

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Стельмашенко Ангелина Игоревна

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, КЛЕТОЧНЫЕ И ТКАНЕВЫЕ МАРКЕРЫ
НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ
ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

1.5.22. Клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Суходоло Ирина Владимировна

Научный консультант:
доктор медицинских наук, доцент
Чумакова Светлана Петровна

Томск – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	17
1.1 Эпидемиология ишемической кардиомиопатии.....	17
1.2 Патогенез постинфарктного ремоделирования сердца.....	22
1.3 Патогенез ишемической кардиомиопатии в отличие от ишемической болезни сердца без кардиомиопатии.....	25
1.4 Воспалительный инфильтрат в сердце при ишемической кардиомиопатии	27
1.5 Состояние внеклеточного матрикса сердца в норме и при патологии.....	30
1.6 Гетерогенность популяции моноцитов крови и тканевых макрофагов, их роль при заболеваниях сердца	34
1.7 Цитокиновый профиль миокарда при ишемической кардиомиопатии.....	38
1.8 Заключение (поиск предикторов ремоделирования).....	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ	43
2.1 Дизайн исследования	43
2.2 Объект исследования	48
2.3 Гистологические методы исследования	49
2.4 Иммуногистохимические методы исследования.....	50
2.5 Морфометрические методы исследования.....	52
2.6 Метод проточной цитофлуориметрии	53
2.7 Метод иммунофлуоресцентного анализа	55
2.8 Метод мультиплексного анализа.....	56
2.9 Статистические методы.....	62
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ	63

3.1 Морфологическая характеристика миокарда.....	63
3.2 Иммуногистохимическое исследование миокарда.....	70
3.3 Поиск корреляционных связей между морфологическими маркерами и клиническими показателями	74
3.4 Соотношение субпопуляционного состава циркулирующих моноцитов крови с долей M1 и M2 макрофагов в миокарде при ишемической болезни сердца вне зависимости от наличия кардиомиопатии	79
3.5 Определение цитокинового профиля миокарда методом мультиплексного анализа по типу проточной флуориметрии	83
3.5.1 Сравнение интрамиокардиальной концентрации цитокинов и факторов роста между пациентами с ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии и ишемической кардиомиопатией.....	85
3.5.2 Сравнение концентрации цитокинов, хемокинов и факторов роста в тканевой культуре миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца и ишемической кардиомиопатией с обратным и прогрессирующим типом ремоделирования.....	90
3.5.3 Определение взаимосвязей между концентрацией цитокинов, хемокинов и факторов роста и морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца и ишемической кардиомиопатией.....	92
3.5.4 Определение взаимосвязей между концентрацией цитокинов, хемокинов и факторов роста и клиническими показателями миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца и ишемической кардиомиопатией.....	99

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	106
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	131
ВЫВОДЫ	134
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	136

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- CXCL/CCL - мотив С-Х-С хемокин/С-С мотив лиганд.
- DAMP - дистресс-ассоциированные молекулярные паттерны
- EGF - эпидермальный фактор роста
- Eotaxin – эотаксин
- FGF-2 - основной фактор роста фибробластов
- Flt-3L – фракталкин-3 лиганд
- Fractalkine – фракталкин
- G-CSF - колониестимулирующий фактор гранулоцитов
- GM-CSF - колониестимулирующий фактор гранулоцитов и моноцитов
- GRO - онкоген, связанный с ростом опухоли
- HIF-1 α - фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа
- IFN – интерферон
- IL – интерлейкин
- IP-10 - гамма-интерферон индуцируемого белка 10
- MCP - моноцитарный хемотаксический протеин
- MDC – макрофагальный хемокин
- MIP - макрофагальный белок воспаления
- MMP – matrix metalloproteinase, матриксная металлопротеиназа
- PDGF - тромбоцитарный фактор роста
- RANTES - фактор, экспрессируемый и секретируемый нормальными Т-клетками при активации
- sCD40L - трансмембранный гликопротеин типа I
- TGF – tissue growth factor, тканевой фактор роста
- TIMP – tissue inhibitor of metalloproteinase, тканевой ингибитор металлопротеиназ
- TNF - фактор некроза опухоли
- VEGF - фактор роста эндотелия сосудов

α SMA – гладкомышечный актин альфа
АКШ – аортокоронарное шунтирование
АЛЖ – аневризма левого желудочка
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИГХ – иммуногистохимическое исследование
ИКМП – ишемическая кардиомиопатия
ИМ – инфаркт миокарда
ИФ - иммунофлуоресценция
ИФА – иммуноферментный анализ
КДИ – конечно-диастолический объем
КМП - кардиомиопатия
КМЦ – кардиомиоцит
КСИ – конечно-систолический объем
ЛЖ – левый желудочек
МЖП – межжелудочковая перегородка
ОР – обратное ремоделирование
ПР – прогрессирующее ремоделирование
СРБ – С-реактивный белок
УПП – ушко правого предсердия
ФВ – фракция выброса
ХСН – хроническая сердечная недостаточность
ЭхоКГ – эхокардиография

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования.

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти в России — почти половина (47%) всех случаев летальных исходов, по данным Росстата. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) занимает главенствующее положение среди причин смерти от ССЗ (27%) [30].

Ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) является клинко-морфологическим вариантом ИБС, возникающим вследствие хронической ишемии обширных участков миокарда и характеризуется эксцентрической гипертрофией, прогрессирующим ремоделированием левого желудочка (ЛЖ), истончением его стенок с формированием аневризмы, нарушением гемодинамических показателей сердца, а также изменением морфологии миокарда на микроскопическом и ультраструктурном уровнях [30, 49]. ИКМП встречается у 5 – 8 % пациентов с ИБС, чаще в возрасте 45 – 55 лет, преимущественно у мужчин трудоспособного возраста (90%) [15]. Основным клиническим проявлением ИКМП является манифестирующая хроническая сердечная недостаточность. При сравнении годовой выживаемости пациентов с ИКМП последние несколько десятков лет отмечается тенденция на улучшение результатов консервативных методов лечения, в основном благодаря применению комплекса лекарственных средств (β -блокаторов, статинов, антагонистов альдостерона и ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (АПФ)). Однако, даже при надлежаще подобранном медикаментозном лечении смертность может достигать до 50% в двухлетнем периоде наблюдения [77]. Поэтому оптимальным методом терапии ИКМП, согласно опубликованным исследованиям ряда авторов, является хирургическое вмешательство [22, 75, 77]. Лечение ИКМП заключается в оперативной реконструкции объема и формы ЛЖ по методу, предложенному в 1989 г. V. Dog в модификации Menicanti с одновременным проведением аортокоронарного шунтирования (АКШ) для восстановления

миокардиального кровотока и пластикой митрального клапана по показаниям [112, 130]. Семилетняя выживаемость после операции при изолированном АКШ составляет 68%, а в сочетании с хирургической реконструкцией ЛЖ – 83% [35]. Однако, как в раннем (<1 месяца), так и в отдаленном (> 1 года) послеоперационном периоде у пациентов с ИКМП возможно возвращение гемодинамических и морфологических показателей сердца к дооперационным значениям, что представляет особую проблему в области кардиохирургии. Послеоперационная летальность пациентов с ИКМП, по литературным данным, составляет от 2 до 19% [14, 133]. Таким образом, серьезной причиной достаточно высокой смертности является послеоперационное ремоделирование сердца, ассоциированное с неблагоприятным исходом хирургического вмешательства, на которое приходится до 35% случаев [12]. Ремоделирование – сложный процесс, охватывающий все структурные компоненты сердца, включая и сосуды. Негативный компонент ремоделирования связан, в первую очередь, со снижением сократительной функции сердца и изменением механических свойств миокарда [36, 37].

Таким образом, развитие осложнений в виде неблагоприятного ремоделирования сердца в послеоперационном периоде у пациентов с ИКМП является одной из актуальных и труднорешаемых проблем как в фундаментальном понимании, так и практическом применении. И хотя данной теме посвящается не мало исследований, до сих пор существует целый ряд аспектов этой проблемы, требующий дополнительного изучения и уточнения, особенно актуальна стоит задача определения маркеров ремоделирования сердца на дооперационном этапе для подбора оптимальной концепции лечения пациентов с ИКМП.

Степень разработанности темы исследования.

По причине отсутствия общепринятых методов диагностики и лечения пациентов с ИКМП, выбор эффективных методов диагностики и адекватный подбор терапии пациентов с ИКМП остаются одними из самых сложных вопросов кардиологии и кардиохирургии. В связи с этим на протяжении

последних 15 лет активно ведется поиск прогностических маркеров повторного ремоделирования сердца, ассоциированного с неблагоприятным исходом хирургического лечения пациентов для реализации концепции персонализированной медицины [11, 17, 42]. Увеличение гемодинамической нагрузки на левые отделы сердца вызывает компенсаторную гипертрофию кардиомиоцитов, что ведет к их гиперплоидизации и усиленной продукции сократительных белков миокарда. Для кардиомиопатии характерен лизис миофибрилл кардиомиоцитов, с их последующей гибелью и замещением соединительной тканью. Наличие положительной связи между степенью фиброза и интенсивностью воспаления освещено и подтверждено данными многочисленных исследований [11, 17, 41]. Воспалительный процесс сопутствует ИКМП до 75% случаев и является одним из основных неблагоприятных прогностических факторов, отягощающих течение ИКМП, увеличивающий риск смертности в раннем послеоперационном периоде и повторного ремоделирования левого желудочка. Миокардит сам по себе является причиной до 15% случаев внезапной сердечной смерти [11]. Незученным остается состояние и роль внеклеточного матрикса (ВКМ) сердца. В условиях отсутствия патологии между синтезом и распадом основных белков ВКМ, которыми являются коллагены, существует равновесие, поддерживающее каркас сердца и препятствующее формированию фиброза в ВКМ миокарда. Изменение существующего равновесия ВКМ, предположительно, может быть обусловлено паракринным действием провоспалительных цитокинов, продуцируемых иммунокомпетентными клетками миокарда, включая макрофаги, в значительной степени дифференцирующиеся из моноцитов крови, что в итоге может привести к развитию фиброза и ремоделированию левого желудочка [120]. Исходя из этого, выявление маркеров морфологической реструктуризации миокарда может стать новым методом прогноза неблагоприятных послеоперационных исходов и универсальным

инструментом в руках хирургов для принятия решения об отказе от «паллиативной» операции в пользу пересадки сердца.

Цель исследования:

На основании оценки цитокин-секреторной активности миокарда, клеточного состава и структуры его внеклеточного матрикса при различных исходах оперативного лечения ишемической кардиомиопатии предложить молекулярные, клеточные и тканевые маркеры для прогнозирования неблагоприятных исходов хирургического лечения ишемической кардиомиопатии и особенностей ее патогенеза .

Задачи исследования:

1. На материале интраоперационных биопсий миокарда провести сравнительную морфологическую оценку миокарда у пациентов с ишемической кардиомиопатией и у больных ишемической болезнью сердца с сохраненными гемодинамическими параметрами сердца и перенесенным инфарктом миокарда в анамнезе (без кардиомиопатии).

2. Идентифицировать иммунокомпетентные клетки, инфильтрирующие миокард, описать структуру внеклеточного матрикса у пациентов с ишемической кардиомиопатией и больных ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии.

3. Провести анализ иммунофенотипа моноцитов крови и соотнести их с долей M1 и M2 макрофагов в миокарде у пациентов с ишемической кардиомиопатией и у больных ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии.

4. Провести анализ цитокин-секреторной активности миокарда *in vitro* у пациентов с ишемической кардиомиопатией и у больных ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии.

5. Выявить молекулярные, клеточные и тканевые маркеры для оценки исходов хирургического лечения у пациентов с ишемической кардиомиопатией на дооперационном этапе.

Научная новизна. Впервые проведена сравнительная оценка состояния миокарда контрольной группы пациентов со стенозирующим атеросклерозом коронарных артерий, но сохраненной фракцией выброса левого желудочка (более 40%) и конечно-систолическим индексом левого желудочка (менее 60 мл/м²), и пациентов с выраженными клиническими признаками ИКМП. Состояние миокарда пациентов обеих групп продемонстрировало однонаправленные, но в разной степени выраженные морфологические изменения кардиомиоцитов и стромы миокарда, а также различия в выраженности перинуклеарного отека кардиомиоцитов и доли капилляров.

Впервые у пациентов с ИКМП проведена комплексная оценка маркеров матриксной среды миокарда (коллагенов I и III типов, матриксной металлопротеиназы 2 типа (ММП-2) и тканевого ингибитора металлопротеиназы 1 типа (ТИМП-1)). Установлено, что во внеклеточном матриксе (ВКМ) миокарда пациентов с ИБС без кардиомиопатии преобладает коллаген I типа над коллагеном III типа, тогда как при клинических проявлениях кардиомиопатии – коллаген III типа. Установлена положительная взаимосвязь между экспрессией ММП-2 и количеством иммунокомпетентных клеток CD68⁺ и CD3⁺ в миокарде пациентов с ИКМП.

Впервые были сопоставлены данные проточной цитофлуориметрии моноцитов крови и результаты иммунофлуоресцентного анализа биоптатов миокарда у пациентов с ИКМП и пациентов с ИБС без кардиомиопатии с целью изучения взаимосвязей между численностью субпопуляцией моноцитов периферической крови и популяций тканевых макрофагов сердца. Выявлена отрицательная взаимосвязь между количеством CD68⁺CD206⁺ клеток (M₂-макрофагов) и количеством классических CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов в крови.

Впервые *in vitro* была описана цитокин-секреторная активность миокарда пациентов с ИКМП и с ИБС без кардиомиопатии, установившая группу наиболее активно секретируемых цитокинов (IL-6, IL-8, GRO (онкоген, связанный с ростом опухоли), MCP-1 (моноцитарный хемотаксический

протеин 1)). Показано 3-кратное повышение концентрации Fractalkine 3 ligand (Flt-3l) в миокарде пациентов с ИБС по сравнению с пациентами с ИКМП.

Получены принципиально новые данные о состоянии внеклеточного матрикса миокарда, о его взаимосвязи с иммунными клетками, в частности, тканевыми макрофагами сердца. Оценка цитокинового профиля миокарда дала возможность рассмотреть новые предикторы неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ИКМП. Это - провоспалительные цитокины (IL-8, GRO, G-CSF (колониестимулирующий фактор гранулоцитов) и RANTES (фактор, экспрессируемый и секретируемый нормальными Т-клетками при активации)).

Теоретическая и практическая значимость работы.

Получены новые данные о состоянии внеклеточного матрикса миокарда, его взаимосвязи с резидентными и циркулирующими иммунными клетками у пациентов с ИКМП. Оценка цитокинового профиля миокарда дала возможность рассмотреть потенциально новые предикторы неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ИКМП в ткани, а также возможные терапевтические мишени для лечения данной категории больных.

Полученные результаты дополняют и конкретизируют существующие представления о патогенезе ремоделирования левого желудочка при ИКМП. Преобладание CD163⁺ макрофагов в миокарде пациентов с ИКМП, представляющих пул M2-макрофагов, подтверждает существующую гипотезу о M2-индуцированном течении ишемической кардиомиопатии. Обратная связь между числом субпопуляции классических CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов периферической крови и тканевыми CD68⁺CD206⁺ макрофагами сердца дает возможность рассмотреть клеточный состав моноцитов периферической крови в качестве значимых критериев прогнозирования течения и прогрессии ИКМП.

Преобладание тканевых M2-макрофагов в миокарде, возрастание доли коллагена III типа над коллагеном I типа во внеклеточном матриксе сердца и повышение интрамиокардиальной концентрации провоспалительных

цитокинов, в частности, IL-5, IL-6, IL-8 и MCP-1 у больных ИКМП могут стать основой оптимальных методов ее терапии и прогнозирования течения ишемической кардиомиопатии на дооперационном этапе. Предикторами неблагоприятных исходов, а также мишенями для консервативной терапии могут быть провоспалительные цитокины (IL-8, GRO, G-CSF и RANTES).

Методология и методы исследования.

Для реализации задач исследования были обследованы больные ИБС с перенесенным инфарктом миокарда в анамнезе, страдающие и не страдающие ИКМП. Материалом для исследования служили интраоперационные биопсии миокарда, среда DMEM/F12 с гентамицином, в которой в течение 24 часов инкубировался биоптат миокарда, и периферическая венозная кровь в объеме 5 мл. Взятие биоптатов производилось из боковой, задней, передней стенки левого желудочка (ЛЖ), межжелудочковой перегородки, аневризмы ЛЖ, периинфарктной зоны ЛЖ, а также из ушка правого предсердия, объем взятого образца из каждой зоны не превышал 10 мм³. Взятие крови из локтевой вены пациентов производилось непосредственно перед операцией. Сравнительная морфологическая оценка миокарда проводилась на материале интраоперационных биопсий при помощи гистологических и морфометрических методов исследования. Оценку иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих миокард, и описание структуры внеклеточного матрикса сердца проводились на материале интраоперационных биопсий методом иммуногистохимического анализа по экспрессии CD3⁺, CD8⁺, CD68⁺, CD163⁺, CD90⁺, α SMA (альфа-гладкомышечного актина), коллагенов I и III типов, MMP-2 типа, как на мембране, так и в цитоплазме клеток. Оценка популяции тканевых макрофагов проводилась на материале интраоперационных биопсий методом иммунофлуоресцентного анализа по экспрессии CD80-, CD206- молекул на мембране клеток. Анализ субпопуляционного состава моноцитов был проведен в цельной крови методом проточной цитофлуориметрии по экспрессии CD14-, CD16- молекул

на мембране клеток. Оценка цитокин-продуцирующей активности миокарда проводился в среде DMEM/F12 с гентамицином, в которой в течение 24 часов инкубировались биопсии миокарда из ушка правого предсердия и перинфарктной зоны ЛЖ, методом мультиплексного иммуноферментного анализа. Исследования осуществлялись на базе кафедры морфологии и общей патологии (и.о. зав. кафедрой – д-р биол. наук, доцент И.В. Мильто) и Центральной научно-исследовательской лаборатории (руководитель – д-р мед. наук, профессор РАН Е.В. Удут) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, на базе лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины (заведующий – д-р биол. наук Ю.Г. Кжышковска) ФГАОУ ВО «Национального исследовательского Томского государственного университета» и в Центре иммунологии и клеточных биотехнологий «Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта».

Положения, выносимые на защиту:

1. Формирование ишемической кардиомиопатии (ИКМП) характеризуется сопоставимым с ишемической болезнью сердца (ИБС), развивающейся на фоне сохраненных гемодинамических его параметров и инфаркта миокарда в анамнезе (без кардиомиопатии), удельным объемом паренхимы и стромы миокарда, интерстициального отека, выраженности воспалительного инфильтрата и фиброза. При этом в миокарде больных ИКМП реализуется неэффективный ангиогенез, заключающийся в образовании меньшего числа капилляров с малым диаметром и недостаточной экспрессией α SMA в сосудистой стенке более крупных сосудов при меньшей выраженности перинуклеарного отека кардиомиоцитов.
2. Особенностью патогенеза ИКМП в отличие от ИБС без кардиомиопатии является накопление в миокарде CD68⁺ и CD163⁺ M2-макрофагов и CD90⁺ фибробластов с нарушением механических свойств внеклеточного матрикса вследствие уменьшения соотношения коллагенов I и III типов с преобладанием коллагена III типа. Количество тканевых M2-макрофагов

CD68⁺CD206⁺ обратно пропорционально численности классических CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов крови без существенных отличий в субпопуляционном составе моноцитов крови и макрофагов миокарда у пациентов, страдающих и не страдающих ИКМП.

3. Миокард ушка правого предсердия обладает большей цитокин-секреторной активностью (по Flt-3L, FGF-2 (основному фактору роста фибробластов), PDGF-AB/BB (тромбоцитарному фактору роста), IL-4, IL-15, RANTES), чем миокард перинфарктной зоны левого желудочка при ИБС, как осложненной, так и неосложненной ИКМП. Развитие ИКМП, относительно ИБС без кардиомиопатии, характеризуется увеличением интрамиокардиальной продукции GM-CSF и IFN γ и снижением образования Flt-3L и IL-15 в сердце.

4. Прогрессирующее послеоперационное ремоделирование сердца при ИКМП обусловлено наличием воспалительного процесса в миокарде, связанного с повышенной секрецией провоспалительных цитокинов IL-8, GRO, G-CSF, RANTES и пониженной продукцией IP-10 и TNF α , что ассоциировано с формированием большего количества капилляров без развития других структур микроциркуляторного русла, но меньшей долей стромы и недостаточностью (относительно обратного ремоделирования) фиброобразования в сердце на момент проведения операции. При этом содержание M2-макрофагов, фибробластов, T-лимфоцитов, типов коллагенов в миокарде и процессы деградации его внеклеточного матрикса не влияют на тип послеоперационного ремоделирования сердца.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность научного исследования подтверждена данными, полученными с использованием современных морфологических методов (иммуногистохимический анализ, иммунофлуоресцентный анализ, метод проточной цитофлуориметрии) и статистического анализа с использованием программ Microsoft Office Excel, Statistica 10.0.

Основные положения и результаты работы представлены на XVII Ежегодном научно-практическом семинаре молодых ученых «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической кардиологии» (Томск, 2017), XIV Конгрессе Международной ассоциации морфологов (МАМ) (Астрахань, 2018), III научно-практической конференции «Морфологические чтения памяти профессора В.Г. Ковешникова» (Луганск, 2019), V научной школо-конференции «Морфологические чтения, посвященные памяти профессора В. Г. Ковешникова» (Луганск, 2021).

Работа осуществлена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№20-315-90051).

Объем и структура работы.

Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, заключения, списка сокращений и литературы. Работа иллюстрирована 35 рисунками и 17 таблицами. Библиографический указатель включает 144 источника, из них 50 отечественных и 94 зарубежных авторов.

Публикации. По результатам работы опубликовано 18 работ, в том числе: 5 статей 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, из которых 3 работы, входят в базы цитирования Scopus и WoS, включая 1 статью в зарубежном журнале уровня Q2; 10 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Автор принимал непосредственное участие в планировании и осуществлении всех этапов исследования: лично проводил пробоподготовку и эксперименты, выполнял сбор, анализ и статистическую обработку данных, описание и обсуждение полученных результатов. Автором подготовлены доклады, тезисы, рукописи статей, а также выпускная научно-квалификационная работа и научный доклад, представленный к защите.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология ишемической кардиомиопатии

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) представляет собой распространенную позднюю фазу естественного течения многих сердечно-сосудистых заболеваний, затрагивающей миллионы людей во всем мире. Ежегодная смертность среди пациентов с ХСН, получавших адекватно подобранное лечение, составляет более 20% [50, 89]. По данным Groenewegen et al. (2020) 64,3 миллиона человек (8,52 на 1000 жителей) во всем мире живут с сердечной недостаточностью [82]. В развитых странах распространенность сердечной недостаточности обычно оценивается до 4,2% среди взрослого населения, а в развитых странах составляет около 11,8% среди лиц в возрасте 65 лет и старше [82, 89].

Наиболее частая причина развития ХСН – ишемическая кардиомиопатия (ИКМП), которая имеет более злокачественное течение, чем кардиомиопатии неишемического генеза [67]. Первоначально у больных наблюдается обратимая потеря сократительной функции сердца из-за снижения поступления кислорода к сердечной мышце; однако при длительной ишемии возникает необратимое повреждение сердечной мышцы, приводящее к ремоделированию сердца. Ремоделирование в первую очередь достигается за счет фиброза миокарда, который приводит к снижению сердечной функции, аритмии и возможному нарушению проводящей системы сердца [37, 55].

В России по данным ряда исследований распространенность ХСН составляет в среднем 9,6% [4, 28]. Все исследования свидетельствует о том, что ключевое значение в этиологии ХСН занимают артериальная гипертензия (АГ) и ишемическая болезнь сердца. Их комбинация встречается до 50% случаев [4, 28, 133]. Так, в нашей стране на 100 тыс. взрослого населения приходится 6210 случаев ишемической болезни сердца [33].

По данным разрозненных исследований у пациентов с ИБС до 35% случаев развивается ее тяжелая хроническая форма – ишемическая кардиомиопатия [58, 87]. Термин «ишемическая кардиомиопатия» был впервые предложен Burch H. A. et al. в 1970 г для определения заболевания миокарда с признаками дилатации полостей сердца и клинической симптоматикой ХСН, которое вызвано атеросклеротическим поражением коронарных артерий [97].

По результатам анализа более 1900 клинических случаев ХСН различной этиологии, в 2002 году G. M. Felker предложил унифицированное определение термину ИКМП и выделил следующие критерии постановки диагноза ИКМП [84]:

- фракцию выброса левого желудочка менее, либо равной 40%;
- наличие в анамнезе инфаркта миокарда или реваскуляризации (чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика или аортокоронарное шунтирование);
 - и/или наличие стеноза более 75% ствола или высокого стеноза передней нисходящей артерии;
 - и/или наличие стеноза более 75% не менее двух эпикардиальных коронарных артерий.

