

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-101-112>
УДК 616.12-089.844-036

Роль межклеточных агрегатов и показателей окислительного стресса в оценке риска сердечно-сосудистых исходов у пациентов после коронарного шунтирования

Косинова А.А.^{1, 2}, Гринштейн Ю.И.², Мальцева А.Н.², Гончаров М.Д.^{2, 3},
Монгуш Т.С.^{2, 3}, Савченко А.А.^{2, 4}

¹ Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук (КНЦ СО РАН), 660036, Российская Федерация, Красноярск, ул. Академгородок, 50

² Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения Российской Федерации (КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого), 660022, Российская Федерация, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

³ Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии, 660020, Российская Федерация, Красноярск, ул. Караульная, 45

⁴ Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, 660022, Российская Федерация, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

Аннотация

Цель: сравнить уровни С-реактивного белка (СРБ), количества межклеточных агрегатов, в том числе экспрессирующих Р-селектин, липидного профиля, хемилюминесцентной активности тромбоцитов в группах пациентов с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями и без таковых после коронарного шунтирования (КШ).

Материал и методы. В исследование включены 102 пациента со стенокардией II–IV функциональных классов (ФК), которым выполнялось КШ. До КШ выполнены развернутый анализ крови, оценка липидного профиля, до и после КШ проведены хемилюминесценция тромбоцитов, проточная цитометрия. Регистрация комбинированных конечных точек (увеличение класса стенокардии, увеличение класса сердечной недостаточности, инфаркт миокарда (ИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), кардиоваскулярная смерть, повторная реваскуляризация) проводилась после КШ спустя 8–10 сут в стационаре и через $23,3 \pm 7,6$ мес.

Результаты. У 16 пациентов выявлены комбинированные конечные точки. При сравнении групп пациентов без нежелательных исходов и с ними установлены статистически значимые различия до КШ по количеству агрегатов моноцит-тромбоцит ($13,4 [5,9; 24,2]$ против $34,9 [19,05; 50,25]$ %, $p = 0,001$), интенсивности флюоресценции (ИФ) агрегатов: нейтрофил тромбоцит, экспрессирующие Р-селектин ($4,85 [2,99; 8,79]$ против $12,5 [5,09; 15,3]$ у.е., $p = 0,005$), ИФ моноцит-тромбоцит, экспрессирующие Р-селектин ($4,27 [2,6; 7,76]$ против $9,53 [6,68; 14,8]$ у.е., $p = 0,006$). После КШ отличия определены в количестве нейтрофил-тромбоцитарных агрегатов с экспрессией Р-селектина ($75,7 [62,36; 90,54]$ против $92,3 [80; 99,29]$ %, $p = 0,027$), ИФ нейтрофил-тромбоцитарных агрегатов ($52,6 [18,975; 124]$ против $129 [95,8; 174]$, $p = 0,014$). Медиана времени выхода на максимум индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) тромбоцитов с добавлением люцегенина до КШ меньше у пациентов с нежелательными событиями по сравнению с пациентами без нежелательных событий ($212 [53; 621]$ против $885 [257,75; 2087]$ с, $p = 0,032$). Меньше до КШ в группе с нежелательными событиями и медиана времени выхода на максимум спонтанной ХЛ нейтрофилов с люцегенином ($847 [565; 1018]$ против $1355 [1065,5; 1898,5]$ с, $p = 0,017$).

Заключение. Пациенты с комбинированными нежелательными сердечно-сосудистыми явлениями имеют значимо различающиеся показатели индуцированной ХЛ и количества тромбоцит-лейкоцитарных агрегатов до и после КШ, времени достижения максимума ХЛ тромбоцитов и нейтрофилов до КШ, времени проведения искусственного кровообращения (ИК) в сравнении с пациентами без нежелательных сердечно-сосудистых событий. Данные показатели могут быть рассмотрены как предикторы повышенного риска развития нежелательных событий после КШ в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова:		коронарное шунтирование; лейкоцит-тромбоцитарные агрегаты; Р-селектин; С-реактивный белок; нежелательные сердечно-сосудистые события.
Соответствие этики:	принципам	от всех пациентов было получено информированное согласие. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 35/2011 от 31.10.2011 г.).

Для цитирования:

Косинова А.А., Гринштейн Ю.И., Мальцева А.Н., Гончаров М.Д., Монгуш Т.С., Савченко А.А. Роль межклеточных агрегатов и показателей окислительного стресса в оценке риска сердечно-сосудистых исходов у пациентов после коронарного шунтирования. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2025;40(4):101–112. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-101-112>

Role of intercellular aggregates and oxidative stress markers in assessment of cardiovascular outcomes in patients after coronary artery bypass grafting

Kosinova A.A.^{1, 2}, Grinshtein Yu.I.², Maltseva A.N.², Goncharov M.D.^{2, 3}, Mongush T.S.^{2, 3}, Savchenko A.A.^{2, 4}

¹ Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (KSC SB RAS), 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036, Russian Federation

² Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (KrasSMU), 1, Partizana Zheleznyaka str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

³ Federal Center for Cardiovascular Surgery, 45, Karaulnaya str., Krasnoyarsk, 660020, Russian Federation

⁴ Federal Research Center “Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences” (FRC KSC SB RAS), Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, 3g, Partizana Zheleznyaka str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

Abstract

Aim: To compare the levels of C-reactive protein (CRP), circulating cell aggregates (including P-selectin-expressing aggregates), lipid profiles, and platelet chemiluminescence activity in patients with and without adverse cardiovascular events following coronary artery bypass grafting (CABG).

Material and Methods. The study enrolled 102 patients with angina pectoris (functional class II–IV) who underwent CABG. Prior to CABG, comprehensive blood analysis and lipid profile assessment were performed. Both pre- and postoperatively, platelet chemiluminescence and flow cytometry analyses were conducted. Composite endpoints (worsening angina class, progression of heart failure, myocardial infarction, stroke, cardiovascular death, or repeat revascularization) were evaluated during hospitalization (8–10 days post-CABG) and at 23.3 ± 7.6 months postoperatively.

Results. Composite endpoints occurred in 16 patients. Significant differences were observed between groups (no events vs. adverse outcomes). Pre-CABG: monocyte-platelet aggregates: 13.4% [5.9; 24.2] vs. 34.9% [19.05; 50.25], $p = 0.001$; Mean fluorescence intensity (MFI) of P-selectin-expressing neutrophil-platelet aggregates: 4.85 AU [2.99; 8.79] vs. 12.5 AU [5.09; 15.3], $p = 0.005$; MFI of P-selectin-expressing monocyte-platelet aggregates: 4.27 AU [2.6; 7.76] vs. 9.53 AU [6.68; 14.8], $p = 0.006$. Post-CABG: P-selectin-expressing neutrophil-platelet aggregates: 75.7% [62.36; 90.54] vs. 92.3% [80; 99.29], $p = 0.027$. The median time to peak lucigenin-enhanced platelet chemiluminescence pre-CABG was significantly shorter in patients with adverse events compared to event-free patients (212 s [53; 621] vs. 885 s [257.75; 2087], $p = 0.032$). Similarly, the median time to peak spontaneous neutrophil chemiluminescence with lucigenin was reduced in the adverse events group (847 s [565; 1018] vs. 1355 s [1065.5; 1898.5], $p = 0.017$).

Conclusion. Patients with composite adverse cardiovascular events exhibited significantly different MFI and platelet-leukocyte aggregate counts (pre- and post-CABG), pre-operative platelet/neutrophil chemiluminescence peak times, and cardiopulmonary bypass durations compared to event-free patients. These parameters may serve as predictive biomarkers for post-CABG cardiovascular risk and warrant further investigation.

Keywords:

coronary artery bypass grafting; platelet-leukocyte aggregates; P-selectin; CRP; coronary artery bypass grafting; adverse cardiovascular events.

