

Денисенко Ольга Анатольевна

**МЕХАНИЗМЫ ДИСРЕГУЛЯЦИИ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА
МОНОЦИТОВ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК КРОВИ И
КОСТНОГО МОЗГА В ПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ**

3.3.3. Патологическая физиология

1.5.22. Клеточная биология

Автореферат

диссертации на соискание

ученой степени кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент

Чумакова Светлана Петровна

доктор медицинских наук, профессор,
член корреспондент РАН

Уразова Ольга Ивановна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент,
профессор кафедры патологической физиологии
и клинической патофизиологии
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России

Шилов Сергей Николаевич

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий лабораторией
молекулярно-клеточной физиологии и патологии
НИИ медицинских проблем Севера –
обособленного подразделения
ФИЦ КНЦ СО РАН (НИИ МПС)

Савченко Андрей Анатольевич

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)

Защита диссертации состоится: _____ г. на заседании диссертационного совета 21.2.068.01 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и на сайте <http://www.ssmu.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Петрова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Кардиоваскулярные заболевания сохраняют лидирующие позиции в структуре причин смертности среди неинфекционных заболеваний и представляют собой глобальную проблему для системы здравоохранения большинства стран мира [Faris P. et al., 2020; Di Cesare M. et al., 2024]. Наиболее распространенной сердечно-сосудистой патологией является ишемическая болезнь сердца (ИБС) и ее клинические формы, в том числе ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) [Faris P. et al., 2020]. Последняя сопровождается значительной систолической дисфункцией левого желудочка на фоне ИБС, поэтому пациенты с ИКМП демонстрируют почти на 30% худшую 5-летнюю выживаемость по сравнению с пациентами с неишемической систолической дисфункцией левого желудочка [Liga R. et al., 2023].

С учетом обсуждаемых на сегодняшний день патогенетических факторов ИКМП, продолжается поиск эффективных алгоритмов и методов ее лечения и профилактики [Dei Buono M.G. et al., 2022; Koskina L. et al., 2025]. В качестве возможных кандидатов на роль терапевтических агентов и маркеров нарушений в сердечно-сосудистой системе рассматриваются медиаторы эндотелиальной дисфункции, моноциты и эндотелиальные прогениторные клетки (ЭПК), большая часть из которых имеет моноцитарное происхождение [Medina-Leyte D.J. et al., 2021; Huang H. et al., 2022; Tariq A.R. et al., 2024].

Популяция моноцитов крови является гетерогенной, что отражается в номенклатуре, основанной на экспрессии кластеров дифференцировки CD14 и CD16. Выделяют классические ($CD14^{++}CD16^{-}$), промежуточные ($CD14^{++}CD16^{+}$), неклассические ($CD14^{+}CD16^{++}$) и переходные ($CD14^{+}CD16^{-}$) моноциты [Ruder A. et al., 2023]. Установлено, что соотношение иммунофенотипов моноцитов меняется при хронической сердечной недостаточности, стабильной стенокардии и остром инфаркте миокарда неоднозначно [Shahid F. et al., 2018; Ruiz-Limon P. et al., 2019; Williams H. et al., 2021]. При этом исследований, направленных на изучение механизмов генерации данных субпопуляций достаточно мало, а их костномозговая дифференцировка практически не изучается. Данная информация для больных ИБС отсутствует, роль отдельных субпопуляций моноцитов в патогенезе ИКМП совершенно неизвестна.

ЭПК известны своей высокой способностью к пролиферации и дифференцировке в клетки сосудистой стенки, которые играют решающую роль в процессе поддержания целостности сосудов и восстановления после повреждения миокарда [Heinisch P. P. et al., 2022]. Повреждение эндотелиоцитов на фоне ишемии/гипоксии способствует мобилизации и дальнейшей миграции ЭПК из костного мозга в периферический кровоток, а затем к месту повреждения под действием цитокинов [Morrone D. et al., 2021; Tariq A.R. et al., 2024]. Большинство исследований посвящены изучению ЭПК, положительных по маркерам CD34 и VEGFR2 [Nova-Lamperti E. et al., 2016], тогда как работ, посвященных изучению ЭПК, которые экспрессируют на своей поверхности маркер линии моноцитарных клеток CD14, практически нет.

На созревание моноцитарных клеток традиционно влияет специфический активатор их дифференцировки – колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF), а также фактор некроза опухоли (TNF)- α , который является одним из основных активаторов ЭПК [Ushach I. et al., 2016; Medina-Leyte D.J. et al., 2021]. При этом пролиферация ЭПК закономерно должна находиться под контролем сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) [Nova-Lamperti E. et al., 2016; Tariq A.R. et al., 2024]. Следовательно, выявление цитокин-зависимых механизмов нарушения образования в костном мозге и выхода в кровь ЭПК и моноцитов

различных иммунофенотипов в комплексе с оценкой баланса между деструктивными и репаративными процессами в сосудах при коронарном атеросклерозе могли бы идентифицировать патогенетические факторы развития ИКМП, патогенез которой до конца не изучен.

Степень разработанности темы исследования. Ранее установлено, что моноциты могут рассматриваться как возможные маркеры эндотелиальной дисфункции и ИБС [Medina-Leyte D.J. et al., 2021; Chatterjee N. et al., 2024]. В состоянии гомеостаза в крови преимущественно циркулируют классические моноциты, а при возникновении воспаления они вместе с интенсивно образующимися промежуточными моноцитами рекрутируются в очаги, где могут дифференцироваться в макрофаги (МФ) [Kim K-W. et al., 2021]. Основной функцией неклассических моноцитов CD14⁺CD16⁺⁺ является патрулирование сосудистой сети со стороны интимы и удаление клеточного дебриса с ее поверхности. Промежуточные моноциты демонстрируют высокую фагоцитарную активность и продукцию активных форм кислорода (АФК), а также секретируют преимущественно провоспалительные цитокины при стимуляции толл-подобных рецепторов (TLR) [Ruder A. et al., 2023]. У больных некоторыми формами ИБС выявляется моноцитоз и обнаруживается положительная связь числа моноцитов с тяжестью эндотелиальной дисфункции и с повышенным риском сердечно-сосудистых событий перед наступлением таковых [Medina-Leyte D.J. et al., 2021; Chatterjee N. et al., 2024].

Выделенные из мононуклеарной фракции крови ЭПК с фенотипом CD34⁺VEGFR2⁺CD14^{+/-} могут активно участвовать в поддержании целостности эндотелия и обеспечении репарации сосудов за счет индукции ангиогенеза и коллатерального кровообращения [Yubero-Serrano E.M. et al., 2020]. Выделяют 2 типа ЭПК: ранние и поздние. Ранние ЭПК экспрессируют на своей поверхности CD14, CD34, VEGFR2, участвуют в ангиогенезе паракринным образом и, по некоторым данным, способны дифференцироваться в эндотелиоциты, но не образуют тубулярные структуры. Поздние ЭПК экспрессируют на поверхности CD34, VEGFR2, но не CD14, и считаются «истинными ЭПК», так как демонстрируют высокую пролиферативную активность и способны напрямую участвовать в процессе ангиогенеза посредством дифференцировки в эндотелиоциты и образования тубулярных структур [Chopra H. et al., 2018].

Показано, что процесс хоуминга ЭПК сложен и регулируется большим количеством биологически активных молекул (цитокинов, рецепторов, молекул адгезии, протеаз и механизмов клеточной сигнализации [Черток В.М. и соавт., 2017; Huang H. et al., 2022]. На фоне гипоксии повышается концентрация индуцируемого гипоксией фактора (HIF)-1 α , а он, в свою очередь, индуцирует транскрипцию генов различных проангиогенных белков (VEGF, фактора стромальных клеток (SDF)-1, моноцитарного хемотаксического белка (MCP)-1), которые активно привлекают ЭПК из костного мозга в места ишемии и повреждения. Наряду с этим, немаловажная роль в мобилизации ЭПК отводится локальному гомеостазу костного мозга. M-CSF, VEGF, SDF-1, эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS) и NO участвуют в мобилизации и высвобождении ЭПК из миелоидной ткани за счет изменения их взаимодействия со стромальными клетками костного мозга [Minhajati R. et al., 2015; Tariq A.R. et al., 2024]. Помимо этого, имеются данные об участии интерлейкина (IL)-6 в миграции ЭПК через сигнальные пути gp80/gp130, включая фосфорилирование молекул ERK1/2 и STAT-3 [Kang S. et al., 2020]. В связи с этим представляется важным исследование субпопуляционного состава моноцитов и ЭПК у пациентов с ИКМП, а также особенностей их дифференцировки и миграции под действием цитокинов из костного мозга в кровь.

Цель исследования: установить цитокин-зависимые механизмы нарушения дифференцировки в костном мозге и миграции в кровь эндотелиальных прогениторных клеток и моноцитов различных иммунофенотипов у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

Задачи исследования:

1. Проанализировать соотношение классических $CD14^{++}CD16^{-}$, промежуточных $CD14^{++}CD16^{+}$, неклассических $CD14^{+}CD16^{++}$ и переходных $CD14^{+}CD16^{-}$ моноцитов в крови и костном мозге у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

2. Оценить содержание эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) моноцитарного ($CD34^{+}VEGFR2^{+}CD14^{+}$, ранние ЭПК) и немонацитарного ($CD34^{+}VEGFR2^{+}CD14^{-}$, поздние ЭПК) иммунофенотипов в крови и костном мозге во взаимосвязи с численностью десквамированных эндотелиальных клеток ($CD45^{-}CD146^{+}$) в крови у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

3. Сравнить концентрацию интерлейкинов 6, 10 и 13, фактора некроза опухолей (TNF)- α , интерферона (IFN)- γ , моноцитарного хемотаксического белка (MCP)-1, гемопоэтических колониестимулирующих факторов: макрофагов (M-CSF), гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF), фактора стромальных клеток (SDF)-1, индуцируемого гипоксией фактора (HIF)-1 α и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF)-A в крови и костном мозге у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

4. Установить характер и особенности взаимосвязей между концентрацией медиаторов дифференцировки и миграции эндотелиальных прогениторных клеток и моноцитов в крови и костном мозге у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

5. Выявить локальные (костномозговые) и дистантные медиаторы дифференцировки моноцитов и эндотелиальных прогениторных клеток в костном мозге путем сравнительного анализа с параметрами крови при ИБС, как осложненной, так и не осложнённой ИКМП, а также определить патогенетические факторы развития ИКМП с помощью многомерного факторного анализа.

