

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.136-007.64-089.844:576.3:612.42

А.В. Светликов^{1, 2}, Г.Г. Хубулава³, А.И. Ермаков², Л.Б. Гайковая², П.А. Галкин¹,
В.С. Гуревич^{1, 2, 4}

Взаимосвязь между циркулирующими эндотелиальными клетками и НК-лимфоцитами крови до и после эндоваскулярного протезирования аневризмы брюшной аорты

¹ФГБУЗ «Клиническая больница № 122 им. Л.Г. Соколова» ФМБА РФ; пр-т Культуры, 4, Санкт-Петербург, 194291, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России; ул. Кирочная, 41, Санкт-Петербург, 191015, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, клиника хирургии (усовершенствования врачей) им. П.А. Куприянова; ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация;

⁴ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; Университетская наб., 7, Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация

Светликов Алексей Владимирович, канд. мед. наук, доцент, заведующий отделением;

orcid.org/0000-0001-8652-8778

Хубулава Геннадий Григорьевич, доктор мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой;

orcid.org/0000-0002-9242-9941

Ермаков Алексей Игоревич, врач центральной клинко-диагностической лаборатории;

orcid.org/0000-0003-3435-5881

Гайковая Лариса Борисовна, доктор мед. наук, заведующая кафедрой биологической и общей химии, заведующая центральной клинко-диагностической лабораторией;

orcid.org/0000-0003-1000-1114

Галкин Павел Андреевич, сердечно-сосудистый хирург;

orcid.org/0000-0002-6512-6347

Гуревич Виктор Савельевич, доктор мед. наук, профессор, руководитель отдела;

orcid.org/0000-0002-6815-444X

Введение. Известно, что во время развития аневризмы брюшной аорты (АБА) запускаются механизмы врожденного иммунитета, в частности, активируется фракция цитотоксических лимфоцитов – натуральных киллеров (НК-клеток). Однако роль НК-клеток в патогенезе АБА не выяснена.

Целью настоящей работы стала оценка содержания циркулирующих НК в до- и послеоперационном периодах при эндоваскулярном протезировании (ЭВП) АБА и его сопоставление с уровнем циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК).

Материал и методы. Количество НК-клеток и ЦЭК подсчитывали методом проточной цитометрии в образцах крови пациентов до ЭВП в течение 4 нед и через 18 мес после операции. Маркеры (CD16 + CD56 +) и (CD146 + CD45–) были использованы для идентификации соответственно НК и ЦЭК.

Результаты. У пациентов с АБА было обнаружено 5-кратное увеличение числа циркулирующих клеток эндотелия по сравнению с уровнем ЦЭК у здоровых доноров ($19,1 \pm 1,9$ и $4,2 \pm 1,2$ ЦЭК/ 10^6 лейкоцитов соответственно). Выявлены тенденция к увеличению абсолютного числа ЦЭК у пациентов с большими АБА и статистически достоверное снижение у них количества циркулирующих НК-клеток. Начиная с раннего послеоперационного периода и до конца наблюдения (18 мес после операции) количество ЦЭК прогрессивно снижалось. До операции имели место положительная корреляция между размером аневризм и количеством ЦЭК и негативная корреляция между размером аневризм и количеством НК-клеток. В дооперационном периоде корреляционная связь между содержанием НК-клеток и ЦЭК носила статистически значимый негативный характер. В ранний послеоперационный период корреляция между содержанием НК-клеток и ЦЭК исчезает и восстанавливается только в позднем послеоперационном периоде.

Заключение. Изменение количественных характеристик НК-клеток в процессе роста АБА и наличие корреляционной взаимосвязи между НК-клетками и уровнем ЦЭК подтверждают факт активации механизмов врожденного иммунитета как важного патогенетического звена в развитии этого заболевания, тесно связанного с деструкцией сосудистой стенки и, в частности, ее эндотелиальной выстилки. Полученные данные отчасти объясняют неудовлетворительные отдаленные результаты ЭВП АБА и дают возможность для разработки новых направлений в лечении АБА.

Ключевые слова: аневризма брюшной аорты; эндопротезирование аневризмы; НК-клетки; циркулирующие эндотелиальные клетки; патогенез аневризмы брюшной аорты.

Для цитирования: Светликов А.В., Хубулава Г.Г., Ермаков А.И., Гайковая Л.Б., Галкин П.А., Гуревич В.С. Взаимосвязь между циркулирующими эндотелиальными клетками и НК-лимфоцитами крови до и после эндоваскулярного протезирования аневризмы брюшной аорты. *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия.* 2018; 60 (6): 483–91. DOI: 10.24022/0236-2791-2018-60-6-483-491

Для корреспонденции: Светликов Алексей Владимирович, E-mail: asvetlikov@mail.ru

A.V. Svetlikov^{1, 2}, G.G. Khubulava³, A.I. Ermakov², L.B. Gaykovaya², P.A. Galkin¹,
V.S. Gurevich^{1, 2, 4}

Relationship between circulating endothelial cells and NK-cells before and after endovascular abdominal aorta aneurysm repair

¹L.G. Sokolov Clinical Hospital № 122, Federal Medical Biological Agency of the Russian Federation; prospekt Kul'tury, Saint-Petersburg, 194291, Russian Federation;

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Ministry of Health of the Russian Federation; ulitsa Kirochnaya, 41, Saint-Petersburg, 191015, Russian Federation;

³S.M. Kirov Military-Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation, P.A. Kupriyanov Department of Surgery (Education of Doctors); ulitsa Akademika Lebedeva, 6, Saint-Petersburg, 194044, Russian Federation;

⁴Saint-Petersburg State University, Universitetskaya Naberezhnaya, 7, Saint-Petersburg, 199034, Russian Federation

Aleksey V. Svetlikov, Cand. Med. Sc., Associate Professor, Head of Department;
orcid.org/0000-0001-8652-8778

Gennadiy G. Khubulava, Dr. Med. Sc., Professor, Academician of Russian Academy of Sciences, Head of Department;
orcid.org/0000-0002-9242-9941

Aleksey I. Ermakov, Physician of the Central Clinical Laboratory Department;
orcid.org/0000-0003-3435-5881

Larisa B. Gaykovaya, Dr. Med. Sc., Professor Department of Biological and General Chemistry, Head of Central Clinical Diagnostic Laboratory;
orcid.org/0000-0003-1000-1114

Pavel A. Galkin, Cardiovascular Surgeon;
orcid.org/0000-0002-6512-6347

Viktor S. Gurevich, Dr. Med. Sc., Professor, Head of Department;
orcid.org/0000-0002-6815-444X

Introduction. It is known that immune and autoimmune reactions can play a role in the development and progression of abdominal aortic aneurysms (AAA), including the activation of cytotoxic lymphocytes – natural killer cells (NK). However the role of NK in pathogenesis of AAA remains unclear. The aim of this study was to assess NK levels in the pre- and postoperative period of endovascular aneurysm repair (EVAR) and their relationships with the levels of circulating endothelial cells (CEC).

