

© Коллектив авторов, 2019

УДК: 612.017.11:616.1-089.168.1-06

DOI 10.21886/2219-8075-2019-10-4-71-79

Функциональные особенности врожденного иммунитета в развитии постперикардотомного синдрома у пациентов после аортокоронарного шунтирования

И.Ф. Шлык, Л.П. Сизякина, Р.В. Сидоров, С.В. Шлык

Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

Цель: изучить функциональные особенности врожденного иммунитета в формировании постперикардотомного синдрома (ППС) у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование (АКШ). **Материалы и методы:** в исследовании приняли участие 60 человек (40 пациентов – с ИБС), которая ретроспективно через 1 месяц наблюдения была разделена на две группы. Группа I – АКШ и ППС, группа II – АКШ без ППС. Группу контроля составили 20 пациентов без ИБС. До операции, через 5, 14 суток и 1 месяц в клетках крови оценивали экспрессию толл подобных рецепторов (TLR) 2, 4, 9, содержание лимфоцитов CD16+ и Гранзима В, НСТ тест и α -дефензин в сыворотке крови. Статистический анализ результатов исследования проводили с применением программы Statistica 12.0 (StatSoft, США). Различия средних величин между группами оценивали по критерию Манна-Уитни. Распределения величин и отличие от нормального анализировали по критерию Шапиро-Уилка. Статистическая значимость считалась достоверной при $p \leq 0,05$. **Результаты:** при сравнении исходных показателей основных групп и группы контроля выявлены повышенные экспрессии TLR 2, 4, 9, увеличение содержания CD16+, а также повышение цитотоксической активности натуральных киллеров и повышение продукции α -дефензина. **Выводы:** на основании проведенного исследования выявлена активация клеточного звена врожденного иммунитета, повышение цитотоксического потенциала натуральных киллеров и значимо высокий уровень α -дефензина, как до, так и после АКШ, что может играть важную роль в развитии ППС.

Ключевые слова: аортокоронарное шунтирование, толл подобные рецепторы, врожденный иммунитет, постперикардотомный синдром, α -дефензин.

Для цитирования: Шлык И.Ф., Сизякина Л.П., Сидоров Р.В., Шлык С.В. Функциональные особенности врожденного иммунитета в развитии постперикардотомного синдрома у пациентов после аортокоронарного шунтирования. *Медицинский вестник Юга России*. 2019;10(4):71-79. DOI 10.21886/2219-8075-2019-10-4-71-79

Контактное лицо: Шлык Ирина Федоровна, sushkinaif@mail.ru.

Functional features of innate immunity in the development of postpericardiotomy syndrome in patients after coronary artery bypass grafting

I.F. Shlyk, L.P. Sizyakina, R.V. Sidorov, S.V. Shlyk

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Objective: to study the functional characteristics of innate immunity in the formation of postpericardial syndrome (PPS) in patients undergoing coronary artery bypass grafting (CABG). **Materials and methods:** the study involved 60 people, 40 of them made up the main group of patients with coronary artery disease, which retrospectively after 1 month of observation was divided into 2 groups. Group I CABG and PPS, group II CABG without PPS. The control group consisted of 20 patients without IHD. Before surgery, after 5, 14 days and 1 month, the expression of toll-like receptors (TLRs) 2, 4, 9, the content of CD16+ and Granzyme B lymphocytes, the HCT test and serum α -defensin were evaluated in blood cells. Statistical analysis of the results of the study was carried out using the program Statistica 12.0 (StatSoft, USA). The difference in mean values between groups was evaluated by the Mann-Whitney test. Statistical significance was considered significant at $p \leq 0.05$. **Results:** when comparing the initial indices of the main groups and the control group, an increase in the expression of TLRs 2, 4, 9 was revealed. An increase in the content of CD16+, as well as an increase in the cytotoxic activity of natural killers and an increase in the production of α -defensin. **Conclusions:** on the basis of the study, activation of the cellular link of innate immunity, an increase in the cytotoxic potential of natural killers and a significantly high level of α -defensin both before and after CABG were revealed, which can play an important role in the development of PPS.

Key words: coronary artery bypass grafting, toll-like receptors, innate immunity, postpericardiotomy syndrome, α -defensin.

For citation: Shlyk I.F., Sizyakina L.P., Sidorov R.V., Shlyk S.V. Functional features of innate immunity in the development of postpericardiotomy syndrome in patients after coronary artery bypass grafting. *Medical Herald of the South of Russia*. 2019;10(4):71-79. (In Russ.) DOI 10.21886/2219-8075-2019-10-4-71-79

Corresponding author: Shlyk Irina Fedorovna, sushkinaif@mail.ru.

