ДИНАМИКА ПРОФИЛЯ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ СТЕНТИРОВАНИЯ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Шлык И.Ф.[1], Евсегнеева И.В.[2], Беседина Д.Ю.[1], Макарчук И.В.[1]

[1] ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2] ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Резюме. Атеросклероз сопровождается повреждением сосудистого эндотелия артерий, где развивается воспалительный ответ и формируется атеросклеротическая бляшка. И важным компонентом здесь выступает врожденный иммунитет, являющийся ключевым и самым ранним неспецифическим механизмом.

Цель исследования – комплексная оценка клеточного звена врожденного иммунитета и сопоставление полученных результатов в различные сроки после коронарного стентирования.

В исследовании приняли участие 50 пациентов с коронарным атеросклерозом (группа 1), которым показано выполнение стентирования коронарных артерий, и 20 добровольцев (группа 2), у которых нет признаков ишемической болезни сердца (ИБС). Исследование показателей иммунитета проводили до операции, через 4-5, 9-10 и 28-30 суток, что составило ранний послеоперационный период, а также через 6 и 12 месяцев после стентирования, т. е. в позднем послеоперационном периоде. Фенотипирование моноцитов и лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной цитофлюориметрии с использованием моноклональных антител производства Beckman Coulter (США). Внутриклеточное содержание Гранзима В проводили на проточном лазерном цитофлюориметре FC500. Метаболическую активность нейтрофилов оценивали в НСТ-тесте. Альфа-дефензин (Hycult Biotech, США) определяли в плазме крови методом ИФА. Статистический анализ результатов исследования проводили с применением программы Statistica 12.0 (StatSoft, США). Статистическая значимость считалась достоверной при $p \leq 0,05$.

У пациентов с коронарным атеросклерозом повышается количество натуральных киллеров и их активность, моноцитов. Отмечается угнетение процессов презентации антигенов, дисбаланс в микробицидной активности нейтрофилов с преобладанием секреции антимикробных пептидов. В раннем периоде значимые изменения коснулись лишь снижения содержания внутриклеточного гранзима В

Адрес для переписки:
Шлык Ирина Федоровна
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону,
пер. Нахичеванский, 29.
Тел.: 8 (928) 179-39-87.
E-mail: sushkinaif@mail.ru

Address for correspondence:
Irina F. Shlyk
Rostov State Medical University
29 Nakhichevan Lane
Rostov-on-Don
344022 Russian Federation
Phone: +7 (928) 179-39-87.
E-mail: sushkinaif@mail.ru

Образец цитирования:
И.Ф. Шлык, И.В. Евсегнеева, Д.Ю. Беседина, И.В. Макарчук «Динамика профиля врожденного иммунного ответа у пациентов с ишемической болезнью сердца в различные сроки после стентирования коронарных артерий» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 2. С. 271-280.
doi: 10.15789/1563-0625-DOT-2660

© Шлык И.Ф. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:
I.F. Shlyk, I.V. Evsegneeva, D.Yu. Besedina, I.V. Makarchuk "Dynamics of the innate immune response profile in patients with coronary heart disease at different terms after coronary artery stenting", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 2, pp. 271-280.
doi: 10.15789/1563-0625-DOT-2660

© Shlyk I.F. et al., 2024
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-DOT-2660

на 4-5-е сутки, экспрессии TLR4 и HLA-DR – на 4-5-е и 9-10-е сутки. В позднем послеоперационном периоде, у пациентов с ИБС наблюдается значимое снижение содержания лимфоцитов: $CD3^+CD16^+$, $CD16^+Gr^+$, моноцитов: $CD14^+CD282^+$, $CD14^+CD284^+$, $CD14^+CD289^+$, активности НСТ-теста и содержания α-дефензина, а количество моноцитов, экспрессирующих HLA-DR, увеличивается.

У пациентов с ишемической болезнью сердца наблюдаются изменения в клеточном звене врожденного иммунитета, свидетельствующие о персистирующем воспалении. Динамика выявленных изменений в результате проведенного стентирования отражает лабильность оцениваемых показателей в большей степени в позднем послеоперационном периоде, что может служить основой прогнозирования исхода коронарного стентирования.

Ключевые слова: врожденный иммунитет, коронарный атеросклероз, стентирование коронарных артерий, Toll-подобные рецепторы, гранзим В, НСТ-тест

DYNAMICS OF THE INNATE IMMUNE RESPONSE PROFILE IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE AT DIFFERENT TERMS AFTER CORONARY ARTERY STENTING

Shlyk I.F.[a], Evsegneeva I.V.[b], Besedina D.Yu.[a], Makarchuk I.V.[a]

[a] *Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation*
[b] *I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation*

Abstract. Atherosclerosis is accompanied by damage to the vascular endothelium of arteries followed by development of inflammatory response and formation of atherosclerotic plaques. Innate immunity is an important component of this response being the earliest non-specific key mechanism. Our objective was to perform a comprehensive assessment of the cellular link of innate immunity, and to compare the results obtained at various terms after coronary stenting.

