

УДК [611.018.74:616.155.32]:616.1

## ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ CD4+CD28NULL Т-ЛИМФОЦИТОВ И ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ОЦЕНКЕ РИСКА РАЗВИТИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

© 2013 г. А. С. Яковлева, О. А. Миролюбова,  
\*Ю. В. Вахрушева

Северный государственный медицинский университет,  
\*Первая городская клиническая больница им. Е. Е. Волосевич,  
г. Архангельск

Несмотря на активную профилактику, ишемическая болезнь сердца (ИБС) прочно занимает свое место в ряду основных причин смертности и снижения качества жизни европейского населения [10]. Все существующие способы стратификации риска развития сердечно-сосудистых заболеваний имеют свои недостатки [12], и, вероятно, пройдет еще немало времени до создания оптимального. В исследованиях последних лет ведется поиск потенциальных факторов риска (ФР) развития ИБС, и в частности инфаркта миокарда (ИМ) [11, 15], освещаются новые грани этиопатогенеза.

Так, в настоящее время выделяют три варианта острого коронарного синдрома: 1 — при окклюзирующем коронарном атеросклерозе, 2 — при сочетании атеросклероза коронарных артерий и активного системного воспаления, 3 — при отсутствии выраженного коронарного атеросклероза и наличии эндотелиальной дисфункции [7]. Последний вариант обусловлен значимой дисфункцией эндотелия и его повреждением. В качестве маркеров эндотелиальной дисфункции могут выступать стандартные лабораторные показатели, такие как высокочувствительный С-реактивный белок (вчСРБ) и креатинин. Кроме того, существуют более сложные и вместе с тем более чувствительные маркеры, например иммунологические. Иммунные механизмы задействованы как в поддержании эндотелиальной дисфункции [3], так и в ключевом для острого коронарного синдрома процессе дестабилизации атеросклеротической бляшки [11, 12]. Изучение иммунологического аспекта атеросклероза не только не утрачивает актуальности, но и позволяет надеяться на разработку вакцин [7, 8, 22].

Особое внимание уделяется CD4+ Т-клеткам [2, 18, 14, 21], имеющим дефект поверхностного рецептора CD28 (цитотоксические CD4+CD28null лимфоциты), что обуславливает «ускользание» от апоптоза и избыточную пролиферацию этих клеток [17]. Не безосновательны опасения специалистов в отношении роли CD4+CD28null Т-клеток в развитии субклинических форм атеросклероза [4]. В литературных источниках представлены данные о повышенных уровнях указанных клеток в периферической крови у больных ИБС, особенно ее острыми формами, по сравнению со здоровыми лицами [5, 13, 20]. Субпопуляции CD4+CD28null лимфоцитов были обнаружены при гистологическом исследовании нестабильных бляшек [18]. Результаты отдельных работ свидетельствуют о возможности влияния на эндотелиальную дисфункцию статинами с оценкой его эффективности по уровням CD4+CD28null Т-клеток [17]. Эндотелиальная дисфункция привлекательна для исследователей именно возможностью поиска новых способов ее коррекции [1].

Хорошо известно и о роли циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в развитии сердечно-сосудистых событий [6]. Существуют не-

В группе практически здоровых медицинских работников был оценен профиль риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и определены уровни маркера системного воспаления высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ). Методом проточной цитометрии измерены уровни CD4+CD28null Т-клеток и циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК). Среди факторов риска лидировали избыточная масса тела (54,8 % обследованных) и дислипидемия (38,7 %). Уровень артериального давления коррелировал с индексом массы тела (ИМТ) и вчСРБ. Уровень CD4+CD28null Т-клеток был выше у лиц с концентрацией холестерина липопротеидов низкой плотности больше  $Me\ 3,29\ \text{ммоль/л}$ : ( $2,48 \pm 1,64$ ) против ( $5,13 \pm 3,78$ ) % ( $p = 0,020$ ). Содержание ЦЭК варьировало от 0 до 5 760 в 1 мл, ИМТ был выше в случае определяемых ЦЭК: ( $26,9 \pm 0,5$ ) против ( $24,5 \pm 0,8$ )  $\text{кг/м}^2$  ( $p = 0,048$ ). Избыточная масса тела и дислипидемия ассоциированы с маркерами эндотелиальной дисфункции CD4+CD28null Т-клетками и ЦЭК, что позволяет рассматривать использование последних при первичной профилактике ишемической болезни сердца.

**Ключевые слова:** CD4+CD28null Т-клетки, ЦЭК, факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, дисфункция эндотелия

сколько поверхностных рецепторов (CD146, CD31+, CD34+ и пр.), которые позволяют подсчитать количество этих клеток в единице объема крови различными способами (иммуномагнитная изоляция, проточная цитометрия). ЦЭК в крови здоровых людей в норме могут не определяться, однако их повышенные уровни также являются маркером эндотелиальной дисфункции или повреждения [9, 19].