Funding:

this study was funded by Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; the Siberian Federal University; and the state assignment FWES-2025–0012 from the Federal Research Center, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Compliance with ethical standards:

informed consent was obtained from all patients. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University. (protocol No. 35/2011 from 31.10.2011)

For citation:

Kosinova A.A., Grinshtein Yu.I., Maltseva A.N., Goncharov M.D., Mongush T.S., Savchenko A.A. Role of intercellular aggregates and oxidative stress markers in assessment of cardiovascular outcomes in patients after coronary artery bypass grafting. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2025;40(4):101–112. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-101-112>

Введение

Коронарное шунтирование (КШ) является одним из основных хирургических методов лечения ишемической болезни сердца (ИБС), однако послеоперационный период может сопровождаться развитием неблагоприятных исходов, включая тромботические и воспалительные осложнения [1]. После КШ пациенты остаются в группе риска коронарных событий из-за прогрессирования атеросклероза или несостоятельности артериальных кондуитов или венозных шунтов [2]. В течение первых 5 лет регистрируются следующие показатели частоты окклюзии шунтов: 17,5% для аутовенозного шунта из большой подкожной вены (БПВ), 2,3 и 13,5% для левой (ЛВГА) и правой внутренней грудной артерии (ПВГА) соответственно, 9,4% – для лучевой артерии (ЛА) [3]. Десятилетние показатели окклюзии составляют 39% для БПВ, 15% для ЛВГА, 20–25% для ПВГА и 11–15% для ЛА. [4].

В последние десятилетия внимание исследователей привлекают биомаркеры, которые могут служить предикторами нежелательных исходов. Среди них Р-селектин, С-реактивный белок (СРБ), межклеточные агрегаты, уровень липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и хемилюминесценция (ХЛ) тромбоцитов выступают как потенциальные индикаторы системного воспаления и активации тромбоцитов. СРБ является маркером системного воспаления и может отражать общий воспалительный ответ организма [5]. Р-селектин, молекула адгезии, участвует в формировании межклеточных агрегатов, что может способствовать тромбообразованию [6]. ЛПНП способны проникать сквозь эндотелий сосудистой стенки с клетками крови и обладают провоспалительным эффектом [7]. ХЛ тромбоцитов отражает продукцию активных форм кислорода (АФК), которые играют ключевую роль в патогенезе воспаления и тромбоза [8]. В данной статье представлены результаты комплексного анализа указанных биомаркеров у пациентов с неблагоприятными исходами после КШ, что может способствовать улучшению стратегий мониторинга и профилактики осложнений у данной категории пациентов.

Цель: сравнить уровни СРБ, количества межклеточных агрегатов, в том числе экспрессирующих Р-селектин, липидного профиля, хемилюминесцентной активности тромбоцитов в группах пациентов с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями и без таковых после КШ.

Материал и методы

В проспективное когортное исследование были включены 102 пациента (78 мужчин и 24 женщины) с ИБС в возрасте от 47 до 78 лет (медиана возраста 64 года [60; 68]), у которых по данным коронароангиографии (КАГ) было подтверждено атеросклеротическое поражение коронарных артерий и проведено аорто- или маммаро-коронарное шунтирование на базе Федерального центра сердечно-сосудистой хирургии (Красноярск).

Исследование было выполнено после получения информированного согласия испытуемых в соответствии с Хельсинкской декларацией. Протокол исследования был

Introduction

Coronary artery bypass grafting (CABG) is one of the primary surgical approaches for treating coronary heart disease (CHD). However, the postoperative period can be accompanied by adverse outcomes, including thrombotic and inflammatory complications [1].

Despite undergoing CABG, patients remain at risk of coronary events due to atherosclerosis progression or graft failure (arterial conduits or venous bypass grafts) [2]. During the first 5 postoperative years, the following graft occlusion rates are documented: 17.5% for great saphenous vein grafts (SVG), 2.3% and 13.5% for left and right internal thoracic artery grafts (LITA and RITA, respectively), and 9.4% for radial artery grafts (RA) [3]. Ten-year occlusion rates increase to 39% for SVG, 15% for LITA, 20–25% for RITA, and 11–15% for RA [4].

In recent decades, researchers have focused on biomarkers that may serve as predictors of such outcomes. Among these, P-selectin, C-reactive protein (CRP), circulating aggregates, low-density lipoprotein (LDL) levels, and platelet chemiluminescence (CL) have emerged as potential indicators of systemic inflammation and platelet activation. CRP is a marker of systemic inflammation and may reflect the body's overall inflammatory response [5]. P-selectin, an adhesion molecule, plays a role in the formation of circulating aggregates, which can contribute to thrombus formation [6]. LDL can penetrate the vascular endothelial layer and interact with blood cells, exerting pro-inflammatory effects [7]. Platelet CL reflects the production of reactive oxygen species (ROS), which are key players in the pathogenesis of inflammation and thrombosis [8]. This paper presents the results of a comprehensive analysis of these biomarkers in patients with adverse outcomes following coronary artery bypass grafting (CABG), which may contribute to improved monitoring strategies and complication prevention in this patient population.

Aim

To compare the levels of C-reactive protein (CRP), circulating cell aggregates (including P-selectin-expressing aggregates), lipid profiles, and platelet chemiluminescence activity in patients with and without adverse cardiovascular events following coronary artery bypass grafting (CABG).

Material and Methods

A prospective cohort study included 102 patients (78 men and 24 women) with CHD, aged 47 to 78 years (median age 64 years [60; 68]). Atherosclerotic lesions of the coronary arteries were confirmed by coronary angiography (CAG), and aorto- or mammary-coronary bypass grafting was performed at the Federal Center for Cardiovascular Surgery in Krasnoyarsk.

All study procedures were performed following receipt of written informed consent from participants and in compliance with the ethical principles of the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky protocol (No. 35/2011 from 31.10.2011).

одобрен этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (№ 35/2011 от 31.10.2011 г.).

Критерии включения пациентов: многососудистое поражение с гемодинамически значимыми стенозами коронарных артерий при КАГ, стабильная стенокардия напряжения II–IV функциональных классов (ФК), согласно Канадской классификации, подписанное информированное согласие. Критерии исключения: обострение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, хроническая болезнь почек (скорость клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин/1,73 м²), повышение уровня трансаминаз в три и более раз, непереносимость или невозможность приема клопидогрела и ацетилсалициловой кислоты (АСК).

Пациенты наблюдались в трех точках. В стационаре: до КШ, на 8–10-е сут после КШ и после выписки из стационара (контакт происходил по телефону в период 23,3 ± 7,6 мес. после КШ). Регистрировалась комбинированная конечная точка, которая включала госпитальные и отдаленные нежелательные сердечно-сосудистые события после КШ. В госпитальные нежелательные сердечно-сосудистые события входили: периперационный инфаркт миокарда (ИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), сердечно-сосудистая смерть за 8–10 дней в период стационарного наблюдения за пациентом. В качестве отдаленных нежелательных сердечно-сосудистых событий регистрировались: увеличение ФК стенокардии, сердечной недостаточности, острый инфаркт миокарда (ОИМ), ОНМК, повторная реваскуляризация миокарда, сердечно-сосудистая смерть.

Для снижения риска геморрагических осложнений за 5 дней до КШ отменялись антиагреганты в соответствии с принятыми стандартами лечения ФЦССХ г. Красноярск: АСК в дозировке 100 мг назначалась с 1-х сут, клопидогрел, 75 мг – со 2-х сут при перенесенном остром коронарном синдроме (ОКС) менее 1 года назад. На двойной антиагрегантной терапии находились 35,8% пациентов: АСК (100 мг) + клопидогрел (75 мг). Также пациенты получали ингибиторы АПФ / антагонисты ренин-ангиотензиновых рецепторов, ингибиторы протонной помпы, β-адреноблокаторы, статины, антагонисты кальция, нестероидные противовоспалительные средства и наркотические анальгетики в раннем послеоперационном периоде; при наличии сахарного диабета – сахароснижающую терапию.

До КШ и на 8–10-е сут после КШ определяли биохимический анализ крови, методом проточной цитометрии исследовали тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты (ТЛА), определяли ХЛ тромбоцитов. Концентрацию СРБ в плазме крови измеряли латексным иммунотурбидиметрическим методом.

Определение ТЛА осуществлялось в общей фракции лейкоцитов методом проточной цитометрии с использованием панели моноклональных антител (Beckman Coulter, США; BioLegend, Германия), меченных с флуорохромами: CD14-FITC (клон RMO52, кат. № B36297, Beckman Coulter, США), CD16-PE (клон 3G8, кат. № A07766 Beckman Coulter), CD41-PC7 (Beckman Coulter, клон P2, кат. № 6607115) и CD62P (BioLegend, клон AK4, кат. № 304910). Удаление эритроцитов из образцов проводили по безотмывочной технологии с использованием лизирующего раствора VersaLyse (Beckman Coulter, кат. № A09777), к 975 мкл которого *ex tempore* добавляли 25

Inclusion criteria: multivessel disease with hemodynamically significant coronary artery stenoses confirmed by CAG, stable exertional angina of functional classes II–IV according to the Canadian Cardiovascular Society classification, and signed informed consent.

