

*На правах рукописи*

**Тарасов Антон Викторович**

**ВЫЯВЛЕНИЕ БАКТЕРИИ *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE*  
В КОРОНАРНЫХ ЭНДОТЕЛИОЦИТАХ  
ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА**

14.03.10 клиническая лабораторная диагностика  
14.01.05 кардиология

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

Санкт-Петербург - 2019

Работа выполнена в ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России

**Научные руководители:**

**Хирманов Владимир Николаевич** – доктор медицинских наук, профессор

**Кравцов Вячеслав Юрьевич** – доктор биологических наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Гильманов Александр Жанович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Панов Алексей Владимирович** – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник НИО ишемической болезни сердца ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:**

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «17» декабря 2019 года в 15 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте <https://nrcerm.ru>

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Атеросклероз и его наиболее частое клиническое проявление – ишемическая болезнь сердца (ИБС), с которыми связана наибольшая часть инвалидностей и смертей (Росстат, 2017; American Heart Association, 2018), остаётся важнейшей проблемой медицинской науки и практического здравоохранения. При этом заболевании в артериях эластического и мышечно-эластического типов формируются атеросклеротические бляшки или атеромы (Ross R., Glomset J.A., 1976). Увеличиваясь, они постепенно сужают просветы сосудов. Опасность представляют и внезапные тромбозы поражённых артерий, приводящие к их закупорке (Stary H.C., et al. 1995).

Представления о патогенезе атеросклероза развиваются с середины XIX века. Согласно теории Рудольфа Вирхова, молекулы плазмы крови инфильтрируют стенки артерий и накапливаются в них в форме атером (Virchow R. L. K., 1858). Благодаря экспериментам Н. Н. Аничкова и С. С. Халатова стало понятным, что инфильтрация связана с холестерином (Pelias M. Z., 1983).

В связи с получением данных Фремингемского эпидемиологического исследования (Kannel W., et al., 1961) появилась концепция роли факторов риска в развитии коронарного атеросклероза и его осложнений. Она надолго стала объяснением не только патогенеза, но и этиологии данного заболевания, более того – легла в основу его профилактики и лечения. Должная терапевтическая коррекция этих факторов (в том числе, гиперхолестеринемии) снижает риск осложнений сердечнососудистых заболеваний лишь на треть (Фох К.М., 2003), то есть значительная часть остаточного риска сохраняется (Yusuf S., et al., 2000; Chen Z. M., et al., 2005; Ridker P. M., et al., 2008; Parish S., et al., 2012). Это не позволяет рассматривать уже известные (традиционные) факторы риска коронарного атеросклероза как его единственно возможные причины и побуждает искать другие.

Использование современных молекулярно-биологических методов в изучении атеросклероза дало основание признать, что атеросклеротическая бляшка является очагом внутрисосудистого воспаления (Ross R., 1999; Bennett M. R., Sinha S., Owens G. K., 2016; Geovanini G. R., Libby P., 2018). О важной роли воспаления в патогенезе атеросклеротических поражений свидетельствуют и результаты фармакотерапевтического исследования CANTOS (Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcome Study).

Противовоспалительное лечение (препаратом канакинумаб) у больных атеросклерозом значительно снизило частоту его осложнений (Baylis R. A., 2017).

Но каковы же причины (этиология) воспаления при атеросклерозе? Повреждать клетки артерий, вызывать локальное воспаление, системную воспалительную реакцию способны не только липопротеины (Libby P., Ridker P.M., Hansson G.K., 2009), но и некоторые бактерии и вирусы, в частности, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Helicobacter pylori*, вирус гриппа А, вирус гепатита С, цитомегаловирус, вирус иммунодефицита человека (Pothineni N., et al., 2017). Среди них участие в процессах инициации, роста и дестабилизации атером наиболее изучено по отношению к бактерии *Chlamydomphila pneumoniae* (Срп). Срп может вызывать атерогенез не только благодаря локальному воспалению в артериях из-за инфицирования их клеток, но и вследствие системных проявлений воспаления, когда очаги инфекции локализуются вне сосудов. Об этом накоплено много данных, обобщённых в ряде крупных научных обзоров (Kalayoglu M.V., Libby P., 2002; Watson C., Alp N. J., 2008; Campbell L. A., Rosenfeld M. E., 2015). Однако в настоящее время клиническая диагностика хламидофильной инфекции у больных ИБС затруднена, что связано, в частности, с отсутствием методологии прижизненного изучения инфицирования хламидофилами клеток коронарных артерий.

#### **Степень научной разработанности темы исследования**

Предпринималась попытка применить баллонную ангиопластику коронарных артерий у больных ИБС в качестве способа внутриартериальной коронарной биопсии. Из-за особенностей преаналитического этапа – способа приготовления препаратов – изучить клетки, адгезировавшие к поверхностям использованных баллонных катетеров, не удалось (Sprecher D. L., et al., 1989). Тем временем было показано, что наличие ДНК бактерии Срп на поверхностях баллонных катетеров ассоциировано с выраженностью коронарного атеросклероза (Wyplosz B., et al., 2006).

В клинической практике у больных ИБС не выполняется не только лабораторная диагностика инфицирования хламидофилами клеток-мишеней в артериях (вторичные очаги хламидофильной инфекции), но и клеток дыхательных путей (входные ворота, первичные очаги инфекции), а также клеток крови (хламидемия).

**Цель исследования** – разработать способ внутриартериальной коронарной биопсии и оценить его диагностическое значение в обнаружении бактерии *Chlamydomphila pneumoniae* в коронарных эндотелиоцитах больных ишемической болезнью сердца.

**Задачи:**

1. Разработать способ внутриартериальной коронарной биопсии для получения в ходе баллонной ангиопластики клеток и неклочечных элементов коронарных артерий, пораженных атеросклерозом.

2. Описать цитоморфологические, иммуноцитохимические свойства клеток и неклочечных элементов, полученных у больных ИБС способом внутриартериальной коронарной биопсии.

3. Оценить инфицирование бактерией *Chlamydomphila pneumoniae* эндотелиоцитов коронарных артерий, пораженных атеросклерозом.

4. Изучить локальные экстракардиальные и системные лабораторные проявления хламидофильной инфекции у больных ИБС и больных из группы сравнения.

5. Сравнить тяжесть поражения коронарного русла атеросклерозом и структуру клинических форм ИБС в зависимости от наличия или отсутствия инфицирования коронарных эндотелиоцитов бактерией *Chlamydomphila pneumoniae*.

**Научная новизна исследования.** Разработан способ получения клеток и неклочечных элементов атеросклеротической бляшки, что подтверждено Патентом РФ №2552314 на изобретение.

