

# СУБПОПУЛЯЦИИ МОНОЦИТОВ КРОВИ ПРИ НЕОСЛОЖНЕННОМ ТЕЧЕНИИ ПЕРИОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА КРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Головкин А.С.<sup>1</sup>, Матвеева В.Г.<sup>1</sup>, Кудрявцев И.В.<sup>2</sup>,  
Григорьев Е.В.<sup>1</sup>, Великанова Е.А.<sup>1</sup>, Байракова Ю.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН, г. Кемерово

<sup>2</sup> НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

**Резюме.** Проведено обследование 36 пациентов с ишемической болезнью сердца, которым выполнялось коронарное шунтирование в условиях искусственного кровообращения. У больных с неосложненным течением послеоперационного периода общее количество лимфоцитов, Т-, В- и NK-клеток в периферической крови к седьмым суткам достоверно не отличалось от исходных дооперационных значений. В то же время субпопуляционный состав моноцитов по CD14HIGH и CD14LOW ( $p < 0,01$ ) демонстрировали достоверные отличия через одни и семь суток после операции по сравнению с исходным уровнем. Изменение популяционного состава при нормальном течении послеоперационного периода, в отсутствие септических осложнений указывает на выраженность воспалительных реакции и наличие системного воспалительного ответа. В таком случае исследование состояния моноцитов периферической крови может служить не только для изучения механизмов системного воспаления, но и стать хорошей диагностической системой для оценки состояния пациента и прогноза послеоперационного периода.

**Ключевые слова:** моноциты, CD14, HLA-DR, коронарное шунтирование.

*Golovkin A.S., Matveeva V.G., Kudryavtsev I.V., Grigoriev E.V., Velikanova E.A., Bairakova Yu.V.*

## BLOOD MONOCYTE SUBPOPULATIONS DURING UNCOMPLICATED CORONARY ARTERY BYPASS SURGERY

**Abstract.** We have observed thirty-six patients with coronary artery disease (CAD) who have undergone coronary artery bypass graft (CABG) surgery. In patients with uncomplicated clinical course post-CABG, total lymphocyte counts, T-, B- and NK-cell contents did not significantly differ from baseline levels. Meanwhile, the numbers of CD14HIGH and CD14LOW monocyte subpopulations showed significant differences from initial levels at day 1 and day 7 after surgery. The changes in monocyte subsets in blood of patients with and absence of post-surgical septic complications reflected severity of inflammatory response, and development of systemic inflammatory syndrome. In such a case, further studies of peripheral blood monocytes can be both a useful tool for studying the mechanisms of systemic inflammation, as well as a good diagnostic system, in order to assess the patient's condition and to predict post-surgical clinical outcomes. (*Med. Immunol.*, 2012, vol. 14, N 4-5, pp 305-312)

**Keywords:** monocytes, CD14, HLA-DR, coronary artery bypass.

### Адрес для переписки:

Головкин Алексей Сергеевич  
650024, г. Кемерово, ул. Дружбы, 5, кв. 6.  
Тел.: (3842) 64-41-56.  
Факс: (3842) 34-19-02.  
E-mail: golovkin\_a@mail.ru

### Введение

Достижения кардиологии, кардиохирургии, анестезиологии и реаниматологии в последнее время значительно расширили спектр и сложность оперативных вмешательств, выполняемых

пациентам с сердечно-сосудистой патологией. При этом повышается сложность самих операций, увеличивается их продолжительность, возрастает необходимость в проведении кардиоплегии и применении искусственного кровообращения (ИК), а также расширяются показания к оперативному лечению и повышается уровень сложности курации пациентов.

В ряду послеоперационных осложнений септическое состояние, несмотря на постоянно совершенствуемые методы интенсивной терапии и антибиотикотерапии, занимает одно из ведущих мест среди причин смертности пациентов. Причины возникновения сепсиса до конца не изучены, вместе с тем, взаимосвязь данного состояния с эффективностью функционирования иммунной системы пациента не вызывает сомнения. Именно поэтому в клинической практике широко применяются методы и подходы, позволяющие оценить состояние защитных систем пациента в послеоперационном периоде. К их числу относятся исследования абсолютного и относительного числа лимфоцитов, их основных субпопуляций [9] и доли апоптотических клеток [12], изучение функционального состояния фагоцитарного звена — циркулирующих моноцитов и нейтрофилов периферической крови [3], равно как и определения уровня про- и противовоспалительных цитокинов, С-реактивного белка и компонентов каскада комплемента в сыворотке крови [4]. Однако большую часть этих лабораторных тестов пока еще сложно назвать рутинными из-за длительного времени постановки, большой трудоемкости и высокой себестоимости, тем более в условиях клиники постановка всего спектра реакций в настоящее время не представляется возможной. Именно поэтому возникает необходимость поиска наиболее простых, быстрых, но эффективных способов оценки состояния пациента для разработки максимально эффективной тактики его дальнейшего ведения в условиях стационара.

