

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ И ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

С.А. Сайганов, А.М. Кузьмина-Крутецкая

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Сайганов С.А., Кузьмина-Крутецкая А.М. Эндотелиальная дисфункция и циркулирующие эндотелиальные клетки у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2018. – Т. 10. – № 2. – С. 27-32. doi: 10.17816/mechnikov201810227-32

Поступила в редакцию: 04.04.2018

Принята к печати: 08.06.2018

♦ **Цель** — оценить эндотелиальную функцию у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца методом определения числа циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови. **Материал и методы.** Обследован 71 пациент с клиникой стабильной стенокардии I–III ФК и наличием хронической обструктивной ишемической болезни сердца (ИБС) по данным коронарной ангиографии, проведена оценка коронарной анатомии по шкале SYNTAX Score и определено число циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) методом проточной цитофлуориметрии. В зависимости от выбранной лечебной стратегии пациенты распределены в следующие группы: группа медикаментозной терапии (группа 1) — 22 человека; группа пациентов, нуждающихся в реваскуляризации методом стентирования (группа 2), — 25 человек; группа пациентов, нуждающихся в хирургической реваскуляризации методом коронарного шунтирования (группа 3), — 24 человека. Контрольная группа пациентов состояла из 20 человек без атеросклеротического поражения коронарных артерий. **Основные результаты.** Исследуемые группы не различались по полу, возрасту, анамнезу курения, наличию гипертонической болезни, индексу массы тела в анамнезе ($p > 0,05$). В группе пациентов с запланированным аортокоронарным шунтированием (АКШ) было достоверно больше больных с сахарным диабетом (достоверность: $p > 0,05$) (группа 1 — 3 пациента (13,6 %), группа 2 — 4 пациента (16,0 %), группа 3 — 7 пациентов (29,1 %), контрольная группа — 2 человека (11,8 %)). Исследуемые группы достоверно различались по анатомии коронарного поражения (SYNTAX Score в группе 1 — $9,4 \pm 2,7$, в группе 2 — $19,7 \pm 5,7$, в группе 3 — $23,5 \pm 6,0$) при $p > 0,05$. Число ЦЭК в исследуемых группах было значительно выше общепринятой нормы и выше, чем в контрольной группе пациентов без ИБС ($p < 0,05$) (группа 1 — 12 (10÷16), группа 2 — 14 (10÷17), группа 3 — 14 (11÷17), контрольная группа — 12 (10÷16)), причем достоверных различий между группами основного исследования выявлено не было ($p > 0,05$). **Заключение.** Исследование функции эндотелия методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных флуоресцентно меченных антител к CD146 и CD45 может быть рассмотрено как критерий неинвазивной оценки клинической значимости атеросклеротического поражения коронарного русла.

♦ **Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция; хроническая ишемическая болезнь сердца; циркулирующие эндотелиальные клетки; проточная цитофлуориметрия; моноклональные антитела CD146⁺CD45⁺.

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND CIRCULATING ENDOTHELIAL CELLS IN PATIENTS WITH CHRONIC ISCHEMIC HEART DISEASE

S.A. Sayganov, A.M. Kuzmina-Krutetskaya

North-Western State Medical University named I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

For citation: Sayganov SA, Kuzmina-Krutetskaya AM. Endothelial dysfunction and circulating endothelial cells in patients with chronic ischemic heart disease. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2018;10(2):27-32. doi: 10.17816/mechnikov201810227-32

Received: 04.04.2018

Accepted: 08.06.2018

♦ **Aim.** To evaluate endothelial function in patients with chronic ischemic heart disease by determining the number of circulating endothelial cells in peripheral blood. **Material and methods.** 71 patient with typical angina class I–III and presence of obstructive coronary artery disease according to coronary angiography were assessed, coronary anatomy was