The study involved 50 patients with coronary atherosclerosis (Group 1), who had clinical indications for stenting of coronary arteries, and 20 volunteers (Group 2), who have no signs of coronary artery disease. The study of immune parameters was carried out before surgery, at 4-5, 9-10 and 28-30 days after operation (during early postoperative period), as well as 6 and 12 months after stenting, i.e. over the late post-surgical period. Phenotyping of peripheral blood monocytes and lymphocytes was performed by flow cytometry using monoclonal antibodies (Beckman Coulter, USA). Intracellular content of Granzyme B was carried out with an FC500 flow laser cytofluorimeter. Metabolic activity of neutrophils was assessed by the NBT test. Alpha defensin was determined in blood plasma by ELISA technique (Hycult Biotech, USA). Statistical analysis was performed using the Statistica 12.0 program (StatSoft, USA). Statistical significance was considered significant at $p \leq 0.05$.

The numbers of natural killer cells and their activity, as well as those of monocytes, were increased in patients with coronary atherosclerosis. We have also shown a suppression of antigen presentation processes, an imbalance in microbicidal activity of neutrophils, with predominant secretion of antimicrobial peptides. Over the early post-surgical period, significant changes included only decreased content of intracellular Granzyme B on days 4-5, and expression of TLR4 and HLA-DR on days 4-5 and 9-10. During the late period, the patients with coronary artery disease exhibited a significant decrease in the content of some lymphocyte subsets: $CD3^+CD16^+$, $CD16^+Gr^+$ as well as amounts of monocytes: $CD14^+CD282^+$, $CD14^+CD284^+$, $CD14^+CD289^+$, along with HBT-test activity and α-defensin contents, and increased numbers of HLA-DR-expressing monocytes.

There are changes in cellular component of innate immunity, indicating persistent inflammation in patients with coronary heart disease. The dynamics of revealed changes following coronary artery stenting may reflect a lability of assessed indicators mostly over the late postoperative period, thus serving a basis for predicting the outcome of coronary stenting.

Keywords: innate immunity, coronary atherosclerosis, coronary artery stenting, Toll-like receptors, granzyme B, NBT test

Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС), зачастую являясь проявлением коронарного атеросклероза, выступает ведущей причиной смертности среди болезней сердечно-сосудистой системы, которые в общей структуре смертности занимают более 46% [17]. И, несмотря на внедрение высокотехнологичной медицинской помощи в лечении ИБС, таких как стентирование и шунтирование коронарных артерий, этот показатель стабильно остается на высоком уровне [2]. Известно, что атеросклероз – это мультифакторное заболевание, сопровождающееся повреждением сосудистого эндотелия артерий эластического и мышечно-эластического типов разного калибра с развитием воспалительного иммунного ответа и формированием атеросклеротической бляшки [18]. Предполагается, что атеросклероз может развиваться вследствие дислипидемии, где повреждающим агентом выступают липопротеиды низкой плотности, а также наличия других факторов риска, таких как артериальная гипертензия, ожирение, сахарный диабет, вредные привычки и др. Однако объединяющим звеном здесь является повреждение эндотелия и инициация воспалительного ответа [18]. Врожденный иммунный ответ является ключевым и самым ранним неспецифическим механизмом в защите организма человека от экзогенных и эндогенных патогенов. Согласно современным представлениям, в роли эндогенных патогенов при атеросклерозе выступают окисленные липопротеиды низкой плотности, которые распознаются клетками врожденного иммунитета. В процессе распознавания происходит активация транскрипционного фактора NF-κB, который повышает экспрессию генов различных классов цитокинов, посредством чего происходит запуск специфического адаптивного иммунитета [19]. В настоящее время в литературных источниках приводятся единичные данные, которые затрудняют комплексную оценку различных компонентов врожденного иммунитета, особенно клеточного, у пациентов с коронарным атеросклерозом до проведения коронарного стентирования (КС) и после. В связи с этим **целью настоящего исследования** является комплексная оценка клеточного звена врожденного иммунного ответа и сопоставление полученных результатов в различные сроки после проведения коронарного стентирования.