Как уже отмечалось выше, при сепсисе имеет место нарушение основ функционирования как системы приобретенного иммунитета, основанной на лимфоцитах, так и реакций врожденного иммунитета, связанных с клетками моноцитарного и гранулоцитарного рядов. С этой точки зрения, выбор моноцитов периферической крови для оценки тяжести состояния пациентов и прогнозирования течения септического процесса представляется вполне логичным и оправданным. Моноциты играют ведущую роль как в реализации реакций врожденного иммунитета (фагоцитоз, продукция активных форм кислорода и оксида азота NO, синтез и секреция различных медиаторов), так и в регуляции реак-

ций приобретенного иммунитета (синтез иммунорегуляторных цитокинов, презентация антигена Т-лимфоцитам). При септическом состоянии наблюдается нарушение функционирования моноцитов, что характеризуется снижением фагоцитарной активности [3], уменьшением уровня продукции интерлейкина 1 (IL-1) и фактора некроза опухоли (TNF $\alpha$ ) в ответ на стимуляцию *in vitro* и снижением уровня экспрессии на мембране клеток молекул главного комплекса гистосовместимости II класса HLA-DR [10].

Исследование уровня экспрессии HLA-DR с использованием методов проточной цитометрии получило наиболее широкое распространение в клинико-лабораторной практике. Это связано как с высокой скоростью получения статистически достоверных результатов при их относительно низкой себестоимости для лаборатории, так и с высокой надежностью данного показателя для прогноза состояния пациента и возможности быстрой корректировки тактики ведения больного в условиях стационара. Так, снижение экспрессии HLA-DR на циркулирующих CD14<sup>+</sup> моноцитах является отличительным признаком изменения иммунного статуса у пациентов после таких стрессовых воздействий, как травма, тяжелые операции, геморрагический шок, панкреатит и сепсис [6]. Вместе с тем, значение изменения уровня HLA-DR на поверхности моноцитов в прогнозе исходов кардиохирургических операций еще изучается [5].

В последнее время выполняется все большее количество операций по реваскуляризации миокарда в условиях искусственного кровообращения. Процедура проведения искусственного кровообращения включает в себя множество факторов, которые являются нефизиологичными и могут провоцировать запуск целого ряда патологических процессов, результатом которых может стать развитие системного воспаления. К негативным факторам оперативных вмешательств с применением искусственного кровообращения можно отнести длительную ишемию и реперфузию жизненно важных органов, в первую очередь миокарда, контакт клеток крови с инородными поверхностями фильтров, трубок и т.д., механическое повреждение тканей, обусловленное оперативным вмешательством, применение большого количества токсичных препаратов для проведения длительного анестезиологического пособия, гипотермию, выброс эндотоксинов [1]. Все эти факторы могут оказывать дополнительное негативное влияние на функционирование иммунной системы. На этом фоне возможно возникновение осложнений не только инфекционного, но и неинфекционного генеза. К последним можно отнести развитие системного воспалительного

ответа, который может приводить к развитию полиорганной недостаточности [2]. Ключевую роль в реализации этих процессов играют моноциты.

Именно поэтому **целью данного исследования** стала попытка изучить состояние моноцитарного звена иммунитета на примере CD14-позитивных клеток с различным уровнем экспрессии HLA-DR у пациентов с неосложненным течением послеоперационного периода коронарного шунтирования с применением искусственного кровообращения.

## Материалы и методы

В исследование были включены 36 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) (стенокардия напряжения, функциональный класс [ФК] II-III, хроническая сердечная недостаточность [ХСН] NYHA II-III), которым проводилось коронарное шунтирование (КШ) в условиях нормотермического искусственного кровообращения (ИК). Среднее время ИК составило 87,05 (55-120) мин, время пережатия аорты – 55,71 (36-81) мин, количество шунтируемых артерий – 2,55 (2-3). В послеоперационном периоде не было зафиксировано инфекционных осложнений и органных дисфункций.

Забор крови осуществляли в вакуумные пробирки с добавлением  $K_3$ ЭДТА и с ускорителем свертывания (тромбин) для получения сыворотки до операции, на первые и на седьмые сутки после таковой. Исследования выполнялись в день забора крови. Общий анализ крови с подсчетом количества лейкоцитов и лимфоцитов проводился на автоматическом гематологическом анализаторе MEK 6400 Nihon Kohden (Япония).