Exclusion criteria: exacerbation of peptic ulcer disease, chronic kidney disease (glomerular filtration rate < 60 mL/min/1.73 m²), transaminase levels exceeding three times the upper limit of normal, and intolerance to or inability to take clopidogrel and acetylsalicylic acid (ASA).

Patients were monitored at three time points: during hospitalization (prior to CABG and on days 8–10 post-CABG) and after discharge (follow-up was conducted via telephone over a period of 23.3 ± 7.6 months post-CABG). A composite endpoint was recorded, which included both in-hospital and long-term adverse cardiovascular events following CABG. **In-hospital adverse cardiovascular events** included perioperative myocardial infarction, acute cerebrovascular accident (ACVA), and cardiovascular death during the 8–10 days of inpatient observation. **Long-term adverse cardiovascular events** included an increase in the functional class of angina or heart failure, acute myocardial infarction (AMI), ACVA, repeat myocardial revascularization, and cardiovascular death.

To reduce the risk of hemorrhagic complications, antiplatelet therapy was discontinued 5 days prior to CABG in accordance with the treatment standards of the Federal Center for Cardiovascular Surgery in Krasnoyarsk. Acetylsalicylic acid (ASA) at a dose of 100 mg was prescribed starting from day 1, and clopidogrel at 75 mg was initiated on day 2 in cases of acute coronary syndrome (ACS) occurring less than a year prior. Dual antiplatelet therapy (DAPT) with ASA (100 mg) and clopidogrel (75 mg) was administered to 35,8% of patients. Additional medications included angiotensin-converting enzyme inhibitors/angiotensin receptor antagonists, proton pump inhibitors, β-blockers, statins, calcium channel antagonists, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and narcotic analgesics in the early postoperative period. Patients with diabetes mellitus received glucose-lowering therapy.

Before CABG and on postoperative days 8–10, the following tests were performed: biochemical blood analysis, flow cytometry (the determination of platelet-leukocyte aggregates), platelet chemiluminescence assessment, and CRP concentration measurement. Plasma CRP levels were determined using the latex immunoturbidimetric method.

The determination of platelet-leukocyte aggregates was performed in the total leukocyte fraction using flow cytometry with a panel of monoclonal antibodies (manufactured by Beckman Coulter, USA, and BioLegend, Germany) labeled with fluorochromes: CD14-FITC (clone RMO52, cat. no. B36297, Beckman Coulter, USA), CD16-PE (clone 3G8, cat. no. A07766, Beckman Coulter), CD41-PC7 (clone P2, cat. no. 6607115, Beckman Coulter), and CD62P (clone AK4, cat. no. 304910, BioLegend). Erythrocytes were removed from samples using a no-wash technology with VersaLyse lysing solution (cat. no. A09777, Beckman Coulter), to which 25 μL of IOTest 3 Fixative Solution (cat. no. A07800, Beckman Coulter) was added *ex tempore* to 975 μL of the

мкл фиксирующего раствора IOTest 3 Fixative Solution (Beckman Coulter, кат. № A07800). По завершении инкубации исследуемые образцы однократно отмывали от несвязавшихся моноклональных антител забуференным физиологическим раствором (5 мин при 400 g). Клеточный осадок ресуспендировали в 400 мкл забуференного физиологического раствора, содержавшего 1% нейтрального параформальдегида (кат. № HT5011, Sigma-Aldrich, США). По средней интенсивности флуоресценции (ИФ) оценивали уровень экспрессии CD62P и рецепторов на тромбоцитах в агрегатах с лейкоцитами. Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США), оснащенном тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм. Обработку цитофлуориметрических данных осуществляли при помощи программ Navios Software v.1.2 и Kaluza™ v.2.2 (Beckman Coulter, США).

Для определения хемилюминесцентной активности тромбоцитов применяли метод поэтапного центрифугирования и отмывания клеток [8]. Реакционная смесь включала 50 мкл люцигенина или люминола в концентрации 50 мкг/мл, 50 мкл аденозиндифосфата (АДФ) 0,1 М (для оценки индуцированного синтеза АФК) и 250 мкл (для оценки спонтанного синтеза АФК) или 200 мкл (для оценки АДФ-индуцированного синтеза АФК) буфера (0,13 М NaCl, 0,02 М Трис-НСl буфера, 0,03 М ЭДТА, 0,015 М глюкозы, pH 7,4). Оценку спонтанной и АДФ-индуцированной ХЛ осуществляли в течение 90 мин на 36-канальном биохемилюминесцентном анализаторе БЛМ-3607 (ООО «МедБиоТех», Россия) [9]. Определяли время выхода на максимум (Tmax), максимальное значение интенсивности (Imax), а также площадь под кривой (S) ХЛ. Усиление АДФ-индуцированной ХЛ оценивали отношением площади под кривой индуцированной ХЛ к площади под кривой спонтанной ХЛ (Синд / Сспонт) и определяли как индекс активации (ИА). Уровень синтеза АФК тромбоцитами определялся с помощью двух индикаторов реакции ХЛ – люцигенина и люминола. Люцигенин не проникает внутрь клеток и взаимодействует только с супероксид-анион-радикалом, характеризующий активность мембранной Nox2 (НАДФН-оксидаза). Люминол проникает внутрь клеток и взаимодействует со всеми АФК [6, 7].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ SPSS STATISTICS (версия 20.0). Для описания полученных данных вычисляли медиану (Me) и интерквартильный промежуток [Q1; Q3]. Для описания категориальных показателей использовали абсолютные и относительные (в процентах) частоты. Статистическую значимость различий между показателями независимых выборок оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Для сравнения категориальных переменных в двух независимых группах применяли χ^2 -критерий Пирсона. Пороговый уровень значимости при проверке статистических гипотез составлял 0,05.

Результаты

Характеристика пациентов по клинико-лабораторным признакам представлена в таблице 1.

Группы пациентов с ИБС с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями и без таковых не отличались по полу, возрасту, клиническим характеристикам, количеству клеток крови по результатам общего анализа крови до КШ. Показаны значимые межгрупповые различия

solution. Following incubation, the samples were washed once to remove unbound monoclonal antibodies using buffered saline (5 minutes at 400 g), and the cell pellet was resuspended in 400 μ L of buffered saline containing 1% neutral paraformaldehyde (cat. no. HT5011, Sigma-Aldrich, USA).

The level of CD62P expression and receptor levels on platelets in aggregates with leukocytes were assessed based on mean fluorescence intensity (MFI). The analysis was performed on a Navios™ flow cytometer (Beckman Coulter, USA) equipped with three diode lasers (405, 488, and 638 nm). Flow cytometric data were processed using Navios Software v.1.2 and Kaluza™ v.2.2 (Beckman Coulter, USA).

To assess platelet chemiluminescence (CL) activity, platelets were isolated using a stepwise centrifugation and washing protocol [8]. The reaction mixture consisted of 50 μ L of lucigenin or luminol at a concentration of 50 μ g/mL, 50 μ L of 0.1 M Adenosine diphosphate (ADP) (for evaluating ADP-induced reactive oxygen species [ROS] synthesis), and 250 μ L (for spontaneous ROS synthesis) or 200 μ L (for ADP-induced ROS synthesis) of buffer (0.13 M NaCl, 0.02 M Tris-HCl, 0.03 M EDTA, 0.015 M glucose, pH 7.4).

Spontaneous and ADP-induced CL were assessed over 90 minutes using a 36-channel biochemiluminescent analyzer (BLM-3607, MedBioTech, Russia) [9]. Parameters measured included the time to peak intensity (Tmax), maximum intensity (Imax), and the area under the curve (AUC) of CL. The enhancement of ADP-induced CL was evaluated as the ratio of the AUC of induced CL to that of spontaneous CL (Sind/Sspont) and was termed the activation index (AI).

ROS synthesis by platelets was determined using two CL indicators: lucigenin and luminol. Lucigenin does not penetrate cells and interacts specifically with superoxide anion radicals, reflecting the activity of membrane-bound NADPH oxidase (Nox2). In contrast, luminol penetrates cells and interacts with all ROS species [6, 7].

Statistical analysis was performed using IBM SPSS STATISTICS software (version 20.0). Continuous variables are presented as median (Me) with interquartile range [Q1; Q3]. Categorical data are expressed as absolute frequencies and relative frequencies (percentages). Between-group comparisons were made using the nonparametric Mann-Whitney U test for continuous variables and Pearson's chi-square test (χ^2) for categorical variables. A two-tailed p-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

The clinical and laboratory characteristics of the patients are presented in Table 1.