Результаты исследований, посвященных изучению субпопуляций CD4+CD28null T-клеток и ЦЭК при ИБС, продемонстрировали их повышенные уровни у пациентов и обозначили возможные концентрации у здоровых лиц [2, 5, 18]. Однако ограниченное количество работ посвящено ассоциациям уровней иммуноцитов с традиционными факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний в популяции здоровых людей [16]. В доступной литературе нет сведений о возможностях использования уровней CD4+CD28null T-клеток, ЦЭК и их комбинации при стратификации сердечно-сосудистого риска. Поэтому авторы статьи поставили перед собой цель оценить возможность использования уровней ЦЭК (CD146) и цитотоксических CD4+CD28null T-клеток наряду с классическими факторами для стратификации риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у здоровых лиц.

#### Методы

Объектом исследования стала группа практически здоровых людей ( $n = 31$ , 14 мужчин и 17 женщин), представленная преимущественно медицинскими работниками, средний возраст которых составил ( $43,9 \pm 8,5$ ) года.

Исследование являлось аналитическим, одномоментным. Набор группы здоровых людей в возрасте от 30 до 60 лет проводился из числа медицинских работников, давших согласие на участие в исследовании по оценке ФР сердечно-сосудистых заболеваний с определением кроме традиционных ФР новых биомаркеров, в ноябре — декабре 2012 года. Критерии исключения: наличие ИБС и сахарного диабета (СД), очень высокий риск развития сердечно-сосудистых заболеваний (по шкале SCORE) [15], наличие значимой соматической патологии, отказ от участия в исследовании.

Здоровые лица приглашались для однократного визита, в ходе которого проводились:

1) опрос о состоянии здоровья: наличие отягощенной наследственности (наличие заболеваний у родственников 1–2 линии моложе 60 лет), хронических заболеваний, включая артериальную гипертензию (АГ), курение, хронического психосоциального стресса (по шкале Холмса и Раэ) и гиподинамии;

2) физикальное исследование: измерение роста (м) и веса (кг) с расчетом индекса массы тела (ИМТ) по формуле Кетле и оценкой степени ожирения, окружности талии (см) и бедер (см) с расчетом индекса талия/бедро, артериального давления (АД), частоты сердечных сокращений (ЧСС);

3) забор крови натощак путем пункции кубитальной вены.

Рутинное лабораторное исследование выполнялось в лаборатории ГБУЗ Архангельской области «Первая городская клиническая больница им. Е. Е. Волосевич».

Цельная кровь подвергалась общему анализу на гематологическом анализаторе SP-1000i фирмы F. Hoffman-La Roche Ltd. (Швейцария) с расчетом абсолютного и относительного числа лимфоцитов.

Биохимический анализ сыворотки крови выполнялся по стандартной методике на аппарате «Cobas Integra 400» фирмы F. Hoffman-La Roche Ltd. (Швейцария): определялись уровни креатинина с расчетом скорости клубочковой фильтрации по формуле MDRD, глюкозы, вчСРБ, липидов: общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), ХС липопротеидов высокой плотности (ХСЛПВП), ХС липопротеидов низкой плотности (ХСЛПНП).

Проточная цитометрия выполнялась на базе иммунологической лаборатории Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России (СГМУ).

Для проточной цитометрии (проточный цитометр Beckman Coulter 2000) использовалась цельная кровь и наборы коммерческих конъюгированных антител фирмы Beckman Coulter Inc. (Франция): CD45-FITC и CD14-PE — для исключения неспецифического связывания, CD4-PE и CD28-FITC — для измерения количества CD4+CD28null T-клеток, CD3-FITC и CD146-PE — для измерения количества ЦЭК.

Математическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы биомедицинской статистики SPSS 19.0 for Windows. Для проверки вариационных рядов на нормальность распределения применялся тест Шапиро — Уилка. Данные представлены как  $M \pm SD$  в случае нормального распределения и как  $Me (Q25; Q75)$  при иных распределениях. Статистическая значимость различий определяли по парному t-критерию Стьюдента и критерию Манна — Уитни для двух независимых выборок. Для определения предикторов применен метод линейной регрессии. Статистическая значимость присваивалась при значении  $p < 0,05$ . Проводился корреляционный анализ с определением коэффициента ранговой корреляции Спирмена ( $\rho_S$ ).

Проведение настоящего исследования одобрено на заседании комитета по этике при СГМУ (Протокол № 01/1–12 от 19.12.2012 г.).

#### Результаты

Среди классических ФР развития сердечно-сосудистых заболеваний в группе исследуемых практически здоровых лиц первое место занял абдоминальный вариант избыточной массы тела/ожирения (17 случаев, 54,8 %), за которыми следовали хронический психосоциальный стресс, гиподинамия, отягощенная по ИБС наследственность, атерогенная дислипидемия (рис. 1).



