

На правах рукописи

ВИНС МАРИЯ ВАСИЛЬЕВНА

**НАРУШЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА МОНОЦИТОВ КРОВИ
ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ГИПОКСИЕЙ**

14.03.03 – патологическая физиология
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2019

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

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН

Уразова
Ольга Ивановна

доктор медицинских наук

Чумакова
Светлана Петровна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН,
заведующий отделом патофизиологии и
регенеративной медицины
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга,
Томский НИМЦ

Жданов
Вадим Вадимович

доктор медицинских наук, профессор,
руководитель лаборатории клеточно-молекулярной
физиологии и патологии
НИИ медицинских проблем Севера,
ФГБНУ «ФИЦ КНЦ СО РАН»

Савченко
Андрей Анатольевич

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН)

Защита диссертации состоится: «___» _____ 2020 г. на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 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://ssmu.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 20__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета _____ Петрова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В последние годы стало известно о функциональной неоднородности моноцитов крови, обладающих различным эффекторным потенциалом, среди которых различают классические $CD14^{++}CD16^{-}$ клетки, предназначенные для фагоцитоза, промежуточные $CD14^{++}CD16^{+}$ моноциты, осуществляющие иммунную функцию взаимодействия с Т-лимфоцитами, неклассические $CD14^{+}CD16^{++}$ клетки, обладающие высоким аффинитетом к эндотелию и названные патрулирующими, и переходные $CD14^{+}CD16^{-}$ [Ziegler-Heitbrock H.W.L. et al., 2010; Jang L. et al., 2014]. Первая популяция моноцитов секретирует преимущественно интерлейкин (IL)-10, две последние – IL-1бета и фактор некроза опухоли (TNF) альфа [Fadini G.P., et al., 2014; Jaipersad A.S. et al., 2014; Rojas J. et al., 2015]. О переходных $CD14^{+}CD16^{-}$ моноцитах известно немного. Вероятно, они дифференцируются из классических $CD14^{++}CD16^{-}$ моноцитов, но характеризуются низкой экспрессией CD14 [Ziegler-Heitbrock H.W.L. et al., 2013].

В тканях моноциты трансформируются в макрофаги, которые также характеризуются гетерогенностью. Классически активированные макрофаги (M1) образуются в присутствии интерферона (IFN) гамма и обладают провоспалительным потенциалом: выраженной способностью к фагоцитозу и киллингу, синтезу провоспалительных цитокинов. Для созревания альтернативно активированных макрофагов (M2) необходимы IL-4 и IL-13. M2 проявляют регуляторные и противовоспалительные свойства: продуцируют в основном IL-10, трансформирующий фактор роста (TGF) бета и в небольших количествах IL-12, провоспалительные цитокины и прооксиданты, а также активируют синтез коллагена и процессы ремоделирования, обладают низкой способностью к фагоцитозу (поглощают и разрушают апоптозные тела) [Данилец М.Г., 2011; Rojas J. et al., 2015]. Некоторые галектины способны влиять на поляризацию дифференцировки макрофагов: галектин-2 способствует генерации M1-макрофагов, угнетая M2-клетки и ангиогенез, а галектин-9 индуцирует образование M2-макрофагов и Т-лимфоцитов-хелперов типа 2 (Th2) [Yildirim C. et al., 2015; Enninga E.A. et al., 2016]. При этом вторая популяция макрофагов составляет всего 15-20% и подразделяется еще на 3 разновидности – M2a, M2b и M2c [Лямина С.В., Малышев И.Ю., 2014; Yuan A. et al., 2015].

Дисбаланс субпопуляций моноцитов и макрофагов обнаруживается при различных заболеваниях, ассоциированных с воспалением как инфекционного, так и неинфекционного генеза. Особенно актуальным это становится в сочетании с гипоксией. В частности, при гипоксическом повреждении тканей на фоне ишемии отмечается системная воспалительная реакция и активация системы

моноцитов/макрофагов [Nahrendorf M. et al., 2013]. Гипоксия непосредственно стимулирует наработку индуцируемого гипоксией фактора (HIF-1) в различных клетках организма и активирует моноциты/макрофаги, способные продуцировать ряд провоспалительных цитокинов (TNF-альфа, интерлейкины IL-1бета, IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, хемокины IL-8, хемоаттрактантный белок моноцитов-1 (MCP)-1, воспалительный белок макрофагов-1альфа (MIP)-1альфа), ферменты (кислую фосфатазу, миелопероксидазу, матриксные металлопротеиназы MMP-3, MMP-9, MMP-12, MMP-13) и прооксиданты, что усугубляет тканевое повреждение [Лямина С.В. и соавт., 2014; Hulsmans M. et al., 2015; Zhou X. et al., 2016]. Однако макрофаги, активированные HIF-1 и провоспалительными цитокинами, могут вызывать не только повреждение и фиброз ткани, но также неоангиогенез ввиду их способности синтезировать фактор роста эндотелия сосудов (VEGF – vascular endothelial growth factor) и ангиопоэтин Ang2, что при гипоксии является компенсаторно-приспособительной реакцией. На связь моноцитопоза с ангиогенезом указывает свойство $CD14^{++}CD16^{+}$ моноцитов экспрессировать рецепторы к VEGF ($CD14^{+}VEGFR2^{+}$ клетки) [Jaipersad A.S. et al., 2014].

Известно, что генерация моноцитов в красном костном мозге происходит под контролем многих гемопоэтинов, одни из которых стимулируют митотическую активность предшественников моноцитов (IL-3, IL-4, колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF), колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF)), другие – угнетают ее (простагландин E, IFN-альфа и IFN-бета) [Santangelo S. et al., 2001].

Однако на сегодняшний день нет убедительных данных о механизмах регуляции моноцитопоза, определяющих генерацию какой-либо субпопуляции моноцитов. Неизвестно, субпопуляционный состав моноцитов крови определяется только цитокиновым спектром крови или также на уровне костного мозга. Кроме того, чрезвычайно важными для фундаментальной науки являются знания о роли гипоксии в процессах регуляции дифференциации моноцитов на фоне заболеваний инфекционной и неинфекционной природы и выявление универсальных и специфических механизмов регуляции субпопуляционного состава моноцитов крови при гипоксии различного генеза.

Степень разработанности темы. Важная роль моноцитов/макрофагов в развитии и прогрессировании гипоксического повреждения подтверждается аккумуляцией моноцитов в ишемизированном миокарде человека после острой коронарной недостаточности в сочетании с резким уменьшением их количества в костном мозге и селезенке [Laan A.M. et al., 2014]. Согласно данным литературы, у больных с хронической сердечной недостаточностью и циркуляторной гипоксией на фоне ишемической болезни сердца (ИБС) отмечается увеличение количества $CD16$ -позитивных моноцитов в крови [Fadini G.P. et al., 2014; Jaipersad

A.S. et al., 2014; Rojas J. et al., 2015]. При этом доля этих клеток у пациентов с гиперхолестеролемией возрастает, положительно коррелируя с концентрацией общего холестерина и триацилглицеролов в крови, и является обратно пропорциональной концентрации липопротеинов высокой плотности [Poitou C. et al., 2011]. Показано, что количество промежуточных моноцитов в крови тесно связано с тяжестью стенокардии при ИБС [Ozaki Y. et al., 2012; Zhou X. et al., 2016].