По данным Bart V. et al. (1997) смертность у пациентов с ишемической кардиомиопатией ($n = 121$) была значительно выше, чем у пациентов с кардиомиопатиями неишемического генеза ($n = 80$) ($p = 0.005$). По тем же данным в течение 1 года общая летальность среди пациентов с ИКМП составила 42% [67]. Таким образом, пятилетняя выживаемость составляет 35% в условиях естественного течения заболевания, а десятилетняя выживаемость пациентов уменьшается до 18% [4, 23, 133]. Ранняя выживаемость у пациентов, которым проводится лекарственная терапия, также невелика и составляет от 47 до 60% к 5 году течения заболевания [133]. В последнее десятилетие отмечается прогресс в терапии пациентов с ИКМП благодаря применению комплексной терапии антагонистами альдостерона, β -

блокаторами, ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента, статинами и антитромбоцитарной терапии. Однако несмотря на адекватно подобранное медикаментозное лечение, ранняя (до двух лет) летальность среди пациентов с ИКМП может достигать 50%. Современное кардиохирургическое лечение пациентов с ИКМП нацелено на 3 главные патофизиологические мишени заболевания (принцип «triple V»): коронарные сосуды (Vessels), митральный клапан (Valve) и левый желудочек (Ventricle) [61].

На сегодняшний день хирургическая реконструкция ЛЖ (ХРЛЖ) является одним из самых часто и успешно применяемых на практике методов лечения ИКМП. Данный подход был разработан в середине 1980-х годов А. Jatene и V. Dor, независимо друг от друга. Концепция метода состоит в иссечении рубцовой ткани и уменьшении полости ЛЖ с приданием ему физиологической формы и объема, тем самым улучшая сократительную функцию ЛЖ за счет снижения стрессового напряжения на стенки желудочка в соответствии с законом Лапласа [33, 41].

Техника Дора, которая была введена в клиническую практику в 1985 г., выполняется пациентам с ИКМП во время хирургической операции с целью уменьшения полости ЛЖ за счет септальной, передней и базальной частей ЛЖ в совокупности с эндовентрикулопластикой. Принцип метода заключается в наложении кисетного шва по переходной зоне между участком рубца и жизнеспособным миокардом после того, как будет осуществлен доступ в ЛЖ через зону дискинеза или акинеза (зона с малой сократительной функцией или ее отсутствием, соответственно). Далее в полость ЛЖ вводится шарик объемом из расчета 50–60 мл на 1 м² площади тела пациента для определения оптимального объема полости ЛЖ, далее кисетный шов затягивается, а шарик извлекается. Далее происходит фиксация эндовентрикулярной заплаты непрерывным обвивным швом к ранее наложенному кисетному шву. Таким образом, существует 3 важнейших преимущества техники, выполняемой по методу Дору: во-первых, безопасное удаление участков акинеза

межжелудочковой перегородки; во-вторых, придание приближенной к физиологической форме полости ЛЖ; в-третьих, создание возможности сочетанного шунтирования бассейна передней нисходящей артерии за счет образования искусственного анастомоза между восходящей аортой и коронарной артерией дистальнее места ее сужения [33, 41, 130].

Однако, по мнению Л. Мениканти и соавт. (L. Menicanti et al., 2002), методика Дора оказалась несовершенной. Поэтому на данный момент выполняется процедура по Дору в модификации Мениканти. Ключевым моментом модификации Мениканти является пропорциональное уменьшение размера ЛЖ как по длиннику, так и по перечнику сердца, что придает вновь сформированному ЛЖ еще более физиологичную форму [112](рис. 2, 3).

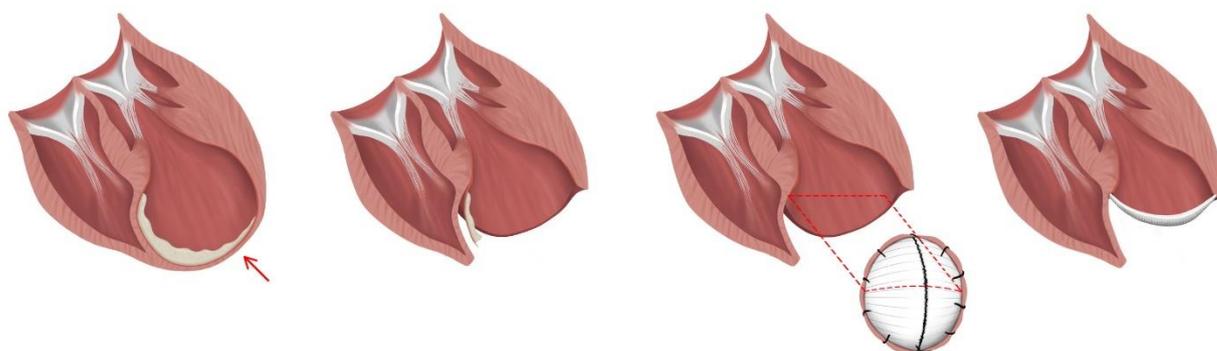


Рисунок 1 – Этапы пластики левого желудочка по методу Дора. Эндовентрикулопластика левого желудочка.

Примечание. Хроническая постинфарктная аневризма левого желудочка (отмечено стрелкой). Резекция постинфарктного рубца, направленная на уменьшение объема левого желудочка (отмечено пунктирной линией).

Такая концепция лечения пациентов с ИКМП привела к увеличению процента выживаемости пациентов в течение 5 лет до 62% случаев [71]. Однако у части пациентов в отдаленном послеоперационном периоде наблюдается возврат гемодинамических и анатомических показателей сердца к дооперационным значениям, что ассоциировано с неблагоприятным прогнозом [31]. Таким образом, можно подытожить, что имеющиеся критерии не позволяют в полной мере прогнозировать отдаленные исходы и

производить отбор пациентов с ИКМП для хирургического лечения. [31, 79, 112, 135]. При подборе оптимального хирургического вмешательства, очевидно, следует учитывать степень обратимости/необратимости патологических изменений миокарда. На сегодняшний день одним из перспективных критериев прогноза восстановления функции миокарда после реваскуляризации является наличие сократительного резерва сердца, который оценивается при помощи современных методов радионуклидной диагностики [31, 115]. Данные методы позволяют оценить наличие сократительного резерва, как прогностического фактора восстановления функции миокарда после реваскуляризации. При выявлении стресс-индуцированных изменений ФВ ЛЖ и диссинхронии ЛЖ (разобщенность сокращений сегментов миокарда) посредством методов радионуклидной диагностики прогнозируется повторное ремоделирование миокарда после хирургического лечения ИКМП [31].

Разрешение вопроса прогнозирования исходов хирургического вмешательства при ИКМП на дооперационном этапе поможет определить – будет ли операция иметь успех, а при неблагоприятном прогнозе позволит своевременно скорректировать тактику ведения пациентов в пользу применения наружного ограничительного эластического мешка (приспособление, сдерживающее дилатацию камер сердца) или пересадки сердца [31, 41, 45].

Для решения данной задачи, вероятно, необходимо учитывать морфофункциональное состояние сердца, применяя современные морфологические методы исследования. Степень восстановления сократительной функции левого желудочка после операции в большей степени определяется паренхиматозно-стромальными взаимоотношениями в миокарде, оценить которые возможно только посредством морфофункционального исследования. Данный анализ включает оценку наличия/отсутствия воспалительного инфильтрата, его качественный и

количественный состав; соотношение синтеза и деградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса и протекание различных иммунных реакций.

Проведение такого анализа в перспективе может стать основанием для разработки новой тенденции патогенетически обоснованной терапии ИКМП, что возможно сократит расходы на лечение пациентов, улучшит качество их жизни, что будет иметь медико-социальную и экономическую значимость.

1.2 Патогенез постинфарктного ремоделирования сердца

В условиях ишемии в сердце запускается каскад патологических реакций, которые в итоге приводят к необратимым изменениям миокарда и индуцируют процесс ремоделирования сердца, проявлением которого является ХСН [63]. Термином «ремоделирование» обозначается состояние сердца, заключающееся в увеличении объема и изменении формы камер сердца, не связанных с увеличением длины саркомеров, вызванным их предварительным перерастяжением [37, 68]. Постинфарктным сердцем называется ремоделирование всех его отделов в результате сложного динамического процесса. Механизм ремоделирования сердца представляет собой совокупность увеличения формы, объема полостей и массы миокарда постинфарктного сердца как реакция на интенсивную неадекватную гемодинамическую нагрузку [20].

Существует три основных механизма, лежащие в основе ремоделирования ЛЖ при ишемическом повреждении сердца: расширение границ зоны инфаркта в подострой стадии, неишемическое распространение инфаркта на близлежащий миокард (апоптоз кардиомиоцитов и образование соединительной ткани в результате усиления систолической нагрузки пограничной зоны), гипертрофия и дилатация ЛЖ в постинфарктный период. В ходе проведения ряда исследований было установлено, что значимым предиктором ремоделирования ЛЖ является размер зоны инфаркта, а риск

ремоделирования ЛЖ повышается в 2,8 раза на каждое десятипроцентное увеличение размеров инфаркта [48, 123].

В.Д. Розенберг и Л.М. Непомнящих обозначили 4 варианта ремоделирования постинфарктного сердца: дилатационный, гипертрофический, аневризматический и эндокардиальный. Дилатационная форма ремоделирования миокарда является доминирующей среди прочих и характеризуется дилатацией ЛЖ с выраженным удлинением его полости и смещением межжелудочковой перегородки в сторону правого желудочка. Гипертрофическая форма ремоделирования определяется существенной гипертрофией межжелудочковой перегородки и стенок ЛЖ, что приводит к изменению формы ЛЖ, однако, его объем остается практически неизменным [46]. Аневризматическая форма ремоделирования характеризуется наличием единичных или множественных аневризматических образований на месте постинфарктных рубцов. Чаще всего аневризмы занимают верхушечно-боковую локализацию ЛЖ. При эндокардиальном типе ремоделирования отмечается рубцевание париетального эндокарда, которое приводит к резкому нарушению диастолической функции сердца после перенесенного инфаркта миокарда. При этом наблюдается дилатация предсердий с сохранением показателей систолической функции ЛЖ и толщины его стенок, объем желудочков может оставаться в норме или быть уменьшен [18]. Несмотря на разные причины и механизмы ремоделирования, для всех вариантов в той или иной степени характерными чертами являются редукция капиллярной сети, «таяние» мышечных волокон, снижение паренхиматозно-стромального отношения и изменение диаметра кардиомиоцитов (КМЦ) [36, 37]. Чаще всего наблюдается сочетание различных типов ремоделирования постинфарктного сердца, в связи с чем патоморфологическая картина постинфарктного сердца неоднородна в различных участках миокарда. Сложность процесса состоит не только в пространственной перестройке геометрии желудочков, но и всей сосудистой системы организма в целом и сердечной мышцы в частности [17].

Ремоделирование сердца затрагивает преобразование экспрессии сократительных белков, энергетического и метаболического состояния КМЦ, что приводит к изменению экстрацеллюлярного матрикса и гибели клеток миокарда путем некроза или апоптоза. На данный момент известно, что кислородное голодание миокарда приводит к активизации внутриклеточных ферментных систем - мессенджеров (киназ, фосфатаз – MAPK, Ca²⁺МКП, PKC и др.), стимуляции транскрипционных факторов (HIF-1 и др.), с последующей экспрессией генов-промоуторов, что в конечном итоге запускает процессы ремоделирования миокарда [48, 101].

Все выше сказанное характеризует дооперационное ремоделирование, триггером которого в большинстве случаев является перенесенный инфаркт миокарда. Однако, несмотря на успешно проведенные хирургические операции по реконструкции левого желудочка, в ряде случаев (до 35%) возникает послеоперационное ремоделирование сердца [12]. В свою очередь, оно подразделяется на обратное (ОР) – возвращение геометрии и гемодинамических показателей ЛЖ к норме, и прогрессирующее (повторное) (ПР) – возвращение параметров ЛЖ к дооперационным значениям. Обратное ремоделирование является благоприятным исходом, которое характеризуется восстановлением нормального размера и формы камеры сердца, улучшением сократимости миоцитов, что связано с изменениями в молекулярном составе, метаболизме и свойствах внеклеточного матрикса миокарда [112]. Причем что результат операций по восстановлению геометрии левого желудочка имеет гораздо больший положительный долгосрочный эффект по выживаемости, чем просто восстановление объемов ЛЖ [124]. Пятилетняя выживаемость у пациентов с ОР ЛЖ составляет 72 %, у пациентов с ПР ЛЖ - 51 % [22].

Прогрессирующее ремоделирование представляет серьезную проблему современной кардиохирургии, что предполагает постановку задачи поиска предикторов неблагоприятного исхода операции, которые могут оказаться информативными на дооперационном этапе.

1.3 Патогенез ишемической кардиомиопатии в отличие от ишемической болезни сердца без кардиомиопатии

Ишемическую кардиомиопатию рассматривают в качестве частной формы ишемической болезни сердца [15]. Ишемическое повреждение при ИКМП носит обширный характер (поражение $>20\%$ массы миокарда), приводя к целому комплексу морфофункциональных нарушений, основными проявлениями которого являются систолическая дисфункция миокарда и кардиомегалия с дилатацией камер сердца [41]. Причины, по которым с одинаковым по степени ишемического повреждения у некоторых пациентов, в отличие от других, развивается тяжелая дисфункция миокарда, до сих пор не ясны и широко обсуждаются. В некоторых случаях ИКМП может быть первоначальным проявлением ИБС. Однако, в этих случаях, механизмы, ответственные за развитие ишемической кардиомиопатии, не всегда понятны [14, 28].

Трехлетняя выживаемость пациентов с ИКМП, по данным разных источников, различается в пределах 5–35%; при тяжелых формах течения заболевания годовая смертность достигает 50% [164]. На первых порах заболевание не сопровождается яркими клиническими проявлениями, а диагностируется на этапе формирования дилатации камер сердца и симптомокомплекса ХСН, что представляет опасность для жизни пациентов [27, 42].

Ввиду отсутствия единых методов диагностики и лечения пациентов вопрос подбора адекватной терапии при ИКМП является одним из самых труднорешаемых в кардиологии и кардиохирургии. Однако, очевидна положительная связь дилатации левого желудочка ЛЖ при ИКМП и тяжести ее [42].

Патогенез заболевания включает несколько важных аспектов: в первую очередь возникает гипоксия миокарда ввиду снижения коронарного

кровообращения вследствие атеросклеротического поражения коронарных артерий и уменьшение объема кровотока на единицу массы миокарда в результате его компенсаторной гипертрофии. Гипоксия запускает гибернацию миокарда – очаговое снижение сократительной способности миокарда, вызванное его длительной гипоперфузией, как мера «вынужденной дегенерации» [42]. Гипоксия усиливает ишемическое повреждение миокарда, приводя к внутриклеточному миоцитолизу и ишемической контрактуре миофибрилл кардиомиоцитов (КМЦ), приводящим к некрозу КМЦ [11]. Гибель КМЦ и замещение их соединительной тканью приводит к нарушению сократительной функции миокарда. Во время систолы ишемизированные участки миокарда с сократительной дисфункцией растягиваются с последующим развитием дилатации камер сердца и ремоделирования желудочков. Гипертрофии КМЦ и дилатации желудочков сердца всегда сопутствует микроциркуляторная недостаточность и нарастание ишемии, что в итоге приводит к некрозу кардиомиоцитов, увеличению объема соединительной ткани, нарушению баланса между продукцией и деградацией компонентов ВКМ, дисбалансу вазоконстрикторов и вазодилататоров, вырабатываемых эндотелием сосудов с недостаточным синтезом последних, усиленной продукции цитокинов, нарушению локальной сократимости миокарда и нарастанию диастолической дисфункции ЛЖ [11, 12].

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) — поражение миокарда, вызванное нарушением кровотока по коронарным артериям. В большинстве случаев (до 95%) основополагающими причинами развития ИБС являются атеросклеротический и/или функциональный стеноз эпикардальных сосудов и/или микрососудистая дисфункция. Ежегодная смертность от ИБС среди населения России составляет 27%. До 50-60% случаев заболевания остается нераспознанным и практически в половине случаев ИБС инфаркт миокарда (ИМ) является манифестацией заболевания [14, 28].

Таким образом, для ИКМП и ИБС характерна манифестация заболевания у лиц трудоспособного населения (до 42% случаев), преимущественно мужского пола. Патологические процессы, лежащие в основе ИКМП и ИБС без ИКМП имеют схожие черты: эндотелиальная дисфункция коронарных артерий, их атеросклероз и гипоксия, усиливающая ишемическое повреждение миокарда [27]. Однако, ответ со стороны организма на схожие патологические процессы у пациентов в действительности оказывается различным, и у части пациентов (до 35%) формируется тяжелая форма ИБС - ишемическая кардиомиопатия [27, 58, 87]. По данным ряда источников, столь разная реакция может быть связана с особенностями структуры внеклеточного матрикса (ВКМ) сердца, продуктивным воспалением при ИКМП, сопровождающимся дисбалансом цитокинов, а также может быть связана с преобладающей популяцией клеток-участников воспаления, в частности типом тканевых макрофагов и субпопуляционного состава их предшественников – моноцитов крови [27, 41, 47, 63, 114, 144].

1.3 Воспалительный инфильтрат в сердце при ишемической

кардиомиопатии

Воспаление в сердце имеет широкий спектр клинических проявлений и в большинстве случаев разрешается спонтанно. Воспаление является относительно частой причиной внезапной сердечной смерти (ВСС) в молодом возрасте (от 6% до 10%) [116].

При хронической сердечной недостаточности наблюдается распространение патологически активированных клеток врожденного (например, макрофаги и дендритные клетки) и адаптивного (например, Т-клетки) иммунитета в толщу миокарда [53, 103]. Они вызывают повреждение тканей и способствуют прогрессирующему ремоделированию, следовательно,

ИКМП можно рассматривать как состояние хронической активации иммунной системы [53].

Внезапная массивная потеря кардиомиоцитов вследствие инфаркта превышает ограниченную регенеративную способность миокарда, что приводит к образованию коллагенового рубца. Некротизированные клетки выделяют DAMP-молекулы, которые активируют систему врожденного иммунитета и вызывают выраженную воспалительную реакцию [122]. Помимо клеток врожденного иммунитета, в воспалительном процессе участвуют кардиомиоциты, нейтрофилы, макрофаги, фибробласты, эндотелиальные клетки и нервные клетки [80].

Идеальным исходом инфаркта миокарда является полное восстановление функции миокарда вокруг пораженного участка за счет его гипертрофии с сохранением насосной функции сердца. Однако, если инфаркт достаточно большой или реакция на заживление недостаточна, со временем развиваются неблагоприятное ремоделирование ЛЖ и сердечная недостаточность, сопровождающиеся хроническим и неадекватно длительным воспалением [71].

Иммунная система играет большую роль в процессах постинфарктного заживления миокарда. Клетки иммунной системы опосредуют как защитные, так и повреждающие эффекты при ремоделировании сердца. Для некоторых клеточных субпопуляций, таких как макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки и лимфоциты, противовоспалительная активность приписывается определенным субпопуляциям. Активность других клеток, таких как эозинофилы, тучные клетки, естественные киллеры и НКТ-клетки, сильно зависит от сигналов, создаваемых тканевым микроокружением [63].

Репарация повреждений после острого инфаркта миокарда (ОИМ) состоит из нескольких фаз: ранняя воспалительная фаза (первые 72 часа после ОИМ), поздняя репаративная и пролиферативная фазы (7-10 дни), за которыми следует фаза созревания. Воспаление является решающим элементом для удаления из очага поражения остатков некротизированных клеток и матрикса,

в то время как подавление провоспалительной передачи сигналов необходимо для преобразования воспалительной фазы в пролиферативную фазу [57]. В первые дни после ОИМ происходит секреция большого количества цитокинов из поврежденных клеток, что приводит к активации и привлечению иммунных клеток, таких как нейтрофилы, моноциты/макрофаги, дендритные клетки и лимфоциты. Первыми поврежденную зону инфильтрируют нейтрофилы, чья основная функция заключается в очистке и ограничении очага поражения от клеточного дебриса и остатков матрикса, а также в усилении иммунного ответа [82].

Далее основными клетками, участвующими в развитии воспалительной ответа, являются макрофаги. Их появление в очаге инфаркта можно разделить на две фазы: в первой фазе постинфарктного ремоделирования (1-4 сут.) преобладают провоспалительные M1-макрофаги, а в репаративную фазу – противовоспалительные M2-макрофаги [141]. Своевременное переключение с воспалительной на противовоспалительную активность иммунной системы имеет решающее значение в процессе заживления миокарда.

Через неделю после эпизода острой ишемии в очаг пораженной ткани мигрируют дендритные клетки, CD8⁺ Т-клетки, В-клетки, естественные киллеры и НКТ-клетки. Среди Т-клеток преобладающими субпопуляциями являются Th1 и Treg, субпопуляция Th2 представлена в гораздо меньшем количестве. По данным литературы, сдвиг в соотношении Th1/Th2 лимфоцитов связан с постинфарктной сердечной недостаточностью [139]. В этот период фибробласты также направляются к месту повреждения миокарда и начинают осуществлять пролиферативную фазу заживления, то есть синтезировать новый коллагеновый матрикс, который способствует образованию рубцов [59].

Воспалительный процесс в миокарде вызван специфическими иммунными механизмами и приобретает хронический характер, что приводит к потере сократительной функции миокарда, дилатации полостей сердца

и преобладании соединительнотканного компонента над функциональными клетками вследствие чрезмерной продукции профиброгенных цитокинов.

1.5 Состояние внеклеточного матрикса сердца в норме и при патологии

Диффузный фиброз миокарда - патологический процесс, который обусловлен избыточным отложением коллагена в миокарде за счет преобладания процессов его синтеза над распадом. Вследствие фиброза происходит снижение растяжимости желудочков, в патогенезе которого лежит, как увеличение числа волокон коллагена, так и нарушение его свойств. По результатам ряда исследований, переход от бессимптомной диастолической дисфункции к диастолической сердечной недостаточности, риск смерти от которой равносителен риску смерти от систолической сердечной недостаточности, определяется именно фиброзом миокарда [25]. Существует предположение, что изменение свойств внеклеточного матрикса даже при интактных кардиомиоцитах может стать причиной развития ХСН [109].

Составляющими компонентами миокарда являются кардиомиоциты, выполняющие сократительную функцию и занимают до 75% общего объема миокарда, и внеклеточный матрикс (ВКМ), его доля составляет примерно 25-30%. ВКМ является многокомпонентной системой, которая состоит, по большей части, из пучков коллагеновых волокон и связывает остальные компоненты миокарда: кардиомиоциты, фибробласты, нервы и сосуды [127].

Фибробласты – самый многочисленный тип сердечных клеток, помимо функциональных клеток и клеток, образующих сосудистую сеть. Так, к примеру, у мыши, фибробласты составляют примерно 20% сердца от общего количества клеток [99]. Нормальные сформировавшиеся сердечные фибробласты представляют собой плоские клетки веретенообразной формы с несколькими отростками, образующие сеть ячеек в пределах ВКМ [25]. Хотя на протяжении многих лет фибробласты считались просто биологическим «клеем»; многочисленные свидетельства

подтверждают то, что фибробласты во всех органах, включая сердце, являются не только матрикс-синтезирующими клетками в процессах репарации, но и выполняют широкий спектр функций при воспалительном и иммунном ответах, ангиогенезе и неопластических процессах. Они также регулируют механическую и электрофизиологическую активность кардиомиоцитов, играющую очень важную роль в развитии и физиологическом восстановлении сердечной ткани [7, 76, 99]. Сердечные фибробласты являются основным типом клеток, ответственных за отложение и поддержание внеклеточного матрикса сердца [25, 106].

ВКМ – это структурный каркас сердца, ответственный за осуществление механической опоры и за координацию передачи сигналов. ВКМ выступает в качестве интегрального показателя динамического изменения миокарда под влиянием различных факторов [85]. До недавнего времени ВКМ считали промежуточной средой, который обладает лишь транзитной функцией между цитоплазмой кардиомиоцитов и кровью, однако последние исследования убеждают в выполнении им динамической роли в метаболических процессах. ВКМ – не просто среда для протекания жизненно важных процессов, а один из главных компонентов клеточной пролиферации, дифференциации, апоптоза и депо биологически активных факторов роста [7].

Сеть пучков коллагеновых волокон, окружая кардиомиоциты, создает каркас и поддерживает форму сердца, тем самым предотвращая истончение и разрывы его стенок с формированием аневризмы полостей, помимо опорной функции, ВКМ отвечает за упругость миокарда во время сердечного цикла. Основную часть коллагеновых волокон сердца представляют коллагены I и III типов, стенки сосудов содержат коллаген IV типа. Коллаген VI типа присутствует только в миокарде новорожденных. Основные типы коллагенов определяют свойство растяжимости миокарда: так, коллаген I типа («жесткий» коллаген) отвечает за упругость миокарда, а коллаген III типа – за растяжимость. По

мнению Минера и соавт. (Miner E.C. et al., 2006) 85% всех коллагеновых волокон ВКМ миокарда составляет коллаген I типа, 11% - коллаген III типа [114]. Коллагены I и III типа синтезируют активированные фибробласты и миофибробласты, эндотелиоциты, коллаген IV типа – перициты сосудов. Одной из главных характеристик ВКМ, по общепринятому мнению, считается соотношение коллагенов I и III типов, которое при отсутствии патологии достаточно стабильно. Если в результате патологических процессов происходит смещение равновесия с превалированием коллагена III типа над коллагеном I типа, происходит увеличение растяжимости ВКМ, что в конечном итоге, приводит к повышенному риску дилатации камер сердца. Увеличение жесткости и упругости миокарда происходит вследствие преобладания в ВКМ миокарда коллагена I типа. Установлено, что отложение фиброзной ткани в миокарде сопровождается накоплением коллагена I типа [120].

