

# ДИНАМИКА CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> СУБПОПУЛЯЦИЙ МОНОЦИТОВ ПРИ НЕОСЛОЖНЕННОМ СИСТЕМНОМ ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ОТВЕТЕ В ПЕРИОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Матвеева В.Г.<sup>1</sup>, Головкин А.С.<sup>1</sup>, Кудрявцев И.В.<sup>2</sup>,  
Григорьев Е.В.<sup>1</sup>, Чернова М.Н.<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.** В различные сроки периоперационного периода была исследована динамика содержания цитокинов в сыворотке крови и экспрессии поверхностных антигенов CD14 и CD16 на моноцитах у пациентов, перенесших коронарное шунтирование в условиях искусственного кровообращения. Было показано, что в раннем послеоперационном периоде имеется связь между тяжестью органных дисфункций, оцененной по шкале SOFA, и содержанием в крови IL-6, IL-10. К 1-м суткам после операции меняется субпопуляционный состав моноцитов за счет снижения относительного содержания CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> и увеличения CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>. На поверхности моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> уменьшается уровень экспрессии CD14 и повышается экспрессия рецептора CD16. Выявленная связь между относительным содержанием в крови моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, уровнем экспрессии CD16 на субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и оценкой в баллах по шкале SOFA свидетельствует о значительном вкладе указанных субпопуляций в характер течения раннего послеоперационного периода.

*Ключевые слова:* моноциты, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> субпопуляции, коронарное шунтирование, системный воспалительный ответ.

*Matveeva V.G., Golovkin A.S., Kudryavtsev I.V., Grigoriev E.V., Chernova M.N.*

## DYNAMICS OF CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> MONOCYTE SUBPOPULATIONS IN COMPLICATION-FREE SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE FOLLOWING CORONARY ARTERY BYPASS GRAFT SURGERY

**Abstract.** Time dynamics of CD14 and CD16 antigen expression on the surface of peripheral blood monocytes and serum cytokine contents was evaluated at different terms after surgical intervention in patients undergoing on-pump coronary artery bypass graft surgery. An association has been shown between severity of organ dysfunctions, as assessed by SOFA scores, and concentrations of IL-6 and IL-10 during early postoperative terms. On day +1 after surgery, the monocyte subpopulation profile was changed, due to relative decrease in CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> and increase in CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>. Expression of CD14 on the surface of CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> is reduced, along with increased expression of CD16 receptor. The observed association between relative CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> contents, CD16 expression level on CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte subpopulation, and SOFA scores suggest a significant contribution of above-mentioned subpopulations to clinical course at early terms after surgical intervention. (*Med. Immunol.*, 2012, vol. 14, N 4-5, pp 391-398)

### 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

*Keywords:* monocytes, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> subsets, CABG surgery, systemic inflammatory response.

## Введение

В настоящее время коронарное шунтирование (КШ) является наиболее эффективным способом лечения ишемической болезни сердца (ИБС) [1]. Большинство операций КШ проводится в условиях искусственного кровообращения (ИК). Несмотря на большой прогресс в области кардиохирургии и анестезиологии, у пациентов, перенесших операцию на сердце в условиях ИК, ранний послеоперационный период сопровождается проявлениями системного воспалительного ответа (СВО) различной степени тяжести, который в большинстве случаев не имеет связи с инфекцией [17]. Ключевая роль в развитии вторичного системного повреждения и формировании порочного патогенетического круга при СВО отводится появлению в кровотоке флогенных факторов (цитокины, протеиназы, активные формы кислорода [АФК] и др.), основными продуцентами которых являются моноциты, тканевые и сосудистые макрофаги [3].

Моноциты составляют 5-10% от общего количества лейкоцитов крови человека и выполняют ряд важных функций в запуске, поддержании и контроле иммунного ответа. Они образуются в костном мозге, циркулируют в крови от 24 до 72 ч, затем мигрируют в ткани, где, при наличии определенного микроокружения, дифференцируются в макрофаги или дендритные клетки. Не активированные в течение этого времени моноциты погибают апоптозом.

Популяция моноцитов не является однородной. В настоящее время классификация моноцитов находится в стадии формирования. В зависимости от экспрессии на поверхности низкоаффинного рецептора Fcγ CD16 и корецептора липополисахарида CD14, некоторые авторы выделяют две популяции циркулирующих в кровотоке моноцитов – CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> и CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> [11, 23]. По мнению других, по уровню экспрессии CD14 на поверхности моноцитов, оправдано дополнительное разделение субпопуляции CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> еще на две – CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> [7, 12, 20]. Эти разногласия усложняют интерпретацию результатов, полученных разными исследователями. Тем не менее, все авторы сходятся во мнении, что клетки различных популяций отличаются по функциональной активности, спектру секретируемых при активации цитокинов, набору и выраженности экспрессии рецепторов на поверхности клеток, что обуславливает выполнение различных функций в организме.