При заболеваниях, сопровождающихся развитием дыхательной гипоксии, также отмечаются изменения субпопуляционного состава моноцитов крови. Примером рестриктивной формы дыхательной недостаточности инфекционной этиологии является туберкулез легких, при котором количество CD16-позитивных моноцитов может составлять до 40% от их общего числа в крови [Valboa L. et al., 2013]. Показано, что уменьшение доли данной субпопуляции моноцитов в крови у больных туберкулезом способствует дифференциации дендритных клеток, а их наличие, наоборот, нарушает данный процесс даже у здоровых лиц [Valboa L. et al., 2013]. Предполагается, что важную роль в генерации CD16-позитивных моноцитов играет TGF-бета, содержание которого у больных туберкулезом значительно превышает норму [Fiorenza G. et al., 2005; Valboa L. et al., 2013]. По сведениям ряда исследователей, при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), характеризующейся развитием дыхательной недостаточности неинфекционного генеза, содержание промежуточных клеток в крови возрастает в момент рецидива. По другим данным, активность хемотаксиса и количество промежуточных клеток не изменяются [Ravi A.K. et al., 2017].

Принимая во внимание информацию последних лет о структурно-функциональной гетерогенности моноцитов/макрофагов и способности гипоксии влиять на систему мононуклеарных фагоцитов, а также высокую социальную значимость заболеваний, ассоциированных с циркуляторной и дыхательной гипоксией, таких как ИБС, туберкулез легких и ХОБЛ, становится важным анализ механизмов регуляции дифференциации моноцитов при этих болезнях, а также определение дистантных и локальных факторов регуляции моноцитопоза при гипоксии.

Цель исследования: установить общие закономерности, особенности и медиаторы нарушений субпопуляционного состава моноцитов крови при заболеваниях, ассоциированных с циркуляторной (ишемическая болезнь сердца) и дыхательной (хроническая обструктивная болезнь легких, туберкулез легких) гипоксией.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать нарушения соотношения классических CD14⁺⁺CD16⁻, промежуточных CD14⁺⁺CD16⁺, неклассических CD14⁺CD16⁺⁺ и

переходных CD14⁺CD16⁻ моноцитов в крови у больных с ишемической болезнью сердца, хронической обструктивной болезнью легких и туберкулезом легких.

2. Оценить содержание HIF-1альфа, цитокинов (IL-1бета, IL-6, TNF-альфа, M-CSF, IFN-гамма, IL-4, IL-10, IL-13), галектинов 2, 9 в плазме крови у больных с ишемической болезнью сердца, хронической обструктивной болезнью легких и туберкулезом легких и его связь с изменениями субпопуляционного состава моноцитов крови в зависимости от вида гипоксии.

3. Сравнить субпопуляционный состав моноцитов крови и костного мозга и оценить содержание HIF-1альфа, цитокинов (IL-1бета, IL-6, TNF-альфа, M-CSF, IFN-гамма, IL-4, IL-10, IL-13), галектинов 2, 9 в костном мозге у больных с ишемической болезнью сердца.

4. На основе сравнительного анализа спектра плазменных и интрамедуллярных медиаторов определить факторы регуляции субпопуляционного состава моноцитов крови и костного мозга у больных с ишемической болезнью сердца.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование общих закономерностей и особенностей нарушений состава субпопуляций моноцитов при заболеваниях, ассоциированных с циркуляторной гипоксией (ИБС) и дыхательной гипоксией с учетом природы болезнетворного фактора – инфекционная (туберкулез легких, ТЛ) и неинфекционная (ХОБЛ). Получены актуальные данные о том, что перераспределение субпопуляционного состава моноцитов в крови при заболеваниях сердца и легких не зависит от вида гипоксии (циркуляторная или дыхательная), а определяется природой активирующего стимула в связи с особенностями их этиологии и патогенеза. Впервые охарактеризованы субпопуляции моноцитов костного мозга у больных ИБС, определены локальные (костномозговые) и дистантные (гемические) гуморальные факторы, модулирующие субпопуляционный состав моноцитов крови и костного мозга при ИБС.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установленные у больных ИБС различия субпопуляционного состава моноцитов крови и костного мозга указывают на экстрамедуллярное перераспределение клеток по CD-фенотипу. При этом их соотношение в костном мозге и крови зависит от плазменной концентрации иммунорегуляторных молекул, что указывает на возможность активного управления созреванием моноцитов посредством коррекции цитокинового спектра плазмы крови или стимуляции клеток *in vitro*. Обоснована последовательная дифференциация классических моноцитов в промежуточные клетки. Показано, что переходные клетки являются не производными классических моноцитов, а их предшественниками, поскольку преобладают в костном мозге.

Обнаружено, что активация моноцитарно-макрофагальной системы, как компонента врожденного иммунитета, при ХОБЛ сопровождается избыточной генерацией классических моноцитов, а при ТЛ и ИБС – накоплением в крови промежуточных $CD14^{++}CD16^{+}$ моноцитов вне зависимости от этиологии заболевания (инфекционная при ТЛ и неинфекционная при ИБС). В целом, изучение дисбаланса субпопуляций моноцитов крови может быть использовано для оценки динамики течения и прогрессирования болезней, ассоциированных с гипоксией вне зависимости от ее вида. Полученные данные обосновывают целесообразность дальнейших исследований по изучению влияния различных гуморальных факторов на дифференциацию субпопуляций моноцитов крови *in vitro* и *in vivo*.

Методология и методы исследования. Для реализации поставленных задач обследованы пациенты с ИБС, страдающие недостаточностью кровообращения II-III функционального класса по NYHA; больные с ХОБЛ в стадии ремиссии, и больные с впервые выявленным инфильтративным ТЛ до проведения противотуберкулезной терапии. Материалом для лабораторных исследований служила периферическая венозная кровь, в объеме 8 мл, взятая утром натощак в асептических условиях и (только у пациентов с ИБС) красный костный мозг в объеме 2 мл, взятый из грудины при срединной стернотомии во время операции аортокоронарного шунтирования. Относительное количество субпопуляций моноцитов ($CD14^{+}$, $CD16^{+}$) в цельной крови и костном мозге определяли методом проточной цитофлуориметрии. Концентрацию цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, M-CSF, TNF- α , IFN- γ), HIF-1 α и галектинов (2 и 9) в плазме крови и (только у больных ИБС) надсадке костного мозга измеряли методом иммуноферментного анализа. Исследования проводились в лаборатории клинической и экспериментальной патофизиологии на базе кафедры патофизиологии (заведующий – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН О.И. Уразова) и Центральной научно-исследовательской лаборатории (руководитель – д-р мед. наук, профессор РАН Е.В. Удут) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Положения, выносимые на защиту:

1. В крови у больных с ишемической болезнью сердца (ИБС), хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и туберкулезом легких преобладают классические $CD14^{++}CD16^{-}$ моноциты на фоне дефицита переходных $CD14^{+}CD16^{-}$ клеток. В костном мозге у больных ИБС превалируют переходные формы клеток.
2. Изменения субпопуляционного состава моноцитов и медиаторного спектра крови при ИБС и обструктивно-рестриктивных заболеваниях легких не связаны с видом сопровождающей их течение гипоксии (циркуляторная или

дыхательная).