Рис. 1. Профиль риска развития сердечно-сосудистых заболеваний в группе здоровых обследованных (n = 31)

Помимо отягощенной наследственности по ИБС были зафиксированы случаи неблагоприятного семейного анамнеза по АГ (14 случаев, 45,2 %), а также по СД 2 типа (4 случая, 12,9 %).

При использовании классических способов стратификации риск развития сердечно-сосудистых событий был низким в подавляющем большинстве случаев и варьировал по шкале SCORE от 0,10 до 4,41 % (Ме 0,38 (0,10; 0,62) %), по шкале Framingham – от 1 до 16 % (Ме 1 (1; 3) %).

Общая характеристика исследуемой группы представлена в табл. 1.

Таблица 1  
Общая характеристика группы здоровых обследованных (n = 31)

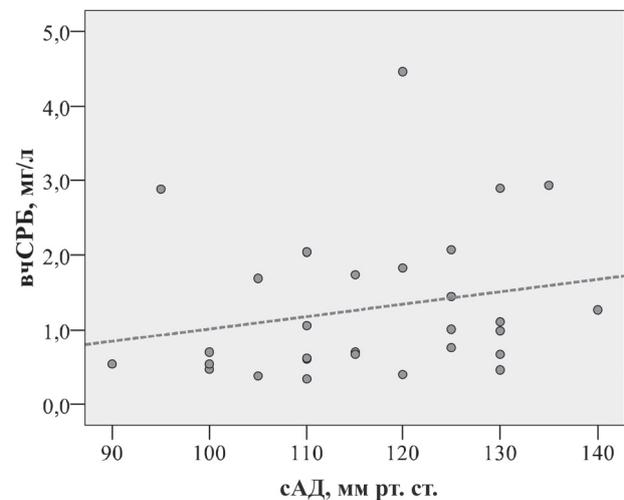
Показатель	Все обследованные
Возраст, лет	43,9±8,5
Масса тела, кг	76,5±20,7
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	25,4±3,3
Окружность талии, см	84,7±10,8
Индекс талия/бедро	0,84±0,08
Систолическое АД, мм рт. ст.	117,3±13,2
ЧСС, ударов в минуту	72,6±7,2
Стаж курения, пачка-лет	10,6±5,6
Глюкоза, ммоль/л	5,02±0,41
Креатинин, мкмоль/л	66,21±14,37
СКФ, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	108,02±21,51
вЧСРБ, мг/л	1,29±0,99

Примечание. СКФ – скорость клубочковой фильтрации.

Уровень вЧСРБ, превышающий 2,0 мг/л, выявлен у 7 человек (23,0 %).

Уровень сАД имел положительную корреляционную связь с ИМТ ( $\rho_S = 0,465$ ;  $p = 0,008$ ), сывороточной концентрацией вЧСРБ (рис. 2), а также креатинина ( $\rho_S = 0,476$ ;  $p = 0,007$ ). Уровень креатинина, в свою очередь, был ассоциирован с массой тела обследуемых ( $\rho_S = 0,580$ ;  $p = 0,001$ ) и индексом талия/бедро ( $\rho_S = 0,514$ ;  $p = 0,003$ ). При этом независимым предиктором концентрации креатинина сыворотки

крови оказалась масса тела здоровых лиц:  $F(1,29) = 5,439$ ,  $p = 0,027$ , константа  $p < 0,001$ ,  $R^2 = 0,159$ ,  $R^2 \text{ adjusted} = 0,128$ .



$\rho_{sp} = 0,375$ ,  $p = 0,031$

Рис. 2. Корреляционная зависимость уровней сАД и вЧСРБ в группе здоровых обследованных (n = 31)

Анализ липидного спектра венозной крови продемонстрировал следующие признаки атерогенной дислипидемии (выявленной в 38,7 % случаев): повышенная концентрация ТГ (> 1,7 ммоль/л) – у 13 человек (41,9 %), низкий уровень ХСЛПВП (< 1,0 ммоль/л) – у 6 человек (19,4 %). Средние показатели липидограмм представлены в табл. 2.

Таблица 2  
Уровни липидов в группе здоровых обследованных (n = 31)

Показатель	Все обследованные
ОХС, ммоль/л	5,54±0,98
ТГ, ммоль/л	1,59±0,95
ХСЛПВП, ммоль/л	1,48±0,52
ХСЛПНП, ммоль/л	3,38±0,98

При использовании классической шкалы SCORE абсолютное большинство – 25 человек (80,6 %) – оказалось в группе низкого риска развития сердечно-сосудистых событий (риск их развития в ближайшие 10 лет составляет менее 1 %), причем в 11 случаях (44,0 %) уровень ХСЛПНП превышал рекомендуемый целевой (3,5 ммоль/л). Шесть человек (19,4 %) попали в группу промежуточного риска (1–5 %), а в 5 случаях (83,3 %) уровень ХСЛПНП превышал целевое значение 3,0 ммоль/л.

