

## КЛЕТКИ ЭНДОТЕЛИЯ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПРИЖИЗНЕННО ПРИ АНГИОПЛАСТИКЕ (ВНУТРИСОСУДИСТОЙ БИОПСИИ)

© А. В. Тарасов,<sup>1,\*</sup> В. Ю. Кравцов,<sup>2</sup> В. Н. Хирманов,<sup>1</sup> В. Н. Эллиниди,<sup>1</sup> К. Василёв<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, 197345,*

<sup>2</sup> *Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, 194044,*  
<sup>3</sup> *Риггоспиталь, Копенгаген, Дания;*

\* *электронный адрес: tarasovmed@gmail.com*

Актуальность исследования обусловлена нерешенной проблемой атеросклероза, вызывающего наибольшую часть инвалидностей и смертей. Определенное значение в его инициации, прогрессировании и дестабилизации отводится эндотелию, подверженному патологическим влияниям различных факторов. Прижизненно клетки эндотелия *in situ* у больных атеросклерозом было невозможно получить и соответственно охарактеризовать их цитологические особенности. В настоящей работе клетки эндотелия получали при ангиопластике коронарных артерий у 64 больных различными клиническими формами ишемической болезни сердца. Зондом для биопсии выступал баллонный катетер. Клеточные препараты эндотелия готовили, используя принципы жидкостной цитологии. Получены безъядерные, ядросодержащие полигональные клетки, их пласты, имеющие иммунофенотип CD31<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>, CD105<sup>+/-</sup>, PanCk<sup>+/-</sup>, CD45<sup>-</sup>, CD6<sup>-</sup>, а также апоптотические тельца эндотелиоцитов. Подтверждена принадлежность данных клеток к эндотелию и обоснована возможность дальнейших цитологических исследований с целью изучения этиопатогенеза атеросклеротических процессов.

**Ключевые слова:** клетки эндотелия, атеросклероз, коронарные артерии, ангиопластика, внутрисосудистая биопсия, иммуноцитохимия.

Нерешенной, а поэтому актуальной проблемой является атеросклероз — хроническое заболевание, с которым связана наибольшая часть инвалидностей и смертей (Go et al., 2013; Murray, Lopez, 2013). При атеросклерозе в артериях эластического и мышечно-эластического типов, постепенно увеличиваясь, сменяя одну стадию своего формирования другой (Stary et al., 1995) и суживая просвет сосуда, образуются атеросклеротические бляшки (Ross, Glomset, 1976). Определенное значение в инициации, прогрессировании и дестабилизации атеросклероза придают эндотелиоцитам — клеткам интимы, на которые при данном заболевании действуют различные неблагоприятные факторы. В частности, такое грозное осложнение атеросклероза, как тромбоз артерии, в трети случаев развивается из-за эрозии фиброзных капсул атером, а в двух третях — из-за ее разрывов (Stary et al., 1995; Crawford et al., 2010). Однако происходящие патологические процессы не изучены до конца, поскольку прежде всего нет способов получения эндотелиоцитов от больных атеросклерозом *in vivo* и *in situ* с целью дальнейших исследований.

В настоящее время для прижизненного цитологического изучения доступны только циркулирующие в крови эндотелиоциты, а также косвенная оценка функций этих клеток. Так, в 1968 г. опубликованы результаты изучения эндотелиоцитов, циркулировавших в крови кроликов по-

сле введения им эндотоксина (Gaynor et al., 1968). Принципы описанного в данной работе метода получения эндотелиоцитов позволили авторам другой работы, применительно к кардиологической практике, обнаружить увеличение количества этих клеток в крови больных инфарктом миокарда в сравнении с больными стабильной стенокардией (Hladovec et al., 1978). В итоге к началу XXI в. благодаря использованию различных методов (выделения, типирования и подсчета) циркулирующих в крови эндотелиоцитов было установлено, что превышение числа этих клеток свыше 4 в 1 мл крови — показатель дестабилизации ишемической болезни сердца (Mutin et al., 1999; Lampka et al., 2010; Damani et al., 2013), что свидетельствует об активации атеросклеротических процессов в коронарных артериях, которые сопровождаются десквамацией эндотелиоцитов и попаданием их в системный кровоток.