Material and methods. NK and CEC were counted by flow cytometry in blood samples of patients before EVAR, within 4 weeks and in 18 months after the operation. Markers (CD16 + CD56 +) and (CD146 + CD45-), respectively, were used to identify NK and CEC.

Results. In patients with AAA, a 5-fold increase in circulating endothelial cells (CEC) was found in comparison with the levels of CEC of healthy donors (19.1 ± 1.9 and 4.2 ± 1.2 CEC / 3^6 leukocytes, respectively). The tendency to increase the absolute number of CEC in patients with large AAA and statistically significant decrease in the number of circulating NK cells were revealed. From the early postoperative period to the end of follow-up (18 months after surgery), the number of CEC progressively decreases. Before the operation there is a positive correlation between the size of aneurysms and the number of CECs and a negative correlation between the size of the aneurysms and the number of NK cells. In the pre-operative period, the correlation between the content of NK cells and the CEC has a statistically significant negative character. In the early postoperative period, the correlation between the content of NK cells and CEC disappears and restores only in the late postoperative period.

Conclusion. The change in the quantitative characteristics of NK cells during the growth of AAA and the presence of a correlative relationship between NK and CEC levels confirms the idea about the activation of innate immunity as an important pathogenetic link in the development of this disease, closely associated with the destruction of the vascular wall and, in particular, of its endothelial lining. The obtained data partly explain the unsatisfactory long-term results of the EVAR and provide an opportunity for developing new approaches in the treatment of AAA.

Keywords: aneurysm of abdominal aorta; endovascular aneurism repair; NK-cells; circulating endothelial cells; pathogenesis of aneurysm of abdominal aorta.

For citation: Svetlikov A.V., Khubulava G.G., Ermakov A.I., Gaykovaya L.B., Galkin P.A., Gurevich V.S. Relationship between circulating endothelial cells and NK-cells before and after endovascular abdominal aorta aneurysm repair. *Russian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2018; 60 (6): 483–91 (in Russ.). DOI: 10.24022/0236-2791-2018-60-6-483-491

For correspondence: Aleksey V. Svetlikov, E-mail: asvetlikov@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received May 21, 2018
Accepted May 31, 2018

Введение

Аневризмой брюшной аорты (ААА) называется расширение аорты более 3 см или в 1,5 раза превышающее диаметр брюшной аорты в нерасширенном участке. Аневризмы могут развиваться в различных отделах аорты, однако наиболее частыми в силу генетической предрасположенности, гистологических особенностей и гемодинамических характеристик являются аневризмы брюшного отдела аорты (АБА) [1]. Основными событиями, ос-

ложняющими течение АБА, служат их прогрессирующая дилатация, разрыв и кровоизлияние, смертность при которых достигает 70–80%. Несмотря на успехи в скрининге аневризм в отдельных странах (Швеция, Великобритания) и их лечении, разрыв АБА остается одной из основных причин смерти [2]. В настоящее время доказано преимущество эндоваскулярного протезирования (ЭВП) по сравнению с открытыми операциями по реконструкции АБА в отношении частоты периоперационных осложнений [3]. Вместе с тем в клинических

исследованиях наряду с положительными эффектами ЭВП АБА выявлен и ряд новых видов осложнений по сравнению с открытыми операциями, которые потребовали модификации хирургического пособия и оптимизации патогенетически обоснованной фармакологической поддержки инвазивных методов лечения [4].

В настоящее время выявлено несколько биологических процессов и факторов риска, которые способствуют патогенезу АБА. Среди них важнейшими факторами риска считаются мужской пол, возраст, курение и ряд биологических факторов, таких как воспаление, апоптоз, деградация внеклеточного матрикса и окислительный стресс. Имунные и аутоиммунные реакции также могут играть роль в развитии и прогрессировании АБА [5, 6]. Хотя точный механизм этих реакций в патогенезе АБА неизвестен, некоторые авторы предположили, что это должно быть некое нарушение иммунорегуляторных механизмов или какой-то тип молекулярной мимикрии после бактериальной или вирусной инфекции [7, 8]. Кроме того, было показано, что во время развития ААА запускаются механизмы врожденного иммунитета, в частности, активируется фракция цитотоксических лимфоцитов – натуральных киллеров (НК-клеток) [9]. Роль НК-клеток в патогенезе АБА не выяснена. Поэтому *целью настоящей работы* были оценка содержания циркулирующих НК в до- и послеоперационном периодах при ЭВП АБА и его сопоставление с уровнем циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК), который является важным показателем дисфункции и повреждения сосудистой стенки.

Материал и методы

Пациенты

В исследование были включены пациенты обоего пола в возрасте от 45 до 85 лет с инструментально верифицированными АБА. Обследование про-

водилось в три этапа: не более чем за 10 сут до операции ЭВП, которую выполняли пациентам без противопоказаний с аневризмами диаметром 50 мм и более по классификации Национальных рекомендаций по ведению пациентов с аневризмами брюшной аорты от 2013 г. [1] ($n=17$), в ранний послеоперационный период (от 2 до 4 нед после операции ЭВП) ($n=16$) и в поздний послеоперационный период (от 6 до 18 мес после операции) ($n=18$). Отдельному обследованию подвергались пациенты с малыми аневризмами диаметром от 30 до 50 мм, которые не подлежали в момент обследования оперативному лечению ($n=17$). Все группы пациентов были сравнимы по возрасту, частоте основных факторов риска и фармакотерапии (см. таблицу). В группу сравнения были включены 10 человек без признаков сердечно-сосудистых заболеваний.

Операция ЭВП АБА

В качестве предоперационных методов обследования, позволяющих определить показания к эндопротезированию и выбрать модель стент-графта, использовались ультразвуковое дуплексное ангиосканирование (УЗДАС) и мультиспиральная компьютерная томографическая ангиография брюшной аорты, подвздошных и бедренных артерий. В исследовании использовались стент-графты Ella (Ella CS, Чехия); Anaconda (Vascutek Terumo, Великобритания); Endurant II, Medtronic, Zenit (Cook, США).

