

Влияние аторвастатина на субпопуляционный состав Т-лимфоцитов крови у пациентов со стабильной стенокардией напряжения

Г.В. Кузнецова, А.В. Потехина, Т.И. Арефьева, Н.Ю. Рулева, А.Ю. Филатова, А.М. Щинова, А.К. Осокина, Е.А. Ноева, Е.А. Жарова, С.И. Проваторов

ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ, г. Москва

Абстракт

Цель работы: сравнить содержание различных субпопуляций лимфоцитов и моноцитов крови у больных стабильной ИБС, длительное время принимавших аторвастатин 20 мг и не принимавших статины, а также изучить влияние увеличения дозы аторвастатина с 20 до 80 мг в течение 7 суток на данные показатели и уровни экспрессии моноцитами рецепторов хемокинов.

Материалы и методы: в исследование включены 42 пациента со стабильной стенокардией напряжения, 29 из которых ранее получали аторвастатин в дозе 20 мг не менее 6 месяцев и 13 пациентов не принимали статины. Содержание в крови CD3⁺-Т-клеток, включая CD4⁺- и CD8⁺-популяции, CD4⁺CD25^{high}CD127^{low} – регуляторных Т-клеток (Т-рег), CD19⁺-В-лимфоцитов, CD3-CD(16+56)⁺-NK-лимфоцитов, CD14⁺+CD16- и CD14⁺CD16⁺- моноцитов было определено методом проточной цитофлюориметрии. У 10 пациентов, ранее принимавших аторвастатин в дозе 20 мг, проводили исследование субпопуляционного состава лимфоцитов и моноцитов, а также экспрессии моноцитами хемокиновых рецепторов (CCR2, CCR5, CX3CR1) в динамике: исходно и через 7 суток после увеличения дозы аторвастатина до 80 мг/сут.

Результаты: содержание Т-рег было значимо выше в группе пациентов, длительно принимавших аторвастатин 20 мг/сут, по сравнению с пациентами, не принимавшими статины. Существенной разницы в содержании других субпопуляций лимфоцитов между группами выявлено не было. Увеличение дозы аторвастатина с 20 до 80 мг/сут в течение 7 суток приводило к дальнейшему значимому повышению количества регуляторных Т-лимфоцитов в крови и снижению уровня экспрессии рецепторов CCR5 на поверхности моноцитов и лимфоцитов.

Заключение: выявленные результаты демонстрируют иммуномодулирующее действие аторвастатина, дозозависимый эффект в отношении повышения содержания антиатерогенных Т-рег, а также снижение экспрессии хемокинового рецептора CCR5 циркулирующими моноцитами и лимфоцитами в течение короткого курса высокоинтенсивной терапии.

Ключевые слова: атеросклероз, воспаление, аторвастатин, регуляторные Т-лимфоциты, хемокиновые рецепторы.

The effects of atorvastatin on blood T-cell frequencies in patients with stable angina

G. V. Kuznetsova, A. V. Potekhina, T. I. Arefieva, N. Yu. Ruleva, A. Yu. Filatova, A. M. Schinova, A. K. Osokina, E. A. Noeva, E. A. Zharova, S. I. Provatorov
Russian Cardiology Research Complex, Moscow, Russia

Abstract

Aim: The aim of this study was to evaluate the blood frequencies of lymphocyte and monocyte subpopulations in patients with stable coronary heart disease receiving atorvastatin 20 mg (>6 months) or non-receiving statins; and the effect of one week high-intensive treatment with atorvastatin 80 mg on these parameters and monocyte chemokine receptor expression.

Materials and methods: 42 patients with stable angina were enrolled, 29 patients had been receiving atorvastatin 20 mg for at least 6 months, and 13 patients hadn't received statins. Blood frequencies of CD3⁺-cells, including CD4⁺- and CD8⁺- cells, CD4⁺CD25^{high}CD127^{low} regulatory T-cells (T-reg), CD19⁺-B-lymphocytes, CD3-CD(16+56)⁺-NK-lymphocytes, CD14⁺+CD16⁻ and CD14⁺CD16⁺-monocytes were estimated via flow cytometry. In 10 patients the dynamics of lymphocyte and monocyte subpopulations in blood as well as the expression of chemokine receptors (CCR2, CCR5, CX3CR1) were analyzed after 1 week of atorvastatin 80 mg per day.

Results: Blood frequencies of T-reg were elevated in patients receiving atorvastatin 20 mg. No differences in circulating levels of other cell subpopulations were observed. The increase of atorvastatin from 20 to 80 mg per day lead to a further significant elevation of T-reg levels and to a decrease of the expression of CCR5 receptors by monocytes and lymphocytes on the 7th day of treatment.

Conclusion: Our results demonstrate the immunomodulating properties of atorvastatin, with the dose-dependent elevation of circulating T-reg level, and the decline of CCR5 chemokine receptor expression by monocytes and lymphocytes after a short period of high-intensive treatment.

Keywords: atherosclerosis, inflammation, atorvastatin, regulatory T-lymphocytes, chemokine receptors.

