Knight JS, Luo W, O'Dell AA, Yalavarthi S, Zhao W, Subramanian V, Guo C, Grenn RC, Thompson PR, Eitzman DT, Kaplan MJ. Peptidylarginine deiminase inhibition reduces vascular damage and modulates innate immune responses in murine models of atherosclerosis. *Circ Res*. 2014;114(6):947-56. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.303312>

Сведения об авторах

Долгушин Илья Ильич, доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64).

Вклад в статью: концепция и дизайн исследования.

ORCID: 0000-0002-0901-8042

Генкель Вадим Викторович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64).

Вклад в статью: написание статьи, концепция и дизайн исследования.

ORCID: 0000-0001-5902-3803

Савочкина Альбина Юрьевна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64).

Вклад в статью: концепция и дизайн исследования.

ORCID: 0000-0002-0536-0924

Самусева Ирина Владимировна, младший научный сотрудник Научно-исследовательского института иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64).

Вклад в статью: получение и анализ данных.

ORCID: 0000-0002-1464-4793

Батурина Ирина Леонидовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Научно-исследовательского института иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64).

Вклад в статью: получение и анализ данных.

ORCID: 0000-0002-5960-4189

Зотова Мария Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник Научно-исследовательского института иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64).

Вклад в статью: получение и анализ данных.

ORCID: 0000-0002-2391-7765

Емельянов Илья Владимирович, старший лаборант Научно-исследовательского института иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64).

Вклад в статью: получение и анализ данных.

ORCID: 0000-0003-0425-4596

Кузнецова Алла Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64).

Вклад в статью: написание статьи.

ORCID: 0000-0002-1136-7284

Статья поступила: 01.10.2020г.

Принята в печать: 30.11.2020г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Authors

Prof. Ilya I. Dolgushin, MD, DSc, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, President of South Ural State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Laboratory Medicine, South Ural State Medical University (64, Vorovskogo Street, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation).

Contribution: conceived and designed the study.

ORCID: 0000-0002-0901-8042

Dr. Vadim V Genkel, MD, PhD, Associate Professor, Department of Internal Medicine, South Ural State Medical University (64, Vorovskogo Street, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation).

Contribution: conceived and designed the study; wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0001-5902-3803

Prof. Albina Y. Savochkina, MD, DSc, Professor, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Laboratory Medicine; Leading Researcher, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University (64, Vorovskogo Street, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation.)

Contribution: conceived and designed the study.

ORCID: 0000-0002-0536-0924

Dr. Irina V. Samuseva, MD, Junior Researcher, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University (64, Vorovskogo Street, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation).

Contribution: collected the data; performed the data analysis.

ORCID: 0000-0002-1464-4793

Dr. Irina L. Baturina, MD, PhD, Senior Researcher, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University (64, Vorovskogo Street, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation).

Contribution: collected the data; performed the data analysis.

ORCID: 0000-0002-5960-4189

Dr. Maria A. Zotova, PhD, Research Fellow, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University (64, Vorovskogo Street, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation).

Contribution: collected the data; performed the data analysis.

ORCID: 0000-0002-2391-7765

Mr. Ilya V. Emelyanov, Research Assistant, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University (64, Vorovskogo Street, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation).

Contribution: collected the data; performed the data analysis.

ORCID: 0000-0003-0425-4596

Dr. Alla S. Kuznetsova, MD, PhD, Associate Professor, Department of Clinical Therapy, South Ural State Medical University (64, Vorovskogo Street, Chelyabinsk, 454092, Russian Federation).

Contribution: wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0002-1136-7284

Received: 01.10.2020

Accepted: 30.11.2020

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.