Эндопротезирование инфраренальной АБА выполнялось бригадой сосудистых и рентгеноэндоваскулярных хирургов в рентгенооперационной с помощью ангиографического комплекса. В большинстве случаев использовалась спинальная анестезия с контролируемой седацией. В двух (2%) случаях потребовался эндотрахеальный наркоз.

После эндопротезирования все пациенты получали антиагрегантную терапию аспирином в дозе 100 мг в сутки. С момента операции и до выписки из стационара всем больным проводилось УЗДАС для

Характеристика обследованных пациентов

Показатель	1-я группа (пациенты с большими аневризмами до операции) ($n=17$)	2-я группа (пациенты в ранний послеоперационный период) ($n=16$)	3-я группа (пациенты в поздний послеоперационный период) ($n=23$)	4-группа (пациенты с малыми аневризмами) ($n=17$)
Число пациентов мужского/женского пола, n	17/0	16/0	20/3	15/2
Возраст, $M \pm m$ (лет)	69,6 \pm 2,3 (49–85)	67,4 \pm 2,5 (49–85)	69,7 \pm 2,8 (54–85)	71,5 \pm 1,8 (57–81)
Факторы сердечно-сосудистого риска, n (%):				
курение	9 (52,9)	9 (56,3)	14 (60,7)	8 (47)
артериальная гипертония	12 (70,6)	10 (62,5)	15 (65,2)	10 (58,8)
дислипидемия	16 (94,1)	14 (87,5)	12 (52,2)	11 (64,7)
нарушение толерантности к глюкозе или диабет II типа	3 (17,6)	1 (6,3)	7 (30,4)	3 (17,6)
Фармпрепараты, n (%):				
гиполипидемические	16 (94,1)	15 (93,8)	21 (91,3)	15 (88,2)
гипотензивные	16 (94,1)	14 (87,5)	16 (69,6)	7 (41)
анти тромботические	17 (100)	16 (100)	20 (86,9)	15 (88,2)

исключения подтеканий, смещений и тромбозов эндографтов. В дальнейшем все пациенты находились под тщательным динамическим наблюдением. Через 1, 3, 6 мес после операции проводилось контрольное УЗДАС аорты и подвздошных артерий, а через 12 мес – контрольная КТ-ангиография.

Определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток

Содержание ЦЭК в периферической крови осуществляли с использованием меченных флуорохромами моноклональных антител к поверхностным маркерам клеток: CD 146-PE (Beckman Coulter, США) в качестве метки для ЦЭК и CD45-PC5 (Beckman Coulter, США) в качестве панлейкоцитарного маркера. Для исследования применяли цельную венозную кровь, взятую натощак в утренние часы из локтевой вены в стерильные вакуумные пробирки, содержащие 100 мкл 0,5 М ЭДТА (рН 8,0) в качестве антикоагулянта.

Анализ количества ЦЭК в группах проводили не позднее 3 ч с момента забора крови. Для исследования по 100 мкл крови переносили в сухие чистые пластиковые пробирки № 1 и № 2 вместимостью 5 мл. В пробирку № 1 добавляли 10 мкл CD45-PC5 (проба № 1), в пробирку № 2 – 10 мкл CD146-PE и 10 мкл CD45-PC5 (проба № 2). Обе пробирки инкубировали при комнатной температуре в защищенном от света месте в течение 15 мин. С помощью лизирующего буфера Immunoprep (Beckman Coulter, США) лизировали эритроциты на станции пробоподготовки Coulter TQ-Prep (Beckman Coulter, США). При проведении проточной цитофлуориметрии в каждой пробе анализировали 300 000 событий. По скатерограммам прямого и бокового светорассеяния лазерного луча исключали из анализа фрагменты разрушенных клеток и анализировали результаты скатерограмм исследуемых проб методом Буля для двойных позитивных событий. В качестве отрицательного контроля использовали пробу № 1 с панлейкоцитарным маркером CD45-PC5, что позволяло выделить область для ЦЭК (CD146-PE) в пробе № 2. ЦЭК определяли как негативные по маркеру CD45 (CD45-) и позитивные по маркеру CD146 (CD146+). Общее количество идентифицированных ЦЭК стандартизировали по отношению к концентрации CD45+ лейкоцитов.

Определение количества НК-клеток

Забор крови проводился как описано выше. Для окрашивания клеток к 100 мкл образца крови добавляли по 10 мкл смеси моноклональных антител, меченных FITC (флуоресцеин изотиоцианат) и PE (фикоэритрин), к CD3 и CD (16/56), соответственно (Beckman Coulter, США). Образцы инкубировали при комнатной температуре в защищенном от света месте в течение 15 мин. Удаление эритроцитов из образцов проводили по безотмывочной технологии на станции автоматического ли-

зиса и фиксирования образцов Coulter TQ-Prep с использованием реагента ImmunoPrep (Beckman Coulter, США). Анализ всех образцов выполняли на проточном цитофлуориметре Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США). На графике прямого и бокового светорассеяния выделяли область лимфоцитов, в которой анализировали сигнал флуоресценции, исходящий от флуоресцентных меток моноклональных антител к поверхностным антигенам НК-клеток. Абсолютные значения количества НК-клеток определяли методом двухплатформенного анализа с использованием автоматического гематологического анализатора LH-750 (Beckman Coulter, США).

Методы статистического анализа

Полученные данные при нормальном распределении анализировали как параметрические величины и описывали средними значениями и средними ошибками. Для сравнения выборок с различными дисперсиями использовали двухвыборочный t-тест. Корреляционный анализ проводили с помощью ранговой корреляции по Спирмену. Расчеты и графические построения выполнены в пакетах статистических программ Excel 10 и IBM Statistics SPSS 21.

Результаты

У пациентов с АБА было обнаружено 5-кратное увеличение числа циркулирующих клеток эндотелия по сравнению с уровнем ЦЭК у здоровых доноров ($19,1 \pm 1,9$ и $4,2 \pm 1,2$ ЦЭК/ 3^6 лейкоцитов соответственно). Выявлена тенденция к увеличению абсолютного числа ЦЭК у пациентов с большими АБА и статистически достоверное снижение у них количества циркулирующих НК-клеток (рис. 1). Между размером малых аневризм и количеством ЦЭК не выявлено корреляции, в то время как имела место достоверная положительная корреляция между размером больших аневризм и количеством ЦЭК (рис. 2, а, б). Вместе с тем между размером и большими и малых аневризм и количеством НК-клеток обнаружена высокодостоверная негативная корреляция (рис. 2, в, г).