О функциональном же состоянии эндотелия косвенно судят по результатам определения концентрации в крови молекул межклеточной адгезии, цитокинов, опосредующих локальное сосудистое воспаление, и других биохимических маркеров (Higashi, 2015). Помимо лабораторных известны инструментальные методы оценки функции эндотелия, например оценка влияния интракоронарного введения вазоактивных веществ (ацетилхолина, нитроглицерина) на изменения коронарного кровотока, кото-

рые регистрируются при коронарографии или с использованием ультразвуковых внутрисосудистых датчиков (Ganz et al., 2009). Однако ни подсчет циркулирующих в крови эндотелиоцитов и определение концентрации различных молекулярных маркеров функций эндотелия, ни применение инструментальных методов оценки регуляции сосудистого тонуса не дают возможности получать и изучать эндотелиоциты непосредственно из определенного участка артериального русла, пораженного атеросклерозом.

Гистологические особенности эндотелия представлены в трудах акад. А. А. Заварзина и его коллег еще в первой половине XX в. По их данным, нормальный эндотелий схож с однослойным плоским эпителием и является пластом, состоящим из отдельных клеток. Эндотелиоциты — тонкие клетки неправильной формы (вытянутые, веретенообразные, округлые), различающиеся длиной. Большинство эндотелиоцитов имеет одно ядро, реже встречаются клетки без ядер. Безъядерные эндотелиоциты представляют собой клетки, закончившие жизненный цикл и отмирающие. Эндотелиоциты способны соединяться друг с другом и образовывать пласты. При действии на эндотелий неблагоприятных факторов морфологические свойства эндотелиоцитов изменяются, и они могут становиться трудно отличимыми от фибробластов. Эндотелиоциты крупных артерий — высокоспециализированные, утратившие способность к метаморфозам клетки (Заварзин, Румянцев, 1946; Заварзин, 1953).

В настоящей работе эндотелиоциты удалось получить в ходе баллонной ангиопластики — хорошо известной, доступной и распространенной процедуры устранения атеросклеротических стенозов коронарных артерий. В настоящее время в странах Европы она применяется с частотой 100—400 на  $10^4$  человек в год ([http://ec.europa.eu/eurostat/statisticsexplained/index.php/Cardiovascular\\_diseases\\_statistics](http://ec.europa.eu/eurostat/statisticsexplained/index.php/Cardiovascular_diseases_statistics)). Однако об использовании баллонных катетеров для получения цитологических образцов эндотелиоцитов артерий известно мало. В литературе есть лишь одна публикация (Sprecher et al., 1989). В этой работе для приготовления препаратов клетки, смытые с поверхностей баллонных катетеров, фиксировали в расплавленном парафине. После его охлаждения из блоков готовили срезы. Клетки и неклеточные элементы в приготовленных таким образом препаратах располагались хаотично, а не монослоем, что затруднило оценку их цитоморфологических свойств, поэтому после 1989 г. изучение эндотелиоцитов, полученных баллонными катетерами, не проводили.

Цель настоящей работы состояла в прижизненном получении и характеристике клеток эндотелия коронарных артерий, пораженных атеросклерозом. Для достижения цели потребовалось разработать способ внутрисосудистой биопсии и приготовления препаратов биоптатов, а также цитоморфологически и иммуноцитохимически охарактеризовать полученные клетки эндотелия.

### Материал и методика

В исследование были включены только пациенты, давшие добровольное информированное согласие на участие в нем. Используемые в работе методы соответствовали этическим нормам и были одобрены на заседании независимого этического комитета при Всероссийском центре экстренной и радиационной медицины

им. А. М. Никифорова МЧС России (ВЦЭРМ, Санкт-Петербург).

Всего обследовали 64 больных коронарным атеросклерозом в возрасте от 34 до 88 лет (в среднем 63 г.) — 37 мужчин и 27 женщин, 6 больных каротидным атеросклерозом в возрасте от 58 до 88 лет (в среднем 62 г.) — 3 мужчин и 3 женщины. Они находились на стационарном лечении во ВЦЭРМ в период с декабря 2012 по сентябрь 2015 г. Больным коронарным атеросклерозом по показаниям была выполнена ангиография, ангиопластика со стентированием коронарных артерий (Wijns et al., 2010).

Поскольку баллонные катетеры применяли не только в качестве хирургического инструмента для ангиопластики, но и зонда для биопсии, то после завершения процедуры их не уничтожали как отходы класса «В», а помещали в 20 мл стерильного фосфатно-солевого буферного раствора и доставляли в лабораторию. При помощи шприца, соединенного с воздуховодом, их расправляли воздухом и несколько раз встряхивали в контейнере. После отмывания баллонные катетеры утилизировали, полученную суспензию клеток коронарных артерий разливали в 2 пробирки. Пробирки центрифугировали в роторной центрифуге со скоростью 1000 об/мин (111.8 g) в течение 10 мин. По окончании центрифугирования надосадочную 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 стекла накрывали фильтровальной бумагой, помещали в цитобаке-ты и фиксировали зажимами. Четыре цитобаке-ты, заряженных предметными стеклами, помещали в цитоцентрифугу. По 0.125—0.25 мл суспензии из каждой пробирки помещали в заряженные цитобаке-ты и центрифугировали со скоростью 1000 об/мин (55 g) в течение 5 мин. После смывания с 1-го использованного баллонного катетера было возможно приготовить четыре препарата клеток на предметных стеклах, из них по одному использовали в цитологическом и иммуноцитохимическом исследованиях. Поскольку шести из 64 больных коронарным атеросклерозом одномоментно была выполнена ангиопластика двух коронарных артерий, всего было получено 70 смывов с баллонных катетеров.