The groups of CHD patients with and without adverse cardiovascular events did not differ in terms of sex, age, clinical characteristics, or blood cell counts in the complete blood count performed before CABG. Significant between-group differences were observed in total cholesterol levels, with a trend toward significance for LDL-C levels prior to CABG in patients experiencing adverse cardiovascular events compared to those free from adverse cardiovascular events. Additionally, the duration of cardiopulmonary bypass

уровня общего холестерина и тенденция к увеличению уровня ЛПНП до КШ в группе пациентов с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями. Также при КШ длительность искусственного кровообращения (ИК) была значительно больше в группе пациентов с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями – 90 [66,5; 131,5] против 65,5 [31,75; 91,5] мин соответственно.

За весь период наблюдения у 16 пациентов (15,6%) выявлены комбинированные конечные точки. За 10 дней стационарного лечения у 10 пациентов развились нежелательные события (у 4 пациентов – периоперационный ИМ, у 6 пациентов – ОНМК). Через $23,3 \pm 7,6$ мес. выявлено 8 нежелательных кардиоваскулярных событий (из них: 1 – ОИМ, 3 – увеличение ФК стенокардии, 1 – повторная реваскуляризация, 2 – нарастание ФК сердечной недостаточности, 1 – сердечно-сосудистая смерть). При сравнении групп пациентов без и с совокупными неблагоприятными исходами до КШ выявлены значимые отличия по количеству агрегатов моноцит-тромбоцит (13,4 [5,9; 24,2] против 34,9 [19,05; 50,25] %, $p = 0,001$), ИФ агрегатов до КШ: нейтрофил тромбоцит, экспрессирующие Р-селектин (4,85 [2,99; 8,79] против 12,5 [5,09; 15,3] у.е., $p = 0,005$), ИФ моноцит-тромбоцит, экспрессирующие Р-селектин (4,27 [2,6; 7,76] против 9,53 [6,68; 14,8] у.е., $p = 0,006$).

В таблице 2 представлены результаты, полученные при сравнении двух групп пациентов с нежелательными событиями после КШ и без таковых, согласно основным параметрам ХЛ.

Медиана времени выхода на максимум индуцированной ХЛ тромбоцитов с добавлением люценина до КШ была меньше у пациентов с нежелательными явлениями по сравнению с пациентами без таковых (212 [53; 621] против 885 [257,75; 2087] с, $p = 0,027$). Также до КШ в группе с совокупными нежелательными сердечно-сосудистыми событиями меньше была медиана времени выхода на максимум спонтанной ХЛ нейтрофилов с люценином (847 [565; 1018] против 1355 [1065,5; 1898,5] с, $p = 0,017$). До КШ медиана ИА ХЛ нейтрофилов была выше в группе пациентов с нежелательными событиями (9 [2; 15] против 2 [2; 7], $p = 0,044$). По другим показателям ХЛ значимых отличий установлено не было.

Пациенты из группы с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями после КШ (на 10-е сут) имели большую медиану количества нейтрофил-тромбоцитарных агрегатов с экспрессией Р-селектина (92,3 [80; 99,29] против 75,7 [62,36; 90,54] %, $p = 0,027$) и значительно большую медиану ИФ нейтрофил-тромбоцитарных агрегатов (129 [95,8; 174] против 52,6 [18,975; 124], $p = 0,014$).

Обсуждение

Связь воспаления с тромбозом и нежелательными кардиоваскулярными событиями описана неоднократно [10]. Однако до конца не ясен молекулярно-клеточный механизм и не определены четкие маркеры сердечно-сосудистых событий. В данной статье мы провели комплексный анализ маркеров воспаления и межклеточного взаимодействия у пациентов с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями после КШ.

Коммуникация тромбоцитов, нейтрофилов, моноцитов происходит в организме постоянно, например, посредством молекулы клеточной адгезии – Р-селектина, выделяемого α -гранулами тромбоцитов с экспрессией на тромбоцитарной мембране и Р-селектин лиганда на поверхности лейкоцита. Согласно полученным данным

(CPB) was longer in the group with adverse events, at 90 [66.5; 131.5] minutes compared to 65.5 [31.75; 91.5] minutes, respectively.

During the observation period, 16 patients (15.6%) experienced composite endpoints. Within 10 days of hospitalization, 10 patients developed adverse events (4 cases of perioperative myocardial infarction and 6 cases of acute cerebrovascular events). At 23.3 ± 7.6 months of follow-up, 8 adverse cardiovascular events were identified (1 acute myocardial infarction, 3 cases of increased functional class of angina, 1 repeat revascularization, 2 cases of worsening functional class of heart failure, and 1 cardiovascular death).

Comparative analysis between patients without and with composite adverse outcomes prior to CABG revealed significant differences in: monocyte-platelet aggregates: 13.4% [5.9; 24.2] vs 34.9% [19.05; 50.25], $p = 0.001$; MFI of P-selectin-expressing neutrophil-platelet aggregates: 4.85 AU [2.99; 8.79] vs 12.5 AU [5.09; 15.3], $p = 0.005$; MFI of P-selectin-expressing monocyte-platelet aggregates: 4.27 AU [2.6; 7.76] vs 9.53 AU [6.68; 14.8], $p = 0.006$.

A comparison of the primary CL parameters between two groups of patients—those with adverse events after CABG and those without such events—yielded the following results. (Table 2).

The median time to peak lucigenin-induced platelet chemiluminescence before CABG was shorter in patients with adverse events compared to those without adverse events (212 s [53; 621] vs. 885 s [257.75; 2087], $p = 0.032$). Similarly, before CABG, the median time to peak spontaneous neutrophil chemiluminescence with lucigenin was shorter in the group with composite major adverse cardiovascular events (847 s [565; 1018] vs. 1355 s [1065.5; 1898.5], $p = 0.017$). Before CABG, the median neutrophil chemiluminescence activation index was higher in the group of patients with adverse events (9 [2; 15] vs. 2 [2; 7], $p = 0.044$). No significant differences were found in other chemiluminescence parameters.

Patients from the group with major adverse cardiovascular events after CABG (on day 10) had a higher median number of neutrophil-platelet aggregates expressing P-selectin (92.3% [80; 99.29] vs. 75.7% [62.36; 90.54], $p = 0.027$) and a significantly higher MRI of neutrophil-platelet aggregates (129 [95.8; 174] vs. 52.6 [18.975; 124], $p = 0.014$).

Discussion

The association between inflammation, thrombosis, and adverse cardiovascular events has been repeatedly described in the literature [10]. However, the molecular and cellular mechanisms, as well as precise markers of cardiovascular events, remain unclear. In this study, we conducted a comprehensive analysis of the markers of inflammation and intercellular interactions in patients with adverse cardiovascular events following CABG.

The communication between platelets, neutrophils, and monocytes occurs continuously in the body, mediated, for example, by the cell adhesion molecule P-selectin, which is released by platelet α -granules and expressed on the platelet membrane, and P-selectin ligand on the leukocyte surface. According to the obtained data, the number of monocyte-platelet aggregates expressing P-selectin on their

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с ишемической болезнью сердца до коронарного шунтирования

Table 1. Clinical characteristics of patients with coronary artery disease before coronary artery bypass grafting