Выявлено, что биоптаты, получаемые способом внутриартериальной коронарной биопсии, представлены полигональными безъядерными, ядродержащими клетками (их иммунофенотип CD31+, CD34+, CD105+, PanCk+/-, CD45-, CD68- подтвердил идентичность эндотелиоцитам), апоптотическими тельцами, фрагментами гладкомышечных клеток, соединительнотканнми волокнами, детритом атеросклеротических бляшек.

В пораженных атеросклерозом клетках эндотелия коронарных артерий, полученных прижизненно, обнаружена бактерия *Chlamydomphila pneumoniae*.

Установлено, что при одномоментном обследовании больных ИБС бактерия *Chlamydomphila pneumoniae* была не только в эндотелиоцитах коронарных артерий, но и в эпителиоцитах слизистой

носовых ходов и задней стенки глотки, лейкоцитах крови. Определена концентрация в крови антител к этому возбудителю.

**Теоретическая и практическая значимость исследования.** Расширены возможности применения баллонной ангиопластики. Показано, что её можно использовать в качестве внутриартериальной коронарной биопсии. Охарактеризованы прижизненно получаемые разработанным способом эндотелиоциты и другие неклеточные элементы коронарных артерий, пораженных атеросклерозом. Наличие в биоптатах элементов фиброзных капсул и клеточного детрита атером позволяет судить о разрывах атеросклеротических бляшек.

В эндотелиоцитах, получаемых при внутриартериальной коронарной биопсии, возможно обнаруживать инфекционных возбудителей. В частности, инфицирование эндотелиоцитов бактерией *Chlamydoiphila pneumoniae* коррелирует с количеством лейкоцитов артериальной крови в биоптатах. Показатели клинической лабораторной диагностики острой хламидофильной инфекции (при которой возбудитель может быть локализован не только в артериях, но и дыхательных путях, лейкоцитах крови) коррелируют с лабораторными показателями системного воспалительного ответа. Это обосновывает необходимость дальнейшего изучения инфекционного генеза внутрисосудистого воспаления при атеросклерозе, которое может являться причиной прогрессирования ИБС.

Результаты исследования являются предпосылками к внедрению в клиническую практику диагностики инфицирования хламидофилами у больных ИБС клеток дыхательных путей, крови, а также клеток поражённых атеросклерозом коронарных артерий, и дальнейшему изучению инфекционно-воспалительных процессов при атеросклерозе.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Разработан способ получения при выполнении больным ИБС баллонной катетерной пластики коронарных артерий эндотелиоцитов и неклеточных элементов атеросклеротических бляшек – внутриартериальная коронарная биопсия. Полученные при внутриартериальной коронарной биопсии эндотелиоциты представлены преимущественно полигональными безъядерными, реже – ядродержащими клетками.

2. У значительной части (51%) больных ИБС в биоптатах из участков коронарных артерий, поражённых атеросклерозом и

атеротромбозом, обнаружены инфицированные бактерией *Chlamydomphila pneumoniae* эндотелиоциты, что сопровождается локальным внутрисосудистым воспалением, инфицированием лейкоцитов крови, эпителиоцитов верхних дыхательных путей, а также специфическим гуморальным иммунным ответом на этот возбудитель.

3. Выраженность коронарного атеросклероза, рассчитанная по шкале SYNTAX, частота встречаемости его тромботических осложнений, а также структура клинических форм ИБС существенно не различаются в зависимости от инфицирования коронарных эндотелиоцитов бактерией *Chlamydomphila pneumoniae*. Информативными диагностическими признаками хламидофильной инфекции у больных ИБС являются только результаты лабораторных исследований, а инфицирование коронарного эндотелия подтверждено при помощи внутриаартериальной коронарной биопсии.

**Методология и методы исследований.** Методы исследований (клиническая лабораторная диагностика, инструментальная диагностика, статистическая обработка и анализ полученных данных), применённые в работе, соответствуют современному методическому уровню обследования больных ишемической болезнью сердца. Они не противоречат этическим нормам и одобрены на заседании независимого этического комитета при федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова» Министерства Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий (ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова). Работа выполнена в соответствии с принципами доказательной медицины.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность результатов исследования определена объёмом выборки 104 пациентов. Среди них были больные как острыми, так и хроническими формами ИБС, каротидным атеросклерозом, а также больные без клинических проявлений атеросклероза. В процессе исследования применялись пакеты прикладных программ Statistica 10.

Основные результаты работы апробированы в форме устных, стендовых докладов и при открытых дискуссиях на конференции «Школа молодых учёных и специалистов МЧС России 2013» (Воронеж, 2013), Всероссийском ежегодном конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и

профилактика» (Санкт-Петербург, 2015), IV Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 2016), VII Международном конгрессе «Кардиология на перекрёстке наук» (Нижний Новгород, 2016), Российском национальном конгрессе кардиологов (Екатеринбург, 2016), XXVIII конгрессе Европейского общества патологов (Кёльн, Германия, 2016), Российском национальном конгрессе кардиологов (Москва, 2018).

#### **Внедрение результатов исследования и связь с НИР.**

Результаты исследования внедрены в образовательный процесс кафедры терапии и интегративной медицины института дополнительного профессионального образования «Экстремальная медицина» ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова при подготовке аспирантов, ординаторов и повышении квалификации медицинского персонала МЧС России (2016, 2017, 2018 гг.); лечебно-диагностический процесс отдела сердечнососудистой патологии и смежных лечебно-диагностических подразделений многопрофильной клиники №2 ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова; научно-исследовательскую работу МЧС России, в рамках выполнения ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова государственного задания в ходе научно-исследовательской работы «Разработка мер профилактики гиперкоагуляционных нарушений и цереброваскулярных заболеваний у сотрудников МЧС России со сменным характером труда» (номер государственной регистрации АААА-А18-118013100346-6); научно-исследовательскую и диагностическую работу лаборатории идентификации патогенов Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» (ФБУН СПб НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера) Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

На основании полученных результатов подготовлены и используются в практической деятельности методические рекомендации «Применение внутрисосудистой биопсии для обнаружения бактерии *Chlamydoiphila pneumoniae* в эндотелиоцитах коронарных артерий при атеросклерозе», утвержденные 07.12.2018 г. главным врачом МЧС России.

**Личный вклад автора в исследование.** Автором сформулированы цель и задачи, избрана методология и дизайн научного исследования. Для реализации задач исследования им



разработан способ внутриаартериальной коронарной биопсии (патент РФ № 2552314). Автор лично готовил препараты внутрисосудистых биоптатов, осуществил их окрашивание, участвовал в выполнении иммуноцитохимических исследований. При анализе биоптатов им создана база микрофотографий. Для обнаружения бактерии *Chlamydoiphila pneumoniae* у обследованных больных автором выполнялся забор клинического материала слизистых носовых ходов, глотки, венозной крови и приготавливались препараты-мазки указанного материала.