Материалы и методы

Данное исследование проведено в ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России в 2018-2019 году. В исследование были включены пациенты кардиохирургического отделения, лабораторная диагностика выполнялась в НИИ Иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. Протокол исследования был одобрен локальным независимым этическим комитетом. В исследовании приняли участие 50 пациентов с коронарным атеросклерозом (группа 1), которым показано выполнение стентирования коронарных артерий (КС) согласно клиническим рекомендациям по ведению стабильной ишемической болезни сердца на основании данных прямой коронароангиографии. С целью оценки состояния врожденного иммунного ответа, нами обследованы 20 добровольцев (группа 2), у которых нет клинических и инструментальных признаков ИБС. Обе группы составили пациенты мужского пола, сопоставимые по возрасту (58,01±1,5 и 55,9±1,1 соответственно, $p = 0,22$). Критерием исключения для группы ИБС было наличие как активных инфекционных процессов, так и в анамнезе. Не допускались к участию в исследовании лица, имеющие сахарный диабет, ревматологические и болезни соединительной ткани, онкопатологию, пациенты, имеющие вредные привычки. Исследование показателей иммунитета проводили до операции через 4-5, 9-10 и 28-30 суток, что составило ранний послеоперационный период, а также через 6 и 12 месяцев после стентирования, т. е. в позднем послеоперационном периоде. Фенотипирование моноцитов $CD14^+CD282^+$ (TLR2), $CD14^+CD284^+$ (TLR4), $CD14^+CD289^+$ (TLR9), $CD14^+HLA\text{-}DR^+$ и лимфоцитов $CD3^+CD16^+$ и $CD16^+Gr^+$ периферической крови, проводили методом проточной цитофлюориметрии с использованием моноклональных антител производства Beckman Coulter (США). Внутриклеточное содержание Гранзима В проводили на проточном лазерном цитофлюориметре FC500. Кислородзависимую метаболическую активность нейтрофилов оценивали в НСТ-тесте. Альфа-дефензин (Hycult Biotech, США) определяли в плазме крови методом ИФА. Для проведения статистического анализа использовали базовую версию компьютерной программы Statistica 12.0 (StatSoft, США). Результаты исследования представляли выборочным средним (M) вариационного ряда и стандартной ошибкой средней величины (m). Соответствие распределения вариантов изучаемых показателей нормальному закону проверяли по критерию Шапиро–Уилка. Для проверки статистической гипотезы о различии средних использовали критерий Манна–Уитни для независимых величин и критерий Вилкоксона в случае зависимых вели-

чин. Заданный параметр доверительной вероятности составил 0,05.

Результаты

Анализ полученных данных по субпопуляционному составу врожденного иммунитета у пациентов группы 1 в сопоставлении с группой здоровых обнаружил не только повышенное содержание $CD3^+CD16^+$ лимфоцитов, но и значимое усиление их цитотоксической активности по внутриклеточному содержанию Гранзима В ($CD16^+Gr^+$). Особое внимание нацелено на повышение на моноцитах $CD282^+$ и $CD284^+$, увеличение в несколько раз внутриклеточной экспрессии $CD289^+$, которые участвуют в распознавании различных видов патогенов, в том числе ассоциированных с повреждением собственных тканей (DAMPs). Показатель относительного содержания моноцитов – $HLA\text{-}DR^+$, презентирующих антигены, был значительно ниже, чем в группе здоровых респондентов. Неоднозначные данные получены и в оценке НСТ-теста, где в группе пациентов с ИБС отражено повышение спонтан-

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИБС И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ, M±m

TABLE 1. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF INNATE IMMUNE RESPONSE AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE AND HEALTHY INDIVIDUALS, M±m

Показатель Indicator	**Группа 1** I group	**Группа 2** II group	**p**
$CD3^+CD16^+$, %	18,6±1,4	13,2±08,0	0,007
$CD16^+$, 10^9/л $CD16^+$, 10^9/L	0,32±0,04	0,23±0,02	0,01
$CD16^+Gr^+$, %	13,9±1,3	6,80±0,85	0,04
$CD16^+Gr^+$, 10^9/л $CD16^+Gr^+$, 10^9/L	0,16±0,03	0,09±0,02	0,05
$CD14^+CD282^+$, %	77,8±1,6	60,10±1,68	0,0001
$CD14^+CD282^+$, 10^9/л $CD14^+CD282^+$, 10^9/L	0,39±0,04	0,38±0,03	0,78
$CD14^+CD284^+$,%	34,0±2,2	18,3±0,6	0,02
$CD14^+CD284^+$, 10^9/л $CD14^+CD284^+$, 10^9/L	0,11±0,02	0,12±0,01	0,06
$CD14^+CD289^+$, %	79,90±2,27	8,60±0,75	0,0001
$CD14^+CD289^+$, 10^9/л $CD14^+CD289^+$, 10^9/L	0,36±0,04	0,14±0,02	0,0001
$CD14^+HLA\text{-}DR^+$, %	65,2±1,5	86,80±0,32	0,0001
$CD14^+HLA\text{-}DR^+$, 10^9/л $CD14^+HLA\text{-}DR^+$, 10^9/L	0,31±0,02	0,69±0,01	0,05
НСТ сп., у. е. NBT sp., c. u.	96,80±2,24	89,2±2,1	0,01
НСТ ст., у. е. NBT st., c. u.	158,00±3,59	188,0±2,3	0,001
Кст. НСТ Kst. NBT	1,73±0,02	2,09±0,02	0,02
α-дефензин, пг/мл α-defensin, pg/mL	2527,0±145,0	198,6±13,1	0,00001

Примечание. Уровень статистической значимости принимался при значении $p \leq 0,05$.

Note. The level of statistical significance was taken at $p \leq 0.05$.

ной нейтрофильной активности при снижении стимулированной и меньшие значения коэффициента стимуляции. Стоит отметить, что плазменный уровень α-дефензина на порядок превышает контрольные значения (табл. 1).

Таким образом, у пациентов с ишемической болезнью сердца наблюдается повышение количества натуральных киллеров и их функциональной активности, моноцитов участвующих в распознавании патогенов, угнетение процессов презентации антигенов, дисбаланс в микробицидной активности нейтрофилов с преобладанием секреции антимикробных пептидов.