assessed on the SYNTAX Score scale and the number of CEC was determined by flow cytometry. Depending on the chosen treatment strategy patients were divided into the following groups: a group of medical therapy (group 1) — 22 patients; a group of patients requiring percutaneous coronary intervention (group 2) — 25 patients; a group of patients requiring surgical revascularization by coronary artery bypass surgery (group 3) — 24 patients. The control group consisted of 20 patients without atherosclerotic lesions of the coronary arteries. **Results.** Study groups do not differ by sex, age, history of smoking, the presence of hypertension, MI history ($p > 0.05$). In the group of patients who are scheduled to perform CABG significantly more patients with diabetes mellitus ($p < 0.05$) (group 1 — 3 patients (13.6%), group 2 — 4 patients (16.0%), group 3 — 7 patients (29.1%), control group — 2 patients (11.8%)). Study groups reliably differ in the anatomy of coronary lesions (SYNTAX Score in group 1 — 9.4 ± 2.7 , in group 2 — 19.7 ± 5.7 , in group 3 — 23.5 ± 6.0), $p < 0.05$. The number of CECs in the study groups is significantly higher than the generally accepted norm ($p < 0.05$), (group 1 — 12 (10÷16), group 2 — 14 (10÷17), group 3 — 14 (11÷17), control group — 12 (10÷16)). There are no significant differences between the groups with coronary artery disease ($p > 0.05$). **Conclusion.** Study of endothelial function by flow cytometry using monoclonal fluorescently labeled antibodies to CD146 and CD45 can be considered as a criterion for noninvasive assessment of the severity of atherosclerotic lesion of the coronary bed.

♦ **Keywords:** endothelial dysfunction; chronic ischemic heart disease; circulating endothelial cells; flow cytometry; monoclonal antibodies CD146⁺CD45⁻.

Введение

Сосудистый эндотелий представляет собой монослой клеток, играющий важную структурную и функциональную роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Нормальное функционирование эндотелия является важнейшим аспектом обеспечения должной циркуляции, в то время как повреждение эндотелия имеет большое значение в развитии атеросклероза и ишемии миокарда при всех клинических проявлениях ишемической болезни сердца (ИБС).

Во многих исследованиях была доказана роль эндотелиальной дисфункции как независимого предиктора более высокого риска сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с хронической ИБС [1, 2]. Кроме того, улучшение функции эндотелия ассоциировано со снижением риска сердечно-сосудистых событий, в том числе и при вторичной профилактике [3, 4].

Появление метода, способного напрямую оценить активность атерогенеза посредством изучения степени дисфункции эндотелия, а также разработка лечебных методик, напрямую влияющих на эндотелиальную функцию, видится клинически эффективной и осуществимой задачей.

Повреждение сосудистой стенки приводит к апоптозу эндотелиальных клеток и, как следствие, их слущиванию с сосудистой стенки. Дэскваммированные клетки обнаруживаются в периферической крови и названы циркулирующими эндотелиальными клетками (ЦЭК).

Для детекции ЦЭК в настоящее время в мире используются методики иммуномагнитной изоляции и проточной цитофлуориметрии [5].

Наиболее стандартизированным и точным методом детекции и подсчета количества ЦЭК является проточная цитофлуориметрия

с использованием меченных флуорохромами моноклональных антител к поверхностным маркерам клеток CD146⁺CD45⁻ [6].

Целью настоящего исследования явилась оценка эндотелиальной функции у пациентов с хронической ИБС методом определения числа ЦЭК в периферической крови.

Материалы и методы

Исследование выполняли на базе ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» МЗ РФ с 2015 по 2017 г. Протокол одобрен локальным этическим комитетом. Обязательным условием включения пациентов являлось подписание ими информированного согласия на участие в исследовании. В перспективное когортное исследование была отобрана группа из 71 пациента с наличием стабильной ИБС и известным обструктивным поражением коронарных артерий, также была набрана контрольная группа из 20 пациентов без атеросклеротического поражения коронарных артерий по данным коронарной ангиографии. Отбор пациентов проводили во 2-м кардиохирургическом отделении клиники имени Э.Э. Эйхвальда.

В исследование включали больных с клиникой стабильной стенокардии напряжения I–III ФК по классификации стабильной стенокардии Канадского сердечно-сосудистого общества в возрасте 35–70 лет. Наличие обструктивной ИБС подтверждали данными коронарной ангиографии.

Критериями исключения были: наличие острых форм ИБС в течение последних трех ме-

сяцев; любые внутрисердечные вмешательства в анамнезе, выполнение коронарной ангиографии более четырех недель тому назад; отсутствие внутривенных вмешательств в течение последних 7 дней; любые общие хирургические процедуры в течение последних трех месяцев; необходимость выполнения иного внутрисердечного вмешательства (не реваскуляризация), наличие системных заболеваний соединительной ткани, перенесенные острые инфекционные заболевания в течение последних трех месяцев; онкологические заболевания в анамнезе; трансплантации в анамнезе; плоскостопие; анемия.