3. Нарушения субпопуляционного состава моноцитов крови при ХОБЛ ассоциированы с повышением концентрации IL-6, IL-13 и галектина-9, а при туберкулезе легких – с избытком IL-13 и дефицитом IFN-гамма, галектина-2 в плазме крови.
4. При ИБС субпопуляционный состав моноцитов костного мозга зависит от интрамедуллярной концентрации IL-10, IL-13 и M-CSF. В крови он перераспределяется в условиях дефицита M-CSF при соответствующей норме концентрации IL-10 и HIF-1альфа.

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

Основные положения научной работы докладывались и обсуждались на VI Евразийском съезде кардиологов (Москва, 18-19 апреля 2018 г.); VII Евразийском съезде кардиологов (Ташкент, 16-17 мая 2019 г.); II Международной конференции «StemCellBio-2018: Фундаментальная наука как основа трансляционной медицины» (Санкт-Петербург, 15-17 ноября 2018 г.); VII Конгрессе «Национальной ассоциации фтизиатров» (Санкт-Петербург, 15-17 ноября 2018 г.); Научной конференции с международным участием «Нейрогуморальные механизмы регуляции физиологических функций в норме и при патологии», посвящённой 130-летию кафедры физиологии СибГМУ и НИ ТГУ (Томск, 23-24 мая 2019 г.); Объединенном иммунологическом форуме (Новосибирск, 24-29 июня 2019 г.); Российском национальном конгрессе кардиологов (Екатеринбург, 24-26 сентября 2019 г.); II Научно-практической конференции «Фундаментальные проблемы управления системой крови» (Москва, 25 октября 2019), Всероссийской научной конференции «Патофизиология и фармакология системы крови», посвященной 35-летию НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (Томск, 10-11 октября 2019 г.).

Работа осуществлена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для ведущих научных школ (НШ-2690.2018.7) и Российского фонда фундаментальных исследований (№18-015-00160\19).

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 98 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, заключения, выводов, списка сокращений и литературы. Работа иллюстрирована 4 рисунками и 6 таблицами. Библиографический указатель включает 197 источников, из них 46 отечественных и 151 зарубежных авторов.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 18 работ, из них 7 статей в журналах, 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, 1 зарубежная статья и 10 публикаций (тезисы) в сборниках научных конференций и конгрессов.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Соискатель принимал непосредственное участие в разработке концепции, дизайна и планировании исследования, его цели и задач. Им лично проведены клинико-лабораторные исследования, статистически обработаны, проанализированы, оформлены и обсуждены результаты, лично или в соавторстве подготовлены публикации по теме диссертации.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы, определены цель, основные задачи исследования, научная новизна, практическое и теоретическое значение работы, сформулированы положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен анализ современной научной литературы по теме диссертационного исследования, а именно, описана роль различных субпопуляций моноцитов крови в процессах воспаления и гипоксии при ИБС, ХОБЛ и туберкулезе легких. Часть главы посвящена истории открытия различных субпопуляций моноцитов и макрофагов. Описано функциональное разнообразие (гетерогенность) субпопуляционного состава моноцитов крови/макрофагов в тканях, их дифференциация в условиях гипоксии и факторы, которые оказывают прямое или опосредованное влияние на этот процесс. Охарактеризована важная роль моноцитов в патогенезе иммунных и воспалительных реакций при социально значимых заболеваниях, таких как ИБС, ХОБЛ и туберкулез легких.

Во второй главе диссертации описаны объект, материал и методы исследования. В ходе выполненной работы было обследовано 90 больных в возрасте от 45 до 65 лет с объективными признаками гипоксии (по данным спирометрии клинического осмотра): 40 больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) (29 мужчин и 11 женщин, средний возраст $52,74 \pm 5,19$ лет); 16 больных с инфильтративным туберкулезом легких (ТЛ) (11 мужчин и 5 женщин, средний возраст $47,81 \pm 4,12$ лет); 16 больных с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), не ассоциированной с бронхиальной астмой (12 мужчин и 4 женщины, средний возраст $53,16 \pm 4,37$ лет), и 18 относительно

здоровых доноров (12 мужчин и 6 женщин, средний возраст $49,82 \pm 5,19$ лет), сопоставимых по полу и возрасту с группами пациентов.

Исследования проведены с разрешения локального этического комитета (протокол №5046 от 28.11.2016 г.). У всех испытуемых было получено информированное согласие на участие в исследовании.

Обязательным критерием включения больных ИБС в исследование было снижение степени насыщения гемоглобина кислородом в венозной крови менее 60% и парциальное давление кислорода (pO_2) в венозной крови менее 37 мм рт.ст. [Сапичева Ю.Ю. и соавт., 2018], а также наличие клинических признаков циркуляторной гипоксии: акроцианоз, включая цианоз носогубного треугольника, кончика носа и ушей, отеки нижних конечностей, слабость, одышка при умеренной физической нагрузке (по данным анализа медицинских карт).

Критерием включения больных ХОБЛ в исследование было снижение показателей спирометрии $ОФВ_1$ и $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ менее 75% (со снижением степени насыщения гемоглобина кислородом в артериальной крови $<95\%$ и венозной крови $<60\%$ [Калягин А.Н. и соавт., 2005; Сапичева Ю.Ю. и соавт., 2018]) при наличии признаков дыхательной недостаточности (гипоксии): одышка экспираторного характера, кашель, слабость, центральный цианоз кожных покровов и слизистых оболочек (по данным анализа медицинских карт).

Критерием включения больных ТЛ в исследование было снижение жизненной емкости легких (ЖЕЛ) менее 85%, минутной вентиляции легких и $ОФВ_1$ менее 75% (со снижением степени насыщения гемоглобина кислородом в артериальной крови $<95\%$ и венозной крови $<60\%$ [Калягин А.Н. и соавт., 2005; Сапичева Ю.Ю. и соавт., 2018]) при наличии следующих признаков дыхательной недостаточности (гипоксии): кожные покровы бледные с серым оттенком, центральный цианоз, инспираторная одышка, одутловатость (пастозность) лица (по данным анализа медицинских карт).

Критериями исключения больных ИБС, ХОБЛ и ТЛ из исследования были возраст старше 65 лет или младше 45 лет, наличие гематологических, аутоиммунных и опухолевых заболеваний, мегалобластной или гипопластической анемии, вирусного гепатита, ВИЧ-инфекции, острого воспалительного процесса в момент исследования или менее чем за 1 месяц до его проведения, лечение антибактериальными, противовоспалительными и иммуномодулирующими средствами, отказ от исследования, а также наличие ХОБЛ и ТЛ у больных ИБС и ИБС у пациентов с ХОБЛ и ТЛ.

Материалом для исследования служила гепаринизированная венозная кровь, взятая утром натощак в асептических условиях (8 мл). У больных ИБС во время операции аортокоронарного шунтирования забирали 2 мл красного костного мозга непосредственно из разреза грудины.