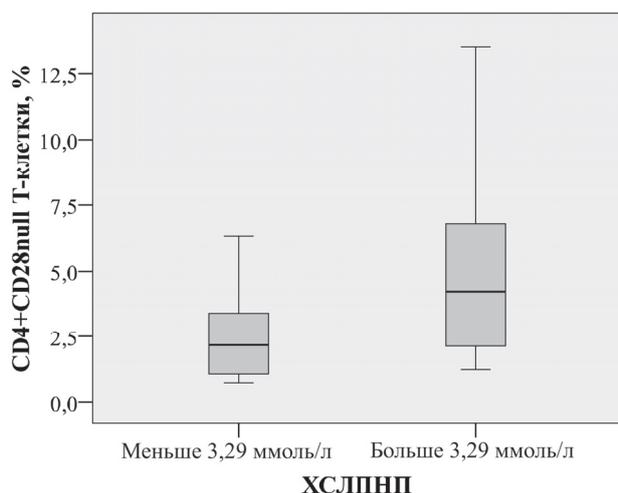
Абсолютное содержание лимфоцитов составило  $(2,29 \pm 0,63) \times 10^9/\text{л}$ , относительное –  $(36,9 \pm 6,6) \%$ . Выявлено значимое увеличение уровня лимфоцитов у лиц с отягощенной по ИБС наследственностью:  $(2,53 \pm 0,74) \times 10^9/\text{л}$  против  $(2,08 \pm 0,44) \times 10^9/\text{л}$  у лиц без отягощенной наследственности, Манна – Уитни  $U = 63,000$ ,  $z = -2,045$ ,  $p = 0,043$ .

Найдена корреляция между уровнями ТГ и абсолютным числом лимфоцитов ( $\rho_{sp} = 0,512, p = 0,004$ ).

Уровни CD4+CD28null Т-клеток и ЦЭК значимо не отличались в подгруппах обследуемых мужчин и женщин и не имели корреляционной зависимости между собой.

Абсолютное содержание CD4+CD28null Т-клеток составило  $Me\ 0,071\ (0,037; 0,104) \times 10^9/л$ , относительное –  $(3,89 \pm 2,78) \%$ , причем их относительное число имело положительную связь с уровнем систолического АД (сАД) ( $\rho_S = 0,446, p = 0,013$ ).

Обнаружена зависимость уровня цитотоксических лимфоцитов от концентрации ХСЛПНП. Так, у обследованных лиц с уровнем данной липидной фракции, превышающим значение  $Me$  в группе ( $3,29\ ммоль/л$ ), как абсолютное (рис. 3), так и относительное число CD4+CD28null Т-клеток было значимо более высоким, чем у лиц с уровнем ХСЛПНП менее  $3,29\ ммоль/л$ :  $(0,11 \pm 0,08) \times 10^9/л$  против  $(0,06 \pm 0,04) \times 10^9/л$ ,  $t(25) = 2,26, p = 0,031$  (two-tailed).

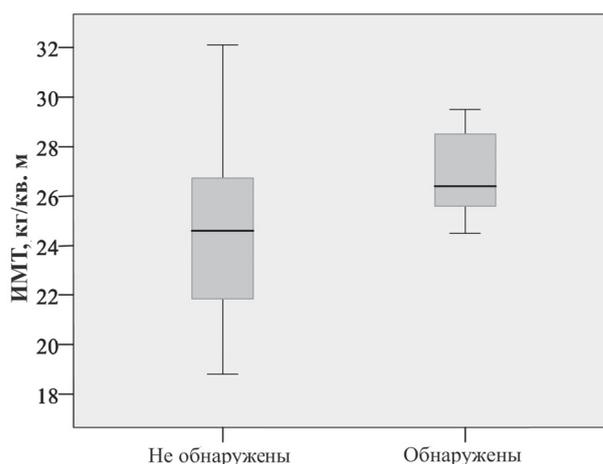


( $2,48 \pm 1,64$ ) % против ( $5,13 \pm 3,78$ ) %,  $t(28) = 2,47, p = 0,020$  (two-tailed)

Рис. 3. Относительное содержание CD4+CD28null Т-клеток в группе здоровых обследованных с различным уровнем ХСЛПНП ( $n = 31$ )

Содержание ЦЭК у здоровых лиц варьировало: абсолютное от 0 до 5 760 в 1 мл, относительное от 0 до 0,03 %. В большинстве случаев (в образцах крови 20 человек – 64,5 %) ЦЭК не были обнаружены, у 11 человек (35,5 %) их абсолютное содержание составило от 1 173 до 5 760 клеток в 1 мл ( $Me\ 2\ 295\ (1357; 3900)/мл$ , относительное – от 0,05 до 0,30 % ( $Me\ 0,104\ (0,059; 0,244) \%$ ).