Показатель / Characteristic	Пациенты с ИБС и КШ, n = 102 / Patients with CHD and CABG, n = 102	Пациенты без нежела- тельных сердечно-сосу- дистых событий, n = 86 / Patients without adverse cardiovascular events, n = 86	Пациенты с нежела- тельными сердечно-сосу- дистыми событиями, n = 16 / Patients with adverse cardiovascular events, n = 16	p* / p-value*
Возраст, лет / Age, years	64 [60; 68]	64 [60; 68]	65 [56; 67]	0,381
Курение, % / Smoking, %	32,4	31,4	37,5	0,632
Стабильная стенокардия, % / Stable angina, %				
II ФК / II FC	44,1	44,2	43,8	0,974
III ФК / III FC	41,2	41,8	37,5	0,745
Сахарный диабет, % / Diabetes mellitus, %	28,4	26,7	37,5	0,381
Постинфарктный кардиосклероз, % / Post-infarction cardiosclerosis, %	63,7	61,6	75	0,085
Ожирение, % / Obesity, %	49,0	48,8	50	0,932
Двойная антитромбоцитарная терапия после КШ, % / Dual antiplatelet therapy after CABG, %	35,8	38,4	31,2	0,588
Время ИК, мин / CPB time, min	68 [50,25; 99]	65,5 [31,75; 91,5]	90 [66,5; 131,5]	0,003
Количество тромбоцитов до КШ, 10 ⁹ клеток/л / Platelet count before CABG, 10 ⁹ cells/l	229,5 [188; 260,5]	230,5 [191; 258,5]	201 [179,5; 251,5]	0,811
Количество моноцитов до КШ, % / Monocyte count before CABG, %	8,3 [6,5; 9,35]	8,35 [6,9; 9,3]	7,9 [6,15; 9,725]	0,785
Количество нейтрофилов, % / Neutrophil count, %	60,9 [54; 66,5]	60,9 [53,5; 66,4]	65,55 [58,93; 67,86]	0,364
СОЭ, мм в час / ESR, mm per hour	19,5 [11,3; 27,8]	19 [12; 30]	22 [9,3; 26]	0,840
СРБ, мг/л / CRP, mg/l				
До КШ / Before CABG	1 [0,1; 1,9]	1 [0,1; 2,4]	1 [0,15; 1,2]	0,532
После КШ (8–10-е сут) / After CABG (8–10 days)	50,4 [18,6; 95,5]	43,7 [18,5; 88,9]	72,5 [50,2; 123,83]	0,320
Уровень общего холестерина, ммоль/л / Total cholesterol level, mmol/l	4,43 [3,76; 5,6]	4,34 [3,73; 5,43]	4,88 [4,3; 6,68]	0,046
Уровень ЛПНП, ммоль/л / LDL-C level, mmol/l	2,5 [2,06; 3,27]	2,23 [1,99; 2,98]	2,79 [2,54; 3,47]	0,060
Уровень ЛПВП, ммоль/л / HDL-C level, mmol/L	1,27 [1,08; 1,41]	1,26 [1,07; 1,39]	1,39 [1,12; 1,54]	0,178
Уровень ТГ, ммоль/л / TG level, mmol/L	1,35 [0,95; 1,9]	1,38 [0,94; 2,06]	1,17 [1,07; 1,66]	0,830

Примечание: * значение *p* представлено для сравнения групп пациентов с нежелательными событиями и без них.
Note: *p-values are presented to compare patient groups with and without adverse cardiovascular events. CABG, coronary artery bypass grafting; CHD, coronary heart disease; FC, functional class; CBP, cardiopulmonary bypass; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein; LDL, low density lipoprotein.

количество экспрессируемых Р-селектин на своей поверхности моноцит-тромбоцитарных агрегатов до КШ выше в группе с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями в послеоперационном периоде. Согласно имеющимся литературным данным, повышенный уровень растворимого в сыворотке крови Р-селектин связан с повышенным риском отсроченных больших (ИМ, ОНМК, сердечно-сосудистая смерть) сердечно-сосудистых событий у пациентов после реваскуляризации [6]. Также описана связь уровня Р-селектин с сердечно-сосудистыми заболеваниями, сердечно-сосудистой смертностью и внезапной сердечной смертью среди мужчин, находящихся на гемодиализе [11]. Доказано, что повышение концентрации Р-селектин в крови и его экспрессии на тромбоцитах и эндотелии способствует прогрессированию атеросклероза [12]. Однако такой маркер, как межклеточные агрегаты могут быть более чувствительным маркером нежелательных событий [13].

Образование ТЛА является одним из наиболее важных взаимодействий между тромбоцитами и лейкоцитами. У здоровых людей тромбоциты образуют агрегаты преимущественно с моноцитами (4,1–7,2%), а также с нейтрофилами (3,7–5,7%) и лимфоцитами (2,4–5,2%). [13]

В литературе ТЛА широко исследовались при сердечно-сосудистых заболеваниях. Уровень ТЛА, включая моноциты или нейтрофилы, был выше при симптоматической ИБС, ОКС по сравнению со здоровыми людьми

surface before CABG was higher in the group with adverse cardiovascular events in the postoperative period. Literature data also suggest that elevated levels of serum-soluble P-selectin are associated with an increased risk of delayed major cardiovascular events (MI, stroke, cardiovascular death) in patients after revascularization [6]. Moreover, the relationship between P-selectin levels and cardiovascular diseases, cardiovascular mortality, and sudden cardiac death has been described in men undergoing hemodialysis [11]. It has been shown that elevated P-selectin concentrations in the blood and its expression on platelets and endothelium contribute to the progression of atherosclerosis [12]. However, markers such as intercellular aggregates may serve as more sensitive indicators of adverse events [13].

The formation of platelet-leukocyte aggregates (PLAs) is one of the most critical interactions between platelets and leukocytes. In healthy individuals, platelets predominantly form aggregates with monocytes (4.1–7.2%), as well as with neutrophils (3.7–5.7%) and lymphocytes (2.4–5.2%) [13]. According to the results of this study, the pre-CABG MFI, reflecting P-selectin and membrane receptor expression on monocyte-platelet and neutrophil-platelet aggregates, postoperative (days 8–10) neutrophil-platelet aggregate MFI levels, significantly could influence on the risks of adverse cardiovascular events. It is likely that more active PLA complexes may lead to the activation of thrombosis in the postoperative period.

Таблица 2. Сравнение двух групп пациентов после коронарного шунтирования по основным параметрам хемилюминесценции

Показатель / Parameters	Пациенты без нежелательных сердечно-сосудистых событий / Patients without adverse cardiovascular events	Пациенты с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями / Patients with adverse cardiovascular events	p / p-value*
До КШ / Before CABG			
Хемилюминесцентная активность тромбоцитов с люминолом			
Спонтанная хемилюминесценция / Spontaneous Luminol-Dependent CL of Platelets			
Tmax, с	212,5 [51; 960]	51 [0; 133]	0,061
Imax, о.е. × 103	73 [63; 94,3]	79 [59,3; 119]	0,862
S, о.е. × с × 106	200200 [132500; 268625]	226700 [177200; 262600]	0,880
Индукцированная хемилюминесценция / ADP-Induced Luminol-Dependent CL of Platelets			
Tmax, с	129 [27; 884,25]	70 [51; 266]	0,528
Imax, о.е. × 103	74 [62,75; 91,25]	78 [62,75; 115,5]	0,853
S, о.е. × с × 106	217500 [156225; 285575]	248500 [144600; 261700]	0,792
ИА	1,084 [0,836; 1,529]	1,076 [0,830; 1,818]	0,736
Хемилюминесцентная активность тромбоцитов с люцегенином			
Спонтанная хемилюминесценция / Spontaneous Lucigenin-Dependent CL of Platelets			
Tmax, с	408 [80; 1234]	283 [70; 559]	0,340
Imax, о.е. × 103	66 [61; 76,5]	66 [60,5; 69]	0,530
S, о.е. × с × 106	204850 [130150; 261275]	177300 [94610; 226100]	0,246
Индукцированная хемилюминесценция / ADP-Induced Lucigenin-Dependent CL of Platelets			
Tmax, с	885 [257,75; 2087]	212 [53; 621]	0,027
Imax, о.е. × 103	67 [59,75; 78]	64 [58,3; 72,3]	0,284
S, о.е. × с × 106	227900 [131925; 273975]	203100 [118600; 238700]	0,215
ИА	1,0 [0,766; 1,455]	0,9223 [0,788; 1,345]	0,924
После КШ / After CABG			
Хемилюминесцентная активность тромбоцитов с люминолом			
Спонтанная хемилюминесценция / Spontaneous Luminol-Dependent CL of Platelets			
Tmax, с	102 [51; 460,5]	38,5 [0; 815]	0,363
Imax, о.е. × 103	72 [63,5; 104,5]	81 [63; 93]	0,897
S, о.е. × с × 106	218100 [142350; 269150]	185850 [142525; 331175]	0,974
Индукцированная хемилюминесценция / ADP-Induced Luminol-Dependent CL of Platelets			
Tmax, с	80 [0; 546,5]	89 [56; 661,75]	0,502
Imax, о.е. × 103	74 [63,5; 90,5]	71 [63; 90]	0,711
S, о.е. × с × 106	207300 [130900; 284150]	158450 [128850; 206525]	0,178
ИА	0,984 [0,694; 1,261]	0,884 [0,602; 1,140]	0,172
Хемилюминесцентная активность тромбоцитов с люцегенином			
Спонтанная хемилюминесценция / Spontaneous Lucigenin-Dependent CL of Platelets			
Tmax, с	399 [99; 1156]	563,5 [126,75; 1702]	0,515
Imax, о.е. × 103	64 [59; 77,5]	65 [60; 72]	0,914
S, о.е. × с × 106	199900 [151000; 252250]	196650 [176225; 222025]	0,739
Индукцированная хемилюминесценция / ADP-Induced Lucigenin-Dependent CL of Platelets			
Tmax, с	565 [260,5; 1451]	222 [75,5; 1274]	0,302
Imax, о.е. × 103	64 [59,5; 72]	64 [62; 78]	0,830
S, о.е. × с × 106	187000 [139350; 251350]	163400 [120400; 200850]	0,172
ИА	0,982 [0,601; 1,333]	0,992 [0,575; 1,098]	0,523

Примечание: ИА – индекс активации.

