

*На правах рукописи*

**ПЫЛАЕВА ЕКАТЕРИНА АЛЕКСЕЕВНА**

**ЭФФЕКТОРНЫЕ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ  
ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ СТАБИЛЬНОЙ  
ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА**

14.01.05 – Кардиология

03.03.04 – Клеточная биология, Гистология, Цитология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата медицинских наук**

**Москва – 2015**

Работа выполнена в ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные руководители:**

Академик РАН

**Чазов Евгений Иванович**

Доктор биологических наук

**Арефьева Татьяна Игоревна**

**Официальные оппоненты:**

Доктор медицинских наук,  
профессор ГБОУ ВПО «Московский  
государственный медико-стоматологический  
университет им. А.И. Евдокимова» МЗ РФ,  
академик РАН

**Мартынов Анатолий Иванович**

Кандидат медицинских наук,  
старший научный сотрудник,  
ФГБУН «Институт высшей нервной  
деятельности и нейрофизиологии» РАН

**Аниол Виктор Александрович**

**Ведущая организация:**

ФГБОУ высшего образования «Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова»

Защита состоится "21" января 2016 года в 13.30 часов на заседании диссертационного совета Д. 208.073.04 в ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ (121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, д.15а).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ (121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, д.15а), <http://cardioweb.ru/> .

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2015 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук

**Сорокин Евгений Владимирович**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы исследования**

Атеросклероз (АС) представляет собой хронический воспалительный процесс, развивающийся в интиме артерий. Воспаление инициируется накоплением веществ, в первую очередь, окисленных липопротеидов низкой плотности (окЛНП), которые способны активировать клетки неспецифического иммунитета и обладают свойствами аутоантигенов (аутоАГ). Презентация аутоАГ дендритными клетками (ДК) и макрофагами Т-хелперам 1 типа (Тх1) стимулирует их пролиферацию и синтез цитокинов, участвующих в поддержании воспалительного процесса, прежде всего, интерферона(ИНФ)-гамма. Согласно данным, полученным в моделях АС, минорные субпопуляции Т-клеток контролируют течение воспалительного процесса. Т-хелперы, продуцирующие интерлейкин (ИЛ)-17 (Тх17), оказывают провоспалительное и проатерогенное действие, стимулируя аутоиммунные реакции. Регуляторные Т-лимфоциты (Трег), напротив, оказывают противовоспалительное и антиатерогенное действие путем секреции трансформирующего фактора роста (ТФР)-бета и ИЛ-10, цитотоксических агентов и посредством контактных механизмов, ингибирующих активность эффекторных клеток.

Большинство клинических данных о субпопуляционном составе лимфоцитов крови при атеросклерозе получено для пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС), в т.ч. инфарктом миокарда (ИМ): показано снижение количества Трег и повышение содержания Тх1 и Тх17 у пациентов с ОКС по сравнению с пациентами со стабильной стенокардией (СС) и лицами без значимого поражения коронарного русла. Наряду с этим, результаты исследований, посвящённых изучению иммунного баланса у пациентов со стабильными проявлениями АС коронарных артерий (КА) и брахиоцефальных артерий (БЦА), противоречивы. Данных о связи

показателей клеточного иммунитета со скоростью прогрессирования АС не опубликовано.

Работа выполнена по плану НИР ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ (121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, д.15а). Номер госрегистрации темы РК 114052670029.

**Цель исследования.** Изучение количества и функциональной активности субпопуляций Т-лимфоцитов у пациентов с различной выраженностью атеросклероза коронарных и брахиоцефальных артерий и исследование влияния проатерогенных факторов на функциональную активность лимфоцитов в культуре.

**Задачи исследования:**

1. Определить содержание Тх1, Тх17 и Трег в крови у пациентов с различной степенью атеросклероза коронарных и брахиоцефальных артерий.

2. Исследовать уровень цитокинов ИЛ-17, ИЛ-10, С-реактивного белка, измеренного высокочувствительным методом, и субъединицы рецептора ИЛ-2 (sCD25) в крови у пациентов с различной степенью атеросклероза коронарных и брахиоцефальных артерий.

3. Оценить влияние модифицированных ЛНП на содержание Тх1, Тх17 и Трег, а также на активность клеток по уровню продукции цитокинов в культуре моноклеарных клеток и CD4+ лимфоцитов, полученных из периферической крови здоровых добровольцев и пациентов с ИБС.

**Научная новизна исследования.** Впервые установлено изменение иммунологического баланса (уменьшение содержания в крови Трег и ИЛ-10 и увеличение содержания Тх17 и ИЛ-17) у больных с выраженным атеросклеротическим поражением КА и БЦА и с прогрессированием коронарного атеросклероза. Впервые показана связь базального уровня ИЛ-10-продуцирующих Т-клеток со скоростью прогрессирования коронарного АС у пациентов с диагностированной ИБС. Впервые установлено

присутствие в периферическом кровотоке человека лимфоцитов, специфических к окЛНП.

**Практическая значимость результатов исследования.** Данные об изменении иммунного баланса при АС могут лечь в основу дополнительных диагностических методов, позволяющих оценить степень атеросклеротических изменений КА и БЦА и прогнозировать скорость развития заболевания у конкретного больного. Выявление новых патогенетических звеньев атерогенеза способствует разработке методов лечения, воздействующих на воспалительный и иммунный компоненты АС.

**Личное участие автора в получении результатов исследования.** Автором проводился анализ литературы, посвящённой изучаемой проблеме, составление протокола исследования, ведение пациентов, включённых в исследование, в течение стационарной госпитализации и амбулаторных визитов. Автором проводилась работа с культурой лимфоцитов, иммунофенотипирование клеток, отработана методика определения активированных лимфоцитов методом ELISPOT. Автором выполнены статистическая обработка результатов, написание статей и тезисов, подготовка текста диссертации, разработка практических рекомендаций.

**Внедрение результатов работы в клиническую практику и учебный процесс.** Результаты работы внедрены в практику отдела хронической ИБС и лаборатории клеточной иммунологии ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ.

**Апробация работы** состоялась на межотделенческой научной конференции ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ 29 апреля 2015 года (протокол №22). Диссертация рекомендована к защите.

**Публикации:** По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 5 работ в журналах, рекомендованных ВАК МОН РФ. Основные положения диссертации были представлены на международных и российских

конференциях: European Society of Cardiology Congress (2010), Congress of the European Atherosclerosis Society (2013, 2014, 2015), International Congress on Coronary Artery Disease (2009), Annual Scandinavian Atherosclerosis Conference (2014, 2015), Конференция Инновационные технологии в медицине XXI века (2012), Юбилейная Всероссийская научно–практическая конференция с международным участием «Достижения современной кардиологии» (2014, 2015).

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 131 странице, состоит из введения, четырёх глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение), заключения, выводов и практических рекомендаций, списка литературы, включающего 186 источников, в т.ч. 9 отечественных и 177 иностранных. Диссертация иллюстрирована 19 таблицами, 19 рисунками, 6 клиническими примерами.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Клиническая характеристика больных и методы исследования.**

В исследование было включено 132 пациента с ИБС и клиникой СС. Всем пациентам проводилось обследование, включавшее в себя: общеклиническое обследование (сбор анамнеза, физикальный осмотр, аускультация, измерение артериального давления); электрокардиографическое исследование в 12 стандартных отведениях; эхокардиография; суточное мониторирование ЭКГ; проба с дозированной физической нагрузкой или перфузионная сцинтиграфия миокарда с  $^{99m}\text{Tc}$ -МИБИ по протоколу покой-нагрузка; общий и биохимический анализ крови; селективная коронарная ангиография (КАГ); ультразвуковое дуплексное сканирование (УЗДС) БЦА по показаниям.