Введение

В настоящее время атеросклероз рассматривается как хронический воспалительный процесс в артериальной стенке, обусловленный действием различных повреждающих факторов, главным образом нарушением липидного обмена [1–3]. На всех этапах формирования в атеросклеротической бляшке обнаруживаются различные субпопуляции лимфоцитов: CD4⁺-Т-хелперные лимфоциты, CD8⁺-цитотоксические Т-лимфоциты, естественные киллеры (NK), NKT-клетки, В-лимфоциты, а также минорные субпопуляции, в том числе регуляторные Т-лимфоциты (T-reg). Лимфоциты вносят существенный вклад в регуляцию воспалительного процесса. Так, субпопуляции Т-хелперов 1 типа, цитотоксических Т-лимфоцитов, NK-, NKT-клеток оказывают проатерогенный эффект [4], в то время как Т-рег способны оказывать противовоспалительное и антиатерогенное действие, что было продемонстрировано в экспериментальных моделях у животных [5, 6]. Показана взаимосвязь иммунного дисбаланса, протекающего с подавлением регуляторного звена лимфоцитов, с прогрессирующим и нестабильным течением ишемической болезни сердца (ИБС) [7, 8].

В периферической крови человека естественные регуляторные Т-клетки составляют 5–10% от CD4⁺-лимфоцитов и характеризуются высокой мембранной плотностью рецептора ИЛ-2 (идентифицируемого по α -субъединице CD25) и низкой экспрессией рецептора ИЛ-7 (идентифицируемого по α -субъединице CD127). Специфическим маркером Т-рег является наличие внутриклеточного фактора транскрипции FOXP3 [9, 10]. Фенотипирование данной субпопуляции Т-лимфоцитов на основании анализа поверхностных маркеров

(CD25^{high}CD127^{low}) с 96%-ной специфичностью соответствует фенотипированию по FOXP3 [11–13].

Моноциты, участвуя в формировании врожденного и приобретенного иммунного ответа, играют одну из ключевых ролей в инициации и развитии атеросклероза [14]. Моноциты мигрируют из крови в обогащенные липопротеинами области интимы артерий и под влиянием факторов (макрофагального колониестимулирующего фактора и др.), продуцируемых активированным эндотелием, дифференцируются в макрофаги. Этот процесс контролируется хемотаксическими цитокинами (хемокинами), которые продуцируются клетками сосудистой стенки в месте ее повреждения [15]. Наиболее изученными из них являются моноцитарный хемотаксический белок 1 (MCP-1, по номенклатуре хемокинов – CCL2), взаимодействующий с рецептором CCR2, и хемокин RANTES (от «regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted», CCL5), который вырабатывается активированными Т-лимфоцитами и связывается с рецепторами CCR1 и CCR5. Также известно, что в процессах формирования и дестабилизации атеросклеротической бляшки (АБ) важную роль играет единственный представитель CX3C-семейства хемокинов – фракталкин (CX3CL1), рецептором которого является CX3CR1 [14, 16]. Так, в исследованиях у мышей было продемонстрировано существенное замедление атерогенеза при мутации гена фракталкина или делеции гена, кодирующего его рецептор [17, 18].

Моноциты поглощают окисленные липопротеины и другие проатерогенные молекулы и превращаются в характерные для атеросклеротических бляшек пенные клетки [19]. В крови человека присутствуют несколько популяций моноцитов, различающихся функционально и фенотипически.

Моноциты принято подразделять на классическую (CD14⁺CD16⁻) и неклассическую субпопуляции (CD14⁺CD16⁺), однако несколько лет назад Международным союзом иммунологов и ВОЗ была выделена также промежуточная (CD14⁺CD16⁺) субпопуляция [20, 21]. Показано, что относительное содержание в кровотоке моноцитов промежуточной и неклассической субпопуляций возрастает при аутоиммунных и воспалительных заболеваниях, в том числе при атеросклерозе [22].

С позиций доказательной медицины ключевой группой лекарственных препаратов, эффективных для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений, а также позволяющих затормозить прогрессирование атеросклероза, являются ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы – статины [23]. Помимо липидснижающего действия для большинства статинов выделяют плейотропные эффекты: они способны восстанавливать нарушенную функцию эндотелия, оказывать противовоспалительное действие, подавлять развитие окислительного стресса, а также обладают антикоагулянтными, антиоксидантными, антипролиферативными и антиаритмическими свойствами [23–27]. В исследовании Mausner-Fainberg K. et al. (2007 г.) была показана способность аторвастатина в дозе 10 мг/сут на протяжении 4–8 недель приема достоверно повышать количество Т-рег в периферической крови, что авторы рассматривают как один из возможных механизмов иммуномодулирующего действия данного препарата [28]. Rodríguez-Perea с соавт. получили аналогичные данные в отношении ловастатина в дозе 40 мг/сут [29].

Целью настоящей работы явилось проведение сравнительного анализа содержания различных субпопуляций лимфоцитов крови у больных стабильной ИБС, которые длительное время принимали аторвастатин в дозе 20 мг или не принимали статины, а также изучение влияния интенсивной терапии аторвастатином в дозе 80 мг в течение короткого курса (7 суток) на данные показатели и уровни экспрессии моноцитами рецепторов хемокинов CCL2, CCL5 и фракталкина, соответственно CCR2, CCR5 и CX3CR1.

Материалы и методы

Пациенты

В исследовании приняли участие 42 пациента мужского пола со стабильной стенокардией напряжения I–III функциональных классов. 29 пациентов до включения в исследование принимали аторвастатин в дозе 20 мг не менее 6 месяцев, 13 пациентов не принимали статины до включения в исследование. Клиническая характеристика больных представлена в табл. 1. Все пациенты получали стандартную терапию для больных ИБС: аспирин 100 мг/сут, по показаниям – бета-адреноблокаторы, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, нитраты.