Диссертант участвовал в лабораторных исследованиях, лично выполнил статистический анализ, обобщил и оценил полученные результаты, подготовил текст диссертации, публикации и научные доклады по теме работы.

**Публикации результатов исследования.** По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе патент Российской Федерации, 5 публикаций в ведущих рецензируемых журналах, определённых Высшей аттестационной комиссией (ВАК) Российской Федерации, 2 публикации в зарубежных журналах, включенных в базу данных SCOPUS.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста. Работа состоит из введения, четырёх глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, который включает 195 библиографических источника (18 отечественных и 177 зарубежных авторов). Диссертация содержит 18 таблиц, 28 рисунков.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Клиническая характеристика обследованных больных.** Обследованы 104 пациента, находившихся на стационарном лечении в отделе патологии сердца и сосудов ВЦЭРМ с декабря 2012 г. по сентябрь 2015 г.

**Основная группа** включала 63 больных ИБС в возрасте от 34 до 84 лет (в среднем 64 года) – 36 мужчин и 26 женщин. Им были выполнены коронарография и ангиопластика артерий сердца (в плановом порядке 9 процедур, в экстренном – 54 процедуры), дополненные внутрисосудистой биопсией.

**Контрольная группа** была сформирована из 35 пациентов без клинических проявлений атеросклероза коронарного и иных

артериальных бассейнов в возрасте от 45 до 88 лет (в среднем 62 года) – 16 мужчин и 19 женщин (Табл. 1).

Таблица 1 – Характеристики больных основной и контрольной групп

	Группы пациентов		p
	Основная (n=63)	Контрольная (n=35)	
Возраст, лет	65 (56; 74)	59 (55; 66)	0,20
Мужчины/женщины	36/27	16/19	0,28
Курение, n (%)	20 (32)	7 (20)	0,31
Ожирение, n (%)	25 (42)	11 (38)	0,74
Сахарный диабет, n (%)	23 (37)	4 (11)	0,01
Глюкоза крови, ммоль/л	6,4 (5,5; 7,5)	5,6 (5,2; 6,5)	0,10
Общ. холестерин, ммоль/л	4,9 (4,4; 5,8)	5,9 (1,6)	0,03
Лipoproteины низкой плотности, ммоль/л	3,0 (2,6; 4,2)	4,0 (1,4)	0,20
Гипертоническая болезнь, n (%)	62 (98)	25 (71)	0,0002
Хроническая болезнь почек, n (%)	30/60 (50)	21/30 (70)	0,07

У пациентов контрольной группы в анамнезе не было инфарктов миокарда, нарушений мозгового кровообращения, артериальных, венозных тромбозов.

**Дополнительная контрольная группа** состояла из 6 больных атеросклерозом сонных артерий в возрасте от 58 до 66 лет (в среднем 62 г.) – 3 мужчин и 3 женщины. Им в плановом порядке была выполнена эверсионная каротидная эндартерэктомия. Инцизионные биоптаты сонных артерий сравнивали с внутрисосудистыми биоптатами больных основной группы. Данные препараты были необходимы и для изучения полигональных безъядерных эндотелиоцитов.

В исследование не включались болевшие (во время настоящей госпитализации и в течение месяца до неё) острыми формами или обострениями хронических заболеваний дыхательных путей.

**Материалы стандартных исследований.** В отделе лабораторной диагностики ВЦЭРМ выполняли общеклинический и биохимические анализы венозной крови обследованных больных: общеклинический анализ крови – на гематологическом анализаторе COULTER LH 750 (США), концентрацию тропонина I – на анализаторе UniCel DxI 600, другие биохимические показатели – на анализаторе UniCel DxС 600 компании Beckman Coulter (США).

Инструментальные обследования включали электрокардиографию, рентгенографию органов грудной клетки, ультразвуковое

исследование сердца. Их выполняли в отделе функциональной диагностики, отделе лучевой диагностики ВЦЭРМ. Коронарографию, баллонную ангиопластику коронарных артерий проводили в отделении рентгенхирургических методов лечения ВЦЭРМ.

**Оценка тяжести коронарного атеросклероза.** Тяжесть коронарного атеросклероза у больных основной группы была определена по данным коронароангиографий и рассчитывалась при помощи on-line калькулятора шкалы SYNTAX (в баллах).

**Признаки коронарных тромбозов и стенозов.** Заключение о наличии острого интракоронарного тромбоза или хронического стеноза делалось на основании ангиографических признаков (Ambrose J. A., 1989; Rehr R. et al., 1989; Boston D. R. et al., 1996; Lemesle G. et al., 2008).

**Материалы специальных исследований.** У больных каротидным атеросклерозом изучали клетки и неклеточные элементы, полученные в ходе эверсионной каротидной эндартерэктомии (при инцизионной биопсии). Приготовление препаратов внутрисосудистых биоптатов коронарных артерий, препаратов инцизионных биоптатов сонных артерий, их иммуноцитохимическое окрашивание выполняли в отделе лабораторной диагностики, изучение и микрофотографирование – в патологоанатомическом отделе ВЦЭРМ.

Для обнаружения хламидофил в клетках у пациентов контрольной группы забирали мазки со слизистых носовых ходов, слизистых глоток, готовили мазки крови. У больных основной группы обнаружение хламидофил выполняли в аналогичном материале, а также в эндотелиоцитах коронарных артерий. В сыворотке крови определяли концентрацию антител против хламидофил.

**Иммуноцитохимическую идентификацию** клеток эндотелия в цитологических препаратах коронарных и сонных артерий осуществляли авидин-биотин-пероксидазным методом. Для этого была использована ABC-kit система (R. T. U. Vectastain Universal Elite ABC Kit; Vector Laboratories, США). В качестве первых использовали моноклональные мышинные антитела производства компании Dako (Дания): CD31 (clone JC70A, разведение 1:100), CD34 (clone QBEnd-10, разведение 1:100), CD45 (clones 2B11+PD7/26, разведение 1:100), CD68 (clone KP1, разведение 1:100), CD105 (clone SN6h, разведение 1:100) и PanCK (clone AE1/AE3, разведение 1:100).

**Лабораторная диагностика инфекции Chlamydomphila pneumoniae.** Диагностику инфекции Spp проводили в лаборатории

идентификации патогенов ФБУН СПб НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. Для обнаружения антигена клеточной стенки бактерии *Srp* в цитоплазме эпителиоцитов слизистой носовых ходов, эпителиоцитах ротоглотки, лейкоцитов крови и эндотелиоцитах коронарных артерий использовали метод непрямой иммунофлюоресценции (НПИФ). Применяли первые видоспецифические моноклональные антитела (sc-57665) к бактерии *Chlamydomphila pneumoniae* производства компании Santa Cruz Biotechnology (США). Основанный на амплификации нуклеиновых кислот (полимеразная цепная реакция, например) метод диагностики хламидофильной инфекции не использовался, хотя и обладает известными преимуществами (Савичева А. М., 2009). Но, в отличие от НПИФ, он не позволяет дать заключение, в каких именно клетках биопсийного материала содержатся *Srp*.