Анализ фенотипа иммунокомпетентных клеток проводился на проточном лазерном цитометре FACS Calibur (Becton Dickinson, США). Для исследования популяции моноцитов были использованы моноклональные антитела CD14 PE, HLA-DR FITC и наборы для четырехцветного анализа субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови Multi TEST (Becton Dickinson, США).

Анализ образцов периферической крови проводили в соответствии с инструкцией производителя. Вкратце, 100 мкл венозной крови было окрашено: 20 мкл FITC-anti-HLA-DR моноклональными антителами (BD, № 347400, isotype mouse IgG2a, k) и 20 мкл PE-anti-CD14 моноклональными антителами (BD, № 555398, isotype mouse IgG2a, k). В качестве изотипического контроля использовался аналогичный объем FITC-mouse IgG2a, k (BD, № 553456) и PE-mouse IgG2a, k (BD, № 555574) антител. Клетки инкубировали с антителами при температуре 4 °C в течение 30 минут. После этого для лизирования эритроци-

тов в каждую пробирку добавляли лизирующий рабочий буфер (BD FACS lysing solution, BD Bioscience). Объем составил 2 мл на пробу. После 10-минутной инкубации клетки отмывали (300 g, 5 мин при 4 °C) избытком забуференного фосфатами физиологического раствора. Полученный осадок ресуспендировали и фиксировали в 0,5 мл BD CellFIX.

Цитофлуориметрический анализ проводили на проточном цитометре FACS Calibur BD в программе CellQuestPro с использованием единых настроек прибора для всех образцов. Для каждого из образцов проводили анализ не менее 2500 моноцитов. Предварительное выделение популяции моноцитов осуществляли по прямому (FSC) и боковому (SSC) светорассеянию. Дальнейший анализ популяции моноцитов проводился с использованием антител, взаимодействовавших с CD14, в комбинации с SSC, для выделения клеток, несущих CD14, использовали соответствующий изотипический контроль. Субпопуляцию CD14<sup>HIGH</sup> (R6) и CD14<sup>LOW</sup> (R5) разделяли по интенсивности флуоресценции CD14. Для оценки HLA-DR на субпопуляциях моноцитов CD14<sup>HIGH</sup> (R6) и CD14<sup>LOW</sup> (R5) использовался двухпараметровый график распределения клеток по наличию или отсутствию поверхностных маркеров CD14 и HLA-DR. Количественную оценку уровня HLA-DR на поверхности субпопуляций моноцитов CD14<sup>HIGH</sup> (R6) и CD14<sup>LOW</sup> (R5) проводили при помощи однопараметрических гистограмм по геометрической средней интенсивности флуоресценции клеток (geo. mean).

Исследование уровня цитокинов в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) наборами фирмы Bender Medsystems (Австрия) в соответствии с инструкциями производителя.

Статистический анализ полученных результатов выполнялся с использованием программы Statistica 7.0. Высчитывалась медиана и квартильный размах. Различия между зависимыми группами оценивали методами непараметрической статистики с применением критерия Вилкоксона.

## Результаты и обсуждение

Выполнение стандартного иммунофенотипирования с определением общего количества лимфоцитов, Т-, В- и NK-клеток у пациентов в периоперационном периоде не представляется достаточно информативным тестом для оценки состояния клеточного звена иммунитета. По результатам проведенного исследования в раннем послеоперационном периоде (первые сутки) отмечается закономерное увеличение общего количества лейкоцитов (за счет гранулоцитов) с одновременным снижением абсолютного количества

ТАБЛИЦА 1. ЗНАЧЕНИЯ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА, Ме (25; 75), n = 36