В исследование не включались больные с острым коронарным синдромом, острым нарушением мозгового кровообращения и оперативными вмешательствами (в т.ч. транслюминальной баллонной ангиопластикой) в предшествующие 6 месяцев, злокачественными новообразованиями, тяжелой почечной или печеночной недостаточностью, с инфекционными или воспалительными заболеваниями, сахарным диабетом в стадии декомпенсации, а также пациенты, принимающие иммуностропные препараты. У всех пациентов определяли содержание субпопуляций лимфоцитов и моноцитов крови при включении в исследование. У 10 пациентов, ранее принимавших аторвастатин в дозе 20 мг/сут, проводили исследование субпопуляционного состава лимфоцитов и моноцитов, а также экспрессии моноцитами хемокиновых рецепторов в динамике – через 7 суток после начала интенсивной терапии статинами (аторвастатин в дозе 80 мг/сут).

Имунофенотипирование клеток крови

Для исследования субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови образцы крови забирали в цитратный антикоагулянт и хранили не более 2 часов до иммунофенотипирования клеток.

Имунофенотипирование клеток проводили методом прямой иммунофлуоресценции с использованием флуоресцентно меченных (-FITC, -PE, -PC5, -APC) моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD25, CD45, CD56, CD127, CCR2, CX3CR1, CCR5 (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, eBioscience, Beckman Coulter). Лизис эритроцитов, «окрашивание» лейкоцитов проводили в соответствии с протоколами производителей. Флуоресценцию клеток измеряли методом цитофлуориметрии в потоке с помощью программного обеспечения CellQuestPro (FACS Calibur, Becton Dickinson Immunocytometry Systems) сразу после подготовки проб, используя одни и те же настройки прибора. Лимфоциты и моноциты выделяли по параметрам бокового светорассеяния и экспрессии CD45. Определяли количество CD3⁺-Т-клеток, включая CD4⁺- и CD8⁺-популяции, CD4⁺CD25^{high}CD127^{low} – регуляторных Т-клеток, CD19⁺-В-лимфоцитов, CD3-CD(16+56)⁺-NK-лимфоцитов, оценивали содержание субпопуляций моноцитов крови – CD14⁺CD16⁻ классических и CD14⁺CD16⁺-субпопуляции, включающей промежуточные и неклассические моноциты. Уровень экспрессии мембранных рецепторов оценивали по средней интенсивности флуоресценции (mean fluorescence intensity, MFI) клеток, окрашенных соответствующими антителами.

Статистическая обработка

Для описания распределений использовались медиана и интерквартильный размах (25-й–75-й процентиль). Для межгрупповых сравнений

Таблица 1. Сравнительная характеристика пациентов в зависимости от исходной терапии

Параметры	Пациенты, не принимавшие статины (n = 13)	Пациенты, принимавшие статины (n = 29)	P
Возраст, лет	49 [46; 61]	58 [53; 64]	0,08
Курение	8 (62%)	20 (70%)	0,64
ИМТ, кг/м ²	29,5 [27,5; 33,3]	28,0 [25,0; 30,0]	0,17
АГ	10 (77%)	25 (82,6%)	0,49
Прием бета-блокаторов	6 (47%)	19 (65,5%)	0,24
Прием иАПФ	10 (77%)	25 (82,6%)	0,49
Общий ХС, ммоль/л	5,9 [5,4; 6,9]	4,8 [4,1; 6,3]	0,03
ТГ, ммоль/л	1,16 [0,96; 1,29]	1,12 [0,93; 1,56]	0,57
ХС-ЛПНП, ммоль/л	2,89 [2,35; 3,33]	2,01 [1,91; 2,34]	0,07
ХС-ЛПВП, ммоль/л	1,21 [1,09; 1,63]	1,19 [0,96; 1,59]	0,57

Примечание: здесь и далее данные представлены как медианы и интерквартильный размах. ИМТ – индекс массы тела, АГ – артериальная гипертензия, иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, ХС – общий холестерин, ТГ – триглицериды, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности.

применялся U-критерий Манна – Уитни. Для сравнения непарных распределений порядковых и номинальных признаков использовались тест χ^2 или тест Фишера. Для исследования динамики показателей относительно исходных уровней применялся W-критерий Уилкоксона. В работе был использован пакет статистических программ Statistica 9.0. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

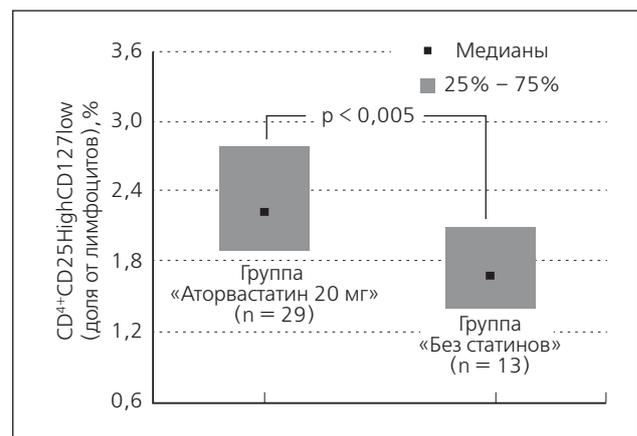
Результаты

Как следует из табл. 1, по основным клинико-анамнестическим характеристикам и частоте приема медикаментозной терапии, за исключением статинов, группы больных не различались. У больных, длительно принимавших аторвастатин 20 мг, на фоне ожидаемой положительной картины липидного профиля имело место большее содержание Т-рег (рис. 1).