Иммунофенотипирование моноцитов осуществляли методом проточной цитофлуориметрии в цельной крови и костном мозге после предварительного удаления эритроцитов лизирующим буфером (FACS Lysingsolution («BD Biosciens», США). В полученной после лизиса эритроцитов суспензии клеток определяли относительное содержание классических ($CD14^{++}CD16^{-}$), промежуточных ($CD14^{++}CD16^{+}$), неклассических ($CD14^{+}CD16^{++}$) и переходных ($CD14^{+}CD16^{-}$) моноцитов методом проточной лазерной двухцветной цитофлуориметрии на проточном цитометре «Accuri C6» («BD Biosciens», США) с использованием моноклональных антител к CD14 и CD16 (CD14-FITC и CD16-PE) («BD Biosciens», США), принимая за 100% все клетки, положительные по CD14. Анализ полученных данных осуществляли при помощи программного приложения «BD Cell Quest for Mac OS® X».

Для определения клеточности полученной суспензии осуществлялся подсчет ядросодержащих клеток крови и костного мозга с помощью камеры Горяева.

Анализ концентрации цитокинов и галектинов в плазме крови и миелоплазме определяли методом иммуноферментного анализа, используя коммерческие наборы: «IL-1бета-ИФА-БЕСТ», «IL-4-ИФА-БЕСТ», «IL-6-ИФА-БЕСТ», «IL-10-ИФА-БЕСТ», «альфа-TNF-ИФА-БЕСТ» и «гамма-IFN-ИФА-БЕСТ» производства АО «Вектор-БЕСТ» (г. Новосибирск); «Human IL-13 Platinu ELISA» («eBioscience», Австрия), «RayBio Human M-CSF ELISA Kit» («RayBiotech», США), «Human HIF-1альфа ELISA Kit», «Human Galectin-2 ELISA Kit» и «Human Galectin-9 ELISA Kit» («Clou-Clone-Corp», США).

Статистический анализ полученных результатов осуществляли с помощью программы SPSS и Microsoft Excel. Для статистического описания результатов исследования данные представляли в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го перцентилей (1-го и 3-го квартилей: Q_1 и Q_3). Был использован непараметрический критерий Манна-Уитни с введением поправки Бенджамини-Хохберга. Для выявления корреляционных связей линейной зависимости между двумя количественными показателями применяли вычисление рангового коэффициента корреляции Спирмена. Силу зависимости определяли по величине коэффициента корреляции r . Результаты статистического анализа считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Третья глава диссертационной работы посвящена описанию полученных результатов. Сравнение субпопуляционного состава моноцитов проведено в зависимости от вида патологии и сопровождающей ее течение гипоксии – ИБС (в сочетании с циркуляторной гипоксией), ХОБЛ и туберкулез легких (в сочетании с дыхательной гипоксией). Определены факторы локальной (в костном мозге) и

дистантной (в костном мозге и крови) регуляции соотношения субпопуляций моноцитов. Глава иллюстрирована таблицами и рисунками.

В четвертой главе проведен анализ и обсуждение полученных оригинальных данных с привлечением сведений по изучаемой теме, представленных в современной научной литературе.

Анализ данных показал, что наиболее значительные изменения субпопуляционного состава моноцитов крови отмечались у пациентов с ХОБЛ, у которых определялось увеличение численности классических и дефицит промежуточных, неклассических и переходных моноцитов в крови по отношению к их содержанию в группе здоровых доноров (таблица 1).

Таблица 1 - Субпопуляционный состав моноцитов периферической крови у больных ИБС, ХОБЛ, туберкулезом легких и костного мозга у больных ИБС (Ме (Q₁ – Q₃))

Субпопуляции моноцитов, %	Группы обследуемых лиц				
	Больные ИБС		Больные ХОБЛ	Больные туберкулезом легких	Здоровые доноры
	В костном мозге	В крови	В крови	В крови	В крови
Классические CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻	43,44 (40,54–44,68) p _{КМ} =0,035	57,23 (49,60–66,42) p ₁₋₂ =0,014	80,56 (77,60–83,55) p ₂₋₄ =0,013	58,55 (47,21–70,74) p ₂₋₃ =0,012	67,75 (64,34–70,65)
Промежуточные CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺	0,16 (0–1,07) p _{КМ} <0,001	25,27 (15,78–31,39) p ₁₋₄ =0,038 p ₁₋₂ =0,045	10,38 (9,36–11,26) p ₂₋₄ =0,042	26,24 (22,38–42,88) p ₃₋₄ =0,004 p ₂₋₃ =0,002	14,36 (12,06–14,98)
Неклассические CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺	0,54 (0,35–1,07) p _{КМ} =0,002	9,10 (6,02–17,93)	6,03 (5,24–6,77) p ₂₋₄ =0,011	9,83 (6,81–14,50) p ₂₋₃ =0,035	10,07 (9,34–13,84)
Переходные CD14 ⁺ CD16 ⁻	54,32 (52,83–56,08) p _{КМ} <0,001	2,68 (2,63–4,09) p ₁₋₄ =0,027	2,14 (1,41–3,92) p ₂₋₄ =0,032	1,77 (1,36–3,74) p ₃₋₄ =0,009	6,80 (5,03–6,87)

Примечание. Здесь и далее в табл. 2-3: p – уровень статистической значимости межгрупповых различий показателей, где группа 1 – пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС), группа 2 – пациенты с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), группа 3 – больные туберкулезом легких (ТЛ), группа 4 – здоровые доноры; p_{КМ} - уровень статистической значимости различий показателей субпопуляционного состава моноцитов костного мозга и крови у больных ИБС.

Данная реакция моноцитарно-макрофагальной системы связана с особенностями развития ХОБЛ и функций классических моноцитов. Поскольку основной функцией CD14⁺⁺CD16⁻ клеток является фагоцитоз [Geissmann F. et al.,

2010], а главным этиологическим фактором болезни – мелкодисперсные частицы [Малыхин Ф.Т. и соавт., 2016], то увеличение количества этих клеток при ХОБЛ закономерно.

В крови у больных ТЛ, также как и у пациентов с ИБС, отмечалось увеличение (в сравнении со здоровыми донорами) числа промежуточных моноцитов на фоне дефицита переходных форм клеток при нормальном содержании классических и неклассических моноцитов (таблица 1).

Одинаковая картина характера дифференциации моноцитов при такого рода разных по этиологии (инфекционная и неинфекционная) и локализации заболеваний объясняется параллельным развитием двух типовых патологических процессов: воспаления и гипоксии [Черешнев В.А., Гусев Е.Ю., 2012].

Известно, что промежуточные моноциты являются провоспалительными, так как активно синтезируют IL-1бета и TNF-альфа [Rojas J. et al., 2015]. В то же время, воспаление и гипоксия развиваются и при ХОБЛ, но картина соотношения субпопуляций моноцитов в крови у этих больных совсем иная. Очевидно, для определения направления созревания моноцитов более важным оказывается антигенная (макромолекулярная) природа флоггена вне зависимости от его происхождения – инфекционного или неинфекционного.