Note: * – p-values, CABG, coronary artery bypass grafting; CL, chemiluminescence; ADP, adenosine diphosphate; AI, activation index.

[14]. Аналогичным образом уровни агрегатов тромбоцитов-моноцитов были выше у пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST, нестабильной стенокардией, ОИМ по сравнению с пациентами с неангинозными болями [15]. Более того, повышенный процент ТЛА, содержащих моноциты, был связан с повышенным риском будущих сердечно-сосудистых событий в популяции с ОКС с подъемом сегмента ST [15].

Опубликовано достаточно много данных о влиянии количества отдельных популяций клеток крови на ранние и отдаленные неблагоприятные исходы после КШ (нейтрофил-лимфоцитарное соотношение, тромбоцит-лимфоцитарное, индекс системного воспаления (нейтрофил*тромбоцит / лимфоцит)) [16].

Доказано, что в процессе активации тромбоциты осуществляют усиленный синтез АФК ферментами, локализованными как на внешней цитоплазматической мембране, так и внутри клетки (в том числе в митохондриях) [17]. Для тромбоцитов АФК являются сигнальными и регуляторными молекулами, которые иницируют и модулируют их функциональную активность. Синтез АФК в нашем исследовании определен методом ХЛ. Выявлено отличие во времени достижения максимума индуцированной ХЛ тромбоцитов и время достижения максимума спонтанной ХЛ нейтрофилов с люцигенином до КШ – оно значительно меньше у пациентов с нежелательными явлениями по сравнению с пациентами без нежелательных событий. Более короткое время выхода на максимум ХЛ (у пациентов с нежелательными событиями) свидетельствует о том, что NADPH-оксидаза (Nox2) активируется быстрее и генерирует больше АФК за короткий промежуток времени. Это приводит к резкому увеличению концентрации АФК, что может превысить возможности антиоксидантных систем (например, супероксиддисмутазы, каталазы) и вызвать окислительный стресс. Возможно, у пациентов из группы без нежелательных событий лучше работают компенсаторные механизмы, способные сдерживать в последующем быстрый синтез АФК. Так, описана способность тромбоцита подавлять выработку АФК полиморфно-ядерными лейкоцитами и оказывать защитный эффект от токсического действия АФК [18].

С другой стороны, ранее описано, что у резистентных к АСК пациентов с ИБС до и после КШ по сравнению с чувствительными пациентами выявляется меньший уровень синтеза супероксид-радикала нейтрофилами и тромбоцитами, вероятнее всего, вызванный разобщением в межклеточном взаимодействии [19]. Может быть нечто подобное происходит и у пациентов с высоким риском нежелательных событий. Однако, учитывая отсутствие отличий по другим параметрам ХЛ и размер выборки, серьезные выводы преждевременны.

Следующим компонентом комплексной оценки в данном исследовании был СРБ. Пациенты без нежелательных событий и с таковыми имели сопоставимо низкий дооперационный уровень СРБ, ввиду планового вмешательства в стационар госпитализировались стабильные пациенты, с компенсированными сопутствующими заболеваниями. После проведения КШ уровень СРБ повышался, однако также оставался сопоставимым внутри групп, хотя у пациентов из группы с нежелательными событиями уровень СРБ был выше, но разница не достигала статистической значимости. Возможно, уровень СРБ больше подвержен влиянию операционной травмы и может оказаться не таким чувствительным маркером имен-

In the literature, PLAs have been extensively studied in the context of cardiovascular diseases. Elevated PLA levels, including those containing monocytes or neutrophils, have been observed in symptomatic CHD and acute coronary syndrome (ACS) compared to healthy individuals [14]. Similarly, platelet-monocyte aggregate levels were higher in patients with STEMI, unstable angina, and acute myocardial infarction compared to patients with non-anginal pain [15]. Moreover, an increased percentage of PLAs containing monocytes has been associated with a higher risk of future cardiovascular events in the STEMI population [15].

Numerous published studies have investigated the influence of various blood cell populations on early and late adverse outcomes after CABG, including the neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio, and systemic inflammation index (neutrophil*platelet/lymphocyte) [16].

It has been demonstrated that activated platelets exhibit increased ROS synthesis through enzymes located both on the outer cytoplasmic membrane and inside the cell (including within mitochondria) [17]. In platelets, ROS act as signaling and regulatory molecules that initiate and modulate their functional activity. In our study, ROS synthesis was determined using the chemiluminescence method. A difference was found in the time to peak induced platelet CL and time to peak spontaneous neutrophil CL with lucigenin before CABG - it was significantly shorter in patients with adverse events compared to patients without adverse outcomes. The shorter time to peak CL (in patients with adverse events) indicates that NADPH oxidase (Nox2) is activated faster and generates more reactive oxygen species (ROS) over a short period of time. This leads to a sharp increase in ROS concentration, which may exceed the capacity of antioxidant systems (e.g., superoxide dismutase, catalase) and cause oxidative stress. This may suggest that patients in the no-adverse-events group have better compensatory mechanisms capable of subsequently restraining rapid ROS synthesis. It has been described that platelets can suppress ROS production by polymorphonuclear leukocytes and provide a protective effect against the toxic impact of ROS [18].

On the other hand, previous studies have reported that CHD patients resistant to acetylsalicylic acid (ASA) show lower levels of superoxide radical synthesis by neutrophils and platelets both before and after CABG compared to ASA-sensitive patients. This is likely due to disruption in intercellular interactions [19]. A similar phenomenon might occur in patients at high risk of adverse events. However, considering the absence of differences in other chemiluminescence parameters and the sample size, definitive conclusions remain premature.

Another component of the comprehensive assessment in this study was CRP. Patients with and without adverse events had comparable low preoperative CRP levels, as stable patients with compensated comorbidities were hospitalized for the planned intervention in the hospital. After CABG, CRP levels increased but remained comparable between the groups. Although CRP levels were higher in the group with adverse events, the difference did not reach statistical significance. It is possible that CRP levels are more influenced by surgical trauma and may not be as sensitive a marker specifically after CABG as P-selectin levels and

но после КШ, как уровни Р-селектина и межклеточных агрегатов. Это согласуется с данными других авторов [5].

Еще одним фактором риска нежелательных событий после КШ может выступать время ИК. У пациентов с нежелательными сердечно-сосудистыми событиями после КШ было значимо более продолжительное время ИК. Эти данные согласуются с результатами работ и других авторов [20]. Схема предполагаемого патогенеза увеличения рисков развития нежелательных явлений после КШ представлена на рисунке 1.

Ограничениями данного исследования являются его одноцентровый дизайн и небольшой размер выборки.

intercellular aggregates. This aligns with the findings of other authors [5].

Another predictor of in-hospital adverse events after CABG is the duration of cardiopulmonary bypass (CPB). Prolonged CPB duration is associated with an increased risk of adverse cardiovascular events in the early postoperative period. These findings are consistent with results reported by other authors [20]. The proposed pathogenesis of increased adverse event risks following CABG is shown in Figure 1.