По содержанию остальных субпопуляций Т-лимфоцитов и моноцитов крови группы были сопоставимы (табл. 2).

В дальнейшем у 10 пациентов с ИБС, принимавших аторвастатин 20 мг/сут, доза аторвастатина была увеличена до 80 мг/сут. В течение короткого срока (7 суток) высокоинтенсивной терапии аторвастатином было выявлено дальнейшее значимое нарастание содержания Т-рег (рис. 2А), при этом

Рис. 1. Анализ содержания регуляторных Т-клеток у пациентов, длительно принимавших аторвастатин 20 мг/сут, в сравнении с больными, не получавшими статины



Примечание: $CD4^+CD25^{high}CD127^{low}$ – регуляторные Т-лимфоциты

численность других популяций лимфоцитов не изменялась (табл. 3). Мы также не обнаружили различий в размерах классических и неклассических популяций моноцитов. Оценка уровня экспрессии рецепторов хемокинов моноцитами показала

Таблица 2. Сравнение показателей клеточного иммунитета у пациентов обеих групп

Показатель	Пациенты, принимавшие аторвастатин 20 мг (n = 29)	Пациенты, не принимавшие статины (n = 13)	P
Лейкоциты, млн/мл	7,6 [6,6; 8,6]	6,0 [5,5; 7,4]	0,10
Лимфоциты, %	28,4 [23,4; 33,6]	30,2 [26,4; 32,3]	0,43
Лимфоциты, млн/мл	2,13 [1,80; 2,53]	1,73 [1,54; 2,10]	0,10
CD3 ⁺ , %	69,8 [58,2; 75,2]	69,4 [65,2; 76,2]	0,62
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	41,7 [38,6; 44,0]	38,5 [32,4; 46,5]	0,13
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	26,7 [18,2; 31,0]	28,5 [26,3; 40,2]	0,19
CD3-CD(16+56) ⁺ , %	15,6 [11,5; 24,3]	17,2 [9,6; 20,5]	0,63
CD19 ⁺ , %	11,25 [7,23; 14,01]	10,12 [8,09; 12,60]	0,89
Моноциты, %	6,70 [5,56; 7,02]	7,02 [5,5; 8,02]	0,62
CD14 ⁺ CD16 ⁻ , %	83,5 [77,5; 87,10]	83,4 [80,3; 87,5]	0,75
CD14 ⁺ CD16 ⁺ , %	16,5 [11,5; 18,3]	16,6 [13,7; 18,3]	0,85

Примечание: содержание субпопуляций лимфоцитов выражено как процентное отношение к общим лимфоцитам, субпопуляций моноцитов – к общим моноцитам.

Таблица 3. Динамика показателей клеточного иммунитета на фоне недельной терапии аторвастатином 80 мг/сут