Аналогичное разделение моноцитов на популяции показано и для модельных животных – у мышей известны две основные субпопуляции моноцитов, получивших в литературе название

«воспалительной» Gr1<sup>+</sup> (Ly6C<sup>+</sup>) и «патрулирующей» Gr1<sup>-</sup> (Ly6C<sup>-</sup>) [10, 13, 21].

Моноциты Gr1<sup>+</sup> выполняют важную функцию в защите от инфекции и заживлении тканей [13]. При активации они способны к фагоцитозу, секреции антимикробных факторов, цитокинов, стимуляции пролиферации Т-эффекторов [15].

Клетки «патрулирующей» или Gr1<sup>-</sup> популяции моноцитов прикрепляются к эндотелию и, двигаясь вдоль капилляров, мелких вен и артерий, осуществляют наблюдение за состоянием эндотелия [10]. Предполагается, что в случае ишемического повреждения миокарда моноциты Gr1<sup>-</sup> принимают участие в репарации тканей, привлекая в очаг фибробласты, стимулируя ангиогенез и отложение коллагена [13]. Эта субпопуляция участвует в элиминации иммунных комплексов из циркуляторного русла, подавляет пролиферацию CD4<sup>+</sup> лимфоцитов и играет важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний [21].

С помощью молекулярно-биологических методов было показано, что спектр экспрессируемых генов Gr1<sup>+</sup> моноцитов мыши соответствует таковому CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> и CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> популяции моноцитов человека [10].

В норме приблизительно 90-95% моноцитов крови являются CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, которые характеризуются выраженной фагоцитарной активностью, продукцией активных форм кислорода, оксида азота, миелопероксидазы, лизоцима, а также хемокинов IL-8, CCL2, CCL3 [10]. В литературе клетки с данным фенотипом получили название «классических» моноцитов.

Минорная субпопуляция CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> моноцитов обладает сниженной фагоцитарной активностью и ограниченной способностью к респираторному «взрыву», синтезу хемокинов по сравнению CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>, но активно продуцирует провоспалительные цитокины (TNFα, IL-1β, IL-6) [8, 10]. Моноциты CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> вовлечены в процессы, связанные с системной воспалительной реакцией, что позволяет рассматривать данную популяцию клеток как «провоспалительную». Показано ее значительное увеличение у пациентов с сепсисом, ревматоидным артритом, СПИДом, атеросклерозом [23].

Мышиным Gr1<sup>-</sup> клеткам соответствуют человеческие моноциты CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>, которые также экспрессируют на своей поверхности CD16. Благодаря особенностям в экспрессии на поверхности хемокиновых рецепторов и рецепторов адгезии, моноциты с фенотипом CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> обладают повышенной тропностью к эндотелию и высокой миграционной активностью. Это обстоятельство определяет их распределение в организме. Известно, что в циркулирующей крови их содержится всего лишь до 25% от общего ко-

личества [19]. Моноциты CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> вызывают особый интерес у кардиологов, поскольку проявляют проатеросклеротическую активность и способствуют прогрессированию ИБС [10, 12].

Учитывая важную роль моноцитов в развитии воспалительной реакции и продукции цитокинов, а также отсутствие ясности в вопросах, касающихся участия различных субпопуляций моноцитов крови в развитии СВО неинфекционного генеза, **целью нашего исследования** явилось изучение динамики количественного и качественного состава популяций моноцитов (CD14CD16) крови в периоперационном периоде коронарного шунтирования.

## Материалы и методы

В исследование были включены 18 пациентов с ишемической болезнью сердца, стенокардией II-III ФК, хронической сердечной недостаточностью (ХСН) I-IIА (функциональный класс по NYHA II-III) в возрасте от 50 до 70 лет. Критерии исключения: сочетанная патология коронарных сосудов и клапанов сердца, острая инфекция и обострение хронической инфекции, наличие злокачественных новообразований, хирургические осложнения в послеоперационном периоде. Исходная фракция выброса левого желудочка менее 45%. Всем пациентам была выполнена операция коронарного шунтирования при стандартизированном виде кардиopleгии и непульсирующем режиме ИК. Время ИК составило 88 мин (75-105 мин), время пережатия аорты 57 мин (48-61 мин). Для динамической оценки тяжести органной недостаточности до операции и в 1-е сутки после операции была использована шкала SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessments Score / Sequential Organ Failure Assessment). Суммарная оценка по шкале SOFA складывается из оценок выраженности недостаточности различных систем (дыхательной, сердечно-сосудистой, нервной, коагуляционной, функции печени, почек).