Научная новизна. Впервые установлена ассоциация отдельных цитокинов и транскрипционного фактора HIF-1 α с дифференцировкой и миграцией ЭПК и субпопуляций моноцитов в кровь при ИБС, осложненной и не осложненной ИКМП. Получены новые данные о субпопуляционном составе моноцитов костного мозга и крови, а также о содержании VEGFR2⁺ клеток, ранних и поздних ЭПК (клеток, несущих детерминанты ЭПК $CD34^{+}VEGFR2^{+}CD14^{+}$ и $CD34^{+}VEGFR2^{+}CD14^{-}$ соответственно) в костном мозге и крови у больных ИБС без кардиомиопатии и пациентов с ИКМП. Установлено, что у больных ИБС без кардиомиопатии в костном мозге активирована дифференцировка переходных форм моноцитов в классические моноциты, тогда как в крови формируется избыток промежуточных моноцитов ввиду усиления их дифференцировки из классических форм, что соответствует типичному ответу организма на воспаление на фоне атеросклероза. ИКМП отличается отсутствием в костном мозге ускоренной дифференцировки переходных моноцитов в более зрелые формы в условиях снижения индекса M-CSF/IL-13, а в крови – отсутствием профицита промежуточных моноцитов и дефицитом неклассических форм, что предрасполагает к нарушению процессов элиминации клеточного дебриса с поверхности сосудов, дисфункции эндотелия и усугублению ишемии.

Принципиально новыми являются сведения о том, что у больных ИБС без кардиомиопатии в крови на фоне повышения концентрации HIF-1 α , SDF-1 формируется избыток ранних ЭПК (CD34⁺VEGFR2⁺CD14⁺), способных усиливать процессы ангиогенеза, что может способствовать достаточной в условиях покоя перфузии гипертрофированного миокарда. У пациентов с ИКМП, напротив, регистрируется физиологический уровень HIF-1 α , SDF-1 и ранних ЭПК на фоне сердечной недостаточности и повышенной десквамации эндотелия (сопоставимой с больными ИБС без кардиомиопатии), что может препятствовать усилению ангиогенеза и адекватной перфузии гипертрофированного миокарда. Получены новые данные о механизме нарушения мобилизации ранних ЭПК у пациентов с ИКМП из костного мозга, связанном с их удержанием повышенной концентрацией хемоаттрактанта MCP-1 в миелоидной ткани и слабой миграцией в периферическую кровь ввиду отсутствия накопления SDF-1 в ней.

Теоретическая и практическая значимость работы. Получены новые сведения фундаментального характера о цитокин-зависимых механизмах нарушения созревания и миграции ЭПК и субпопуляций моноцитов при ИКМП. Исследование численности десквамированных эндотелиоцитов (ДЭК) и ЭПК позволило выявить смещение баланса процессов обновления и повреждения эндотелия при ИКМП с преобладанием последних, как за счет усиленной деструкции эндотелиоцитов, так и за счет пониженной репарации эндотелия. В частности, при ИКМП имеет место не только отсутствие закономерного для атеросклероза провоспалительного ответа, индуцирующего компенсаторные реакции усиления ангиогенеза, но и качественные изменения характера цитокин-зависимой регуляции мобилизации ЭПК и дифференцировки субпопуляций моноцитов, как в крови, так и в костном мозге; однако созревание ЭПК в миелоидной ткани не нарушено. Кроме того, определен приоритет патогенетических факторов в развитии ИКМП: на уровне крови в большей степени ими являются деструкция эндотелия с недостаточным медиаторным ответом организма на гипоксию и, в меньшей степени, слабая выраженность хронического воспаления и мобилизация поздних ЭПК в кровь; на уровне костного мозга наиболее значимо нарушение дифференцировки зрелых форм (классических) моноцитов, чем несостоятельность проангиогенного медиаторного ответа с задержкой мобилизации ранних ЭПК в миелоидной ткани.

Результаты настоящего исследования имеют фундаментально-прикладную ценность, которая может быть использована как вектор для дальнейших экспериментов в двух направлениях: первое из них – активация дифференцировки неклассических моноцитов крови, способных элиминировать поврежденные клетки с поверхности сосудов; второе – активация дифференцировки ЭПК *in vitro* или мобилизации ЭПК в кровь *in vivo*, что потенциально эффективно, поскольку согласно результатам исследования при ИКМП отсутствует нарушение генерации ЭПК в костном мозге (есть лишь нарушение их мобилизации). При этом разработка способов индукции ЭПК будет полезной не только при любых формах ИБС, но и при других сердечно-сосудистых патологиях (васкулиты, некоронарный атеросклероз).

Сопоставление концентрации цитокинов в крови и костном мозге в обеих группах больных ИБС определило общие дистантные и локальные факторы регуляции созревания ЭПК. Наряду с этим, у больных ИБС без кардиомиопатии к локальным регуляторным медиаторам относится IL-13, а к дистантным – MCP-1 и IFN- γ , тогда как для пациентов с ИКМП установлены противоположные механизмы цитокин-зависимой регуляции. Данный факт обосновывает возможность влияния на процессы дифференцировки ЭПК и

субпопуляций моноцитов у пациентов с ИКМП путем модуляции уровня IL-13, IL-10 и VEGF-A в крови.

Результаты исследования используются на кафедре патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России в учебном процессе по дисциплинам «Патофизиология, клиническая патофизиология» (на врачебных факультетах для специальностей 31.05.01 Лечебное дело и 31.05.02 Педиатрия), «Патология (патологическая физиология)» (в ординатуре для укрупненной группы специальностей 31.00.00 Клиническая медицина) и «Лабораторная гематология» (на медико-биологическом факультете для специальности 30.05.01 Медицинская биохимия).

Методология и методы исследования. Для реализации поставленных задач в исследование были включены больные ИБС преимущественно II-III функционального класса стенокардии и хронической сердечной недостаточности по NYHA (классификация Нью-Йоркской ассоциации сердца), страдающие и не страдающие ИКМП, а также здоровые доноры. Материалом для исследования служила кровь, взятая у здоровых доноров и больных ИБС, а также костный мозг, полученный только у больных ИБС в ходе оперативного вмешательства. Относительное количество классических CD14⁺⁺CD16⁻, промежуточных CD14⁺⁺CD16⁺, неклассических CD14⁺CD16⁺⁺, переходных CD14⁺CD16⁻ моноцитов и эндотелиальных прогениторных клеток (ранних CD34⁺VEGFR2⁺CD14⁺ и поздних CD34⁺VEGFR2⁺CD14⁻) в крови и костном мозге, а также численность десквамированных эндотелиальных клеток (ДЭК, CD45⁺CD146⁺) в крови определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием соответствующих моноклональных антител, меченных флуоресцентной меткой. Концентрацию цитокинов (IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α , IFN- γ , MCP-1, M-CSF, GM-CSF, SDF-1, VEGF-A) и фактора HIF-1 α в плазме крови (у всех обследованных групп) и надосадке костного мозга (только у больных ИБС) измеряли иммуноферментным и иммунофлуоресцентным методами анализа. Исследования были проведены в научно-образовательной лаборатории молекулярной медицины кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН О.И. Уразова), Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (руководитель – д-р мед. наук, профессор РАН Е.В. Удут), Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта (руководитель – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры фундаментальной медицины Л.С. Литвинова). Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием программ Microsoft Office Excel, Statistica 10.0, IBM SPSS Statistics 22.

Положения, выносимые на защиту:

1. Хроническая ишемическая болезнь сердца (ИБС), вне зависимости от наличия ишемической кардиомиопатии (ИКМП), характеризуется усиленной десквамацией эндотелия при соответствующем норме содержанию поздних эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК), IL-6, IL-13, MCP-1, TNF- α , IFN- γ , VEGF-A, переходных и классических моноцитов в крови. Количество последних обратно пропорционально числу промежуточных моноцитов, а доля неклассических клеток – концентрации IL-10 в крови.

2. Развитие ИБС без кардиомиопатии ассоциировано с компенсаторным усилением мобилизации ранних ЭПК в кровь под действием избытка SDF-1, обусловленным провоспалительным и проангиогенным ответом на поражение коронарных артерий, что связано с накоплением промежуточных моноцитов и GM-CSF (в сочетании с дефицитом M-CSF), HIF-1 α и SDF-1 в крови. При этом HIF-1 α осуществляет координированную регуляцию

субпопуляционного состава моноцитов и уровня VEGF-A в крови.

3. Формирование ИКМП проявляется анергией провоспалительного и проангиогенного ответа на поражение коронарных артерий и сопровождается аккумуляцией противовоспалительного IL-10, который опосредует дефицит ангиопротективных неклассических моноцитов в крови. Плазменная концентрация HIF-1 α сочетается с повышением уровня IL-10, но не взаимосвязана с содержанием медиаторов ангиогенеза, моноцитопоеза и субпопуляционным составом моноцитов в крови.

4. В костном мозге при ИБС вне зависимости от ИКМП преобладающей субпопуляцией моноцитов являются переходные формы, способные в условиях низкой концентрации IL-13 дифференцироваться в классические и промежуточные клетки. Образование последних, наряду с неклассическими формами, происходит в основном экстремедуллярно, а поздних ЭПК, напротив, – в миелоидной ткани при стимулирующем влиянии HIF-1 α . Цитокины M-CSF, GM-CSF, SDF-1, IL-6, TNF- α являются локальными медиаторами дифференцировки и миграции моноцитов и ЭПК, а IL-10 и VEGF-A – дистантными.

5. В костном мозге при ИБС без кардиомиопатии дифференцировка классических моноцитов из переходных форм активируется TNF- α , а поздних ЭПК – IL-6, который облегчает миграцию ЭПК за счет угнетения синтеза хемоаттрактанта SDF-1 в костном мозге. Концентрация HIF-1 α взаимосвязана с уровнем медиаторов ангиогенеза и воспаления; MCP-1 и IFN- γ являются дистантными, а IL-13 – локальным гемопоэтинами. При ИКМП дифференцировка классических моноцитов из переходных клеток, напротив, угнетается IL-13, который приобретает дистантный характер действия и уменьшает соотношение M-CSF/IL-13, что при накоплении IFN- γ извращает эффекты IL-6, опосредующего локальное повышение концентрации MCP-1 (но не SDF-1) и снижение мобилизации ЭПК в кровь. Дифференцировка ЭПК в костном мозге при кардиомиопатии не нарушена. При этом содержание HIF-1 α в миелоидной ткани не связано с концентрацией медиаторов ангиогенеза.