После проведения коронарного стентирования в динамике наблюдения существенного изменения количества NK-клеток не выявлено,

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИБС В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ, M±m

TABLE 2. DYNAMICS OF INNATE IMMUNE RESPONSE AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE IN THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD, M±m

Показатель Indicator	**Исходные данные** Initial data	**4-5-е сутки** 4^{th}-5^{th} days	**9-10-е сутки** 9^{th}-10^{th} days	**28-30-е сутки** 28^{th}-30^{th} days	**p**
$CD3^+CD16^+$, %	18,6±1,4	16,6±1,0	19,9±1,8	21,2±1,6	1 – 0,3; 2 – 0,6; 3 – 0,2
$CD16^+$, 10^9/л $CD16^+$, 10^9/L	0,32±0,04	0,28±0,03	0,40±0,06	0,39±0,04	1 – 0,4; 2 – 0,3; 3 – 0,2
$CD16^+Gr^+$, %	13,9±1,3	6,0±0,9	13,2±1,7	13,8±1,5	1 – 0,001; 2 – 0,7; 3 – 0,9
$CD16^+Gr^+$, 10^9/л $CD16^+Gr^+$, 10^9/L	0,19±0,03	0,95±0,13	0,20±0,03	0,25±0,03	1 – 0,5; 2 – 0,4; 3 – 0,06
$CD14^+CD282^+$, %	77,8±1,6	78,6±1,7	82,3±1,2	78,0±1,3	1 – 0,7; 2 – 0,1; 3 – 0,9
$CD14^+CD282^+$, 10^9/л $CD14^+CD282^+$, 10^9/L	0,39±0,04	0,40±0,04	0,43±0,06	0,35±0,04	1 – 0,8; 2 – 0,5; 3 – 0,4
$CD14^+CD284^+$, %	34,0±2,2	22,0±4,5	20,5±2,9	27,6±2,9	1 – 0,01; 2 – 0,02; 3 – 0,09
$CD14^+CD284^+$, 10^9/л $CD14^+CD284^+$, 10^9/L	0,11±0,02	0,10±0,04	0,09±0,05	0,13±0,12	1 – 0,8; 2 – 0,5; 3 – 0,9
$CD14^+CD289^+$, %	79,90±2,27	75,30±3,32	75,30±2,03	84,10±2,14	1 – 0,2; 2 – 0,2; 3 – 0,2
$CD14^+CD289^+$, 10^9/л $CD14^+CD289^+$, 10^9/L	0,36±0,04	0,27±0,05	0,40±0,05	0,29±0,03	1 – 0,1; 2 – 0,6; 3 – 0,2
CD14+HLA DR^+, %	65,2±1,5	54,8±1,8	55,2±1,4	59,0±1,4	1 – 0,01; 2 – 0,03; 3 – 0,4
$CD14^+$HLA-DR^+, 10^9/л $CD14^+$HLA-DR^+, 10^9/L	0,31±0,02	0,20±0,05	0,30±0,02	0,30±0,01	1 – 0,08; 2 – 0,09; 3 – 0,1
НСТ сп., у. е. NBT sp., c. u.	96,80±2,24	97,20±1,83	103,00±3,58	98,10±2,54	1 – 0,7; 2 – 0,1; 3 – 0,5
НСТ ст., у. е. NBT st., c. u.	158,00±3,59	165,00±4,51	167,00±3,24	162,00±3,61	1 – 0,2; 2 – 0,2; 3 – 0,5
Кст. НСТ Kst. NBT	1,73±0,02	1,69±0,02	1,62±0,03	1,66±0,02	1 – 0,2; 2 – 0,4; 3 – 0,9
α-дефензин, пг/мл α-defensin, pg/mL	2527,0±145,0	3427,0±371,0	2751,0±491,0	1806,0±187,0	1 – 0,08; 2 – 0,7; 3 – 0,07

Примечание. Уровень статистической значимости принимался при значении $p \leq 0,05$. 1 – сравнение показателя до операции и через 4-5 суток; 2 – сравнение показателя до операции и через 9-10 суток; 3 – сравнение показателя до операции и через 28-30 суток.

Note. The level of statistical significance was taken at $p \leq 0.05$. 1, comparison of the indicator before the operation and after 4-5 days; 2, comparison of the indicator before the operation and after 9-10 days; 3, comparison of the indicator before the operation and after 28-30 days.

ТАБЛИЦА 3. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИБС В ПОЗДНЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ, M±m

TABLE 3. DYNAMICS OF INNATE IMMUNE RESPONSE AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE IN THE LATE POSTOPERATIVE PERIOD, M±m