Кровь из периферической вены забиралась в 2 разные пробирки: с K<sub>3</sub>ЭДТА и активатором свертывания до операции, через 18 часов и через 7 суток после операции. Сыворотка отделялась от форменных элементов крови центрифугированием не позднее 2 часов после забора и до исследования хранилась при -20 °С.

Для исследования моноцитов использовалась кровь с K<sub>3</sub>ЭДТА. В соответствии с инструкцией производителя в нее были добавлены моноклональные антитела CD16-FITC, CD45-PC5, CD14-APC (производства Beckman Coulter, США). Контролем служило внесение равного объема антител соответствующего изотипического контроля. Клетки с антителами инкубировали

при температуре 4 °С в течение 30 минут в защищенном от света месте. Лизис эритроцитов проводили лизирующим буфером BD FACS lysing solution (производства BD Bioscience, США). После 10-минутной инкубации клетки однократно отмывали избытком фосфатно-солевого буфера (PBS). Полученный осадок ресуспендировали в PBS.

Цитофлуориметрический анализ был выполнен на проточном лазерном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Использовалась программа CellQuestPro и единые настройки прибора для всех проб. В каждом из образцов анализировали не менее 3000 моноцитов. Для исключения дэбриса порог устанавливали по FS и CD45PC5. Популяцию моноцитов выделяли по CD14 в комбинации с боковым светорассеянием (SSC). По уровню экспрессии рецепторов CD14 и CD16 моноциты были разделены на три субпопуляции – CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> (рис. 1).

Абсолютное и относительное содержание моноцитов определяли с помощью гематологического анализатора МЕК-6400 (Nihon Kohden, Япония).

Уровень цитокинов IL-1β, IL-6, TNFα и IL-10 исследовали методом иммуноферментного анализа по протоколу фирм-производителей (Bender Medsystems, Германия), считывание оптической плотности и расчет результатов проводили на спектрофотометре Униплан (Россия).

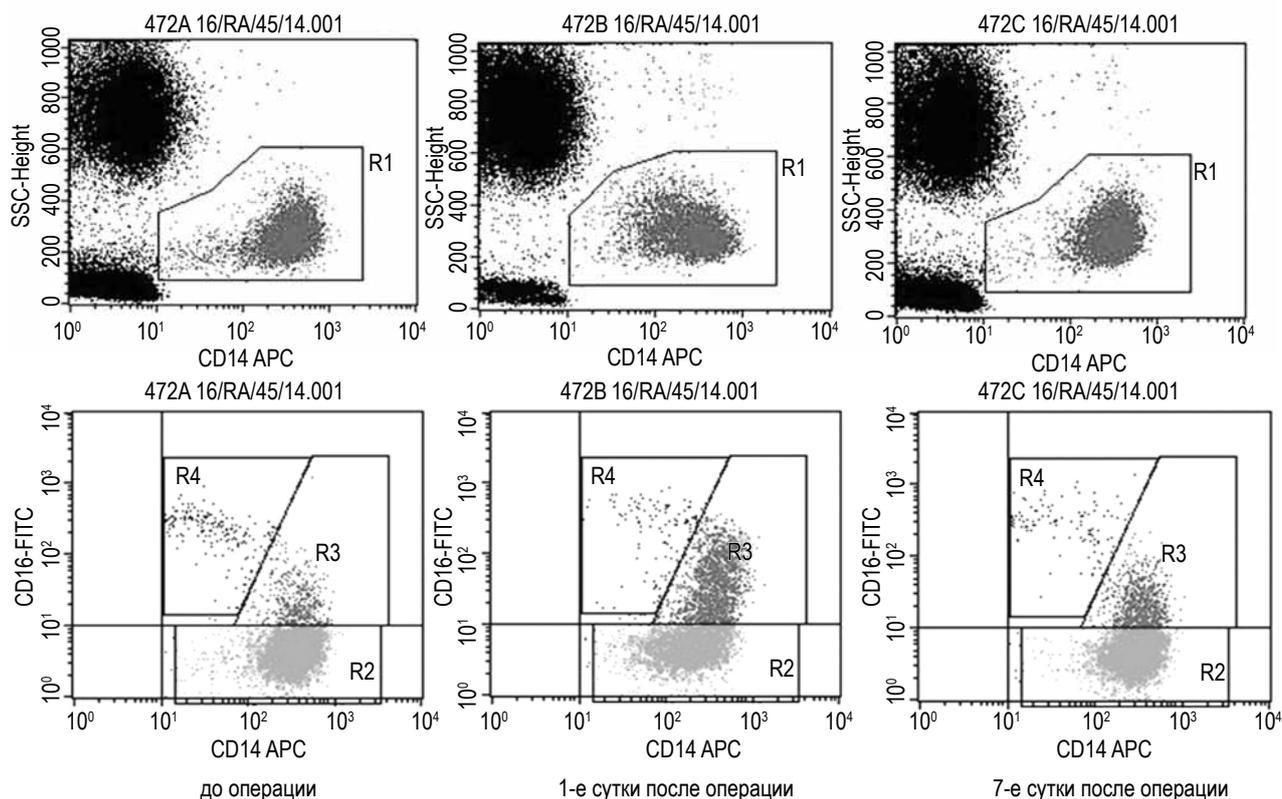
Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы «Statistica 6.0». Значимость различий оценивали непараметрическим U-критерием Вилкоксона–Манна–Уитни и W-критерием Вилкоксона. Сравнение групп проводили методом дисперсионного анализа (ANOVA). Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (25-75%).