Помимо перечисленных типов коллагена, известна роль коллагена V типа, в отсутствии которого изменяется интегрин-зависимая передача сигналов, что усиливает дифференцировку миофибробластов и ведет к активному отложению ВКМ. Отсюда можно сделать вывод о влиянии коллагенового состава ВКМ на степень пролиферации фибробластов, активации фиброзных и воспалительных процессов, и потенциальную трансдифференцировку фибробластов в зависимости от окружающей среды посредством пока еще неизвестных механических сигналов [25, 51, 99].

Ключевым моментом в фиброзировании миокарда считается трансдифференцировка фибробластов в миофибробласты вследствие перегрузки давлением. В норме миофибробласты не встречаются в сердце за исключением створок клапанов. Данные клетки обладают большей синтетической активностью, высокой чувствительностью к провоспалительным и профибротическим стимулам, а также большей реактивностью. Помимо перечисленного именно миофибробласты

обеспечивают сократительные возможности окружающего ВКМ. Известно, что в большинстве органов миофибробласты гибнут путем апоптоза по завершению восстановительных процессов. Однако в сердце миофибробласты по непонятной причине сохраняются в сформировавшихся постинфарктных рубцах [1, 25, 110].

TGF- β 1 – один из главных индукторов образования миофибробластов, которые экспрессируют сократительные белки, такие как альфа-гладкомышечный актин (*alpha-smooth muscle actin*, α -SMA), виментин, а также коллаген I, III, IV и VIII типов [94]. α -SMA-позитивные фибробласты приводят к созданию фиброгенной среды. Переход фибробластов в миофибробласты стимулируется механическим растяжением и влиянием ишемии-реперфузии. Клетки отвечают на эти стимулы, меняя свои свойства к пролиферации и миграции, а также приводя к сдвигу в синтезе компонентов ВКМ и матриксных металлопротеиназ [62]. Транс-дифференцировка фибробластов в активированные миофибробласты, экспрессирующие α -SMA (ACTA2) и секретирующие компоненты ВКМ, является определяющим событием в развитии фиброза [56].

В связи с этим, патологически активированные миофибробласты представляют собой привлекательную терапевтическую мишень для замедления или обращения вспять прогрессирования сердечной недостаточности и сердечного фиброза [124].

В физиологических условиях существует баланс между синтезом и распадом коллагена, который препятствует отложению избытка соединительной ткани во ВКМ миокарда. Однако, любое изменение структурных компонентов ВКМ ознаменуется сдвигом и нарушением равновесия между процессами синтеза и деградации его компонентов [143]. Остается неизученным роль иммунной системы в регуляции равновесия компонентов ВКМ при воспалительном процессе в миокарде. Существует предположение о воздействии провоспалительных цитокинов на структуры ВКМ, приводящие к изменению его метаболизма,

прогрессированию фиброза и ремоделированию левого желудочка [76, 120]. Поскольку роль воспаления миокарда признана в развитии и прогрессировании ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы, в том числе в прогрессировании ИКМП, выяснение механизмов взаимодействия между иммунной системой, кардиомиоцитами и структурными компонентами ВКМ представляется наиболее интересным и требует своего дальнейшего изучения.

1.6 Гетерогенность популяции моноцитов крови и тканевых макрофагов, их роль при заболеваниях сердца

В настоящее время макрофаги стали объектом пристального изучения при различных патологиях. Макрофаги являются клетками врожденной иммунной системы, однако, могут принимать участие в адаптивном иммунном ответе в зависимости от условий, оказывающих как разрушительное, так и репаративное действия. Предшественниками тканевых макрофагов являются моноциты. Они образуются в красном костном мозге, циркулируют в крови 1-3 суток, а после мигрируют в различные органы, где преобразуются в тканевые макрофаги. В зависимости от экспрессии на поверхности рецептора Fc-гамма (CD16) и корецептора липополисахарида (CD14) выделяют три субпопуляции моноцитов: CD14⁺⁺CD16⁻, CD14⁺⁺CD16⁺ и CD14⁺CD16⁺⁺, которые называются классическими, промежуточными и неклассическими, соответственно.

Известно, что классические CD14⁺⁺CD16⁻ моноциты обладают высокой фагоцитарной активностью и составляют 83-85% от числа всех циркулирующих моноцитов. Эти клетки экспрессируют необходимые маркеры для перехода в очаги воспаления, где осуществляют фагоцитарную и цитолитическую активность, следовательно, считаются предшественниками провоспалительных (M1) макрофагов. Промежуточные CD14⁺⁺CD16⁺ моноциты играют основную роль в презентации антигенов и выраженной стимуляции Th-клеток, совместно с неклассическими CD14⁺CD16⁺⁺,

моноцитами принимают участие в воспалительных реакциях. Промежуточные $CD14^{++}CD16^{+}$ моноциты составляют до 5% от всех циркулирующих моноцитов. Неклассические $CD14^{+}CD16^{++}$ моноциты (7-11%) обладают высокой чувствительностью к эндотелию и называются «патрулирующими», обладают провоспалительной активностью. Их рассматривают в роли предшественников резидентных (M2) макрофагов [47, 106]. Недавно была выделена еще одна субпопуляция переходных моноцитов $CD14^{+}CD16^{-}$, о которых на сегодняшний день известно мало. Предположительно, из них дифференцируется популяция классических $CD14^{++}CD16^{-}$ моноцитов, однако, переходные моноциты характеризуются низкой экспрессией $CD14^{+}$ [125].

Давно доказано, что макрофаги играют определяющую роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. В физиологических условиях большая часть макрофагов происходят не из моноцитов, а из местных предшественников эмбрионального происхождения. В условиях патологии, в частности при воспалении, источник дифференцировки макрофагов меняется, и они происходят преимущественно из моноцитов крови [47]. Однако происхождение и клеточная динамика макрофагов в процессе постнатального развития были недостаточно охарактеризованы. По данным К. Molawi и соавторов, оказалось, что даже в условиях отсутствия сердечно-сосудистых патологий с возрастом тканевые макрофаги сердца снижают способность к самообновлению, тогда как большой вклад вносят циркулирующие моноциты крови [125].

Макрофаги – это гетерогенная популяция клеток, которая составляет 7-8% от несердечных клеток в сердце [81, 99]. В зависимости от степени зрелости, локализации и активации антигенами или иммунными клетками, макрофаги характеризуются структурной и функциональной гетерогенностью. Макрофаги подразделяются на свободные (мобильные) и фиксированные (резидентные) [26].

В процессе повреждения сердца привлечение нейтрофилов фагоцитирующими макрофагами имеет решающее значение для ограничения

повреждения тканей и содействия переходу к заживлению тканей. Функции макрофагов определяются их микроокружением, а точнее сочетанием и количеством цитокинов. Переход от воспалительного к репаративному фенотипу макрофагов происходит после ишемического некроза миокарда, напоминая поляризацию *in vitro* от M1-макрофагов со значительной фагоцитарной и провоспалительной активностью к M2-макрофагам, обладающими противовоспалительным потенциалом и являющимися триггерами фиброза, неоангиогенеза и репарации тканей [86] (рис.2).

Тем не менее, в сравнительно недавних публикациях был выявлен целый спектр состояний активации макрофагов, расширяющий текущую модель M₁/M₂-поляризации [119].

Помимо давно известных функций популяции макрофагов при травмировании сердца, таких как участие в фагоцитозе поврежденной ткани и участие в репаративных процессах, недавние исследования продемонстрировали еще одно не менее важное свойство макрофагов. Оказалось, что макрофаги имеют способность связываться с кардиомиоцитами через коннексин 43 (Cx43) для облегчения электрической проводимости в сердце, что позволяет рассматривать макрофаги, как еще один фактор влияния на сократительную активность сердца [108]. Снижение активности макрофагов приводит к усилению неблагоприятного ремоделирования и снижению сократительной способности сердечной мышцы, однако механизм данного процесса не ясен. Макрофаги участвуют не только в стимулировании фиброза за счет активации фибробластов, но и непосредственно в отложении коллагена в месте травмы [119].

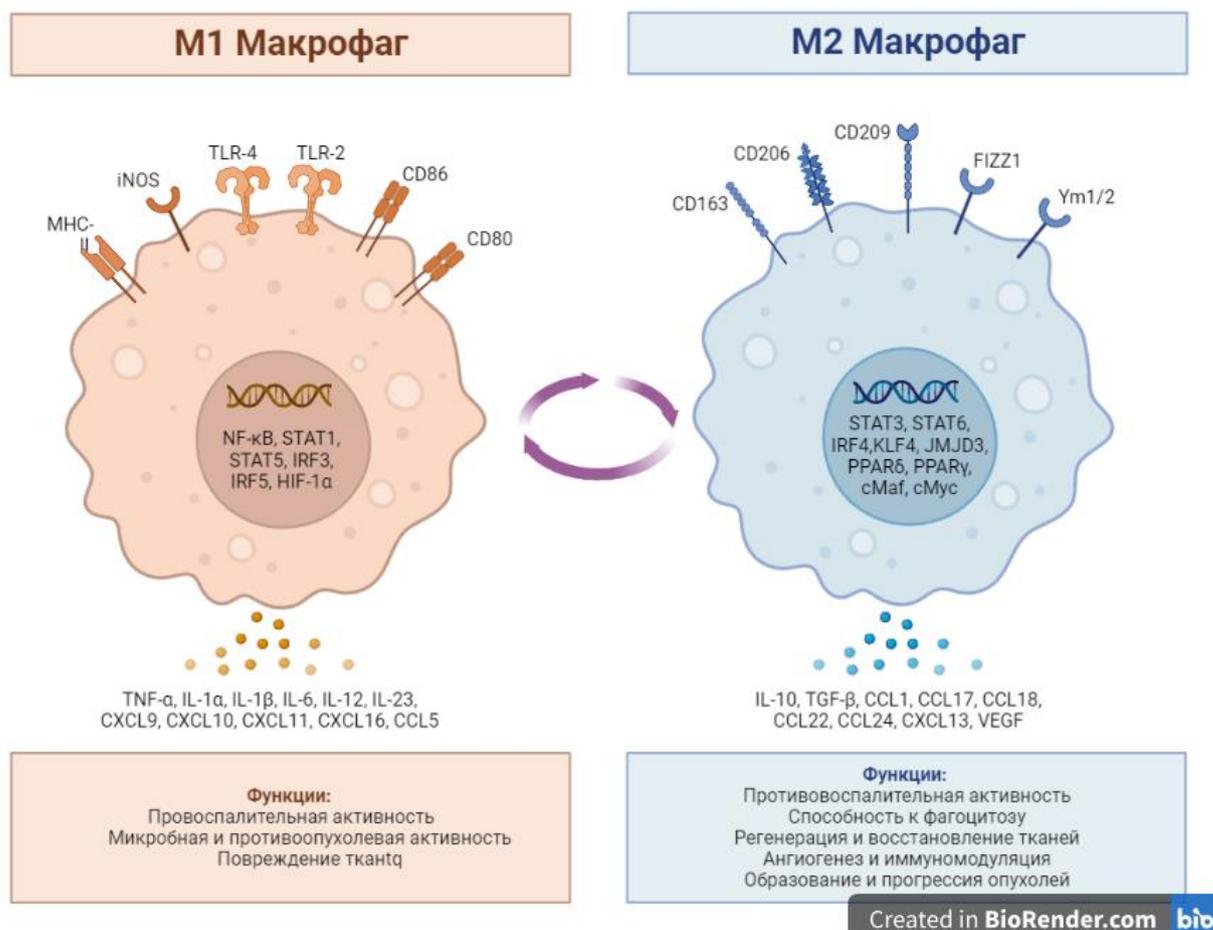


Рисунок 2 – Модель M1/M2-поляризации макрофагов по данным Yao Y. et al. (2019).

Говоря об их пространственной локализации в сердце, стоит упомянуть, что макрофаги почти всегда находятся в непосредственной близости от миофибробластов, вырабатывающих коллаген. Макрофаги стимулируют изменения в межклеточном матриксе через различные пути: через фагоцитарные свойства, продуцируя цитокины, хемокины и факторы роста, включая TGFβ и фактор роста тромбоцитов, разрушая нормальные структуры сердца и изменяя обмен ВКМ посредством регулирования баланса различных матриксных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов металлопротеиназ [10].

По-видимому, моноциты и макрофаги координируют ответы кардиомиоцитов и прочих клеточных элементов миокарда в процессе ремоделирования сердца. Из-за их функциональной и фенотипической

универсальности регуляция активности макрофагов может стать инструментом в руках врача для модуляции воспаления и снижения рисков развития повторного ремоделирования сердца у пациентов с ИКМП.

Не исключено, что анализ субпопуляционного состава моноцитов крови может означать дисбаланс M1 и M2 макрофагов в миокарде. Совместный анализ субпопуляционного состава моноцитов с популяцией тканевых макрофагов сердца в обозримом будущем может послужить решением постановки диагноза еще в стадии зачатка формирования болезни, что даст возможность своевременно идентифицировать пациентов с риском развития ИКМП, а также выявлять риск ее прогрессирования до момента клинической манифестации заболевания, а также послужит стимулом для создания нового направления патогенетически обоснованной терапии ИКМП.

1.7 Цитокиновый профиль миокарда при ишемической кардиомиопатии

Как было описано ранее, воспалительный процесс в сердце является одним из главных факторов, отягощающих течение заболевания. Принято считать, что длительность и интенсивность воспаления, а также его исход определяют цитокины, в большей степени, хемокин IL-8, фактор некроза опухоли (TNF α), воспалительный моноцитарный хемотаксический фактор-1 (MCP-1). Эти цитокины выступают в качестве универсальных медиаторов всего каскада иммунного реагирования как единого целого и являются связующим звеном для иммунной, эндокринной, гемопоетической систем и системы мононуклеарных фагоцитов. Они же являются основными биомаркерами воспаления. Так, данные по исследованию концентрации цитокинов в крови показали статистически значимое снижение провоспалительного хемокина IL-8 при ДКМП и ИКМП на фоне повышения концентрации провоспалительного цитокина TNF α , хемокина MCP-1 и

противовоспалительного хемокина IL-10. Цитокины обнаружены и в атеросклеротических бляшках, и в интиме сосудов, что может играть определенную патогенетическую роль в формировании ИКМП [43]. По мнению ряда исследователей, нарушение баланса цитокинов является серьезным и может стимулировать повреждающее воздействие цитокинов на ткани, а высокие концентрации провоспалительных цитокинов являются маркером неблагоприятного прогноза. Продолжительное нарастание концентрации провоспалительных цитокинов в организме способствует повреждению кардиомиоцитов и, как следствие, приводит к ремоделированию миокарда [69]. При дисбалансе цитокинов происходит прогрессирование атеросклероза [24], трансформация сократительных белков, а также фиброзная трансформация миокарда и развитие миокардита [43].

Помимо цитокинов, важна роль и хемокинов, а также факторов роста. Среди хемокинов, выделяют 4 подсемейства (CXC, CC, C и CX3C CCL), открытых к настоящему времени, девятнадцать в настоящее время считаются важными при развитии сердечных заболеваний и участвуют во всех стадиях сердечно-сосудистой реакции в ответ на повреждение. Хемокины интересны как биомаркеры для прогнозирования риска осложнений сердечно-сосудистых заболеваний, а также в качестве возможных терапевтических мишеней [64].

Особый интерес представляет исследование (Waehre et.al., 2012), в котором были изучены хемокины, оказывающие влияние на изменение структуры ВКМ, в частности, связанные с изменением функции белков SLRP (Small Leucine-Rich Proteoglycans). SLRP представляют собой белки, способные связывать различные типы коллагенов, их сборку и пространственную организацию коллагеновых фибрилл. Авторы обнаружили, что взаимодействие между хемокином CXCL13, известным как хемоаттрактант В-лимфоцитов, и его рецептором CXCR5 участвует в ремоделировании миокарда, вероятно, регулируя плотность протеогликанов и, тем самым, качество ВКМ миокарда. Было обнаружено, что это

взаимодействие является защитным механизмом, поскольку делеция гена рецептора *CXCR5* усугубляет дилатацию камер сердца, вероятно, из-за отсутствия синтеза белков SLRP [65].

Более того, в модели зависимого от перегрузки давлением ремоделирования правого желудочка, годом позже, авторы обнаружили, что *CX3CL1* (также известный как Fractalkine, или хемокиновый лиганд 1), *CCL5* и *CXCL16* регулируют экспрессию и посттрансляционные модификации SLRPs в сердечных фибробластах. Следовательно, эти медиаторы воспаления могут играть роль в развитии и прогрессировании правостороннего ремоделирования миокарда при перегрузке давлением [64, 65].

Очень важна роль иммуновоспалительного процесса в нарастании степени тяжести ХСН, индукции и прогрессировании ремоделирования миокарда. Патологические эффекты дисбаланса $TNF\alpha$, С-реактивного белка (СРБ), IL-6 при ХСН могут провоцировать: 1) отрицательное инотропное действие на миокард; 2) изменение архитектоники сердца с необратимой дилатацией камер и гипертрофией КМЦ; 3) нарушение эндотелий-зависимой дилатации артериол [162]. Кроме того, интенсивная продукция провоспалительных цитокинов активированными макрофагами и эффекторными Т-лимфоцитами запускает механизм апоптоза кардиомиоцитов [9].

В последнее время отмечается особый интерес к более специфичной борьбе с воспалением за счет иммуномодуляции или специализированной противцитокиновой терапии [64, 113].

IL-1, MCP-1, FНО- α , как было показано ранее, повышены при инфаркте миокарда и СН. Их выброс приводит к увеличению размеров и гибели КМЦ за счет активации каскадных реакций с участием таких транскрипционных путей, как NF- κ B, JAK/STAT и PI3K. Помимо этого, провоспалительные цитокины могут способствовать прогрессирующему снижению сократительной функции миокарда и гипертрофии сердечной мышцы посредством инициации экспрессии проонкогенов в КМЦ (c-mis, c-cys и др.)

[83]. На сегодняшний день антицитокиновая терапия активно применяется и показала свою эффективность при лечении ревматоидного артрита. В кардиологии она является перспективной отраслью исследования, однако необходимо выяснить спектр цитокинов, активно принимающих участие в развитии воспалительного ответа, причем оценить экспрессию как в крови, так и в ткани миокарда [142]. На сегодняшний день существует достаточно исследований, описывающих цитокиновый профиль крови у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Однако, интерес представляет сам миокард, как синтетически активная ткань, клетки которой способны продуцировать биологически активные вещества.

1.8 Заключение (поиск предикторов ремоделирования)

Ишемическая кардиомиопатия представляет собой сердечно-сосудистое заболевание с непредсказуемым и неоднозначным исходом хирургического вмешательства, что определяет актуальность поиска и оценки прогностических маркеров. Поиск подобных предикторов ведется на протяжении более 15 лет и до сих пор является насущной проблемой современной кардиологии, которой занимаются отечественные и зарубежные ученые: L. Shah P.J., 2003; В.А. Казаков, 2011; С.С. Гутор, 2015; В.М. Шипулин, 2020 [11, 17, 31, 135]. Согласно патогенезу ИКМП, в качестве предикторов неблагоприятного послеоперационного ремоделирования следует рассматривать морфофункциональные показатели миокарда с учетом его сократительной способности (нормо-, гипо-, а- или дискинез), наличие воспалительной инфильтрации в миокарде (как один из ключевых патологических процессов при ИБС), показатели периферической крови. Особое внимание целесообразно уделить экстрацеллюлярному матриксу и клеткам, населяющим его, таким как фибробласты, моноциты и макрофаги, а также цитокин-секреторной активности миокарда.

Изучение данных характеристик у больных ИКМП с различным послеоперационным исходом позволит оценить прогностическую значимость морфологических и молекулярных маркеров для установления факторов риска прогрессирующего ремоделирования миокарда после операции.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

Характер исследования: клиническое когортное проспективное исследование результатов хирургического лечения больных ишемической болезнью сердца (ИБС), страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией (ИКМП) в сочетании с наблюдательным когортным исследованием особенностей патогенеза данного заболевания.

Основная группа: 27 пациентов (26 мужчин и 1 женщина), страдающие ИКМП и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) II-III степени тяжести по NYHA, находящиеся на лечении в условиях стационара, которым проведено аортокоронарное шунтирование и реконструктивная пластика левого желудочка по Дору. Из числа этих пациентов отобрано 18 больных ИКМП с известным послеоперационным исходом с целью распределения их на 2 подгруппы: 5 пациентов с повторным прогрессирующим ремоделированием (ПР) ЛЖ (неблагоприятный исход) и 13 с обратным ремоделированием (ОР) ЛЖ (благоприятный исход).

Пациенты с ИКМП проходили лечение в отделении сердечно-сосудистой хирургии научно-исследовательского института кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт кардиологии» (директор – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ С.В. Попов; руководитель отделения сердечно-сосудистой хирургии и главный научный сотрудник – д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ В.М. Шипулин) в период 2011-2021 гг. Всем пациентам с ИКМП была проведена вентрикулопластика по методике, предложенной Dog [74] в модификации Мениканти [111] в сочетании с АКШ и пластикой митрального клапана при наличии соответствующих показаний. Средний возраст

пациентов составил $59 \pm 7,4$ лет (минимальный и максимальный возраст составил 42 и 72 года, соответственно).

Критериями включения больных в основную группу исследования являлись критерии для постановки диагноза «ишемическая кардиомиопатия», предложенные в 2002 году Felker и соавт. [84]:

- наличие участков а- и дискинеза ЛЖ;
- конечно-систолический индекс (КСИ) ЛЖ > 60 мл/м²;
- ФВ ЛЖ $\leq 40\%$;
- длительность ИБС > 1 года;
- стеноз $>75\%$ ствола левой коронарной артерии или проксимальный стеноз передней нисходящей артерии, или стенозы, превышающие 75%, не менее чем в двух коронарных артериях.

Критериями исключения пациентов из исследования считали:

- наличие органических пороков сердца ревматической и инфекционной этиологии;
- острый инфаркт миокарда;
- острое нарушение мозгового кровообращения;
- правожелудочковую недостаточность;
- тяжелую легочную гипертензию, не связанную с митральной недостаточностью.

По результатам оперативного вмешательства определяли тип ремоделирования (обратного или повторного) миокарда в соответствии с критерием, предложенным А.А. Лежневым в 2010 году [22]:

$$\Delta\text{КСИ} = (\text{КСИ после операции}/\text{КСИ до операции} \times 100) - 100,$$

где: КСИ после операции – конечно-систолический индекс ЛЖ пациентов через >6 месяцев после операции.

Изменения, превышающие 20 % в положительную или отрицательную сторону, считались достаточными для того, чтобы признать их истинными. При значении $\Delta\text{КСИ} < -20\%$ пациент был отнесен в группу с обратным ремоделированием (значимое уменьшение КСИ в отдаленном послеоперационном периоде), при значении $\Delta\text{КСИ} > -20\%$ - в группу с прогрессирующим типом ремоделирования (незначительное уменьшение КСИ или его увеличение).

Контрольная группа: 6 больных мужского пола с ИБС без кардиомиопатии и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) II-III степени тяжести по NYHA, проходившие лечение в отделении сердечно-сосудистой хирургии научно-исследовательского института кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (НИИ кардиологии Томского НИМЦ) в период 2020-2022 гг. Средний возраст пациентов составил $56,0 \pm 7,8$ лет (минимальный и максимальный возраст составил 42 и 70 лет, соответственно). Пациентам данной группы проводились аналогичные группе ИКМП типы операций. Однако фракция выброса левого желудочка составила более 40% и конечно-систолический индекс левого желудочка менее 60 мл/м^2 .

Все пациенты получили полную информацию об исследовании, одобренном этическими комитетами ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН» «НИИ Кардиологии», и дали осознанное письменное информированное согласие на добровольное участие в нем.

Клиническая характеристика пациентов с ИБС обобщенной группы (вне зависимости от наличия ИКМП) в зависимости от вида биоматериала представлена в таблице 1. Статистически значимые различия в зависимости от биоматериала были выявлены для гемодинамических показателей сердца, таких как фракция выброса ЛЖ (ФВ ЛЖ), измеренной до операции и спустя более 6 месяцев после проведения хирургического лечения пациентов, а также для III класса СН по NYHA и для артериальной гипертензии I степени.

Таблица 1 – Клиническо-анамнестическая характеристика больных ИБС обобщенной группы (вне зависимости от наличия ИКМП) в зависимости от вида биоматериала.