Цитологические препараты иссеченных атером сонных артерий были препаратами сравнения. Их дополнительно готовили для определения качественного соответствия внутрисосудистых биоптатов, полученных при ангиопластике коронарных артерий, цитологическим образцам пораженных атеросклерозом артерий, а также для выяснения происхождения полигональных безъядерных клеток при атеросклерозе.

Больным каротидным атеросклерозом по показаниям была выполнена эверсионная каротидная эндартерэктомия (Brott et al., 2011). Иссеченные в ходе этих вмешательств по границе медиа—адвентиция измененные участки артерий помещали в контейнер с фосфатно-солевым буферным раствором и доставляли в лабораторию, где наружные поверхности и внутренние просветы биоптатов промывали аналогичным стерильным фосфатно-солевым буфером при помощи шприца.

Операция каротидная эндартерэктомия не предполагает манипуляций, приводящих к давлению на клетки внутренней выстилки артерий, и в просвет сонных артерий не вводится рентгеноконтрастное вещество, как это происходит при баллонной ангиопластике. Поэтому вли-

ание механического (давления) и химического (контрастного вещества) факторов на изучаемые клетки эндотелия сонных артерий было исключено.

Клетки эндотелия сонных артерий получали несколькими способами. Сначала их забирали с поверхностей интимы универсальными зондами, предназначенными для взятия урогенитальных образцов. После этого, прокатывая щеточки зондов по поверхностям предметных стекол, готовили препараты мазков эндотелия. Затем инцизионные биоптаты ножницами рассекали вдоль и производили отпечатки продольных срезов атеросклеротически измененных артерий на предметных стеклах.

Для цитологического исследования 70 цитологических препаратов коронарных и 6 препаратов сонных артерий окрашивали Азур-2-Эозином по методу Май-Грюнвальда: стерильной пипеткой препараты на слайдах заливали красителем. По прошествии 3 мин краситель сливали. Стерильной пипеткой набирали по 1 мл Азура 2 и разбавляли дистиллированной водой до 20 мл. Раствор красителя наносили на предметные стекла и выдерживали в течение 10 мин, после чего также сливали. Предметные стекла промывали под проточной водой. После высушивания в течение 30 мин окрашенные препараты были готовы для изучения.

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), которая включала в себя нормальную неиммунную лошадиную сыворотку, вторые биотинилированные универсальные антикроличьи/мышинные IgG (R. T. U.) и авидин-биотин-пероксидазный комплекс ABC (R. T. U.).

В качестве первых антител использовали следующие 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).

Среди 70 клеточных препаратов, приготовленных из смывов с баллонных катетеров, по 15 окрашивали с помощью антител к CD31, CD34 и CD105 (45 препаратов), по 10 — с помощью антител к CD45 и CD68 (20 препаратов) и 5 препаратов — с применением антител к PanCK. По 2 клеточных препарата, приготовленных из биоптатов сонных артерий, окрашивали с помощью антител к CD31, CD34 и CD105.

Перед началом иммуноцитохимической реакции препараты фиксировали в растворе спирта и ацетона в соотношении 1 : 1 в течение 10 мин. После фиксации информативную область на стеклах обводили микрофобным карандашом. Блокирование эндогенной пероксидазы проводили в течение 10 мин, используя 3%-ный раствор перекиси водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Инкубацию с первыми антителами проводили в течение 1 ч при 37 °С. Иммуноцитохимическую реакцию выполняли по стандартной методике (Эллиниди, Аникеева, 2011). Иммуноцитохимическую реакцию проявляли диаминобензидином (DAB kit; Dako, Дания), препараты докрасивали гематоксилином и оценивали с помощью микроскопа Leica DM 4000 (Германия), используя иммерсионный объектив с увеличением 100×. За положительный результат иммуноцитохимической реакции принималось коричневое окрашивание ци-

топлазмы и мембраны клеток, оценку которой проводили с учетом негативного и позитивного (на специфичность) внутреннего контролей.