Введение

Аортокоронарное шунтирование (АКШ) в настоящий момент является самой распространённой процедурой прямой реваскуляризации миокарда. Несмотря на то что данная операция проводится уже на протяжении 50 лет, удалось лишь уменьшить количество осложнений, связанных с процедурой. Наряду с такими осложнениями, как послеоперационная фибрилляция предсердий, острое нарушение мозгового кровообращения, нередко встречается постперикардиотомный синдром (ППС). [1] Развивается ППС в следствие рассечения перикарда при открытых операциях на сердце. Критериями постперикардиотомного синдрома являются: лихорадка без альтернативных причин, боль в грудной клетке, обусловленная плевритом; аускультативно выслушиваемый шум трения плевры; наличие перикардального выпота; и/или наличие плеврального выпота [2]. Наличие двух и более вышеперечисленных признаков позволяет поставить диагноз ППС. Частота возникновения данного осложнения варьируется от 10 до 40 %. Основными предикторами возникновения ППС являются молодой возраст, женский пол, проведение коронарного шунтирования (при протезировании клапанного аппарата встречается реже). Смертность при наличии данного синдрома в течении года составляет 3,2 % [3]. Известно, что в профилактике любого осложнения необходимо понимание его этиологии и патогенеза, а именно, что способствует его возникновению после оперативного вмешательства. Уже на протяжении ни одного десятилетия высказываются различные предположения в этиологии данного синдрома [4]. Еще в 60 – 70 гг. прошлого столетия высказывалась теория аутоиммунного повреждения миокарда и, как следствия, выработки антимиокардиальных антител, но при проведении дальнейших исследований наличие специфических антител к кардиомиоцитам было выявлено лишь в 5 % случаев. Кроме того, данный факт может быть объяснен и отсутствием значительного эффекта при назначении глюкокортикоидов [5]. При этом, гипотеза о формирования иммунного ответа на повреждение перикарда оказывается ведущей, такой вывод был сделан на основании проведенных исследований, где лечение индометацином [6] колхицином снижал риск возникновения данного осложнения в 2 раза [7]. Учитывая, что основным эффектом колхицина является препятствие митотическому делению нейтрофилов и стабилизация лизосомальных мембран, следует предположить, что врожденный иммунитет играет важную роль в формировании ППС [8].

Цель исследования — изучение состояния клеточного звена врожденного иммунитета и функциональной активности нейтрофилов у пациентов, перенесших АКШ с сопутствующим ППС.

Материалы и методы

Данное исследование было открытым, поперечным. Проводилось на базе кардиохирургического отделения и НИИ Иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Рос-

товский государственный медицинский университет» Минздрава России, в период 2017 – 2018 гг. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом и соответствовал принципам Хельсинской декларации ВМА. В нем приняли участие 60 человек (20 — в группе контроля, 40 пациентов — в группе с ИБС), которые ретроспективно, в зависимости наличия ППС, были разделены на две группы. 16 пациента вошли в I группу (АКШ с ППС) и 24 — во II группу (АКШ без ППС). В контрольной группе отсутствие ИБС было подтверждено проведением инструментальных и лабораторных данных. Критериями исключения для двух групп с ИБС были наличие заболеваний соединительной ткани, ревматологические заболевания, сахарный диабет, наличие в анамнезе перикардита, плеврита, лихорадки неясного генеза, инфекционных заболеваний, онкологических заболеваний, возраст младше 50 лет. Все участники подписали добровольное информированное согласие на исследование. Основная характеристика групп представлена в табл. 1.

Из перечисленных показателей в таблице видно, что значимо группы отличались по признакам ППС, из которых в группе II наиболее часто встречались лихорадка, перикардальный и плевральный выпот, в то же время по среднему возрасту, курению, наличию гипертонической болезни, фракции выброса и СКФ были сопоставимы. По течению интраоперационного периода сравниваемые группы не отличались. В обеих группах назначалась превентивная противовоспалительная терапия НПВС. Диагностику перикардального выпота проводили с помощью ультразвукового метода исследования. Критерием наличия перикардального выпота считали расхождение листков перикарда более 5 мм, увеличивающееся в динамике. Наличие плеврального выпота оценивали с помощью ультразвукового исследования плевральных полостей.

Исследование иммунного статуса проводили до операции, через 5 суток, 14 суток и 1 месяц после операции. Фенотипирование моноцитов CD14+CD282+ (TLR2), CD14+CD284+ (TLR4), CD14+CD289+ (TLR9) и лимфоцитов CD3+CD16+ и CD16+Gr+ периферической крови, проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител производства Beckman Coulter (США). Внутриклеточное содержание Гранзима В проводили на проточном лазерном цитофлуориметре «FC500». Кислородзависимую метаболическую активность нейтрофилов оценивали в НСТ-тесте. Альфа-дефензин (Hycult biotech, США) определяли в сыворотке крови методом ИФА. Статистический анализ результатов исследования проводили с применением программы Statistica 12.0 (StatSoft, США). При этом использовали модуль описательной статистики с расчетом средней величины (M), ее ошибки (m), медианы (Me) и межквартильного диапазона (Q₂₅; Q₇₅). Различия средних величин между группами оценивали по критерию Манна-Уитни, в динамике хирургического лечения использовали критерий Вилкоксона. Различия средних величин между тремя и более группами оценивали по результатам дисперсионного анализа с приме-

Клиническая характеристика групп
Clinical characteristics of groups

Переменная <i>Variable</i>	I группа <i>I group</i> N = 16	II группа <i>II group</i> N = 24	p
Возраст, годы <i>Age, years</i>	60,02 ± 1,34	62,61 ± 0,83	0,23
Курение <i>Smoking</i>	16 (100 %)	20 (83,3 %)	0,24
Артериальная гипертензия <i>Arterial hypertension</i>	16 (100 %)	24 (100 %)	1,0
Фракция выброса > 50% <i>Ejection fraction > 50 %</i>	16 (100 %)	24 (100 %)	1,0
СКФ (СКД-ЕП) более 60 мл/мин/1,73м ² <i>GFR (CKD-EPI) > 60 mL/min/1,73/m²</i>	16 (100 %)	24 (100 %)	1,0
Лихорадка через 72 часа после АКШ <i>Fever 72 hours after CABG</i>	12 (75 %)	2 (8,3 %)	0,0001
Перикардиальный выпот <i>Pericardial effusion</i>	14 (87,5 %)	3 (12,5 %)	0,0001
Плевральный выпот <i>Pleural effusion</i>	10 (62,5 %)	4 (16,6 %)	0,005
Шум трения перикарда <i>Pericardial rub</i>	8 (50 %)	1 (4,1 %)	0,003
Шум трения плевры <i>Pleural friction noise</i>	7 (43,7 %)	2 (8,2 %)	0,025

Примечание: p – уровень значимости – определяли с помощью критерия Пирсона χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность.
Note: p – significance level – was determined using the Pearson criterion χ^2 corrected by Yates for continuity.