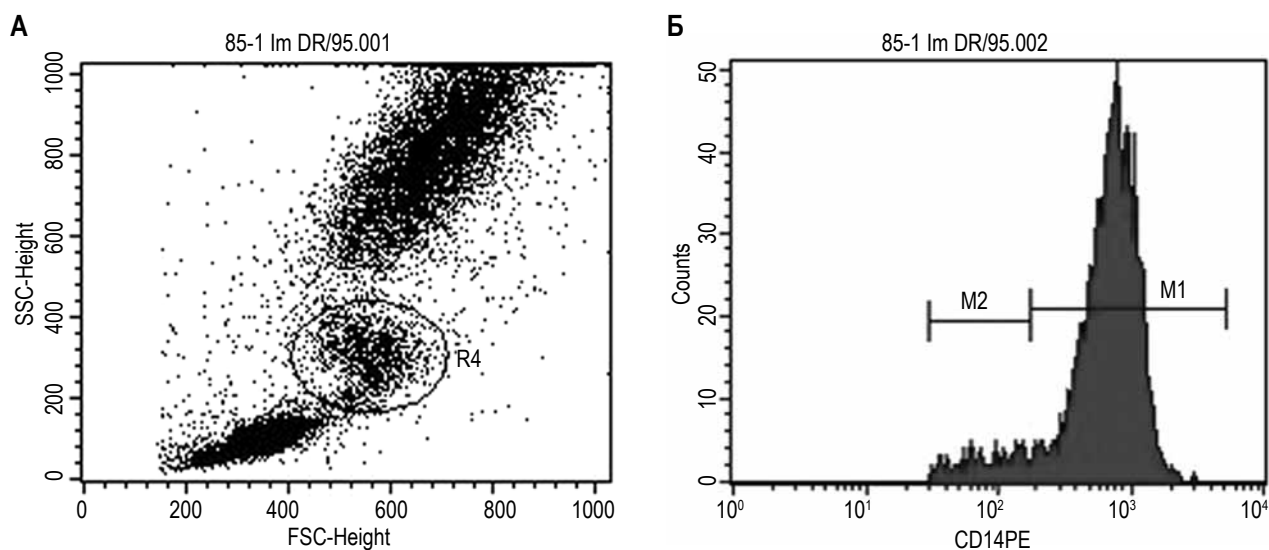
Показатель	До операции	Первые сутки после операции	Седьмые сутки после операции
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,15 (5,35; 7,40)	12,15 (10,15; 13,50)*	8,10 (7,10; 10,40)*,**
CD45 <sup>+</sup> абс.	2088,80 (1643,60; 2448,00)	675,00 (514,75; 973,45)*	1640,10 (1450,70; 2106,80)**
CD3 <sup>+</sup> абс.	1507,00 (1170,50; 1839,50)	459,00 (247,00; 653,00)*	1284,50 (938,00; 1648,00)**
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup> абс.	218,78 (170,77; 276,50)	109,08 (68,25; 166,05)*	242,82 (172,38; 321,11)**
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> абс.	268,85 (187,67; 371,00)	112,78 (74,89; 217,26)*	178,20 (148,80; 251,97)*,**
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> абс.	455,19 (371,01; 689,00)	156,29 (84,53; 197,49)*	381,14 (246,62; 535,43)**
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> абс.	938,46 (736,91; 1241,81)	200,34 (131,73; 347,60)*	758,47 (600,44; 1071,95)**
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	2,15 (1,54; 2,73)	1,47 (1,13; 2,06)*	2,53 (1,61; 3,11)*,**

**Примечание.** \* –  $p < 0,01$  в сравнении с исходным уровнем;

\*\* –  $p < 0,01$  в сравнении с предыдущим периодом наблюдения.

CD45<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> клеток (табл. 1). В дальнейшем, к седьмым суткам послеоперационного периода, отмечается восстановление популяционного состава иммунокомпетентных клеток периферической крови. При этом все выявленные

изменения отражают лишь общую закономерность реагирования иммунной системы в ответ на значительное повреждение, связанное с проведением тяжелой полостной операции с применением искусственного кровообращения и анестезиологическим пособием. Это подвигло



**Рисунок 1. А. Выделение популяции моноцитов в образцах периферической крови по прямому и боковому светорассеянию**

**Примечание.** По оси абсцисс: прямое светорассеяние (FCS-Height), по оси ординат: боковое светорассеяние (SSC-Height), область R4 – моноциты.

**Б. Однопараметрическая гистограмма, характеризующая уровень экспрессии CD14 на моноцитах (показаны клетки из области R4)**

**Примечание.** По оси абсцисс: интенсивность флуоресценции CD14, по оси ординат: число клеток, несущих CD14. Область M1 – моноциты с высоким уровнем экспрессии CD14 (далее CD14<sup>HIGH</sup>), область M2 – моноциты с низким уровнем экспрессии CD14 (далее CD14<sup>LOW</sup>).

ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ HLA-DR НА CD14<sup>HIGH</sup> И CD14<sup>LOW</sup> КЛЕТКАХ ПО ДАННЫМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ Me (25; 75), n = 19