Анатомическую оценку поражения коронарного русла по данным коронарной ангиографии выполняли с использованием шкалы SYNTAX SCORE (Synergy between Percutaneous Coronary Intervention with TAXUS and Cardiac Surgery) [7].

Основанием для выбора лечебной тактики служили рекомендации Европейского общества кардиологов (ESC) по реваскуляризации 2014 г. [8].

В зависимости от планируемой лечебной тактики пациенты были распределены на три группы:

- группа 1: 22 человека с хронической ИБС, подтвержденной данными ангиографии, не нуждающиеся в реваскуляризации;
- группа 2: 25 человек с хронической ИБС, подтвержденной данными ангиографии, нуждающиеся в стентировании коронарных артерий;
- группа 3: 24 человека с хронической ИБС, подтвержденной данными ангиографии, нуждающиеся в аортокоронарном шунтировании (АКШ).

Группа контроля состояла из 20 человек без обструктивной ИБС по данным коронарографии.

До выполнения коронарной реваскуляризации методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных флуоресцентно меченных антител к CD146 и CD45 из периферической крови из расчета на $3 \cdot 10^5$ лейкоцитов выделяли ЦЭК (CYTOMICS FC 500 Beckman Coulter, США). Методика подсчета числа ЦЭК отработана в клинике ранее [9].

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием программной системы StatPlus: mac (версия 6.3). Средние величины описаны в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$), за исключением ЦЭК, значения которых представлены в виде медианы и квартильного размаха. Статистическую значимость отличий

оценивали с помощью непараметрических критериев Мана – Уитни, Пирсона и критерия Вилкоксона. Критерием статистической достоверности получаемых выводов считали общепринятую в медицине величину $p < 0,05$.

Результаты

Был обследован 91 пациент: 71 пациент в группах сравнения и 20 человек в группе контроля. В исследуемых группах не было выявлено достоверных различий по полу. Число пациентов мужского пола в группах медикаментозной терапии, запланированного шунтирования и ангиопластики со стентированием и контроля было 14 (63,6 %), 15 (60,0 %), 17 (70,8 %) и 17 (56,7 %) соответственно ($p > 0,05$). Средний возраст пациентов был несколько ниже в группе контроля и составил в среднем $59,2 \pm 5,1$ года против $65,0 \pm 6,8$; $65,4 \pm 5,7$ и $64,0 \pm 7,6$ года в исследуемых группах соответственно ($p < 0,05$).

Меньше курящих пациентов было включено в группу контроля в сравнении с пациентами с наличием обструктивного поражения коронарных артерий (табл. 1). Статистически значимой оказалась разница и в числе гипертоников, в группе контроля таких лиц также оказалось меньше (см. табл. 1). Участников исследования с наличием сахарного диабета 2-го типа выявлено достоверно больше в группе с запланированным шунтированием, достоверных различий между другими группами получено не было (см. табл. 1). В группах с наличием обструктивного поражения коронарного русла на момент начала исследования не обнаружено достоверных различий в числе пациентов, ранее перенесших инфаркт миокарда, в контрольную группу лица, перенесшие ИМ, не включались.

При анализе липидснижающей терапии на момент начала исследования был выявлен ряд особенностей. Так, в контрольной группе статины принимали 12 человек (40 %), что оказалось достоверно меньше, чем в исследуемых группах ($p < 0,05$). При сравнении групп исследования достоверно меньшее число пациентов (18 (81,8 %)) принимало статины в группе без запланированной реваскуляризации в сравнении с группами с запланированным стентированием и шунтированием — 24 (96,0 %) и 24 (100 %) человек соответственно ($p < 0,05$). За целевой уровень липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) был принят уровень $< 1,8$ ммоль/л или снижение более чем на 50 % от исходного в соответствии с рекомендациями ESC 2013 (European Society of Cardiology) по лечению стабильной

Таблица 1 / Table 1

Общая характеристика исследуемых групп пациентов
General characteristics of study groups