6. Патогенетические факторы ИКМП на уровне крови и костного мозга различаются: *на уровне крови* преобладает анергия медиаторного ответа HIF-1 α , SDF-1 на поражение коронарных артерий при меньшей значимости нарушений MCP-1-зависимого хемотаксиса клеток вследствие избытка IL-10 и недостаточном участии поздних ЭПК в репарации сосудов; *на уровне костного мозга* – недостаточное созревание классических моноцитов под действием IL-13 в условиях избытка IFN- γ и низкого соотношения M-CSF/IL-13 и в меньшей степени – HIF-1 α -зависимая дискоординация провоспалительного, проангиогенного ответа при IL-6-зависимом накоплении хемоаттрактанта MCP-1 и задержке мобилизации ранних ЭПК из костного мозга.

Степень достоверности и апробации результатов. Полученные в ходе научного исследования результаты имеют высокую степень достоверности, что подтверждается достаточным объемом клинико-лабораторного материала, использованием современных методов исследований (проточная цитофлуориметрия, иммуноферментный анализ, иммунофлуоресцентный анализ) и оборудования, адекватных цели и задачам критериев статистического анализа данных.

Основные положения научной работы докладывались и обсуждались на XXXVII Международной конференции «Горизонты современной ангиологии, сосудистой хирургии и флебологии», (г. Кисловодск, 20 - 22 мая 2022 г.); Ежегодной всероссийской научно-практической конференции «Кардиология на марше 2022» (г. Москва, 7- 9 июня 2022 г.; 6 - 8 июня 2023 г.); XXX Международной научно-практической конференции (Bengaluru,

Karnataka, India, 19 - 20 сентября 2022); Российском национальном конгрессе кардиологов 2022 (г. Казань, 29 сентября - 1 октября 2022 г.); IV Международной конференции Евразийской ассоциации кардиологов «Спорные и нерешенные вопросы кардиологии 2022» (г. Москва, 19 - 20 октября 2022 г.); V Балтийском симпозиуме по иммунологии, молекулярной и регенеративной медицине: «Механизмы воспаления и регенерации в норме и при патологии» (г. Калининград, 14 - 16 мая 2024 г.); II-ой Всероссийской конференции с международным участием «Молодые лидеры в медицинской науке» (г. Томск, 20 - 21 мая 2024 г.).

Работа осуществлена при финансовой поддержке Российского научного фонда (гранты № 22-25-00821, №22-25-20038).

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 183 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, заключения, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 19 рисунками и 15 таблицами. Библиографический указатель включает 268 источников, из них 55 отечественных и 213 зарубежных авторов.

Публикации. По результатам работы опубликовано 17 научных работ, из которых 8 работ – в изданиях, включенных в перечень рекомендованных ВАК при Минобрнауки России рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 10 работ – в изданиях, входящих в библиографические базы цитирования Scopus и WoS (в том числе 1 статья в зарубежном журнале Q2 по Scopus и Q1 по WoS (не входит в перечень ВАК)), 5 работ – в сборниках материалов международных и всероссийских конференций, съездов и конгрессов.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Соискатель принимал непосредственное участие в разработке концепции, дизайна и планировании исследования, формулировании его цели и задач. Им лично выполнена пробоподготовка и анализ данных лабораторных исследований, статистически обработаны, проанализированы и обсуждены результаты, оформлен иллюстративный материал, текст диссертации и автореферата. Автором самостоятельно и в соавторстве подготовлены тезисы докладов и рукописи статей.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, определена цель и основные задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту.

В первой главе диссертации представлен анализ современной научной литературы по теме диссертации, включающий в себя эпидемиологию, особенности развития и проявлений ИКМП. Описана роль фиброза и сократительной дисфункции в патогенезе ИКМП, а также коронарного атеросклероза и эндотелиальной дисфункции как основных патогенетических факторов ИБС. Проанализирована роль клеток моноцитарно-макрофагальной системы, цитокин-зависимая регуляция их функций и гетерогенность субпопуляции моноцитов при коронарном атеросклерозе. Охарактеризованы ЭПК моноцитарного и немонацитарного происхождения. Описаны механизмы пролиферации и дифференцировки моноцитов и ЭПК под действием цитокинов в костном мозге и их дальнейшая миграция в кровь. Проанализирована роль ЭПК при кардиопатологии.

Во второй главе диссертации описаны объект, материал и методы исследования. В исследование вошло 52 больных ИБС: 22 пациента без кардиомиопатии (18 мужчин и 4 женщины), средний возраст 64,0 [59,5; 67,0] года; 30 больных с ИКМП (27 мужчин и 3 женщины), средний возраст 61,0 [56,0; 64,0] год. Пациенты с ИБС, страдали стенокардией

напряжения преимущественно III (реже II или IV) функционального класса и недостаточностью кровообращения преимущественно II-III функционального класса по NYHA, имели инфаркт миокарда в анамнезе и были направлены на госпитализацию в отделение сердечно-сосудистой хирургии Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (директор – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ С.В. Попов; заведующий отделением – д-р мед. наук Б.Н. Козлов) с целью выполнения операции коронарного шунтирования, которая проводилась в условиях искусственного кровообращения, а пациентам с ИКМП дополнительно выполнялась реконструкция полости левого желудочка.

Диагноз ИБС устанавливался на основании результатов клинического (сбор жалоб и симптомов больного, факторов риска) и лабораторно-инструментального (электрокардиография, ультразвуковое исследование сердца, кардиовентрикулография) обследования. Критериями диагностики ИКМП являлись низкая фракция выброса левого желудочка ($\leq 40\%$); острый инфаркт миокарда или реваскуляризация в анамнезе; стеноз основной или проксимальной части левой нисходящей артерии более 75% или стеноз двух или более эпикардиальных сосудов $\geq 75\%$ [Felker G.M., 2002]. Больные ИБС без кардиомиопатии также имели стеноз коронарных сосудов $\geq 75\%$ любой локализации, реваскуляризацию в анамнезе, однако обладали сохранной фракцией выброса левого желудочка ($>40\%$).

Больные ИБС, страдающие и не страдающие ИКМП, были сопоставимы по возрасту, полу, индексу массы тела, функциональному классу стенокардии, недостаточности кровообращения. В то же время они значительно различались по фракции выброса, конечному систолическому индексу и массе миокарда левого желудочка, что явилось критериями для диагностики ИКМП и распределения больных на две группы

В качестве контрольной группы было обследовано 18 человек (14 мужчин и 4 женщины, возраст) 54,5 [47,5; 68,0] года, находящихся в состоянии здоровья, сопоставимых по полу и возрасту с группами пациентов и не имевших заболеваний сердечно-сосудистой системы в анамнезе и жалоб соответствующего характера.

Кровь забирали из кубитальной вены в объеме 5 мл у обследованных лиц утром натощак (у больных перед операцией коронарного шунтирования), костный мозг в объеме 2 мл – у больных ИБС из разреза грудины при срединной стернотомии; биоматериал стабилизировали гепарином (25 Ед/мл). Изучение состава крови проводили у больных ИБС и здоровых лиц, состава костного мозга – только у больных ИБС. Субпопуляционный состав моноцитов (классические $CD14^{++}CD16^{-}$, промежуточные $CD14^{++}CD16^{+}$, неклассические $CD14^{+}CD16^{++}$, переходные $CD14^{+}CD16^{-}$) и ЭПК (ранние $CD34^{+}VEGFR2^{+}CD14^{+}$ и поздние $CD34^{+}VEGFR2^{+}CD14^{-}$) в крови и костном мозге, а также десквамированных эндотелиальных клеток (ДЭК, $CD45^{-}CD146^{+}$) в крови определяли методом проточной цитофлуориметрии. Концентрацию цитокинов (IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α , IFN- γ , MCP-1, M-CSF, GM-CSF, SDF-1, VEGF-A) и фактора HIF-1 α в плазме крови и надосадке костного мозга оценивали иммуноферментным и иммунофлуоресцентным методами анализа.

Исследования проведены с разрешения локального этического комитета (протокол №9475 от 29.05.2023). У всех испытуемых было получено информированное согласие на участие в исследовании.

В третьей главе представлены результаты анализа содержания десквамированных

эндотелиальных клеток и лейкоцитов в крови, миелокариоцитов в костном мозге и моноцитов в крови и костном мозге, а также содержания VEGFR2⁺ клеток и их субпопуляций (от доли VEGFR2⁺ клеток), включая ЭПК, у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП. Дана сравнительная оценка концентрации медиаторов дифференцировки и миграции моноцитов и эндотелиальных прогениторных клеток в крови и костном мозге при ИБС в отсутствие и при наличии ИКМП. Приведены результаты корреляционного и многомерного факторного анализа показателей.

В четвертой главе проведено обсуждение и интерпретация полученных данных.

В ходе исследования установлено, что общее число лейкоцитов и моноцитов в крови больных ИБС, независимо от наличия ИКМП, соответствовало таковому у здоровых лиц и не отличалось между группами больных ИБС. Количество ДЭК в крови было повышено в 1,4 раза ($p=0,038$) в обеих группах больных ИБС относительно здоровых доноров (5,12 [4,40; 6,22], $\times 10^5/\text{л}$), что указывает на усиление слущивания эндотелия при атеросклерозе. У пациентов с ИКМП важная роль воспаления в деструкции эндотелия подтверждалась положительной корреляционной связью между содержанием ДЭК и IL-6 в крови ($r_s=0,821$, $p=0,023$). Вместе с тем, при ИКМП выявлена отрицательная связь между общим количеством VEGFR2⁺ клеток и IL-6 ($r_s= -0,815$, $p=0,004$), а также последнего с содержанием ранних ЭПК [$r_s= -0,736$, $p=0,015$], что согласуется с ролью IL-6 стимулировать миграцию ЭПК [Nova-Lamperti E. et al., 2016; Feng Y. et al., 2022]. У больных ИБС без кардиомиопатии количество VEGFR2⁺ клеток и ранних ЭПК в крови было повышено в 2,0 ($p=0,004$) и 3,7 ($p<0,001$) раза соответственно относительно их числа у здоровых доноров (5,40 [4,30; 6,50] %), тогда как у пациентов с ИКМП эти показатели соответствовали норме (Рисунок 1).