нением непараметрического критерия Крускала-Уоллиса и попарного сравнения с учетом поправки на число сравниваемых групп. Статистическую значимость различия долей между группами определяли по критерию Пирсона χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Оценку распределения величин и отличие от нормального распределения анализировали по критерию Шапиро-Уилка. Статистическая значимость считалась достоверной при $p \leq 0,05$.

Результаты

В обеих группах до операции, при сравнении с контрольной группой (табл. 2), выявлено значимое повышение экспрессии TLR 2,4,9 на моноцитах ($p \leq 0,05$), при этом в группах I и II данные показатели были сопоставимы. Обращает на себя внимание экспрессия TLR9, которая в группах АКШ, при сравнении с контролем, превышала таковую более чем в 9 раз.

Относительные значения экспрессии CD16+ были достоверно выше в I и II группах, по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$), и не различались между собой. Интересным представляется факт повышенного содержания Гранзима В в CD16+ в группе АКШ с ППС ($p \leq 0,05$), при этом груп-

па 2 и контрольная значимо по исследуемому показателю не отличались. Необходимо отметить, что, по сравнению с группой II, в группе I повышено содержание лимфоцитов, несущих CD16+, и увеличен их цитотоксический потенциал. При анализе фагоцитарного звена нейтрофилов выявлено значимое повышение спонтанного НСТ теста и снижение стимулированной фагоцитарной активности ($p \leq 0,05$) в I и II группах, по сравнению с контролем. При этом выявлено значимое ($p \leq 0,05$) снижение коэффициента стимуляции в обеих группах, по сравнению с контролем, особенно в группе АКШ с ППС. При оценке цитотоксической активности нейтрофилов, выявлено значительное повышение α -дефензинов в обеих группах по сравнению с контролем. Так, это повышение в группе I было более чем в 13 раз ($p \leq 0,05$), в группе II — в 6 раз ($p \leq 0,05$).

Таким образом, на дооперационном этапе в группах АКШ выявлено значительное повышение экспрессии TLR 2, 4, 9, а также повышение цитотоксического потенциала нейтрофилов и CD16+ лимфоцитов в группе АКШ с ППС в большей степени, чем в группе АКШ без ППС.

После проведения коронарного шунтирования на работающем сердце в динамике проводили оценку показателей врожденного иммунитета. Так, в группе АКШ с

Таблица / Table 2

Сравнительный анализ исходных показателей врожденного иммунитета в группе контроля и пациентов с наличием ППС и без него
A comparative analysis of the initial indicators of innate immunity in the control group and in patients with and without PPS

Показатель <i>Indicator</i>	Стат. величина <i>Stat. value</i>	Контрольная группа (к) <i>Control group (k)</i>	1 группа <i>I group</i>	2 группа <i>II group</i>	р мн. <i>p pl.</i>	P
CD14+ CD282+,%	M±m; Me; [25; 75]	60,6±1,6 59,5 (56,0;66,0)	78,7±1,5 79,0 (75,0;83,0)	72,7±3,3 76,0 (72,0;81,0)	0,0001	*p-0,0001 **p-0,01 ***p-0,13
CD14+ CD284+,%	M±m; Me; [25; 75]	18,4±0,6 19,0 (18,0;19,0)	28,7±2,7 31,3 (24,5;35,6)	29,9±3,8 27,2 (19,0;45,0)	0,03	*p-0,004 **p-0,02 ***p-0,8
CD14+ CD289+,%	M±m; Me; [25; 75]	8,6±0,74 9,0 (7,0;10,0)	82,38±2,5 85,0 (75,0;90,0)	75,1±3,8 79,0 (63,0;87,0)	0,0001	*p-0,0001 **p-0,0001 ***p-0,1
CD16+,%	M±m; Me; [25; 75]	13,1±0,79 12,5 (12,0;14,0)	17,15±1,2 18,0 (15,0;20,0)	16,13±1,2 17,0 (13,0;19,0)	0,05	*p-0,01 **p-0,05 ***p-0,55
CD16+Gr+,%	M±m; Me; [25; 75]	7,8±0,9 8,0 (6,0;10,0)	14,4±0,7 15,0 (13,9;16,0)	8,3±1,2 6,5 (5,0;10,0)	0,0001	*p-0,0001 **p-0,7 ***p-0,0003
НСТ сп, у.е. <i>NBT, sp, c.u.</i>	M±m; Me; [25; 75]	88,7±2,1 88,5 (87,0;92,0)	102,0±2,2 102,0 (95,0;105,0)	98,5±3,3 102,0 (88,0;108,0)	0,01	*p-0,0003 **p-0,03 ***p-0,4
НСТ ст, у.е. <i>NBT, st, c.u.</i>	M±m; Me; [25; 75]	186,6±2,3 186,0 (179,0;190,0)	156,6±6,7 158,0 (142,0;175,0)	164,0±6,9 172,0 (137,0;187,0)	0,009	*p-0,001 **p-0,01 ***p-0,4
К ст. НСТ <i>K st. NBT</i>	M±m; Me; [25; 75]	2,08±0,06 2,1 (1,9;2,2)	1,6±0,05 1,6 (1,5;1,7)	1,7±0,03 1,7 (1,6;1,8)	0,0001	*p-0,00001 **p-0,00001 ***p-0,01
α-дефензин, пг/мл <i>α-defensin, pg/ml</i>	M±m; Me; [25; 75]	175,0±13,9 174,0 (139,0;205,0)	2399,0±271,0 2264,0 (1606,0;3203,0)	1148,0±44,0 1175,0 (999,0;1222,0)	0,0001	*p-0,00001 **p-0,0001 ***p-0,0001

Примечание: р мн. оценивали по результатам дисперсионного анализа и критерия Крускала-Уоллиса; *р – значение р, полученное при сравнении контрольной группы и группы II; **р – значение р, полученное при сравнении контрольной группы и группы II; ***р – значение р, полученное при сравнении I и II групп.