Индекс массы тела был выше в случае определяемых ЦЭК в сравнении с таковым показателем обследованных, в образцах крови которых эти клетки не были обнаружены (рис. 4). Подобная динамика характеризовала и сывороточные уровни глюкозы:  $(5,40 \pm 0,14)$  ммоль/л в случае определяемых ЦЭК против  $(4,85 \pm 0,37)$  ммоль/л у остальных (Манна – Уитни  $U = 4,000, z = -2,160, p = 0,034$ ).



Циркулирующие эндотелиальные клетки  
U-тест Манна – Уитни:  $(24,5 \pm 0,8)$  кг/м<sup>2</sup> против  $(26,9 \pm 0,5)$  кг/м<sup>2</sup>,  $U = 61500, z = -2,346, p = 0,048$

Рис. 4. Различия индекса массы тела в группе здоровых обследованных при наличии ( $n = 11$ )/отсутствии ( $n = 20$ ) определяемых ЦЭК в периферической крови

С учетом того, что ранее нами была представлена корреляция концентраций креатинина и вЧСРБ, интересной представляется и обнаруженная прямая взаимосвязь уровней СКФ и ЦЭК ( $\rho_S = 0,389; p = 0,030$ ).

### Обсуждение результатов

При обследовании группы здоровых лиц, не имеющих ИБС, был оценен совокупный риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, определены уровни стандартных маркеров системного воспаления и функции почек. Путем использования метода проточной цитометрии, мало доступной в повседневной клинической практике, измерены уровни цитотоксических CD4+CD28null Т-клеток и ЦЭК, которые считаются показателями эндотелиальной дисфункции/повреждения и «участниками» атерогенеза [2, 16]. Продемонстрирован существенный вклад классических факторов в профиль риска здоровых лиц, а также ассоциации последних с уровнями иммуноцитов, что дает возможность обсуждать роль CD4+CD28null Т-клеток и ЦЭК в развитии доклинических форм ИБС. Результаты исследования позволяют предполагать использование данных маркеров для оптимизации первичной профилактики в группах низкого – среднего риска развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Новизна проведенного исследования заключается в том, что впервые были получены сведения об уровнях CD4+CD28null Т-клеток и ЦЭК в группе здоровых лиц из числа медицинских работников Архангельска, не страдающих ИБС и СД, а также обнаружены новые и важные для профилактической медицины факты о связях этих клеток с классическими факторами риска.

В группе здоровых лиц без высокого и очень высокого риска развития сердечно-сосудистых заболеваний по шкале SCORE ( $Me\ 0,38\ (0,10; 0,62) \%$ ) самым значимым был модифицируемый ФР

— абдоминальный вариант избыточной массы тела/ожирения (54,8 %), являющийся ключевым компонентом метаболического синдрома. На втором месте оказался немодифицируемый фактор — отягощенная наследственность по ИБС (45,2 %).

Уровень вчСРБ оказался повышенным у каждого пятого человека (23 %) и был ассоциирован с сАД, что демонстрирует распространенность системного воспаления и его взаимосвязи с компонентами метаболического синдрома. Обнаружена корреляция уровней вчСРБ и креатинина — маркеров эндотелиальной дисфункции. Еще одной неблагоприятной тенденцией можно назвать и часто встречающуюся атерогенную дислипидемию, которая была выявлена у каждого второго — третьего человека из исследуемой группы (38,7 %), что не может быть объяснено лишь особенностями питания северного населения в зимний период времени. Важно отметить, что почти у половины обследованных лиц, попавших в группу низкого риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (по SCORE), концентрация ХСЛПНП превышала целевую, в группе промежуточного риска эта частота достигала 83,3 %.

Показано, что уровни лимфоцитов выше у здоровых лиц, имеющих семейный анамнез ИБС, а значит, вероятно, имеет место генетическая предрасположенность к активации лимфоцитарного звена.

Определенные в ходе исследования относительные уровни цитотоксических CD4+CD28null T-клеток в крови здоровых жителей г. Архангельска (3,89 ± 2,78) % были несколько более высокими, чем представленные в доступной литературе (1,30 ± 0,84) % [18], что, несомненно, свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения данной проблемы в нашем регионе. Абсолютное содержание ЦЭК (от 0 до 5 760 клеток в 1 мл) примерно соответствовало литературным данным (от 0 до 7 900 клеток в мл) [9]. Однако следует отметить, что в указанных публикациях отсутствуют данные о том, какой уровень риска развития сердечно-сосудистых заболеваний имел место у лиц контрольной группы.

Нами выявлены четкие взаимосвязи уровней CD4+CD28null T-клеток и ЦЭК со значимыми для жителей Архангельской области ФР: ожирением или избыточной массой тела (по ИМТ), концентрацией глюкозы и атерогенной дислипидемией (по уровню ХСЛПНП). Все перечисленные показатели укладываются в определение метаболического синдрома, а результаты работы в целом в очередной раз подчеркивают значимость метаболического синдрома для современного человека, сложность и недостаточную изученность его патогенеза.