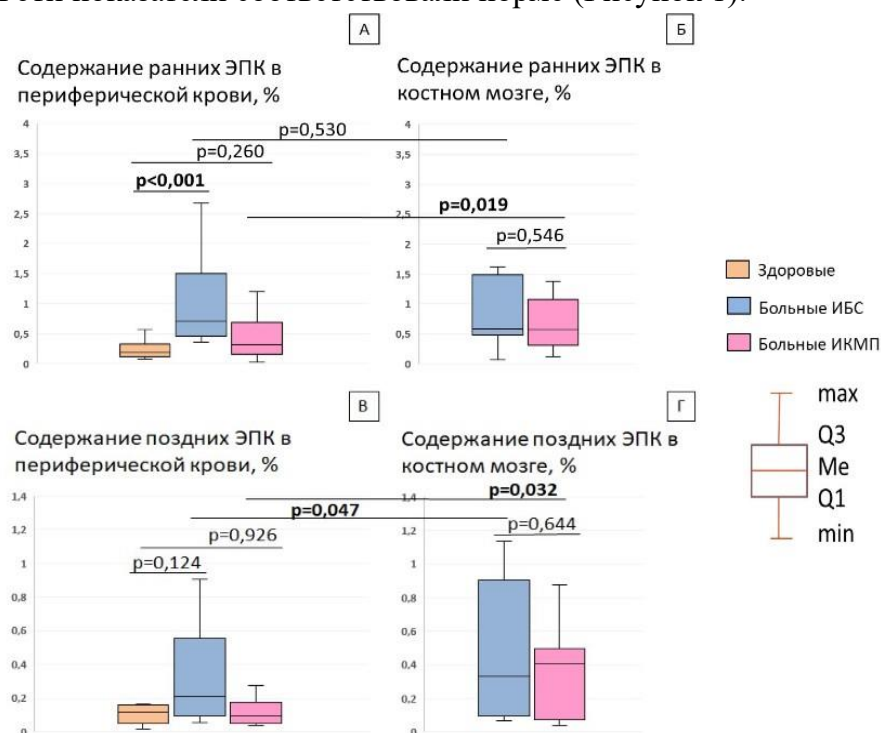


Рисунок 1 – Содержание ЭПК в крови и костном мозге у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП: А – ранние ЭПК в крови; Б – ранние ЭПК в костном мозге, В – поздние ЭПК в крови, Г – поздние ЭПК в костном мозге

Примечание. Здесь и далее на рисунках и в таблице: ИБС — ишемическая болезнь сердца; ИКМП — ишемическая кардиомиопатия; ЭПК – эндотелиальные прогениторные клетки; p – уровень статистической значимости различий (жирным шрифтом выделены достоверные различия).

Содержание поздних ЭПК и CD34⁺VEGFR2⁺CD14^{+/-} клеток в крови у больных ИБС в обеих группах не отличалось от аналогичных показателей у здоровых лиц. Численность VEGFR2⁺ клеток в костном мозге не различалась между группами больных ИБС, однако в костном мозге у пациентов с ИКМП было повышено количество ранних и поздних ЭПК по сравнению с таковым в крови, тогда как у больных ИБС без кардиомиопатии было увеличено только содержание поздних ЭПК в миелоидной ткани (Рисунок 1). При этом у больных ИБС без кардиомиопатии в костном мозге установлена положительная связь между содержанием поздних ЭПК и концентрацией IL-6 ($r_s=0,814$, $p=0,014$); у пациентов с ИКМП такой связи не выявлено.

При анализе субпопуляционного состава моноцитов у больных ИБС без кардиомиопатии было установлено повышение содержания промежуточных моноцитов CD14⁺⁺CD16⁺ и тенденция к снижению численности классических моноцитов CD14⁺⁺CD16⁻ в крови по сравнению со здоровыми донорами (Таблица 1). Такая динамика отражает наличие воспалительного процесса в патогенезе ИБС и связана с усилением дифференцировки классических форм в промежуточные моноциты на фоне хронического воспаления в сосудистой стенке [Patel A.A. et al., 2017; Williams H. et al., 2023], что дополнительно подтверждается отрицательной связью содержания классических форм моноцитов с долей промежуточных клеток в обеих группах больных ИБС (у больных ИБС без кардиомиопатии: $r_s=-0,933$; у пациентов с ИКМП: $r_s=-0,944$, при $p<0,001$). Количество неклассических CD14⁺CD16⁺⁺ и переходных моноцитов CD14⁺CD16⁻ у данной когорты больных не отличалось от показателей у здоровых доноров (Таблица 1).

Таблица 1 – Содержание моноцитов различных субпопуляций в крови и костном мозге у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, Me [Q1; Q3]

Параметры	Здоровые доноры	Больные ИБС без ИКМП		Больные ИБС с ИКМП	
	Кровь	Кровь	Костный мозг	Кровь	Костный мозг
Классические моноциты CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ , %	64,75 [61,34; 67,65]	50,35 [28,72; 50,74] $p_k=0,096$	47,01 [40,23; 61,38] $p_1=0,582$	51,89 [34,29; 66,09] $p_k=0,537$ $p_2=0,323$	3,44 [0,54; 3,68] $p_1=0,004$ $p_2=0,016$
Промежуточные моноциты CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ , %	17,96 [15,06; 17,98]	52,68 [31,39; 59,55] $p_k=0,034$	18,09 [5,33; 27,38] $p_1=0,023$	31,50 [13,90; 57,62] $p_k=0,537$ $p_2=0,320$	0,16 [0; 1,07] $p_1=0,002$ $p_2=0,008$
Неклассические моноциты CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ , %	10,07 [9,34; 13,84]	9,08 [6,70; 11,39] $p_k=0,426$	1,22 [0,26; 2,46] $p_1=0,023$	6,02 [4,57; 7,89] $p_k=0,049$ $p_2=0,156$	0,54 [0,35; 1,07] $p_1=0,005$ $p_2=0,548$
Переходные моноциты CD14 ⁺ CD16 ⁻ , %	6,80 [5,03; 6,87]	3,47 [2,63; 4,32] $p_k=0,249$	20,32 [19,31; 43,78] $p_1=0,005$	4,09 [3,15; 7,40] $p_k=0,650$ $p_2=0,850$	96,32 [94,83; 98,08] $p_1=0,002$ $p_2=0,008$

У пациентов с ИКМП доля неклассических CD14⁺CD16⁺⁺ моноцитов в крови была пониженной, а численность остальных субпопуляций соответствовала норме (Таблица 1).

Формирование дефицита неклассических моноцитов у пациентов с ИКМП может приводить к снижению элиминации липидов и активной инфильтрации ими сосудистой стенки, возможно, даже мелких коронарных артерий, которые обычно атеросклерозом не поражаются. Поэтому поражение коронарного русла атеросклерозом у пациентов с ИКМП приобретает, вероятно, диффузный характер (в отличие от очагового, которое характерно для ИБС без кардиомиопатии) и развивается микрососудистая дисфункция.

В костном мозге у больных ИБС вне зависимости от наличия ИКМП число промежуточных и неклассических моноцитов было ниже, а переходных — выше, чем в крови. У пациентов с ИКМП преобладали переходные клетки (>95%) над остальными субпопуляциями (Таблица 1). Полученные результаты подтверждают данные литературы о том, что переходные моноциты являются костномозговыми предшественниками классических форм [Chow D.C. et al., 2016]. У больных ИБС без кардиомиопатии установлена прямая связь между численностью переходных моноцитов и количеством классических форм в костном мозге ($r_s = -1,000$, $p = 0,013$), тогда как у пациентов с ИКМП данная связь отсутствовала, что в сочетании с почти пятикратным преобладанием у них переходных моноцитов в костном мозге над таковым у больных ИБС без кардиомиопатии на фоне обратной динамики остальных форм свидетельствует о замедленном созревании переходных клеток в классические формы, несмотря на воспаление при атерогенезе.

Анализ концентрации цитокинов и HIF-1 α показал, что в крови у больных ИБС в обеих группах концентрация VEGF-A, IL-13, MCP-1, IL-6, TNF- α соответствовала аналогичным показателям у здоровых доноров, тогда как для концентрации IFN- γ была зарегистрирована отчетливая тенденция к снижению относительно таковой у здоровых доноров ($p = 0,056$ для каждой группы больных ИБС) (Рисунок 2).

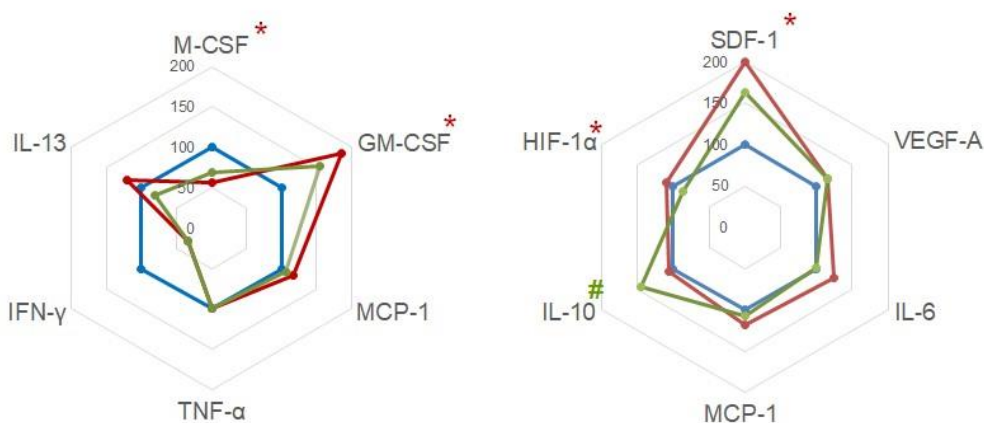


Рисунок 2 – Концентрация цитокинов и HIF-1 α в крови у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, и здоровых доноров

Примечание. Здесь и на рис. 3: красная линия – больные ИБС без кардиомиопатии; зеленая линия – пациенты с ИКМП, синяя линия – здоровые доноры; * – статистически значимые отличия по сравнению со здоровыми донорами, # – по сравнению с больными ИБС без кардиомиопатии. Здесь и далее на рис. 3-6: IL – интерлейкин; M-CSF – колониестимулирующий фактор макрофагов; GM-CSF – колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов; MCP – моноцитарный хемотаксический белок; IFN – интерферон; TNF – фактор некроза опухоли; HIF – гипоксией индуцируемый фактор; SDF – фактор стромальных клеток; VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста.