Note: *p pl.* evaluated by the analysis of variance and the Kruskal-Wallis test; *p* – value obtained by comparing the control group and group I; ***p* – value obtained by comparing the control group and group II; ****p* – value obtained by comparing 1 and 2 groups.

ППС (табл. 3) значимой динамики в содержании моноцитов экспрессирующих CD282+ не выявлено. Отмечалось постепенное значимое снижение экспрессии CD284+ в течение всего периода наблюдения. Постепенное уменьшение экспрессии CD289+ наблюдается через месяц наблюдения и является значимым ($p \leq 0,05$). Значение лимфоцитов экспрессирующих CD16+ несколько снижается ($p \leq 0,05$) с 5 – 14 суток и через месяц возвращается к исходным значениям. Следует отметить, что не только количественное содержание CD16+ снижается, но параллельно происходит и уменьшение их цитотоксической активности (CD16+Gr), наблюдаемое в аналогичный период. Фагоцитарная активность нейтрофилов не меняет-

ся на протяжении всего периода наблюдения, но отмечается повышение коэффициента стимуляции ($p \leq 0,05$) на 5-е сутки, сохраняющееся через месяц наблюдения.

Интересным представляется динамика содержания α-дефензинов, которая выражалась в 2х кратном увеличении их содержания с 5 – 14 сутки, возвращаясь к исходно повышенному значению.

Таким образом, в группе АКШ с сопутствующим ППС в динамике наблюдалось изменение экспрессии TLR, снижение содержания натуральных киллеров и их цитотоксической активности. CD16+ лимфоцитов и CD16+Gr+, а так же значительное повышение содержания микробного пептида α-дефензин.

Таблица / Table 3

Динамика показателей в группе АКШ с ППС
Dynamics of indicators in the CABG group with PPS

Показатель <i>Indicator</i>	Стат. величина <i>Stat. value</i>	До операции <i>Before surgery</i>	5-е сутки <i>5th days</i>	14-е сутки <i>14th days</i>	1-й месяц <i>1st month</i>	P
CD14+ CD282+, %	M±m; Me; [25; 75]	78,7±1,5 79,0 (75,0;83,0)	82,5±2,6 86,0 (76,0;90,0)	80,6±2,3 81,0 (77,0;86,0)	74,1±5,09 77,5 (60,0;88,0)	1-2-0,23 1-3-0,51 1-4-0,34
CD14+ CD284+, %	M±m; Me; [25; 75]	28,7±2,7 31,3 (24,5;35,6)	18,8±4,2 12,0 (9,0;20,0)	18,2±2,4 18,0 (15,0;20,0)	19,4±2,4 17,5 (13,0;27,0)	1-2-0,06 1-3-0,02 1-4-0,02
CD14+ CD289+, %	M±m; Me; [25; 75]	82,38±2,5 85,0 (75,0;90,0)	85,8±2,8 90,0 (80,0;90,0)	74,8±4,3 78,0 (63,0;87,0)	72,0±4,7 74,5 (58,0;86,0)	1-2-0,39 1-3-0,13 1-4-0,05
CD16+, %	M±m; Me; [25; 75]	17,15±1,2 18,0 (15,0;20,0)	12,5±1,8 12,0 (9,0;13,0)	10,0±2,1 7,0 (6,0;13,0)	15,9±1,9 14,0 (12,0;19,0)	1-2-0,04 1-3-0,01 1-4-0,56
CD16+Gr+, %	M±m; Me; [25; 75]	14,4±0,7 15,0 (13,9;16,0)	7,54±1,54 6,0 (4,0;8,0)	5,67±0,9 5,0 (3,0;8,0)	10,1±1,8 8,0 (6,0;13,0)	1-2-0,001 1-3-0,001 1-4-0,03
НСТ сп, у.е. <i>NBT_{sp}, c.u.</i>	M±m; Me; [25; 75]	102,0±2,2 102,0 (95,0;105,0)	96,4±3,57 98,0 (87,0;108,0)	93,8±3,1 94,0 (89,0;94,0)	97,5±4,45 97,5 (87,0;110,0)	1-2-0,19 1-3-0,06 1-4-0,34
НСТ ст, у.е. <i>NBT_{st}, c.u.</i>	M±m; Me; [25; 75]	156,6±6,7 158,0 (142,0;175,0)	164,0±5,5 168,0 (147,0;176,0)	159,4±6,7 165,0 (142,0;169,0)	167,2±7,3 164,0 (148,0;187,0)	1-2-0,41 1-3-0,78 1-4-0,3
К ст. НСТ <i>K st. NBT</i>	M±m; Me; [25; 75]	1,55±0,05 1,6 (1,5;1,7)	1,7±0,03 1,7 (1,6;1,8)	1,7±0,04 1,7 (1,6;1,8)	1,7±0,01 1,7 (1,6;1,8)	1-2-0,02 1-3-0,06 1-4-0,03
α-дефензин, пг/мл <i>α-defensin, pg/ml</i>	M±m; Me; [25; 75]	2399,0±271,0 2264,0 1606,0;3203,0	3987,0±434 3988,0 2877,0;4568	4218,1±422,0 3697,8 3588,4;4876,5	3078,1±330,2 2622,5 2345,4;4135,5	1-2-0,01 1-3-0,001 1-4-0,21

Примечание: p – уровень достоверности; 1 – 2 – значение p, полученное при сравнении показателя до операции (1) и через 5 суток после; (2) 1 – 3 – значение p, полученное при сравнении показателя до операции (1) и через 14 суток после; (3) 1 – 4 – значение p, полученное при сравнении показателя до операции (1) и через 1 месяц после (4).