Туберкулезная инфекция характеризуется проникновением в организм и размножением *M. tuberculosis*, имеющих патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs) и антигенные детерминанты [Есимова И.Е. и соавт., 2012]; атеросклероз коронарных артерий вызван реакцией иммунокомпетентных клеток на модифицированные липопротеины низкой плотности, приобретающие свойства аутоантигенов [Шогенова М.Х. и соавт., 2015]. Известно, что последние, также, как и PAMPs микроорганизмов, могут распознаваться scavenger-рецепторами моноцитов/макрофагов и дендритных клеток [Черешнев В.А., 2011; Потапнев М.П., 2015], стимулируя синтез провоспалительных цитокинов при ИБС [Чумакова С.П. и соавт., 2017]. Считается, что иммунную функцию взаимодействия с Т-лимфоцитами осуществляют промежуточные моноциты [Rojas J. et al., 2015], в связи с чем их численность у больных ИБС и ТЛ возрастала (таблица 1). При этом содержание классических моноцитов отрицательно коррелировало с долей промежуточных клеток в крови как у больных с ТЛ, так и у пациентов с ИБС.

Отрицательная корреляция между количеством $CD14^{++}CD16^{-}$ классических и $CD14^{++}CD16^{+}$ промежуточных клеток у больных с ТЛ и ИБС подтверждает мнение о том, что созревание моноцитов происходит последовательно: классические моноциты дифференцируются в промежуточные клетки [Wacliche V.S. et al., 2018]. Аналогичная связь обнаруживается и у больных ХОБЛ, а снижение численности промежуточных и неклассических моноцитов у этих

пациентов (таблица 1), вероятно, является результатом блокады созревания классических клеток в другие субтипы моноцитов. Отличие в характере дифференциации моноцитов при ХОБЛ, вероятно, связано с неорганическим происхождением частиц (например, дыма, строительной пыли), стимулирующих макрофаги, что влечет экспрессию молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением (DAMP), в клетках [Черешнев В.А., 2011] и, очевидно, другой характер активации клеток моноцитарно-макрофагальной системы.

Содержание неклассических моноцитов в крови во всех группах сравнения (и у больных, и у здоровых доноров) не коррелировало с числом промежуточных клеток, что опровергает мнение об их последовательной дифференциации в крови [Wacleche V.S. et al., 2018]. При этом только у здоровых доноров доля CD14⁺CD16⁺⁺ моноцитов была негативно связана с содержанием переходных моноцитов, число которых коррелировало с количеством классических клеток в крови, что свидетельствует о том, что неклассические моноциты созревают скорее из переходных, чем из промежуточных клеток и, возможно, только в здоровом организме. Переходные клетки, по-видимому, являются предшественниками других форм моноцитов, поскольку количество переходных форм в костном мозге у больных ИБС многократно превышало их содержание в крови, а численность классических и промежуточных клеток, напротив, была меньше, чем в крови (таблица 1).

Данное предположение подтверждается негативной корреляцией доли переходных моноцитов в костном мозге с числом классических и промежуточных форм клеток той же локализации у пациентов с ИБС. При этом количество неклассических клеток в костном мозге, как оказалось, не было связанным с численностью других субпопуляций моноцитов и было меньше, чем в крови, что позволяет думать об экстремедулярной дифференциации этого типа моноцитов.

Концентрация IL-1бета, IL-10 и HIF-1альфа в крови у всех обследованных больных варьировала в пределах нормы (таблица 2). Наряду с этим, во всех группах больных регистрировали увеличение концентрации TNF-альфа и дефицит IL-4 в крови (таблица 2), что характерно для системной воспалительной реакции [Черешнев В.А, Гусев Е.Ю., 2012; Потапнев М.П., 2015], типичной для всех рассматриваемых заболеваний, и гипоксии в том числе, и отличающейся преобладанием провоспалительных цитокинов над противовоспалительными (в данном случае TNF-альфа над IL-4) (рисунок 1).

Обнаруженные нормальные величины содержания HIF-1альфа в крови (таблица 2) на фоне гипоксии, присутствие которой при ИБС, ХОБЛ и ТЛ не вызывает сомнений, можно объяснить наличием хронической, а не острой гипоксии. В эндотелии, подверженном гипоксическому стрессу, HIF-1альфа регулирует острую адаптацию к гипоксии, а экспрессия HIF-2альфа начинается,

когда гипоксия приобретает хронический характер [Koh M.Y., Powis G., 2012]. Гипоксические воздействия способствуют активации продукции IL-6, IL-1бета, TNF-альфа и противовоспалительного IL-10, участвуя в патогенезе воспаления [Hulsmans M. et al., 2015; Zhou X. et al., 2016].

Таблица 2 - Концентрация цитокинов, HIF-1альфа и галектинов в крови у больных с ИБС, ХОБЛ и туберкулезом легких (Me (Q₁ – Q₃))

Медиаторы, пг/мл	Группы обследуемых лиц			
	Больные ИБС (n=40)	Больные ХОБЛ (n=16)	Больные туберкулезом легких (n=16)	Здоровые доноры (n=18)
IL-1бета	2,06 (0,35 – 2,74)	1,62 (0 – 5,30)	1,94 (0,13 – 4,05)	1,21 (0 – 1,79)
IL-4	0	0	0	0,29 (0,08–1,26)
IL-6	2,10 (1,53 – 4,95)	2,45 (2,36 – 2,88) p ₂₋₄ =0,039 p ₂₋₃ =0,009	1,05 (0,96 – 1,66) p ₁₋₃ =0,010	1,58 (1,09 – 2,14)
IL-10	24,00 (23,00 – 28,50)	27,50 (23,50 – 31,00) p ₂₋₃ =0,009	20,50 (18,50 – 22,50) p ₁₋₃ =0,008	19,50 (18,00 – 24,00)
IL-13	0,60 (0,41 – 0,82) p ₁₋₂ =0,020	2,62 (1,20 – 7,58) p ₂₋₄ =0,002 p ₂₋₃ =0,040	0,81 (0,79 – 1,40) p ₃₋₄ =0,043 p ₁₋₃ =0,037	0,50 (0,40 – 0,75)
TNF-альфа	1,16 (0,90 – 2,37) p ₁₋₄ =0,040	2,75 (0,98 – 4,30) p ₂₋₄ =0,032 p ₂₋₃ =0,021	6,70 (6,10 – 8,43) p ₃₋₄ <0,001 p ₁₋₃ =0,014	0,64 (0 – 0,83)
IFN-гамма	0	0,60 (0 – 0,87)	0	3,00 (0,50 – 5,40)
HIF-1альфа*	0,051 (0,040 – 0,138)	0,078 (0,026 – 0,986)	0,050 (0,027 – 0,092)	0,080 (0,052 – 0,096)
Галектин-2	3,20 (2,07 – 4,00) p ₁₋₄ <0,001 p ₁₋₂ =0,010	11,00 (7,05 – 12,10)	3,85 (1,55 – 10,88) p ₃₋₄ =0,047	13,50 (11,50 – 17,00)
Галектин-9	1,00 (0,40 – 2,46)	8,50 (3,96 – 15,00) p ₂₋₄ =0,001 p ₂₋₃ =0,020	0,50 (0 – 1,00)	0,16 (0 – 0,50)
M-CSF	0,40 (0,12 – 2,37) p ₁₋₄ =0,003 p ₁₋₂ =0,020	2,80 (2,66 – 3,86)	1,20 (1,06 – 4,49)	4,85 (3,60 – 7,76)

Примечание. Здесь и в табл. 3: *HIF-1альфа в концентрации нг/мл.