**Критерии исключения больных из исследования:** ОКС, ИМ в предшествующие 6 месяцев; оперативные вмешательства (в том числе транслуминальная баллонная ангиопластика коронарных артерий (ТБКА) со

стентированием КА, коронарное шунтирование) в предшествующие 6 месяцев; развитие рестеноза в стентированном ранее сосуде; злокачественные новообразования; тяжёлая почечная или печёночная недостаточность; наличие воспалительных/инфекционных заболеваний; сахарный диабет в стадии декомпенсации; приём иммуностропной терапии.

В соответствии с критериями исключения из 132 обследованных пациентов 11 были исключены: 8 - в связи с развитием рестеноза в ранее стентированном сосуде, 1 - с манифестацией миелоидного лейкоза, 1 - с герпес-вирусной инфекцией, 1 - с пневмонией.

Участие в исследовании продолжили 121 человек, которые распределялись в 4 группы (Гр.) в зависимости от стадии и степени прогрессирования коронарного АС по данным КАГ. Гр.1 составили пациенты с неизменёнными КА (n=28). В Гр. 2 и 3 включались пациенты с ранее выполненным стентированием КА. У пациентов Гр. 2 (n=32) не было отмечено прогрессирования коронарного атеросклероза в сравнении с данными ранее выполненной КАГ, у пациентов Гр. 3 (n=24) зарегистрировано прогрессирование коронарного АС - появление ранее отсутствовавшего стеноза магистральной КА более 50% в сосуде, ранее не подвергавшемся коронарному стентированию. Стентирование выполнено за  $23,8 \pm 8,4$  (Гр.2) и  $22,4 \pm 8,7$  мес. (Гр. 3) до включения в исследование (межгрупповые различия незначимы). Гр. 4 составили пациенты с многососудистым поражением КА (n=37). Тяжесть атеросклеротического поражения коронарного русла (степень сужения просвета в зависимости от локализации - проксимального, среднего или дистального отделов артерии) оценивали по модифицированной шкале Gensini у 30 пациентов (88%) Гр. 4, которым ранее не проводилось стентирование КА.

Пациенты всех групп получали на момент включения в исследование (до проведения КАГ) стандартную для больных ИБС терапию (таблица 1), в

дальнейшем дозы корректировали с учётом целевых значений показателей и сопутствующих заболеваний.

*Таблица 1. Медикаментозная терапия.*

|                     | Пациенты (n=121) |           |           |           | <i>p</i> |
|---------------------|------------------|-----------|-----------|-----------|----------|
|                     | Группа 1         | Группа 2  | Группа 3  | Группа 4  |          |
| Бета-блокаторы      | 23 (82%)         | 30 (94%)  | 23 (96%)  | 36 (97%)  | 0,09     |
| Аспирин             | 25 (89%)         | 32 (100%) | 24 (100%) | 37 (100%) | 0,29     |
| Статины             | 24 (86%)         | 32 (100%) | 24 (100%) | 36 (97%)  | 0,15     |
| иАПФ/БРА            | 21 (75%)         | 24 (75%)  | 21 (88%)  | 34 (92%)  | 0,13     |
| Клопидогрел         | 13 (46%)         | 15 (46%)  | 16 (67%)  | 24 (65%)  | 0,24     |
| Антагонисты кальция | 6 (21%)          | 8 (25%)   | 5 (21%)   | 14 (39%)  | 0,25     |

**Выделение мононуклеарных клеток** из периферической крови проводили методом центрифугирования в градиенте плотности по методике Boyum. CD4+ лимфоциты выделяли из клеток мононуклеарной фракции методом иммуномагнитной сепарации (MiltenyiBiotec).

**Имунофенотипирование клеток (выявление поверхностных и внутриклеточных антигенов) методом цитофлуориметрии в потоке.** Для выявления поверхностных антигенов использовали флуоресцентно меченные моноклональные антитела CD4-FITC, CD4-PC5, CD25-PC5, CD127-PE, CD45-APC (Becton Dickinson, eBioscience, Beckman Coulter). Окрашивание поверхностных антигенов проводили в цитратной крови с использованием растворов для лизиса эритроцитов и фиксации лейкоцитов (Becton Dickinson) и в культуре мононуклеарных лейкоцитов. Для идентификации внутриклеточных белков использовали наборы для фиксации и пермеабиллизации клеток (eBioscience) и флуоресцентно меченные антитела (FoxP3-Alexa488, IL17A-PE, IL-10-PE, и IFN gamma-FITC, eBioscience). Окрашивание клеток антителами к цитокинам проводили после 4 ч активации в присутствии 25 нг/мл форболмиристатацетата (ФМА), 1 мкг/мл иономицина и 10 мкг/мл монензина (все реактивы Sigma) в среде RPMI 1640-10% фетальной бычьей сыворотки. Флуоресценцию клеток измеряли



методом цитофлуориметрии в потоке (FACS Calibur, Becton Dickinson Immunocytometry Systems). Лимфоциты выделяли по параметрам прямого и бокового светорассеяния и по экспрессии CD45. Трег типировали как CD4+CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup> и CD4+Foxp3<sup>+</sup> Т-лимфоциты, активированные Т-хелперы (ТхТ) как CD4+CD25<sup>low</sup>CD127<sup>high</sup>, ИЛ-10-продуцирующие Т-лимфоциты как CD4+IL10<sup>+</sup>. Тх1 и Тх17 типировали как CD4+IFN $\gamma$ <sup>+</sup> и CD4+IL17<sup>+</sup> Т-лимфоциты, соответственно. Для определения количества апоптотических клеток пробы дополнительно окрашивали Аннексином V-FITC согласно протоколу производителя (Beckman Coulter).

**Определение содержания ИЛ-17, ИЛ-10, вчСРБ, sCD25 в крови больных.** Исследование концентрации sCD25 и ИЛ-10 в сыворотке крови проводили хемилюминесцентным методом на анализаторе Immulite 1000 (DPC - Siemens). Концентрацию ИЛ-17 в плазме крови измеряли иммуноферментным методом с использованием набора Bender MedSystems. Концентрацию СРБ определяли высокочувствительным методом на нефелометре Bering Marburg GmbH, Dade.

**окЛНП** были любезно предоставлены в.н.с. лаборатории проблем атеросклероза РКНПК Афанасьевой О.И.

**Культивирование клеток** (мононуклеарных лейкоцитов, CD4<sup>+</sup> лимфоцитов) проводили в среде RPMI 1640, содержащей 10% инактивированной пулированной сыворотки человека, 10 мМ HEPES по 100 Ед/мл пенициллина и стрептомицина, 2 мМ L-глутамина, 20 мкМ меркаптоэтанол, по 1% пирувата и смеси неэссенциальных аминокислот в течение 24 (для мононуклеарных) или 48 ч (для CD4<sup>+</sup>) при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. В среду культивирования CD4<sup>+</sup>лимфоцитов дополнительно вносили рекомбинантный ИЛ-2 человека (Cys145Ser, RandSystems) в количестве 4 нг/мл. окЛНП использовали в концентрации 5 и 50 мкг/мл. При анализе количества ИЛ-2-продуцирующих Т-клеток методом ELISPOT в качестве позитивного контроля брали клетки, активированные фитогемагглютинином

(Sigma) в концентрации 5 мкг/мл. Для выявления цитокин-продуцирующих клеток в последние 4 часа инкубации в среду культивирования клеток вносили 25 нг/мл ФМА, 1 мкг/мл иономицина и 10 мкг/мл монензина.

**Выявление лимфоцитов, активированных в присутствии окЛНП,** проводили по детекции ИЛ-2 методом ELISPOT, согласно протоколу производителя (Becton Dickinson).