Note: p – confidence level; 1 – 2 – p value obtained by comparing the indicator before surgery (1) and 5 days after (2); / 1 – 2 – p value obtained by comparing the indicator before surgery (1) and 14 days after (3); / 1 – 4 – p value obtained by comparing the indicator before surgery (1) and 1 month after (4).

В табл. 4 представлена динамика показателей врожденного иммунитета у пациентов с АКШ без ППС. В данной группе значимой динамики содержания моноцитов экспрессирующих CD282+ на протяжении всего периода наблюдения отсутствует. Однако, наблюдается значительное снижение экспрессии CD289+ через месяц наблюдения ($p \leq 0,05$). Что же касается содержания CD16+, то с 5 – 14 сутки наблюдается умеренное снижение данного показателя ($p \leq 0,05$), без динамики в содержании Гранзи-ма В. Значимых изменений в фагоцитарной активности нейтрофилов на протяжении всего периода наблюдения не отмечается. Относительно содержания α-дефензина наблюдается умеренное повышение ко 5 суткам ($p \leq 0,05$) со снижением до исходного уровня через месяц наблюдения.

Таким образом, в группе пациентов с АКШ без ППС наблюдается снижение экспрессии CD289+ и уменьшение содержания CD16+ и α-дефензина.

Обсуждение

Известно, что врожденная иммунная система обеспечивает механизм немедленной защиты от повреждений, посредством которой адаптивная обеспечивает антиген-специфический иммунный ответ. Кроме защитной роли, врожденный иммунитет также обеспечивает цитопротективный эффект, так как рецепторный аппарат клеток врожденной иммунной системы распознает не только экзогенные бактериальные агенты такие, как PAMP

Таблица / Table 4

Динамика показателей в группе АКШ без ППС
Dynamics of indicators in the CABG group without PPS

Показатель <i>Indicator</i>	Стат. величина <i>Stat. value</i>	До операции <i>Before surgery</i>	5-е сутки <i>5th days</i>	14-е сутки <i>14th days</i>	1-й месяц <i>1st month</i>	P
CD14+ CD282+,%	M±m; Me; [25; 75]	72,7±3,3 76,0 (72,0;81,0)	80,0±3,5 81,0 (77,0;87,0)	78,5±1,6 79,0 (74,0;82,0)	77,5±3,4 79,0 (77,0;83,0)	1-2-0,16 1-3-0,18 1-4-0,35
CD14+ CD284+,%	M±m; Me; [25; 75]	29,9±3,8 27,2 (19,0;45,0)	20,9±3,5 20,0 (12,0;30,0)	20,2±3,6 19,0 (9,0;28,0)	19,9±4,4 12,0 (10,0;35,0)	1-2-0,11 1-3-0,09 1-4-0,11
CD14+ CD289+,%	M±m; Me; [25; 75]	75,1±3,8 79,0 (63,0;87,0)	76,7±3,8 79,0 (70,0;88,0)	67,8±6,8 79,0 (60,0;80,0)	60,2±4,6 58,0 (50,0;70,0)	1-2-0,78 1-3-0,31 1-4-0,02
CD16+,%	M±m; Me; [25; 75]	16,13±1,2 17,0 (13,0;19,0)	11,6±1,5 10,0 (8,0;15,0)	11,7±1,9 12,0 (6,0;14,0)	14,7±2,03 14,0 (14,0;17,0)	1-2-0,03 1-3-0,05 1-4-0,55
CD16+Gr+,%	M±m; Me; [25; 75]	8,3±1,2 6,5 (5,0;10,0)	7,8±1,5 6,0 (5,0;11,0)	8,2±1,6 7,0 (4,0;12,0)	8,3±1,2 10,0 (4,0;10,0)	1-2-0,81 1-3-0,96 1-4-0,98
НСТ сп, у.е. <i>NBT,sp, c.u.</i>	M±m; Me; [25; 75]	98,5±3,3 102,0 (88,0;108,0)	98,4±2,94 100,0 (90,0;105,0)	99,1±2,1 102,0 (94,0;102,0)	99,0±3,3 98,0 (91,0;108,0)	1-2-0,98 1-3-0,87 1-4-0,92
НСТ ст, у.е. <i>NBT,st, c.u.</i>	M±m; Me; [25; 75]	164,0±6,9 172,0 (137,0;187,0)	166,0±4,7 166,0 (153,0;171,0)	164,1±5,2 163,0 (153,0;176,0)	162,1±4,3 158,0 (154,0;171,0)	1-2-0,84 1-3-0,99 1-4-0,85
К ст. НСТ <i>K st. NBT</i>	M±m; Me; [25; 75]	1,7±0,03 1,7 (1,6;1,8)	1,7±0,04 1,7 (1,6;1,8)	1,6±0,04 1,7 (1,5;1,8)	1,6±0,04 1,7 (1,6;1,7)	1-2-0,76 1-3-0,33 1-4-0,24
α-дефензин, пг/мл <i>α-defensin,pg/ml</i>	M±m; Me; [25; 75]	1148,0±44,0 1175 999,0;1222,0)	1923,0±263,0 2022,0 1238,0;2489,0	1695,1±258,3 1198,3 1045,6;1987,0	1290,1±122,3 1256,0 1098,5;1345,5	1-2-0,001 1-3-0,18 1-4-0,11

Примечание: p – уровень достоверности; 1 – 2 – значение p, полученное при сравнении показателя до операции (1) и через 5 суток после (2); (2); 1 – 3 – значение p, полученное при сравнении показателя до операции (1) и через 14 суток после (3); 1 – 4 – значение p, полученное при сравнении показателя до операции (1) и через 1 месяц после (4).