Показатель Indicator	**Исходные данные** Initial data	**Через 6 месяцев** In 6 months	**Через 12 месяцев** In 12 months	**p**
$CD3^+CD16^+$, %	18,6±1,4	17,8±1,4	15,6±0,9	1 – 0,1; 2 – 0,05
$CD16^+$, 10^9/л $CD16^+$, 10^9/L	0,32±0,04	0,31±0,04	0,32±0,08	1 – 0,5; 2 – 0,5
$CD16^+Gr^+$, %	13,9±1,3	10,8±0,8	8,3±0,7	1 – 0,4; 2 – 0,04
$CD16^+Gr^+$, 10^9/л $CD16^+Gr^+$, 10^9/L	0,16±0,03	0,30±0,01	0,20±0,04	1 – 0,1; 2 – 0,4
$CD14^+CD282^+$, %	77,8±1,6	72,0±1,3	67,5±1,5	1 – 0,05; 2 – 0,001
$CD14^+CD282^+$, 10^9/л $CD14^+CD282^+$, 10^9/L	0,39±0,04	0,40±0,03	0,30±0,02	1 – 0,04; 2 – 0,3
$CD14^+CD284^+$, %	34,0±2,2	18,8±1,8	18,2±1,5	1 – 0,02; 2 – 0,04
$CD14^+CD284^+$, 10^9/л $CD14^+CD284^+$, 10^9/L	0,11±0,02	0,10±0,02	0,20±0,04	1 – 0,3; 2 – 0,09
$CD14^+CD289^+$, %	79,90±2,27	43,5±1,4	39,8±2,1	1 – 0,05; 2 – 0,04
$CD14^+CD289^+$, 10^9/л $CD14^+CD289^+$, 10^9/L	0,36±0,04	0,30±0,04	0,20±0,03	1 – 0,9; 2 – 0,4
$CD14^+HLA\text{-}DR^+$, %	65,2±1,5	75,8±2,4	80,1±1,8	1 – 0,009; 2 – 0,002
$CD14^+HLA\text{-}DR^+$, 10^9/л $CD14^+HLA\text{-}DR^+$, 10^9/L	0,31±0,02	0,50±0,02	0,60±0,01	1 – 0,01; 2 – 0,003
НСТ сп., у. е. NBT sp., c. u.	96,80±2,24	95,2±2,2	90,6±2,4	1 – 0,4; 2 – 0,03
НСТ ст., у. е. NBT st., c. u.	158,00±3,59	160,8±3,4	149,9±3,8	1 – 0,9; 2 – 0,04
Кст. НСТ Kst. NBT	1,73±0,02	1,60±0,01	1,60±0,02	1 – 0,1; 2 – 0,4
α-дефензин, пг/мл α-defensin, pg/mL	2527,0±145,0	1433,0±138,8	1571,0±178,0	1 – 0,002; 2 – 0,05

Примечание. Уровень статистической значимости принимался при значении $p \leq 0,05$. 1 – сравнение показателя до операции и через 6 мес.; 2 – сравнение показателя до операции и через 1 год.

Note. The level of statistical significance was taken at $p \leq 0.05$. 1, comparison of the indicator before surgery and after 6 months; 2, comparison of the indicator before the operation and after 1 year.

однако обращает внимание значимое транзиторное снижение содержания внутриклеточного Гранзима В на 4-5-е сутки после вмешательства. Отсутствовала статистически значимая динамика в экспрессии TLR2 и TLR9, в то время как содержание моноцитов, несущих на своей мембране $CD284^+$ и $HLA\text{-}DR^+$, значимо снижалось, начиная с 4-5-х суток, и, сохраняя данную тенденцию, на 28-30-е сутки не отличалось от исходных данных. Микробицидная активность нейтрофилов значимо, в динамике наблюдения, не отличалась. В содержании плазменного α-дефензина хоть и намечалась тенденция к повышению, но не достигала уровня значимости с возвратом к исходным значениям к 9-10-м суткам (табл. 2).

Таким образом, в раннем послеоперационном периоде значимые изменения субпопуляционного состава и функциональной активности клеток врожденного иммунитета коснулись лишь значимого снижения содержания внутриклеточного

Гранзима В на 4-5-е сутки, экспрессии TLR4 и HLA-DR – на 4-5-е и 9-10-е сутки.

У пациентов с ИБС в позднем послеоперационном периоде через 1 год после КС отмечается значимое снижение содержания $CD3^+CD16^+$ лимфоцитов и их цитолитической активности. Более того, отмечено постоянство в содержании $CD16^+$ лимфоцитов и их цитотоксической активности, а также значимой динамикой экспрессии Toll-подобных рецепторов. Относительно оценки паттерн-распознающих рецепторов, отмечено достоверное снижение моноцитов эскпрессирующих на своей мембране и внутриклеточно $CD282^+$, $CD284^+$, $CD289^+$ начиная с 6 месяцев наблюдения. Противоположная картина наблюдается в экспрессии HLA-DR, где количество моноцитов с данным рецептором повышалось как через полгода, так и через 12 месяцев. В нейтрофильном звене через год после стентирования выявлено подавление кислородзависимой способности нейтрофилов, отражающееся в уменьшении значений НСТ сп. и НСТ ст. теста. Обращает внимание, супрессия антимикробной активности за счет значительного уменьшения продукции α-дефензина через полгода и 12 месяцев после КС (табл. 3).

На основании динамики показателей в позднем послеоперационном периоде, можно заключить, что у пациентов, перенесших КС, наблюдается значимое снижение содержания лимфоцитов: $CD3^+CD16^+$, $CD16^+Gr^+$, моноцитов: $CD14^+CD282^+$, $CD14^+CD284^+$, $CD14^+CD289^+$, активности НСТ-теста и содержания α-дефензина в плазме крове. В динамике количества моноцитов экспрессирующих HLA-DR, отмечается их увеличение.