У больных ИБС без кардиомиопатии в крови было выявлено существенное увеличение уровня GM-CSF при снижении M-CSF, повышение концентрации SDF-1 и HIF-1 α

относительно нормальных значений, тогда как концентрация IL-10 оставалась сопоставимой с нормой. У пациентов с ИКМП концентрация GM-CSF, M-CSF, HIF-1 α в крови достоверно не различалась в сравнении со здоровыми донорами, однако отмечалось повышение уровней SDF-1 и IL-10. Последний был достоверно выше, чем у больных ИБС без кардиомиопатии ($p=0,023$).

В костном мозге концентрация всех исследованных цитокинов и HIF-1 α была сопоставимой между группами больных ИБС, кроме уровня IFN- γ , который был значительно выше у пациентов с ИКМП (Рисунок 3). Вместе с тем, коэффициент M-CSF/IL-13 в костном мозге оказался сниженным в 10 раз у пациентов с ИКМП по сравнению с больными ИБС без кардиомиопатии. У всех больных ИБС костномозговая концентрация GM-CSF, M-CSF, SDF-1, IL-6, TNF- α была выше, а HIF-1 α – ниже, чем в крови; уровень VEGF-A не отличался между кровью и костным мозгом (Рисунок 3).

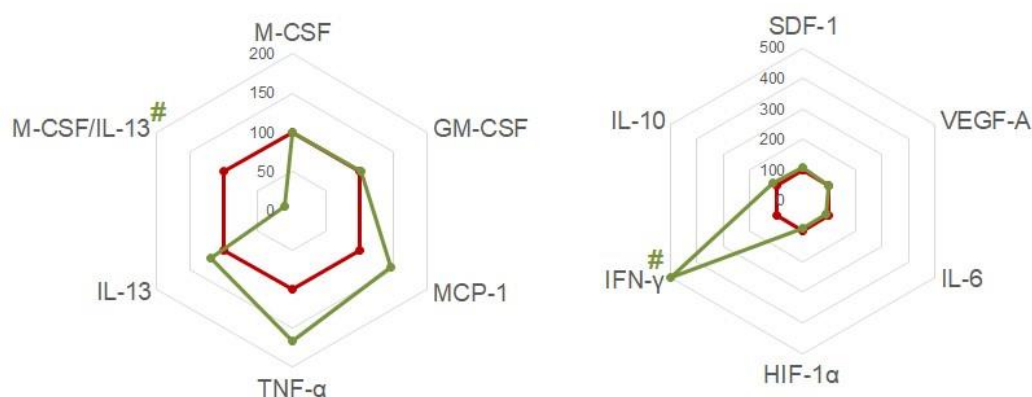


Рисунок 3 – Концентрация цитокинов и HIF-1 α в костном мозге у больных ИБС, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией

Суммируя данные сравнительного анализа, у больных ИБС без кардиомиопатии гипоксия вызывает повышение концентрации HIF-1 α в крови, который запускает каскад компенсаторных реакций организма, а именно, повышение концентрации фактора роста GM-CSF и хемоаттрактанта SDF-1 для привлечения ЭПК в кровь. Экспрессия гена SDF-1 регулируется HIF-1 α и усиливается пропорционально гипоксии [Li J.-H. et al., 2021]. При этом, согласно анализу корреляций, IL-6 препятствует внутрикостномозговому синтезу SDF-1 (Рисунок 4), поэтому ранние ЭПК активно мобилизуются в кровь по градиенту SDF-1.

Больные ИБС без кардиомиопатии характеризовались превышением концентрации IL-13 в миелоидной ткани по сравнению с кровью, тогда как пациенты с ИКМП дополнительно отличались увеличением содержания MCP-1 и IFN- γ и снижением концентрации IL-10 в костном мозге сравнительно с их уровнем в крови (Рисунок 3).

Согласно полученным данным, у пациентов с ИКМП в ответ на гипоксию повышения концентрации HIF-1 α и SDF-1, GM-CSF в крови не происходит, и не формируется необходимый градиент концентрации SDF-1 между кровью и костным мозгом (Рисунок 3). Это усугубляется извращением эффектов IL-6, который индуцирует синтез MCP-1 в миелоидной ткани (где его уровень выше, чем в крови), что удерживает ранние ЭПК в костном мозге. IL-13 на фоне пониженного соотношения M-CSF/IL-13 и гиперсекреции IFN- γ при ИКМП угнетает дифференцировку классических моноцитов из переходных в костном мозге (Рисунок 5).

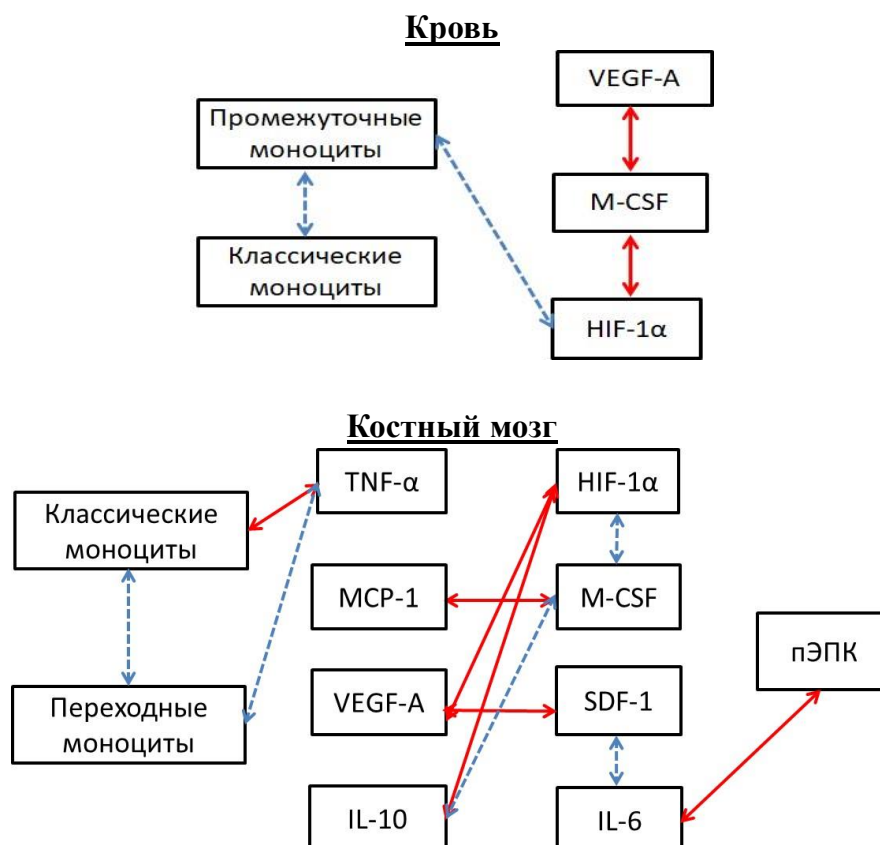


Рисунок 4 – Интегральная характеристика корреляционных взаимосвязей между субпопуляциями моноцитов, ЭПК, концентрацией цитокинов и HIF-1 α в крови и костном мозге у больных ИБС без кардиомиопатии

При выполнении корреляционного анализа связей между численностью отдельных субпопуляций моноцитов и цитокинов в крови у пациентов с ИКМП не выявлено, в то время как для больных ИБС без кардиомиопатии установлена отрицательная взаимосвязь между концентрацией HIF-1 α и долей промежуточных моноцитов ($r_s = -0,787$, $p = 0,012$; Рисунок 4). Это, вероятно, указывает на то, что гипоксия вследствие атеросклероза повышает концентрацию HIF-1 α , но содержание промежуточных моноцитов в крови уменьшается ввиду их усиленной миграции к местам гипоксического повреждения.

В костном мозге для больных ИБС без кардиомиопатии установлены взаимосвязи концентрации TNF- α : прямая – с долей классических моноцитов ($r_s = 0,900$, $p = 0,037$) и обратная – с числом переходных клеток ($r_s = -0,900$, $p = 0,037$) (Рисунок 4), что свидетельствует об участии TNF- α в процессах дифференцировки моноцитов из переходных в классические (доля последних в миелоидной ткани у больных ИБС без кардиомиопатии выше, чем у пациентов с ИКМП, Таблица 1). Между тем, для пациентов с ИКМП в костном мозге точно такие же корреляции установлены с HIF-1 α : прямая – с классическим иммунофенотипом ($r_s = 1$, $p = 0,010$) и обратная – с переходными моноцитами ($r_s = -1$, $p = 0,010$), а также противоположные взаимосвязи этих иммунофенотипов с уровнем IL-13 ($r_s = -1$, $p = 0,010$; $r_s = 1$, $p = 0,010$ соответственно) (Рисунок 5). Для пациентов с ИКМП выявлена также отрицательная корреляция содержания неклассических моноцитов с коэффициентом M-CSF/IL-13 в костном мозге ($r_s = -1$, $p = 0,010$; Рисунок 5).