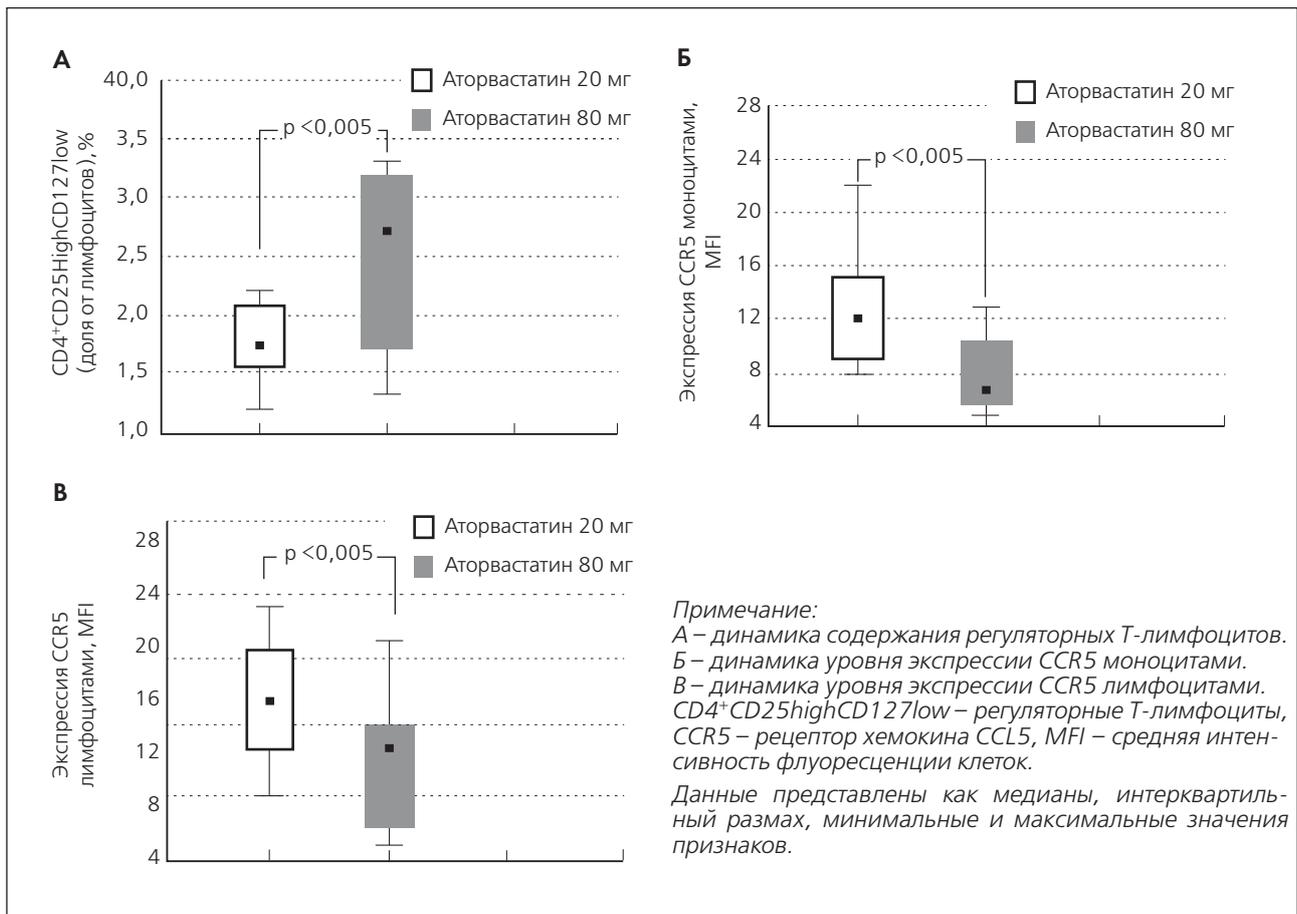
Показатель	Аторвастатин 20 мг/сут	Аторвастатин 80 мг/сут, 7 суток	P
Лимфоциты, тыс/мкл	2,01 [1,8; 2,4]	2,14 [1,8; 2,3]	>0,1
Лимфоциты, %	30,5 [27,0; 32,8]	30,0 [27,1; 34,9]	>0,1
CD3 ⁺ , %	63,0 [56,7; 73,0]	62,5 [58,2; 74,2]	0,1
CD4 ⁺ , %	40,5 [38,4; 43,5]	41,7 [35,6; 43,6]	>0,1
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	24,5 [17,9; 29,5]	23,5 [20,0; 29,9]	>0,1
CD3-CD(16+56) ⁺ , %	18,0 [14,5; 34,5]	24,75 [12,5; 36,75]	>0,1
CD19 ⁺ , %	12,2 [7,03; 19,85]	10,25 [8,23; 13,9]	>0,1
Моноциты, %	5,0 [3,88; 6,45]	5,65 [5,0; 6,0]	>0,1
CD14 ⁺ CD16 ⁻ , %	78,2 [72,75; 84,25]	82,5 [77,38; 84,8]	>0,1
CD14 ⁺ CD16 ⁺ , %	21,8 [14,0; 23,23]	17,5 [12,88; 23,35]	>0,1
CCR2 (MFI)	83,0 [62,3; 103,5]	70,5 [67,5; 77,0]	>0,1
CX3CR1 (MFI)	10,0 [9,4; 21,1]	7,1 [6,0; 15,3]	>0,1

снижение количества CCR5 на поверхности клеток, экспрессия молекул CX3CR1 и CCR2 существенно не изменялась (рис. 2Б, табл. 3). Следует отметить, что снижение экспрессии рецепторов CCR5 наблюдалось и в лимфоцитах (рис. 2В), при этом количество CCR5⁺-лимфоцитов достоверно не изменялось (данные не представлены).

Обсуждение

Лимфоциты регулируют выраженность воспаления в артериальной стенке и, таким образом, вовлечены в процессы инициации и прогрессирования атеросклероза. Регуляторные Т-лимфоциты являются основной субпопуляцией лимфоцитов,

Рис. 2. Динамика содержания регуляторных Т-клеток и экспрессии CCR5 моноцитами и лимфоцитами после увеличения дозы аторвастатина до 80 мг/сут в течение недели



осуществляющей гомеостаз иммунной системы за счет супрессорной активности по отношению к другим клеткам, в том числе эффекторным Т-лимфоцитам [30].

На сегодняшний день активно изучается роль Т-рег в прогрессировании атеросклероза различных сосудистых бассейнов. Многочисленными исследованиями подтверждено уменьшение содержания Т-рег в кровотоке при остром коронарном синдроме, по сравнению с пациентами со стабильной стенокардией и субъектами с интактными коронарными артериями [31–34]. Низкие уровни циркулирующих Т-рег ассоциированы с многососудистым атеросклеротическим поражением коронарных артерий у больных стабильной ИБС [7].

Механизмы реализации противовоспалительной активности регуляторных Т-лимфоцитов при атеросклерозе, по всей видимости, носят комплексный характер: данная субпопуляция клеток секретирует противовоспалительные цитокины [35–37], может снижать локальную концентрацию ИЛ-2, необходимого для реализации активности эффекторных клеток [38], препятствовать реализации цитолитической активности НК-клеток [39], воздействовать на моноциты и макрофаги [40, 41].

Статины являются ключевыми липидснижающими препаратами для лечения пациентов высокого риска с атеросклерозом различных сосудистых бассейнов. Блокируя ГМГ-КоА-редуктазу и синтез мевалоната в гепатоцитах, статины препятствуют синтезу холестерина. Помимо этого, ингибируется синтез ряда биологически активных производных мевалоната (изопентинилпирофосфат, геранилпирофосфат, фарнезилпирофосфат и др.), задействованных в регулировании клеточных функций (т.н. мевалонат-зависимые эффекты статинов). Мевалонат-независимые эффекты статинов также обусловлены их прямым взаимодействием с молекулами адгезии лимфоцитов, рецептором витамина D3 и рядом внутриклеточных факторов. Кроме того, статины ингибируют дифференцировку и активацию провоспалительных и проатерогенных лимфоцитов (Т-хелперы 17) и стимулируют образование Т-рег [42, 43]. На фоне приема статинов отмечено не только увеличение количества циркулирующих Т-рег [29, 44], но и содержание Т-рег в АСБ [45].