Концентрации в крови видоспецифических иммуноглобулинов (IgA и IgG) против *Srp* определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Для его проведения была использована тест-система фирмы Medac (Германия). Подготовка исследуемого материала, техника постановки и учёт результатов ИФА соответствовали описанным в инструкции по применению этой тест-системы. Заключение о значимом титре иммуноглобулинов делали, если их концентрация в крови составляла 28 или более УЕ/мл.

**Статистический анализ полученных результатов.** Медико-статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 10 фирмы StatSoft Inc. (США).

Центральные тенденции и рассеяния количественных признаков, имеющих приближенно нормальное распределение, описывали средним значением ( $M$ ) и средним квадратическим отклонением ( $s$ ) в формате  $M (s)$ , а признаков, не имеющих приближенно нормального распределения – медианой ( $Me$ ) и интерквартильным размахом (25-й и 75-й процентиля) в формате  $Me (НК; ВК)$ , где НК – нижний квартиль, ВК – верхний квартиль. Качественные признаки описывали, указывая одновременно и проценты, и абсолютные значения, например «31% (8/26)». В работе применялись: критерий Шапиро-Уилка,  $t$ -критерий Стьюдента,  $U$ -критерий Манна-Уитни, критерий  $X^2$  по Пирсону, метод Кендалла (Реброва О. Ю., 2006).

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ключевым результатом данной работы стала разработка и апробация внутриартериальной коронарной биопсии. Она включала процедуру получения клеток и неклеточных элементов коронарных артерий, поражённых атеросклерозом, и процедуру приготовления препаратов.

**Внутриартериальная коронарная биопсия.** При помощи шприца, соединённого с воздуховодом, использованные при ангиопластиках коронарных артерий баллонные катетеры расправляли воздухом и несколько раз встряхивали, отмывая, в контейнерах с фосфатно-солевым буфером. Полученные суспензии доставляли в лабораторию.

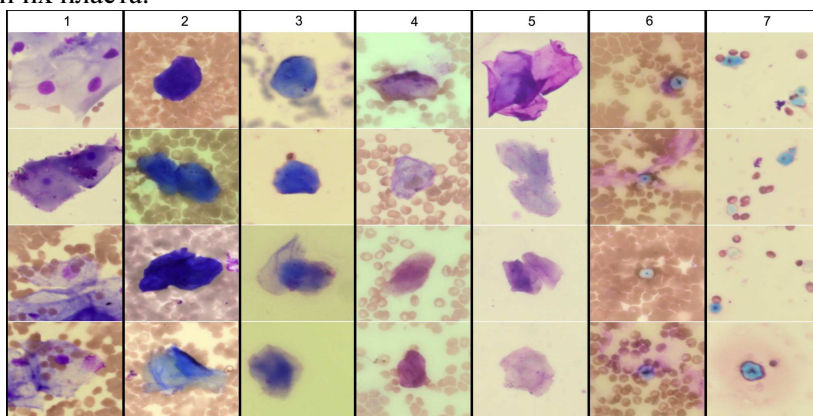
**Приготовление внутрисосудистых биоптатов.** Суспензию клеток разливали в 2 пробирки. Пробирки центрифугировали в роторной центрифуге со скоростью 1000 об./мин. (111,8 g) в течение 10 мин. По окончании центрифугирования надсадочную жидкость, которая не содержала клеток, аккуратно удаляли пипеткой либо сливали. После этого в обе пробирки добавляли фосфатно-солевой буфер до 0.5-1 мл, ресуспендируя клетки и неклеточные элементы. Предметные стёкла накрывали фильтровальной бумагой, помещали в цитобакеты и фиксировали зажимами. Четыре цитобакета, заряженных предметными стёклами, помещали в цитоцентрифугу. По 0.125–0.25 мл суспензии из каждой пробирки помещали в заряженные цитобакеты и центрифугировали со скоростью 1000 об./мин. (55 g) в течение 5 мин. После смывания с 1-го использованного баллонного катетера было возможно приготовить 4 препарата на предметных стёклах. По одному из них использовали в цитологическом, иммуноцитохимическом исследованиях, для обнаружения хламидофил в эндотелиоцитах. Поскольку некоторым из 63 больных коронарным атеросклерозом одномоментно была выполнена ангиопластика двух коронарных артерий, всего было получено 69 смывов с баллонных катетеров.

**Биоптаты сонных артерий.** Иссечённые в ходе эверсионных каротидных эндартерэктомий по границе медиа-адвентиция изменённые участки артерий промывали стерильным фосфатно-солевым буфером. Клетки эндотелия сонных артерий получали несколькими способами. Сначала их забирали с поверхностей интимы универсальными зондами-щёточками. После этого, прокатывая щёточки по поверхностям предметных стекол, готовили препараты

мазков эндотелия. Затем инцизионные биоптаты ножницами рассекали вдоль и на предметных стёклах получали отпечатки продольных срезов сонных артерий, поражённых атеросклерозом.

#### **Анализ внутрисосудистых биоптатов коронарных артерий.**

При микроскопии в 69 препаратах внутриартериальных коронарных биоптатов всего было обнаружено 2690 эндотелиоцитов или их пластов, 381 апоптотическое тельце эндотелиоцитов. Неклеточные элементы поражённых атеросклерозом коронарных артерий (соединительнотканнные волокна, клеточный детрит ядер атером с кристаллическими холестериновыми включениями) были выявлены в 52 препаратах. Фон из эритроцитов присутствовал в 38 биоптатах. Разрушенные и целые лейкоциты присутствовали в препаратах только вместе с эритроцитами. В каждом из 69 препаратов были обнаружены эндотелиоциты. В среднем в одном препарате биоптата коронарной артерии удавалось обнаружить 16 клеток эндотелия или их пластов. Из смыва с одного баллонного катетера готовили 4 препарата, поэтому можно считать, что при ангиопластике на поверхность баллонного катетера адгезируют приблизительно 64 эндотелиоцита или их пласта.



**Рисунок 1** – Эндотелиоциты и апоптотические тельца эндотелиоцитов в препаратах внутрисосудистых биоптатов коронарных артерий, поражённых атеросклерозом. *Столбцы:* 1 – ядросодержащие базофильно окрашенные клетки, 2–3 – безъядерные базофильно окрашенные клетки с кровавым и без кровавого фона, 4–5 – безъядерные оксифильно окрашенные клетки с кровавым и без кровавого фона, 6–7 – базофильно окрашенные апоптотические тельца с кровавым и без кровавого фона. Окрашивание по Май-Грюнвальду. Увел. об.: 100×.