Фенотип клеток	До операции	Первые сутки	Седьмые сутки
CD14 <sup>HIGH</sup> HLA-DR <sup>-</sup>	4,00 (2,28; 7,20)	23,06 (12,62; 41,45)*	13,16 (5,89; 17,84)*,**
CD14 <sup>HIGH</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	87,96 (85,55; 90,60)	71,09 (52,80; 81,07)*	79,05 (76,23; 87,00)
CD14 <sup>LOW</sup> HLA-DR <sup>-</sup>	0,68 (0,59; 0,92)	2,13 (1,37; 2,53)*	1,54 (1,22; 1,96)
CD14 <sup>LOW</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	6,31 (5,12; 7,73)	3,43 (2,78; 4,41)*	5,78 (4,12; 7,41)
CD14 <sup>HIGH</sup> % общ.	92,80 (91,63; 94,08)	94,52 (94,10; 95,30)	92,52 (91,78; 93,20)
CD14 <sup>LOW</sup> % общ.	7,33 (5,80; 8,40)	5,43 (4,50; 5,89)	7,42 (6,47; 8,40)
CD14 <sup>HIGH</sup> geo. mean.	227,60 (160,14; 301,75)	92,33 (53,35; 100,90)*	136,07 (100,10; 161,77)*,**
CD14 <sup>LOW</sup> geo. mean.	347,50 (272,75; 581,10)	57,46 (43,37; 74,40)*	195,21 (160,75; 278,57)*,**

Примечание. \* –  $p < 0,01$  в сравнении с исходным уровнем;

\*\* –  $p < 0,01$  в сравнении с предыдущим периодом наблюдения.

на поиск более значимых маркеров, способных оценивать изменения в иммунном статусе пациента.

Предварительное разделение лейкоцитов на популяции проводили по прямому и боковому светорассеянию. При анализе моноцитов периферической крови, экспрессирующих на своей поверхности CD14, выявлялось четкое разделение на две субпопуляции: CD14<sup>HIGH</sup> и CD14<sup>LOW</sup> (рис. 1А, Б).

CD14<sup>HIGH</sup> моноциты принято относить к «классическим», а CD14<sup>LOW</sup> – к «провоспалительным» [6]. Классические моноциты представляют собой более многочисленную популяцию менее зрелых

клеток, осуществляющих противомикробную активность за счет продукции активных форм кислорода. Провоспалительные клетки отвечают за повышенную продукцию провоспалительных цитокинов – интерлейкинов-1, -6, фактора некроза опухоли, и увеличение их количества может служить маркером острых обострений хронических инфекционных заболеваний [7].

В нашем исследовании до операции уровень CD14<sup>HIGH</sup> клеток составил 92,80 (91,63; 94,08)%, а CD14<sup>LOW</sup> – 7,33 (5,80; 8,40)% (табл. 2). При этом не отмечено разницы в уровне моноцитов через одни и семь суток после операции в сравнении с исходным уровнем. В то же время на первые

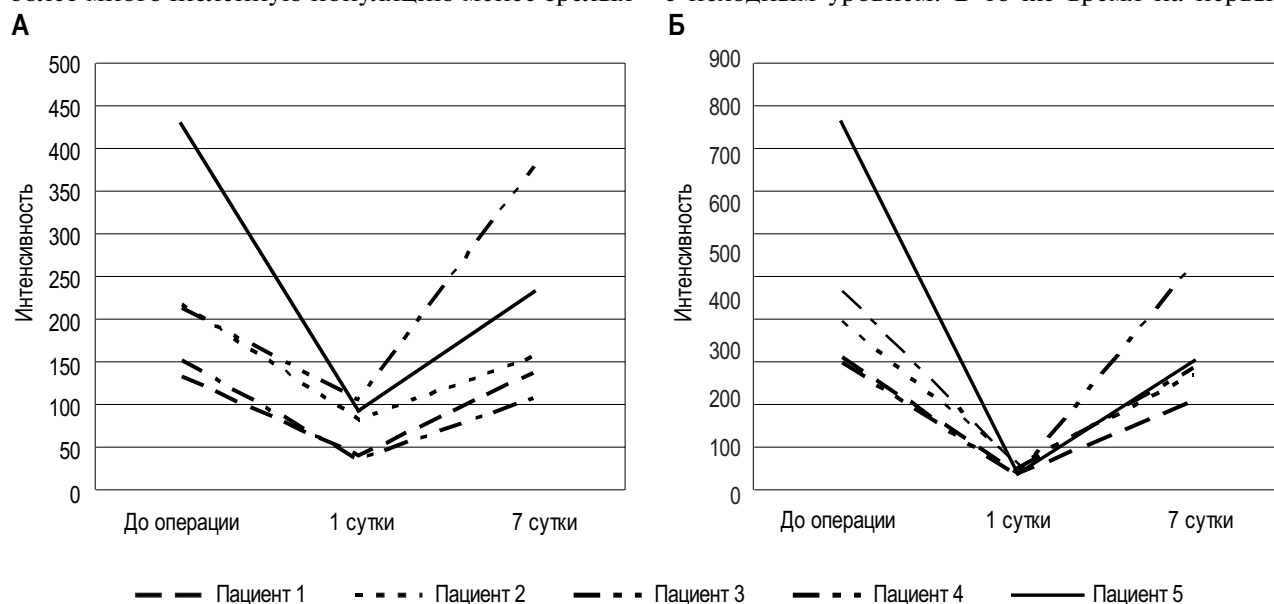


Рисунок 2. А. Интенсивность флуоресценции CD14<sup>HIGH</sup> в разные сроки послеоперационного периода  
Б. Интенсивность флуоресценции CD14<sup>LOW</sup> в разные сроки послеоперационного периода