**Определение концентрации цитокинов** (ИЛ-1бета, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17, ФНО-альфа, ИНФ-гамма) в супернатанте культур клеток проводили иммунофлуоресцентным методом с использованием наборов СВА (Cytometric Bead Array, Becton Dickinson), а также методом иммуноферментного анализа с использованием наборов Bender MedSystems.

## **СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ**

Нормальный характер распределения данных оценивали критерием Шапиро-Уилка. В случае соответствия распределения признака нормальному закону данные выражали как среднее  $\pm$  стандартное отклонение, в случае несоответствия – как медиана (25й-75й перцентили). При соответствии распределения признака нормальному закону и сопоставимых по размеру выборках для множественного межгруппового сравнения использовали метод ANOVA, для попарных межгрупповых сравнений - t-критерий Стьюдента. В случае несоответствия распределения признака нормальному закону, малого объёма выборок или различий в размере выборок для множественного межгруппового сравнения использовали тест медиан и критерий Краскала-Уоллиса, для попарных межгрупповых сравнений - U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения показателей в малых выборках в динамике использовали непараметрический парный тест Уилкоксона для зависимых выборок. Для сопоставления групп по качественным признакам использовали критерий Хи-квадрат, в случае малых групп – Хи-квадрат с поправкой Йетса. Корреляционный анализ проводили с использованием метода Спирмена. Анализ чувствительности метода проводили при помощи

построения ROC-кривых. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . В работе применялся пакет статистических программ Statistica 7,0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Анализ содержания субпопуляций лимфоцитов и «растворимых» маркёров воспаления у пациентов с различной выраженностью и скоростью прогрессирования атеросклероза коронарных артерий.**

Доля активных курильщиков была выше в 4 группе, по другим клинико-анамнестическим и лабораторным характеристикам группы не различались (таблица 2)

*Таблица 2. Клиническая характеристика пациентов: сопоставление групп с различной степенью атеросклеротического поражения коронарных артерий.*

|                        | Пациенты (n=121) |                  |                  |                  | p                |
|------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|                        | Группа 1<br>n=28 | Группа 2<br>n=32 | Группа 3<br>n=24 | Группа 4<br>n=37 |                  |
| Пол, мужчины           | 18 (64%)         | 28 (88%)         | 20 (83%)         | 26 (70%)         | 0,07             |
| Возраст, лет           | 68±7,0           | 62±12            | 61±11            | 65±9,0           | 0,40             |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup> | 28±3,8           | 29±5,1           | 30±4,5           | 29±5,1           | 0,32             |
| АГ                     | 22 (78%)         | 24 (75%)         | 21 (88%)         | 31 (83%)         | 0,41             |
| Анамнез ИМ             | 0                | 17 (53%)         | 12 (50%)         | 21 (57%)         | $p_{2,3,4} 0,80$ |
| Лейкоциты,<br>млн/мл   | 7,4±1,7          | 6,8±1,7          | 7,8±1,6          | 7,8±2,3          | 0,28             |
| Лимфоциты,<br>млн/мл   | 2,3±0,8          | 2,1±0,6          | 2,6±0,7          | 2,4±0,6          | 0,83             |
| Курение                | <b>6 (21%)</b>   | <b>8 (25%)</b>   | <b>6 (25%)</b>   | <b>16 (46%)*</b> | <b>0,01</b>      |
| ХС, ммоль/л            | 5,2±1,3          | 4,8±0,8          | 4,9±0,9          | 4,7±1,2          | 0,45             |
| ТГ, ммоль/л            | 1,6±0,7          | 1,8±1,4          | 1,9±1,1          | 1,7±0,7          | 0,75             |
| Глюкоза,<br>ммоль/л    | 5,26±0,5         | 5,25±1,2         | 5,3±1,3          | 5,3±1,1          | 0,81             |

*\*представлен уровень значимости при сравнении данных в четырёх группах; в случае статистически значимых различий представлены значения p, зарегистрированные при попарном сравнении в группах*

Содержание Трег (CD4+CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup> и CD4+FoxP3+) и ИЛ-10-продуцирующих (CD4+IL10+) Т-лимфоцитов крови было ниже у пациентов с многососудистым атеросклеротическим поражением КА (Гр.4) по сравнению с пациентами без значимого поражения КА (Гр.1). Содержание Тх17 было выше у пациентов с прогрессированием коронарного АС (Гр.3) и пациентов с многососудистым поражением коронарного русла (Гр. 4) по сравнению с Гр. 1 и 2. Отношение CD4+FoxP3+Трег/Тх17 было ниже у пациентов с прогрессированием коронарного АС (Гр. 3) и пациентов с многососудистым поражением коронарного русла (Гр. 4) по сравнению с пациентами без значимого атеросклеротического поражения КА (Гр. 1) и без прогрессирования коронарного АС (Гр. 2) (рисунок 1), аналогичные закономерности наблюдались для отношения CD4+CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup> Трег/Тх17.

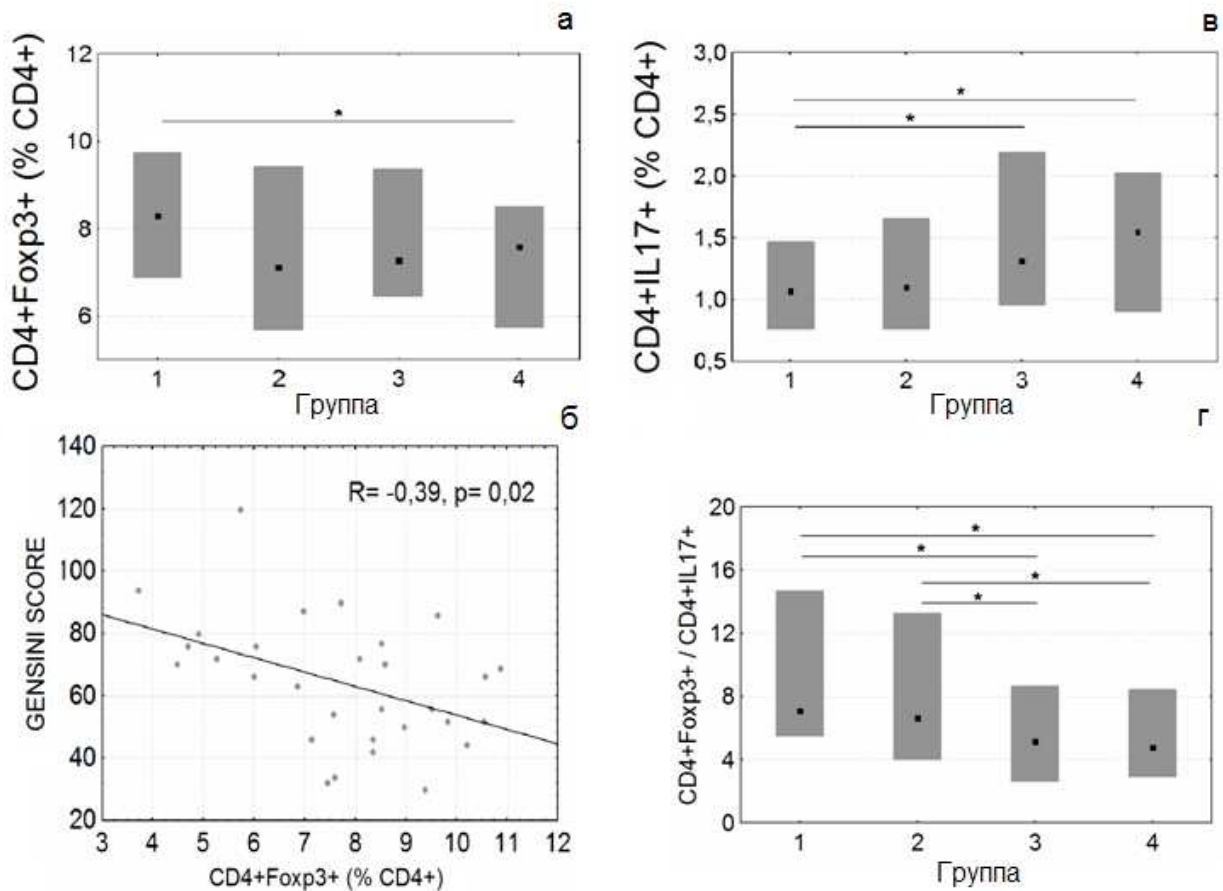


Рисунок 1. Содержание CD4+FoxP3+ Трег (а), Тх17 (в), отношение содержания CD4+FoxP3+ Трег к Тх17 (г) у пациентов с различной