Чаще клетки эндотелия в биоптатах были представлены плоскими полигональными (гекса-пентагональными), с заострёнными, а реже – скруглёнными гранями цитоплазмы безъядерными клетками размером от 35 до 50 мкм. Они были обнаружены во всех биоптатах. В 38 % случаев указанные клетки прокрашивались базофильно (Рисунок 1, столбцы 1-2), в 62 % – оксифильно (Рис.1, столбцы 3-4). Цитоплазма указанных клеток тонкая и через неё можно видеть лежащие ниже эритроциты. Реже встречались апоптотические тельца эндотелиоцитов округлой или полигональной формы, содержащие хроматин. Они были выявлены в 25 препаратах, имели размеры от 2 до 5 мкм, всегда окрашивались базофильно (Рис.1, столбцы 6-7). Следующими по частоте встречаемости во внутрисосудистых биоптатах были полигональные ядросодержащие клетки (Рис.1, столбец 1), которые располагались как отдельно, так и в пластах (Рис.2), прокрашивались как базофильно, так и оксифильно.

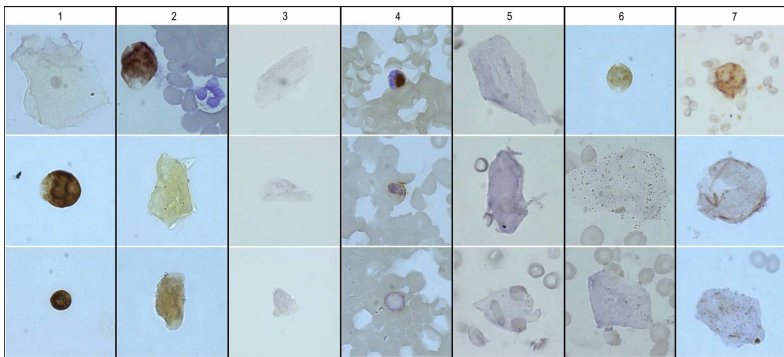
Таблица 2 – Клетки и апоптотические тельца в 69 препаратах внутрисосудистых биоптатов коронарных артерий, поражённых атеросклерозом

	Характер изменений клеточных ядер	Пласты/единичные клетки	Окраска	Кол-во (шт.) в 69 препаратах внутрисосудистых биоптатов	% от всех клеток эндотелия и апоптотических телец
Полигональные клетки эндотелия	С ядрами, в том числе с явлениями дегенерации ядер	Пласты	О*	2	0,07
			Б**	7	0,23
		Единичные клетки	О	61	2
			Б	46	1,5
	Без ядер	Пласты	О	74	2,4
			Б	102	3,3
		Единичные клетки	О	1536	50
			Б	862	28
Апоптотические тельца эндотелиоцитов	Ядер нет, содержат хроматин	Единичные	Б	381	12

Примечания: \* - оксифильная, \*\* - базофильная.

Их цитоплазма, размеры и форма не отличалась от таковых у полигональных безъядерных клеток. Таким образом, при ангиопластике к поверхностям баллонных катетеров адгезируют плоские полигональные эндотелиоциты с тонкой цитоплазмой, располагающиеся в препаратах чаще отдельно, реже – в пластах. Они преимущественно безъядерные, с оксифильным характером окраски цитоплазмы (Табл. 2).

Иммуноцитохимическое исследование плоских полигональных клеток в биоптатах коронарных артерий показало, что они имеют иммунофенотип: CD31<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>, CD105<sup>+/-</sup>, PanCk<sup>+/-</sup>, CD45<sup>-</sup>, CD68<sup>-</sup>. Это подтверждает их сосудистый гистогенез. В каждом клеточном препарате, окрашенном по описанному иммуноцитохимическому методу с применением антител CD31, CD34, CD105, было обнаружено не менее двух клеток, имеющих коричневое окрашивание (Рисунок 2).



**Рисунок 2** – Клетки в препаратах внутрисосудистых биоптатов коронарных артерий, поражённых атеросклерозом, окрашенные по иммуноцитохимической методике. *Столбцы:* 1 – CD31 позитивные клетки, 2 – CD34 позитивные клетки, 3 – CD45 негативные клетки, 4 – CD45 позитивные лейкоциты, 5 – CD68 негативные клетки, 6 – CD105 слабопозитивные клетки, 7 – PanCk позитивные, негативные клетки. Увел.об.: 100х.

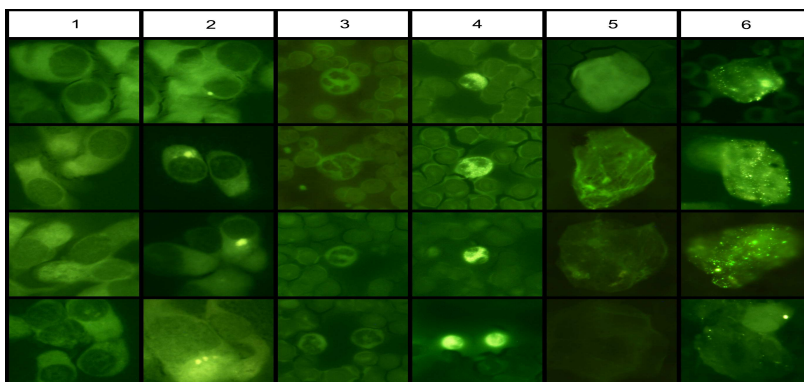
**Анализ инцизионных биоптатов сонных артерий.** В инцизионных биоптатах сонных артерий при микроскопии были обнаружены безъядерные, ядросодержащие эндотелиоциты и их пласты, окрашенные как базофильно, так и оксифильно, а также апоптотические тельца эндотелиоцитов, окрашенные базофильно. Их количественное соотношение приблизительно соответствовало таковому в цитологических препаратах коронарных артерий.



Многоядерные пласты в препаратах сонных артерий экспрессировали эндотелиальные маркёры. От пластов цитоплазма сепарировалась полигональными частями.

Таким образом, в интиме артерий, пораженных атеросклерозом, образуются пласты эндотелиоцитов. Полигональные безъядерные клетки в полученных нами внутрисосудистых и инцизионных биоптатах являются эндотелиоцитами, закончившими жизненный цикл, или частями цитоплазмы эндотелиальных пластов. Эндотелиоциты могут гибнуть при реализации механизмов апоптоза.