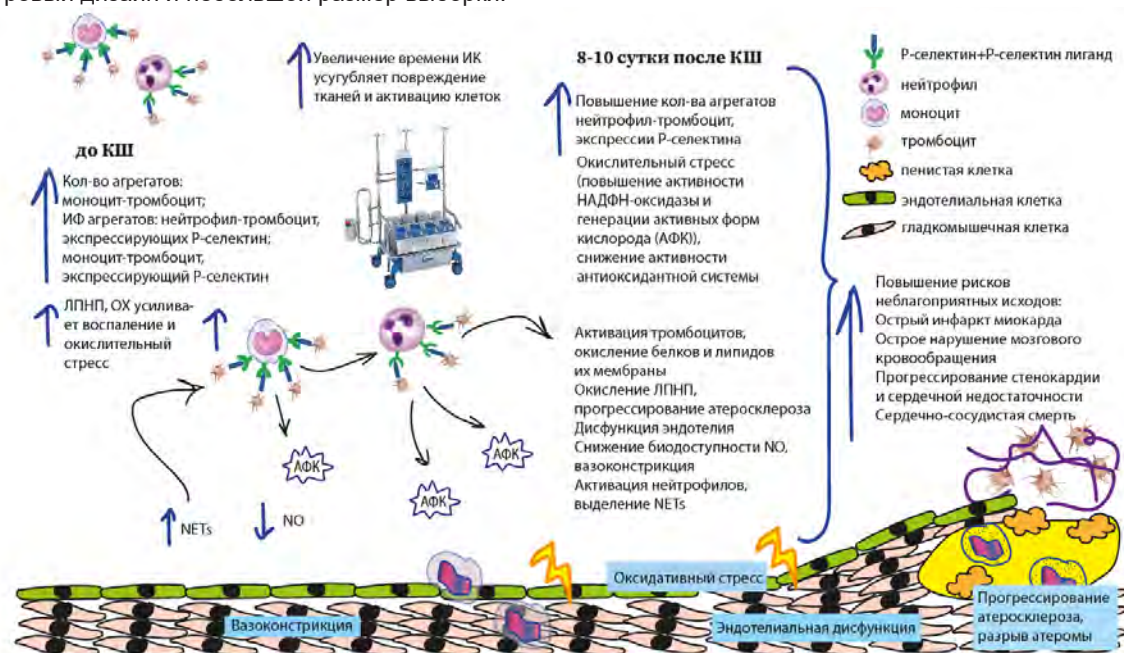


Рис. 1. Патогенетический механизм повышения рисков развития нежелательных событий после коронарного шунтирования

Примечание: КШ – коронарное шунтирование, ИК – искусственное кровообращение, АФК – активные формы кислорода, ОХ – общий холестерин, ЛПНП – липопротеиды низкой плотности, NO – оксид азота, NETs – нейтрофильные внеклеточные ловушки, НАДФН-оксидаза – никотинамиде-ндинуклеотидфосфат-оксидаза.

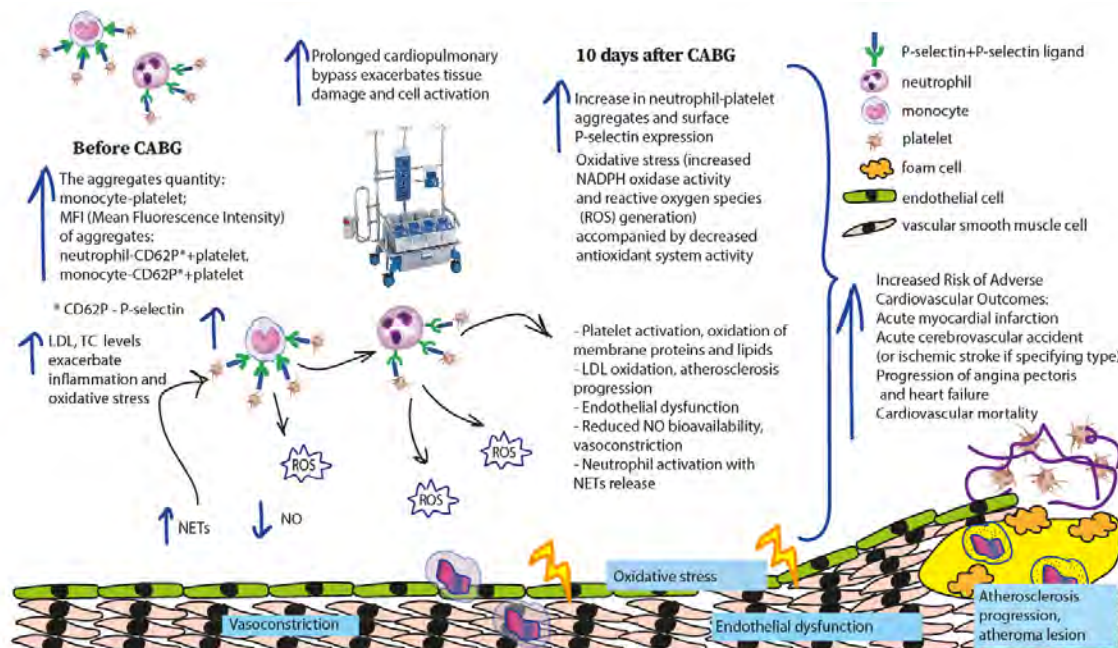


Fig. 1. Pathogenetic mechanism of elevated adverse event risks after CABG

Note: CABG – coronary artery bypass grafting, CPB – cardiopulmonary bypass, ROS – reactive oxygen species, TC – total cholesterol, LDL – low-density lipoproteins, NO – nitric oxide, NETs – neutrophil extracellular traps, NADPH oxidase – nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase.

Закключение

Таким образом, пациенты с комбинированными нежелательными сердечно-сосудистыми явлениями имеют большие показатели ИФ и большее количество тромбоцит-лейкоцитарных агрегатов до и после КШ, более короткое время достижения максимума ХЛ тромбоцитов и нейтрофилов до КШ, более продолжительное время проведения ИК по сравнению с пациентами без нежелательных сердечно-сосудистых событий. Данные показатели могут быть рассмотрены как предикторы повышенного риска развития нежелательных событий после КШ в дальнейших исследованиях.

Литература / References

- Gaudino M., Di Franco A., Bhatt D.L., Alexander J.H., Abbate A., Azzalini L., et al. The association between coronary graft patency and clinical status in patients with coronary artery disease. *Eur. Heart J.* 2021;42(15):1433–1441. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab096>
- Mauro M.S., Finocchiaro S., Calderone D., Rochira C., Agnello F., Scalia L. et al. Antithrombotic strategies for preventing graft failure in coronary artery bypass graft. *J. Thromb. Thrombolysis.* 2024;57(4):547–557. <https://doi.org/10.1007/s11239-023-02940-5>
- Guida G.A., Angelini G.D. Pathophysiology and mechanisms of saphenous vein graft failure. *Braz. J. Cardiovasc. Surg.* 2022;37:32–37. <https://doi.org/10.21470/1678-9741-2022-0133>
- Buxton B.F., Hayward P.A., Raman J., Moten S.C., Rosalion A., Gordon I. et al. RAPCO Investigators. Long-Term Results of the RAPCO Trials. *Circulation.* 2020;142(14):1330–1338. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.045427>
- Huang J.T., Sung S.H., Hsu C.P., Chiang C.E., Yu W.C., Cheng H.M. et al. TIMP-1 in the prognosis of patients who underwent coronary artery bypass surgery: a 12-year follow-up study. *Front. Cardiovasc. Med.* 2023;10:1226449. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1226449>
- Tscharre M., Vogel B., Tentzeris I., Freynhofer M., Rohla M., Wojta J. et al. Prognostic impact of soluble P-selectin on long-term adverse cardiovascular outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Thromb. Haemost.* 2019;119(2):340–347. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1676563>
- Ding Z., Pothineni N.V.K., Goel A., Lüscher T.F., Mehta J.L. PCSK9 and inflammation: role of shear stress, pro-inflammatory cytokines, and LOX-1. *Cardiovasc. Res.* 2020;116(5):908–915. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz313>
- Гончаров М.Д., Гринштейн Ю.И., Савченко А.А., Косинова А.А. Молекулярно-метаболические особенности изменения чувствительности тромбоцитов к антиагрегантной терапии у больных с ишемической болезнью сердца до и после коронарного шунтирования. *Российский кардиологический журнал.* 2021;26(6):4442. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4442>
- Goncharov M.D., Grinshtein Y.I., Savchenko A.A., Kosinova A.A. Molecular-metabolic features of changes in platelet sensitivity to antiplatelet therapy in patients with coronary heart disease before and after coronary artery bypass grafting. *Russ. J. Cardiol.* 2021;26(6):4442. (In Russ.). <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4442>
- Савченко А.А., Гончаров М.Д., Гринштейн Ю.И., Гвоздев И.И., Монгуш Т.С., Косинова А.А. Анализ синтеза активных форм кислорода тромбоцитами больных ишемической болезнью сердца с помощью хемилюминесцентного метода. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2020;169(4):535–538. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04924-4>
- Savchenko A.A., Goncharov M.D., Grinshtein Y.I., Gvozdev I.I., Mongush T.S., Kosinova A.A. Chemiluminescent analysis of reactive oxygen species synthesis by platelets from patients with coronary heart disease. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020;169(4):535–538. (In Russ.). <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04924-4>
- Oikonomou E., Leopolou M., Theofilis P., Antonopoulos A.S., Siasos G., Latsios G. et al. A link between inflammation and thrombosis in atherosclerotic cardiovascular diseases: clinical and therapeutic

Conclusion

Therefore, patients experiencing combined adverse cardiovascular events exhibited significantly elevated fluorescence intensity and platelet-leukocyte aggregate counts (both pre- and post-CABG), significantly faster platelet and neutrophil chemiluminescence peaks pre-CABG, and longer CPB duration compared to event-free patients. These biomarkers can serve as predictors of increased post-CABG adverse event risk in subsequent investigations.