Обсуждение

В нашей работе, говоря об атерогенной этиологии ИБС, не вызывает сомнений дисрегуляция врожденного иммунного ответа. При исследовании $CD16^+$ лимфоцитов выявлено повышение их цитолитической функции, оцененной по Гранзиму В. В ранее проведенных исследованиях, где отмечается повышение циркулирующих $CD16^+$ лимфоцитов и их гранзимз-ависимой цитотоксической активности у пациентов со стабильной стенокардией [1, 5] выявлено их снижение у пациентов с инфарктом миокарда, что предположительно связано с привлечением $CD3^+CD16^+$ в зону нестабильной атеросклеротической бляшки [6, 13]. При взаимодействии с NKG2-D (интегральный мембранный белок), который в большом количестве экспрессируется макрофагами, инициируется активация $CD16^+$ лимфоцитов у пациентов с атеросклерозом, при их взаимодействии с окисленными ЛПНП, что позволяет реализовать цитолитический потенциал по перфорин-гранзимному типу как в кровотоке, так и непосредственно в атеросклеротической бляшке [22].

Увеличение количественного показателя моноцитов периферической крови, экспрессирующих PRR (паттернраспознающие рецепторы), является свидетельством изменений на этапе первичного распознавания образов системой, за счет повышения межклеточного контакта через $CD14^+CD282^+$, $CD14^+CD284^+$, $CD14^+CD289^+$. При гипоксии происходит высвобождение протеина, родственного белку теплового шока 70 (HSC70), который выступает в роли патогена, ассоциированного с опасностью, и усиливает передачу сигналов через Toll-подобные рецепторы. В результате данного взаимодействия, усиливается выработка провоспалительных цитокинов, запускающих воспалительный процесс [4]. Известно, что повышение $CD14^+CD289^+$ связано с активацией сосудистого и тромбоцитарного звеньев гемостаза, где, как и $CD14^+CD282^+$, так и $CD14^+CD284^+$ являются функционально активными рецепторами тромбоцитов [4, 14]. Однако в настоящий момент появляются данные о взаимосвязи этого процесса с повышенным уровнем окисленных ЛПНП [14].

При анализе нейтрофильного звена, нами выявлена дискоординация секреторной способности нейтрофилов. Эта субпопуляция клеток, выстраивающая первичную защиту, активно участвует на всех этапах атерогенеза. Первоначально, на этапе формирования бляшек, они мигрируют в зону поражения. Целенаправленное привлечение нейтрофилов осуществляется за счет высвобождения биологически активных веществ – хемокинов, которые могут образовываться при нарушении функции эндотелия [20]. Нейтрофилы индуцируют перекисное окисление липидов, в результате которого АФК окисляют ЛПНП, активируя в дальнейшем фагоцитарный компонент иммунитета. Результаты, полученные в ходе данного исследования, констатируют возрастание степени активации O_2-зависимой антимикробной активности нейтрофилов, при уменьшении функциональных возможностей этой активности и согласуется с результатами ранее проведенных исследований [20]. По отношению к уровню α-дефензина в плазме крови, в разы повышенного по сравнению с группой контроля, можно высказать предположение, основанное на некоторых результатах исследователей, что это связано с длительностью существования атеросклероза [8].

Стентирование артерий коронарного русла является миниинвазивной процедурой, и основная роль отводится локальному воспалению, которое может развиваться в результате имплантации стента, на образующие его компоненты, в том числе и антипролиферативный субстрат [3, 10]. Когда происходит расширение (раздувание) баллона, возможно нанесение баротравмы интимальной стенке сосуда, где можно ожидать в последствие неоинтимальную гиперплазию, а также геморрагии в стенку артерии и атеросклеротическую бляшку, острое эндотелиальное повреждение и манифестацию воспаления в зоне установки коронарного стента [15].

В связи с этим не менее интересным является изменение содержания $CD16^+$ лимфоцитов и их цитотоксической активности, показывающая одном оментное снижение субпопуляции натуральных киллеров и содержания в них гранзима В через 12 месяцев после КС. Транзиторное снижение внутриклеточного гранзима В на 9-10-е сутки, возможно, связано с иммуносупрессивным влиянием цитостатика. Снижение $CD16^+$ лимфоцитов и их функции в позднем периоде, возможно, могут быть ассоциированы с перемещением данных клеток в место имплантации коронарного стента, при наблюдаемом уменьшении в общем кровотоке [21]. По данным проведенной работы, содержание моноцитов с рецепторами $CD282^+$, $CD289^+$ на своей мембране и внутриклеточно оставались на достаточно высоком уровне в течение первого месяца после КС. Данный факт предположительно связан с оксиленными ЛПНП и экзогенными (полимер коронарного стента) молекулами, что и приводит к активации экспрессии рецепторов первичного распознавания антигенов. Временное снижение TLR4 на 4-5-е и 9-10-е сутки и значимым уменьшением моноцитов, экспрессирующих TLR2, TLR4 и TLR9 в поздние сроки, возможно, связано с липидкоррекцией, подавляющей различные функции моноцитов [7]. Обращает внимание еще одна функция моноцитов, обусловленная рецептором HLA-DR, которая была снижена исходно, а также в раннем и позднем периоде по СК. По данным литературы, этот факт обусловлен эффектом постоперационной иммуносупрессии [11]. При проведении КС в месте установки стента идентифицируются комплексы из нейтрофилов и тромбоцитов и, как оказывается, являются стимуляторами высвобождения α-дефензина из азурофильных гранул нейтрофилов. Для α-дефензина выявлены агонистичные свойства, по отношению к тромбоцитам, заключающиеся в индукции связывания фибриногена и тромбоспондина 1, дегрануляции секреторных гранул и апоптозе тромбоцитов [12]. Нами установлено, что у пациентов с ИБС исходно определен высокий уровень α-дефензина не только до КС, но и в раннем послеоперационном периоде, что, возможно, отражает более значимое нейтрофильное воспаление в ответ на КС. Через полгода и год наблюдается отчетливая динамика в снижении α-дефензина, что, возможно, является результатом назначения двойной антитромбоцитарной терапии, т. к. α-дефензин является индуктором АДФ-ассоциированной агрегации тромбоцитов и является маркером угнетения нейтрофильного воспаления [9].