**Лабораторная диагностика инфекции *Chlamydomphila pneumoniae*.** Методом НПИФ в эндотелиоцитах коронарных артерий из их изменённых участков, подвергнутых баллонной ангиопластике, единичные или множественные хламидофильные включения были выявлены у 51% (32/63) больных основной группы (Рисунок 3).



**Рисунок 3** Визуализация хламидофильных включений методом непрямой иммунофлюоресценции с применением первых моноклональных антител к бактерии *Chlamydomphila pneumoniae*, вторых антител, меченных ФИТЦ. Столбцы: клетки цилиндрического эпителия слизистых носовых ходов, не содержащие (столбец 1) и содержащие хламидофильные включения (столбец 2); лейкоциты венозной крови, не содержащие (столбец 3) и содержащие хламидофильные включения (столбец 4); эндотелиоциты коронарных артерий, не содержащие (столбец 5) и содержащие хламидофильные включения (столбец 6). Люминесцентная микроскопия. Увеличение объектива  $\times 100$ .

В 52% (33/63) случаев включения *Srp* были обнаружены у больных основной группы в эпителиоцитах слизистой оболочки носа - чаще, чем у больных контрольной группы (31% (11/35)). В лейкоцитах периферической крови хламидофильные включения встречались одинаково часто у больных основной и контрольной групп.

Концентрации IgG и IgA были достоверно выше у больных основной группы, однако доля пациентов с диагностически значимыми концентрациями антител существенно не различалась (Табл. 3).

В зависимости от наличия или отсутствия хламидофил в коронарных эндотелиоцитах больные основной группы были распределены на 1-ю и 2-ю группы соответственно. В 1-ой группе включения Срп значительно чаще обнаруживалась в эпителиоцитах слизистой оболочки носа (по сравнению с контрольной 3-ей группой), а также в лейкоцитах крови (по сравнению со 2-ой группой). Кроме того, концентрации IgG и IgA в 1-ой группе были значительно выше, чем в 3-ей группе, однако не отличались от таковых во 2-ой. Количество лейкоцитов во внутрисосудистых биоптатах прямо, слабо коррелирует ( $r=0,24$ ;  $p=0,009$ ) с наличием хламидофил в эндотелиоцитах из этих биоптатов.

Таблица 3 – Лабораторные признаки инфекции, вызванной *Chlamydomphila pneumoniae*, у больных основной и контрольной групп

	Группы пациентов		p
	Основная (n=63)	Контрольная (n=35)	
Срп в эпителиоцитах слизистой оболочки носовых ходов	52% (33/63)	31% (11/35)	0,045*
Срп в лейкоцитах крови	65% (41/63)	62% (21/34)	0,75*
Срп в эндотелиоцитах коронарных артерий, пораженных атеросклерозом	51% (32/63)	-	-
IgG в крови, усл. ед./мл	146,5 (54; 240)	97 (29,5; 154,5)	0,046**
IgA в крови, усл. ед./мл	40 (18; 75)	14 (0; 60)	0,027**
Диагностически значимые концентрации IgG в крови	87% (47/54)	75% (18/24)	0,32
Диагностически значимые концентрации IgA в крови	57% (31/54)	46% (11/24)	0,34

Примечания: \* - критерий  $\chi^2$  Пирсона, \*\* - U-критерий Манна–Уитни.

В 3-ей группе внутрисосудистая биопсия не выполнялась

Больше лейкоцитов оказалось во внутрисосудистых биоптатах больных 1-ой, нежели 2-ой групп. У больных 1-ой и 2-ой групп концентрация лейкоцитов венозной крови была выше, чем у больных из 3-ей группы (Таблица 4).

Итак, на основании результатов лабораторных обследований с применением методов НПИФ и ИФА установлено, что

хламидофильная инфекция распространена как среди больных ИБС, так и сопоставимых по полу и возрасту относительно здоровых людей. Инфицирование сосудистого русла – одно из проявлений генерализованного инфекционного процесса, оно сопровождается внутрисосудистым воспалением. Концентрация в крови специфических антител (IgG и IgA) к Срп у больных с инфицированием коронарного эндотелия выше, чем у относительно здоровых.

Таблица 4 – Лабораторные признаки инфекции, вызванной *Chlamydomphila pneumoniae*, содержание лейкоцитов в крови и во внутрисосудистых биоптатах у больных коронарным атеросклерозом в зависимости от инфицирования эндотелиоцитов хламидофилам

	Группы пациентов			P1-2	P1-3	P2-3
	1-я (n=32)	2-я (n=31)	3-я (n=35)			
Срп в эпителиоцитах слизистой оболочки носовых ходов	59% (19/32)	45% (14/31)	31% (11/35)	0,26*	0,02*	0,25*
Срп в лейкоцитах крови	78% (25/32)	52% (16/31)	60% (21/34)	0,03*	0,15*	0,4*
IgG в крови, усл. ед./мл	184 (120,7)	120 (50;220)	97 (30;155)	0,11**	0,02**	0,23**
IgA в крови, усл. ед./мл	50 (18;97)	30 (18;50)	14 (0;60)	0,08**	0,01**	0,2**
Диагностическ и значимые концентрации IgG в крови	89% (24/27)	85% (23/27)	75% (18/24)	1*	0,35*	0,57*
Диагностическ и значимые концентрации IgA в крови	67% (18/27)	48% (13/27)	46% (11/24)	0,27*	0,22*	0,87*
Лейкоциты в биоптатах коронарных артерий, шт.	381 (0;833)	0 (0;360)	-	0,04**	-	-
Лейкоциты в крови, $\times 10^9/\text{л}$	7,9 (7,0;9,7)	8,5 (3)	6,7 (1,7)	0,7**	0,0007*	0,01***

Примечания: \* - критерий  $\chi^2$  Пирсона, \*\* - U-критерий Манна–Уитни. \*\*\* - t-критерий Стьюдента. В 3-ей группе внутрисосудистая биопсия не выполнялась

**Выраженность коронарного атеросклероза, частота его тромботических осложнений, структура клинических форм ИБС у больных с инфицированием коронарного эндотелия бактерией *Srp* и больных без этого инфицирования.** По данным коронароангиографий, гемодинамически значимые атеросклеротические стенозы, хронические окклюзии, острые тромботические субокклюзии или окклюзий коронарных артерий встречались с одинаковой частотой у больных ИБС с инфицированием коронарного эндотелия бактерией *Srp* (1-я группа) и без (2-я группа) инфицирования (Таблица 5).