сутки послеоперационного периода отмечена недостоверная ( $p = 0,08$ ) отрицательная динамика уровня  $CD14^{LOW}$  моноцитов, а на седьмые сутки — достоверная ( $p = 0,01$ ) положительная по сравнению с предыдущим периодом наблюдения. Таким образом, к исходу недели уровень  $CD14^{LOW}$  моноцитов соответствовал исходным дооперационным значениям.

Более наглядной оказывается оценка средней интенсивности флуоресценции (geo.mean.) антител к  $CD14$ , характеризующей уровень экспрессии данных молекул на поверхности клетки. Так, уровень экспрессии  $CD14^{HIGH}$  на первые сутки после операции достоверно ( $p < 0,01$ ) снижался с 227,60 (160,14; 301,75) до 92,33 (53,35; 100,90). К исходу первой недели отмечено восстановление ( $p = 0,04$ ) пула  $CD14^{HIGH}$  моноцитов до 136,07 (100,10; 161,77).

Динамика экспрессии  $CD14^{LOW}$  моноцитов имела аналогичную тенденцию. К первым суткам фиксировалось значительное ( $p < 0,01$ ) снижение  $CD14^{LOW}$  клеток, с 347,50 (272,75; 581,10) до 57,46 (43,37; 74,40). К седьмым суткам отмечалось восстановление ( $p = 0,02$ ) пула клеток, слабо экспрессирующих  $CD14$  — 195,21 (160,75; 278,57).

В качестве иллюстрации можно привести индивидуальную динамику средней интенсивности  $CD14^{HIGH}$  и  $CD14^{LOW}$  у пяти пациентов, выбранных случайным образом (рис. 2А, Б).

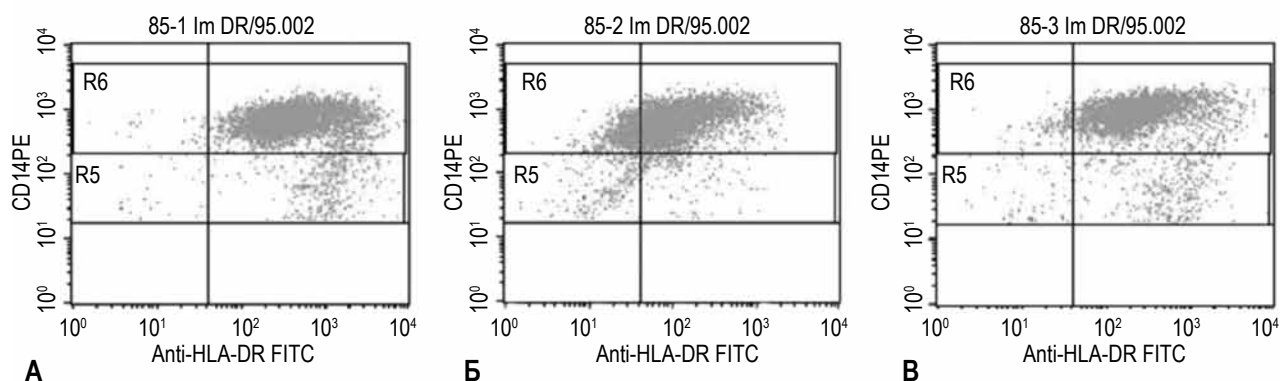
Полученные результаты дают основания предполагать, что в ответ на альтерацию тканей, связанную с оперативным вмешательством и искусственным кровообращением имеет место выход клеток моноцитарного ряда (с высоким и низким уровнем экспрессии  $CD14$ ) в ткани с последующей дифференцировкой в тканевые макрофаги.