*выраженностью атеросклероза коронарных артерий (группы 1-4); данные представлены как медиана и межквартильный размах, \* $p < 0,05$ . Обратная корреляционная связь между индексом по шкале Gensini и содержанием CD4+FoxP3+ Трег (б) у пациентов с многососудистым атеросклерозом коронарных артерий, ранее не подвергавшихся эндоваскулярным вмешательствам.*

Тридцати больным Гр.4, которым ранее не проводилось КАГ и реваскуляризации миокарда эндоваскулярными методами, была проведена оценка тяжести атеросклеротического поражения КА по модифицированной шкале Gensini. Выявлена умеренная обратная связь между содержанием CD4+FoxP3+ Трег и индексом по шкале Gensini ( $r = -0,39$ ,  $p = 0,02$ ) (рисунок 1б).

Содержание sCD25 и vЧСРБ в сыворотке крови было выше у пациентов с многососудистым поражением коронарного русла (Гр.4) по сравнению с пациентами с интактными коронарными артериями (Гр.1) (832 (664-1010) Ед/мл против 568 (428-779) Ед/мл,  $p < 0,05$ , и 3,0 (2,1-7,8) мг/л против 2,1 (1,6-5,0) мг/л,  $p < 0,05$ , соответственно), в то время как уровень ИЛ-10 в сыворотке крови оказался ниже у пациентов с многососудистым поражением коронарного русла (Гр.4) по сравнению с пациентами с интактными коронарными артериями (Гр.1) (1,7 (1,4-1,9) пг/мл против 2,6 (1,8-3,3) пг/мл,  $p < 0,05$ ). По остальным показателям (количество Тх1 и Такт, концентрация ИЛ-17) различий не было.

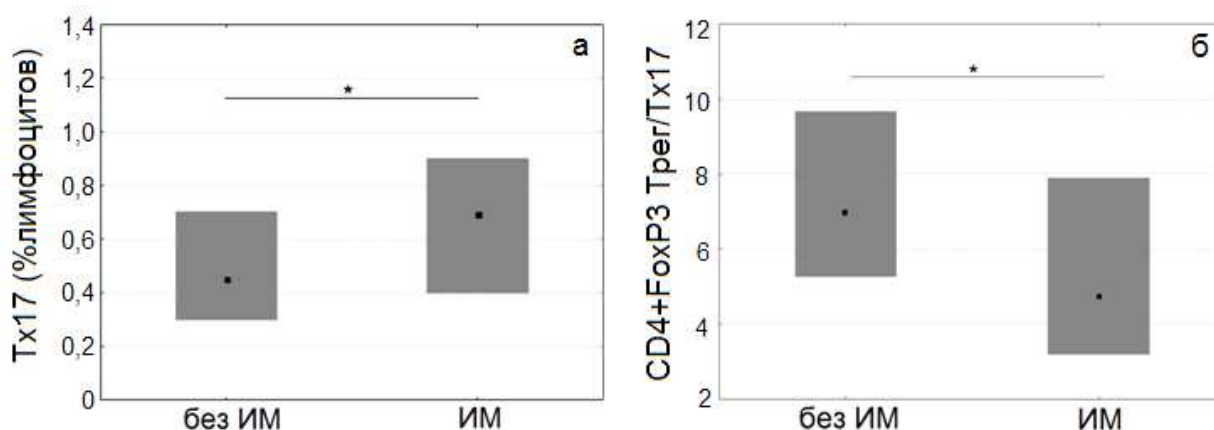
В ряде работ подтверждено уменьшение содержания циркулирующих Трег и нарушение их супрессорной функции у пациентов со СС по сравнению со здоровыми добровольцами. В одном из крупнейших исследований, включившем 200 пациентов, напротив, не было выявлено различий в содержании Трег между лицами без ИБС и пациентами со стабильной стенокардией. Мы не выявили различий в содержании исследуемых клеточных субпопуляций (Трег и Тх17) и их соотношении у пациентов без значимого поражения КА (Гр.1) и пациентов с 1-2-сосудистым поражением без прогрессирования коронарного АС (Гр.2). В то же время,

значимое изменение иммунологического баланса Трег/Tx17 в сторону провоспалительного звена отмечено при тяжёлых атеросклеротических изменениях сосудов. По-видимому, участие лимфоцитарного компонента в регуляции воспалительной реакции при атерогенезе наиболее важно на более поздних стадиях АС.

### **Анализ содержания субпопуляций лимфоцитов и «растворимых» маркёров воспаления у пациентов со стабильным течением ИБС и ИМ в анамнезе.**

Из всех пациентов, включённых в исследование, у 50 пациентов имел место ИМ в анамнезе за  $17,6 \pm 8,3$  месяцев до включения в исследование. Группы пациентов с ИМ в анамнезе и со стабильным течением ИБС ( $n=41$ ) значимо отличались по возрасту (пациенты со стабильным течением ИБС были старше,  $64,8 \pm 11,1$  против  $60,2 \pm 8,1$  лет,  $p=0,02$ ). По остальным клиническим характеристикам группы были сопоставимы. Мы проверили гипотезу о связи изучаемых иммунологических показателей с наличием ИМ в анамнезе.

В группе пациентов с перенесённым ИМ отмечены более высокий уровень Tx17 (в % от общего числа лимфоцитов крови) и сниженное отношение  $CD4+FoxP3+$  Трег к Tx17 (рисунок 2).



*Рисунок 2. Содержание  $CD4+FoxP3+$  Трег (а) и отношение Трег/Tx17 (б) у пациентов с перенесённым ИМ по сравнению с пациентами со стабильным течением ИБС. Данные представлены как медиана и межквартильный размах,  $*p<0,05$ .*

Таким образом, изменения иммунного статуса при ИБС могут отражать склонность к дестабилизации атеросклероза.

Существует предположение о «склонности» к нестабильному течению ИБС и развитию ИМ у лиц с изменением иммунологического баланса и подавлением регуляторного звена. George J. с соавт. (2012) установили, что у пациентов с перенесённым ИМ различной давности содержание Трег и ИЛ-10 в крови ниже, чем у пациентов со стабильным течением ИБС. Показанные нами закономерности изменения иммунного баланса - увеличение содержания Тх17 и уменьшение Трег и отношения Трег/Тх17 - у пациентов с перенесённым ИМ в прошлом подтверждают эти результаты. Прогностическая значимость содержания популяции циркулирующих Трег в развитии ИМ была подтверждена в работе Wigren M. с соавт. (2012).

Чтобы проверить гипотезу о том, связаны ли изучаемые показатели непосредственно с выраженностью АС КА, мы сравнили данные у пациентов без ИМ и эндovasкулярного лечения в анамнезе. У больных с многососудистым поражением коронарного русла и стабильным течением ИБС (Гр.4, только пациенты без ИМ, n=16) содержание CD4+CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup> Трег в крови и отношение CD4+CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup> Трег/Тх17 было ниже по сравнению с пациентами без атеросклероза КА (Гр.1) (рисунок 3).