Сравнивая цитокиновый спектр плазмы крови у больных ИБС и пациентов с ТЛ с содержанием субпопуляций моноцитов в крови, и сопоставляя его с аналогичными показателями у больных ХОБЛ, мы выявили два типа ассоциаций: 1) недостаточности *IFN*-гамма и галектина-2 с увеличением числа (активацией дифференциации) промежуточных моноцитов и 2) профицита *IL*-6 и галектина-9 с повышением доли (дифференциацией) классических моноцитов (рисунок 1).



Рисунок 1 - Медиаторы перераспределения субпопуляций моноцитов в крови у больных с ИБС, ХОБЛ и туберкулезом легких.

Примечание: PAMP – патоген-ассоциированный молекулярный паттерн, ЛПНП – липопротеины низкой плотности; здесь и далее в рисунке 2: M-CSF – колониестимулирующий фактор макрофагов, *IL* – интерлейкин, *IFN* – интерферон, *TNF* – фактор некроза опухоли, HIF – гипоксией индуцируемый фактор

Следует отметить, что группы пациентов с болезнями бронхолегочной системы – ТЛ и ХОБЛ объединяло повышенное содержание IL-13 при нормальной концентрации М-CSF в крови в отличие от больных ИБС, у которых определялись нормальный уровень IL-13 и дефицит М-CSF в крови (таблица 2). Эти особенности цитокинового фона могли быть обусловлены как локализацией патологического процесса, так и характером гипоксии: избыток IL-13 в крови отражает альтерацию легочной ткани и бронхов или же дыхательную гипоксию, а дефицит М-CSF – поражение миокарда и сосудов или же циркуляторную гипоксию.

Содержание TNF-альфа, HIF-1альфа, галектина-9, галектина-2, IL-1бета, М-CSF в костном мозге у больных ИБС было больше, чем в крови. Концентрация IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IFN-гамма в костном мозге не отличалась от таковой в кровотоке (таблица 3).

Таблица 3 - Концентрация цитокинов, HIF-1альфа и галектинов в костном мозге в сравнении с их количеством в крови у больных с ИБС (Me (Q1 – Q3))

Медиаторы, пг/мл	Материал исследования	
	Кровь	Костный мозг
IL-1бета	2,06 (0,35 – 2,74)	5,00 (2,80 – 24,56) p=0,044
IL-4	0	0
IL-6	2,10 (1,53 – 4,95)	6,50 (4,10 – 10,95)
IL-10	24,00 (23,00 – 28,50)	22,75 (21,00 – 26,00)
IL-13	0,60 (0,41 – 0,82)	1,00 (0,80 – 1,23)
TNF-альфа	1,16 (0,90 – 2,37)	10,81 (9,90 – 22,04) p<0,001
IFN-гамма	0	0 (0 – 0,15)
HIF-1альфа*	0,051 (0,040 – 0,138)	0,840 (0,442 – 0,917) p=0,001
Галектин-2	3,21 (2,05 – 4,00)	9,00 (4,20 – 11,64) p=0,038
Галектин-9	1,00 (0,40 – 2,46)	4,62 (3,60 – 6,03) p=0,007
М-CSF	0,43 (0,12 – 2,37)	5,80 (2,54 – 16,79) p=0,041

Положительная корреляция содержания IL-6, IL-10, IL-13, галектина-2 и HIF-1альфа в костном мозге с их концентрацией в крови подтверждает, что эти медиаторы являются факторами дистантной регуляции гемопоеза (рисунок 2).

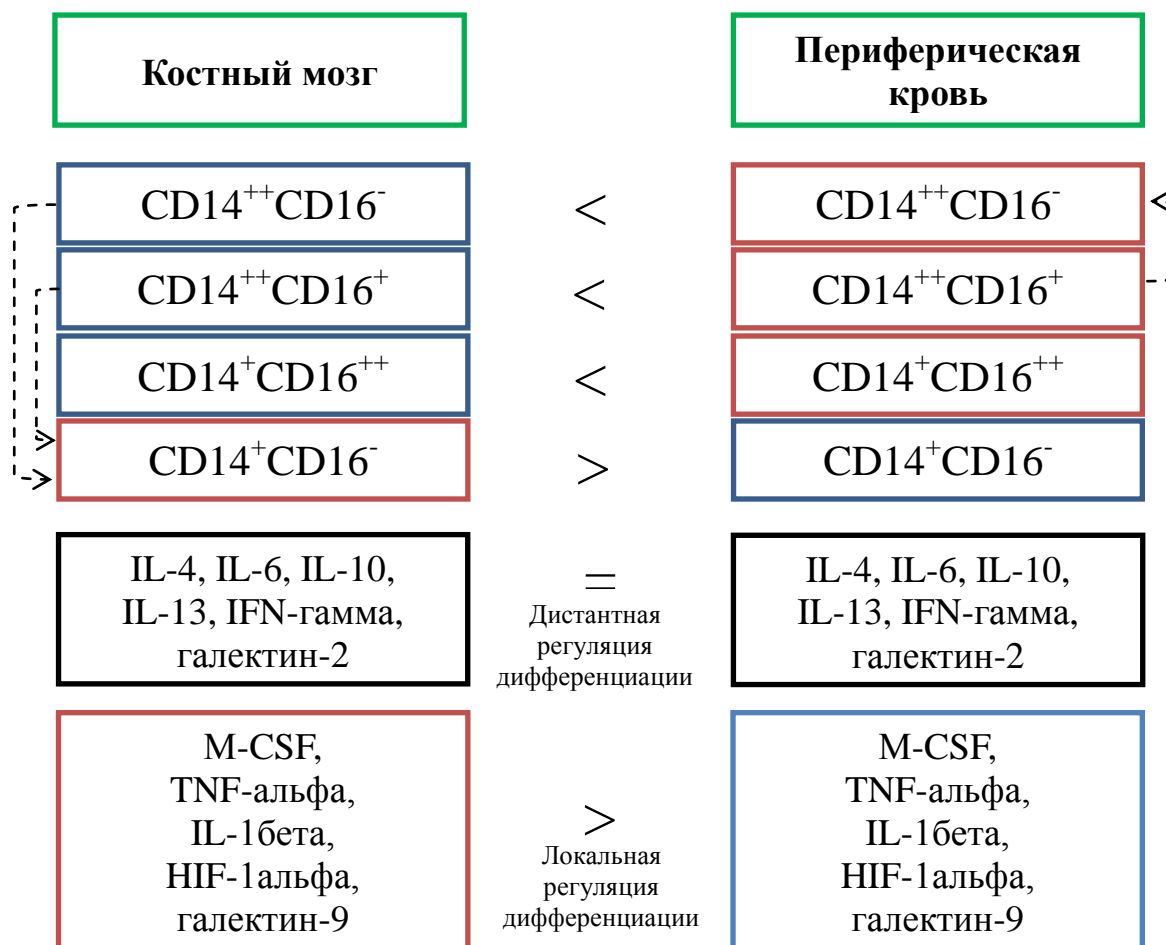


Рисунок 2 - Сравнительная характеристика состава субпопуляций моноцитов и медиаторов их распределения в крови и костном мозге у больных с ИБС.