## Результаты

### Исследование содержания цитокинов в крови пациентов в различные точки периоперационного периода

У всех пациентов в 1-е сутки после операции развивался неосложненный СВО, оценка тяжести органной недостаточности по шкале SOFA составила 1-3 балла. Гиперцитокинемия является важной патогенетической характеристикой феномена флогогенного удара, характерного для развития СВО [3]. Нами были исследованы наиболее значимые в этом отношении цитокины, к числу которых относятся IL-1β, IL-6, IL-10, TNFα.

На 1-е сутки после операции концентрация исследуемых цитокинов достоверно увеличива-



**Рисунок 1.** Гейтирование моноцитов по графику SSC/CD14 и их распределение по CD14/CD16 в различных точках обследования

**Примечание.** Регион R2 – субпопуляция CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>;  
R3 – CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>;  
R4 – CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>.

лась (табл. 1), наиболее значительные изменения зарегистрированы у IL-6 и IL-10.

К 7-м суткам происходило снижение содержания цитокинов в крови. Концентрация IL-1β, TNFα, IL-10 не отличалась от дооперационных значений, однако концентрация IL-6 оставалась выше исходного уровня.

**Изучение популяционного состава моноцитов крови**

У всех пациентов в 1-е сутки после операции происходило повышение (p = 0,0011) абсолют-

ного количества моноцитов в периферической крови, к 7-м суткам их содержание имело тенденцию к снижению, но все же было достоверно (p = 0,028) выше исходных значений (до операции 0,40 × 10<sup>9</sup>/л (0,34-0,57 × 10<sup>9</sup>/л), 1-е сутки после операции 0,70 × 10<sup>9</sup>/л (0,47-1,07 × 10<sup>9</sup>/л), 7-е сутки – 0,66 × 10<sup>9</sup>/л (0,43-0,88 × 10<sup>9</sup>/л).

Далее каждая субпопуляция – CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> – анализировалась отдельно (рис. 1). В таблице 2 отражена динамика исследуемых показателей в различных точках обследования. По сравнению с исходным до-

**ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ НА ЭТАПАХ ОБСЛЕДОВАНИЯ**

Цитокины	До операции	1-е сутки после операции	7-е сутки после операции
IL-1β (пг/мл)	0,21 (0,18-0,25)	0,24 (0,21-0,30)*	0,22 (0,19-0,25)
IL-6 (пг/мл)	1,45 (1,22-1,67)	28,29 (19,88-40,82)*	3,93 (2,72-7,39)**
TNFα (пг/мл)	0,24 (0,21-0,30)	0,34 (0,25-0,38)*	0,23 (0,21-0,27)**
IL-10 (пг/мл)	2,78 (2,57-4,28)	4,73 (3,30-6,45)*	2,94 (2,55-3,53)**

**Примечание.** \* – достоверность различий в сравнении с дооперационным уровнем (p < 0,05);  
\*\* – достоверность различий в сравнении с 1-ми сутками после операции (p < 0,05).