## Результаты и их обсуждение

При микроскопии в 70 препаратах внутрисосудистых биоптатов всего было обнаружено 2690 эндотелиоцитов или их пластов и 381 апоптотическое тельце эндотелиоцитов. Неклеточные элементы пораженных атеросклерозом коронарных артерий (соединительнотканное волокно и клеточный детрит ядер атером с кристаллическими холестеринными включениями) были выявлены в 52 препаратах.

Фон из эритроцитов, которые либо почти полностью покрывали поля зрения, либо обнаруживались в виде единичных клеток, присутствовал в 39 биоптатах, в 31 случае кровяного фона не было. Разрушенные и целые лейкоциты присутствовали в препаратах только вместе с эритроцитами. Их было около 35 000.

Существенным оказалось то, что в каждом из 70 препаратов были обнаружены эндотелиоциты. В среднем в одном препарате биоптата коронарной артерии удавалось обнаружить 16 клеток эндотелия или их пластов. При микроскопическом исследовании пластов, окрашенных по Май-Грюнвальду, в большинстве случаев не удавалось визуализировать межклеточные соединения, поэтому пласты наряду с отдельно расположенными эндотелиоцитами являлись единицами статистического учета. Поскольку из смыва с одного баллонного катетера готовили 4 препарата, можно считать, что в ходе баллонной ангиопластики к поверхности баллонного катетера адгезирует приблизительно 64 эндотелиоцита или их пласта.

Чаще клетки эндотелия в биоптатах были представлены плоскими полигональными (гексапентагональными), с заостренными, а реже — скругленными гранями цитоплазмы безъядерными клетками размером от 35 до 50 мкм. Они были обнаружены во всех биоптатах. В 38 % случаев указанные клетки прокрашивались базофильно (рис. 1, колонки 1—2), в 62 % — оксифильно (рис. 1, колонки 3—4). Цитоплазма указанных клеток тонкая, и через нее можно видеть лежащие ниже эритроциты. С меньшей частотой, чем полигональные безъядерные клетки, 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, колонки 6—7). Следующими по частоте встречаемости во внутрисосудистых биоптатах были полигональные ядро-содержащие клетки (рис. 1, колонка 1), которые располагались как отдельно, так и в пластах (рис. 2), прокрашивались как базофильно, так и оксифильно. Их цитоплазма, размеры и форма не отличались от таковых у полигональных безъядерных клеток (см. таблицу).

Таким образом, при ангиопластике к поверхностям баллонных катетеров адгезируют эндотелиоциты — плоские полигональные клетки с тонкой цитоплазмой, располагающиеся в препаратах чаще отдельно, реже — в пластах. Они преимущественно безъядерные, с оксифильным характером окраски цитоплазмы. К эндотелиоцитам их возможно отнести потому, что цитоморфологические характеристики данных клеток соответствуют характеристикам плоского эпителия, а также вследствие того, что