Начиная с раннего послеоперационного периода (2-я группа) и до конца наблюдения (3-я группа) количество ЦЭК прогрессивно снижается. Так, если в ранний послеоперационный период снижение числа ЦЭК носит характер тенденции, то в поздний послеоперационный период это снижение становится статистически достоверным (рис. 3, а, 4, а, б).

У пациентов из всех трех групп не было выявлено статистически значимых различий по общему количеству лейкоцитов, средние значения которого были сопоставимы с таковыми в группе сравнения. Содержание субпопуляции НК-клеток в группе пациентов с АБА в дооперационном и в раннем послеоперационном периодах не выходило за пределы референтных значений, в то время как в позднем послеоперационном периоде оно статистически значимо увеличилось (рис. 3, б, 4, в, г).

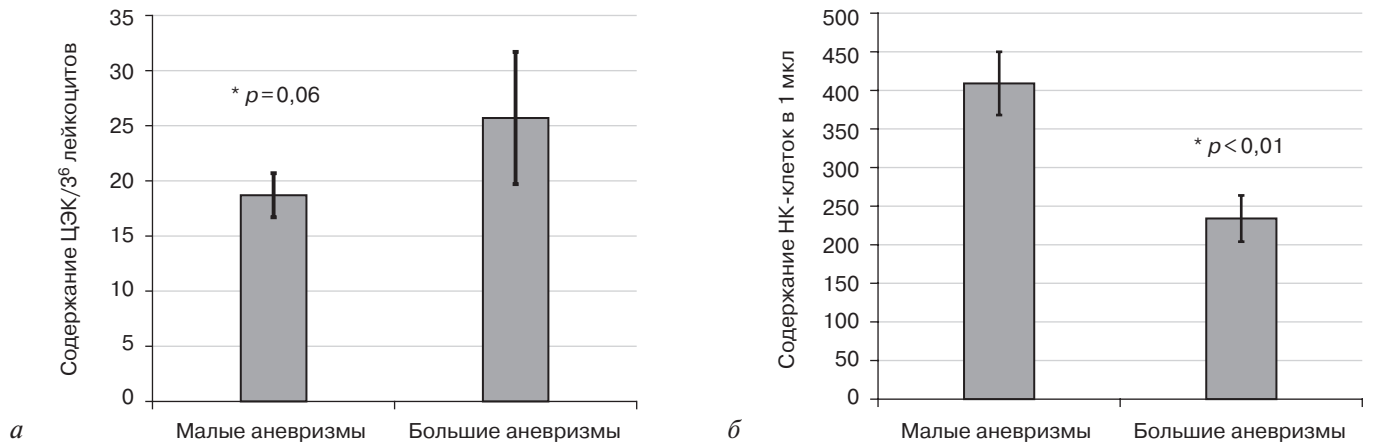


Рис. 1. Содержание циркулирующих эндотелиальных клеток (а) и клеток – натуральных киллеров (б) в крови пациентов с малыми и большими аневризмами брюшной аорты

* Различия статистически значимы.