Показатели	Реваскуляризация не планируется (n = 22)	Планируется стентирование (n = 25)	Планируется АКШ (n = 24)	Контроль (n = 20)	Достоверность различий (p)
Мужчины, n (%)	14 (63,6)	15 (60,0)	17 (70,8 %)	17 (56,7 %)	нд
Возраст, лет	65,0 (± 6,8)	65,4 (± 5,7)	64,9 (± 7,6)	60,3 (± 7,9) <i>p</i> < 0,05*, **, ***	нд
Курение, n (%)	12 (54,5 %)	13 (52,0 %)	16 (66,7 %)	9 (30,0 %) <i>p</i> < 0,01*, **, <i>p</i> < 0,05***	нд
Гипертоническая болезнь, n (%)	22 (100 %)	25 (100 %)	24 (100 %)	18 (63,3 %) <i>p</i> < 0,05*, **, ***	нд
Сахарный диабет, n (%)	3 (13,6 %)	4 (16,0 %)	7 (29,1%) <i>p</i> < 0,05***, †, ††	2 (11,8 %)	нд
Факт приема статинов на момент начала исследования, n (%)	18 (81,8 %) <i>p</i> < 0,05 ^{#, †}	24 (96,0 %)	24 (100 %)	12 (40 %) <i>p</i> < 0,05*, **, ***	нд
Целевой уровень ЛПНП, n (%)	8 (36,3 %)	7 (28,0 %) <i>p</i> < 0,05 ^{#, ††}	9 (37,5 %)	–	
ИМ в анамнезе, n (%)	6 (27,3 %)	7 (28,0 %)	9 (37,5 %)	–	нд

Примечание: АКШ — аортокоронарное шунтирование; нд — нет достоверных различий; ЛПНП — липопротеины низкой плотности; ИМ — индекс массы тела; * достоверные различия между группами 1 и 4; ** достоверные различия между группами 2 и 4; *** достоверные различия между группами 3 и 4; † достоверные различия между группами 1 и 3, †† достоверные различия между группами 2 и 3; # достоверные различия между группами 1 и 2; ## достоверные различия между группами 1 и 3.

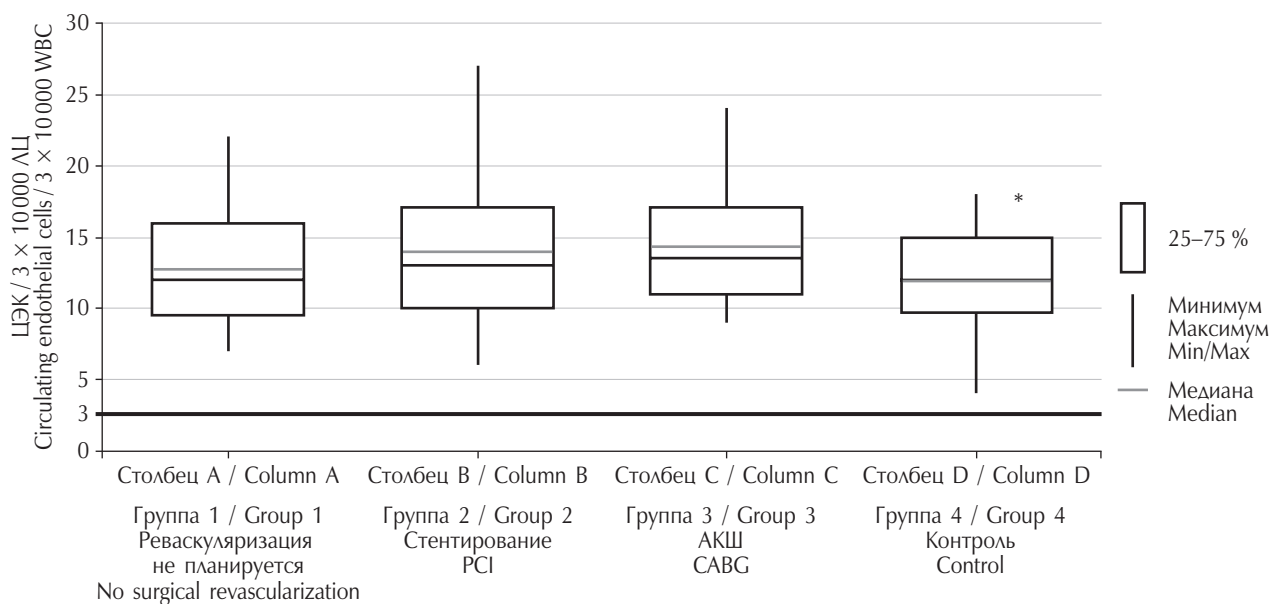


Рис. 1. Число циркулирующих эндотелиальных клеток в исследуемых группах: ЦЭК — циркулирующие эндотелиальные клетки; ЭК — эндотелиальные клетки; ЛЦ — лейкоциты; *p* — достоверность различий. * *p* < 0,05 для групп 2 и 4; для групп 3 и 4