Для получения более полной клинической и этиопатогенетической картины в условиях Европейского Севера России авторы считают целесообразным продолжить исследование. В частности, в периоде длительного наблюдения (в течение нескольких месяцев — лет) планируется приглашать здоровых граждан для повторных визитов с целью обследования, оценки риска в динамике и отслеживания дебютов

ИБС. Кроме того, необходимо изучить выбранные маркеры в группах, представленных пациентами с различными вариантами ИБС.

Техническое выполнение работы ограничено высокой стоимостью коммерческих наборов антител для определения клеточных субпопуляций и низкой доступностью методики проточной цитометрии в повседневной клинической практике.

Результаты выполненной работы дают основание полагать, что определение субпопуляций CD4+CD28null T-лимфоцитов и ЦЭК может быть полезным для оптимизации стратификации риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у лиц без клинических признаков ИБС, а также для раннего выявления доклинических форм заболевания на стадии эндотелиальной дисфункции.

Авторы статьи выражают благодарность зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней СГМУ кандидату медицинских наук И. А. Хлопиной за помощь в выполнении проточной цитометрии на базе иммунологической лаборатории ЦНИЛ СГМУ.

#### Список литературы

1. Акимцева Е. А., Котовщикова Е. Ф. Маркеры эндотелиальной дисфункции как предикторы развития ретромбозов коронарных стентов // *Фундаментальные исследования*. 2012. № 8 (часть 2). С. 271–273.
2. Миролюбова О. А., Добродеева Л. К., Яковлева А. С. Иммунологические и метаболические параллели у жителей Архангельска, страдающих ишемической болезнью сердца // *Экология человека*. 2011. № 2. С. 53–60.
3. Петина М. М., Гороховская Г. Н., Мартынов А. И. Эндотелиальная дисфункция у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа // *Российский кардиологический журнал*. 2011. № 2. С. 32–36.
4. CD4+CD28null T lymphocytes and risk of atherosclerosis in rheumatoid arthritis / Bukhary F. E., Helmy A. K., Kamal A. M., Mahmoud A. H., Violet A. K. // *El-Minia Medical Bulletin*. 2010. Vol. 21, N 1. P. 37–54.
5. CD41CD28null T cells in coronary artery disease: when helpers become killers / Dumitriu I. E., Araguars E. T., Baboonian C., Kaski J. C. // *Cardiovascular Research Journal*. 2009. N 81. P. 11–19.
6. Characterization of circulating endothelial cells in acute myocardial infarction / Damani S., Bacconi A., Libiger O., Chourasia A. H., Serry R., Gollapudi R., Goldberg R., Rapeport K., Haaser S., Topol S., Knowlton S., Bethel K., Kuhn P., Wood M., Carragher B., Schork N. J., Jiang J., Rao C., Connelly M., Fowler V. M., Topol E. J. // *Science Translational Medicine*. 2012. Vol. 126, N 4. P. 33–40.
7. Crea F., Liuzzo G. Pathogenesis of acute coronary syndromes // *Journal of the American College of Cardiology*. 2013. Vol. 61, N 1. P. 1–11.
8. Dziekiewicz M., Kozłowski W., Maruszynski M. Immunology and atherosclerosis: the possible mechanisms // *International Review of Allergology and Clinical Immunology*. 2008. Vol. 14, N 3. P. 4–11.
9. Erdbruegger U., Haubitz M., Woywodt A. Circulating endothelial cells: A novel marker of endothelial damage // *Clinica Chimica Acta*. 2006. N 373. P. 17–26.
10. Evidence for obesity paradox in patients with acute coronary syndromes: a report from the Swedish Coronary Angiography and Angioplasty Registry / Angera O., Albertsson P., Karason K., Ramunddal T., Matejka G., James S.,

Lagerqvist B., Rosengren A., Omerovic E. // *European Heart Journal*. 2013. N 34. P. 345–353.

11. Factors involved in sudden coagulation observed in patients with acute myocardial infarction / Pinelli A., Trivulzio S., Rossoni G., Redaelli R., Brenna S. // *In Vivo*. 2012. Vol. 26, N 6. P. 1021–1025.

12. Hansson G. K., Hermansson A. The immune system in atherosclerosis // *Nature Immunology*. 2011. N 12. P. 204–212.

13. High levels of costimulatory receptors OX40 and 4-1BB characterize CD4+CD28null T cells in patients with acute coronary syndrome / Dumitriu I. E., Baruah P., Finlayson C. J., Loftus I. M., Antunes R. F., Lim P., Bunce N., Kaski J. C. // *Circulation Research Publication*. 2012. Vol. 110, N 6. P. 857–869.

14. Lutgens E., Binder C. J. Immunology of atherosclerosis // *Thrombosis and haemostasis*. 2011. N 106. P. 755–756.

15. Perk J. The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts) // *European Heart Journal*. 2012. N 33. P. 1635–1700.