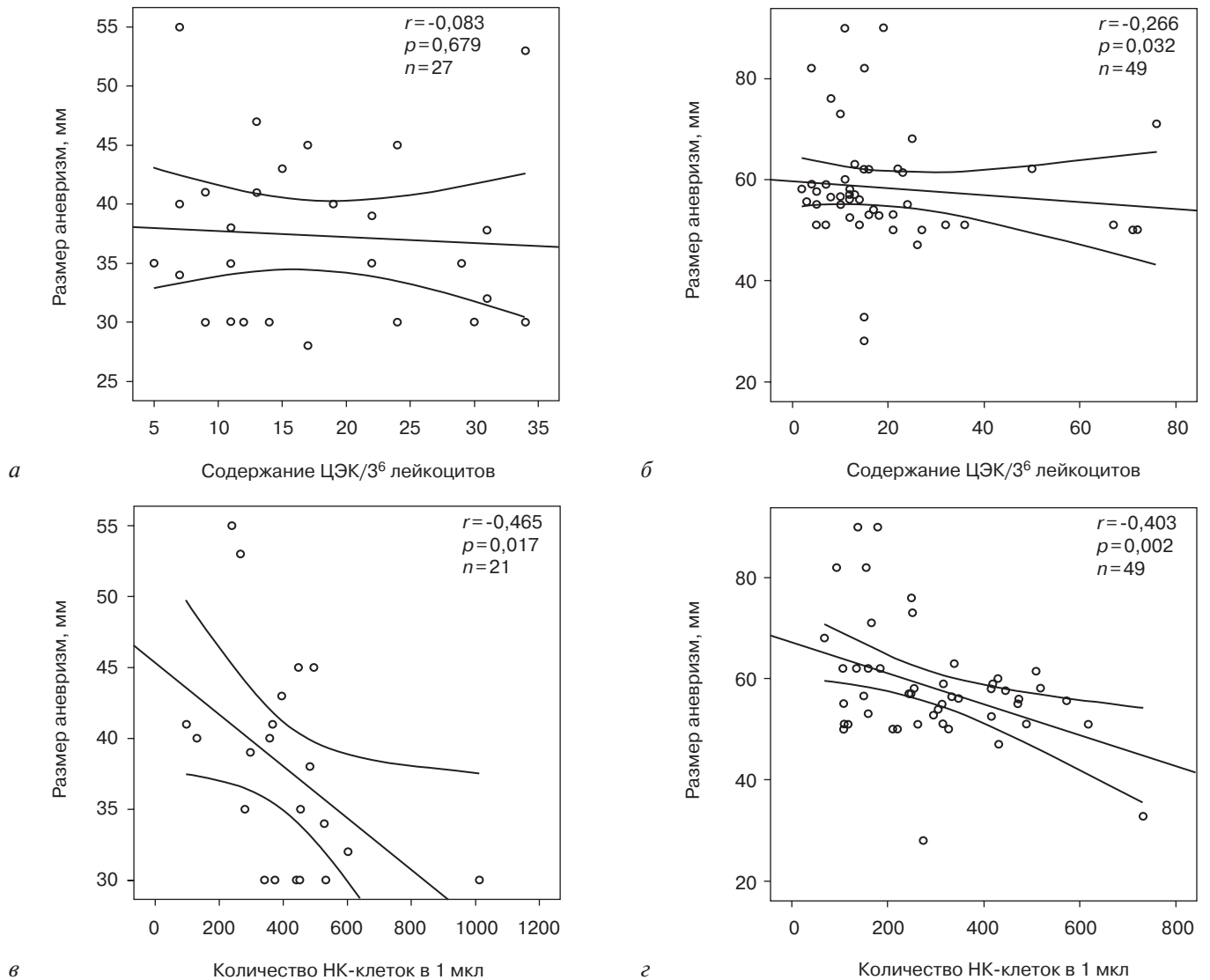


Рис. 2. Корреляция между размером малых аневризм (с наибольшим диаметром менее 50 мм) и содержанием ЦЭК (а); между размером больших аневризм (с наибольшим диаметром более 50 мм) и содержанием ЦЭК (б); между размером малых аневризм (с наибольшим диаметром менее 50 мм) и содержанием НК-клеток (в); между размером больших аневризм (с диаметром более 50 мм) и содержанием НК-клеток (г)

Original Research

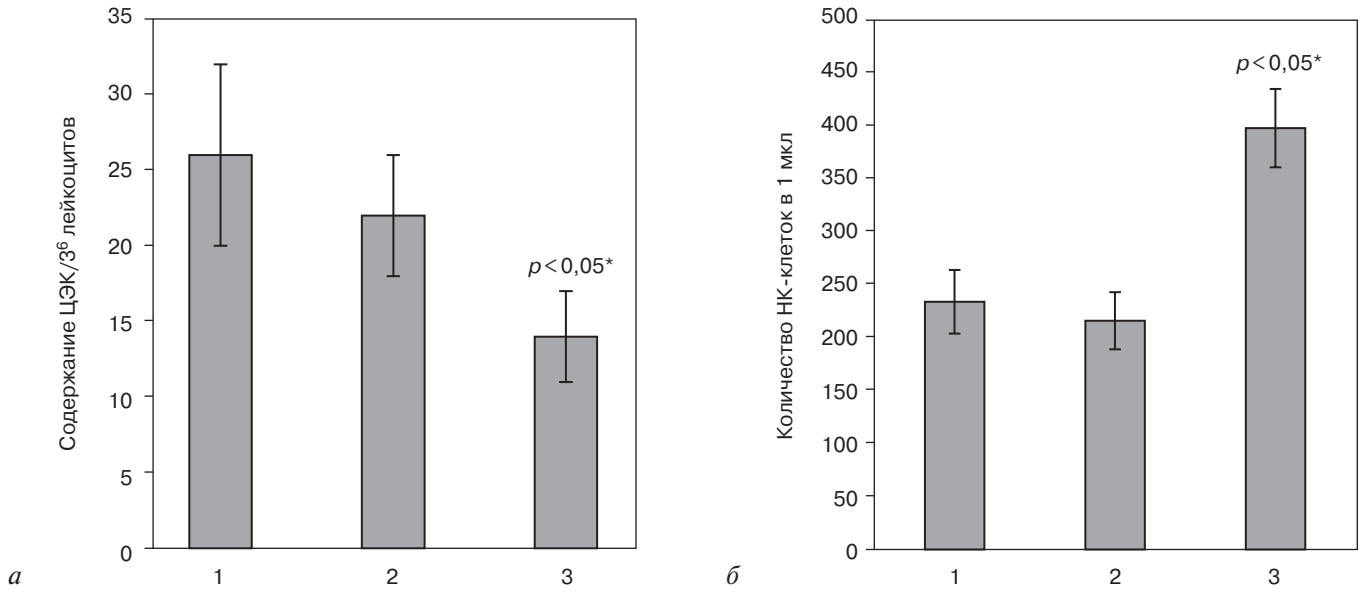


Рис. 3. Содержание ЦЭК (а) и НК-клеток (б) в крови пациентов с аневризмой брюшной аорты до операции эндоваскулярного протезирования (1), в ранний (2) и в отдаленный послеоперационный период (3)

* Различия статистически значимы.