Note: p – confidence level; 1 – 2 – p value obtained by comparing the indicator before surgery (1) and 5 days after; 1 – 2 – p value obtained by comparing the indicator before surgery (1) and 14 days after (3); 1 – 4 – p value obtained by comparing the indicator before surgery (1) and 1 month after (4).

(патоген ассоциированные молекулярные паттерны), но и связанные с повреждениями молекулярные структуры (DAMP) [9]. Повышенная экспрессия TLR 2, 4, 9, выявленная у пациентов с ИБС в предоперационном периоде, связана с тем, что при атеросклерозе в качестве DAMPs выступают окисленные ЛПНП, элементы клеточного детрита атеросклеротической бляшки, а также фрагменты эндотелиальной выстилки сосудов, поврежденные в следствии окислительного стресса [10,11].

Интересным представляется выраженная экспрессия TLR 9 в обеих группах пациентов с ИБС. Данный рецептор, в отличие от TLR 2 и 4, локализуется на мембране внутриклеточных органелл и обладает не только проатерогенным эффектом, но и атеропротективным эффек-

том. В последнее время отмечалось, что экспрессия TLR 9 наблюдается не только на клетках иммунной системы, где через сигнальный путь MyD88 активирует транскрипцию провоспалительных цитокинов, но и кардиомиоцитах, что может способствовать альтернативному пути активации данного рецептора, и повышению стрессоустойчивости к оксидантам [12].

Однако данный факт требует более тщательного изучения. В группах пациентов с ИБС также повышено содержание CD16+ лимфоцитов, которое предположительно также связано с атеросклерозом, так как основными клетками несущими CD16+ являются натуральные киллеры, которым в большей степени присуща провос-

палительная роль, так они являются активными продуцентами таких цитокинов как интерферон- γ и фактор некроза опухоли- α , а так же мощного цитолитического компонента Гранзима В, повышение которого отмечено в группе АКШ с ППС, и не исключено, что его повышение также инициирует появление постперикардотомного синдрома [13]. Усиление цитотоксической активности стимулируется повышением ФНО- α и совместно с перфоринами приводит к деградации межклеточного матрикса в атеросклеротической бляшке и повреждению эндотелия. Повышение гранзима В было также отмечено у пациентов с хронической ИБС, ОКС и инфарктом миокарда и у пациентов перенесших трансплантацию сердца [14]. Не менее интересным представляется оценка содержания α -дефензинов в сыворотке крови, повышение которого в первой группе зарегистрировано более чем в 13 раз, по сравнению с контролем. Данный факт свидетельствует об исходной активации гуморального цитотоксического потенциала нейтрофилов [15]. В то время как стимулированная фагоцитарная их активность и индекс стимуляции оказывается ниже, чем в контрольной группе, а спонтанная активность выше, что свидетельствует об истощении фагоцитарного потенциала нейтрофилов в ответ на стимуляцию.

Таким образом, у пациентов с ИБС выявлена активация клеточного звена врожденного иммунитета, а в подгруппе АКШ с ППС значительное повышение исходных показателей отражающих цитотоксический и фагоцитарный потенциал клеточного и гуморального звена врожденного иммунитета, что возможно послужит в дальнейшем прогностическими маркерами развития ППС.

Не менее интересным представляется динамика показателей врожденного иммунного ответа у пациентов в течении месяца, что соответствует срокам развития раннего ППС. Так у пациентов в обеих подгруппах % экспрессии CD282+ на моноцитах в течении месяца после АКШ значимо не меняется, вызывая лишь незначительные колебания количества клеток, несущих данный рецептор. Возможно, данные изменения связаны не только с длительным существованием атеросклероза, но и активацией моноцитов после проведения АКШ, как компенсаторной реакцией на повреждение. Постепенное снижение экспрессии CD284+ и CD289+ в исследуемых группах может быть ассоциирована с реваскуляризацией миокарда, то есть с уменьшением гипоксии и повышением перфузии миокарда [16]. Данный факт был подтвержден в экспериментальных работах на жи-

вотных, где наблюдали повышение экспрессии TLR 4 в ответ на церебральную и кардиальную ишемию, т.к. повышенная экспрессия TLR 4 вызывает высвобождение миелопероксидазы и запускает перекисное окисление липидов. Но сохранение экспрессии данных маркеров на значительно высоком уровне связано с атерогенезом, как длительным системным воспалением в следствии активации клеточного звена врожденного иммунитета. Примечательным является факт снижения содержания клеток, несущих CD16+ в обеих группах и внутриклеточного Гранзима В в первой группе, с 5 – 14 сутки. Данные изменения могут быть связаны с иммуносупрессией в следствии проведения АКШ и кровопотерей, а также с назначением антибактериальных и НПВС. Что касается фагоцитарной активности нейтрофилов, то в динамике видно отсутствие изменения показателей, кроме коэффициента стимуляции, что может так же свидетельствовать об истощении фагоцитарного потенциала нейтрофилов вследствие длительно существующего атеросклероза и отсутствия существенного вклада в развитии ППС. В результате проведенного исследования отмечено увеличение содержания α -дефензина в течении месяца наблюдения. Не исключено, что гуморальное звено врожденного иммунитета является ведущим механизмом в развитии ППС, так как в некоторых работах при исследовании перикардальной жидкости и биоптате перикарда у пациентов с ранним ППС показано повышенное содержание нейтрофилов. Кроме того, положительный эффект в лечении данной группы пациентов колхицином, который обладает мембраностабилизирующим эффектом на гранулы нейтрофилов, косвенно свидетельствует о роли α -дефензинов в развитии данного осложнения [17].