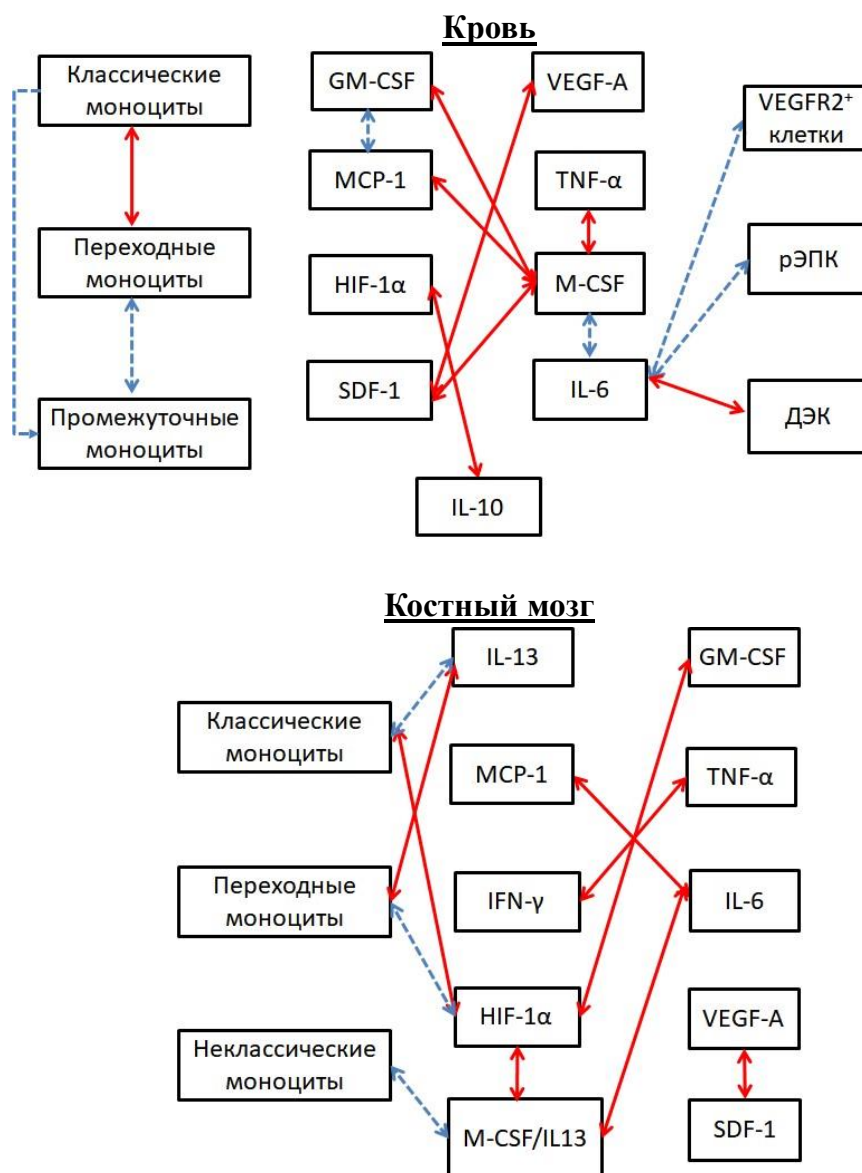


Рисунок 5 – Интегральная характеристика корреляционных взаимосвязей между субпопуляциями моноцитов, ЭПК, концентрацией цитокинов и HIF-1α в крови и костном мозге у пациентов с ИКМП

Корреляционный анализ концентрации цитокинов и HIF-1α в крови выявил, что больные ИБС без кардиомиопатии характеризовались наличием прямой зависимости между уровнем следующих медиаторов в крови: M-CSF и VEGF-A ($r_s=0,906$; $p<0,001$); M-CSF и HIF-1α ($r_s=0,650$; $p=0,022$) (Рисунок 4).

В костном мозге у больных ИБС без кардиомиопатии установлена положительная связь между концентрацией M-CSF и MCP-1 ($r_s=0,782$, $p=0,013$); SDF-1 и VEGF-A ($r_s=0,622$, $p=0,041$); HIF-1α и VEGF-A ($r_s=0,639$, $p=0,034$); IL-6 и IL-10 ($r_s=0,729$, $p=0,040$); HIF-1α и IL-10 ($r_s=0,639$, $p=0,034$) (Рисунок 4). Отрицательная связь у больных ИБС без кардиомиопатии выявлена между содержанием M-CSF и HIF-1α ($r_s= -0,461$, $p=0,027$), M-CSF и IL-10 ($r_s= -0,461$, $p=0,027$), а также SDF-1 и IL-6 ($r_s= -0,781$, $p=0,013$) (Рисунок 4).

У пациентов с ИКМП в крови концентрация M-CSF положительно коррелировала с содержанием SDF-1, GM-CSF, MCP-1, TNF-α ($r_s=0,718$, $p=0,006$; $r_s=0,592$, $p=0,043$; $r_s=0,476$, $p=0,034$; $r_s=0,755$, $p=0,007$ соответственно) и отрицательно – с уровнем IL-6 ($r_s= -0,561$, $p=0,008$) (Рисунок 5). Обнаруживались прямые корреляции между содержанием SDF-1 и VEGF-A ($r_s=0,795$, $p=0,002$), HIF-1α и IL-10 ($r_s=0,501$, $p=0,048$). Концентрация GM-CSF

оказалась отрицательно взаимосвязанной с уровнем MCP-1 ($r_s = -0,661$, $p = 0,038$).

В костном мозге у пациентов с ИКМП установлены прямые связи между концентрацией медиаторов: GM-CSF и HIF-1 α ($r_s = 0,897$, $p = 0,015$); SDF-1 и VEGF-A ($r_s = 0,857$, $p = 0,002$); IL-6 и MCP-1 ($r_s = 0,899$, $p = 0,015$); TNF- α и IFN- γ ($r_s = 0,699$, $p = 0,017$) (Рисунок 5). Показано, что коэффициент M-CSF/IL-13 положительно коррелирует с содержанием HIF-1 α ($r_s = 0,684$, $p = 0,042$) и IL-6 ($r_s = 0,829$, $p = 0,042$) (Рисунок 5).

В объединённой выборке больных ИБС (вне зависимости от наличия ИКМП) в крови была установлена прямая связь между ранними и поздними ЭПК, что, очевидно, указывает на отсутствие поэтапной дифференцировки этих субпопуляций. Наряду с этим, установлена положительная связь между содержанием поздних ЭПК и концентрацией MCP-1 в крови ($r_s = 0,440$; $p = 0,046$). В костном мозге у больных ИБС обнаружена положительная связь между содержанием поздних ЭПК и HIF-1 α ($r_s = 0,801$; $p < 0,001$), что подтверждает участие этого транскрипционного фактора в образовании и миграции ЭПК.

У больных ИБС выявлена различная реакция организма на гипоксию в зависимости от наличия ИКМП как на уровне крови, так и костного мозга.

В крови при ИБС в отсутствие ИКМП HIF-1 α оказывает опосредованное проангиогенное действие и модулирует субпопуляционный состав моноцитов; в присутствии ИКМП HIF-1 α , напротив, не влияет на факторы ангиогенеза и баланс субпопуляций моноцитов, оказывая противовоспалительный эффект и косвенно снижая число ЭПК. Так, при ИБС без кардиомиопатии инициируется адаптивная реакция организма на повреждение сосудов атеросклерозом и ишемию: избыток HIF-1 α активирует синтез проангиогенного VEGF-A опосредованно через стимуляцию продукции M-CSF; классические моноциты дифференцируются в промежуточные формы с провоспалительным потенциалом, но HIF-1 α снижает их численность в крови, возможно, за счет усиления миграции в ишемизированные ткани. В случае ИКМП фактор HIF-1 α индуцирует противовоспалительный ответ, не связанный с ангиогенезом: он повышает концентрацию иммуносупрессорного IL-10, ингибируя синтез провоспалительного IL-6, который способствует повреждению сосудов с накоплением ДЭК, одновременно тормозя мобилизацию ранних ЭПК в кровь и синтез M-CSF. Между тем, M-CSF, напротив, усиливает наработку проангиогенного VEGF-A через продукцию SDF-1, а также провоспалительных GM-CSF, TNF- α , MCP-1, но эти связи не реализуются в увеличение концентрации данных цитокинов ввиду физиологической концентрации M-CSF в крови. Моноциты, как классические, так и переходные, при ИКМП, вероятно, сохраняют способность дифференцироваться в промежуточные формы, однако процесс слабо выражен, поскольку число этих трех типов моноцитов в крови остается в норме.

В костном мозге при ИБС в отсутствие ИКМП HIF-1 α индуцирует проангиогенные реакции и противовоспалительный ответ, растормаживающий дифференцировку моноцитов под влиянием TNF- α ; в присутствии ИКМП HIF-1 α , напротив, не связан с факторами ангиогенеза, но оказывает провоспалительное действие, которое не реализуется из-за угнетения дифференцировки моноцитов под действием IL-13. Так, при ИБС без кардиомиопатии HIF-1 α запускает синтез проангиогенных VEGF-A, SDF-1 и противовоспалительного IL-10, подавляющего образование M-CSF в миелоидной ткани, что, вероятно, препятствует поддержанию моноцитов в состоянии переходных клеток и они активно дифференцируются в классические формы под влиянием TNF- α . Между тем, образование поздних ЭПК при ИБС без кардиомиопатии положительно зависит от IL-6, который снижает концентрацию SDF-1 в костном мозге, что облегчает миграцию ЭПК в кровь.

При ИКМП количество этих клеток в миелоидной ткани не зависит (линейно) от концентрации цитокинов; ведущее значение в дифференцировке моноцитов приобретает IL-13, который угнетает образование классических моноцитов с накоплением переходных форм, однако низкое соотношение M-CSF/IL-13 поддерживает численность неклассических клеток. Примечательно, что HIF-1 α при ИКМП в костном мозге не оказывает проангиогенный эффект, так как не влияет на синтез взаимосвязанных между собой VEGF-A и SDF-1, но осуществляет провоспалительное действие, поскольку HIF-1 α положительно взаимосвязан с содержанием классических моноцитов, GM-CSF и M-CSF/IL-13, последний – с концентрацией IL-6, стимулирующего гиперпродукцию MCP-1; TNF- α способствует наработке избыточного количества IFN- γ в костном мозге.

На основании результатов многомерного факторного анализа *параметров крови* было выделено 4 фактора, детерминирующих разный процент дисперсии измерений анализируемых показателей при ИБС, осложненной и неосложненной ИКМП. Наиболее значимый фактор (дисперсия 41,76%) включал в себя содержание в крови M-CSF, SDF-1, HIF-1 α , ДЭК и был назван как «дисбаланс медиаторного ответа на гипоксию вследствие повреждения эндотелия». Второй фактор (дисперсия 31,13%), включающий в себя плазменную концентрацию IL-10 и MCP-1, вероятно, указывает на «нарушение хемотаксиса моноцитарных клеток (моноцитов, ранних ЭПК), обусловленное иммуносупрессией». Третий фактор (дисперсия 26,31%) был представлен поздними ЭПК и может быть назван как «недостаточное участие поздних ЭПК в репарации сосудов». Наименее влиятельный фактор крови (дисперсия 21,75%) включал уровень IL-6 и IL-13, указывая на «наличие хронического воспаления по Th2-пути».