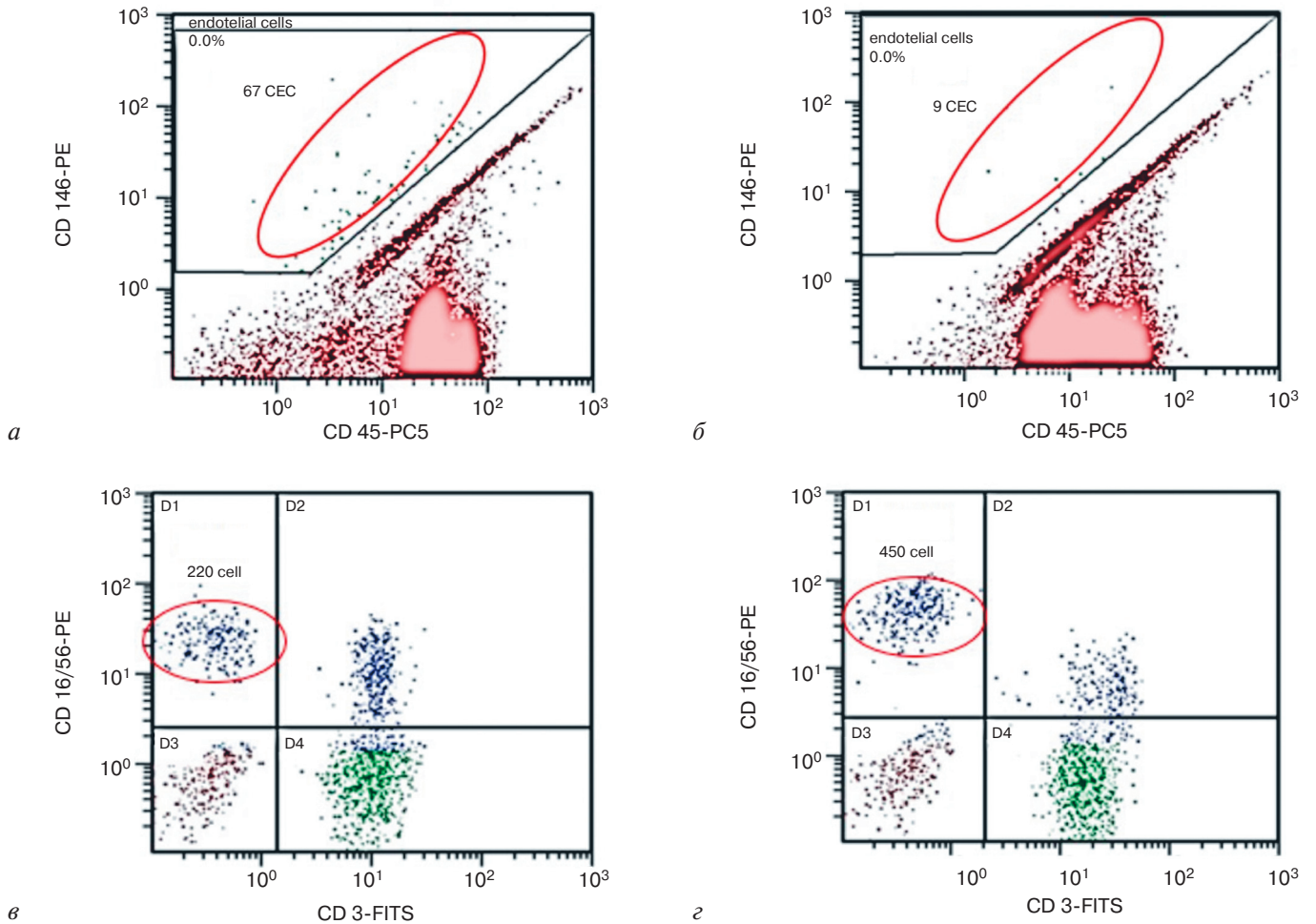


Рис. 4. Индивидуальные гистограммы содержания ЦЭК (а) и НК-клеток (б) методом проточной цитофотометрии в крови пациента в раннем (а) и в отдаленном послеоперационном периоде (б). Фракции идентифицированных клеток находятся в площади овала.

CEC – циркулирующие эндотелиальные клетки; FITS – флуоресцен низотианат; PE – фикоэритрин

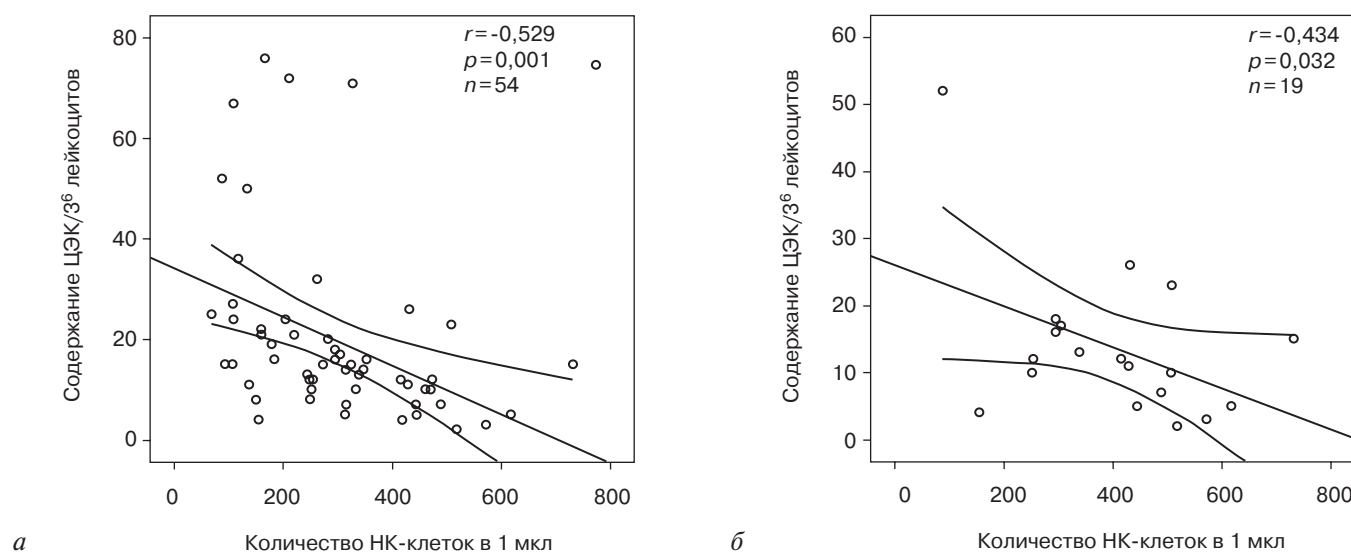


Рис. 5. Корреляция между содержанием ЦЭК и НК-клеток в крови пациентов до операции (а) и в позднем послеоперационном периоде (б)

В дооперационном периоде корреляционная связь между содержанием НК-клеток и ЦЭК носит статистически значимый негативный характер (рис. 5, а). В ранний послеоперационный период корреляция между содержанием НК-клеток и ЦЭК исчезает и восстанавливается только в позднем послеоперационном периоде (рис. 5, б).

Обсуждение

Эндоваскулярная реконструкция аневризмы является наиболее щадящим из инвазивных вариантов лечения, которые можно выбрать для большинства пациентов с АБА, поскольку технологии и вспомогательные средства заметно усовершенствованы с момента создания методики профессором Н.Л. Володосем три десятилетия назад [10–12].

На основании результатов рандомизированных клинических и наблюдательных исследований было доказано, что эндоваскулярная реконструкция аневризмы сопровождается снижением периоперационной заболеваемости и смертности, а также уменьшением продолжительности пребывания в стационаре, что снижает непосредственные затраты на реконструкцию, хотя начальная финансовая эффективность может нивелироваться за счет расходов на долгосрочные диагностические наблюдения после ЭВП. Во многих странах эндоваскулярная реконструкция аневризмы стала предпочтительным методом при плановой реконструкции АБА и все чаще применяется в лечении нарушенной АБА.

Немногие другие процедуры прошли такую глубокую клиническую и научную проверку, как эндоваскулярная реконструкция аневризмы брюшной аорты, за сравнительно короткий период времени. Целесообразность эндоваскулярной реконструк-

ции аневризмы, таким образом, становится очевидной, а новые технологические разработки наряду с тщательным научным наблюдением обеспечивают дальнейшую оптимизацию лечения и образа жизни для каждого пациента с последующим улучшением долгосрочного прогноза. В связи с этим определение новых маркеров прогрессирования АБА и эффективности ее инвазивной реконструкции является перспективным направлением в снижении частоты клинических осложнений этого серьезного заболевания.