Заключение

Таким образом, у пациентов с ишемической болезнью сердца наблюдаются изменения в популяционном составе клеточного иммунитета, свидетельствующие о персистирующем воспалении. Динамика выявленных изменений в результате проведенного стентирования отражает лабильность оцениваемых показателей в большей степени в позднем послеоперационном периоде, что может лечь в основу прогнозирования исхода коронарного стентирования.

Список литературы / References

1. Гольдерова А.С., Николаева И.Н., Романова А.Н., Козлов В.А. Фенотипическая характеристика лимфоцитов периферической крови при коронарном и мультифокальном атеросклерозе // Бюллетень СО РАМН, 2011. Т. 31, № 3. С. 27-31. [Golderova, A.S., Nikolaeva I.N., Romanova A.N., Kozlov V.A. Phenotypic characteristics of peripheral blood lymphocytes in coronary and multifocal atherosclerosis. *Byulleten SO RAMN = Bulletin of the SB RAMS, 2011, Vol. 31, no. 3, pp. 27-31.* (In Russ.)]

2. Здравоохранение в России. Под ред. Смелова П.А., Никитиной С.Ю., Агеевой Л.И., Александрова Г.А., Голубева Н.А., Кириллова Г.Н., Огрызко Е.В., Оськов Ю.И., Нам П.Д., Харькова Т.Л., Чумарина В.Ж. М.: Росстат, 2021. 171 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/

Zdravoohran-2021.pdf. [Smelova P.A., Nikitina S.Ju., Ageeva L.I., Aleksandrova G.A., Golubeva N.A., Kirillova G.N., Ogryzko E.V., Oskov Yu.I., Nam P.D., Kharkova T.L., Chumarina V.Zh. Healthcare in Russia]. Moscow: Rosstat, 2021. 171 p. [Electronic resource]. Access mode: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravoohran-2021.pdf.

3. Сизякина Л.П., Шлык И.Ф., Сидоров Р.В., Шлык С.В. Характеристика клеточного звена врожденного иммунитета у пациентов, перенесших коронарное стентирование // Иммунология, 2018. Т. 39, № 1. С. 16-19. [Sizaykina L.P., Shlyk I.F., Sidorov R.V., Shlyk S.V. Characteristics of the cellular link of innate immunity in patients undergoing coronary stenting. *Immunologiya = Immunologiya, 2018, Vol. 39, no. 1, pp. 16-19.*

4. Andonegui G., Kerfoot S.M., McNagny K., Ebbert K.V., Patel K.D., Kubes P. Platelets express functional Toll-like receptor-4. *Blood, 2005, Vol. 106, no. 7, pp. 2417-2423.*

5. Backteman K., Andersson C., Dahlin G., Ernerudh J., Jonasson L. Lymphocyte subpopulations in lymph nodes and peripheral blood: a comparison between patients with stable angina and acute coronary syndrome. *PLoS One, 2012, Vol. 7, no. 3, e32691*. doi: 10.1371/journal.pone.0032691.

6. Backteman K., Ernerudh J., Jonasson L. Natural killer (NK) cell deficit in coronary artery disease: no aberrations in phenotype but sustained reduction of NK cells is associated with low-grade inflammation. *Clin. Exp. Immunol., 2014, Vol. 175, no. 1, pp. 104-112.*

7. Bahrami A., Parsamanesh N., Atkin S.L., Banach M., Sahebkar A. Effect of statins on toll-like receptors: a new insight to pleiotropic effects. *Pharmacol. Res., 2018, no. 135, pp. 230-238.*

8. Barnathan E.S., Raghuna P.N., Tomaszewski J.E., Ganz T., Cines D.B., Higazi A. al-R. Immunohistochemical localization of defensin in human coronary vessels. *Am. J. Pathol., 1997, no. 150, pp. 1009-1020.*