В настоящем исследовании мы продемонстрировали более высокие уровни регуляторных Т-клеток у пациентов с ИБС, длительное время принимавших аторвастатин 20 мг, по отношению

к пациентам, не принимавшим статины, что согласуется с представлениями об иммуномодулирующем действии аторвастатина. Дальнейшее значимое повышение содержания регуляторных Т-лимфоцитов в крови пациентов со стабильной стенокардией на фоне короткого курса высокоинтенсивной терапии аторвастатином 80 мг отражает дозозависимый эффект препарата на иммунологические показатели пациента. Полученные данные являются основанием для дальнейшего изучения иммуномодулирующих свойств статинов, используемых в настоящее время в клинике, в особенности с учетом их химических свойств, биодоступности, фармакокинетических характеристик.

Способность статинов снижать содержание воспалительных маркеров в крови пациентов общеизвестна [46]. Несмотря на то, что механизм противовоспалительного действия статинов в настоящее время продолжает оставаться предметом дискуссий, большинство исследователей сходится во мнении, что именно благодаря ему улучшается прогноз пациентов, независимо от липидснижающего действия этой группы препаратов [47]. Регуляторные Т-лимфоциты, взаимодействуя с другими субпопуляциями лейкоцитов в очаге воспаления, оказывают выраженное противовоспалительное действие [48]. Возможно, влияние статинов на соотношение различных про- и противовоспалительных субпопуляций лимфоцитов вносит свой вклад в реализацию антиатерогенного эффекта препаратов. На основании представленных нами результатов прослеживается четкая связь между повышением дозы аторвастатина и значимым увеличением содержания регуляторных Т-лимфоцитов в крови. Небольшое количество пациентов в группе не позволяет анализировать зависимость между содержанием в крови Т-рег и клиническим прогнозом, для этого требуются отдельные исследования, большие по объему и более длительные по продолжительности наблюдения.

Данные о влиянии статинов на фенотип моноцитов и на экспрессию рецепторов хемокинов лейкоцитами единичны. В культуре макрофагов человека было показано, что статины (симвастатин) способны мевалонат-зависимым путем подавлять экспрессию ряда хемокинов и хемокиновых рецепторов, включая CCR2 и CCR5 [49]. Аналогичное действие статинов было выявлено в культуре CD4⁺-Т-лимфоцитов, где ловастатин, мевастатин и симвастатин снижали экспрессию клетками CCL5 и CX3CR1 [50]. Однако эти данные пока не нашли однозначного подтверждения в исследованиях *in vivo*. Так, было выявлено, что у больных с ИБС, по сравнению с донорами без признаков заболевания, имеет место повышенное содержание

мРНК-рецепторов CCR1, CCR2 и CCR5 в лизатах мононуклеарных лейкоцитов, а прием пациентами в течение 6 месяцев аторвастатина (80 мг/сут) или симвастатина (20 мг/сут) сопровождается снижением содержания мРНК CCR1 и CCR2, но не CCR5 [51]. По данным Higuita E. A. et al. (2013 г.), ловастатин (40 мг/сут) или аторвастатин (20 мг/сут) при приеме в течение 45 суток не влияют на экспрессию CCR5 и CXCR4 лимфоцитами доноров [52].

В данном исследовании мы не выявили значимых различий в содержании классической и неклассической субпопуляций моноцитов крови у больных, принимавших аторвастатин 20 мг, и пациентов, не принимавших статины, а также существенного влияния высокоинтенсивной терапии аторвастатином 80 мг в течение 7 суток на субпопуляционный состав моноцитов, что также может объясняться малочисленностью групп. Однако было отмечено снижение экспрессии рецептора CCR5 моноцитами, а также лимфоцитами крови у больных, принимавших аторвастатин 80 мг/сут. Снижение экспрессии данных рецепторов может отражать подавление способности клеток к миграции в очаг воспаления, в том числе в АСБ.

Заключение

У больных стабильной ИБС, длительное время принимавших аторвастатин 20 мг, содержание в крови антиатерогенных регуляторных Т-клеток выше по сравнению с пациентами, не принимавшими статины, что согласуется с гипотезой об иммуномодулирующем действии статинов. Увеличение дозы аторвастатина у пациентов со стабильной стенокардией с 20 до 80 мг/сут в течение недели приводит к значительному повышению количества циркулирующих в крови регуляторных Т-лимфоцитов и снижению уровня экспрессии рецепторов CCR5 на поверхности моноцитов и лимфоцитов. Этот эффект аторвастатина может вносить вклад в реализацию антиатерогенного действия данной группы препаратов.