Количественная оценка ЦЭК стала в последнее десятилетие одним из информативных показателей дисфункции и повреждения сосудистой стенки. В отличие от прогениторных эндотелиальных клеток (ПЭК), которые функционально отвечают за регенеративную активность эндотелия, ЦЭК рассматриваются как зрелые клетки, отделившиеся от интимального монослоя в ответ на повреждение, вызванное патологическим процессом, и количественно находящиеся в реципрокных отношениях с ПЭК [13, 14].

Механизм слущивания эндотелиальных клеток является сложным и включает в себя множество факторов, таких как механическое повреждение, классические факторы риска атеросклероза, изменения молекул клеточной адгезии эндотелия и субэндотелия и клеточный апоптоз, ассоциированный с деградацией белков цитоскелета. В здоровом организме содержание ЦЭК в кровеносном русле близко к нулю. Наиболее изученными являются изменения уровня ЦЭК в крови при артериальной гипертензии, инсульте, ИБС и хронической сердечной недостаточности [15–17]. Показано, что высокий уровень ЦЭК может быть предиктором фатальных исходов острого инфаркта миокарда [18].

При заболеваниях аорты повышенное содержание ЦЭК обнаружено в активной фазе хронического

периорита с последующей нормализацией этого показателя после эффективной терапии [19].

В настоящем исследовании у пациентов с АБА впервые выявлено значительное увеличение содержания ЦЭК, коррелирующее с размерами аневризмы, что свидетельствует об активном участии эндотелия и субэндотелия в развитии и прогрессировании АБА. Заметное долговременное уменьшение числа ЦЭК в послеоперационном периоде может быть следствием выключения большого участка поврежденной аорты из активного кровотока и/или замедления роста аневризмы, что является позитивным признаком, так как указывает на снижение десквамации эндотелия. Вместе с тем отмечается отсутствие полного возврата содержания ЦЭК к норме даже через достаточно длительный срок после эндоваскулярной реконструкции АБА, что в известной степени отражает паллиативный характер данного вида хирургического пособия.

Целесообразно обсудить полученные нами данные в контексте результатов других исследований, посвященных содержанию у пациентов с аневризмой аорты ПЭК, которые в отличие от ЦЭК происходят из костного мозга и являются маркерами активной эндотелиализации. Например, их количество в крови при АБА часто снижено, но уже в ранние сроки после ЭВП циркулирующий пул ПЭК резко возрастает [20]. Это свидетельствует, в частности, о различной роли ПЭК и ЦЭК в развитии аневризм и в послеоперационной репарации сосудистой стенки.

Значимым оказалось сопоставление содержания ЦЭК в дооперационный и послеоперационный периоды с уровнем в крови НК-клеток, специфической субпопуляции лимфоцитов, играющей ведущую роль при активации механизмов врожденного иммунитета в патологических условиях. Нейтрализация чужеродных клеток происходит в этом случае за счет контактного цитолиза, реализуемого в результате возникновения дисбаланса между активирующими и ингибирующими рецепторами НК-клеток, вызванного их взаимодействием с поверхностными молекулами клеток-мишеней. Кроме того, как показали исследования, НК-клетки способны участвовать и в некоторых формах адаптивного иммунного ответа, так как могут секретировать ряд цитокинов и хемокинов [21].

В связи с тем что в развитии АБА большое значение придается иммунным и особенно аутоиммунным реакциям, естественно предположить, что НК-клетки могут участвовать в них на различных этапах патогенеза АБА, которые еще недостаточно изучены. Например, им приписывается прямо противоположное действие в отношении аутоиммунных реакций. С одной стороны, существует гипотеза о протективной роли НК-клеток при аутоиммунных реакциях за счет контроля вызванной инфекцией молекулярной мимикрии или удаления незрелых дендритных клеток, презентующих аутоантигены. С другой стороны, НК-клетки могут участвовать в индукции и поддержке аутоиммунных реак-

ций, так как способны индуцировать дифференциацию моноцитов в антиген-презентирующие клетки при воспалении, а их цитотоксическое действие на клетки-мишени может приводить к аномальной экспозиции аутоантигенов [22].

Наши данные подтверждают активную роль НК-клеток в формировании и прогрессировании АБА. Так, у пациентов с малыми аневризмами уровень НК-клеток находится на верхней границе референтных значений или превышает их, а с ростом аневризмы достоверно снижается. Корреляция размера аневризм и количества НК-клеток носит достоверно негативный характер (см. рис. 1, 2), что во-первых, свидетельствует об активном участии иммунных реакций на всех этапах формирования и роста аневризмы, а, во-вторых, может указывать в том числе и на истощение возможностей костного мозга по дальнейшей мобилизации этой субпопуляции лимфоцитов по мере прогрессирования АБА. Достоверное увеличение количества НК-клеток наблюдается только в отдаленные сроки после операции. Уровень НК-клеток у пациентов с большими аневризмами в отдаленные сроки после ЭВП достоверно увеличивается у пациентов с малыми, в известной степени незрелыми аневризмами, что может указывать на активацию иммунного статуса или даже на прогрессирование АБА через некоторое время после эндоваскулярной реконструкции. В позднем послеоперационном периоде выявляется и достоверная негативная корреляция между количеством ЦЭК и НК-клеток, сравнимая с таковой в предоперационный период, чего не наблюдается в раннем послеоперационном периоде. Это может быть следствием возникновения новых взаимосвязей между деструктивными процессами в области аневризмы и функцией НК-клеток, что требует дальнейшего изучения.