Показатель		Значение		
		Биопсия	Кровь	p
Количество пациентов		33 (76,7%)	9 (23,2 %)	0,332
Мужчины		32 (96,9 %)	8 (88,9 %)	0,339
Женщины		1 (3,1 %)	1 (11,1 %)	0,339
Средний возраст (лет)		60,0±7,3	55,8±3,1	0,016*
Функциональный класс стенокардии	I	1 (3,1 %)	0 (0%)	0,642
	II	14 (42,4 %)	2 (22,2 %)	0,220
	III	18 (54,5 %)	7 (77,8 %)	0,168
	IV	0 (0%)	0 (0%)	0,768
Функциональный класс сердечной недостаточности по NYHA	I	2 (6,1 %)	0 (0 %)	0,480
	II	16 (48,4%)	2 (22,2 %)	0,168
	III	13 (39,4 %)	7 (77,8 %)	0,045*
	IV	2 (6,1 %)	0 (0 %)	0,480
Тромбоэктомия (факт проведения)	Есть	13 (39,4%)	9 (100 %)	0,026*
	Нет	20 (60,6%)	0 (0 %)	0,026*
Степень артериальной гипертензии	0	4 (12,1 %)	0 (0 %)	0,188
	I	12 (36,4 %)	7 (77,8 %)	0,030*
	II	0 (0 %)	0 (0 %)	0,493
	III	17 (51,5 %)	2 (22,2 %)	0,126
Фракция выброса левого желудочка (ЛЖ), измеренная до операции, %	менее 30	8 (24,2%)	4 (44,4%)	0,281
	30-35	10 (30,3%)	1 (11,2%)	0,231
	36-40	10 (30,3%)	0 (0%)	0,112
	более 40	5 (15,2%)	4 (44,4%)	0,023*

Фракция выброса левого желудочка (ЛЖ), >6 мес. после операции, %	менее 30	0 (0%)	2 (22,2%)	0,007*
	30-35	5 (15,2%)	2 (22,2%)	0,840
	36-40	9 (27,2%)	0 (0%)	0,112
	более 40	19 (57,6%)	5 (55,6%)	0,544
Конечно-систолический индекс (КСИ), рассчитанны до операции, мл/м ²	менее 60	8 (24,2%)	3 (33,3%)	0,847
	61-85	20 (60,6%)	3 (33,3%)	0,256
	более 85	5 (15,2%)	3 (33,3%)	0,325
Конечно-систолический индекс (КСИ), рассчитанный >6 мес. после операции, мл/м ²	менее 60	24 (72,7%)	5 (55,6%)	0,436
	61-85	7 (21,2%)	3 (33,3%)	0,651
	более 85	2 (6,1%)	1 (11,1%)	0,610

Сравнительная характеристика показателей больных ИБС в зависимости от наличия ИКМП представлена в таблице 2. Статистически значимые различия между основной и контрольной группами были выявлены для гемодинамических показателей сердца, таких как фракция выброса ЛЖ (ФВ ЛЖ) и конечно-систолический индекс ЛЖ (КСИ ЛЖ), измеренных до и спустя более 6 месяцев после проведения хирургического лечения пациентов.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика показателей у пациентов с ИБС, осложненной и неосложненной ИКМП, Me (Q₂₅; Q₇₅)

Показатель	Больные ИКМП (основная группа, N=27)	Больные ИБС без ИКМП (контрольная группа, N=6)	p
ФК NYHA	3,0 (2,0;3,0)	2,0 (2,0;3,0)	0,987
ФК стенокардии	3,0 (2,0;3,0)	3,0 (2,0;3,0)	0,673
Количество артериальных шунтов	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (1,0;1,0)	0,676
Степень артериальной гипертензии	3,0 (1,0;3,0)	1,0 (1,0;1,0)	0,195
Тромбозектомия	0,0 (0,0;1,0)	0,0 (0,0;1,0)	0,702

Ранняя смертность	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)	0,694
Сопутствующее инфекционное заболевание (1-плеврит, 2-пневмония, 3-медиастенит,4-мягкие ткани)	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)	0,837
ФВ ЛЖ, измеренная до операции, %	31,5 (25,5;36,0)	54,0 (40,0; 61,0)	0,001*
ФВ ЛЖ, измеренная >6 мес. после операции, %	39,5 (34,0;47,0)	63,0 (51,0; 65,0)	0,001*
КСИ ЛЖ, рассчитанный до операции, мл/м ²	76,9 (64,5;88,7)	52,9 (32,4; 62,2)	0,001*
КСИ ЛЖ, рассчитанный >6 мес. после операции, мл/м ²	55,0 (42,5; 67,7)	38,9 (19,0; 55,3)	0,009*

*Примечание: ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИКМП – ишемическая кардиомиопатия, ФК – функциональный класс; ФВ – фракция выброса; ЛЖ – левый желудочек; КСИ – конечно-систолический индекс, p – уровень статистической значимости различий, * - при уровне значимости $p < 0,05$*

2.2 Объект исследования

Объектом исследования стал миокард 33 пациентов (27 с ИКМП, 6 с диагнозом ИБС без кардиомиопатии), периферическая кровь 9 пациентов (5 с ИКМП, 4 с ИБС) и среда DMEM/F12 с гентамицином, в которой в течение 24 часов инкубировался миокард 15 пациентов (9 с ИКМП, 6 с ИБС).

Взятие крови из локтевой вены пациентов в объеме 5 мл производилось непосредственно перед операцией и стабилизировалась гепарином в дозе 25 Ед/мл. Взятие биоптатов миокарда производилось во время операции (интраоперационно): миокард ушка правого предсердия брали на этапе его канюляции во время подключения пациента к аппарату искусственного кровообращения. Биоптаты из боковой, задней, передней стенки левого желудочка, а также межжелудочковой перегородки (МЖП) со стороны ЛЖ и участка аневризмы ЛЖ забирали на этапе реконструкции желудочка перед его

ушиванием дакроновой заплатой. Объем взятого образца из каждой зоны не превышал 10 мм³. Биопсии из ушка правого предсердия и перинфарктной зоны помещали сразу после взятия в пробирку со средой DMEM/F12 с гентамицином. Группу с обратным ремоделированием составили 13 пациентов, в группу с прогрессирующим ремоделированием вошло 5 пациентов. В контрольную группу вошли 6 пациентов.

2.3 Гистологические методы исследования

Гистологические препараты миокарда изготавливали по стандартной методике. Образцы миокарда были зафиксированы в 10%-ном нейтральном забуференном формалине (БиоВитрум, Санкт-Петербург) сразу после взятия биопсий в течение не менее 24-х часов. Далее следовали этапы промывки в проточной воде и постепенная дегидратация материала в восходящих концентрациях изопропанола (IsoPrep, БиоВитрум, Санкт-Петербург). После обезвоживания образцы подвергали заливке в гомогенизированную парафиновую среду HISTOMIX (БиоВитрум, Санкт-Петербург). Гистологические срезы толщиной 4-5 мкм были получены при помощи автоматического ротационного микротомы HM 355 S (Thermo Scientific, США).

Срезы окрашивались по стандартной методике гематоксилином и эозином, а также по методу Малори (BioOptica, Италия) [38].

Срезы заключались в специализирующую монтирующую среду BioMount (BioOptica, Италия). Гистологические препараты изучали в проходящем свете на микроскопе Axioskop 40 фирмы Carl Zeiss (Германия). Микрофотографии гистологических препаратов получали с помощью фотокамеры Canon G 10 (Япония).

2.4 Иммуногистохимические методы исследования

Иммуногистохимическое окрашивание выполняли на парафиновых срезах толщиной 4 мкм. Срезы фиксировались на стеклах с полилизинным покрытием (Polysine, Thermo Scientific, USA). Процедура иммуногистохимического окрашивания включала в себя несколько этапов.

Первый этап включал в себя депарафинизацию и отмывку в спиртах, затем производилась демаскировка антигенов в Трис-ЭДТА буфере на водяной бане при 90°C в течение 20 минут. После производилась блокировка неспецифического связывания сывороткой (3% бычий сывороточный альбумин (BSA) в растворе PBS) путем нанесения ее на срезы, и дальнейшая инкубация срезов во влажной камере при комнатной температуре в течение 45 мин. После добавляли пероксидазный блок для блокирования эндогенной пероксидазы, инкубация в течение 10 минут. После подготовительных этапов добавляли первичные антитела в рабочем разведении в течение 60 минут во влажной камере с последующей трехкратной отмывкой в PBS. Вторичные HRP-меченные антитела наносились на срез на 45 минут (либо для антител мышь-кролик применялась система визуализации) с последующей трехкратной отмывкой в PBS. На заключительном этапе добавляли DAB-хромаген субстрат и производили окрашивание ядер клеток гематоксилином. После на срезы наносили монтирующую среду (Витрогель, Россия) и заключали срезы покровными стеклами. Для выявления отдельных популяций клеток миокарда использовали антитела к CD68, CD163, CD3, CD90, α SMA, для оценки компонентов межклеточного матрикса – антитела к коллагенам I и III типов, MMP-2, TIMP-1 (Spring BioScience, Thermo Scientific, Abcam, США).

По данным производителя антител к данному набору, CD68 (макросиалин) представляет собой интегральный мембранный гликопротеин массой 110 кДа, преимущественно экспрессируемый на внутри клеток моноцитов и макрофагов и, в меньшей степени, на дендритных клетках и

гранулоцитах периферической крови. Кроме того, CD68 может играть роль в фагоцитарной активности тканевых макрофагов как во внутриклеточном лизосомном метаболизме, так и в межклеточных и клеточно-патогенных взаимодействиях.

CD163 – макрофаг-ассоциированный антиген, является членом суперсемейства цистеин-богатых рецепторов-мусорщиков (scavenger receptor cysteine-rich). В большом количестве экспрессирован на макрофагах и в меньшей степени на моноцитах. Является классическим маркером M2-макрофагов [106].

По данным производителя антител к набору, CD3 представляет собой белковый комплекс на поверхности Т-лимфоцитов, являющийся основным корецептором Т-клеточного рецептора. Участвует в активации как цитотоксических Т-клеток (наивные CD8⁺ Т-клетки), так и Т-хелперных клеток (наивные CD4⁺ Т-клетки).

CD90 (Thy-1) представляет собой GPI-связанный гликопротеин из суперсемейства иммуноглобулинов. Экспрессируется на мезенхимальных стволовых клетках, а также на молодых неактивированных фибробластах [88, 90].

α SMA экспрессируется в зрелых миофибробластах, в том числе, участвует в процессе регенерации повреждений и образовании фиброза после перенесенного инфаркта миокарда [88]. Также α SMA является маркером гладкомышечных клеток и, соответственно, маркером сосудов их содержащих [144].

Коллаген I типа имеет структуру тройной спирали, состоящей из двух цепей альфа-1 и одной цепи альфа-2. Коллаген I типа является членом группы I коллагена (фибриллообразующий коллаген), обнаруженного в большинстве соединительных тканей, его много в костях, роговице, дерме и сухожилиях [114].

Коллаген III типа – это фибриллярный коллаген, который содержится в растяжимых соединительных тканях, часто в сочетании с коллагеном I типа.

Раннее повышение экспрессии коллагена III типа коррелирует со снижением жесткости миокарда [114].

ММП-2 (желатиназа) синтезируется как профермент из 631 аминокислоты, который активируется расщеплением первых 80 аминокислот и содержит основную структуру пропептидного, каталитического и гемопексинового доменов, играет роль в разрушении ВКМ [66]. ММП-2 экспрессируется в основном мезенхимальными клетками (в частности, фибробластами) в эмбриональном периоде и в процессе регенерации ткани. Совместно с ММП-9 она принимает участие в деградации коллагена IV типа базальных мембран, однако, проявляет специфичность и для коллагенов I и III типа [2, 10].

ТИМП-1 участвует в торможении матриксного разрушения. ТИМП-1 может взаимодействовать с ММП-1, ММП-2, ММП-3, ММП-7, ММП-8, ММП-9, ММП-10, ММП-11, ММП-12, ММП-14 и ММП-16. Является универсальным ингибитором ММП [2].

Для визуального выявления маркеров применялась система визуализации HRP-DAB (пероксидаза хрена – диаминобензидин, ДАКО, США). Для окрашивания ядер применялась окраска гематоксилином с последующей дифференцировкой в проточной воде. Все срезы заключались в специализирующую монтирующую среду BioMount (BioOptica, Италия).

Оцифровка изображений проводилась при помощи фотокамеры Canon G 10 (Япония) и микроскопа Axioskop 40 (Carl Zeiss, Германия).

2.5 Морфометрические методы исследования

Подсчет тканевых и клеточных маркеров производили в 1 мм² ткани при помощи программы ImageJ (США). Для этого с каждого среза было получено 10 фотографий при итоговом увеличении x400 в 10 случайных полях зрения [1]. Для оценки количественных изменений измерялись следующие показатели: удельная площадь внутриклеточного отека в КМЦ и

интерстициального отека, капилляров, паренхимы, стромы и ядер КМЦ методом точечного счета в 5 случайных полях зрения каждого среза. Количественная оценка степени выраженности воспаления в сердце проводилась методом точечного счета в 10 случайных полях зрения с помощью программы обработки графических изображений (AxioVision фирмы CarlZeiss, ImageJ), что соответствует 1 мм² ткани. Морфометрически также были оценены: фенотипические характеристики инфильтрата (количество клеток, форма и размеры клеток, форма ядер клеток воспалительного инфильтрата) и степень выраженности фиброза миокарда по проценту занимаемой площади относительно площади паренхимы в 1 мм² ткани миокарда.

Исследование препаратов, окрашенных моноклональными антителами к коллагену I и III типов проводили в 10 случайных полях зрения при 40-кратном увеличении с помощью программы обработки графических изображений (AxioVision фирмы CarlZeiss, ImageJ). Оценивались площадь гистологического препарата и площадь положительно окрашенных коллагеновых волокон в процентном соотношении. Экспрессию ММП-2 и ТИМП-1 в цитоплазме кардиомиоцитов оценивали по аналогичному принципу.

2.6 Метод проточной цитофлуориметрии

Фенотипирование субпопуляционного состава моноцитов в периферической крови и их распределение на «классические» CD14⁺⁺CD16⁻, «промежуточные» CD14⁺⁺CD16⁺, «неклассические» CD14⁺CD16⁺⁺ и «переходные» CD14⁺CD16⁻ клетки был проведен при помощи проточной цитофлуориметрии, осуществляемой на базе ЦНИЛа ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Иммунофенотипирование моноцитов осуществляли методом проточной цитофлуориметрии в цельной крови после предварительного удаления

эритроцитов лизирующим буфером. Деструкция эритроцитов в цельной крови проводилась путем осмотического лизиса в гипотонической среде с применением коммерческого лизирующего раствора FACS Lysingsolution («BD Biosciens», США) согласно протоколу, прилагаемому фирмой-производителем.

В полученной после лизиса эритроцитов в суспензии клеток определяли относительное содержание классических ($CD14^{++}CD16^{-}$), промежуточных ($CD14^{++}CD16^{+}$), неклассических ($CD14^{+}CD16^{++}$) и переходных ($CD14^{+}CD16^{-}$) моноцитов методом проточной лазерной двухцветной цитофлуориметрии, принимая за 100% все клетки, положительные по CD14.

Принцип метода основан на регистрации флуоресценции метки и светорассеяния луча лазера при прохождении его через клетки в потоке жидкости [121]. Суспензия клеток, предварительно меченных флуоресцирующими моноклональными антителами (МКАТ), попадает в поток жидкости, проходящий через проточную ячейку. В момент пересечения клеткой лазерного луча детекторы фиксируют интенсивность светорассеяния и интенсивность свечения флуоресцентных меток.

Для CD-типирования моноцитов использовали МКАТ к CD14 и CD16, меченные флуоресцеинизотиоцианатом (CD14-FITC) и фикоэритрином (CD16-PE), согласно инструкциям производителя («BD Biosciens», США). К 100 мкл полученной клеточной суспензии добавляли специфические МКАТ 16 мкл для CD14-FITC и 4 мкл для CD16-PE («BD Biosciens», США). Инкубировали пробы в течение 30 мин при температуре $+3-5^{\circ}\text{C}$ в защищенном от света месте. После этого клетки отмывали 1 раз в 2 мл Cell-WASH-solution BD («Becton Dickinson», США), центрифугируя 5 мин при 250g. К полученному осадку добавляли 300 мкл окрашивающего буфера Stain-Buffer («Becton Dickinson», США). После проведения всех вышеуказанных процедур пробы были готовы к измерению на проточном цитофлуориметре. Измерения проводили на проточном цитофлуориметре «Accuri C6» («BD Biosciens», США), снабженном аргоновым лазером ($\lambda=488$ нм) и стандартными

фильтрами. Анализ полученных данных осуществляли при помощи программного приложения «BD Cell Quest for MacOS® X».

Образцы клеточных суспензий анализировали по четырем параметрам: прямому светорассеянию (FSC), боковому светорассеянию (SSC), двум показателям флуоресценции – зеленой (FITC – 530 нм) и оранжевой (PE – 585 нм), выявляемых на FL1- и FL2-каналах, где прямое светорассеяние характеризует размер клетки, боковое светорассеяние – цитоплазматические и мембранные особенности клетки. В исследовании применяли изотипические контроли МКАТ («BD Biosciens», США) для CD14 (мышиный IgG2a, каппа), меченные FITC, и для CD16 (мышиный IgG1, каппа), меченные PE, позволяющие идентифицировать границы неспецифического связывания рецепторов клеток образца со специфическими антителами. По данным исследования изотипического контроля устанавливали квадранты гейтирования [70].

Результаты выражали в % от общего числа CD14-позитивных клеток (моноцитов).

2.7 Метод иммунофлуоресцентного анализа

Иммунофлуоресцентный анализ был выполнен на базе лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет». Данным методом было оценено соотношение M1 и M2 макрофагов в миокарде по экспрессии антигенов CD68⁺CD80⁺ (M1-макрофаги) и CD68⁺CD206⁺ (M2-макрофаги).

Протокол иммунофлуоресцентного (ИФ) окрашивания совпадал с ИГХ окрашиванием. Для срезов сначала проводили депарафинизацию и демаскировку антигена. Далее образцы блокировали 3% BSA в PBS в течение 45 мин, инкубировали с комбинацией первичных антител в течение 60 минут

(моноклональное мышинное анти-CD68 (1:100, клон KP1, NBP2-44539, Novus Biologicals, США); кроличье моноклональное анти-CD80 (1:100, клон EPR19518, ab182422, Abcam, США) и козье моноклональное анти-CD206 (1:20, AF2534, R&D Systems, США)); далее срезы промывали и инкубировали с комбинацией соответствующих вторичных антител в течение 45 мин. В качестве вторичных антител была применена следующая комбинация: Cy3-конъюгированное анти-кролик, AlexaFluor488-конъюгированное анти-мышь, AlexaFluor647-конъюгированное анти-коза (Dianova, Германия, разведение 1:400). Образцы закреплялись на стеклах при помощи Fluoroshield Mounting Medium с DAPI (#ab104135, Abcam, США) и были проанализированы с помощью конфокальной микроскопии. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия срезов миокарда была выполнена на лазерном сканирующем спектральном конфокальном микроскопе Carl Zeiss LSM 780 NLO (Carl Zeiss, Германия), который оснащен объективом 63x. Данные были получены и проанализированы с применением конфокального программного обеспечения ZEN2 lite (Carl Zeiss, Германия) и программного обеспечения Leica (Leica Geosystems, Швейцария), соответственно. Все трехцветные изображения были получены с использованием режима последовательного сканирования.

2.8 Метод мультиплексного анализа

Мультиплексный анализ (multiplex assay) позволяет определять большое количество аналитов одновременно (до 500 в одной лунке планшета) в небольшом объеме образца (менее 50 мкл), что делает этот метод более привлекательным по сравнению со стандартным иммуноферментным анализом.

Принцип метода. В основе мультиплексного анализа лежит использование полимерных микросфер диаметром 5-6 мкм, которые несут на своей поверхности специальные зонды к определенным молекулам. У каждого

типа микросфер есть спектральный адрес (соотношение двух флуорофоров с различными концентрациями), который детектируется мультиплексным анализатором. Определенный тип частиц с известными спектральными значениями имеет специфический вид зонда (к примеру, моноклональные антитела против детектируемого аналита). Молекулы аналита связываются с первичными антителами после добавления определенного типа микросфер. Далее связанный аналит детектируется путем добавления вторичных антител, конъюгированных с биотином. Биотин связывается с флуоресцентной меткой после добавления стрептавидина, меченного флуорохромом. В конечном счете получается сложно устроенный комплекс «микросфера-аналит-флуорохром», который выявляется мультиплексным анализатором методом проточной цитометрии (рис. 3). Таким образом, по интенсивности флуоресценции метки определяется концентрация анализируемого аналита, по спектральному адресу микросферы детектируется его тип.

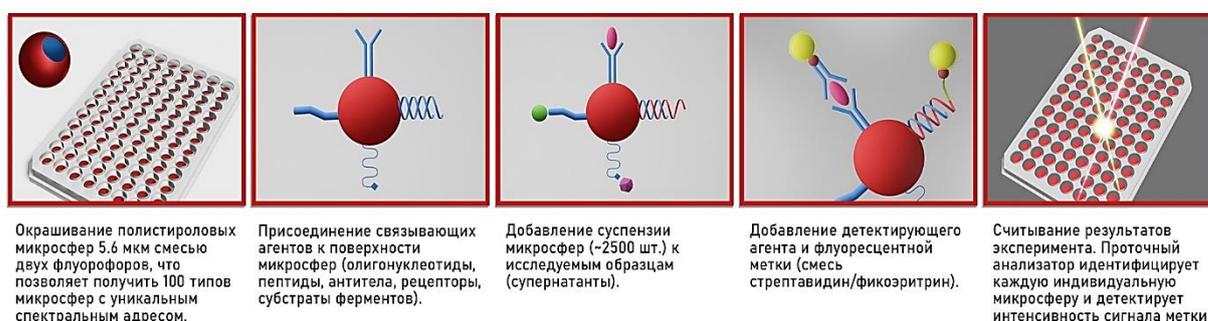


Рисунок 3 – Принцип мультиплексного иммуноферментного анализа по типу проточной флуориметрии.

Данный метод обладает высокой чувствительностью и широким диапазоном концентраций – 1-10000 пг/мл [13, 102, 127].

Ход определения. Интраопреационные биоптаты из УПП и перинфарктной зоны миокарда, полученные от 15 пациентов с диагнозом ИКМП и ИБС без кардиомиопатии, были помещены в пробирки со средой DMEM/F12 с гентамицином и инкубировались 24 часа при 37°C. После

инкубации собирали супернатанты из клеточных культур и центрифугировали в течение 10 мин при 1500 g. Количественное определение цитокинов проводили методом флуоресцентной проточной цитометрии на автоматизированном анализаторе Bio-Plex Protein Assay System (“Bio-Rad”, США) с применением коммерческой тест-системы MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Panel I, 41 plex kit (Merck Millipore, USA). Для определения цитокинового профиля миокарда была выбрана следующая панель цитокинов (табл.3):

Таблица 3 – Панель анализируемых цитокинов и факторов роста.

Аналит	Функциональное значение
sCD40L	Трансмембранный гликопротеин типа I, принадлежащий к семейству рецепторов TNF. CD40 экспрессируется на В-лимфоцитах, моноцитах и дендритных клетках. Взаимодействие CD40-CD40L также играет важную роль в активации моноцитов и созревании дендритных клеток.
EGF	(англ. Epidermal Growth Factor, EGF) — белок, стимулирующий клеточный рост и клеточную дифференцировку эпителиального покрова с помощью рецептора эпидермального фактора роста.
Eotaxin/CCL11	Важный для эозинофилов хемокин, связанный с рекрутированием эозинофилов в очаги воспаления.
FGF-2	Основной фактор роста фибробластов и FGF-β, представляет собой фактор роста и сигнальный белок, кодируемый геном FGF2.
Flt-3 ligand	Цитокин и фактор роста, который увеличивает количество иммунных клеток путем активации гематопоэтических предшественников.
Fractalkine	Единственный представитель семейства хемокинов CX3C, экспрессируется в активированном или подвергнутом стрессу эндотелии, гладкомышечных клетках, клетках скелетных мышц, макрофагах, нейронах, гепатоцитах и адипоцитах.
G-CSF	Или колониестимулирующий фактор 3 (CSF 3) - это гликопротеин, который стимулирует костный мозг к производству гранулоцитов и стволовых клеток и высвобождению их в кровотока.
GM-CSF	Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, относится к группе гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов вместе с IL-3 и IL-5. Активирует Th1-зависимый иммунный ответ, ангиогенез, развитие аутоиммунных заболеваний и аллергического воспаления.
GRO	Продукт гена GRO человека, который обладает воспалительными и пролиферативными свойствами. Стимулирует миграцию нейтрофилов в очаг воспаления.
IFN-α2	Представляет собой цитокин, принадлежащий к семейству интерферонов I типа. IFNα2 - белок, секретируемый клетками, инфицированными вирусом, и действующий на другие клетки для подавления вирусной инфекции.