В итоге, можно сказать, что повреждение перикарда во время проведения операции АКШ способствует запуску острого воспалительного ответа с преобладанием нейтрофильного компонента, что выражается в формировании ППС. Причем наличие данного синдрома связано с повышенным уровнем α -дефензина как в дооперационном периоде, так и в течении 1 месяца после операции. Таким образом, исследование данных маркеров перед проведением АКШ позволит стратифицировать риск возникновения ППС.

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. 2014ESC/EACTSGuidelinesonmyocardialrevascularization. // *European Heart Journal*. - 2014. - №35. - С. 2541-2619.
2. Imazio M., Belli R., Brucato A., Ferrazzi P., Patrini D., et al. Rationale and design of the Colchicine for Prevention of the Post-pericardiotomy Syndrome and Post-operative Atrial Fibrillation (COPPS-2 trial): a randomized, placebo-controlled, multicenter study on the use of colchicine for the primary prevention of the postpericardiotomy syndrome, postoperative effusions, and postoperative atrial fibrillation. // *Am. Heart J.* - 2013. - №166. - С. 13-19. doi: 10.1016/j.ahj.2013.03.025

REFERENCES

1. 2014ESC/EACTSGuidelinesonmyocardialrevascularization. *European Heart Journal*. 2014;35:2541-2619.
2. Imazio, M, Belli R, Brucato A, Ferrazzi P, Patrini D, et al. Rationale and design of the Colchicine for Prevention of the Post-pericardiotomy Syndrome and Post-operative Atrial Fibrillation (COPPS-2 trial): a randomized, placebo-controlled, multicenter study on the use of colchicine for the primary prevention of the postpericardiotomy syndrome, postoperative effusions, and postoperative atrial fibrillation. *Am. Heart J.* 2013;166:13-19. doi: 10.1016/j.ahj.2013.03.025