Примечание. Пунктирные стрелки – отрицательные корреляции, < – концентрация медиатора меньше, > – концентрация медиатора больше, = – сопоставимая концентрация медиатора.

Галектин-9, M-CSF и TNF-альфа представляют собой факторы локальной регуляции кроветворения, поскольку их концентрация в костном мозге и крови не взаимосвязана. HIF-1альфа скорее также принадлежит к локальным факторам, поскольку, несмотря на взаимосвязь его гемической и интрамедуллярной концентраций, последняя в 16 раз превосходила содержание медиатора в крови (таблица 3), в связи с чем думается, что экстрамедуллярный уровень HIF-1альфа не оказывает существенного влияния на кроветворение.

Кроме того, у больных ИБС в костном мозге концентрация IL-10 положительно коррелировала с количеством промежуточных, IL-13 – переходных, M-CSF – классических моноцитов, а отрицательная связь выявлялась между содержанием IL-13 и классических клеток, а также M-CSF и переходных моноцитов, указывая на интрамедуллярное происхождение указанных клеток. Дифференциация CD14⁺CD16⁺⁺ неклассических моноцитов происходит, очевидно,

экстрamedулярно и, вероятно, в периферических тканях, поскольку взаимосвязи численности этой субпопуляции моноцитов с другими их субпопуляциями ни в крови, ни в костном мозге обнаружено не было.

Таким образом, изменение субпопуляционного состава моноцитов и цитокинового спектра крови при ИБС и ТЛ отражает типовую реакцию иммунной системы на ее антигенную стимуляцию вне зависимости от вида гипоксии и природы стимулирующего клетки фактора (аутоантиген или патоген). Дифференциация CD-фенотипа моноцитов контролируется цитокинами и галектинами и происходит не только в костном мозге, но и продолжается в кровотоке, о чем свидетельствует перераспределение субпопуляционного состава клеток.

ВЫВОДЫ

1. В крови у больных с ишемической болезнью сердца (ИБС), хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и туберкулезом легких, как и у здоровых доноров, преобладают классические $CD14^{++}CD16^{-}$ клетки. У больных ХОБЛ увеличение количества классических моноцитов сопровождается снижением числа промежуточных $CD14^{++}CD16^{+}$, неклассических $CD14^{+}CD16^{++}$ и переходных $CD14^{+}CD16^{-}$ клеток. При ИБС и туберкулезе легких дефицит переходных моноцитов в крови сочетается с увеличением содержания промежуточных форм клеток.
2. При ИБС, неинфекционной (ХОБЛ) и инфекционной (туберкулез) патологии легких вне зависимости от вида сопровождающей их течение гипоксии (циркуляторная, дыхательная) обратная связь числа $CD14^{++}CD16^{-}$ и $CD14^{++}CD16^{+}$ моноцитов в крови свидетельствует об экстрamedулярной дифференциации промежуточных клеток из классических моноцитов. Концентрация ИИФ-1альфа в крови при ИБС, ХОБЛ и туберкулезе легких соответствует норме.
3. Нарушения субпопуляционного состава моноцитов крови у больных ХОБЛ ассоциированы с повышением концентрации цитокинов ИЛ-13, ИЛ-6 и галектина-9, а у больных туберкулезом легких и ИБС – с дефицитом ИФН-гамма и галектина-2. Дополнительным фактором дифференциации $CD14^{++}CD16^{+}$ моноцитов у больных туберкулезом легких является повышение концентрации ИЛ-13, а при ИБС – дефицит М-CSF в плазме крови.
4. Субпопуляционный состав моноцитов костного мозга и крови у больных ИБС различается: в костном мозге содержание переходных клеток выше, а классических, промежуточных и неклассических моноцитов – ниже, чем в

крови. В костном мозге содержание CD14⁺CD16⁻ клеток отрицательно коррелирует с числом промежуточных и классических моноцитов и зависит от концентрации M-CSF и IL-13.

5. При ИБС концентрация IL-6, IL-10, IL-13, галектина-2, IL-4 и IFN-гамма в костном мозге и плазме крови является сопоставимой и взаимосвязанной, что указывает на их роль в дистантной регуляции субпопуляционного состава моноцитов костного мозга и крови. Концентрация M-CSF, TNF-альфа, IL-1бета, HIF-1альфа и галектина-9 в костном мозге многократно выше, чем в крови, что обосновывает их участие в локальной (интрамедуллярной) регуляции дифференциации CD-фенотипа моноцитов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Субпопуляционный состав моноцитов крови и костного мозга у больных с хронической сердечной недостаточностью / Винс М.В., Чумакова С.П., Уразова О.И., Азарова Д.А., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Бармина С.Э., Вернер М.Д., Новицкий В.В. // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2018. – Т.17, №4. – С. 16-22. Импакт-фактор РИНЦ 0,503.
2. Интерлейкины 4 и 6 как факторы модуляции субпопуляционного состава моноцитов крови у больных ишемической кардиомиопатией // Азарова Д.А., Чумакова С.П., Винс М.В., Уразова О.И., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Новицкий В.В. // **Казанский медицинский журнал**. – 2018. – Т.99, №6. – С. 900-905. Импакт-фактор РИНЦ 0,446.
3. Субпопуляционный состав моноцитов крови у больных ишемической кардиомиопатией / Чумакова С.П., Винс М.В., Азарова Д.А., Уразова О.И., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Новицкий В.В. // В сб.: Сб. «VI Евразийский конгресс кардиологов. Москва, 18-19 апреля 2018 г. – Сборник тезисов». – М.: ООО «ИнтерМедсервис», 2018. – С. 67-68.
4. Характеристика субпопуляционного состава моноцитов крови при патологии легких инфекционного и неинфекционного генеза [Электронный ресурс] / Винс М.В., Чумакова С.П., Уразова О.И., Букреева Е.Б., Буланова А.А., Кошель А.П., Чурина Е.Г., Ситникова А.В., Новицкий В.В. // Сб.: «Материалы Балтийского симпозиума по иммунологии, молекулярной и регенеративной медицине с международным участием», Научное электронное издание, г. Калининград, 22-23 ноября 2018 г. / под ред. Л.С. Литвиновой, А.Г. Гончарова. - Калининград: Изд-во БФУ им. И. Канта. – 2018. – С. 59-61. – URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=36588003>.
5. Субпопуляционный состав моноцитов крови и костного мозга у больных с хронической сердечной недостаточностью / Винс М.В., Чумакова С.П.,