9. Bonello L., Pansieri M., Mancini J., Bonello R., Maillard L., Barnay P., Rossi P., Ait-Mokhtar O., Jouve B., Collet F., Peyre J.P., Wittenberg O., de Labriolle A., Camilleri E., Cheneau E., Cabassome E., Dignat-George F., Camoin-Jau L., Paganelli F. High on-treatment platelet reactivity after prasugrel loading dose and cardiovascular events after percutaneous coronary intervention in acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol., 2011, no. 58, pp. 467-473.*

10. Chaabane C., Otsuka F., Virmani R., Bochaton-Piallat M.-L. Biological responses in stented arteries. *Cardiovasc. Res., 2013, Vol. 99, no. 2, pp. 353-363.*

11. DeSart K., O'Malley K., Schmit B., Lopez M.-C., Moldawer L., Baker H., Berceli S., Nelson P. Systemic inflammation as a predictor of clinical outcomes after lower extremity angioplasty/stenting. *J. Vasc. Surg., 2016, Vol. 64, no. 3, pp. 766-778.*

12. Horn M., Bertling A., Brodde M.F., Müller A., Roth J., van Aken H., Jurk K., Heilmann C., Peters G., Kehrel B.E. Human neutrophil alpha- defensins induced formation of fibrinogen and thrombospondin-1 amyloid-like structures and activate platelets via glycoprotein IIb/IIIa. *J. Thromb. Haemost., 2012, no. 10, pp. 647-661.*

13. Jabir N.R., Firoz C.K., Ahmed F., Kamal M.A., Hindawi S., Damanhouri G.A., Almehdar H.A., Tabrez S. Reduction in CD16/CD56 and CD16/CD3/CD56 natural killer cells in coronary artery disease. *Immunol. Invest., 2017, Vol. 46, no. 5, pp. 526-535.*

14. Knuefermann P., Schwederski M., Velten M., Krings P., Ehrentraut H., Rüdiger M., Boehm O., Fink K., Dreiner U., Grohé C., Hoeft A., Baumgarten G., Koch A., Zacharowski K., Meyer R. Bacterial DNA induces myocardial inflammation and reduces cardiomyocyte contractility: role of toll-like receptor 9. *Cardiovasc. Res., 2008, Vol. 78, no. 1, pp. 26-35.*

15. Lavin B., Gómez M., Pello O.M., Castejon B., Piedras M.J., Saura M., Zaragoza C. Nitric oxide prevents aortic neointimal hyperplasia by controlling macrophage polarization. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2014, Vol. 34, no. 8, pp. 1739-1746.*

16. Libby P., Buring J.E., Badimon L., Hansson G.K., Deanfield J., Bittencourt M.S., Tokgözoğlu L., Lewis E.F. Atherosclerosis. *Nat. Rev. Dis. Primers, 2019, Vol. 5, no. 56, pp. 1-18.*

17. Marzilli M., Merz C., Boden W.E., Bonow R.O., Capozza P.G., Chilian W.M., DeMaria A.N., Guarini G., Huqi A., Morrone D., Patel M.R., Weintraub W.S. Obstructive coronary atherosclerosis and ischemic heart disease: an elusive link. *Ration. Pharmacother. Cardiol., 2012, Vol. 8, no. 5, pp. 721-726.*

18. Miteva K., Madonna R., de Caterina R., van Linthout S. Innate and adaptive immunity in atherosclerosis. *Vascul. Pharmacol.,* 2018, *Vol. 107, no. 108, pp. 67-77.*

19. Parsamanesh N., Moossavi M., Bahrami A., Fereidouni M., Barreto G., Sahebkar A. NLRP3 inflammasome as a treatment target in atherosclerosis: A focus on statin therapy. *Int. Immunopharmacol., 2019, no. 73, pp. 146-155*

20. Pende A., Artom N., Bertolotto M., Montecucco F., Dallegri F. Role of neutrophils in atherogenesis: an update. *Eur. J. Clin. Invest., 2016, Vol. 46, no. 3, no. 252-263.*

21. Selathurai A., Deswaerte V., Kanellakis P., Tipping P., Toh B.-H., Bobik A., Kyaw T. Natural killer (NK) cells augment atherosclerosis by cytotoxic-dependent mechanisms. *Cardiovasc. Res., 2014, Vol. 102, no. 1, pp. 128-137.*

22. Xia M., Guerra N., Sukhova G.K., Yang K., Miller C.K., Shi G.-P., Raulet D.H., Xiong N. Immune activation resulting from NKG2D/ligand interaction promotes atherosclerosis. *Circulation., 2011, Vol. 124, no. 25, pp. 2933-2943.*

Авторы:

Шлык И.Ф. *— д.м.н., доцент, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия*

Евсегнеева И.В. *— д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия*

Беседина Д.Ю. *— ординатор кафедры терапии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия*

Макарчук И.В. *— студентка 6-го курса лечебно-профилактического факультета ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия*

Authors:

Shlyk I.F., *PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Evsegneeva I.V., *PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation*

Besedina D.Yu., *Resident, Department of Therapy, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Makarchuk I.V., *6th year Student, Faculty of Preventive Medicine, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Поступила 23.02.2023
Принята к печати 13.03.2023

Received 23.02.2023
Accepted 13.03.2023