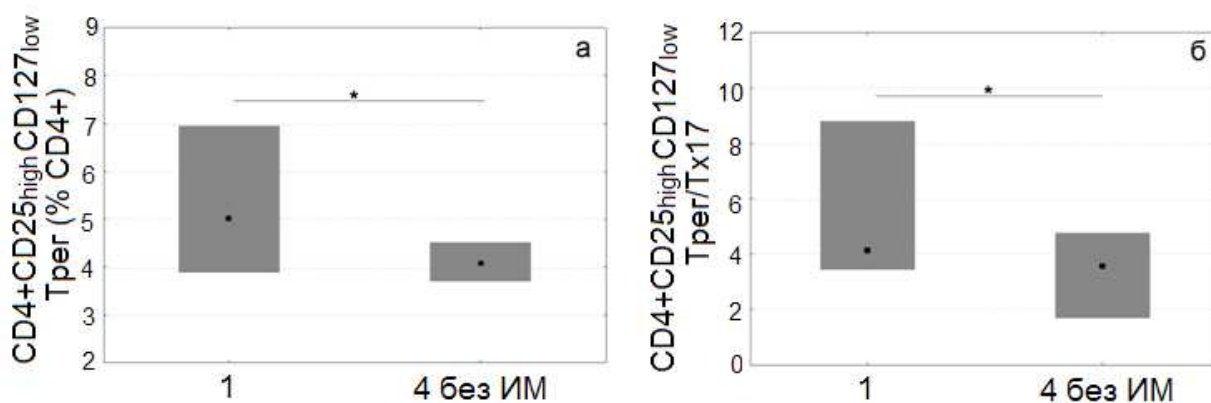


Рисунок 3. Сравнение групп пациентов без значимого атеросклеротического поражения коронарного русла (Гр.1) и с многососудистым поражением

коронарного русла и стабильным течением ИБС (Гр.4, без ИМ). Данные представлены как медиана и межквартильный размах, \* $p < 0,05$ .

Таким образом, изменения иммунного статуса при ИБС отражают тяжесть атеросклероза коронарных артерий.

**Анализ содержания субпопуляций лимфоцитов и «растворимых» маркёров воспаления у пациентов с различной выраженностью атеросклероза сонных артерий.**

Шестидесяти шести пациентам из числа включённых в исследование выполнено УЗДС экстракраниального отдела БЦА. В зависимости от максимальной степени стеноза общей сонной артерии (ОСА) и внутренней сонной артерии (ВСА), пациенты сформировали 3 группы: Гр.1' – пациенты с увеличением толщины комплекса интима-медиа (ТИМ) и стенозом менее 30% (n=15); Гр.2' – пациенты с пролонгированным (диффузным) поражением каротидного бассейна и максимальной степенью стеноза менее 50% (n=29); Гр.3' – пациенты с диффузным поражением брахиоцефальных артерий и максимальной степенью стеноза 50% и более (n=22). Группы были сопоставимы по основным клинико-anamnestическим и лабораторным характеристикам (таблица 3).

Анализ состава лимфоцитов крови показал, что у пациентов с выраженным стенозом сонных артерий (Гр.3') по сравнению с пациентами с малоизмененными артериями (Гр.1') количество циркулирующих Трег (CD4+CD25highCD127low) снижено. У пациентов со средней и высокой степенью стеноза (Гр. 2' и 3') по сравнению с пациентами с малоизмененными сосудами (Гр. 1') соотношение CD4+CD25highCD127low Трег/Тх17 также было снижено (рисунок 4).

Кроме того, у пациентов со средней и высокой степенью стеноза (Гр. 2' и 3') по сравнению с пациентами с малоизмененными сосудами (Гр. 1') отношение содержания Такт/Трег(CD4+CD25highCD127low) оказалось выше (9,2 (6,9-12,9) и 10,0 (6,9-11,4) против 6,0 (5,0-8,6),  $p < 0,05$ ). Содержание



sCD25 (Ед/мл) в крови оказалось выше у пациентов Гр.2' и 3' по сравнению с Гр. 1' (849 (564-1081) и 768 (551-1047) против 487 (399-568),  $p < 0,05$ ). По другим показателям подгруппы значимо не различались.

Таблица 3. Клиническая характеристика пациентов: сопоставление групп с различной степенью атеросклеротического поражения сонных артерий.

|                        | Пациенты (n=66)     |                     |                     | p    |
|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|
|                        | Группа 1'           | Группа 2'           | Группа 3'           |      |
| Пол, мужчины           | 12 (80%)            | 22 (76%)            | 20 (91%)            | 0,30 |
| Возраст, лет           | 55 (50-73)          | 65 (59-74)          | 65 (59-70)          | 0,13 |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup> | 27 (25-31)          | 28 (26-29)          | 29 (27-31)          | 0,45 |
| Курение                | 1 (7%)              | 9 (31%)             | 8 (36%)             | 0,09 |
| АГ                     | 11 (73%)            | 26 (90%)            | 20 (91%)            | 0,33 |
| ХС, ммоль/л            | 4,55<br>(4,39-5,14) | 4,44<br>(3,86-5,04) | 4,26<br>(3,68-4,80) | 0,41 |
| ТГ, ммоль/л            | 1,62<br>(1,15-2,20) | 1,52<br>(1,00-1,82) | 1,38<br>(1,04-1,69) | 0,73 |
| Глюкоза,<br>ммоль/л    | 5,57<br>(5,30-5,86) | 5,48<br>(5,03-6,15) | 5,10<br>(4,73-5,48) | 0,06 |

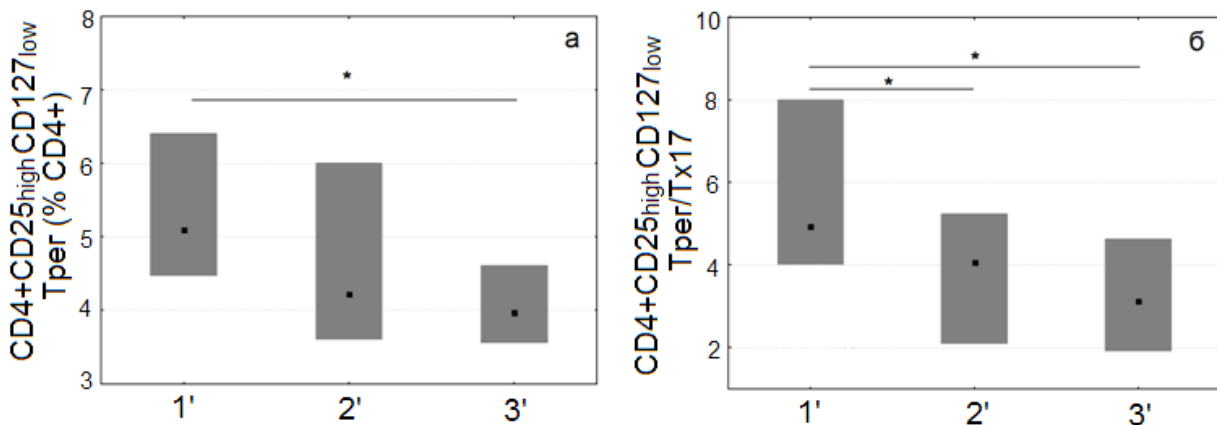


Рисунок 4. Содержание  $CD4+CD25^{high}CD127^{low}$  Трег (а), отношение содержания  $CD4+CD25^{high}CD127^{low}$  Трег к Тх17 (б) у пациентов с различной выраженностью атеросклероза сонных артерий (Гр. 1'-3'). Данные представлены как медиана и межквартильный размах, \*  $p < 0,05$ .