Таблица 5 – Клинически значимые атеросклеротические изменения коронарных артерий у больных ИБС 1-ой и 2-ой групп

		Группы пациентов		p*
		1-я (n=32)	2-я (n=31)	
Частота встречаемости гемодинамически значимых стенозов или тромботических субокклюзий ствола левой коронарной артерии (%)		3 (1/32)	10 (3/31)	0,6
Частота встречаемости гемодинамически значимых стенозов, хронических окклюзий, тромботических субокклюзий или окклюзий (%)	Передняя межжелудочковая ветвь левой коронарной артерии и её ветви	44 (14/32)	39 (12/31)	0,7
	Промежуточная артерия	3 (1/32)	6 (2/31)	0,9
	Огибающая ветвь левой коронарной артерии и её ветви	45 (10/32)	19 (6/31)	0,3
	Правая коронарная артерия и её ветви	28 (9/32)	32 (10/31)	0,7

Примечания: \* – вероятность ошибки при отклонении нулевой гипотезы, рассчитанная с применением критерия  $\chi^2$  по Пирсону или критерия  $\chi^2$  по Пирсону с поправкой Йетса на непрерывность

Ангиографические признаки интракоронарных тромбозов выявлены у 50% (16/32) больных ИБС 1-ой и 35% (11/31) больных 2-ой группы ( $p=0,24$ ). Тяжесть коронарного атеросклероза больных ИБС с инфицированием коронарного эндотелия бактерией *Srp*, рассчитанная по шкале SYNTAX, составила 12,5 (8; 17) баллов и не отличалась ( $p=0,4$ ) от данного показателя больных ИБС без инфицирования коронарного эндотелия, который составил 10 (5; 19) баллов.

У обследованных больных ИБС были преимущественно острые формы данного заболевания: преобладал инфаркт миокарда,

несколько реже встречалась нестабильная стенокардия. Меньшее количество обследованных болело стабильной стенокардией на фоне максимальной антиангинальной терапии. У одного больного была диагностирована безболевого ишемия миокарда. Структура клинических форм ИБС у больных 1-ой и 2-ой групп оказалась одинаковой (Таблица 6).

Таблица 6 – Структура клинических форм ИБС у больных 1-ой и 2-ой групп в момент обследования

		Группы пациентов		p*
		1-я (n=32)	2-я (n=31)	
Стабильная стенокардия напряжения	II ф. кл.	6% (2/32)	3% (1/31)	0,97
	III ф. кл.	3% (1/32)	13% (4/31)	0,33
Нестабильная стенокардия	Прогрессирующая	31% (10/32)	23% (7/31)	0,62
	Впервые возникшая	6% (2/32)	13% (4/31)	0,63
	Ранняя постинфарктная	0% (0/32)	6% (2/31)	0,46
Инфаркт миокарда		53% (17/32)	39% (12/31)	0,25
Постинфарктный кардиосклероз		31% (10/32)	29% (9/31)	0,93
Безболевого ишемия миокарда		0% (0/32)	3% (1/31)	0,98

Примечания: \* – вероятность ошибки при отклонении нулевой гипотезы, рассчитанная с применением критерия  $\chi^2$  по Пирсону или критерия  $\chi^2$  по Пирсону с поправкой Йетса на непрерывность

Таким образом, по результатам одномоментного обследования небольших выборок больных ИБС с инфицированием коронарного эндотелия бактерией *Chlamydomphila pneumoniae* и без такового (32 и 31 пациент соответственно) различий в выраженности коронарного атеросклероза (судя по коронароангиографическим данным и шкале SYNTAX), частоте его тромботических осложнений, а также структуре клинических форм ишемической болезни сердца у описанных больных, отмечено не было.

## ВЫВОДЫ

1. В ходе баллонных катетерных пластик пораженных атеросклерозом коронарных артерий получен пригодный для лабораторных исследований цитологический материал (внутриартериальная коронарная биопсия).

2. Эндотелиоциты во внутрисосудистых биоптатах пораженных атеросклерозом коронарных артерий представлены

преимущественно полигональными безъядерными, реже – ядродержащими клетками. Их идентичность эндотелиоцитам подтверждена экспрессией на клеточных мембранах маркеров CD31, CD34, CD105, а также сходством с аналогичными клетками в инцизионных биоптатах сонных артерий при атеросклерозе.

3. Бактерия *Chlamydomphila pneumoniae* обнаружена методом непрямой иммунофлюоресценции в эндотелиоцитах коронарных артерий, поражённых атеросклерозом, в 51% случаев. Инфицирование сосудистого русла сердца является одним из проявлений генерализованного инфекционного процесса и сопровождается внутрисосудистым инфекционным воспалением.

4. Чаще (52% случаев) у больных ИБС, чем у больных контрольной группы (31% случаев), бактерия *Chlamydomphila pneumoniae* была обнаружена в эпителиоцитах верхних дыхательных путей. В лейкоцитах периферической крови больных ИБС и больных контрольной группы хламидофилы были обнаружены с одинаковой частотой. Концентрации IgG и IgA были достоверно выше у больных ИБС, нежели пациентов контрольной группы. Доля пациентов с диагностически значимыми концентрациями антител существенно не различалась.

5. Не выявлено различий в тяжести коронарного атеросклероза (рассчитанной по шкале SYNTAX) и структуре клинических форм ишемической болезни сердца у больных с инфицированием коронарных эндотелиоцитов бактерией *Chlamydomphila pneumoniae* и без инфицирования.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Врачам кардиологам, терапевтам, инфекционистам, сердечнососудистым хирургам, врачам клинической лабораторной диагностики многопрофильных стационаров, оказывающих высокотехнологичную медицинскую помощь больным ИБС, рекомендуется:

1. При баллонной ангиопластике коронарных артерий у больных ИБС получать цитологический материал с поверхностей использованных баллонных катетеров и использовать его для приготовления препаратов (согласно «Способу получения клеток и неклеточных элементов атеросклеротических бляшек» – Патент РФ №2552314).

2. У больных коронарным атеросклерозом выполнять клиническую лабораторную диагностику хламидофильной инфекции, обнаруживая возбудитель в клетках дыхательных путей, крови, клетках поражённых атеросклерозом коронарных артерий, поскольку эта инфекция может играть роль в атеросклерозе.

3. Для решения вопроса о проведении этиотропной антибактериальной и патогенетической противовоспалительной терапии хламидофильной инфекции определять показатели системной воспалительной, иммунной реакции больных ИБС на инфицирование.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

В качестве перспектив разработки темы рассматривается усовершенствование метода внутрисосудистой биопсии; изучение циркулирующих в крови безъядерных эндотелиоцитов как маркеров дестабилизации течения ИБС; изучение жизненного цикла бактерий *Chlamydomphila pneumoniae*, инфицировавших эндотелиоциты и другие клетки коронарных артерий; изучение ассоциированных с инфицированием воспалительных, иммунных реакций при атеросклерозе не только коронарных, но и других артерий.