Конфликт интересов

Коллектив авторов декларирует об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J.* 1999;138(5):419–20.
2. National Cholesterol Education Program. Second report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). Bethesda, Md: National heart, lung, and Blood Institute, 1993. (NIH publication no. 93-3095).
3. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4 444 patients with coronary heart disease; the Scandinavian Simvastatin Survival study (4S). *Lancet.* 1994;344:1383–9.
4. Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:165–97.
5. Taleb S, Herbin O, Ait-Oufella H, Verreth W, Gourdy P. Defective leptin/leptin receptor signaling improves regulatory T cell immune response and protects mice from atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(12):2691–8.
6. Mallat Z, Taleb S, Ait-Oufella H, Tedgui A. The role of adaptive T cell immunity in atherosclerosis. *J Lipid Res.* 2009;50(Suppl):364–9.
7. Potekbina AV, Pylaeva EA, Provatorov SI, Ruleva NYu, Masenko VP, Noeva EA, Krasnikova TL, Arefieva TI. Treg/Tb17 balance in stable CAD patients with different stages of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2015;238:17–21.
8. Wigren M, Bjorkbacka H, Andersson L, Ljungcrantz I, Fredrikson GN, Persson M, Bryngelsson C, Hedblad B, Nilsson J. Low levels of circulating CD4+FoxP3+ T cells are associated with an increased risk for development of myocardial infarction but not for stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32:2000–4.
9. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003;299:1057–61.
10. Yarilin AA. Natural regulatory T cells. *Russian Medical Journal*, 2007;1:43–8. Russian (Ярилин АА. Естественные регуляторные Т-клетки. *Российский медицинский журнал*, 2007;1:43–8).
11. Hofmann HJ. CD4dimCD25bright Treg cell frequency above a standardized gating threshold are similar in asthmatics and control. *Cytometry.* 2007;71A:371–8.
12. Baecher Allan C, Brown JA, Freeman GJ, Hafler DA. CD4+CD25high regulatory cells in human peripheral blood. *J Immunol.* 2001;167:1245–53.
13. Liu W, Putnam AL, Xu Yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S, Gottlieb PA, Kapranov Ph, Thomas R, Gingeras TR, Fazekas de St Groth B, Clayberger C, Soper DM, Ziegler SF, Bluestone JA. CD127 expression inversely correlates with FOXP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *J Exp Med.* 2006;203:1701–11.
14. Chazov EI. *Guide to Cardiology Manual of Cardiology, Volume 1.* М: Practica; 2014. Russian (Чазов ЕИ. *Руководство по кардиологии, том 1.* М: Практика; 2014 г).
15. Kubtina NB, Arefieva TI, Arefieva AM, Akchurin RS, Krasnikova TL. Expression of chemokines and cytokines in atherosclerotic plaques and internal membrane of the arteries in patients with coronary artery disease. *Ter Arkh.* 2008;80(4):63–9. Russian (Кухтина НБ, Арефьева ТИ, Арефьева АМ, Акчури РС, Красникова ТЛ. Экспрессия хемокинов и цитокинов в атеросклеротических бляшках и интиме артерий у больных ИБС. *Терапевтический архив* 2008;80(4):63–9).
16. Imai T, Hieshima K, Haskell C, Baba M, Nagira M, Nishimura M, Kakizaki M, Takagi S, Nomiyama H, Schall TJ, Yoshie O. Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion. *Cell.* 1997;91:521–30.
17. Combadiere C, Potteaux S, Gao JL, Esposito B, Casanova S, Lee EJ, Debre P, Tedgui A, Murphy PM, Mallat Z. Decreased atherosclerotic lesion formation in CX3CR1/apolipoprotein E double knockout mice. *Circulation.* 2003;107:1009–16.
18. Teupser D, Pavlides S, Tan M, Gutierrez-Ramos JC, Kolbeck R, Breslow JL. Major reduction of atherosclerosis in fractalkine (CX3CL1)-deficient mice is at the brachiocephalic artery, not the aortic root. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:17795–800.
19. Tabas I, Williams KJ, Boren J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation.* 2007;116(16):1832–44.
20. Ziegler-Heitbrock L, Hofer TP. Toward a refined definition of monocyte subsets. *Front Immunol.* 2013;4:23. doi: 10.3389/fimmu.
21. Hristov M, Schmitz S, Nauwelaers F, Weber C. A flow cytometric protocol for enumeration of endothelial progenitor cells and monocyte subsets in human blood. *J Immunol Methods.* 2012;381(1–2):9–13.
22. Merino A, Buendia P, Martin-Malo A, Aljama P, Ramirez R, Carracedo J. Senescent CD14+CD16+ monocytes exhibit proinflammatory and proatherosclerotic activity. *J Immunol.* 2011;186(3):1809–15.
23. Belenkov YN, Sergienko IV, Lyakishev AA, Kukharchuk VV. Statins in current cardiology practice. М. 2007;64:17–31. Russian (Беленков ЮН, Сергиенко ИВ, Лякишев АА, Кухарчук ВВ. Статины в современной кардиологической практике. М. 2007;64:17–31).
24. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1712–9.