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА АБСОЛЮТНОГО И ОТНОСИТЕЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ В КРОВИ РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ МОНОЦИТОВ И СРЕДНЕЙ ИНТЕНСИВНОСТИ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ РЕЦЕПТОРОВ CD14 И CD16

параметры	CD14 <sup>hi</sup> CD16 <sup>-</sup>			CD14 <sup>hi</sup> CD16 <sup>+</sup>			CD14 <sup>dim</sup> CD16 <sup>+</sup>		
	до операции	1-е сутки после операции	7-е сутки после операции	до операции	1-е сутки после операции	7-е сутки после операции	до операции	1-е сутки после операции	7-е сутки после операции
Абс. кол. × 10 <sup>6</sup> /л	349 (291-429)	569* (343-856)	468* (375-688)	15 (12-31)	106* (67-181)	32** (17-68)	28 (16-48)	23 (15-42)	24 (13-59)
% от популяции моноцитов	84,6 (80,1-88,6)	79,5* (72,4-83,3)	86,9** (78,3-90,9)	3,9 (3,1-7,9)	14,1* (10,8-19,1)	4,8** (3,5-10,8)	7,8 (3,7-12,0)	3,6* (2,1-4,4)	6,6** (3,6-9,0)
MIF CD14	1146 (513-1503)	660* (278-843)	913** (279-1180)	1158 (518-1517)	1089 (413-1382)	936** (278-1204)	115 (41-183)	121* (67-278)	129** (31-161)
MIF CD16	–	–	–	92 (61-174)	63* (44-106)	125** (27-157)	320 (246-641)	217* (173-526)	280 (233-530)

**Примечание.** \* – достоверность различий в сравнении с дооперационным уровнем ( $p < 0,05$ );

\*\* – достоверность различий в сравнении с 1-ми сутками после операции ( $p < 0,05$ ).

операционным уровнем, в 1-е сутки после операции наблюдалось достоверное ( $p = 0,002$ ) снижение относительного содержания моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> в крови при повышении абсолютного количества. Кроме того, в этот период отмечалось увеличение относительного (в 3,6 раза,  $p < 0,001$ ) и абсолютного (в 7 раз,  $p < 0,001$ ) количества моноцитов с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>.

Снижение относительного количества CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> на 1-е сутки после операции не сопровождалось достоверным изменением их абсолютного содержания.

Таким образом, повышение количества моноцитов в 1-е сутки послеоперационного периода происходило за счет субпопуляций CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> и CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>.

Проведена оценка уровня экспрессии поверхностных рецепторов CD14 и CD16 в периоперационном периоде по средней интенсивности флюоресценции – MIF (mean intensity of fluorescence) (табл. 2). В 1-е сутки после операции, по сравнению с дооперационным уровнем, на моноцитах CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> происходило уменьшение плотности экспрессии рецептора CD14 ( $p < 0,001$ ). Одновременно снижался уровень экспрессии CD16 на всех позитивных по этому рецептору моноцитах. Так, медиана MIF клеток с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> достоверно уменьшалась ( $p = 0,016$ ,  $p = 0,012$  соответственно). Снижение MIF CD16 на субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> происходило за счет эффекта наложения моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, начинающих экспрессировать рецептор CD16 на популяцию CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>.

В крови пациентов, полученной на 7 сутки после операции, относительное и абсолютное содержание практически всех субпопуляций моноцитов соответствовало дооперационным значениям. Исключение составляли лишь клетки с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, их абсолютное содержание снижалось по сравнению с 1-ми сутками, но оставалось выше дооперационного уровня. Кроме того, к этому времени уровень экспрессии CD14 на поверхности этих клеток повышался, но также не достигал исходных значений ( $p = 0,016$ ). На моноцитах CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> к 7-м суткам уровень экспрессии CD16 соответствовал дооперационному.

#### Корреляционная связь между оценкой по шкале SOFA, содержанием цитокинов в крови и некоторыми характеристиками субпопуляций моноцитов (табл. 3)

Для изучения связи между тяжестью органной недостаточности с концентрацией IL-6 и IL-10 в сыворотке крови и различными характеристиками популяций моноцитов был применен корреляционный анализ. Результаты данного исследования приведены в таблице 3. На 1-е сутки после операции обнаружены положительные корреляционные связи между оценкой по шкале SOFA и концентрацией в крови IL-6 и IL-10. Более того, оценка по SOFA имела отрицательную корреляционную связь с относительным содержанием в крови субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> и положительную с уровнем экспрессии CD16 на моноцитах CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> (табл. 3).

ТАБЛИЦА 3. КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ МЕЖДУ ИССЛЕДУЕМЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ В 1-е СУТКИ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ

Показатель	SOFA (баллы)	MIF CD16	
		CD14 <sup>hi</sup> CD16 <sup>+</sup> субпопуляция	CD14 <sup>dim</sup> CD16 <sup>+</sup> субпопуляция
IL-6 (пг/мл)	0,73*	0,51	0,49
IL-10 (пг/мл)	0,86*	0,64*	0,53*
CD14 <sup>hi</sup> 16 <sup>-</sup> %	-0,55*	-0,30	-0,36
SOFA (баллы)	–	0,57*	0,41

**Примечание.** \* – уровень статистической значимости  $p < 0,05$ .

Установлена положительная связь между сывороточной концентрацией IL-10 и уровнем экспрессии рецептора CD16 на моноцитах с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>.