Таблица 2 / Table 2

Сравнительные характеристики SYNTAX SCORE и числа циркулирующих эндотелиальных клеток в исследуемых группах
Comparison of SYNTAX Score and CEC numbers in the study groups

Показатели	Реваскуляризация не планируется, группа 1 (n = 22)	Планируется стентирование, группа 2 (n = 25)	Планируется АКШ, группа 3 (n = 24)	Достоверность различий (p)
SYNTAX SCORE	9,4 (± 2,7)	19,7 (± 5,7)	23,5 (± 6,0)	1 и 2 $p < 0,0001$ 2 и 3 $p < 0,05$ 1 и 3 $p < 0,0001$
Число ЦЭК, кл/3 · 10 ⁵ ЛЦ	12 (10÷16)	14 (10÷17)	14 (11÷17)	> 0,05
Корреляция SYNTAX SCORE и числа ЦЭК (rs, p)	rs 0,61 p < 0,001	rs 0,69 p < 0,01	rs 0,13 p > 0,5	

Примечание: SYNTAX SCORE — Synergy between Percutaneous Coronary Intervention with TAXUS and Cardiac Surgery — коронарная анатомия; АКШ — аортокоронарное шунтирование; ЦЭК — циркулирующие эндотелиальные клетки; кл/3 · 10⁵ ЛЦ — число клеток 3 · 10 000 лейкоцитов; rs — коэффициент ранговой корреляции Спирмена; p — достоверность различий.

ишемической болезни сердца [10]. Однако целевой уровень ЛПНП имело меньшее количество пациентов в группе реваскуляризации методом стентирования нежели в двух других исследуемых группах ($p < 0,05$). Целевой уровень ЛПНП не оценивали в контрольной группе.

По степени тяжести поражения коронарного русла пациенты с наличием стенозов в исследуемых группах распределились следующим образом: в группе без запланированной реваскуляризации среднее значение SYNTAX SCORE (Synergy between Percutaneous Coronary Intervention with TAXUS and Cardiac Surgery) составило 9,4 (± 2,7), в группе с запланированным стентированием — 19,7 (± 5,7), в группе с запланированным шунтированием — 23,5 (± 6,0), результаты отличались статистически значимо ($p < 0,05$).

Число ЦЭК в периферической крови пациентов представлено на рис. 1 и в табл. 2 в виде медианы и квартильного размаха числа ЦЭК в периферической крови пациентов исследуемых групп и группы контроля. В группе пациентов с наличием хронической обструктивной ИБС, не нуждающихся в реваскуляризации, число ЦЭК составило 12 (10÷16) кл/3 · 10⁵ ЛЦ (лейкоциты), в группе пациентов с наличием хронической обструктивной ИБС, нуждающихся в реваскуляризации миокарда методом стентирования, число ЦЭК было 14 (10÷17) кл/3 · 10⁵ ЛЦ, в группе пациентов с наличием хронической обструктивной ИБС, нуждающихся в реваскуляризации миокарда методом аортокоронарного и маммарокоронарного шунтирования, число ЦЭК оказалось 14 (11÷17) кл/3 · 10⁵ ЛЦ. Достоверных различий

между данными группами выявлено не было ($p > 0,05$). В группе контроля число ЦЭК равнялось 12 (10÷15) кл/3 · 10⁵ ЛЦ, не выявлено достоверных различий с группой без хирургического вмешательства ($p > 0,05$), достоверные различия выявлены с группой пациентов с запланированным стентированием и запланированным шунтированием ($p < 0,05$) (рис. 1).

Также обнаружена корреляция умеренной значимости между значениями SYNTAX SCORE и числом ЦЭК в группах без планируемой реваскуляризации и с планируемым стентированием. Однако корреляции не было получено в группе с запланированным шунтированием (табл. 2).

Обсуждение

В исследованных группах не было установлено достоверных различий по полу, возрасту, анамнезу курения, наличию гипертонической болезни, инфаркта миокарда в анамнезе, в связи с чем можно судить о равнозначности групп.

В группе пациентов, которым планируется выполнение шунтирования, было выявлено достоверно большее число пациентов с сахарным диабетом, что вписывается в представления о генезе эндотелиальной дисфункции и тяжести течения атеросклероза и подтверждается литературными данными [11].