При анализе уровня маркера активации на указанных популяциях клеток получены следующие результаты (рис. 3). Уровень  $CD14^{HIGH}$  HLA-DR<sup>+</sup>

клеток к первым суткам послеоперационного периода снижался ( $p < 0,01$ ). На седьмые сутки наблюдалась тенденция к восстановлению уровня ( $p = 0,04$ ), что можно считать благоприятным прогностическим признаком течения послеоперационного периода [8]. В то же время отмечено увеличение количества HLA-DR негативных  $CD14^{HIGH}$  моноцитов. При этом к первым суткам это увеличение оказывается более чем 3-кратным ( $p < 0,01$ ), а к седьмым суткам — 1,5-кратным ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходными значениями. Снижение плотности HLA-DR на данной популяции клеток позволяет предполагать, что в циркуляции в послеоперационном периоде имеет место увеличение числа  $CD14^{HIGH}$  клеток. Данное обстоятельство может рассматриваться как выход в циркуляцию моноцитов с пониженной способностью к презентации антигена, причиной чего является низкий уровень HLA-DR на поверхности этих клеток. Кроме того, известна отрицательная связь между уровнем IL-10 и катехоламинами и экспрессией HLA-DR на  $CD14^{HIGH}$  клетках, что связано с интернализацией рецептора под воздействием указанных молекул [7].

Сходная динамика отмечена в отношении  $CD14^{LOW}$  моноцитов. Уровень клеток, несущих на своей поверхности HLA-DR, в послеоперационном периоде снижался, в то время как уровень HLA-DR негативных клеток повышался. Было показано, что количество  $CD14^{LOW}$  HLA-DR<sup>+</sup> в первые сутки после операции снижалось в 1,8 раза ( $p < 0,01$ ) и к седьмым суткам восстанавливалось практически до исходных величин. В то же время уровень  $CD14^{LOW}$  HLA-DR<sup>+</sup> клеток в послеоперационном периоде возрастал и даже спустя 7 суток оставался повышенным по сравнению с исходным уровнем.

Закономерной реакцией на операционный стресс было развитие системного воспалитель-



**Рисунок 3. Экспрессия  $CD14$  и HLA-DR на моноцитах до (А), через сутки (Б) и через 7 суток (В) после операции**

**Примечание.** По оси абсцисс: интенсивность флуоресценции антител против HLA-DR, по оси ординат: интенсивность флуоресценции антител против  $CD14$ , область R6 – моноциты с высоким уровнем экспрессии  $CD14$  ( $CD14^{HIGH}$ ), область R5 – моноциты с низким уровнем экспрессии  $CD14$  ( $CD14^{LOW}$ ).

ТАБЛИЦА 3. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ И СРБ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ, Ме (25; 75), n = 29

Параметр	До операции	Первые сутки	Седьмые сутки
TNF $\alpha$ , пг/мл	0,15 (0,10; 0,19)	0,15 (0,13; 0,18)	0,14 (0,12; 0,19)
IFN $\gamma$ , пг/мл	2,41 (2,28; 2,53)	2,35 (2,16; 2,54)	2,36 (2,22; 2,73)
IL-1 $\beta$ , пг/мл	0,021 (0,020; 0,022)	0,021 (0,020; 0,023)	0,023 (0,021; 0,024)
IL-10, пг/мл	1,14 (0,95; 2,31)	3,13 (2,02; 6,21)	1,14 (0,94; 1,95)
IL-4, пг/мл	1,26 (1,07; 1,45)	1,23 (1,08; 1,56)	1,14 (1,00; 1,31)
IL-6, пг/мл	0,99 (0,87; 1,23)	8,44 (3,75; 13,52)*	1,64 (1,27; 2,55)**
СРБ, мг/л	2,68 (1,50; 4,37)	45,86 (41,75; 49,05)***	33,91 (22,60; 40,62)***

**Примечание.** \* –  $p < 0,05$  по сравнению с дооперационным уровнем; \*\* –  $p < 0,05$  по сравнению с предыдущим периодом наблюдения.

ного ответа. Лабораторным подтверждением служило увеличение уровня СРБ и IL-6 в сыворотке крови (табл. 3). Значения СРБ с 2,68 (1,50; 4,37) мг/л возрастали до 45,86 (41,75; 49,05) мг/л на первые сутки после операции и до 33,91 (22,60; 40,62) мг/л на седьмые. При этом если повышенные концентрации СРБ носило более выраженный характер и сохранялось на седьмые сутки после операции, то значения интерлейкина 6 (0,99 (0,87; 1,23) пг/мл) после значительного подъема в первые сутки (8,44 (3,75; 13,52) пг/мл) к седьмым возвращались (1,64 (1,27; 2,55) пг/мл) к исходному уровню. Изменения уровня как провоспалительных (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ ), так и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов в динамике отмечено не было. Таким образом, полученные данные позволяют выдвинуть тезис о том, что при диагностике состояния пациента в случае неосложненного течения послеоперационного периода коронарного шунтирования с применением искусственного кровообращения определение уровня ключевых цитокинов не дает адекватной информации о происходящих в организме процессах воспалительного генеза.