- Уразова О.И., Азарова Д.А., Шипулин В.М., Новицкий В.В. // Сб. «Сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием «StemCellBio-2018: фундаментальная наука как основа клеточных технологий», г. Санкт-Петербург, 15-17 ноября 2018 г. – СПб., 2018. – С. 125.
6. Изменения субпопуляционного состава моноцитов крови при туберкулезе легких как типовая реакция моноцитарно-макрофагальной системы / Чумакова С.П., Винс М.В., Уразова О.И., Крук Е.А., Букреева Е.Б., Буланова А.А., Чурина Е.Г., Ситникова А.В., Новицкий В.В. // Сб. «VII конгресс Национальной ассоциации фтизиатров с международным участием (15-17 ноября 2018 г., Санкт-Петербург)»: [Электронный ресурс] : тезисы докладов / под ред. д-ра мед. наук, проф. П.К. Яблонского (президент конгресса)». – СПб., 2018. – С. 204-206. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
 7. Клеточные механизмы врожденного и адаптивного иммунитета в патогенезе туберкулеза легких / Чурина Е.Г., Уразова О.И., Ситникова А.В., Хасанова Р.Р., Чумакова С.П., Винс М.В. // Сб. «VII конгресс Национальной ассоциации фтизиатров с международным участием (15-17 ноября 2018 г., Санкт-Петербург)»: [Электронный ресурс] : тезисы докладов / под ред. д-ра мед. наук, проф. П.К. Яблонского (президент конгресса)». – СПб., 2018. – С. 206-207. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
 8. Characteristics of humoral regulation of differentiation of bone marrow monocyte subpopulations in patients with ischemic cardiomyopathy / Urazova O.I., Chumakova S.P., Vins M.V., Maynagasheva E.S., Shipulin V.M., Pryahin A.S., Poletika V.S., Kononova T.E., Kolobovnikova Y.V., Novitskiy V.V. // **International Journal of Biomedicine**. – 2019. – Vol. 9, №2. – P. 91-96. Импакт-фактор РИНЦ 0,216.
 9. Макрофаги при бактериальных болезнях легких: фенотип и функции (обзор) / Чурина Е.Г., Ситникова А.В., Уразова О.И., Чумакова С.П., Винс М.В., Береснева А.Е., Новицкий В.В. // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2019. – Т.18, №1. – С. 142-154. Импакт-фактор РИНЦ 0,503.
 10. Субпопуляции моноцитов крови у больных с генерализованной гипоксией / Чумакова С.П., Винс М.В., Уразова О.И., Азарова Д.А., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Букреева Е.Б., Буланова А.А., Кошель А.П., Чурина Е.Г., Ситникова А.В., Гарганеева Н.П., Новицкий В.В. // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2019. – Т.18, №1. – С. 277-285. Импакт-фактор РИНЦ 0,503.
 11. Особенности субпопуляционного состава моноцитов крови и содержания гипоксией индуцируемого фактора-1альфа у больных ишемической кардиомиопатией / Чумакова С.П., Винс М.В., Уразова О.И., Майнагашева Е.С., Погонченкова Д.А., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Новицкий В.В. //

- Евразийский кардиологический журнал.** – №S2. – 2019. – С. 282-283. Импакт-фактор РИНЦ 0,558.
12. Содержание галектинов -2, -9 и субпопуляций моноцитов крови при патологии легких инфекционного и неинфекционного генеза / Чумакова С.П., Винс М.В., Уразова О.И., Букреева Е.Б., Буланова А.А., Чурина Е.Г., Ситникова А.В., Новицкий В.В. // **Российский иммунологический журнал.** – 2019. – Т.13(22), №2. – С. 966-969. Импакт-фактор РИНЦ 0,656.
 13. Влияние интерлейкина-10 на субпопуляционный состав моноцитов крови при ишемической кардиомиопатии / Винс М.В., Майнагашева Е.С., Новицкий В.В., Погонченкова Д.А., Пряхин А.С., Уразова О.И., Чумакова С.П., Шипулин В.М. // Сб.: «Российский национальный конгресс кардиологов: РКО для профессионалов и пациентов – от первичной помощи к новейшим технологиям, Екатеринбург, 24-26 сентября 2019 года: Материалы конгресса». – Екатеринбург, 2019. – С. 437.
 14. Иммунофенотипические характеристики моноцитов крови при инфекционном и неинфекционном поражении легких / Винс М.В., Чумакова С.П., Уразова О.И., Букреева Е.Б., Буланова А.А., Новицкий В.В. // Сб. «Научная конференция с международным участием, посвященная 170-летию кафедры патологической анатомии им. академика А.И. Струкова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, 20 марта 2019 года)». – М.: Изд-во Сеченовского Университета, 2019. – С. 19.
 15. Субпопуляционный состав моноцитов крови при заболеваниях, сопряженных с гипоксией / Винс М.В., Чумакова С.П., Уразова О.И., Крук Е.А., Букреева Е.Б., Буланова А.А., Майнагашева Е.С., Погонченкова Д.А., Чурина Е.Г., Ситникова А.В., Новицкий В.В. // Сб.: «Материалы научной конференции с международным участием «Нейрогуморальные механизмы регуляции физиологических функций в норме и патологии», посвящённой 130-летию кафедры физиологии Сибирского государственного медицинского университета и Томского государственного университета, Томск, 23-24 мая 2019». – Томск, 2019. – С. 37-39.
 16. CD14+CD16– клетки как самостоятельная субпопуляция моноцитов / Чумакова С.П., Винс М.В., Уразова О.И., Погонченкова Д.А., Шипулин В.М., Майнагашева Е.С., Вернер М.Д., Елин М.А., Новицкий В.В. // **Лабораторная служба.** – 2019. – Т.8, №1. – С. 63. Импакт-фактор РИНЦ 0,214.
 17. Аллельный полиморфизм генов цитокинов: роль в патогенезе туберкулеза легких / Уразова О.И., Чурина Е.Г., Хасанова Р.Р., Кононова Т.Е., Ситникова А.В., Винс М.В. // АСТА NATURA: Научные труды II Объединенного

- научного форума / под. ред. Р.И. Сепиашвили, В.А. Ткачука, А.Г. Габибова и др., Сочи-Дагомыс, 1-6 октября 2019 г. – 2019. – Спецвыпуск, Т.1. – С. 55-56.
18. Влияние цитокинов на субпопуляционный состав моноцитов крови при заболеваниях, сопряженных с гипоксией / Винс М.В., Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Пряхин А.С., Букреева Е.А., Буланова А.А. // Сб. «Материалы Всероссийской научной конференции «Патофизиология и фармакология системы крови», посвященной 35-летию НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, г. Томск, 10-11 октября 2019 г.». – Томск, 2019. – С. 6-7.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ИБС – ишемическая болезнь легких
- ТЛ – туберкулез легких
- ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких
- CD – cluster of differentiation (кластер дифференциации)
- DAMP – damage-associated molecular pattern (молекулярный фрагмент, ассоциированный с повреждением)
- HIF – hypoxia-inducible factor (гипоксией индуцируемый фактор)
- IFN – interferon (интерферон)
- IL – interleukin (интерлейкин)
- M-CSF – macrophage colony-stimulating factor (колониестимулирующий фактор макрофагов)
- PAMP – pathogen-associated molecular pattern (патоген-ассоциированный молекулярный паттерн)
- TGF – transforming growth factor (трансформирующий фактор роста)
- Th – T-helper (Т-хелпер)
- TNF – tumor necrosis factor (фактор некроза опухоли)
- VEGF – vascular endothelial growth factor (фактор роста эндотелия сосудов)