Заключение

Дисфункция и нарушение целостности эндотелиального монослоя аорты, сопровождающиеся существенным увеличением количества ЦЭК в периферической крови, ассоциированы с формированием и ростом АБА. Эндоваскулярная реконструкция АБА приводит к достоверному долговременному снижению числа ЦЭК, что указывает на стимуляцию репаративных процессов и замедление прогрессирования структурных изменений сосудистой стенки. Изменение количественных характеристик НК-клеток в процессе роста АБА и наличие корреляционной взаимосвязи между НК-клетками и уровнем ЦЭК подтверждает факт активации механизмов врожденного иммунитета как важного патогенетического звена в развитии этого заболевания, тесно связанного с деструкцией сосудистой стенки и, в частности, ее эндотелиальной выстилки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература [References]

1. Национальные рекомендации по ведению пациентов с аневризмами брюшной аорты. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2013; 2 (19, прил.): 5. [National recommendations for the abdominal aortic aneurysms treatment. *Angiologiya i Sosudistaya Khirurgiya (Angiology and Vascular Surgery)*. 2013; 19 (2, Suppl.): 5 (in Russ.).]
2. Earnshaw J.J., Lees T. Update on screening for abdominal aortic aneurysm. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2017; 54 (1): 1–2. DOI: 10.1016/j.ejvs.2017.04.002
3. Steuer J., Lachat M., Veith F.J., Wanhainen A. Endovascular grafts for abdominal aortic aneurysm. *Eur. Heart J.* 2016; 37: 145–51. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv593
4. Lederle F.A., Freischlag J.A., Kyriakides T.C., Padberg F.T. Jr, Matsumura J.S., Kohler T.R. et al. Open versus endovascular Repair (OVER) Veterans Affairs Cooperative Study Group. Outcomes following endovascular vs open repair of abdominal aortic aneurysm: a randomized trial. *JAMA*. 2009; 302: 1535–42. DOI: 10.1001/jama.2009.1426
5. Kuivaniemi H., Platsoucas C.D., Tilson M.D. Aortic aneurysms: an immune disease with a strong genetic component. *Circulation*. 2008; 117: 242e52. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.690982
6. Ocana E., Bohorquez J.C., Perez-Requena J., Brieva J.A., Rodriguez C. Characterisation of T and B lymphocytes infiltrating abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis*. 2003; 170: 39e48. DOI: 10.1016/S0021-9150(03)00282-X
7. Nyberg A., Skagius E., Englund E., Nilsson I., Ljungh A., Henriksson A.E. Abdominal aortic aneurysm and the impact of infectious burden. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2008; 36 (3): 292–6. DOI: 10.1016/j.ejvs.2008.04.017
8. Karlsson L., Gnarp J., Bergqvist D., Lindbäck J., Pärsson H. The effect of azithromycin and Chlamydia pneumonia infection on expansion of small abdominal aortic aneurysms – a prospective randomized double-blind trial. *J. Vasc. Surg.* 2009; 50 (1): 23–9. DOI: 10.1016/j.jvs.2008.12.048
9. Hinterseher I., Schworer C.M., Lillvis J.H., Stahl E., Erdman R., Gatalica Z. et al. Immunohistochemical analysis of the natural killer cell cytotoxicity pathway in human abdominal aortic aneurysms. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16 (5): 11196–212. DOI: 10.3390/ijms160511196
10. Svetlikov A.V. Unknown pages in the history of vascular stent-grafting *J. Vasc. Surg.* 2014; 59: 865–8. DOI: 10.1016/J.JVS.2013.11.067
11. Björck M. The fall of a giant professor Nicolai Leontyevich Volodos; May 15, 1934 – April 3, 2016. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 52 2016; (Issue 1): 3–4. DOI: 10.1016/J.EJVS.2016.04.015
12. Хубулава Г.Г., Светликов А.В. Николай Леонтьевич Володось. История неоспоримого мирового приоритета в избрании сосудистого эндопротеза. *Вестник хирургии*. 2017; 176 (3): 95–8. [Khbulava G.G., Svetlikov A.V. Nikolai Leont'evich Volodos. History of unquestioned in world priority invention of vascular endo-prosthetic. *Vestnik Khirurgii (News of Surgery)*. 2017; 176 (3): 95–8 (in Russ.).]
13. Boos C.J., Lip G.Y.H., Blann A.D. Circulating endothelial cells in cardiovascular disease. *JACC*. 2006; 48 (8): 1538–47. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.02.078
14. Blann A.D., Woywodt A., Bertolini F., Bull T.M., Buyon J.P., Clancy R.M. et al. Circulating endothelial cells. Biomarker of vascular disease. *Thromb. Haemost.* 2005; 93: 228–35. DOI: 10.1160/TH04-09-0578
15. Freestone B., Chong A.Y., Nadar S., Lee K.W., Lip G.Y.H., Blann A.D. Circulating endothelial cells in atrial fibrillation with and without acute cardiovascular disease. *Thromb. Haemost.* 2005; 94: 702–6. DOI: 10.1160/TH05-02-0093
16. Quilici J., Banzet N., Paule P., Meynard J.B., Mutin M., Bonnet J.L. et al. Circulating endothelial cell count as a diagnostic marker for non-ST-elevation acute coronary syndromes. *Circulation*. 2004; 110: 1586–91. DOI: 10.1161/01.CIR.0000142295.85740.98
17. Chong A.Y., Blann A.D., Patel J., Freestone B., Hughes E., Lip G.Y. Endothelial dysfunction and damage in congestive heart failure: relation of flow-mediated dilation to circulating endothelial cells, plasma indexes of endothelial damage, and brain natriuretic peptide. *Circulation*. 2004; 110: 1794–8. DOI: 10.1161/01.CIR.0000143073.60937.50
18. Lee K.W., Lip G.Y., Tayebjee M., Foster W., Blann A.D. Circulating endothelial cells, von Willebrand factor, interleukin-6, and prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Blood*. 2005; 105: 526–32. DOI: 10.1182/blood-2004-03-1106
19. Moroni G., Del Papa N., Mazzeo Moronetti L., Vitali C., Maglione W., Comina D.P. et al. Increased levels of circulating endothelial cells in chronic periaortitis as a marker of active disease. *Kidney Int.* 2005; 68: 562–8. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00434.x
20. Eizawa T., Ikeda U., Murakami Y., Matsui K., Yoshioka T., Suzuki Ch. et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells after aortic aneurysm repair. *Heart Vessels*. 2004; 19: 107–10. DOI: 10.1007/s00380-003-0751-7
21. Абакушина Е.В., Кузьмина Г., Коваленко И. Основные свойства и функции НК-клеток человека. *Иммунология*. 2012; 4: 220–4. [Abakushina E.V., Kuz'mina G., Kovalenko I. The main features and functions of human NK-cells. *Immunologiya (Immunology)*. 2012; 4: 220–4 (in Russ.).]
22. Schleinitz N., Vély F., Harlé J.R., Vivier E. Natural killer cells in human autoimmune diseases. *Immunology*. 2010; 131 (4): 451–8. DOI: 10.1111/J.1365-2567.2010.03360.X

Поступила 21.05.2018

Принята к печати 31.05.2018