IFN- γ	Интерферон II типа, это цитокин, который имеет решающее значение для врождённого и приобретённого иммунитета против вирусных, некоторых бактериальных и протозойных инфекций. IFN γ является важным активатором макрофагов и индуктором экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости II класса (МНС).
IL-1 α	Гемопозитин 1, провоспалительный цитокин. Продуцируется в основном активированными макрофагами, а также нейтрофилами, эпителиальными и эндотелиальными клетками. Связывается с рецептором IL-1 и находится на пути, который активирует фактор некроза опухоли-альфа.
IL-1 β	Или лейкоцитарный эндогенный медиатор, фактор мононуклеарных клеток, фактор активации лимфоцитов. Продуцируется активированными макрофагами. Провоспалительная активность, участие в пролиферации и апоптозе.
IL-1ra	IL-1RA синтезируется множеством клеток, включая моноциты, макрофаги, нейтрофилы, клетки Сертоли, гепатоциты, адипоциты, синовиальные фибробласты, мастоциты (тучные клетки), клетки поджелудочной железы и клетки кишечного эпителия. IL-1RA - важный естественный противовоспалительный белок.
IL-2	Фактор роста T-клеток, необходимый для их пролиферации и дифференцировки. Также способствует генерации, выживаемости и функциональной активности регуляторных T-клеток Foxp3+.
IL-3	Играет роль в гемопозе путём контролирования образования, дифференциации и функции двух популяций лейкоцитов: гранулоцитов и моноцитов-макрофагов. Кроме этого, интерлейкин 3 индуцирует тучные клетки, эритроидные клетки, эозинофилы и мегакариоциты.
IL-4	Индукцирует дифференцировку наивных T-хелперов (Th0-клеток) в Th2-клетки.
IL-5	Или эозинофильный колониестимулирующий фактор - Индуцирует конечную дифференцировку поздних B-клеток в иммуноглобулин-секретирующие клетки. IL-4 вырабатывается в основном тучными клетками, Th2-клетками, эозинофилами и базофилами. Он родственен IL-13 и имеет сходные с ним функции.
IL-6	Провоспалительный цитокин. Синтезируется активированными макрофагами и T-клетками и стимулирует иммунный ответ. Особенно его роль велика при травматическом поражении ткани, ожогах и других повреждениях, ведущих к воспалению.
IL-7	Лимфопоэтический фактор роста. Играет важную роль в созревании и размножении клеток лимфоидного ряда.
IL-8	Хемокин CXCL8 - один из основных провоспалительных хемокинов, образуемый макрофагами, эпителиальными и эндотелиальными клетками. Играет также важную роль в системе врождённого иммунитета.
IL-9	Основной лимфопоэтический фактор. Синтезируется T-лимфоцитами, а именно CD4+ хелперными клетками, и является одним из регуляторов гемопоза. Стимулирует клеточное деление и предотвращает апоптоз.

IL-10	Противовоспалительный цитокин. Он снижает экспрессию цитокинов Th1, антигенов МНС класса II и ко-стимулирующих молекул на макрофагах. Увеличивает выживаемость В-клеток, их пролиферацию и продукцию антител. Блокирует активность NF-κB и регулирует сигнальный путь JAK-STAT.
IL-12(p40)	Хемоаттрактант для макрофагов и способствует миграции бактериально-стимулированных дендритных клеток
IL-12(p70)	Продуцируется в основном макрофагами и ДК. Его ранняя продукция этими клетками важна для индукции NK-клеток, выработки IFN-γ и, впоследствии, для активации, дифференцировки и пролиферации M.tuberculosis-специфических клеток Th1. Он также индуцирует продукцию IFN-γ клетками Th1.
IL-13	профибротический цитокин, ответственный за Th2 ответ. Высвобождается Т-клетками, тучными клетками и эозинофилами.
IL-15	Продуцируется мононуклеарными фагоцитами в ответ на инфицирование вирусами. Интерлейкин-15 необходим для пролиферации естественных киллеров.
IL-17A	Провоспалительный цитокин, продуцируемый активированными Т-клетками. Этот цитокин регулирует активность NF-κappaB и митоген-активируемых протеинкиназ. Этот цитокин может стимулировать экспрессию IL6 и циклооксигеназы-2 (PTGS2/COX-2), а также усиливать продукцию оксида азота (NO).
IP-10	Индуцированный интерфероном γ белок 10 кДа (IP-10) или малый индуцируемый цитокин принадлежит к семейству хемокинов CXС. Связывается с рецептором CXCR3, вызывая хемотаксис, апоптоз, рост клеток и ангиостаз.
MCP-1	Относится к группе СС-хемокинов (β-хемокинов). Является наиболее мощным фактором хемотаксиса моноцитов.
MCP-3	Мультипотентный хемокин, участвующий в антибактериальном, противовирусном и противогрибковом иммунном ответах.
MDC (CCL22)	Продуцируется макрофагами и ДК. Участвует в хемотаксисе Т-лимфоцитов.
MIP-1α и MIP-1β	Основные факторы, вырабатываемые макрофагами и моноцитами после их стимуляции бактериальным эндотоксином или провоспалительными цитокинами, такими как IL-1β. Могут экспрессироваться всеми гемопоэтическими клетками и некоторыми тканевыми клетками, такими как фибробласты, эпителиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов или тромбоциты при активации.
PDGF-AA	Тромбоцитарный фактор роста. Состоит из пяти секретируемых димерных факторов роста, связанных дисульфидной связью: PDGF-AA, -AB, -BB, -CC и -DD, состоящих из субъединиц, кодируемых четырьмя разными генами. Увеличивает синтез MMP-13.
PDGF-AB/BB	Индукцирует транскрипционную активность.
RANTES	Хемокин, секретируемый тромбоцитами, которые активируются преимущественно во время кровотечения. Этот хемокин взаимодействует с Р-селектином, опосредуя инфильтрацию моноцитов/макрофагов при атеросклеротических поражениях.

TGF- α	Трансформирующий ростовой фактор, тормозит пролиферацию стволовых клеток и клеток-предшественников.
TNF- α	Впервые рассматривался как цитотоксический фактор, способствующий лизису клеток определенных опухолей. Выработка TNF- α вызвана вирусными инфекциями, эндотоксинами, липополисахаридами или другими бактериальными структурами, механическим повреждением ткани, повреждением ДНК, а также продукцией IL-1, PDGF. Его экспрессию осуществляют макрофаги, моноциты, нейтрофилы, NK-клетки, эндотелиальные клетки и активированные лимфоциты. Экспрессия TNF- α в эндотелиальных клетках и фибробластах может быть вызвана IL-17. TNF- α стимулирует продукцию других провоспалительных цитокинов, хемокинов, активных форм кислорода, оксида азота и простагландинов.
TNF- β	Контролирует пролиферацию, клеточную дифференцировку и другие функции в большинстве клеток. действует как антипролиферативный фактор в нормальных эпителиальных клетках и на ранних стадиях онкогенеза.
VEGF	Фактор роста эндотелия сосудов — сигнальный белок, вырабатываемый клетками для стимулирования васкулогенеза и ангиогенеза.

Протокол исследования начинали с добавления по 200 мкл промывочного буфера (Wash Buffer, WB) (1-кратного) в каждую из 96 лунок планшета. Далее добавляли в соответствующие (по протоколу) лунки планшета по 25 мкл Background, стандартов (10000-3,2 pg/ml) и контролей (1, 2). В оставшиеся лунки добавили по 25 мкл исследуемых образцов. Во все лунки было добавлено по 25 мкл вортиксованных магнитных частиц. После покрыли планшет фольгой, поместили в шейкер для инкубации на 2 ч (800 об/мин, комнатная температура). После инкубации 2 раза отмывали планшет (200 мкл WB) с помощью автоматической промывочной станции (специальная программа для магнитных частиц). Вортиксовали представленные в наборе антитела и добавили по 25 мкл антител в каждую лунку планшета. Покрывали планшет фольгой и поставили в шейкер для инкубации на 1 ч (800 об/мин, комнатная температура). После инкубации планшет не промывали. После инкубации добавили по 25 мкл представленного в наборе стрептавидина-фикоэритрина (SA-PE) в каждую лунку планшета. Покрывали планшет фольгой и ставили для инкубации в шейкер (30 мин, 800 об/мин, комнатная температура). После инкубации промывали планшет дважды в 200 мкл WB,

далее в каждую лунку добавляли по 150 мкл проточной жидкости (Bio-Plex Sheath Fluid cat #171-000055 20L). Покрывают планшет фольгой и ставят в шейкер на 5 мин (800 об/мин, комнатная температура). Затем снимают фольгу и помещают планшет в прибор для считывания результатов. Прибор был откалиброван и отвалидирован.

Детектирование результатов проводили при помощи автоматического фотометра для микропланшетов Bio-Plex (Bio-Plex® 200 Systems, Bio-Rad, США), интерпретацию результатов осуществляли с помощью программы Bio-PlexManager (Bio-Rad, США). Концентрацию определяли методом построения стандартной кривой для каждого набора (определяемый динамический диапазон 2 - 10 000 пг/мл) в соответствии с инструкцией производителя. При статистической обработке концентрации цитокинов, выходящие за нижнюю границу чувствительности метода (<2 пг/мл), принимались за 1 пг/мл.

2.9 Статистические методы исследования

Обработка данных выполнялась с использованием пакета программ MS Excel и STATISTICA 10.0 for Windows (StatSoft Inc., USA). Для проверки нормальности распределения использовали критерий Шапиро-Уилка. При распределении, отличающемся от нормального, для выявления отличий между группами применяли непараметрический U-критерий Манна-Уитни для независимых выборок, описание производили с указанием медианы и межквартильного диапазона. Для сравнения частот встречаемости качественных признаков в группах применяли критерий Хи-квадрат с поправкой Йетса на непрерывность. Корреляционный анализ проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Зависимость между количественными признаками определяли при помощи линейного многофакторного регрессионного анализа. Для построения регрессионной модели использовалось 15 наблюдений.

Результаты статистического анализа считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Морфологическая характеристика миокарда

На первом этапе исследования оценивалась морфология миокарда пациентов с ИКМП в зависимости от типа ремоделирования. Наиболее часто встречающимися признаками, выявленными в обеих группах, стали увеличение размеров ядер, плексиморфный и диффузный фиброз, а также перинуклеарная вакуолизация и отек стромы (рис.4).

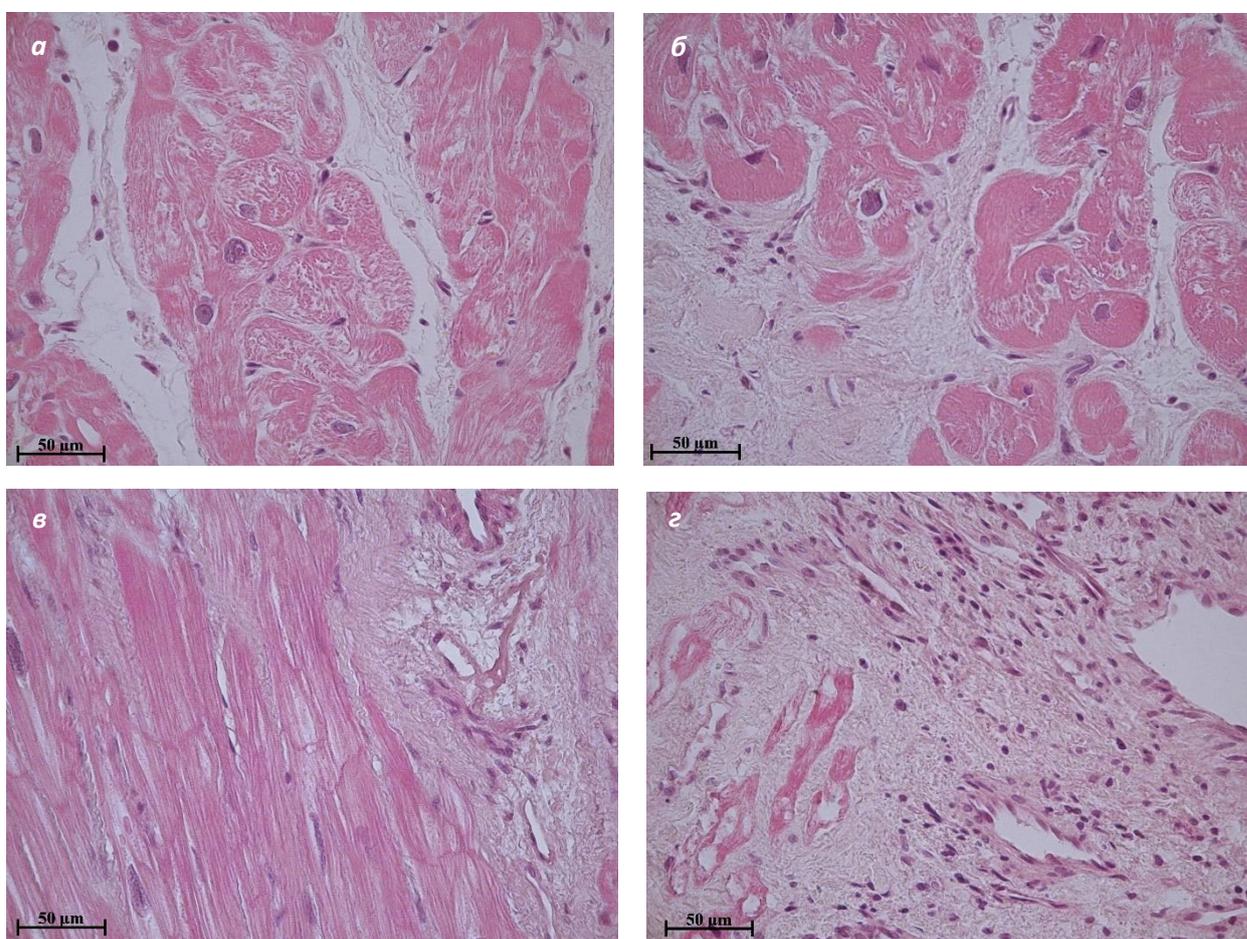


Рисунок 4 - Миокард пациентов с ишемической кардиомиопатией (основная группа): отек стромы (*a*), гипертрофия ядер кардиомиоцитов (*a*, *б*, *в*), фиброз (*б*, *в*, *г*) воспалительная инфильтрация (*г*). Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 400х.

При сравнении групп пациентов с обратным (группа 1) и прогрессирующим (группа 2) типом ремоделирования значимые различия были выявлены для 4 признаков (табл.4). Признаки «удельная площадь

стромы» ($p=0,003$) и «фиброз» ($p=0,013$) чаще встречались в группе с обратным ремоделированием (ОР) ЛЖ (благоприятный исход) (рис.3). Признаки «удельная площадь капилляров» ($p=0,002$) и «воспалительный инфильтрат» ($p=0,038$) чаще встречались в группе с прогрессирующим ремоделированием (ПР) ЛЖ (неблагоприятный исход) (рис.5).

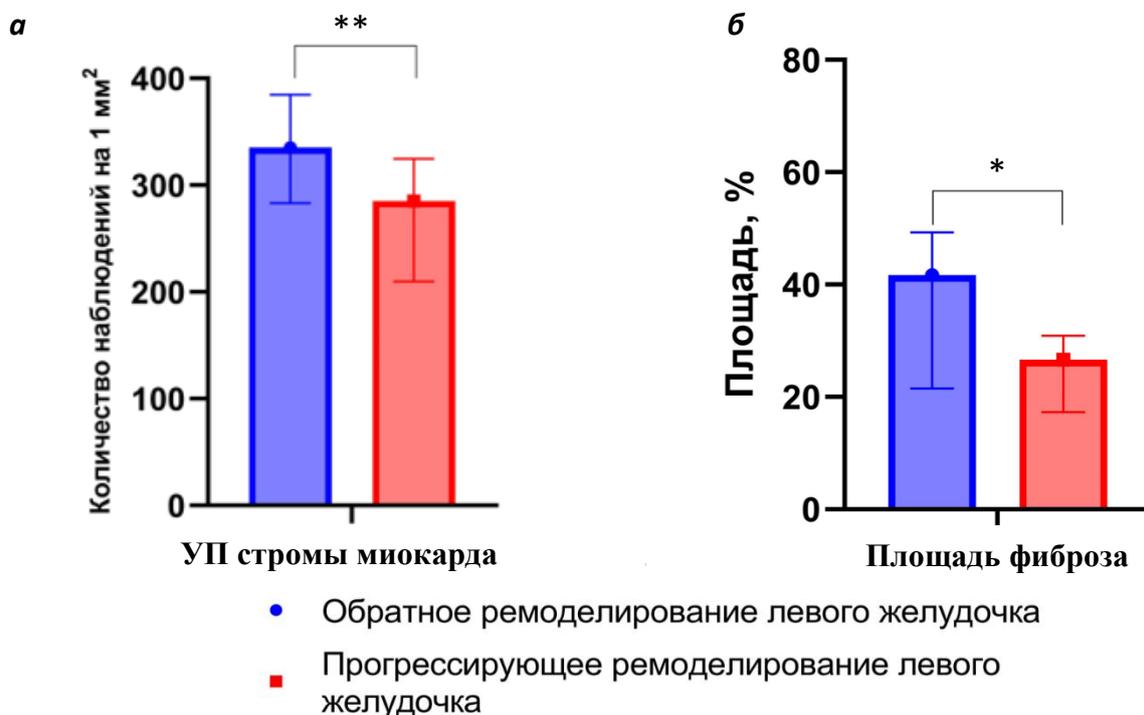


Рисунок 5 - Морфологические показатели в группе с обратным типом ремоделирования. а) Количество наблюдений признака «удельная площадь стромы» в группах сравнения; б) Площадь фиброза в группах сравнения.

Примечание. УП – удельная площадь. Показаны медианы; * - различия достоверны при уровне значимости $p<0,05$; ** - различия достоверны при уровне значимости $p<0,01$.

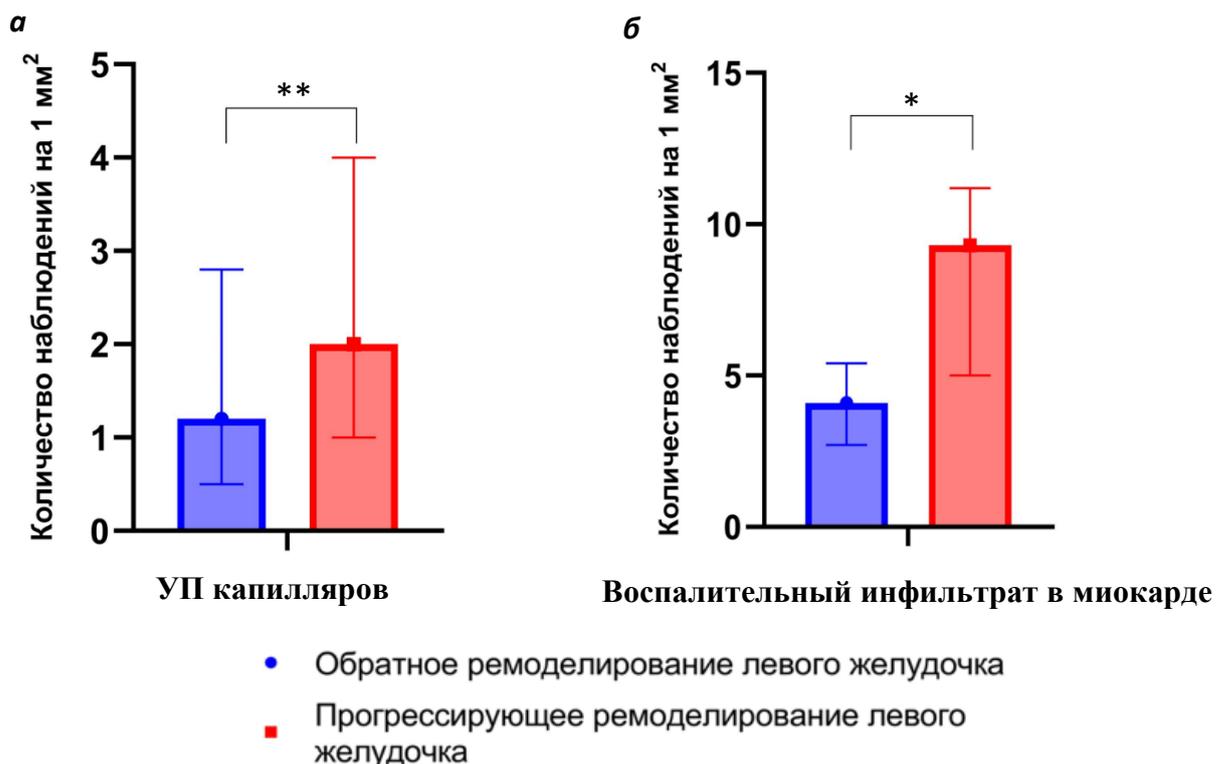


Рисунок 6 - Морфологические показатели в группе с прогрессирующим типом ремоделирования. а) Количество наблюдений признака «удельная площадь капилляров» в группах сравнения; б) Количество клеток воспалительного инфильтрата в группах сравнения.

Примечание. УП – удельная площадь. Показаны медианы; * - различия достоверны при уровне значимости $p < 0,05$; ** - различия достоверны при уровне значимости $p < 0,01$.

Таблица 4 - Сравнение морфометрических показателей пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходами хирургического лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией.

Маркер	Группа 1 (обратное ремоделирование ЛЖ, N=13)	Группа 2 (прогрессирующее ремоделирование ЛЖ, N=5)	Сравнение группы 1 и группы 2 (U – критерий Манна-Уитни)
	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	p
УП паренхимы	325,0 (226,7; 372,6)	358,7 (346,2; 426,8)	0,081
УП стромы	335,3 (283,0; 384,7)	285,0 (209,8; 324,8)	0,003*
УП ядер кардиомиоцитов	15,7 (12,6; 22,0)	17,8 (16,0; 24,3)	0,155
УП ядер стромы	27,3 (26,6; 31,7)	23,3 (20,6; 28,2)	0,113

УП перинуклеарного отека	2,7 (1,2; 5,4)	4,6 (1,0; 5,0)	0,174
УП интерстициального отека	37,8 (35,7; 49,8)	39,6 (32,0; 40,6)	0,267
УП сосудов	16,4 (15,1; 21,5)	23,4 (13,8; 29,4)	0,373
УП капилляров	1,2 (0,5; 2,8)	2,0 (1,0; 4,0)	0,002*
Воспалительный ИФ, шт/мм ²	4,1 (2,7; 5,4)	9,3 (5,0; 11,2)	0,038*
ДКМЦ, мм	0,097 (0,081; 0,102)	0,092 (0,084; 0,117)	0,587
Фиброз, %	41,7 (21,5; 49,3)	26,6 (17,3; 30,9)	0,013*

Прим.: УП – удельная площадь; ИФ – инфильтрат

* при уровне значимости $p < 0,05$

Морфология миокарда пациентов из группы контроля (фракция выброса левого желудочка составляла более 40% и конечно-систолический индекс левого желудочка - менее 60 мл/м²) была похожей на морфологическую картину миокарда пациентов основной группы. Наиболее часто встречающимися признаками также стали увеличение размеров ядер кардиомиоцитов, плексиморфный и диффузный фиброз, «таяние» миофибрилл, перинуклеарная вакуолизация и отек стромы (рис.7).

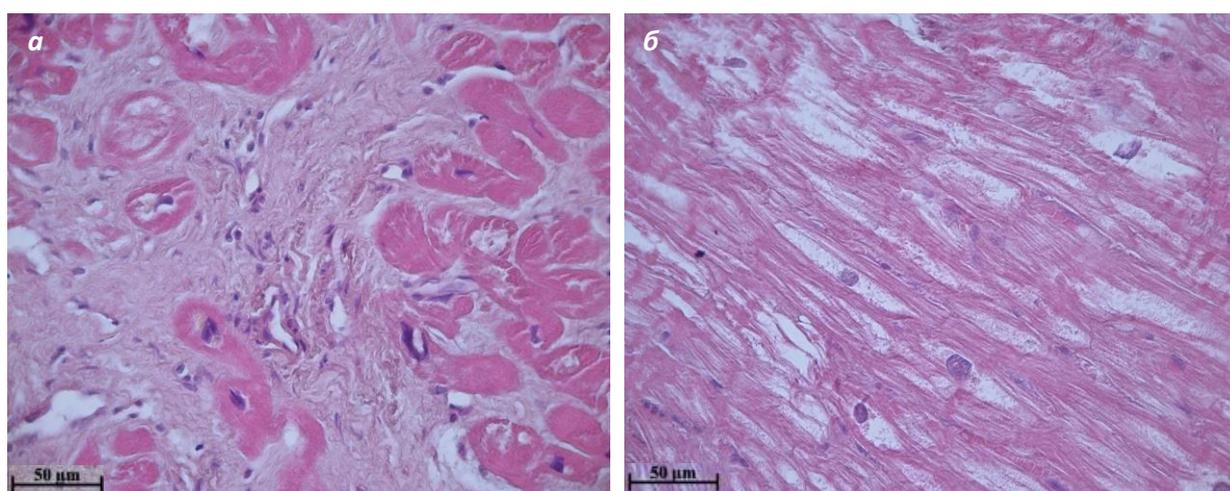


Рисунок 7 - Миокард пациентов ИБС без ИКМП: отек стромы (а), гипертрофия ядер кардиомиоцитов (б), фиброз и перинуклеарный отек (а, б), «таяние» миофибрилл кардиомиоцитов (б). Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 400х

Однако, при сравнении морфометрических показателей миокарда основной группы пациентов (N=27) и группы контроля (N=6) статистически значимые различия были выявлены для удельной площади перинуклеарного отека ($p=0,048$), удельной площади капилляров ($p=0,035$), удельной площади гиперемированных сосудов ($p=0,034$) и диаметра капилляров ($p=0,009$). Частота встречаемости всех морфометрических показателей статистически преобладала в контрольной группе (табл.5).

Таблица 5 - Сравнение морфометрических показателей пациентов основной группы (ИКМП) и контрольной группы (ИБС без ИКМП).