16. Relationship between circulating endothelial cells and the predicted risk of cardiovascular events in acute coronary syndromes / Boos C. J., Soor S. K., Kang D., Lip G. Y. // *European Heart Journal*. 2007. Vol. 28, N 9. P. 1092–1101.

17. Rosuvastatin induces apoptosis in CD4+CD28null T cells in patients with acute coronary syndromes / Link A., Selejan S., Hewera L., Walter F., Nickenig G., Böhm M. // *Clinical Research in Cardiology*. 2011. Vol. 100. Issue 2. P. 147–158.

18. Sun W., Zheng L., Huang L. Role of unusual CD4+CD28- T cells in acute coronary syndrome // *Journal of Geriatric Cardiology*. 2012. Vol. 7, N 1. P. 3337–3342.

19. The relationship of circulating endothelial cells to plasma indices of endothelial damage/dysfunction and apoptosis in acute coronary syndromes: implications for prognosis / Boos C. J., Balakrishnan B., Blann A. D., Lip G. Y. // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2008. Vol. 11, N 6. P. 1841–1850.

20. Unusual CD4+CD28null T lymphocytes and recurrence of acute coronary events / Liuzzo G., Biasucci L. M., Trotta G., Brugaletta S., Pinnelli M., Digianuario G., Rizzello V., Rebuzzi A. G., Rumi C., Maseri A., Crea F. // *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. Vol. 50, N 15. P. 1450–1458.

21. Upregulated voltage-gated potassium channel Kv1.3 on CD4+CD28null T lymphocytes from patients with acute coronary syndrome / Huang S., Zhang C., Tang R., Tang J., Cai L., Zhang Z., Zhou M. // *Journal of Geriatric Cardiology*. 2010. Vol. 7, N 1. P. 40–46.

22. Yadav A. K., Lal A., Jha V. Cytotoxic CD4CD28(null) T Lymphocytes, Systemic Inflammation and Atherosclerotic Risk in Patients with Chronic Kidney Disease // *Nephron Clinical Practice*. 2012. Vol. 120, N 4. P. 185–193.

References

1. Akimtseva E. A., Kotovshchikova E. F. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental Studies]. 2012, no. 8 (pt. 2), pp. 271-273. [in Russian]

2. Miroyubova O. A., Dobrodeeva L. K., Yakovleva A. S. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. 2011, no. 2, pp. 53-60. [in Russian]

3. Petina M. M., Gorokhovskaya G. N., Martynov A. I.

*Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal* [Russian Cardiology Journal]. 2011, no. 2, pp. 32-36. [in Russian]

4. CD4+CD28null T lymphocytes and risk of atherosclerosis in rheumatoid arthritis. Bukhary F. E., Helmy A. K., Kamal A. M., Mahmoud A. H., Violet A. K. *El-Minia Medical Bulletin*. 2010, vol. 21, no. 1, pp. 37-54.

5. CD41CD28null T cells in coronary artery disease: when helpers become killers. Dumitriu I. E., Araguars E. T., Baboonian C., Kaski J. C. *Cardiovascular Research Journal*. 2009, no. 81, pp. 11-19.

6. Characterization of circulating endothelial cells in acute myocardial infarction. Damani S., Bacconi A., Libiger O., Chourasia A. H., Serry R., Gollapudi R., Goldberg R., Rapeport K., Haaser S., Topol S., Knowlton S., Bethel K., Kuhn P., Wood M., Carragher B., Schork N. J., Jiang J., Rao C., Connelly M., Fowler V. M., Topol E. J. *Science Translational Medicine*. 2012, vol. 126, no. 4, pp. 33-40.

7. Crea F., Liuzzo G. Pathogenesis of acute coronary syndromes. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013, vol. 61, no. 1, pp. 1-11.

8. Dziekiewicz M., Kozlowski W., Maruszynski M. Immunology and atherosclerosis: the possible mechanisms. *International Review of Allergology and Clinical Immunology*. 2008, vol. 14, no. 3, pp. 4-11.

9. Erdbruegger U., Haubitz M., Woywodt A. Circulating endothelial cells: A novel marker of endothelial damage. *Clinica Chimica Acta*. 2006, no. 373, pp. 17-26.

10. Evidence for obesity paradox in patients with acute coronary syndromes: a report from the Swedish Coronary Angiography and Angioplasty Registry. Angera O., Albertsson P., Karason K., Ramunddal T., Matejka G., James S., Lagerqvist B., Rosengren A., Omerovic E. *European Heart Journal*. 2013, no. 34, pp. 345-353.

11. Factors involved in sudden coagulation observed in patients with acute myocardial infarction. Pinelli A., Trivulzio S., Rossoni G., Redaelli R., Brenna S. *In Vivo*. 2012, vol. 26, no. 6, pp. 1021-1025.

12. Hansson G. K., Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nature Immunology*. 2011, no. 12, pp. 204-212.

13. High levels of costimulatory receptors OX40 and 4-1BB characterize CD4+CD28null T cells in patients with acute coronary syndrome. Dumitriu I. E., Baruah P., Finlayson C. J., Loftus I. M., Antunes R. F., Lim P., Bunce N., Kaski J. C. *Circulation Research Publication*. 2012, vol. 110, no. 6, pp. 857-869.