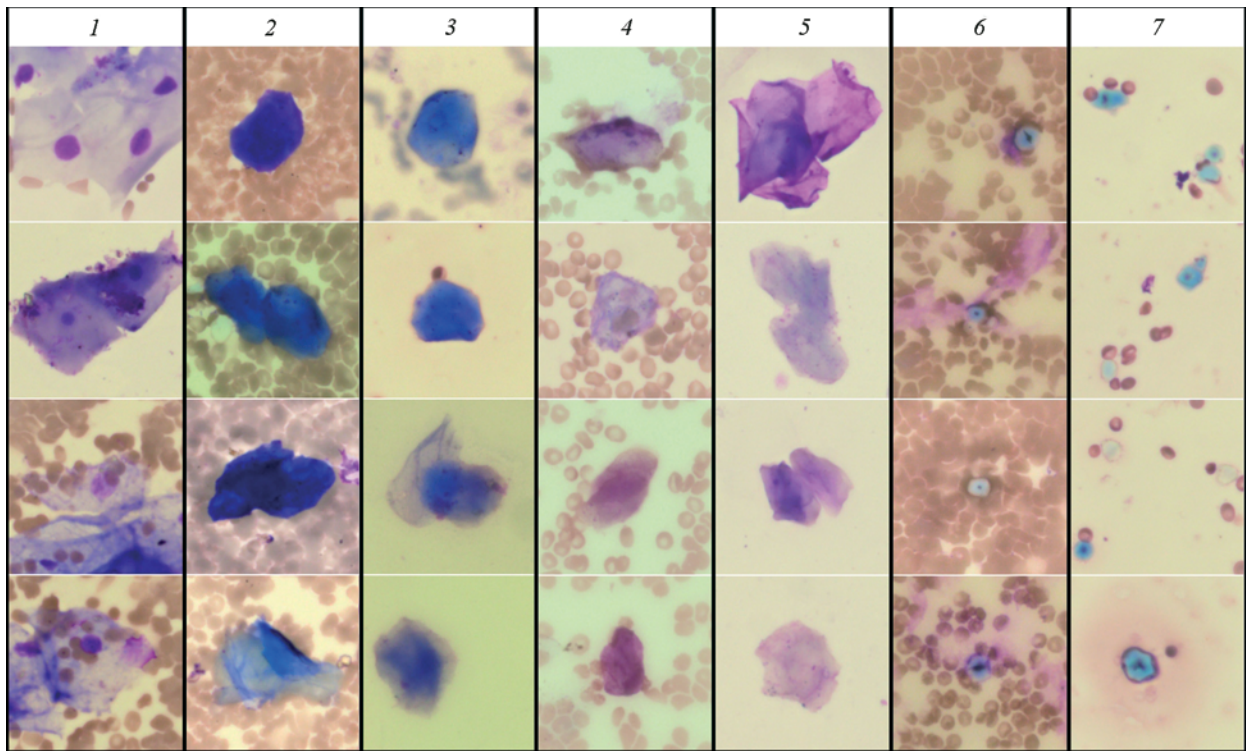


Рис. 1. Эндотелиоциты и апоптотические тельца эндотелиоцитов в препаратах внутрисосудистых биоптатов коронарных артерий, пораженных атеросклерозом.

Колонки: 1 — ядросодержащие базофильно окрашенные клетки; 2—3 — безъядерные базофильно окрашенные клетки с кровяным фоном и без него; 4—5 — безъядерные оксифильно окрашенные клетки с кровяным фоном и без него; 6—7 — базофильно окрашенные апоптотические тельца с кровяным фоном и без него. Окрашивание по Май-Грюнвальду. Об. 100×.

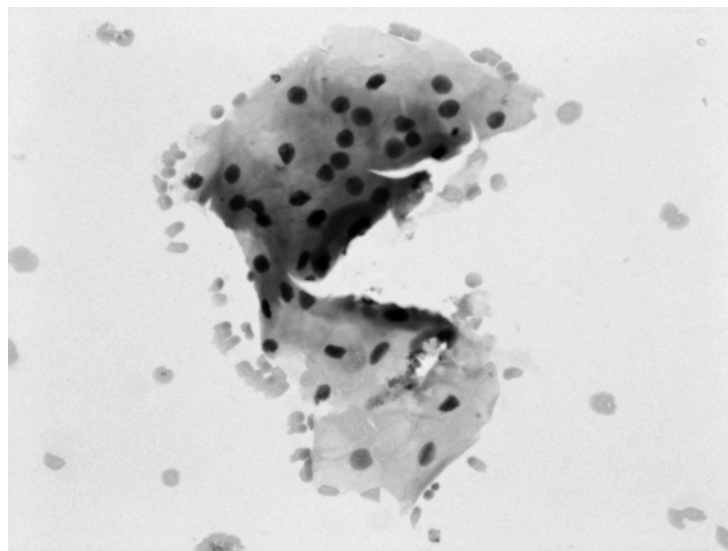


Рис. 2. Пласт ядросодержащих базофильно окрашенных клеток в препарате внутрисосудистого биоптата коронарной артерии, пораженной атеросклерозом.

Окраска по Май-Грюнвальду. Об. 100×.

**Характеристика клеток и неклеточных элементов в 70 препаратах внутрисосудистых биоптатов коронарных артерий, пораженных атеросклерозом**

Клетки и элементы	Характеристика				
	изменения ядер	пласты и единичные клетки	окраска	общее число в 70 препаратах ВСБ	доля эндотелиоцитов от всех клеток эндотелия и АТ, %
Полигональные клетки эндотелия	С ядрами, в том числе с явлениями дегенерации	Пласты	ОФ	2	0.07
		Единичные клетки	БФ	7	0.23
			ОФ	61	2
	Без ядер	Пласты	БФ	46	1.5
			ОФ	74	24
		Единичные клетки	ОФ	1536	50
АТ эндотелиоцитов	Ядер нет. Содержат хроматин	То же	БФ	862	28
Неклеточные элементы фиброзных капсул атером	Волокна соединительной ткани		БФ/ОФ	381	12
					139

Примечание. ВСБ — внутрисосудистый биоптат, АТ — апоптотические тельца, ОФ — оксифильная, БФ — базофильная.