Маркер	Группа 2 (ИБС без кардиомиопатии, n=6)	Группа 1 (ИКМП, n=27)	Сравнение основной и контрольной групп (U – критерий Манна-Уитни)
	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	p
УП паренхимы	362,5 (230,9; 379,6)	349,5 (251,3; 372,6)	0,958
УП стромы	290,8 (239,4; 307,1)	300,0 (274,9; 340,0)	0,377
УП ядер кардиомиоцитов	16,9 (15,2; 23,0)	15,0 (12,0; 22,0)	0,138
УП ядер стромы	26,7 (23,3; 58,0)	26,8 (22,4; 31,7)	0,755
УП перинуклеарного отека	51,6 (25,1; 61,2)	5,4 (1,4; 38,3)	0,048*
УП интерстициального отека	46,0 (31,7; 122,0)	39,6 (34,8; 49,8)	0,324
УП сосудов	5,7 (5,6;6,7)	6,6 (4,6;8,9)	0,815
Диаметр сосудов, мм	0,054 (0,053;0,067)	0,055 (0,047;0,064)	0,678
УП капилляров	1,4 (1,3; 2,0)	0,3 (0,0; 0,8)	0,035*
Диаметр капилляров, мм	0,009 (0,005;0,015)	0,002 (0,000; 0,003)	0,009*

Воспалительный ИФ, шт/мм ²	7,7 (5,0; 12,3)	6,0 (3,5; 10,5)	0,242
ДКМЦ, мм	1,8 (1,7; 2,1)	1,9 (1,7; 2,2)	0,436
УП периваскулярного фиброза	4,0 (2,3; 5,0)	4,1 (2,3; 5,9)	0,835
УП гиперемии сосудов	1,0 (0,5; 1,0)	0,1 (0,0; 0,5)	0,034*
Фиброз, %	43,7 (35,5; 50,1)	36,2 (25,8; 43,9)	0,253

Прим.: ИКМП – ишемическая кардиомиопатия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; УП – удельная площадь; ИФ – инфильтрат; ДКМЦ – диаметр кардиомиоцитов
* при уровне значимости $p < 0,05$

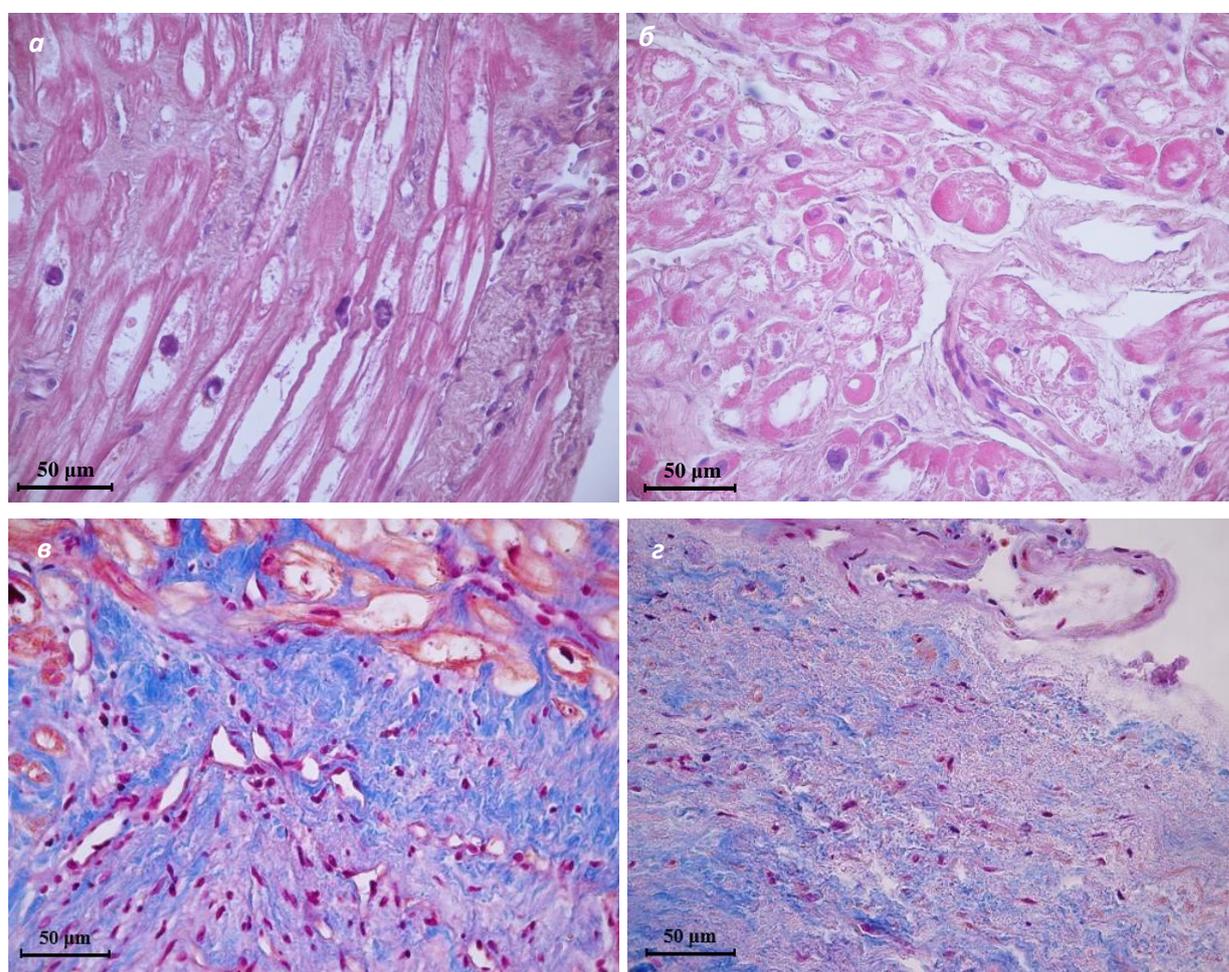


Рисунок 8 - Миокард пациентов с ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии: перинуклеарный отек и «таяние» миофибрилл (а), перинуклеарный отек и отек стромы (б). Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 400х. Воспалительный инфильтрат, капилляры и сосуды (в) и полнокровный сосуд (г). Окр. по Маллори. Ув. 400х.

Было проведено сравнение морфологии двух локализаций миокарда – УПП и периинфарктной зоны ЛЖ (ПЗ-ЛЖ). При сравнении морфометрических показателей установлено, что у пациентов обеих групп наблюдения (ИБС и ИКМП) в ПЗ-ЛЖ частота встречаемости интерстициального отека (в 15 раз, $p=0,003$) и, особенно, удельная площадь капилляров (в 61 раз, $p=0,049$) оказались резко сниженными по сравнению с соответствующими показателями в УПП (рис.9).

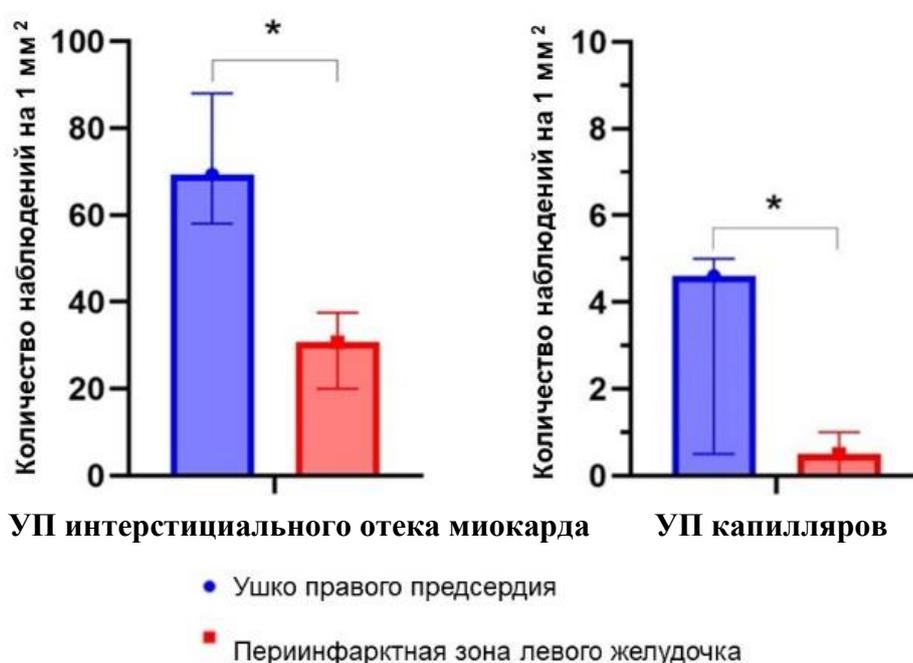


Рисунок 9 - Сравнение морфометрических показателей миокарда в ушке правого предсердия и периинфарктной зоне левого желудочка в обеих группах наблюдения (ишемическая болезнь сердца и ишемическая кардиомиопатия).

Примечание. УП – удельная площадь. Показаны медианы и квартильные размахи; различия достоверны при уровне значимости $p < 0,05$.

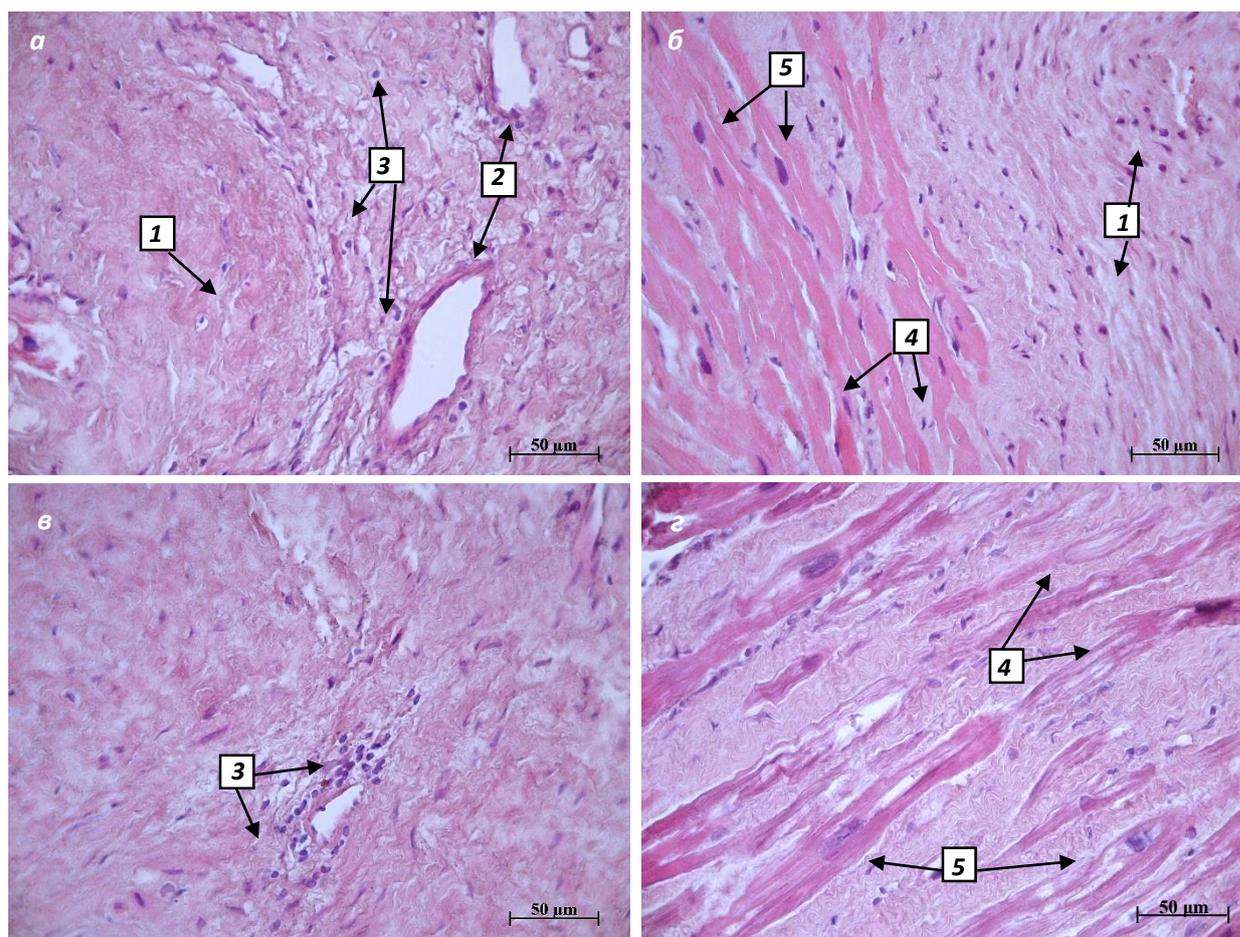


Рисунок 10 - Миокард периинфарктной зоны левого желудочка при ишемической болезни сердца (а, в, г) и ишемической кардиомиопатии (б): фиброз (1), кровеносные сосуды (2), слабо выраженный воспалительный инфильтрат (3); атрофия (4) и компенсаторная гипертрофия (5) кардиомиоцитов. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 400х.

3.2 Иммуногистохимическое исследование миокарда

Предварительно выборка пациентов была проверена на однородность. Для этого проводилось сравнение следующих показателей: возраст, ФВ до операции, КСИ до операции. Статистически значимых различий выявлено не было, что говорит об однородности сравниваемых групп и является дополнительным подтверждением адекватности исследуемой выборки.

Таблица 6 – Иммуногистохимические маркеры в миокарде пациентов с ишемической кардиомиопатией с разными типами ремоделирования левого желудочка.

Маркер	Группа 1 (обратное ремоделирование)	Группа 2 (прогрессирующее ремоделирование)	U – критерий Манна-Уитни
	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	p
CD68 ⁺ , клеток на мм ²	26 (18; 41)	26 (18; 50)	0,843
CD163 ⁺ , клеток на мм ²	12 (6; 27)	9 (9; 15)	0,519
CD90 ⁺ , клеток на мм ²	79,6 (26,3; 109,6)	10,2 (7,2; 19)	0,200
CD3 ⁺ , клеток на мм ²	1,6 (0,8; 3,7)	3(1,6; 3)	0,842
Коллаген- I, % от площади ткани	11,3 (4,6; 20,1)	4,8 (4,1; 14,6)	0,767
Коллаген- III, % от площади ткани	18,7 (9,4; 36,0)	9,3 (7,9; 13,2)	0,375
Коллаген- I : Коллаген- III	0,55 (0,16; 1,34)	0,9 (0,25; 1,85)	0,554
αSMA, % от площади ткани	1,3 (0,6; 2,5)	0,9 (0,7; 2,8)	0,960
ММП-2, % от площади ткани	15,7 (12,1; 23,8)	16 (9,8; 37,9)	0,767
ТИМП-1, % от площади ткани	3,7 (2,5; 5,2)	12,1 (2,7; 13,4)	0,183

* при уровне значимости $p < 0,05$

Было проведено сравнение представленности молекулярных маркеров в миокарде пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходами. Статистически значимых различий в зависимости от отдаленного исхода хирургического лечения ИКМП выявлено не было.

При сравнении иммуногистохимических маркеров у 18 пациентов из основной группы (ИКМП) и 6 пациентов из группы контроля (ИБС) статистически значимые различия были выявлены для CD68-позитивных ($p=0,025$), CD163-позитивных ($p=0,025$) и CD90-позитивных клеток ($p=0,03$),

а также для показателей «соотношение коллагена I и коллагена III типов» ($p=0,015$) и альфа-гладкомышечного актина ($p=0,007$). Данные статистического анализа представлены в таблице 7 и на рисунках 11 и 12.

Таблица 7 - Иммуногистохимические маркеры в миокарде у пациентов с ишемической болезнью сердца и с ишемической кардиомиопатией.

Маркер	Группа 1 (ИБС без кардиомиопатии, N=6)	Группа 2 (ИКМП, N=18)	Сравнение основной и контрольной групп (U – критерий Манна-Уитни)
	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	p
CD68 ⁺ , клеток на мм ²	4,5 (1,5; 7,6)	26 (18; 44)	0,025*
CD163 ⁺ , клеток на мм ²	4,2 (3,3; 4,8)	10,5 (6; 26)	0,025*
CD90 ⁺ , клеток на мм ²	6,4 (3,3; 38,6)	62,2 (11,6; 109,6)	0,030*
CD3 ⁺ , клеток на мм ²	0,6 (0,0; 2,4)	1,8 (0,8; 3,0)	0,077
Коллаген-1, % от площади ткани	15,4 (12,7; 19,5)	10,8 (4,1; 20,1)	0,250
Коллаген-3, % от площади ткани	6,4 (5,6; 8,8)	14,0 (7,9; 36,0)	0,119
Коллаген-1 : Коллаген-3	2,5 (1,5;4,3)	0,55 (0,16; 1,38)	0,015*
αSMA, % от площади ткани	8,1 (7,6; 11,3)	1,3 (0,6; 2,8)	0,007*
ММП-2, % от площади ткани	22 (12,9; 26,2)	15,9 (11,5; 25,1)	0,453
ТИМП-1, % от площади ткани	6,2 (4,0; 9,7)	3,8 (2,5; 11,3)	0,310

* при уровне значимости $p < 0,05$

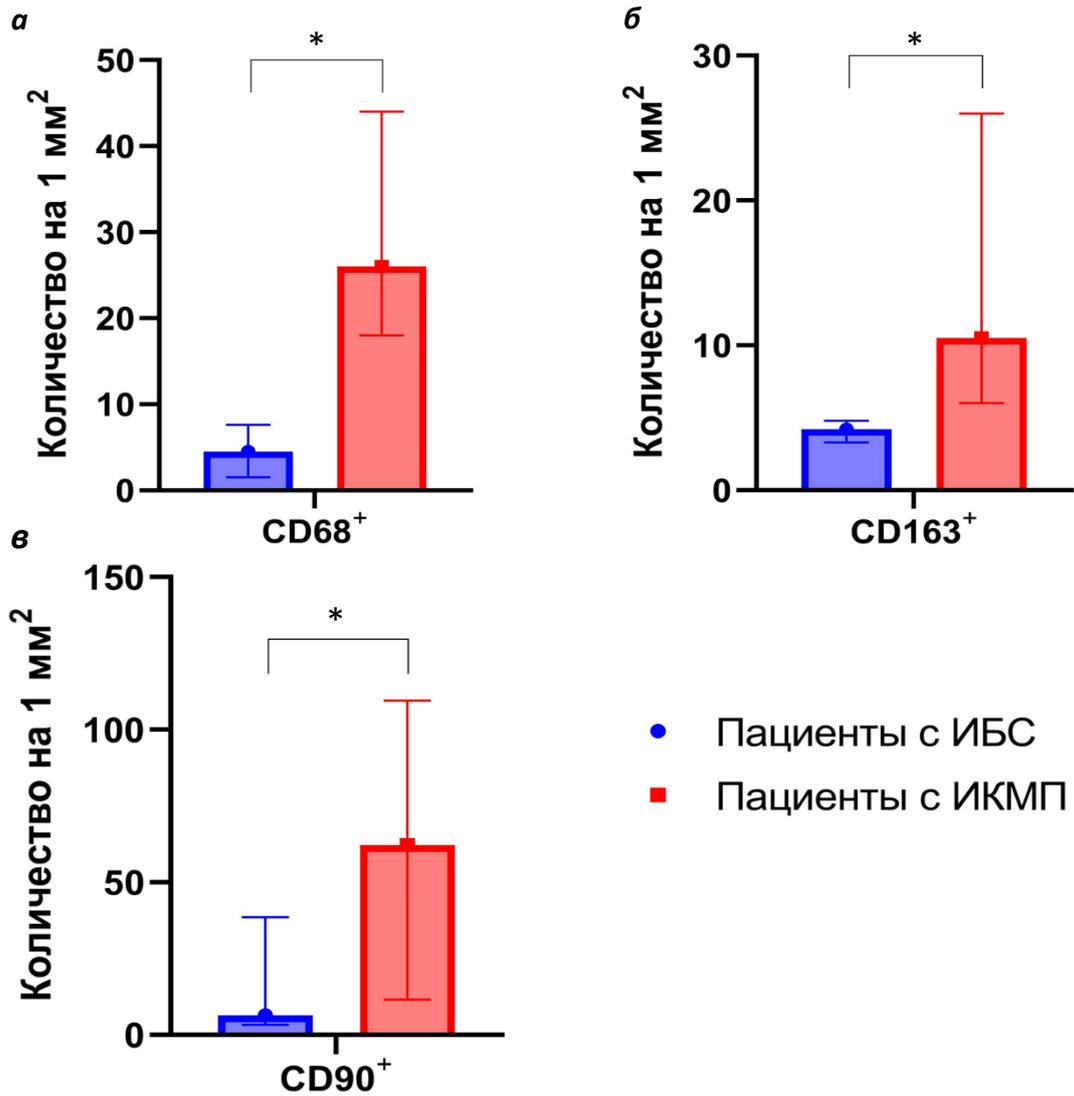


Рисунок 11 - Клеточные маркеры CD68⁺, CD163⁺, CD90⁺ в миокарде у пациентов с ишемической болезнью сердца и с ишемической кардиомиопатией.

Примечание. Показаны медианы; * - различия достоверны при уровне значимости $p < 0,05$.

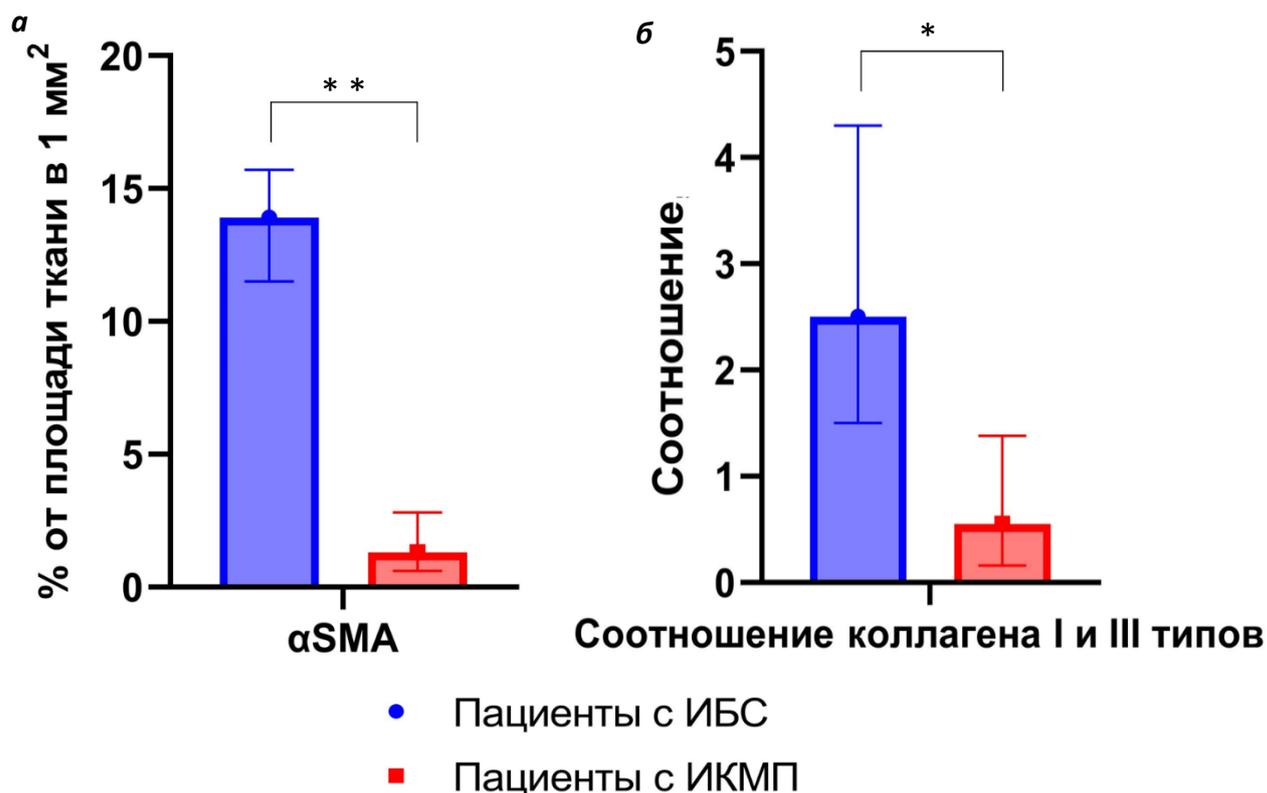


Рисунок 12 - Процентное содержание альфа-гладкомышечного актина и соотношение коллагена I и коллагена III в миокарде у пациентов с ишемической болезнью сердца и с ишемической кардиомиопатией. Примечание. αSMA - альфа-гладкомышечный актин. Показаны медианы; * - различия достоверны при уровне значимости $p < 0,05$.

3.3 Поиск корреляционных связей между морфологическими маркерами и клиническими показателями

Следующим этапом стал поиск корреляционных связей между гемодинамическими параметрами сердца, такими как фракция выброса левого желудочка до и не менее чем через 6 месяцев после хирургического лечения пациентов с ИКМП, конечно-систолический индекс до и не менее чем через 6 месяцев после хирургического лечения пациентов с ИКМП, и иммуногистохимическими показателями.

Таблица 8 - Корреляционный анализ иммуногистохимических маркеров с клиническими показателями сердца у пациентов с ишемической кардиомиопатией.