На основании многомерного факторного анализа *параметров костного мозга* также было выделено 4 фактора в порядке их значимости. Первый фактор (дисперсия 47,08%) включал в себя содержание классических моноцитов и цитокинов – IFN- γ , IL-10, IL-13, M-CSF/IL-13, и был назван «недостаточное созревание классических моноцитов в результате иммуносупрессии» у пациентов с ИКМП. Второй фактор (дисперсия 35,21%) объединял неклассические моноциты и TNF- α , и, вероятно, отражал «нарушение дифференцировки неклассических моноцитов под действием TNF- α ». Третий фактор (дисперсия 32,67%) включал в себя концентрацию HIF-1 α , GM-CSF, VEGF-A, MCP-1 и был назван «дисбаланс медиаторов в ответ на гипоксию с нарушением хемотаксиса моноцитарных клеток (моноцитов, ранних ЭПК)». Наименее значимый фактор (дисперсия 25,51%) состоял из содержания в миелоидной ткани IL-6 и ранних ЭПК, отражая «задержку мобилизации ранних ЭПК из костного мозга ввиду извращения эффектов IL-6».

Таким образом, интерпретация данных многомерного факторного, корреляционного и сравнительного анализов позволяет утверждать, что саногенез инфаркта миокарда, возникшего на фоне атеросклероза коронарных артерий, сопровождается компенсаторной гипертрофией жизнеспособной части сердечной мышцы, что требует достаточной трофики для обеспечения пластических процессов и оксигенации для сокращения миокарда. У большей части больных в постинфарктном периоде атерогенез детерминирует накопление провоспалительных промежуточных моноцитов при нормальном количестве протективных неклассических клеток, что способствует увеличению объема бляшек, но ограничивает распространение атеросклероза только на крупные артерии. Усиление ангиогенеза у этих пациентов вызвано адекватной реакцией организма на гипоксию в виде гиперпродукции проангиогенных медиаторов HIF-1 α и SDF-1 на фоне повышенной мобилизации ранних ЭПК в кровь, что обеспечивает перфузию миокарда и формирует ИБС без ИКМП (Рисунок 6).

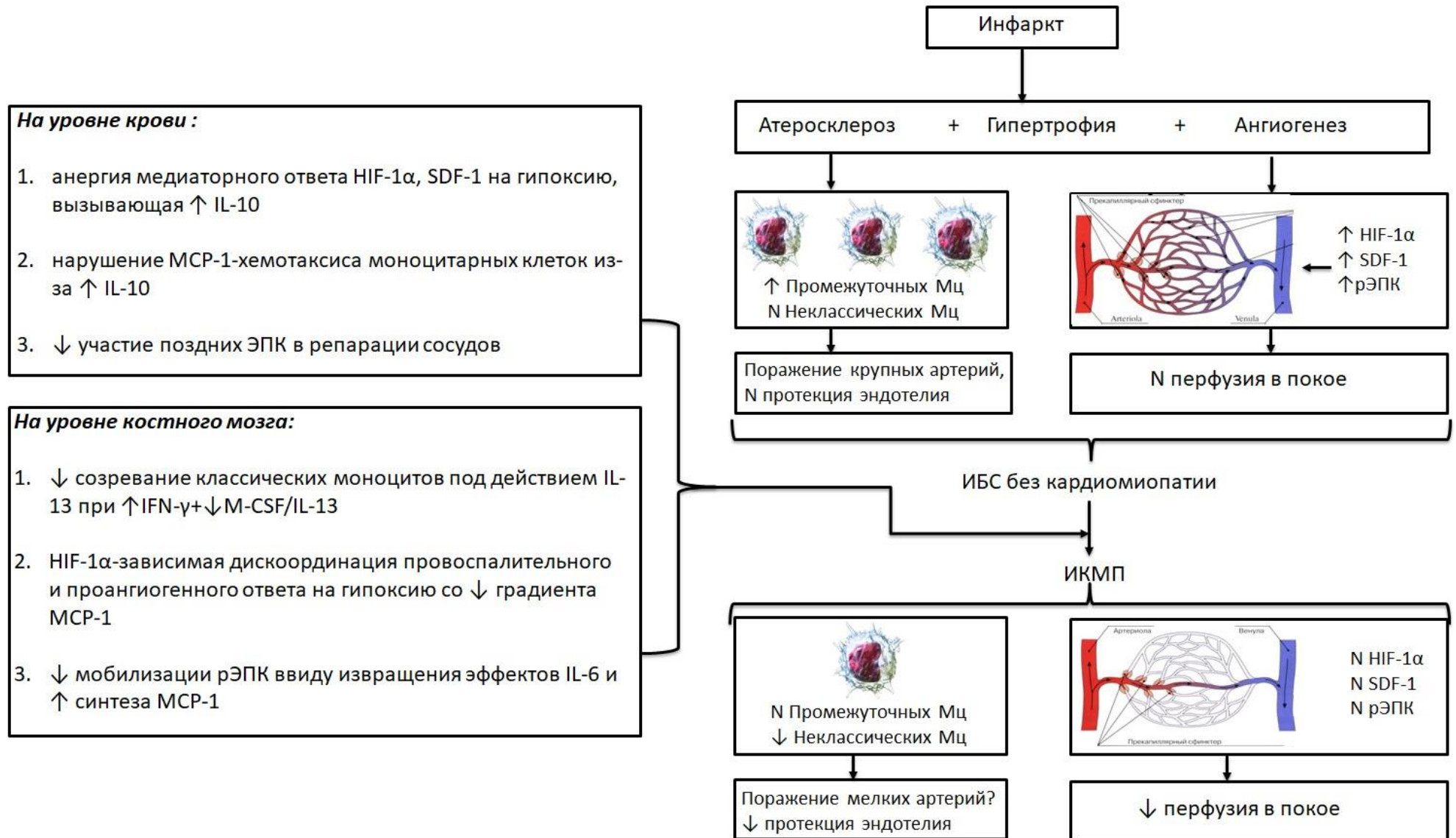


Рисунок 6 – Интегральная схема участия субпопуляций моноцитов, эндотелиальных прогениторных клеток моноцитарного происхождения, цитокинов, транскрипционного фактора HIF-1 α в патогенезе ишемической кардиомиопатии

Примечание. Мц – моноциты, N – физиологическое значение.

У некоторых больных ИБС в постинфарктном периоде запускаются вышеописанные патогенетические факторы развития ИКМП на уровне костного мозга и крови (Рисунок 6). Поэтому при нормальной численности промежуточных моноцитов в крови дефицит протективных неклассических клеток у пациентов с ИКМП, вероятно, способствует распространению атеросклероза на мелкие коронарные артерии. Усиления ангиогенеза у этих больных не происходит вследствие неадекватного ответа организма на гипоксию, характеризующегося нормальным уровнем проангиогенных медиаторов HIF-1 α , SDF-1 и ранних ЭПК в крови, что приводит к гипоперфузии гипертрофированного миокарда, его сократительной дисфункции и развитию ИКМП (Рисунок 6).

Полученные сведения могут стать залогом разработки патогенетической терапии ИКМП с целью активации ангиогенеза и протекции сосудов, которые при своевременном выявлении признаков иммунопатогенеза ИКМП на молекулярно-клеточном уровне могут замедлить ее прогрессирование еще до начала необратимого ремоделирования камер сердца.

ВЫВОДЫ

1. В крови при развитии ИБС вне зависимости от наличия ИКМП содержание переходных и классических моноцитов обратно пропорционально числу промежуточных форм клеток. При этом ИБС без кардиомиопатии ассоциирована с накоплением промежуточных клеток в крови, а ИКМП – с дефицитом неклассических моноцитов и положительной взаимосвязью между долей классических и переходных клеток.

2. В костном мозге содержание переходных моноцитов многократно преобладает над их уровнем в крови, а число промежуточных и неклассических моноцитов не достигает такового при ИБС, как осложненной, так и не осложненной ИКМП. Особенностью ИКМП является большее, чем при ИБС без кардиомиопатии, содержание переходных моноцитов на фоне недостатка остальных форм моноцитов. При этом отсутствует отрицательная связь между переходными и классическими клетками, свойственная больным ИБС без кардиомиопатии.

3. В условиях повышенной десквамации эндотелия численность поздних ЭПК и CD34-VEGFR2⁺CD14^{+/-} клеток в крови у больных ИБС вне зависимости от наличия ИКМП соответствует норме. Накопление ранних ЭПК и VEGFR2⁺ клеток в крови обнаруживается только при ИБС без кардиомиопатии, а при ИКМП остается в пределах физиологической нормы.

4. В костном мозге численность поздних ЭПК превышает их уровень в крови на фоне сопоставимого количества VEGFR2⁺ и CD34-VEGFR2⁺CD14^{+/-} клеток при обеих формах ИБС, а количество ранних ЭПК – только при ИКМП; содержание данных клеток в миелоидной ткани между группами больных ИБС не отличается.

5. Вне зависимости от развития ИКМП у больных ИБС медиаторный профиль крови характеризуется физиологической концентрацией IL-6, IL-13, MCP-1, TNF- α , IFN- γ , VEGF-A. При этом для больных ИБС без кардиомиопатии характерен проангиогенный и провоспалительный ответ в виде увеличения концентрации HIF-1 α , SDF-1, GM-CSF (в сочетании с дефицитом M-CSF), который при ИКМП не отмечается и, напротив, усугубляется аккумуляцией противовоспалительного IL-10 в крови.

6. Особенностью медиаторного профиля костного мозга у пациентов с ИКМП является большее по сравнению с показателями у больных ИБС без кардиомиопатии содержание IFN- γ и хемоаттрактанта моноцитарных клеток MCP-1 в сочетании со снижением соотношения цитокинов M-CSF/IL-13; концентрация IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α , VEGF-A, HIF-

1 α , SDF-1, M-CSF, GM-CSF в миелоидной ткани между группами больных ИБС не отличается.

7. В крови при ИБС без кардиомиопатии высокое содержание HIF-1 α положительно взаимосвязано с концентрацией M-CSF и способствует накоплению VEGF-A, однако негативно влияет на численность промежуточных моноцитов в крови. При ИКМП, напротив, HIF-1 α не связан с уровнем M-CSF, который прямо пропорционален концентрации GM-CSF, TNF- α , MCP-1, SDF-1 в крови, но при этом HIF-1 α опосредует кумуляцию противовоспалительного IL-10 и негативно связан с концентрацией провоспалительного IL-6, способствующего десквамации эндотелия и уменьшению численности ранних ЭПК в крови. В объединенной выборке больных ИБС (с наличием и без ИКМП) концентрация IL-10 негативно влияет на численность неклассических моноцитов, а число ранних и поздних ЭПК в крови сопряжено между собой.