Данные Lui Z.c соавт (2012) указывают на снижение количества Трег и более высокий уровень Тх17 и ассоциированных цитокинов у пациентов с выраженными атеросклеротическими изменениями и нестабильными

атеросклеротическими бляшками в сонных артериях по сравнению с пациентами без атеросклероза, в то время как Ammirati E. с соавт (2010) не выявили различий в содержании Трег у пациентов с различной выраженностью АС сонных артерий на начальных стадиях (увеличение ТИМ до 1,5 мм). Мы показали, что низкие значения уровня Трег и отношения Трег/Тх17 свойственны пациентам со стенозированием ОСА и ВСА более 30%.

sCD25 – растворимая («отщепленная» с поверхности клетки) форма рецептора ИЛ-2. Основным, источником sCD25 являются активированные лимфоциты, и уровень sCD25 значительно повышается при воспалительных и аутоиммунных заболеваниях. Подтверждено повышение уровня sCD25 в крови у пациентов с ОКС и стабильной стенокардией. Согласно нашим результатам, содержание sCD25 в крови прямо пропорционально количеству Тх17 и обратно пропорционально содержанию Трег; мы считаем, что данный показатель может отражать процесс активации лимфоцитов при атеросклерозе.

**Оценка показателей субпопуляционного состава лимфоцитов и «растворимых» маркёров воспаления в зависимости от скорости прогрессирования (проспективно) атеросклероза коронарных артерий.**

Двадцати трём пациентам проводилось повторное обследование и контрольная КАГ через 16,5 (13-24) месяцев после включения в исследование. Все пациенты за период наблюдения получали терапию, рекомендованную при ИБС: антиагреганты, бета-блокаторы, статины (в дозе с учётом целевых значений ХС), а также иАПФ/БРА, блокаторы кальциевых каналов по показаниям. У 12 пациентов выявлена скрытая ишемия миокарда по результатам пробы с физической нагрузкой (тредмил-тест), по данным КАГ у этих пациентов зарегистрировано прогрессирование коронарного атеросклероза в нативных КА, ранее не подвергавшихся эндоваскулярным

вмешательствам. Клиническая характеристика групп представлена в таблице 4. Различий между показателями исходно и повторно получено не было.

*Таблица 4. Клиническая характеристика групп пациентов с прогрессирующим и без прогрессирования коронарного АС.*

|                                   | <b>Прогрессирование АС (n=12)</b> | <b>Без прогрессирования АС (n=11)</b> | <i>p</i>    |
|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|-------------|
| Период наблюдения, мес            | 18 (13-24)                        | 14 (12-21)                            | 0,40        |
| Возраст, лет                      | <b>70 (63-76)</b>                 | <b>60 (46-66)</b>                     | <b>0,04</b> |
| Пол, мужчины (%)                  | 11 (92%)                          | 10 (91%)                              | 0,95        |
| Курение (%)                       | 4 (33%)                           | 4 (36%)                               | 0,87        |
| АГ (%)                            | 10 (83%)                          | 7 (64%)                               | 0,28        |
| ИМ в анамнезе (%)                 | 3 (25%)                           | 8 (73%)                               | 0,06        |
| Доля пациентов 3-4 групп (%)      | 8 (67%)                           | 4 (36%)                               | 0,15        |
| Стентирование в анамнезе (%)      | 8 (67%)                           | 8 (73%)                               | 0,75        |
| ТБКА в текущую госпитализацию (%) | <b>7 (58%)</b>                    | <b>0 (0%)</b>                         | <b>0,01</b> |
| Кол-во стентов/чел                | 1,57                              | -                                     | -           |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup>            | 29(26-32)                         | 29 (26-32)                            | 0,67        |
| ХС, ммоль/л                       | 4,4 (4,1-4,7)                     | 5,0 (4,3-5,9)                         | 0,06        |
| ТГ, ммоль/л                       | 1,4 (1,1-1,7)                     | 1,4 (1,1-1,8)                         | 0,69        |
| Глюкоза, ммоль/л                  | 5,0 (4,7-6,1)                     | 5,3 (5,1-5,6)                         | 0,48        |

Содержание CD4+IL10+ Т-лимфоцитов (%CD4+) было ниже у пациентов с зарегистрированным в последующем прогрессирующим атеросклероза коронарных артерий. Указанные различия обусловлены меньшим содержанием CD4+FoxP3-IL10+ клеток (%CD4+) (рисунок 5).

При пограничном уровне CD4+IL10+ (%CD4+) в 3,51% у 10 (83%) пациентов, имевших низкое содержание CD4+IL10+ клеток ( $\leq 3,51\%$ ), в последующем выявлены признаки прогрессирования коронарного АС. В то же время, у 9 (82%) пациентов, имевших высокое содержание CD4+IL10+ клеток ( $> 3,51\%$ ), в последующем не выявлено признаков прогрессирования

заболевания. Эти значения свидетельствуют о чувствительности теста 83% при специфичности 82%.

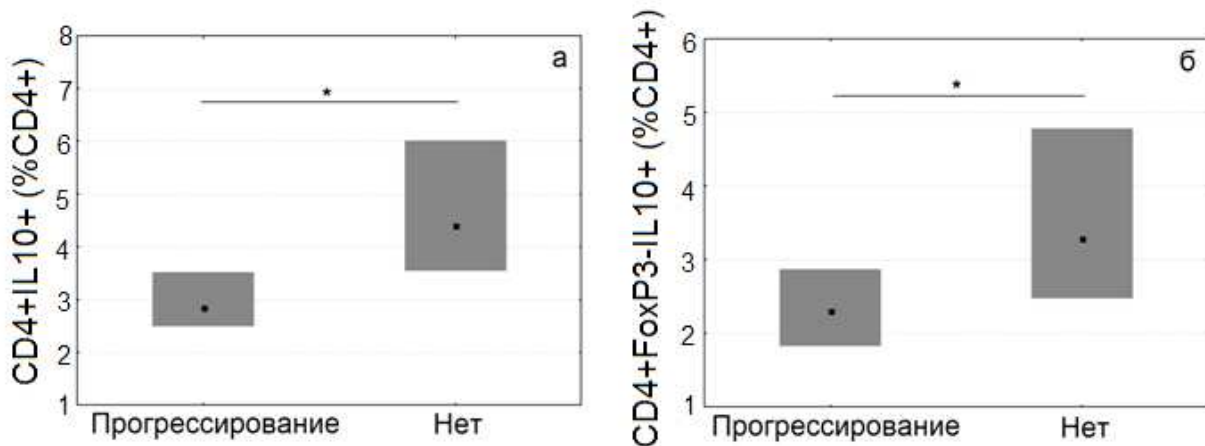


Рисунок 5. Содержание CD4+IL10+ (а) и CD4+FoxP3-IL10+ (б) Т-лимфоцитов (% от CD4+ лимфоцитов) у пациентов с прогрессией и без прогрессии коронарного атеросклероза, данные представлены как медиана и межквартильный размах, \* $p < 0,05$ .

ИЛ-10 является мощным противовоспалительным цитокином. К настоящему времени получено множество данных о роли ИЛ-10 в подавлении атерогенеза и стабилизации АСБ как у животных, так и у человека. Одной из субпопуляций Т-лимфоцитов, продуцирующих ИЛ-10, помимо естественных FoxP3+ Трег, являются FoxP3- индуцибельные Трег (Tr1). В отличие от естественных Трег, которые созревают в тимусе, индуцибельные Трег созревают в периферических органах иммунной системы и очагах воспаления после презентации антигена. Роль индуцибельных Трег заключается в ограничении избыточной иммунной реакции в отношении конкретного антигена непосредственно в очаге воспаления путём секреции ИЛ-10 или ТФР-бета. Можно предполагать, что в то время как естественные Трег отражают общую предрасположенность к развитию АС, уровень индуцибельных Трег ассоциирован со скоростью прогрессирования заболевания. Помимо Трег, ИЛ-10 могут продуцировать Th1, Th2, Th17 и Th9 в определённых условиях микроокружения, при этом суммарный эффект ИЛ-10 на выраженность и исход воспаления зависит от межклеточных взаимодействий. Полученные нами данные об изменении

количества CD4+IL10+ клеток у пациентов с прогрессирующим АС требуют уточнения в дальнейших исследованиях.