## Обсуждение

Одно из определений позиционирует СВО как системную реакцию организма на агрессию (инфекцию, травму, развитие первоначального деструктивного процесса), опосредованную гиперпродукцией и дисбалансом про- и противовоспалительных медиаторов [2, 5]. У кардиохирургических пациентов, оперированных в условиях ИК, ранний послеоперационный период характеризуется формированием системного воспалительного ответа различной степени выраженности и сопутствующей этому процессу гиперцитокинемией. В нашем исследовании в 1-е сутки после операции достоверно повышался уровень всех исследуемых цитокинов в крови (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 и TNF $\alpha$ ) и наиболее значительно IL-6 и IL-10.

Среди провоспалительных цитокинов IL-6 имеет более длительный период полужизни, чем TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$  и может выступать маркером сепсиса и связанного с ним системного воспалительного ответа [4, 16].

Среди противовоспалительных медиаторов наибольшую значимость имеет IL-10. У пациентов, перенесших операцию на сердце в условиях ИК, его уровень достигает максимума в крови в течение двух часов после инициации системного воспалительного ответа и снижается ко вторым суткам [11, 14]. IL-10 ингибирует продукцию макрофагами и моноцитами провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и TNF $\alpha$ , снижает экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости II класса, костимуляторных молекул и др. [6]. В литературе имеются указания на связь между содержанием IL-6, IL-10 в крови и риском развития инфекции в послеоперационном периоде [4, 14]. В настоящее исследование вошли пациенты с СВО, но без послеоперационных ин-

фекционных осложнений. Обнаруженная нами корреляционная связь между тяжестью органических дисфункций, оцененных по шкале SOFA, и содержанием в крови IL-6, IL-10 в раннем послеоперационном периоде является косвенным свидетельством общих путей и механизмов, лежащих в основе развития СВО и связанной с ним органной недостаточности как инфекционного, так и неинфекционного генеза.

В крови здоровых людей субпопуляция CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> является основной. Однако при многих системных воспалительных заболеваниях (ревматоидный артрит, атеросклероз, болезнь Кавасаки, бактериальном сепсисе, СПИД и др.), происходит повышение содержания моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> [23]. В нашем исследовании к 1-м суткам после операции в сравнении с дооперационным периодом, изменялся субпопуляционный состав моноцитов. У всех пациентов, перенесших операцию коронарного шунтирования в условиях ИК, снижалось относительное содержание в крови моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> и многократно увеличивалось количество клеток CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>.

До сих пор не представлены достаточно убедительные доказательства происхождения CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> клеток, и этот вопрос остается открытым. Анализ литературы свидетельствует о том, что субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> и CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> связаны между собой. Среди этих субпопуляций уровень экспрессии рецептора CD16 может быть маркером активации [10, 12, 22]. Имеются данные о том, что активация или созревание клеток с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> сопровождается снижением экспрессии CD14 и появлением на их поверхности рецептора CD16 [8, 10, 12, 18]. Merino в экспериментах *in vitro* и *in vivo* показал, что моноциты CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> могут дифференцироваться из CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> [12]. Так, культивация выделенных из периферической крови моноцитов CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> в присутствии IL-4, IL-10 и GM-CSF приводит к появлению на их поверхности рецептора CD16 и снижению экс-

прессии CD14. В итоге, моноциты приобретают фенотип CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>. Подобные результаты можно найти в работе Skinner N.A., только в качестве стимуляторов использовались липополисахарид, стафилококковый энтеротоксин и пептидогликан [18]. Кроме того, стимуляция *in vitro* сопровождалась появлением у моноцитов «провоспалительных» свойств, что выражалось в увеличении интенсивности их адгезии к клеткам эндотелия и способностью поддерживать пролиферацию Th-2 лимфоцитов [12].

Полученные нами результаты согласуются с гипотезой о возможной дифференцировке субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> из CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> моноцитов. Возможно, указанный механизм образования субпопуляции CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> не единственный, тем не менее, данные, приведенные в таблицах 2 и 3, показывают, что в раннем послеоперационном периоде на поверхности моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> снижается плотность экспрессии CD14 и появляется рецептор CD16. Это приводит к увеличению количества клеток с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>. Поскольку приобретение классическими моноцитами провоспалительного фенотипа сопровождается повышением уровня экспрессии CD16, этот рецептор внутри субпопуляций может служить маркером активации.