В литературе широко обсуждается возможность использования данных о динамике уровня CD14-клеток в прогностических целях у пациентов с септическими состояниями. Моноциты, циркулирующие в кровотоке, могут выступать в качестве маркеров наличия и развития воспалительной реакции, равно как и диагностическим признаком для оценки и прогноза состояния пациента [8, 11]. Однако исследования качественного состава клеток моноцитарного ряда, равно как и изучение их поверхностного фенотипа, у пациентов после хирургических вмешательств по реваскуляризации миокарда с применением искусственного кровообращения еще требует дальнейшего изучения. Изменение популяционного состава при нормальном течении послеоперационного периода в отсутствии септических осложнений указывает на выраженность воспалительных реакций и наличие системного воспалительного ответа. В таком случае исследование состояния моноцитов периферической крови может служить не только для изучения механизмов системного воспаления, но и стать хорошей диагностической системой для оценки состояния пациента и прогноза послеоперационного периода.

перационного периода в отсутствии септических осложнений указывает на выраженность воспалительных реакций и наличие системного воспалительного ответа. В таком случае исследование состояния моноцитов периферической крови может служить не только для изучения механизмов системного воспаления, но и стать хорошей диагностической системой для оценки состояния пациента и прогноза послеоперационного периода.

## Список литературы

1. Козлов В.К. Иммунопатогенез и цитокиноterapia хирургического сепсиса. — СПб., 2002. — С. 48.
2. Bone R.C., Balk R.A., Cerra F.B., Dellinger R.P., Fein A.M., Knaus W.A., Schein R.M., Sibbald W.J. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine // Chest. — 1992. — 101. — P. 1644-1655.
3. Danikas D.D., Karakantza M., Theodorou G.L., Sakellaropoulos G.C., Gogos C.A. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis. Correlation to CD64 and CD14 antigen expression // Clin. Exp. Immunol. — 2008. — Vol. 154. — P. 87-97.
4. Dimopoulou I., Orfanos S., Kotanidou A., Livaditi O., Giamarellos-Bourboulis E., Athanasiou C., Korovesi I., Sotiropoulou C., Kopterides P., Ilias I., Kanellakopoulou K., Armaganidis A. Plasma pro- and anti-inflammatory cytokine levels and outcome prediction in unselected critically ill patients // Cytokine. — 2008. — Vol. 41. — P. 263-267.
5. Franke A., Lante W., Zoeller L.G., Kurig E., Weinhold C., Markewitz A. Delayed recovery of human leukocyte antigen-DR expression after

cardiac surgery with early non-lethal postoperative complications: only an epiphenomenon? // *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* — 2008. — Vol. 7. — P. 207-211.

6. Kim O.Y., Monsel A., Bertrand M., Coriat P., Cavaillon J.-M., Adib-Conquy M.. Differential down-regulation of HLA-DR on monocyte subpopulations during systemic inflammation // *Critical Care.* — 2010. — Vol. 14. — P. R61 <http://ccforum.com/content/14/2/R61>

7. Loems Ziegler-Heitbrock. The CD14+ CD16+ blood monocytes: their role in infection and inflammation // *J. Leuk. Biol.* — 2007. — Vol. 81. — P. 584-592.

8. Monneret G., Lepape A., Voirin N., Bohe J., Venet F., Debard A.L., Thizy H., Bienvenu J., Gueyffier F., Vanhems P. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock // *Intensive Care Med.* — 2006. — Vol. 32. — P. 1175-1183.

9. Monneret G., Venet F., Pachot A., Lepape A. Monitoring immune dysfunctions in the septic

patient: A new skin for the old ceremony // *Mol. Med.* — 2008. — Vol. 14, N 1-2. — P. 64-78.

10. Oczenski W., Krenn H., Jilch R., Watzka H., Waldenberger F., Klier U., Schwarz S., Fitzgerald R.D. HLA-DR as a marker for increased risk for systemic inflammation and septic complications after cardiac surgery // *Intensive Care Med.* — 2003. — Vol. 29. — P. 1253-1257.

11. Venet F., Tissot S., Debard A., Faudot C., Cramp C., Pachot A., Ayala A., Monneret G. Decreased monocyte human leukocyte antigen-DR expression after severe burn injury: Correlation with severity and secondary septic shock // *Crit. Care. Med.* — 2007. — Vol. 35, N 8. — P. 1910-1917.

12. Wesche D.E., Lomas-Neira J.L., Perl M., Chung Ch.-S., Ayala A. Leukocyte apoptosis and its significance in sepsis and shock // *J. Leuk. Biol.* — 2005. — Vol. 78. — P. 325-337.

*поступила в редакцию 28.07.2011*

*отправлена на доработку 06.10.2011*

*принята к печати 09.11.2011*