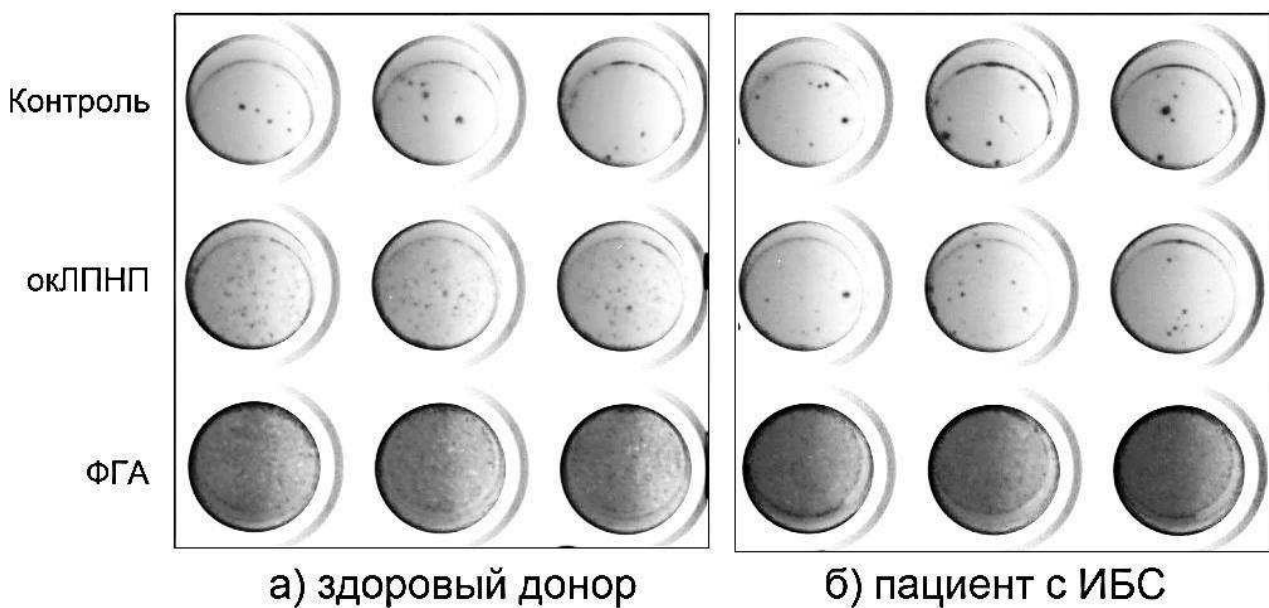
**Эффекты окЛНП в культуре мононуклеарных клеток.** Присутствие окЛНП выражено активирует клетки врождённого иммунитета в культуре, что проявилось в резком увеличении концентрации цитокинов, продуцируемых моноцитами, в среде культивирования по сравнению с контролем. В то же время секреция лимфоцитарных цитокинов в присутствии окЛНП увеличивалась незначительно, значимые различия по сравнению с контролем получены только для ИЛ-2 (таблица 5). Указанное влияние окЛНП на активацию клеток неспецифического иммунитета, аналогичное эффекту липополисахарида, описано в литературе (Bekkering S. с соавт, 2014).

*Таблица 5. Содержание цитокинов в супернатанте культуры мононуклеарных клеток при культивировании в течение 1 сут в присутствии окЛНП.*

|                  | Контроль              | окЛНП 5 мкг/мл          | <i>p</i>     |
|------------------|-----------------------|-------------------------|--------------|
| ИЛ-8, нг/мл      | 14,1 (12,1-15,4)      | 13,8 (11,8-15,4)        | 0,70         |
| ИЛ-1бета, пг/мл  | <b>22 (10-34)</b>     | <b>2714 (1329-4036)</b> | <b>0,001</b> |
| ИЛ-6, нг/мл      | <b>1,6 (1,0-2,0)</b>  | <b>15,8 (4,6-17,5)</b>  | <b>0,001</b> |
| ИЛ-10, пг/мл     | <b>6,1 (5,1-10,3)</b> | <b>241 (87-308)</b>     | <b>0,001</b> |
| ФНО-альфа, пг/мл | <b>60 (17-184)</b>    | <b>2089 (1237-8452)</b> | <b>0,001</b> |
| ИФН-гамма, пг/мл | <b>0,5 (0,3-0,9)</b>  | <b>36 (26-80)</b>       | <b>0,001</b> |
| ИЛ-4, пг/мл      | 2,5 (2,0-3,3)         | 3,6 (2,1-4,2)           | 0,62         |
| ИЛ-17, пг/мл     | 3,3 (3,3-4,8)         | 4,8 (4,4-5,5)           | 0,17         |
| ИЛ-2, пг/мл      | <b>3,0 (2,9-3,3)</b>  | <b>5,0 (4,3-6,1)</b>    | <b>0,03</b>  |

В концентрации окЛНП 5 мкг/мл не оказывал влияние на содержание исследуемых клеточных субпопуляций (Тх1, Тх17, CD4+FoxP3+Трег) в культуре. В высоких (50 мкг/мл) концентрациях окЛНП имели токсическое действие, проявлявшееся в индукции апоптоза клеток: доля аннексин V - связывающих клеток (от CD4+ лимфоцитов) составила 8% (2,5-12) против 4,5% (1-10) и 5,7% (1-9),  $p=0,05$ , в культуре клеток с 5 мкг/мл окЛНП и контролем, соответственно.

В литературе описано выявление клонов антиген (окЛНП)-специфичных лимфоцитов в АСБ животных и человека. В то же время многочисленные попытки обнаружить окЛНП-специфичные клетки в периферическом кровотоке заканчивались неудачей в связи с низкой чувствительностью использованных методов. Методом ELISPOT нами впервые показано, что в крови здоровых доноров и пациентов с мультифокальным атеросклерозом присутствуют Т-лимфоциты, которые секретируют ИЛ-2 под действием окЛНП (рисунок 6).



*Рисунок 6. Пример результатов ELISPOT здорового добровольца (левая половина) и пациента с ИБС (правая половина). Верхний ряд – клетки, спонтанно продуцирующие ИЛ-2 (отрицательный контроль), средний ряд - клетки, культивированные в присутствии окЛНП, 5 мкг/мл, нижний ряд – клетки, культивированные в присутствии фитогемагглютинаина (ФГА) (положительный контроль).*

По предварительным данным, у пациентов с ИБС по сравнению со здоровыми добровольцами, содержание таких лимфоцитов в периферическом кровотоке меньше (1 (0-5) против 6 (1,4-8,8) клеток на 100.000 CD3+ лимфоцитов, соответственно). Важно отметить различие в возрасте групп здоровых добровольцев и пациентов с мультифокальным АС (средний возраст 40,4 и 57,8 лет, соответственно). Это может обуславливать различия в

содержании лимфоцитарных субпопуляций вообще и в количестве окЛНП-специфических лимфоцитов в частности. Необходимо изучение динамики содержания клеток у здоровых людей с возрастом, сравнение данных, полученных на добровольцах, с данными пациентов с АС соответствующего возраста.