В раннем послеоперационном периоде имеется связь между относительным содержанием клеток с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, уровнем экспрессии CD16 на CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> моноцитах и тяжестью органических дисфункций, оцененных по шкале SOFA. Поэтому представляется перспективным дальнейшее изучение этих субпопуляций в качестве маркера тяжести органических дисфункций и СВО у пациентов с осложненным течением послеоперационного периода.

Обнаружена положительная корреляционная связь между сывороточной концентрацией IL-10 в первые сутки после операции и уровнем экспрессии рецептора CD16 на моноцитах с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> ( $p < 0,05$ ; коэффициент корреляции 0,64) и CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> ( $p < 0,05$ ; коэффициент корреляции 0,53). В экспериментах *in vitro* показано, что культивирование моноцитов CD16<sup>-</sup> в течение 18-24 часов в присутствии IL-10 приводит к повышению экспрессии рецептора CD16 и их созреванию в CD16<sup>+</sup> моноциты или макрофаги [9, 12], а добавление анти-IL-10 ингибирует этот эффект [9]. Без сомнения, данные, полученные в работах *in vitro*, нельзя полностью экстраполировать на результаты клинических исследований, тем не менее, они помогают дать возможное объяснение происходящим в организме изменениям. Вполне вероятно, что повышение в крови IL-10 в 1-е сутки после опера-

ции оказывает влияние на уровень экспрессии CD16 на моноцитах.

Снижение относительного содержания моноцитов CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> в периферической крови в раннем послеоперационном периоде не сопровождалось изменением их абсолютного количества, что подтверждает положение об их преимущественной локализации на поверхности эндотелия [19].

Изменения в субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> сохранялись наиболее длительно. На 7-е сутки после операции в ней оставались достоверные отличия от исходных значений по абсолютному содержанию в крови и уровню экспрессии CD14.

Таким образом, в раннем послеоперационном периоде у пациентов, перенесших КШ в условиях ИК, имеется связь между тяжестью органических дисфункций, оцененной по шкале SOFA, и содержанием в крови IL-6, IL-10. В этот период происходит изменение субпопуляционного состава моноцитов за счет снижения относительного содержания CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> и увеличения CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>. Повышение экспрессии рецептора CD16 на CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> моноцитах можно рассматривать как возможный механизм увеличения количества клеток с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>. Выявленные связи между оценкой в баллах по шкале SOFA и относительным содержанием в крови моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, а также уровнем экспрессии CD16 на субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> свидетельствуют о значительном вкладе этих субпопуляций в характер течения послеоперационного периода.

## Список литературы

1. Бокерия Л.А., Мерзляков В.Ю., Ключников И.В., Скопин А.И., Мамедова С.К., Мамаев Х.К., Желихажева М.В. Оценка отдаленных результатов и качества жизни пациентов после операции реваскуляризации миокарда на работающем сердце // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. — 2007. — Т. 8, № 3. — С. 28-34.
2. Гельфанд Е.Б., Гологорский В.А., Гельфанд Б.Р. Клиническая характеристика абдоминального сепсиса у хирургических больных // Интенсивная терапия. — 2000. — № 1.
3. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Юрченко Л.Н. Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса // Цитокины и воспаление. — 2007. — Т. 6 (4). — С. 9-21.
4. Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н., Черешнев В.А., Зотова Н.В., Журавлева Ю.А., Зубова Т.Э., Руднов В.А., Кузьмин В.В., Макарова Н.П., Лейдерман И.Н., Левит Д.А., Суханов В.А., Сипачев А.С., Бражников А.Ю., Решетникова С.Ю., Засорин А.А., Дрозд А.В. Варианты

развития острого системного воспаления // Цитокины и воспаление. – 2008. – Т. 7 (2). – С. 9-17.

5. Шляпников С.А. Проблемы классификации, диагностики и лечения сепсиса // Интенсивная терапия. – 2002. – Т. 4 (1). – С. 14-16.

6. Adib-Conquy M., Cavaillon J.M. Compensatory anti-inflammatory response syndrome // *Thromb. Haemost.* – 2009. – 101 (1). – P. 36-47.

7. Ancuta P., Rao R., Moses A., Mehle A., Shaw S.K., Lusinskas F.W., Gabuzda D. Fractalkine Preferentially Mediates Arrest and Migration of CD16+ Monocytes // *JEM* June 16. – 2003. – Vol. 197 (12). – P. 1701-1707.