- Lehto J, Kiviniemi N, Gunn J, Airaksinen J, Rautava P, et al. Occurrence of Postpericardiotomy Syndrome: Association With Operation Type and Postoperative Mortality After Open-Heart Operations. // *J Am Heart Assoc.* - 2018. - №3. - С. e010269. doi: 10.1161/JAHA.118.010269
- Gvaldin A.A., Sidorov R.V., Milutina N.P., Shlyk S.V., Ananyan A.A. et al. Funktioneller zusammenhang zwischen myeloperoxidase und paraoxonase in den mechanismen der pathogenese des postperikardiotomie-syndroms bei patienten mit koronarer herzkrankheit und koronar-bypass. // *Journal fur Kardiologie.* - 2018. - Т. 25 - №1-2. - С. 26-29.
- Mott A.R., Fraser Jr. C.D., Kusnoor A.V., Giesecke N.M., Reul G.J. Jr, et al. The effect of short-term prophylactic methylprednisone on the incidence and severity of postpericardiotomy syndrome in children undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. // *J Am Coll Cardiol.* - 2001. - №37. - С. 1700-1706. doi: 10.1016/s0735-1097(01)01223-2
- Horneffer P.J., Miller R.H., Pearson T.A., Rykiel M.F., Reitz B.A., Gardner T.J. The effective treatment of postcardiotomy syndrome after cardiac operations: a randomized placebo-controlled trial. // *J Thorac Cardiovasc Surg.* - 1990. - №100. - С. 292-296.
- Imazio M., Brucato A., Markel G., Cemin R., Trincherio R. et al. Meta-analysis of randomized trials focusing on prevention of the postpericardiotomy syndrome. // *Am J Cardiol.* - 2011. - №108. - С. 575-579. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.03.087.
- Imazio M., Brucato A., Rovere M.A., Gandino A., Cemin R., et al. Contemporary Features, Risk Factors, and Prognosis of the PostPericardiotomy Syndrome. // *Am J Cardiol.* - 2011. - №108. - С. 1183-1187. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.06.025
- Ayres J.S., Schneider D.S. Tolerance of infections. // *Annu Rev Immunol.* - 2012. - №30. - С. 271-294. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-075030
- Жидкова И.И., Понасенко А.В., Хуторная М.В., Кутихин А.Г., Барбараш О.Л. Генетические факторы (гены рецепторов врожденного иммунитета – TLRs) в патогенезе атеросклероза и его осложнений. // *Медицинская иммунология.* - 2017. - №3. - С. 241-254. doi: 10.15789/1563-0625-2017-3-241-254
- Сизякина Л.П., Шлык И.Ф., Сидоров Р.В., Шлык С.В. Характеристика врожденного иммунитета в послеоперационном периоде у больных с аортокоронарным шунтированием. // *Иммунология.* - 2017. - №6. - С. 292-295.
- Takeda K., Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. // *International Immunology.* - 2005. - №1. - С. 1-14. doi: 10.1093/intimm/dxh186
- Parisi L., Bassani B., Tremolati M., Gini E., Farronato G., Bruno A. Natural killer (NK) cells augment atherosclerosis by cytotoxic-dependent mechanisms. // *Cardiovasc Res.* - 2014. - №1. - С. 128-137. DOI: 10.1093/cvr/cvu016
- Saito Y., Kondo H., Hojo Y. Granzyme B as a novel factor involved in cardiovascular diseases. // *Journal of Cardiology.* - 2011. - №2. - С. 141-147. doi: 10.1016/j.jjcc.2010.10.001
- Мишланов В.Ю., Суханов С.Г., Сандаков П.Я., Ронзин А.В., Владимировский В.Е., и др. Дефензины-альфа, пептиды и белки, синтезируемые и высвобождаемые нейтрофилами при атеросклерозе разной локализации. // *Клиническая лабораторная диагностика.* - 2014. - №5. - С. 13-17.
- Shintania Y., Kapoor A., Kanekoa M., Smolenski R.T., D'Acquistoa F, et al. TLR9 mediates cellular protection by modulating energy metabolism in cardiomyocytes and neurons. // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* - 2013. - №13. - С. 5109-5114. doi: 10.1073/pnas.1219243110
- Gorla R., Erbel R., Eagle K. A., Bossone E. Systemic inflammatory response syndromes in the era of interventional cardiology. // *Vascular Pharmacology.* - 2018. - №107. - С. 53-66. doi: 10.1016/j.vph.2018.04.003
- Lehto J, Kiviniemi N, Gunn J, Airaksinen J, Rautava P, Kyto V, et al. Occurrence of Postpericardiotomy Syndrome: Association With Operation Type and Postoperative Mortality After Open-Heart Operations. *J Am Heart Assoc.* 2018;3:e010269. doi: 10.1161/JAHA.118.010269
- Gvaldin DY, Sidorov RV, Milutina NP, Shlyk SV, Ananyan AA, et al. Funktioneller zusammenhang zwischen myeloperoxidase und paraoxonase in den mechanismen der pathogenese des postperikardiotomie-syndroms bei patienten mit koronarer herzkrankheit und koronar-bypass. *Journal fur Kardiologie.* 2018;25(1-2):26-29.
- Mott AR, Fraser Jr CD, Kusnoor AV, Giesecke NM, Reul GJ Jr, et al. The effect of short-term prophylactic methylprednisone on the incidence and severity of postpericardiotomy syndrome in children undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 37:1700-1706.
- Horneffer PJ, Miller RH, Pearson TA, Rykiel MF, Reitz BA, Gardner TJ. The effective treatment of postcardiotomy syndrome after cardiac operations: a randomized placebo-controlled trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990;100:292-296.
- Imazio M, Brucato A, Markel G, Cemin R, Trincherio R, et al. Meta-analysis of randomized trials focusing on prevention of the postpericardiotomy syndrome. *Am J Cardiol.* 2011;108:575-579. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.03.087.
- Imazio M, Brucato A, Rovere MA, Gandino A, Cemin R, Ferrua S, et al. Contemporary Features, Risk Factors, and Prognosis of the PostPericardiotomy Syndrome. *Am J Cardiol.* 2011;108:1183-1187. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.06.025
- Ayres JS, Schneider DS. Tolerance of infections. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:271-294. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-075030
- Zhidkova II, Ponasenko AV, Hutornaja MV, Kutihin AG, Barbarash OL. Genetic factors (innate immunity receptor genes - TLRs) in the pathogenesis of atherosclerosis and its complication. *Medicinskaja immunologija.* 2017;3:241-254. (In Russ) doi: 10.15789/1563-0625-2017-3-241-254.
- Sizjakina LP, Shlyk IF, Sidorov RV, Shlyk SV. Characterization of innate immunity in the postoperative period in patients with coronary artery bypass grafting. *Immunologija.* 2017;6:292-295. (In Russ)
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology.* 2005;1:1-14. doi: 10.1093/intimm/dxh186
- Parisi L, Bassani B, Tremolati M, Gini E, Farronato G, Bruno A. Natural killer (NK) cells augment atherosclerosis by cytotoxic-dependent mechanisms. *Cardiovasc Res.* 2014;1:128-137. doi: 10.1093/cvr/cvu016
- Saito Y, Kondo H, Hojo Y. Granzyme B as a novel factor involved in cardiovascular diseases. *Journal of Cardiology.* 2011;2:141-147. doi: 10.1016/j.jjcc.2010.10.001
- Mishlanov VJu, Suhanov SG, Sandakov PJa, Ronzin AV, Vladimirovskii VE, et al. Alpha defensins, peptides and proteins synthesized and released by neutrophils in atherosclerosis of different localization. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika.* 2014;5:13-17. (In Russ)
- Shintania Y, Kapoor A, Kanekoa M, Smolenski RT, D'Acquistoa F, Coppina SR, et al. TLR9 mediates cellular protection by modulating energy metabolism in cardiomyocytes and neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2013;13:5109-5114. doi: 10.1073/pnas.1219243110
- Gorla R, Erbel R, Eagle KA, Bossone E. Systemic inflammatory response syndromes in the era of interventional cardiology. *Vascular Pharmacology.* 2018;107:53-66. doi: 10.1016/j.vph.2018.04.003

Информация об авторах

Шлык Ирина Федоровна, к.м.н., врач-кардиолог, докторант кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФПК и ППС, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0003-2193-7372. E-mail: sushkinaif@mail.ru,

Сизякина Людмила Петровна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФПК и ППС, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0001-5716-4397.

Сидоров Роман Валентинович, д.м.н., доцент кафедры хирургических болезней №2, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-8411-1554. E-mail: romas-64@mail.ru

Шлык Сергей Владимирович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней № 4 ФПК и ППС, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0003-3070-8424 .

Information about the authors

Irina F. Shlyk, Cand. Sci. (Med.), doctoral candidate department of the allergology and immunology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0003-2193-7372. E-mail: sushkinaif@mail.ru,

Lyudmila P. Sizyakina, Dr. Sci. (Med.), professor, department of the allergology and immunology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0001-5716-4397

Roman V. Sidorov, Dr. Sci. (Med.), associate Professor of the surgical diseases chair №2, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-8411-1554. E-mail: romas-64@mail.ru

Sergei V. Shlyk, Dr. Sci. (Med.), professor of Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0003-3070-8424 .

Получено / Received: 30.09.2019

Принято к печати / Accepted: 30.11.2019