25. Lefer AM, Scalia R, Lefer DJ. Vascular effects of HMG CoA-reductase inhibitors (statins) unrelated to cholesterol lowering: new concepts for cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2001;49:281-7.
26. Haendeler J, Hoffmann J, Zeiber AM, Dimmeler S. Antioxidant Effects of Statins via S-Nitrosylation and Activation of Thioredoxin in Endothelial Cells. A Novel Vasculoprotective Function of Statins. *Circulation.* 2004;110:856-61.
27. Dichtl W, Dulak J, Frick M, Alber HF, Schwarzscher SP, Mikko PS, Ares, Nilsson J, Pachinger O, Weidinger F. HMG-CoA Reductase Inhibitors Regulate Inflammatory Transcription Factors in Human Endothelial and Vascular Smooth Muscle Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:58-63.
28. Mausner-Fainberg K, Luboshits G, Mor A, Maysel-Auslender S, Rubinstein A, Keren G, George J. The effect of HMG-CoA reductase inhibitors on naturally occurring CD4+CD25+ T cells. *Atherosclerosis.* 2008;197:829-39.
29. Rodriguez-Perea A-L, Carlos J. Montoya, Olek S, Chougnnet CA, Velilla PA. Statins Increase the Frequency of Circulating CD4+FOXP3 Regulatory T Cells in Healthy Individuals. *Journal of Immunol. Research.* 2015, Article ID 762506.
30. Mallat Z, Taleb S, Ait-Oufella H, Tedgui A. The role of adaptive T cell immunity in atherosclerosis. *J Lipid Res.* 2009;50(Suppl):364-9.
31. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002;105(9):1135-43.
32. Mor A, Luboshits G, Planer D, Keren G, George J. Altered status of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in patients with acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2006;27(21):2530-7.
33. Zhao YQ, Fu Q, Li ZL, Yan QN, Wu HC, Miao F, Lu YH, Liu YF. Changes of CD4+CD28- T cell and CD4+CD25+ regulatory T cell subsets in patients with coronary heart disease. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2007;27(4):474-6.
34. Zhao Z, Qi YZ, Yuan ZY, Cheng ML, Ji YQ, Yang XB. Changes of Foxp3(+); regulatory T cells in patients with acute coronary syndrome. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* 2011;27(8):893-5.
35. Cools N, Ponsaerts P, Van Tendeloo VF, Berneman ZN. Regulatory T cells and human disease. *Clin Dev Immunol.* 2007;2007:891-5.
36. Taleb S, Tedgui A, Mallat Z. Regulatory T cell immunity and its relevance to atherosclerosis. *Intern Med.* 2008;263:489-99.
37. Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, Boyd K, Wang Y, Vignali KM, Cross R, Seby D, Blumberg RS, Vignali DA. The inhibitory cytokine IL 35 contributes to regulatory T cell function. *Nature.* 2007;450:566-9.
38. De la Rosa M, Rutz S, Dorninger H, Scheffold A. Interleukin 2 is essential for CD4+CD25+ regulatory T cell function. *Eur. J Immunol.* 2004;34:2480-8.
39. Cao X, Cai SF, Febniger TA, Song J, Collins LI, Piwnica-Worms DR, Ley TJ. Granzyme B and perforin are important for regulatory T cell mediated suppression of tumor clearance. *Immunity.* 2007;27:635-46.
40. Tiemessen MM, Jagger AL, Evans HG, van Herwijnen MJ, John S, Taams LS. CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells induce alternative activation of human monocytes/macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007;104:19446-51.
41. Taams LS, Akbar AN. Peripheral generation and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2005;293:115-31.
42. Miida T, Hirayama S, Nakamura Y. Cholesterol-independent effects of statins and new therapeutic targets: ischemic stroke and dementia. *J Atheroscler Thromb.* 2004;11:253-64.
43. Ulivieri C, Baldari CT. Statins: from cholesterol-lowering drugs to novel immunomodulators for the treatment of Th17-mediated autoimmune diseases. *Pharmacol Res.* 2014;88:41-52.
44. Hu Z, Li D, Hu Y, Yang K. Changes of CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with acute coronary syndrome and the effects of atorvastatin. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci.* 2007;27(5):524-7.
45. Meng X, Zhang K, Li J, Dong M, Yang J, An G, Qin W, Gao F, Zhang C, Zhang Y. Statins induce the accumulation of regulatory T cells in atherosclerotic plaque. *Mol Med.* 2012;18:598-605.
46. Kinlay S, Schwartz GG, Olsson AG, Rifai N, Leslie SJ, Sasiela WJ, Szarek M, Libby P, Ganz P. High-dose atorvastatin enhances the decline in inflammatory markers in patients with acute coronary syndromes in the MIRACL study. *Circulation.* 2003;108(13):1560-6.
47. Van der Meij E, Koning GG, Vriens PW, Peeters MF, Meijer CA, Lindeman JH. A clinical evaluation of statin pleiotropy: statins selectively and dose-dependently reduce vascular inflammation. *PLoS One.* 2013;8(1):53882.
48. Jacques Zimmer, Emmanuel Andrus, Francois Hentges. NK cells and Treg cells: A fascinating dance cheek to cheek. *European Journal of Immunology.* 2008;38:2942-5.

49. Veillard NR, Braunersreuther V, Arnaud C, Burger F, Pelli G, Steffens S, Mach F. Simvastatin modulates chemokine and chemokine receptor expression by geranylgeranyl isoprenoid pathway in human endothelial cells and macrophages. *Atherosclerosis*. 2006;188(1):51-8.
 50. Nabatov AA, Pollakis G, Linnemann T, Paxton WA, de Baar MP. Statins disrupt CCR5 and RANTES expression levels in CD4(+) T lymphocytes in vitro and preferentially decrease infection of R5 versus X4 HIV-1. *PLoSOne*. 2007;2(5):470.
 51. Waebre T, Damas JK, Gullestad L, Holm AM, Pedersen TR, Arnesen KE, Torsvik H, Froland SS, Semb AG, Aukrust P. Hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors down-regulate chemokines and chemokine receptors in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(9):1460-7.
 52. Higuera EA, Jaimes FA, Rugeles MT, Montoya CJ. In vivo effect of statins on the expression of the HIV co-receptors CCR5 and CXCR4. *AIDS Res Ther*, 2013, May; 10:10. DOI: 10.1186/1742-6405-10-10.
-