8. В костном мозге при ИБС без кардиомиопатии HIF-1 α отрицательно связан с содержанием M-CSF, стимулирующего образование MCP-1, и активирует наработку VEGF-A, IL-10, SDF-1; уровень последнего негативно коррелирует с концентрацией IL-6, способствующей образованию поздних ЭПК, дифференцировка переходных моноцитов в классические формы происходит при участии TNF- α . При ИКМП содержание HIF-1 α в костном мозге прямо пропорционально уровню GM-CSF и соотношению M-CSF/IL-13 (уровень IL-13 и переходных клеток сопряжены), негативно связанному с долей неклассических моноцитов и позитивно – с содержанием IL-6, который способствует накоплению хемоаттрактанта MCP-1 в миелоидной ткани; численность ЭПК не зависит от концентрации цитокинов. В объединенной выборке больных ИБС (с наличием и без ИКМП) HIF-1 α способствует дифференцировке поздних ЭПК в миелоидной ткани.

9. Согласно данным сравнительного анализа концентрации медиаторов между кровью и костным мозгом HIF-1 α и цитокины M-CSF, GM-CSF, SDF-1, IL-6, TNF- α являются локальными медиаторами дифференцировки и миграции клеток (содержание в миелоидной ткани выше, чем в крови), а IL-10 и VEGF-A – дистантными (содержание в миелоидной ткани равное или меньше, чем в крови) для больных ИБС, как страдающих, так и не страдающих ИКМП. При этом MCP-1 и IFN- γ , выступающие в роли дистантных гемопоэтинов у больных ИБС без кардиомиопатии, у пациентов с ИКМП образуются локально в костном мозге, а IL-13, напротив, экстрамедуллярно.

10. Многомерный факторный анализ данных в объединенной выборке больных ИБС (с наличием и без ИКМП) выявил ассоциации с развитием ИКМП следующего комплекса связанных показателей: *на уровне крови* – содержания десквамированных эндотелиоцитов, M-CSF, SDF-1 и HIF-1 α (как наиболее значимый фактор – дисперсия 41,76%), поздних ЭПК и концентрации IL-10 и MCP-1 и (с наименьшим влиянием) концентрации IL-6 и IL-13; *на уровне костного мозга* – содержания классических моноцитов и IFN- γ , IL-10, IL-13, M-CSF/IL-13 (как наиболее значимый фактор – дисперсия 47,08%), неклассических моноцитов и TNF- α , а также концентрации HIF-1 α , GM-CSF, VEGF-A, MCP-1 и (с наименьшим влиянием) ранних ЭПК и IL-6.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Эндотелиальные прогениторные клетки: происхождение и роль в ангиогенезе при сердечно-сосудистой патологии / Денисенко О.А., Чумакова С.П., Уразова О.И. // **Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины**. 2021. Т. 36. № 2. С. 23-29. DOI: /10.29001/2073-8552-2021-36-2-23-29 (IF РИНЦ 0,545, Scopus Q4, RSCI).

2. Дисбаланс медиаторов ангиогенеза и прогениторных эндотелиальных клеток в крови

при ишемической кардиомиопатии / Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Денисенко О.А., Винс М.В., Пряхин А.С., Гладковская М.В. // **В сборнике: материалы XXXVII Международной конференции «Горизонты современной ангиологии, сосудистой хирургии и флебологии»**. Кисловодск, 2022. С. 286-288.

3. Дифференциация и субпопуляционный состав VEGFR2⁺ моноцитов крови и костного мозга при ишемической кардиомиопатии / Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Денисенко О.А., Кононова Т.Е., Невская К.В., Андреев С.Л. // **Бюллетень сибирской медицины**. 2022. Т. 21. № 3. С. 120-131. DOI: 10.20538/1682-0363-2022-3-120-131 (IF РИНЦ 0,880, Scopus Q4, RSCI).

4. Моноциты крови в поддержании баланса деструктивных и репаративных процессов в сосудистом эндотелии при ишемической кардиомиопатии / Чумакова С.П., Уразова О.И., Денисенко О.А., Погонченкова Д.А., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Невская К.В., Гладковская М.В. // **Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний**. 2022. Т. 11. № 3. С. 84-96. DOI: 10.17802/2306-1278-2022-11-3-84-96 (IF РИНЦ 0,975, Scopus Q4, RSCI).

5. Содержание десквамированных и прогениторных эндотелиальных клеток в крови при ишемической кардиомиопатии / Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Денисенко О.А., Пряхин А.С. // **Кардиологический вестник**. 2022. Т. 17. Спецвыпуск № 2-2. С. 36-37 (IF РИНЦ 0,397, RSCI).

6. Влияние плазменной концентрации GM-CSF на содержание ранних прогениторных эндотелиальных клеток в крови при ишемической кардиомиопатии / Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Денисенко О.А., Гладковская М.В., Андреев С.Л., Пряхин А.С., Гуломжонов А.Г., Танакова Д.С. // **В сборнике: Фундаментальные и прикладные науки сегодня. Материалы XXX международной научно-практической конференции**. Bengaluru, Karnataka, India, 2022. С. 4-8.

7. Баланс деструктивных и репаративных процессов в сосудистом эндотелии при ишемической кардиомиопатии / Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Денисенко О.А., Гладковская М.В., Пряхин А.С. // **В сборнике: Российский национальный конгресс кардиологов 2022**. Казань, 2022. С. 233.

8. Ангиопоэтическая эндотелиальная дисфункция в патогенезе ишемической кардиомиопатии / Чумакова С.П., Шипулин В.М., Уразова О.И., Гладковская М.В., Денисенко О.А., Пряхин А.С. // **В сборнике: Тезисы международной конференции «спорные и нерешённые вопросы кардиологии 2022»**. Москва, 2022. С. 43-44.

9. Цитокины в механизмах регуляции моноцитопоеза при ишемической болезни сердца / Чумакова С.П., Уразова О.И., Денисенко О.А., Винс М.В., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Невская К.В., Гладковская М.В., Чурина Е.Г. // **Гематология и трансфузиология**. 2022. Т. 67. № 4. С. 511-524. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-4-511-524 (IF РИНЦ 0,875, Scopus Q4, WoS Q4, RSCI).

10. Цитокины и HIF-1 α как факторы дисрегуляции миграции и дифференцировки моноцитарных клеток-предшественниц эндотелиоцитов в патогенезе ишемической кардиомиопатии / Денисенко О.А., Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Пряхин А.С. // **Acta Biomedica Scientifica**. 2022. Т. 7. № 5-2. С. 21-30. DOI: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.3 (IF РИНЦ 0,605, Scopus Q4, RSCI).

11. Фактор стромальных клеток и сосудистый фактор роста в детерминации численности прогениторных эндотелиальных клеток в крови при ишемической кардиомиопатии / Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Денисенко О.А., Гладковская М.В., Пряхин А.С., Андреев С.Л., Дмитриева А.А. // **Кардиологический вестник**. 2023. Т. 18. № 2-2. С. 32 (IF РИНЦ 0,636,

Scopus Q3, RSCI).

12. Role of angiopoietic coronary endothelial dysfunction in the pathogenesis of ischemic cardiomyopathy / Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Andreev S.L., Denisenko O.A., Gladkovskaya M.V., Litvinova L.S., Bubenchikov M.A. // **Biomedicines**. 2023. Т. 11. № 7. С. 1950. DOI: 10.3390/biomedicines11071950 (IF WoS 3,900, Scopus Q2, WoS Q1).

13. Продукция факторов роста и десквамация эндотелиоцитов в сердце при ишемической кардиомиопатии / Денисенко О.А., Чумакова С.П., Уразова О.И., Gladkovskaya M.V., Шипулин В.М., Андреев С.Л., Невская К.В., Гуломженов А.Г. // **Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний**. 2023. Т. 12. № 4. С. 120-132. DOI: 10.17802/2306-1278-2023-12-4-120-132 (IF РИНЦ 0,742, Scopus Q3, RSCI).

14. Роль медиаторов ангиогенеза в мобилизации ранних и поздних эндотелиальных прогениторных клеток из костного мозга при ишемической болезни сердца / Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Денисенко О.А., Gladkovskaya M.V., Андреев С.Л., Невская К.В., Колобовникова Ю.В. // **Вестник Российской академии медицинских наук**. 2023. Т. 78. № 6. С. 549-559. DOI:10.15690/vramn12452 (IF РИНЦ 1,198, Scopus Q3, RSCI).

15. Влияние MCP-1 и SDF-1 на миграцию эндотелиальных клеток-предшественниц из костного мозга в кровь при ишемической кардиомиопатии / Денисенко О.А. // **В сборнике материалов: II Всероссийская конференция с международным участием «молодые лидеры в медицинской науке»**. Томск, 2024. С. 134-137.

16. Роль MCP-1 и SDF-1 в нарушении мобилизации эндотелиальных прогениторных клеток из костного мозга при ишемической болезни сердца / Чумакова С.П., Денисенко О.А., Уразова О.И., Шипулин В.М., Андреев С.Л., Винс М.В., Gladkovskaya M.V., Дёмин М.С., Дмитриева А.А., Гуломженов А.Г. // **Медицинская иммунология**. 2024. Т. 26. № 5. С. 1053-1060. DOI: 10.15789/1563-0625-TRO-16762 (IF РИНЦ 0,775, Scopus Q4, RSCI).

17. Патогенетические факторы ишемической кардиомиопатии: результаты многомерного факторного анализа / Чумакова С.П., Денисенко О.А., Уразова О.И., Шипулин В.М., Андреев С.Л., Топоркова А.К., Литвинова Л.С. // **Современные направления в биомедицине**. 2025. Т. 1. №1. С. 74-91.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИКМП – ишемическая кардиомиопатия

ЭПК – эндотелиальные прогениторные клетки

M-CSF – колониестимулирующий фактор макрофагов

GM-CSF – колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов

TNF – фактор некроза опухоли

VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста

HIF – индуцируемый гипоксией фактор

SDF – фактор стромальных клеток

MCP – моноцитарный хемотаксический белок

IL – интерлейкин

IFN – интерферон