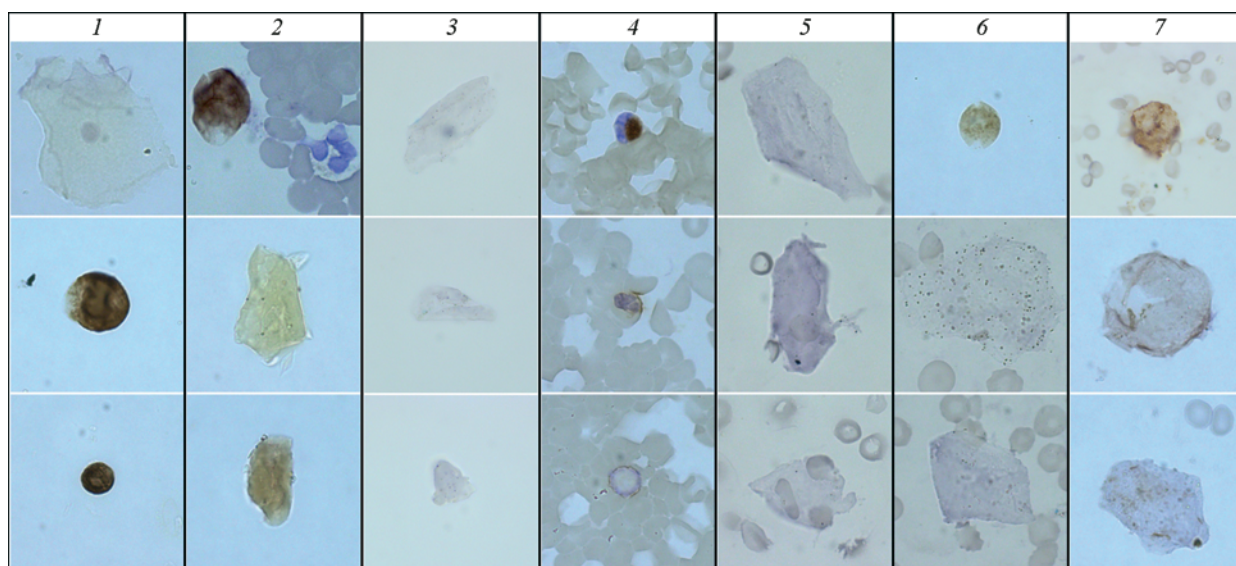


Рис. 3. Клетки в препаратах внутрисосудистых биоптатов коронарных артерий, пораженных атеросклерозом, окрашенные по иммуноцитохимической методике.

Колонки: 1 — CD31<sup>+</sup>-клетки, 2 — CD34<sup>+</sup>-клетки, 3 — CD45<sup>-</sup>-клетки, 4 — CD45<sup>+</sup>-лейкоциты, 5 — CD68<sup>-</sup>-клетки, 6 — слабопозитивные CD105-клетки, 7 — позитивные и негативные PanCk-клетки. Об. 100×.

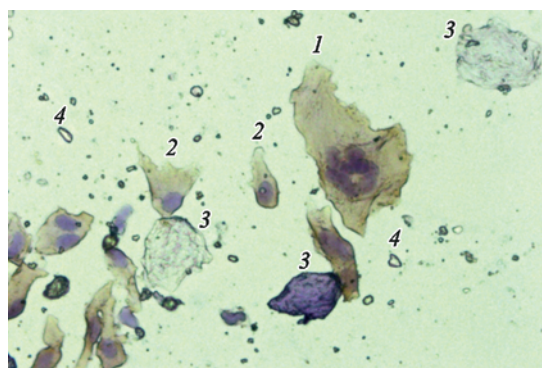


Рис. 4. Клетки в препаратах инцизионных биоптатов сонных артерий, пораженных атеросклерозом, окрашенные по иммуноцитохимической методике.

1 — CD34<sup>+</sup>-многоядерный пласт, 2 — CD34<sup>+</sup>-одноядерный эндотелиоцит, 3 — CD34<sup>-</sup>-безъядерная клетка, 4 — кристалл холестерина. Об. 40×.

они были получены непосредственно из просветов коронарных артерий.

Наряду с эндотелиоцитами к баллонным катетерам во время ангиопластических процедур адгезируют эритроциты, разрушенные и целые лейкоциты, соединительнотканное волокно капсул атером и клеточный детрит некритических ядер атеросклеротических бляшек.

Иммуноцитохимическое исследование плоских полигональных клеток, обнаруженных в биоптатах коронарных артерий, показал, что они имеют иммунофенотип CD31<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>, CD105<sup>+/−</sup>, PanCk<sup>+/−</sup>, CD45<sup>−</sup> и CD68<sup>−</sup> (рис. 3). 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.