8. Andreesen R., Brugger W., Scheibenbogen C., Kreuz M., Leser H.G., Rehm A., Löhr G.W. Surface phenotype analysis of human monocyte to macrophage maturation // *J. Leukoc. Biol.* – 1990. – Vol. 47. – P. 490-497.

9. Calzada-Wack J.C., Frankenberger M., Ziegler-Heitbrock H.W. Interleukin-10 drives human monocytes to CD16 positive macrophages // *J. Inflamm.* – 1996. – 46 (2). – P. 78-85.

10. Cros J., Cagnard N., Woollard K., Patey N., Zhang S.Y., Senechal B., Puel A., Biswas S.K., Moshous D., Picard C., Jais J.P., D'Cruz D., Casanova J.L., Trouillet C., Geissmann F. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors // *Immunity.* – 2010. – Sep 24. – 33 (3). – P. 375-386.

11. Hiesmayr M. J., Spittler A., Lassnigg A., Berger R., Laufer G., Kocher A., Artemiou O., Boltz-Nitulescu G., Roth E. Alterations in the number of circulating leucocytes, phenotype of monocyte and cytokine production in patients undergoing cardiothoracic surgery // *Clin. Exp. Immunol.* – 1999. – Vol. 115 (2). – P. 315-323.

12. Merino A., Buendia P., Martin-Malo A., Aljama P., Ramirez R., Carracedo J. Senescent CD14+ CD16+ Monocytes Exhibit Proinflammatory and Proatherosclerotic Activity // *J. Immunol.* – 2010. – 186. – P. 1809-1815.

13. Nahrendorf M., Swirski F.K., Aikawa E., Stangenberg L., Wurdinger T., Figueiredo J., Libby P., Weissleder R., Pittet M. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions // *J. Exp. Med.* – 2007. – Vol. 204. – P. 3037-3047.

14. Sander M., Heymann C., Dossow V., Spaethe C., Konertz W.F., Jain U., Spies C.D.

Increased Interleukin-6 after cardiac surgery predicts Infection // *Anesth. Analg.* – 2006. – Vol. 102. – P. 1623-1629.

15. Serbina N.V., Jia T., Hohl T.M., Pamer E.G. Monocyte-mediated defense against microbial pathogens // *Annu. Rev. Immunol.* – 2008. – Vol. 26. – P. 421-452.

16. Shigeto Oda, Hirasawa H., Shiga H., Nakanishi K., Matsuda K., Nakamura M. Sequential measurement of IL-6 blood levels in patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS)/ sepsis // *Cytokine.* – 2005. – Vol. 29. – P. 169-175.

17. Shinji Hirai. Systemic Inflammatory Response Syndrome after Cardiac Surgery under Cardiopulmonary Bypass // *Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2003. – Vol. 9. (6). – P. 365 – 370.

18. Skinner N.A., MacIsaac C.M., Hamilton J.A., Visvanathan K. Regulation of Toll-like receptor (TLR)2 and TLR4 on CD14dimCD16+ monocytes in response to sepsis-related antigens // *Clin. Exp. Immunol.* – 2005. – Vol. 141 (2). – P. 270-278.

19. Steppich B., Dayyani F., Gruber R., Lorenz R., Mack M.H., Ziegler-Heitbrock W.L. Selective mobilization of CD14+CD16+ monocytes by exercise // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2000. – Vol. 279. – P. 578-586.

20. Tallone T., Turconi G., Soldati G., Pedrazzini G., Moccetti T., Vassalli G. Heterogeneity of Human Monocytes: An Optimized Four-Color Flow Cytometry Protocol for Analysis of Monocyte Subsets // *J. of Cardiovasc. Trans. Res.* – 2011. – 4. – P. 211-219.

21. Yasunori Iwata, Furuichi K, Kitagawa K, Hara A., Okumura T., Kokubo S., Shimizu K., Sakai N., Sagara A., Kurokawa Y., Ueha S., Matsushima K., Kaneko S., Wada T. Involvement of CD11b+ GR-1low cells in autoimmune disorder in MRL-Faslpr mouse // *Clin. Exp. Nephrol.* – 2010. – 14 (5). – P. 411-417.

22. Ziegler-Heitbrock H. Definition of human blood monocytes // *J. of Leukocyte Biology.* – 2000. – Vol. – P. 603-606.

23. Ziegler-Heitbrock L. The CD14+ CD16+ blood monocytes: their role in infection and inflammation // *J. of Leukocyte Biology.* – 2007. – Vol. 81. – Issue: 3. – P. 584-592.

*поступила в редакцию 20.02.2012*

*отправлена на доработку 13.03.2012*

*принята к печати 19.03.2012*