		CD68	CD163	CD90	CD3	Коллаген I тип	Коллаген III тип	Кол I : Кол III	α SMA	ММП-2	ТИМП-1
ФВ до операции	r	0,015	0,146	-0,133	-0,153	-0,272	-0,206	-0,055	-0,430	0,140	0,377
ФВ через >6 мес. после операции	r	-0,152	0,025	0,009	-0,011	-0,039	0,236	-0,225	-0,284	0,075	0,094
КСИ до операции	r	0,111	0,032	0,375	0,070	0,605*	0,055	0,517*	0,670*	-0,077	-0,230
КСИ ФВ через >6 мес. после операции	r	0,144	-0,065	0,038	-0,188	0,028	-0,317	0,347	0,323	-0,143	0,003

*при уровне значимости $p < 0,05$

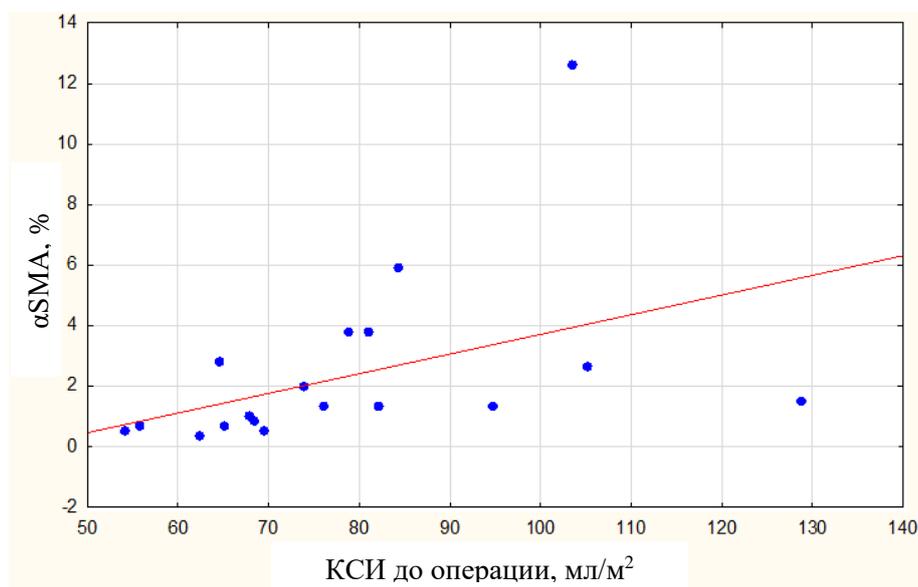


Рисунок 13 - Умеренная корреляционная взаимосвязь между конечно-систолическим индексом (КСИ), рассчитанным до операции и площадью экспрессии альфа-гладкомышечного актина у пациентов с ишемической кардиомиопатией ($r = 0,670$, $p < 0,05$).

Выявлена положительная корреляционная связь средней силы между величиной КСИ, измеренной до операции, и площадью коллагена I типа; площадью α SMA, а также между КСИ до операции и соотношением коллагена I и III типов ($p < 0,05$).

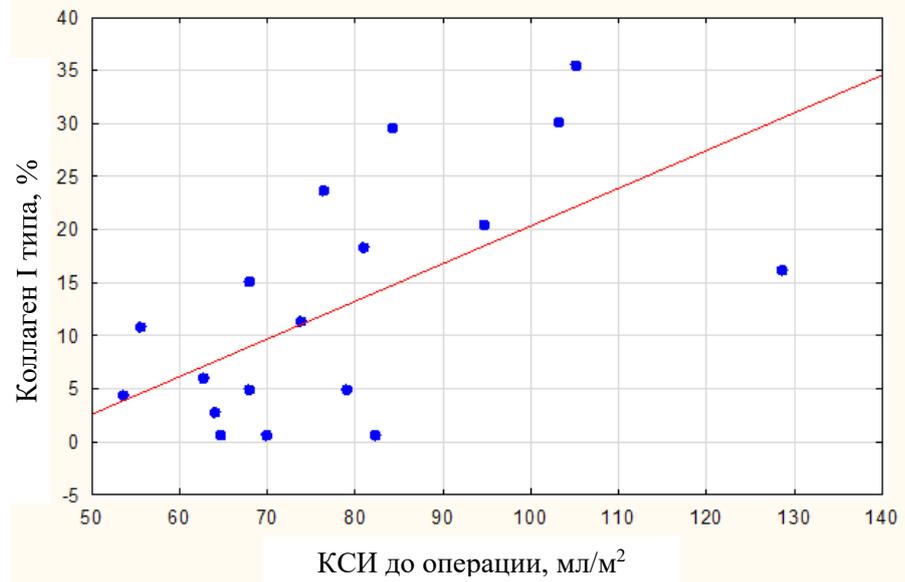


Рисунок 14 - Умеренная корреляционная взаимосвязь между конечно-систолическим индексом (КСИ), рассчитанным до операции и площадью экспрессии коллагена I типа у пациентов с ишемической кардиомиопатией ($r = 0,605$, $p < 0,05$).

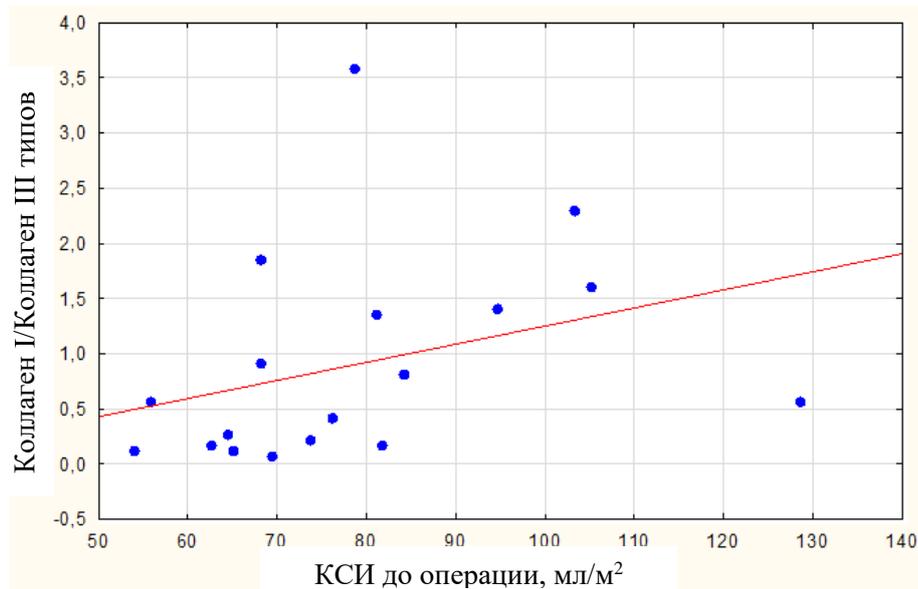


Рисунок 15 - Умеренная корреляционная взаимосвязь между конечно-систолическим индексом (КСИ), измеренным до операции, и соотношением коллагенов I и III типов у пациентов с ишемической кардиомиопатией ($r = 0,517$, $p < 0,05$).

Помимо этого, был проведен поиск корреляционных связей между изучаемыми иммуногистохимическими маркерами. Полученные корреляции представлены на следующих графиках (рис. 16-19).

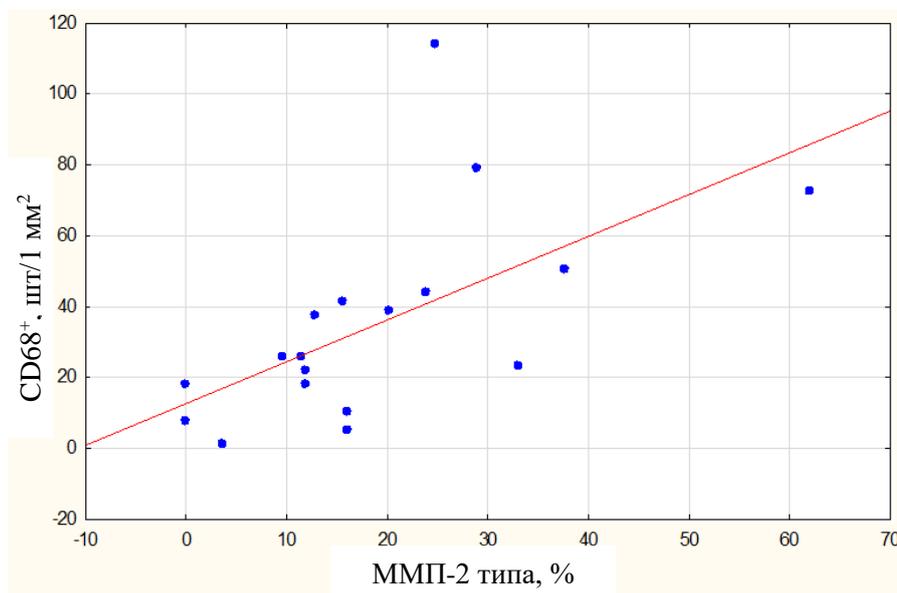


Рисунок 16 - Умеренная корреляционная взаимосвязь между количеством CD68⁺ клеток и процентным содержанием металлопротеиназы 2 типа у пациентов с ишемической кардиомиопатией ($r = 0,680$, $p < 0,05$).

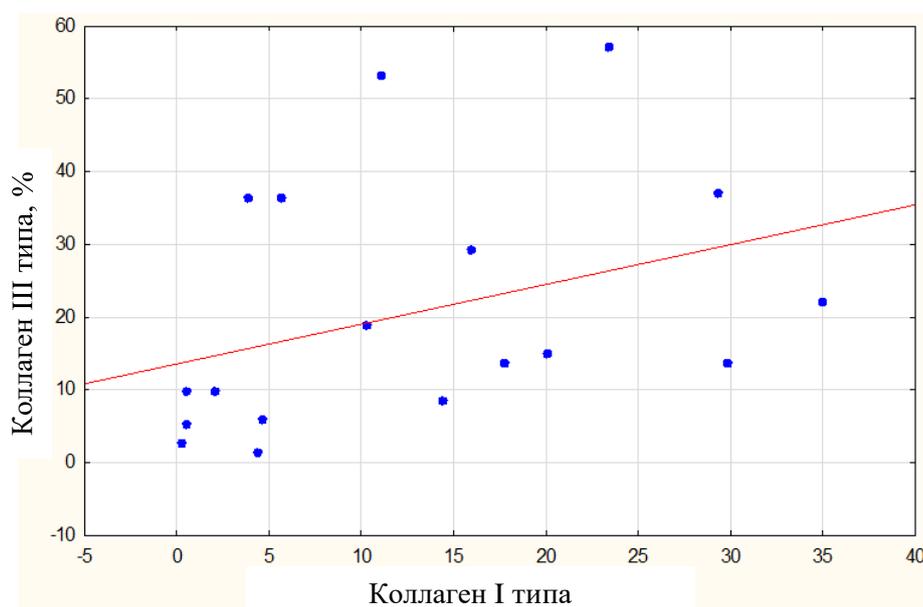


Рисунок 17 - Умеренная корреляционная взаимосвязь между процентным содержанием коллагена I типа и коллагена III типа у пациентов с ишемической кардиомиопатией ($r = 0,054$, $p < 0,05$).

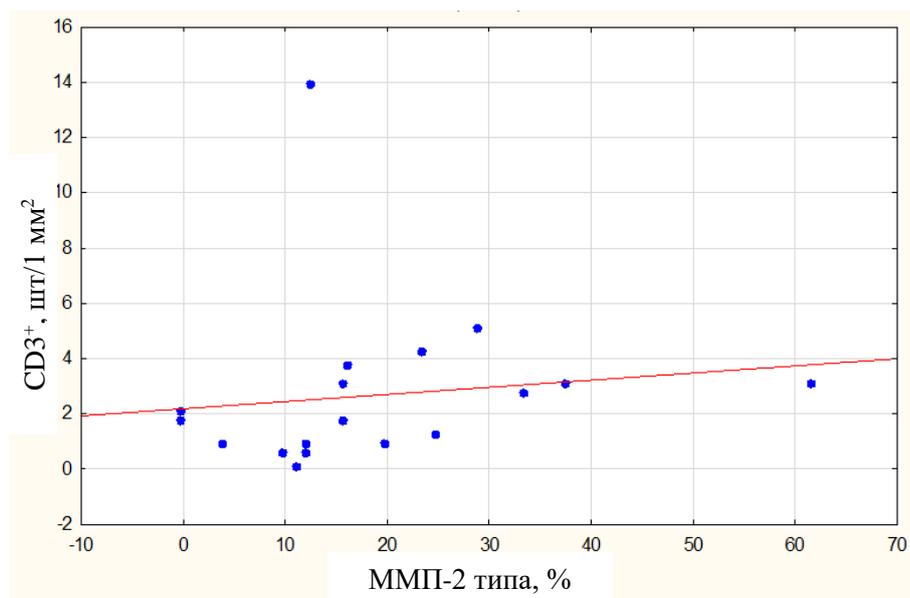


Рисунок 18 - Умеренная корреляционная взаимосвязь между количеством $CD3^+$ клеток и процентным содержанием металлопротеиназы 2 типа (ММП-2) у пациентов с ишемической кардиомиопатией ($r = 0,513$, $p < 0,05$).

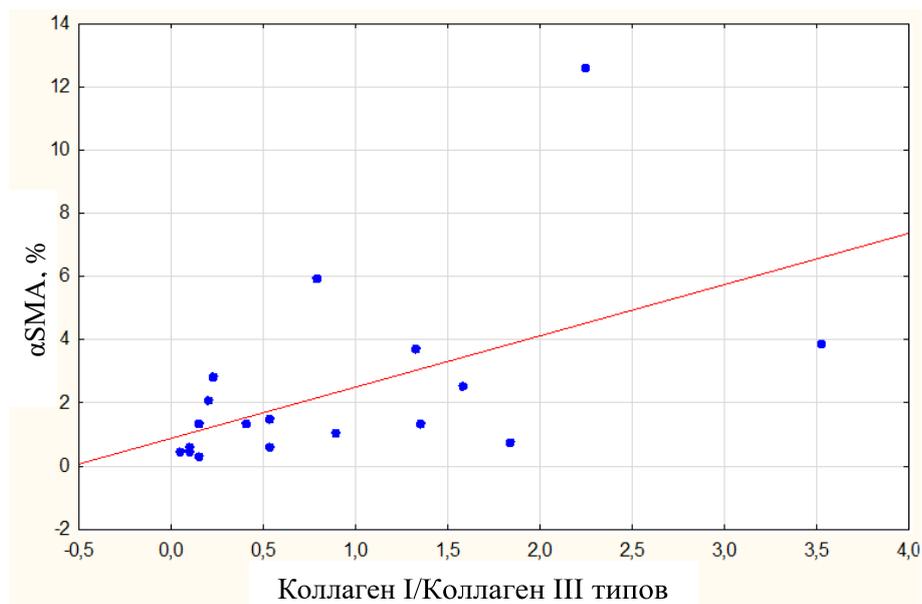


Рисунок 19 - Умеренная корреляционная взаимосвязь между процентным содержанием альфа-гладкомышечного актина и соотношением коллагенов I и III типов у пациентов с ишемической кардиомиопатией ($r = 0,625$, $p < 0,05$).

3.4 Соотношение субпопуляционного состава циркулирующих моноцитов крови с долей М1 и М2 макрофагов в миокарде при ишемической болезни сердца вне зависимости от наличия кардиомиопатии

В ходе иммунофлуоресцентного анализа было показано преобладание CD68⁺CD80⁺ макрофагов, представляющих собой М1 популяцию клеток. В меньшей степени выявлялись представители М2 макрофагов - CD68⁺CD206⁺, а также клетки CD68⁻CD206⁺.

Таблица 9 – сравнительный анализ моноцитов крови и тканевых макрофагов у пациентов с ишемической болезнью сердца и пациентов с ишемической кардиомиопатией.

Маркер	Группа 1 (ИБС без кардиомиопатии, n=4)	Группа 2 (ИКМП, n=5)	Сравнение основной и контрольной групп (U – критерий Манна-Уитни)
	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ ;Q ₇₅)	p
CD68 ⁺ , клеток на мм ²	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,730
CD68 ⁻ CD206 ⁺ , клеток на мм ²	0,0 (0,0; 1,5)	0,0 (0,0; 0,0)	0,427
CD68 ⁺ CD206 ⁺ , клеток на мм ²	0,0 (0,0; 0,5)	1,0 (0,0; 1,0)	0,660
CD68 ⁺ CD80 ⁺ , клеток на мм ²	1,0 (0,0; 2,0)	1,0 (0,0; 3,0)	0,699
CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ , %	71,3 (69,4; 76,4)	73,4 (71,2; 75,5)	0,713
CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ , %	10,1 (7,1; 11,2)	8,8 (6,9; 9,9)	0,540
CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ , %	14,4 (11,5;16,9)	11,9 (9,5;14,4)	0,270
CD14 ⁺ CD16 ⁻ , %	3,9 (2,8; 4,7)	5,5 (3,2; 7,8)	0,391

Примечание: n – число пациентов

Таблица 10 - Корреляционный анализ между субпопуляцией моноцитов в крови с популяцией макрофагов в миокарде у пациентов с ишемической кардиомиопатией и ишемической болезнью сердца.

		Популяция макрофагов, шт/1 мм ²			
		Миокард (n=9)			
			CD68 ⁺ CD80 ⁺	CD68 ⁺ CD206 ⁺	CD68 ⁻ CD206 ⁺
Субпопуляции моноцитов, % Кровь (n=9)	Классические CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻	r	-0,009	-0,727*	-0,707*
	Промежуточные CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺	r	-0,664	0,099	-0,137
	Неклассические CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺	r	-0,253	0,149	0,023
	Переходные CD14 ⁺ CD16 ⁻	r	0,297	0,199	0,365

Примечание: n – число пациентов; * - сравнение популяции тканевых макрофагов и субпопуляции моноцитов крови между пациентами с ишемической кардиомиопатией и пациентами с ишемической болезнью сердца при $p < 0,05$

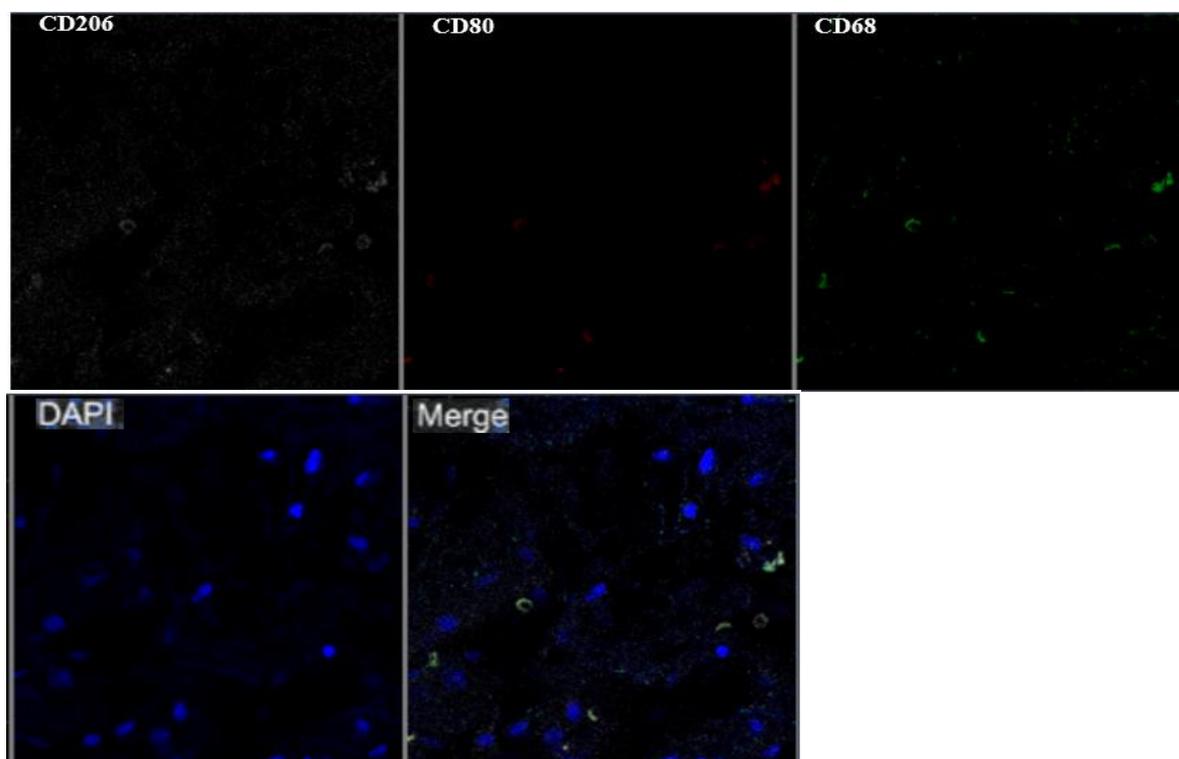


Рисунок 20 - Многоцветный флуоресцентный анализ. Ко-экспрессия CD206⁺, CD80⁺ и CD68⁺ маркеров в образцах миокарда пациентов с ишемической кардиомиопатией. Шкала соответствует 50μМ.

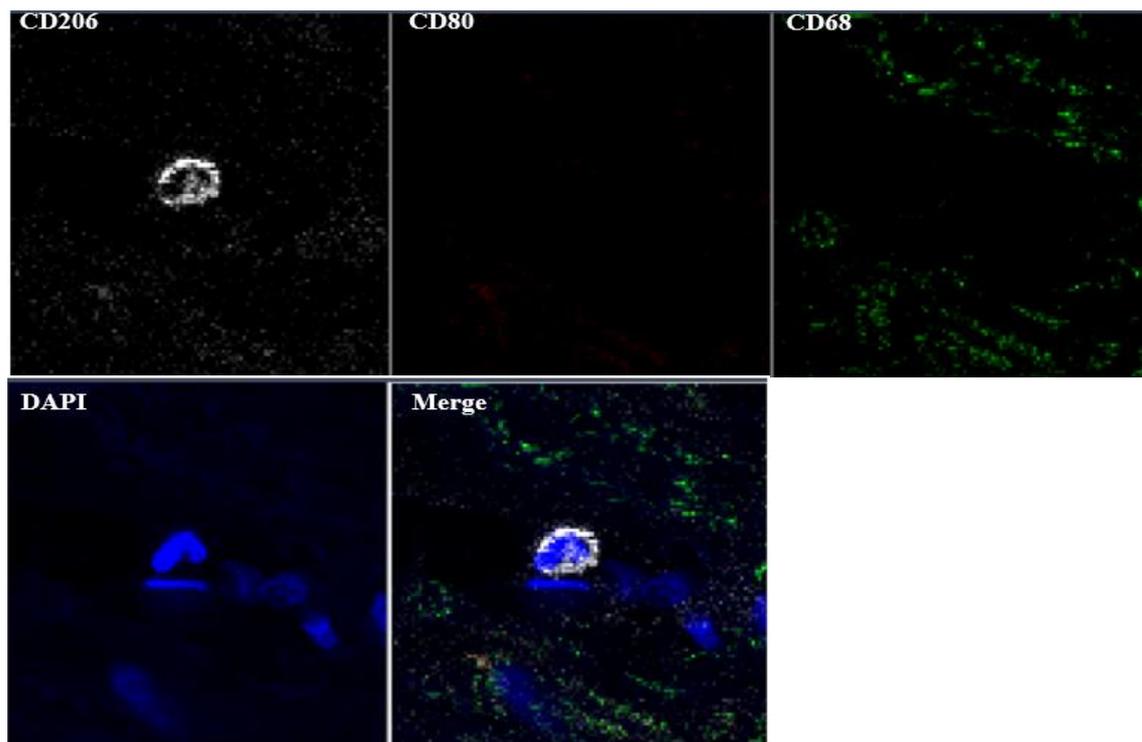


Рисунок 21 – Многоцветный флуоресцентный анализ. Экспрессия CD68⁻ CD206⁺ клеток в образцах миокарда пациентов с ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии. Шкала соответствует 50μM.

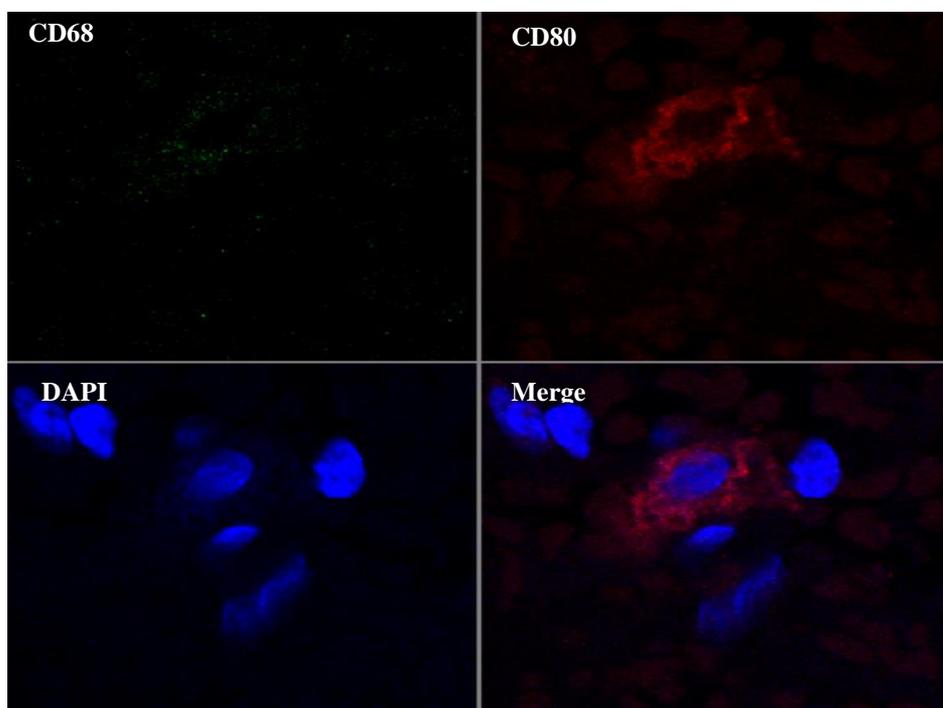


Рисунок 22 - Многоцветный флуоресцентный анализ. Ко-экспрессия CD68⁺, CD80⁺ маркеров в образцах миокарда пациентов с ишемической кардиомиопатией. Шкала соответствует 50μM.