Как и во внутрисосудистых биоптатах коронарных, в 6 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. Соединительнотканное волокно, клеточный детрит ядер атером с кристаллическими холестериновыми включениями зачастую покрывали все поля зрения.

Многоядерные пласты в препаратах сонных артерий экспрессировали эндотелиальные маркеры. От пластов цитоплазма сепарировалась полигональными частями. Эндотелиоцит в конце жизненного цикла — полигональная безъядерная клетка, на которой происходит дегенерация антигенов (рис. 4).

Анализ внутрисосудистых коронарных биоптатов и сопоставление их с инцизионными биоптатами сонных артерий показали, что в эндотелии артерий, пораженных атеросклерозом, образуются пласты этих клеток. Полигональные безъядерные клетки в данных биоптатах являются эндотелиоцитами, закончившими жизненный цикл, или частями цитоплазмы эндотелиальных пластов. Эндотелиоциты могут погибать при реализации механизмов апоптоза.

Образование безъядерных эндотелиоцитов и апоптотических телец эндотелиоцитов происходит и вне связи с механическим воздействием баллонных катетеров, химическим воздействием рентгеноконтрастного вещества на стенки артерий при ангиопластике коронарных артерий, под влиянием которых мы получали внутрисосудистые биоптаты.

Результаты нашей работы отчасти характеризуют изменения, происходящие с эндотелиоцитами при атеросклерозе. В дальнейшем полученные при внутрисосудистой биопсии эндотелиоциты можно будет рассматривать в качестве мишеней действия различных (например, вирусных или бактериальных) патологических факторов *in situ*. Детальный анализ соотношения количества клеток эндотелия и лейкоцитов крови во внутрисосудистых биоптатах даст возможность судить и о выраженности воспаления при атеросклерозе в конкретном участке артериального русла.

#### Список литературы

- Zavarzin A. A. 1953. Избранные труды. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 4 : 717 с. (Zavarzin A. A. 1953. Selected works. Essays on the evolutionary histology of blood and connective tissue. Moscow—Leningrad: Publ. House of the Acad. of Sci. of USSR. 4 : 717 p.)
- Zavarzin A. A., Rumiantssev A. V. 1946. Курс гистологии. М.: МЕДГИЗ. 723 с. (Zavarzin A. A., Rumiantssev A. V. 1946. Course of histology. Moscow: MEDGIZ. 723 p.)
- Эллиниди В. Н., Анисеева Н. В. 2011. Практическая иммуногистоцитохимия: теория и практика. Методические рекомендации. СПб.: Политехника-сервис. 44 с. (Ellinidi V. N., Anisееva N. V. 2011. Practical immunohistochemistry: theory and practice. Methodological recommendations. St.-Petersburg: Polytechnic-service. 44 p.)
- Brott T. G., Halperin J. L., Abbara S., Bacharach J. M., Barr J. D., Bush R. L., Cates C. U., Creager M. A., Fowler S. B., Friday G., Hertzberg V. S., McIff E. B., Moore W. S., Panagos P. D., Riles T. S., Rosenwasser R. H., Taylor A. J. 2011. ASA/ACCF/AHA/AANN/AANS/ACR/ASNR/CNS/SAIP/SCAI/SIR/SNIS/SVM/SVS Guideline on the management of patients with extracranial carotid and vertebral artery disease. *Circulation*. 124 : e54—e130.
- Crawford M. H., DiMarco J. P., Paulus W. J. 2010. *Cardiology*. Philadelphia: Elsevier. 1953 p.
- 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. 2013. Characterization of circulating endothelial cells in acute myocardial infarction. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3589570>.
- Ganz P., Ho J. E., Hsue P. Y. 2009. Structural and functional manifestations of human atherosclerosis: do they run in parallel? *Eur. Heart J.* 30 : 1556—1558.
- Gaynor E., Bouvier C. A., Spaet T. H. 1968. Circulating endothelial cells in endotoxin-treated rabbits. *Clin. Res.* 16 : 535—538.
- Go A. S., Mozaffarian D., Roger V. L., Benjamin E. J., Berry J. D., Borden W. B., Bravata D. M., Dai S., Ford E. S., Fox C. S., Franco S., Fullerton H. J., Gillespie C., Hailpern S. M., Heit J. A., Howard V. J., Huffman M. D., Kissela B. M., Kittner S. J., Lackland D. T., Lichtman J. H., Lisabeth L. D., Magid D., Marcus G. M., Marelli A., Matchar D. B., McGuire D. K., Mohler E. R., Moy C. S., Mussolino M. E., Nichol G., Paynter N. P., Schreiner P. J., Sorlie P. D., Stein J., Turan T. N., Virani S. S., Wong N. D., Woo D., Turner M. B. 2013. Heart disease and stroke statistics — 2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 127 : e6—e245.
- Higashi Y. 2015. Assessment of endothelial function. History, methodological aspects, and clinical perspectives. *Int. Heart J.* 56 : 125—134.
- Hladovec J., Přerovský I., Staněk V., Fabián J. 1978. Circulating endothelial cells in acute myocardial infarction and angina pectoris. *Klin. Wochenschr.* 56 : 1033—1036.
- Lampka M., Grąbczewska Z., Jendryczka-Maćkiewicz E., Hołyńska-Iwan I., Sukiennik A., Kubica J., Halota W., Tyrakowski T. 2010. Circulating endothelial cells in coronary artery disease. *Kardiologia Polska*. 68 : 1100—1105.
- Murray C. J., Lopez A. D. 2013. Measuring the global burden of disease. *N. Engl. J. Med.* 369 : 448—457.
- Mutin M., Canavy I., Blann A., Bory M., Sampol J., Dignat-George F. 1999. Direct evidence of endothelial injury in acute myocardial infarction and unstable angina by demonstration of circulating endothelial cells. *Blood*. 93 : 2951—2958.
- Ross R., Glomset J. A. 1976. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N. Engl. J. Med.* 295 : 369—377.
- Sprecher D. L., Mikat E. M., Stack R., Sutherland K., Schneider J., Bashore T., Hackel D. B. 1989. Histopathologic examination of material from angioplasty balloon catheters used *in vivo* in human coronary arteries. *Atherosclerosis*. 75 : 237—244.
- Sary H. C., Chandler A. B., Dinsmore R. E., Fuster V., Glagov S., Insull W. Jr., Rosenfeld M. E., Schwartz C. J., Wagner W. D., Wissler R. W. 1995. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. *Circulation*. 92 : 1355—1374.