Исследуемые группы достоверно различались по анатомии коронарного русла, что частично обусловлено дизайном исследования и соотносится с выбором лечебных методик.

Число ЦЭК во всех исследуемых группах было значительно выше общепринятой нормы,

что, несомненно, подтверждает роль эндотелиальной дисфункции в развитии ИБС [12, 13]. Достоверные различия числа ЦЭК между контрольной группой и группами пациентов с обструктивным поражением коронарного русла соотносятся с наличием атеросклероза. Несмотря на это, данные, подтверждающие прямую корреляцию между числом ЦЭК и тяжестью поражения коронарного русла, не получены. Данный факт можно объяснить тем, что число ЦЭК отражает наличие эндотелиальной дисфункции, способствующей развитию атеросклероза. Между тем тяжесть поражения коронарного русла зависит от многих других факторов, в том числе и от врожденной предрасположенности.

Заключение

Число циркулирующих эндотелиальных клеток методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных флуоресцентно меченных антител к CD146 и CD45 может быть использовано как биомаркер эндотелиальной дисфункции и как дополнительный критерий определения групп пациентов с наличием обструктивного поражения коронарного русла.

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература

- Halcox JP, Schenke WH, Zalos G, et al. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation*. 2002;106(6):653-658.
- Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, et al. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001;104(22):2673-2678. doi: 10.1161/hc4601.099485.
- Matsuzawa Y, Lerman A. Endothelial dysfunction and coronary artery disease: Assessment, prognosis, and treatment. *Coron Artery Dis*. 2014;25:713-724. doi: 10.1097/MCA.0000000000000178.
- Matsuzawa Y, Guddeti RR, Kwon TG, et al. Secondary prevention strategy of cardiovascular disease using endothelial function testing. *Circulation J*. 2015;79(4):685-694. doi: 10.1253/circj.CJ-15-0068.
- Blann AD, Woywodt A, Bertolini F, et al. Circulating endothelial cells. *Thromb Haemost*. 2005;93:228-235.
- Erdbruegger U, Haubitz M, Woywodt A. Circulating endothelial cells: a novel marker of endothelial damage. *Clinica Chimica Acta*. 2006;373(1):17-26.
- Ong AT, Serruys PW, Mohr FW, et al. The SYnergy between percutaneous coronary intervention with TAXus and cardiac surgery (SYNTAX) study: design, rationale, and run-in phase. *Am Heart J*. 2006;151(6):1194-1204. doi: 10.1016/j.ahj.2005.07.017.
- Authors/Task Force members, Kolh P, Windecker S, Alfonso F, et al. 2014 ESC/EACTS 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 of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur Heart J*. 2014;46(4):517-592. doi: 10.1093/eurheartj/ehu278
- Феоктистова В.С., Вавилова Т.В., Сироткина О.В., и др. Новый подход к оценке дисфункции эндотелия: определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток методом проточной цитометрии // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60. – № 4. [Feoktistova VS, Vavilova TV, Sirotkina OV, et al. The new approach to evaluation of endothelium dysfunction: detection of number of circulating endothelium cells using flow cytometry technique. *Klinicheskaja Laboratornaja Diagnostika*. 2015;60(4). (In Russ.)]
- Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, et al. Рекомендации по лечению стабильной ишемической болезни сердца. ESC 2013 // Российский кардиологический журнал. – 2015. – № 7. – С. 7–79. [Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, et al. 2013 ESC Guidelines on the management of stable coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology*. 2014;(7):7-79. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2014-7-7-79.
- Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *The Lancet*. 2010;375(9733):2215-2222.
- Widemann A, Sabatier F, Arnaud L, et al. CD146-based immunomagnetic enrichment followed by multiparameter flow cytometry: a new approach to counting circulating endothelial cells. *J Thromb Haemost*. 2008;6(5):869-876. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.02931.x.
- Shantsila E, Blann AD, Lip GYH. Circulating endothelial cells: from bench to clinical practice. *J Thromb Haemost*. 2008;6(5):865-868. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.02918.x.

♦ **Адрес автора для переписки** (*Information about the author*)

Анастасия Михайловна Кузьмина-Крутецкая / Anastasiya M. Krutetskaya
Тел. / Tel.: +7(921)401-36-44
E-mail: akrutetskaya@gmail.com