Study limitations: single-center design, small sample size.

- implications. *Atherosclerosis.* 2020;309:16–26. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.07.027>
- Scialla J.J., Plantinga L.C., Kao W.H.L., Jaar B., Powe N.R., Parekh R.S. Soluble P-selectin levels are associated with cardiovascular mortality and sudden cardiac death in male dialysis patients. *Am. J. Nephrol.* 2011;33(3):224–230. <https://doi.org/10.1159/000324517>
 - Burger P.C., Wagner D.D. Platelet P-selectin facilitates atherosclerotic lesion development. *Blood.* 2003;101(7):2661–2666. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-2209>
 - Pluta K., Porębska K., Urbanowicz T., Gąsecka A., Olasińska-Wiśniewska A., Targoński R. et al. Platelet-leucocyte aggregates as novel biomarkers in cardiovascular diseases. *Biology (Basel).* 2022;11(2):224. <https://doi.org/10.3390/biology11020224>
 - Loguinova M., Pinegina N., Kogan V., Vagida M., Arakelyan A., Shpektor A., et al. Monocytes of different subsets in complexes with platelets in patients with myocardial infarction. *Thromb. Haemost.* 2018;118(11):1969–1981. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1673342>
 - Brambilla M., Camera M., Colnago D., Marenzi G., De Metrio M., Giesen P.L. et al. Tissue factor in patients with acute coronary syndromes: expression in platelets, leukocytes, and platelet-leukocyte aggregates. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(5):947–953. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.161471>
 - Dey S., Kashav R., Kohli J.K., Magoon R., ItiShri, Walian A. et al. Systemic immune-inflammation index predicts poor outcome after elective off-pump CABG: a retrospective, single-center study. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2021;35(8):2397–2404. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2020.09.092>
 - Джатдоева А.А., Проскурнина Е.В., Нестерова А.М., Дубинкин И.В., Гапонова Т.В., Обьденный С.И. и др. Митохондрии как источник супероксидного анион-радикалов тромбоцитах. *Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии.* 2017;(6):116–123.
 - Dzhatdоеva A.A., Proskurnina E.V., Nesterova A.M., Dubinkin I.V., Gaponova T.V., Obydeny S.I. et al. Mitochondria as sources of superoxide anion radical in platelets. *Biol. Membr.* 2017;(6):116–123. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0233475517060056>
 - Jancinova V., Drabikova K., Petrikova M., Nosal R. Blood platelets decrease concentration of reactive oxygen species produced by polymorphonuclear leukocytes. *Bratisl. Lek. Listy.* 2004;105(7–8):250–255. PMID:15543845.
 - Гончаров М.Д., Савченко А.А., Гринштейн Ю.И., Гвоздев И.И., Косинова А.А., Монгуш Т.С. Аспиринрезистентность как результат нарушения взаимодействия тромбоцитов и нейтрофилов у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии.* 2021;17(1):16–22. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2021-01-07>
 - Goncharov M.D., Savchenko A.A., Grinshtein Y.I., Gvozdev I.I., Kosinova A.A., Mongush T.S. Aspirin resistance as a result of impaired interaction of platelets and neutrophils in patients with coronary heart disease. *Ration Pharmacother Cardiol.* 2021;17(1):16–22. (In Russ.). <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2021-01-07>
 - Mao Z., Zhong X., Yin J., Zhao Z., Hu X., Hackett M.L. Predictors associated with stroke after coronary artery bypass grafting: a systematic review. *J. Neurol. Sci.* 2015;357(1–2):1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.07.006>

Информация о вкладе авторов

Гринштейн Ю.И., Савченко А.А. разработали концепцию и протокол исследования, курировали сбор данных и редактировали окончательную версию рукописи; Савченко А.А. курировал выполнение хемилюминесцентного анализа; Косинова А.А., Монгуш Т.С., Гончаров М.Д. формировали когорту пациентов, наблюдали за ними в ходе терапии и собирали данные по конечным точкам; Косинова А.А., Гончаров М.Д. провели статистическую обработку данных, проанализировали их и написали первоначальный вариант рукописи; Мальцева А.Н. провела анализ литературных данных; Косинова А.А. выполнила перевод рукописи на английский язык. Все авторы одобрили окончательную версию рукописи для подачи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, обеспечивая её точность и достоверность.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Косинова Александра Александровна, старший научный сотрудник, лаборатория цифровых управляемых лекарств и тераностики, КНЦ СО РАН; доцент кафедры терапии, институт последипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия, e-mail: tarskihhaa@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7412-2516>.

Гринштейн Юрий Исаевич, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, институт последипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия, e-mail: grinstein.yi@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-4621-1618>.

Мальцева Анна Николаевна, аспирант, кафедра терапии, институт последипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия, e-mail: mn19np@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-7368-2423>.

Гончаров Максим Дмитриевич, соискатель кафедры терапии, институт последипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия; врач лабораторной диагностики, Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии, Красноярск, Россия, e-mail: adimax07@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0001-5583-7412>.

Монгуш Таира Семеновна, соискатель кафедры терапии, институт последипломного образования, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия; врач-кардиолог, Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии, Красноярск, Россия, e-mail: mongushts@krascor.ru; <http://orcid.org/0000-0003-4530-8730>.

Савченко Андрей Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии им. проф. А.Т. Пшоники, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия; заведующий лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, ФИЦ КНЦ СО РАН, НИИ медицинских проблем Севера, Красноярск, Россия, e-mail: aasavchenko@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0001-5829-672X>.

Поступила 09.04.2025;
рецензия получена 30.07.2025;
принята к публикации 27.08.2025.

Information on author contributions

Grinshtein Yu.I., Savchenko A.A. developed the concept and protocol of the study, supervised data collection, and edited the final version of the manuscript; Savchenko A.A. oversaw the performance of the chemiluminescence assay; Kosinova A.A., Mongush T.S., Goncharov M.D. established the patient cohort, monitored them during therapy, and collected data on endpoints; Kosinova A.A. and Goncharov M.D. performed statistical data processing, analyzed the data, and wrote the initial draft of the manuscript; Maltseva A.N. conducted the literature review; Kosinova A.A. translated the manuscript into English. All authors approved the final version of the manuscript for submission and agreed to be accountable for all aspects of the work, ensuring its accuracy and integrity.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Information about the authors

Alexandra A. Kosinova, Senior Research Scientist, Laboratory of Digital Controlled Medicines and Theranostics, KSC SB RAS; Associate Professor, Department of Therapy, Institute of Postgraduate Education, KrasSMU, Krasnoyarsk, Russia, e-mail: tarskihhaa@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7412-2516>.

Yuri I. Grinshtein, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Therapy, Institute of Postgraduate Education, KrasSMU, Krasnoyarsk, Russia, e-mail: grinstein.yi@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-4621-1618>.

Anna N. Maltseva, Graduate Student, Department of Therapy, Institute of Postgraduate Education, KrasSMU, Krasnoyarsk, Russia, e-mail: mn19np@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-7368-2423>.

Maxim D. Goncharov, Applicant, Department of Therapy, Institute of Postgraduate Education, KrasSMU; Laboratory Physician, Federal Center for Cardiovascular Surgery, Krasnoyarsk, Russia, e-mail: adimax07@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0001-5583-7412>.

Taira S. Mongush, Applicant, Department of Therapy, Institute of Postgraduate Education, KrasSMU; Cardiologist, Federal Center for Cardiovascular Surgery, Krasnoyarsk, Russia, e-mail: mongushts@krascor.ru; <http://orcid.org/0000-0003-4530-8730>.

Andrey A. Savchenko, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Physiology named after Prof. A.T. Pshonik, KrasSMU; Head of the Laboratory of Cellular-Molecular Physiology and Pathology, FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia, e-mail: aasavchenko@yandex.ru; <http://orcid.org/0000-0001-5829-672X>.

Received 09.04.2025;
review received 30.07.2025;
accepted for publication 27.08.2025.