Wijns W., Kolh P., Danchin N., Di Mario C., Falk V., Folliguet T., Garg S., Huber K., James S., Knuuti J., Lopez-Sendon J., Marco J., Menicanti L., Ostojic M., Piepoli M. F., Pirlet C., Po-mar J. L., Reifart N., Ribichini F. L., Schalij M. J., Sergeant P., Serruys P. W., Silber S., Uva M. S., Taggart D. 2010. Guidelines on myocardial revascularization. The task force on myocardial revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the

European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). Developed with the special contribution of the European Association for percutaneous cardiovascular interventions (EAPCI). Eur. Heart J. 31 : 2501—2555.

Поступила 11 XII 2017

ENDOTHELIAL CELLS OF ATHEROSCLEROTIC CORONARY ARTERIES,  
OBTAINED *IN VIVO* DURING ANGIOPLASTY (INTRAVASCULAR BIOPSY)

A. V. Tarasov,<sup>1</sup> V. Yu. Kravtsov,<sup>2</sup> V. N. Khirmanov,<sup>1</sup> V. N. Ellinidi,<sup>1</sup> K. Wassilew<sup>3</sup>

<sup>1</sup> A. M. Nikiforov All-Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia, St. Petersburg, 197345,

<sup>2</sup> S. M. Kirov Military Medical Academy St.-Petersburg, 194044,  
and <sup>3</sup> Rigshospitalet, University Hospital of Copenhagen, Denmark;

\*e-mail: tarasovmed@gmail.com

The relevance of our study is due to the unresolved problem of atherosclerosis — a disease that causes the greatest part of disabilities and deaths. A definite value in its initiation, progression and destabilization is given to the endothelial cells, which is prone to pathological influences of various factors. In patients with atherosclerosis, endothelial cells *in vivo* and *in situ* were impossible to obtain and, accordingly, to characterize their cytological features. Endothelial biopsy in this work was performed with coronary angioplasty in 64 patients with various clinical forms of coronary heart disease. A balloon catheter was used as a probe for biopsy. The preparation of endothelial biopsy preparations was carried out using the principles of liquid based cytology. Anucleated, polygonal cells with nuclei, their clusters, as well as apoptotic bodies with the immunophenotype CD31<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>, CD105<sup>+/-</sup>, PanCk<sup>+/-</sup>, CD45<sup>-</sup>, CD68<sup>-</sup> have been obtained, which confirms their belonging to endothelium and substantiates the possibilities of further cytological studies with the purpose of studying the etiology and pathogenesis of atherosclerotic processes.

**Key words:** endothelial cells, atherosclerosis, coronary arteries, angioplasty, intravascular biopsy, liquid based cytology, immunocytochemistry.