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

**Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации**

1. Позняк, А.Л. *Chlamydomphila pneumoniae* - инфекция как фактор риска развития атеросклероза (обзор литературы). / А. Л. Позняк, С. Н. Сидорчук, А. В. Тарасов // Журнал инфектологии. – 2013. – Т. 5. – № 1. С. 18-27.

2. Тарасов, А.В. Патент РФ № 2552314, 02.10.2013. Способ получения клеток и неклеточных элементов атеросклеротической бляшки / А. В. Тарасов, В. Ю. Кравцов, В. Н. Хирманов // Патент России № 2552314. 2015. Бюл. № 16.

3. Тарасов, А.В. Возможности диагностики инфекции *Chlamydia pneumoniae* у больных ишемической болезнью сердца / А.В. Тарасов, В.Н. Хирманов, Л.Б. Дрыгина, Л.Б. Куляшова // Медицинский алфавит. – 2016. – Т. 2. – № 13. С. 58-61.

4. Тарасов, А.В. Особенности диагностики инфекции, вызванной *Chlamydomphila pneumoniae*, у больных острым коронарным

синдромом / А. В. Тарасов, В.Н. Хирманов, Д.Б. Куляшова, И.Р. Желтакова, Л.Б. Дрыгина // Инфекция и иммунитет. – 2016. – Т. 6. – № 1. С. 67-72.

5. Тарасов, А.В. Клетки эндотелия атеросклеротически изменённых коронарных артерий, полученные прижизненно при ангиопластике (внутрисосудистой биопсии) / А.В. Тарасов, В.Ю. Кравцов, В.Н. Хирманов, В.Н. Эллиниди, К.Wassilew // Цитология. – 2018. – Т. 60. – № 3. С. 173-179.

6. Tarasov, A.V. Endothelial cells of atherosclerotic coronary arteries in vivo obtained during angioplasty (intravascular biopsy) / A.V. Tarasov, V.Y. Kravtsov, Khirmanov V.N., Ellinidi V.N., K.Wassilew // Cell and Tissue Biology. – 2018. – Vol. 12. – № 4. P. 289-295.

7. Хирманов, В. Н. Chlamydomydia pneumoniae у больных коронарным атеросклерозом. Контаминация клеток или заражение организма? / В. Н. Хирманов, А.В. Тарасов, Л.Б. Куляшова, А.Л. Позняк, В.Ю. Кравцов // Клиническая фармакология и терапия. – 2018. – Т. 27. – № 3. С. 30-34.

#### **Статьи, тезисы докладов в материалах конференций**

8. Нагибович О. А. Острая сердечная недостаточность у пациентов с инфарктом миокарда и сахарным диабетом 2 типа в зависимости от скорости клубочковой фильтрации / О. А. Нагибович, А. В. Тарасов // Программа и тезисы конференции «Вопросы нефрологии в практике терапевта и эндокринолога» СПб. 2008. – с. 54.

9. Тарасов, А. В. Атеросклероз у специалистов МЧС России / А. В. Тарасов // Сборник тезисов докладов на конференции «Школа молодых учёных и специалистов МЧС России 2013», Воронеж. – 2013. – с. 179.

10. Тарасов, А. В. Метод получения клеток и субклеточных структур с внутренней поверхности артерий в зоне атеросклеротической бляшки / А. В. Тарасов, В. Ю. Кравцов, В. Н. Хирманов // Многопрофильная клиника XXI века. Высокотехнологичная медицинская помощь. Тезисы международной научно-практической конференции / Под ред. Алексанина С. С. – СПб. 2014. – с. 220.

11. Тарасов, А. В. Метод получения клеток и субклеточных структур в иссеченных при эндартерэктомии атеросклеротически измененных участках сонных артерий / А. В. Тарасов // Никифоровские чтения – 2014: Сб. тезисов науч. конф. молодых



ученых. СПб, ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России, 12 сентября 2014. – 82 с.

12. Тарасов, А. В. Предварительный анализ результатов коронарных эндоцитогамм пациентов с ишемической болезнью сердца / А. В. Тарасов, И. С. Брадулин // Никифоровские чтения – 2014: Сб. тезисов научной конференции молодых ученых и специалистов. СПб, ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России, 12 сентября 2014. – 74 с.

13. Хирманов, В. Н. Метод биопсии эндотелия коронарных артерий и результаты его применения у больных ишемической болезнью сердца / В. Н. Хирманов, А. В. Тарасов, В. Ю. Кравцов // Никифоровские чтения: передовые отечественные и зарубежные технологии: Мат. научно-практической конф. молодых ученых и специалистов с международным участием, Санкт-Петербург, 14-16 сентября 2016 г. / Составители П. К. Котенко, Т. Е. Карташова. – СПб.: «Политехника-принт», 2016. – с. 170.

14. Тарасов, А. В. Новый способ диагностики инфекционного поражения эндотелия коронарных артерий бактерией *Chlamydomphila pneumoniae* / А.В. Тарасов, В.Н. Хирманов, В.Ю. Кравцов, А.Л. Позняк, Л.Б. Куляшова // Мат. VII Международного конгресса «Кардиология на перекрёстке наук», Нижний Новгород. – 2016. – с. 219 (всего 288).

15. Тарасов, А. В. Результаты применения метода внутрисосудистой биопсии коронарных артерий / А.В. Тарасов, В.Н. Хирманов, В.Ю. Кравцов, Л.Б. Куляшова // Мат. Российского национального конгресса кардиологов, Екатеринбург. – 2016. – с. 341.

16. Тарасов, А. В. Инфекция *Chlamydomphila pneumoniae* у больных острыми и хроническими формами коронарного атеросклероза / А. В. Тарасов, В. Н. Хирманов, Л. Б. Куляшова // Мат. Российского национального конгресса кардиологов, Екатеринбург. – 2016. – с. 342.

17. Tarasov, A. V. A novel method to obtain endothelial cells from coronary arteries in situ for diagnostic purposes / A.V. Tarasov, V.Y. Kravtsov, Khirmanov V.N., Ellinidi V.N., K.Wassile // Virchows archiv. – 2018. – Vol. 469, Issue 1 Supplement P. 70.

18. Тарасов, А. В. Клинико-лабораторное значение контаминации эндотелия коронарных артерий бактерией *Chlamydomphila pneumoniae* у больных ишемической болезнью сердца /

А. В. Тарасов, В. Н. Хирманов, Л. Б. Куляшова // Мат. Российского национального конгресса кардиологов, Москва. – 2018. – с. 643.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ВЦЭРМ – федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова» МЧС России

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИФА – иммуноферментный анализ

НПИФ – непрямая иммунофлюоресценция

CD – кластер дифференцировки

Срп – *Chlamydomphila pneumoniae*

IgA – иммуноглобулины класса А

IgG – иммуноглобулины класса G