14. Lutgens E., Binder C. J. Immunology of atherosclerosis. *Thrombosis and haemostasis*. 2011, no. 106, pp. 755-756.

15. Perk J. The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *European Heart Journal*. 2012, no. 33, pp. 1635-1700.

16. Relationship between circulating endothelial cells and the predicted risk of cardiovascular events in acute coronary syndromes. Boos C. J., Soor S. K., Kang D., Lip G. Y. *European Heart Journal*. 2007, vol. 28, no. 9, pp. 1092-1101.

17. Rosuvastatin induces apoptosis in CD4+CD28null T cells in patients with acute coronary syndromes. Link A., Selejan S., Hewera L., Walter F., Nickenig G., Böhm M. *Clinical Research in Cardiology*. 2011, vol. 100, issue 2, pp. 147-158.

18. Sun W., Zheng L., Huang L. Role of unusual CD4+CD28- T cells in acute coronary syndrome. *Journal of Geriatric Cardiology*. 2012, vol. 7, no. 1, pp. 3337-3342.

19. The relationship of circulating endothelial cells to

plasma indices of endothelial damage/dysfunction and apoptosis in acute coronary syndromes: implications for prognosis. Boos C. J., Balakrishnan B., Blann A. D., Lip G. Y. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2008, vol. 11, no. 6, pp. 1841-1850.

20. Unusual CD4+CD28null T lymphocytes and recurrence of acute coronary events. Liuzzo G., Biasucci L. M., Trotta G., Brugaletta S., Pinnelli M., Digianuario G., Rizzello V., Rebuzzi A. G., Rumi C., Maseri A., Crea F. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007, vol. 50, no. 15, pp. 1450-1458.

21. Upregulated voltage-gated potassium channel Kv1.3 on CD4+CD28null T lymphocytes from patients with acute coronary syndrome. Huang S., Zhang C., Tang R., Tang J., Cai L., Zhang Z., Zhou M. *Journal of Geriatric Cardiology*. 2010, vol. 7, no. 1, pp. 40-46.

22. Yadav A. K., Lal A., Jha V. Cytotoxic CD4CD28(null) T Lymphocytes, Systemic Inflammation and Atherosclerotic Risk in Patients with Chronic Kidney Disease. *Nephron Clinical Practice*. 2012, vol. 120, no. 4, pp. 185-193.

#### POTENTIAL ROLE OF CYTOTOXIC CD4+CD28null T LYMPHOCYTES AND CIRCULATING ENDOTHELIAL CELLS IN CARDIOVASCULAR RISK ASSESSMENT

A. S. Iakovleva, O. A. Mirolyubova, \*Yu. V. Vahrusheva

Northern State Medical University,  
\*Arkhangelsk City Hospital N 1 named after  
E. E. Volosevich, Arkhangelsk, Russia

*Aim.* To analyze usability of circulating endothelial cells' (CECs) and CD4+CD28null T cells' blood levels along with

classic factors for cardiovascular risk stratification in healthy individuals. *Methods.* 31 healthy adults aged 43.9±8.5 yrs. without the coronary artery disease (CAD) were scrutinized in order to assess a cardiovascular risk profile and measure the levels of systemic inflammation marker high sensitive C-reactive protein (hsCRP). Using flow cytometry, we measured CECs and CD4+CD28null T cells' concentrations. *Results.* Excessive body mass/obesity occupied the 1<sup>st</sup> place (54.8 %) among all the risk factors. 38.7 % of the individuals suffered from dyslipidemia. BP level correlated both with BMI ( $p$  sp. = 0.465;  $p$  = 0.008) and hsCRP concentration ( $p$  sp. = 0.375,  $p$  = 0.031). The level of CD4+CD28null T cells was higher in the persons with LDL-cholesterol concentration that exceeded Me (3.29 mmol/l):  $2.48 \pm 1.64$  vs.  $5.13 \pm 3.78$  % ( $p$  = 0.020). The frequency of CECs varied from 0 to 5 760 cells in 1 ml, BMI being higher in adults with CECs detection:  $26.9 \pm 0.5$  vs.  $24.5 \pm 0.8$  kg/m<sup>2</sup> ( $p$  = 0,048). *Conclusions.* Excessive body mass/obesity and dyslipidemia are associated with endothelial dysfunction markers CD4+CD28null T cells и CECs allowing to discuss their significance in primary CAD prevention.

**Keywords:** CD4+CD28null T cells, circulating endothelial cells, cardiovascular risk factors, endothelial dysfunction

#### Контактная информация:

Яковлева Анна Сергеевна — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры факультетской терапии ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России

Адрес: 163000, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51  
Тел. (8182) 63-29-81  
E-mail: fox\_anyut@mail.ru