Следует отметить, что лимфоциты, активирующиеся в присутствии окЛНП, составляют крайне незначительную часть (сотые доли процента) от общего количества циркулирующих лимфоцитов. Аналогично, концентрация цитокинов, продуцируемых лимфоцитами в культуре, либо увеличивается незначительно (ИЛ-2) или не увеличивается (ИЛ-4, ИЛ-17) в присутствии окЛНП на фоне выраженного увеличения концентрации остальных цитокинов (ИЛ-1бета, ИЛ-6, фактора некроза опухоли(ФНО)-альфа, ИФН-гамма и ИЛ-10), которые могут продуцироваться моноцитами/макрофагами (компонентами врождённого иммунитета). В то же время в клиническом исследовании нами получены значительные различия в содержании «общих» лимфоцитарных субпопуляций у пациентов с интактными артериями и пациентов с АС различных локализаций. Это свидетельствует о возможном «неспецифическом» вовлечении лимфоцитов в регуляцию воспалительных процессов в сосудистой стенке при АС. В поддержку данной гипотезы выступает факт общности патогенеза атеросклероза и ряда аутоиммунных заболеваний, в основе которых лежит патологическая активация Т- и В-лимфоцитов в отношении различных аутоантигенов: у пациентов с системной красной волчанкой, ревматоидным артритом и псориазом отмечается ускоренное прогрессирование атеросклероза.

## **ВЫВОДЫ**

1. У больных многососудистым атеросклерозом коронарных артерий отмечено снижение содержания Трег и увеличение содержания Тх17 в крови по сравнению с пациентами с малоизменёнными коронарными артериями. У больных с прогрессирующим течением коронарного атеросклероза

соотношение Трег/Тх17 изменено в пользу Тх17. Количество циркулирующих Трег обратно коррелирует с выраженностью коронарного атеросклероза.

2. У больных со стенозами сонных артерий более 50% содержание Трег ниже по сравнению с пациентами с начальными атеросклеротическими поражениями. Отношение содержания активированных лимфоцитов к Трег выше, а отношение содержания Трег к Тх17 - ниже у пациентов со стенозами сонных артерий более 30% по сравнению с пациентами с начальными атеросклеротическими поражениями.

3. Концентрация sCD25 и vчСРБ в крови повышена, а ИЛ-10 - снижена у пациентов с многососудистым поражением коронарных артерий по сравнению с пациентами с малоизменёнными коронарными артериями. Содержание sCD25 в сыворотке выше у пациентов со стенозами сонных артерий более 30%, содержание ИЛ-17 - выше у пациентов со стенозами более 50% по сравнению с пациентами с начальными атеросклеротическими поражениями.

4. окЛНП вызывают активацию мононуклеарных клеток крови *in vitro*, сопровождающуюся секрецией цитокинов ИЛ-1, -6, ФНО-альфа, ИФН-гамма, ИЛ-10 и ИЛ-2. В высоких дозах окЛНП обладают проапоптотическим действием. В крови пациентов с ИБС и доноров выявлены окЛНП-специфические Т-лимфоциты, секретирующие ИЛ-2 при культивировании с окЛНП.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. В качестве новых тестов для комплексной диагностики тяжести и скорости прогрессирования атеросклеротического поражения может использоваться определение иммунологических показателей (содержание Тх17, Трег и ИЛ-10-продуцирующих лимфоцитов и отношение Трег/Тх17, концентрации sCD25).



2. Рекомендуется применение метода ELISPOT с детекцией ИЛ-2-продуцирующих лимфоцитов в экспериментальной и лабораторной практике для разработки и оценки эффективности иммуностропных методик лечения атеросклероза.

3. Рекомендуется использовать материалы диссертации в учебных программах в высших учебных заведениях медицинского профиля, а также на кафедрах последипломного образования.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Потехина, А.В., Соколов, В.О., **Пылаева, Е.А.**, Проваторов, С.И., Масенко, В.П., Босых, Е.Г., Ноева, Е.А., Красникова, Т.Л., Арефьева, Т.И. Изменение содержания регуляторных Т-лимфоцитов и концентрации растворимого рецептора интерлейкина-2 в крови больных ишемической болезнью сердца после ангиопластики коронарных артерий с имплантацией стентов с рапамициновым покрытием// Кардиология.- 2011.- Т.51(3).-С.47-53.

2. Potekhina, A.V., Provatorov, S.I., Sokolov, V.O., **Pylaeva, E.A.**, Masenko, V.P., Noeva, E.A., Kukhtina, N.B., Krasnikova, T.L., Arefieva, T.I. CD4(+)/CD25(high)/CD127(low) regulatory T cells in patients with stable angina and their dynamics after intracoronary sirolimus-eluting stent implantation// Hum Immunol.- 2011.- V.72(7).- P.553-7.

3. **Пылаева, Е.А.**, Потехина, А.В., Проваторов, С.И. , Раскина, К.В. , Рулёва, Н.Ю., Масенко, В.П., Ноева, Е.А., Красникова, Т.Л., Арефьева, Т.И. Эффекторные и регуляторные субпопуляции лимфоцитов крови при стабильном течении ИБС// Терапевтический архив.- 2014.- Т. 9.- С.24-30.

4. Арефьева, Т.И., Потехина, А.В., **Пылаева, Е.А.**, Рулева, Н.Ю. Роль адаптивного иммунитета в атерогенезе. Перспективы иммуностропной терапии ИБС// Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогеномика.- 2014.- Т.18(5).- С. 3-10.

5. **Пылаева, Е.А.**, Потехина, А.В., Балахонова, Т.В., Рулёва, Н.Ю., Масенко, В.П., Ноева, Е.А., Красникова, Т.Л., Арефьева, Т.И. Эффекторные и регуляторные субпопуляции лимфоцитов крови у пациентов с атеросклерозом сонных артерий// Иммунология.- 2015.- Т.1.- С. 38-44.

6. Potekhina, A., **Pylaeva, E.**, Provatorov, S., Ruleva, N., Masenko, V., Noeva, E., Krasnikova, T., Arefieva, T. Treg/Th17 balance in stable CAD patients with different stages of coronary atherosclerosis// Atherosclerosis.-2015.-V.238.- P.17-21.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АС - атеросклероз  
АГ - антиген, аутоАГ – аутоантиген,  
БЦА – брахиоцефальные артерии  
вчСРБ – С-реактивный белок, измеренный высокочувствительным методом  
ВСА – внутренняя сонная артерия  
ДК – дендритные клетки  
ИБС – ишемическая болезнь сердца  
ИЛ - интерлейкин  
ИМ – инфаркт миокарда  
ИФН - интерферон  
КА – коронарная артерия  
КАГ – коронарная ангиография  
ЛНП – липопротеиды низкой плотности, окЛНП – окисленные ЛНП  
ОКС – острый коронарный синдром  
ОСА – общая сонная артерия  
СС – стабильная стенокардия  
ТБКА – транслюминальная баллоктная ангиопластика коронарных артерий  
Такт - активированные Т-хелперы  
ТИМ – толщина комплекса интима-медиа  
Трег – регуляторные Т-лимфоциты  
ТФР – трансформирующий фактор роста  
Тх1 – Т-хелперы 1 типа  
Тх17 – Т-хелперы, продуцирующие интерлейкин-17  
УЗДС – ультразвуковое дуплексное сканирование  
ФНО – фактор некроза опухоли  
sCD25 – растворимая форма рецептора интрелеккина-2 (CD25)

Подписано в печать: 06.10.2015  
Объем: 1,0 усл.п.л.  
Тираж: 100 шт. Заказ № 187  
Отпечатано в типографии «Реглет»  
125009, г. Москва, Страстной бульвар, д. 4  
+7(495) 978-43-34; [www.reglet.ru](http://www.reglet.ru)