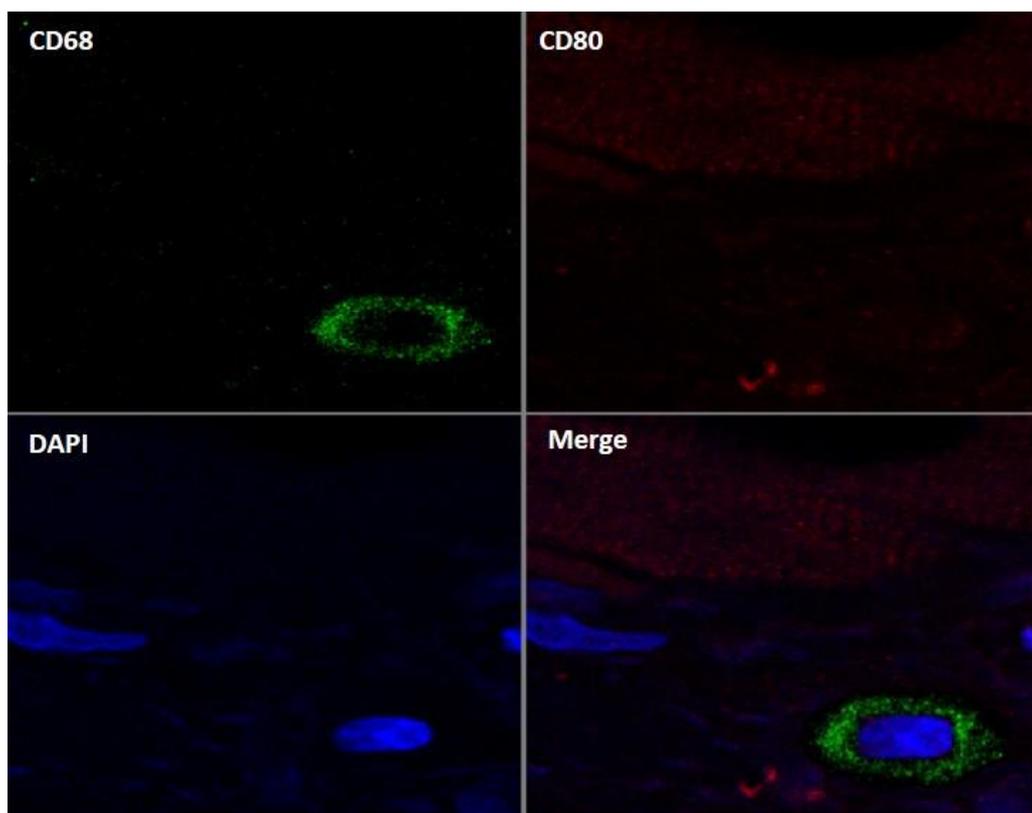


Рисунок 23 - Многоцветный флуоресцентный анализ. Экспрессия CD68⁺ маркера в образцах миокарда пациентов с ишемической кардиомиопатией. Шкала соответствует 50μМ.

В ходе корреляционного анализа между данными иммунофлуоресцентного исследования и результатов проточной цитофлуориметрии была выявлена сильная отрицательная взаимосвязь между количеством CD68⁺CD206⁺ тканевых макрофагов и популяцией классических моноцитов крови ($r = -0,727$, $p < 0,05$). Такого же рода взаимосвязь была выявлена между количеством CD206⁺ клеток и популяцией классических моноцитов крови ($r = -0,707$, $p < 0,05$).

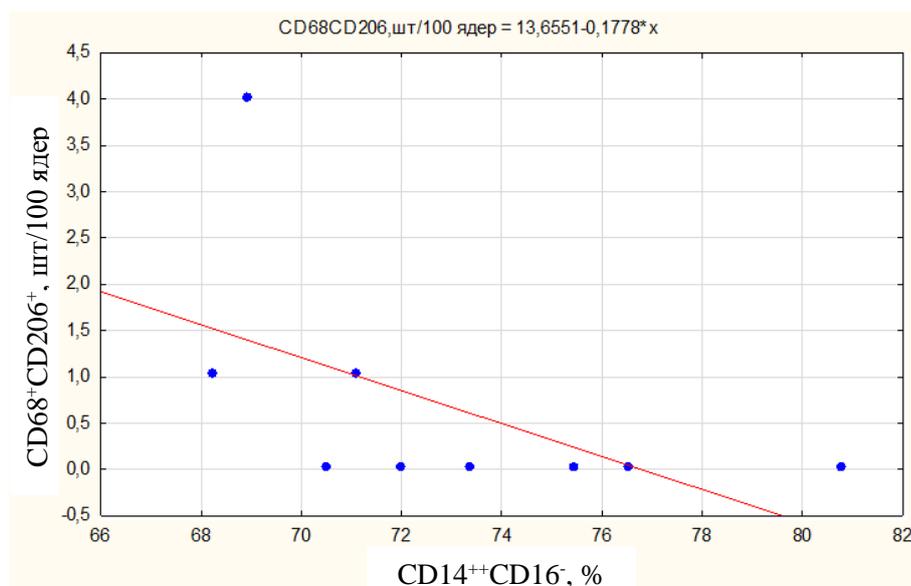
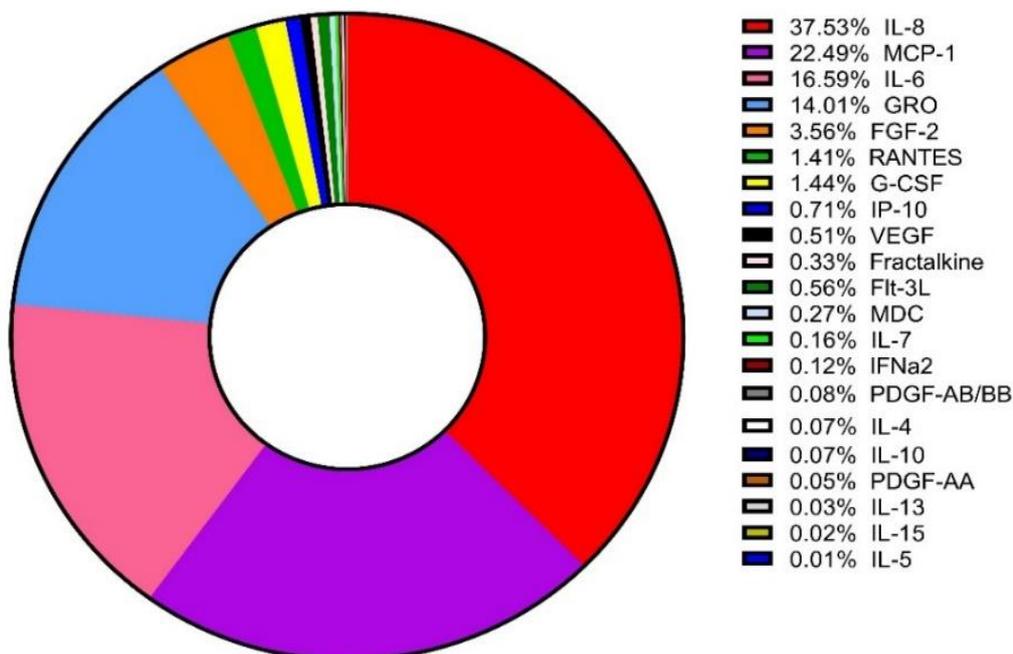


Рисунок 24 - Умеренная отрицательная корреляционная взаимосвязь между количеством CD68⁺CD206⁺ макрофагов и количеством CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца вне зависимости от наличия кардиомиопатии ($r = -0,727$, $p < 0,05$).

3.5 Определение цитокинового профиля миокарда методом мультиплексного анализа по типу проточной флуориметрии

В результате проведения мультиплексного анализа была изучена секреция клетками миокарда 41 цитокина, хемокина и фактора роста в среде DMEM/F12 с гентамицином у пациентов с ИБС и пациентов с ИКМП (рис. 26).

a Пациенты с ишемической болезнью сердца



б Пациенты с ишемической кардиомиопатией

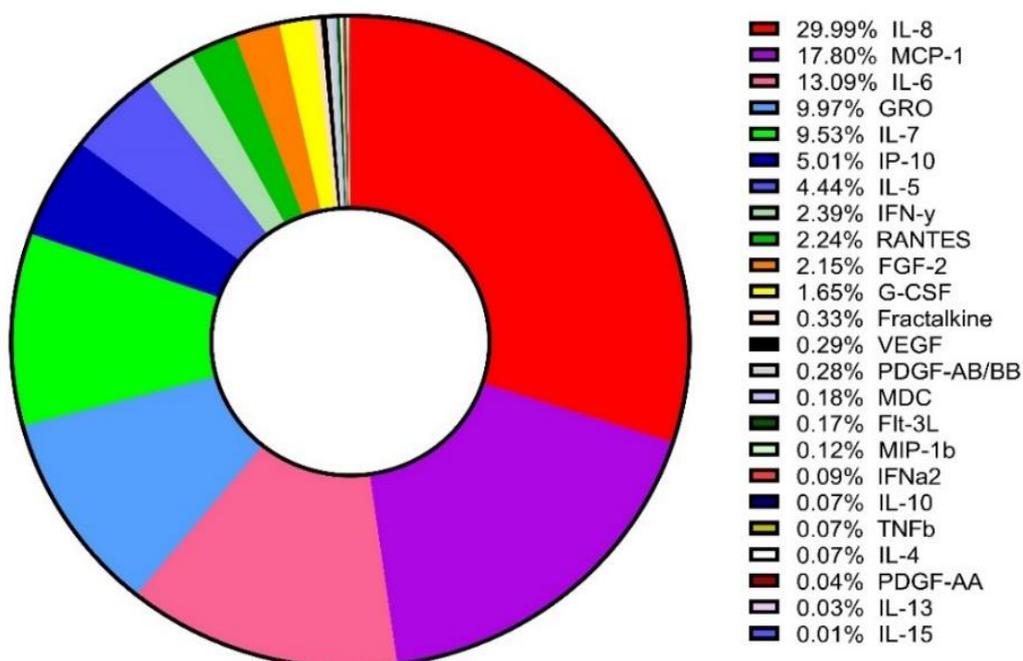


Рисунок 26 - Распределение цитокинов в зависимости от их концентрации (пг/мл) в среде DMEM/F12 с гентамицином у пациентов с ИБС без кардиомиопатии (*a*) и пациентов с ИКМП (*б*).

Примечание. Показаны средние значения концентраций цитокинов в процентном соотношении относительно друг друга.

3.5.1 Сравнение интрамиокардиальной концентрации цитокинов и факторов роста между пациентами с ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии и с ишемической кардиомиопатией

По результатам сравнения концентраций цитокинов и факторов роста между двумя группами у пациентов с ИКМП выявлено статистически значимое 3-кратное снижение секреции Fractalkine 3 ligand (Flt-3L) в сравнении с уровнем лиганда в культуре миокарда пациентов с ИБС (табл.11). С другой стороны, секреция GM-CSF и IFN- γ значительно выросла (до 78-80 пг/г, $p < 0,05$) у пациентов в группе ИКМП на фоне ИБС в отличие от нулевых значений при ИБС.

При сопоставлении содержания цитокинов и факторов роста в культуральной среде в зависимости от локализации миокарда, в перинфарктной зоне левого желудочка у пациентов с ИКМП или ИБС отмечено статистически значимое снижение (в сравнении с УПП) секреции 6 анализов: фактора роста фибробластов-2 (FGF-2) (до 26%, $p=0,001$), Flt-3L (до 19%, $p=0,003$), тромбоцитарного фактора роста-AB/BB (PDGFAB/BB) (до 30%, $p=0,012$), IL-15 (до 0, $p=0,007$), IL-4 (до 0, $p=0,027$) и RANTES (до 15%, $p=0,027$). Данные статистического анализа представлены в таблице 11 и на рисунках 27 и 28.

Таблица 11 - Концентрации цитокинов, хемокинов и факторов роста при 24-часовом культивировании образцов миокарда ушка правого предсердия и перинфарктной зоны левого желудочка у пациентов с ИКМП и ИБС без кардиомиопатии, Me (Q_{25} ; Q_{75}).

Цитокины, хемокины и факторы роста	Концентрация, пг/г миокарда в 1 мл среды			
	Пациенты с ИКМП на фоне ИБС n=9 n ₁ =27	Пациенты с ИБС (контроль) n=6 n ₁ =14	Перинфарктная зона ЛЖ n=15 n ₁ =41	Ушко правого предсердия (контроль) n=13 n ₁ =35
EGF	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)

FGF-2	3512,3 (589,4 – 10010,6)	6861, 2 (3591,3 – 10060,8)	2669,1 (189,4 - 3674,6)	10123,3** (6346,1 – 13952,3) p=0,001
Eotaxin	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0**(0,0 – 179,7) p=0,027	0,0 (0,0 – 0,0)
TGF-a	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
G-CSF	2327,5 (541,7 – 6981,2)	1514,8 (949,7 – 5467,0)	1437,3 (625,8 – 3468,5)	3603,6 (968,2 – 10709,9)
Flt-3L	273,9 (67,5 – 733,9)	812,8* (271,3 – 1296,0) p=0,042	178,3 (82,8 – 312,2)	957,5** 643,8 – 1192,0) p=0,003
GM-CSF	80,0* (29,0 – 121,4) p=0,026	0,0 (0,0 – 64,4)	47,4 (0,0 – 116,2)	67,9 (11,2 – 89,4)
Fractalkine	1149,6 (148,01 – 1823,0)	853,5 (0,0 - 1401,2)	788,1 (0,0 – 1689,6)	1196,1 (527,2 – 1681,8)
IFN α 2	182,9 (0,0 – 592,7)	269,1 (0,0 - 503,1)	87,5 (0,0 – 301,8)	411,0 (105,3 – 592,7)
IFN- γ	77,6* (25,3 – 130,9) p=0,012	0,0 (0,0 – 45,6)	25,3 (0,0 – 90,1)	71,0 (17,6 – 84,1)
GRO	20446,4 (1590,4 – 47288,6)	25225,2 (13777,8 – 33093,3)	24317,9 (2774,9 – 31566,6)	21353,7 (8173,5 – 64494,3)
IL-10	0,6 (0,2 – 1,4)	0,7 (0,3 – 1,6)	0,8 (0,2 – 1,8)	0,6 (0,3 – 1,2)
MCP-3	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
IL-12p40	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
MDC	375,4 (132,4 – 544,9)	533,5 (400,51 – 656,9)	414,0 (117,7 – 556,8)	450,7 (345,1 – 733,3)
IL-12p70	39,3 (0,0 – 139,2)	16,2 (0,0 – 73,1)	38,3 (0,0 – 133,8)	17,3(0,0 – 95,5)
PDGF-AA	50,6 (0 – 115,5)	85,21 (0,0 - 139,8)	85,9 (0,0 – 139,8)	55,7 (0,0 – 97,3)
IL-13	115,5 (34,3 – 174,8)	79,2 (31,5 – 96,4)	94,7 (26,2 – 190,0)	82,9 (36,5 – 115,5)
PDGF-AB/BB	111,6 (18,5 – 245,9)	81104 (60,7 – 184,8)	60,2 (0,0 – 108,8)	199,8** (83,3 – 264,2) p=0,012
IL-15	0,0* (0,0 – 17,8)	50,9 (0,0 -67,4) p<0,05	0,0 (0,0-0,0)	50,9** (9,7 – 76,4) p=0,007
sCD40L	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
IL-17A	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
IL-1RA	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
IL-1a	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)

IL-9	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
<i>Продолжение таблицы 11</i>				
IL-1b	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
IL-2	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
IL-3	11,4 (3,5 – 20,1)	8,4 (4,2 – 11,0)	9,3 (3,6 – 13,0)	10,4 (6,5 – 16,1)
IL-4	9,1 (0,0 – 278,5)	0,0 (0,0 – 192,2)	0,0 (0,0 – 5,2)	140,2** (0,0 – 472,4) p=0,027
IL-5	18,2 (7,9 – 55,5)	11,9 (8,5 – 13,8)	15,8 (7,6 – 33,0)	14,2 (8,8 – 19,0)
IL-6	40437,1 (2710,2 – 90352,0)	33452,9 (18382,3 – 57609,3)	38160,3(7907,5 – 95466,0)	32088,2 (9115,8 – 81466,6)
IL-7	770,6 (226,2 – 1143,6)	299,2 (221,5 – 522,8)	647,2 (295,8 – 1036,3)	430,4 (213,4 – 765,7)
IL-8	133125,7 (1752,2 - 199863,3)	93824,7 (40033,1 – 153981,1)	80796,6 (11182,9 – 199987,0)	135778,7 (11421,5 – 199795,7)
IP-10	2181,5 (1299,1 – 3857,4)	1498,7 (815,6 – 2187,6)	1511,6 (912,8 – 4123,0)	2182,3 (1397,2 – 3047,1)
MCP-1	47304,1 (3124,7 – 115210,9)	46714,4 (27893,8 – 75625,4)	47696,1 (17826,2 – 118332,6)	46714,4 (15794,5 – 98294,0)
MIP-1a	0,0 (0,0 – 323,8)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 -402,5)
MIP-1b	0,0 (0,0 – 146,4)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)	0,0 (0,0 – 0,0)
RANTES	1828,6 (263,8 – 3523,1)	1668,9 (443,9 – 3258,7)	501,4 (231,8 – 2120,0)	3258,7** (1565,6– 5549,0) p=0,037
TNFa	50,7 (23,7 – 82,7)	42,6 (28,5 – 86,8)	39,3 (23,9 – 86,8)	53,2 (24,8 – 82,7)
TNFb	14,9 (5,4 – 29,6)	8,8 (4,3 – 13,9)	12,4 (5,6 – 29,0)	10,8 (4,8 – 19,3)
VEGF	120,8 (0,0 – 2052,8)	0,0 (0,0 – 3864,9)	120,7 (0,0 – 2775,6)	0,0 (0,0 – 2015,9)

* - сравнение между пациентами с ИКМП и пациентами с ИБС ($p < 0,05$)

** - сравнение между УПП и перинфарктной зоной ЛЖ у пациентов обеих групп (ИКМП и ИБС) ($p < 0,05$). Данные по зонам миокарда УПП и ПЗ-ЛЖ включают значения обеих групп пациентов (ИБС и ИКМП); n – число пациентов; n_1 – число определений концентраций

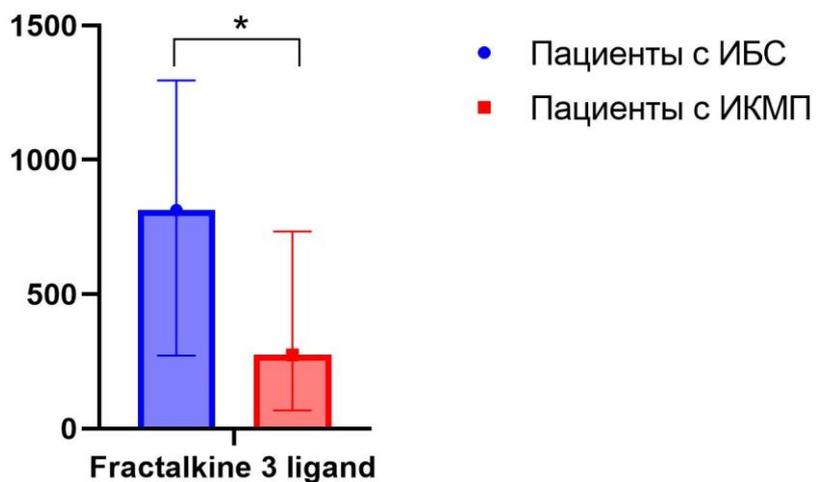


Рисунок 27 - Концентрация Fractalkine 3 ligand в среде DMEM/F12 с гентамицином у пациентов с ишемической кардиомиопатией и пациентов с ишемической болезнью сердца.

Примечание. Показаны медианы; * - различия достоверны при уровне значимости $p < 0,05$.

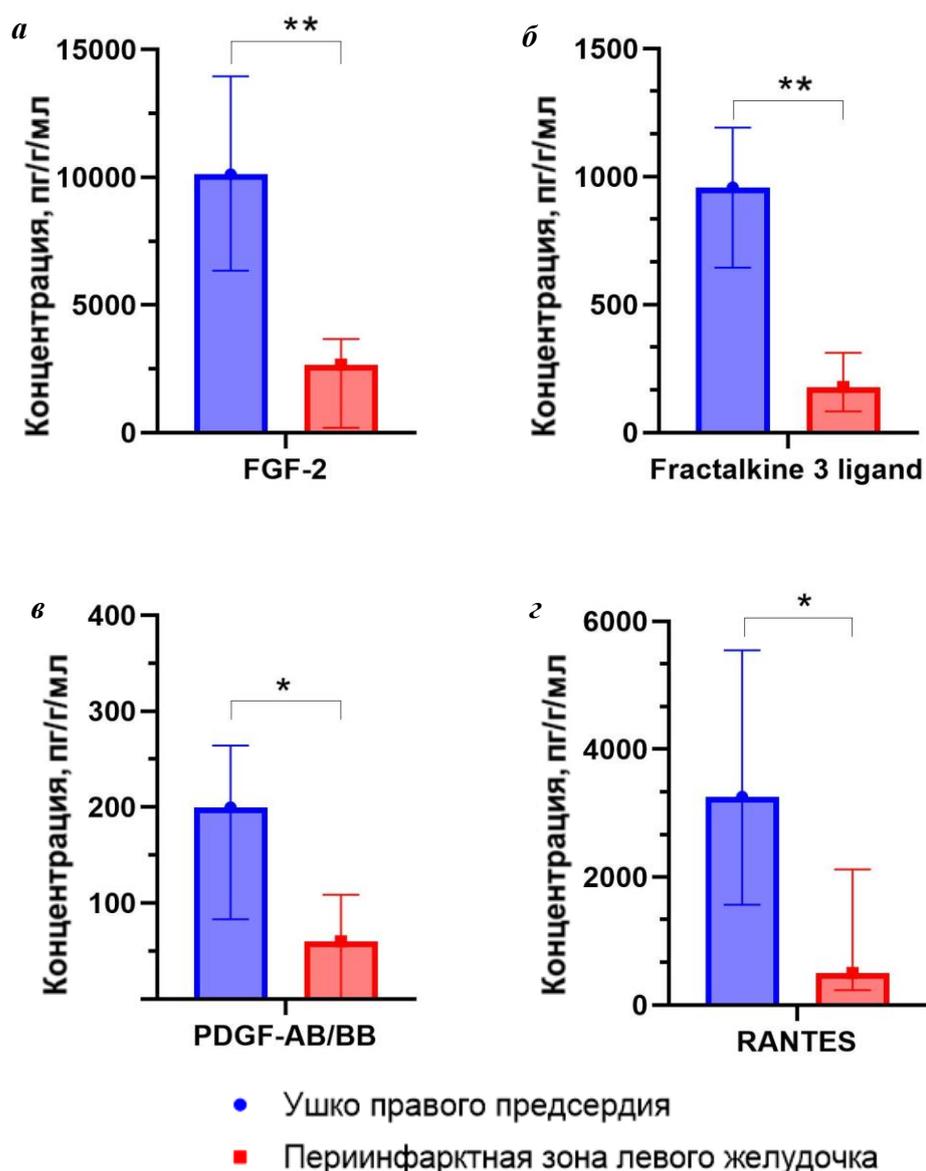


Рисунок 28 - Концентрация Fractalkine 3 ligand (а), основного фактора роста фибробластов (FGF-2) (б), тромбоцитарного фактора роста-AB/BB (PDGF-AB/BB) (в) и хемокина, экспрессируемого и секретируемого Т-клетками при активации (RANTES) (г) в среде DMEM/F12 с гентамицином у пациентов с ишемической кардиомиопатией и пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от зоны миокарда.

Примечание. Показаны медианы; * - различия достоверны при уровне значимости $p < 0,05$, ** - различия достоверны при уровне значимости $p < 0,01$. Концентрация указана в пг/г миокарда в 1 мл среды.

3.5.2 Сравнение концентрации цитокинов, хемокинов и факторов роста в тканевой культуре миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца и ишемической кардиомиопатией с обратным и прогрессирующим типом ремоделирования

При сравнении секреции цитокинов тканевой культурой миокарда пациентов с ИБС и ИКМП с обратным (ОР) и прогрессирующим типом ремоделирования (ПР) значимые различия были выявлены для 6 анализов (табл.12). У пациентов с прогрессирующим ремоделированием ЛЖ отмечено статистически значимое увеличение секреции GRO (в 248 раз, $p=0,025$) и IL-8 (в 77 раз, $p=0,034$), секреция G-CSF и RANTES возросла до 765,2 пг/г и 1188,0 пг/г, соответственно, у пациентов с ПР ЛЖ в отличие от нулевых значений при ОР ЛЖ. Повышенная секреция IP-10 (в 70 раз, $p=0,005$) и TNF α (в 20 раз, $p=0,026$) отмечена у пациентов с ОР ЛЖ по сравнению с ПР ЛЖ (табл.12).

Таблица 12 - Сравнение концентрации цитокинов у пациентов с ишемической кардиомиопатией с разными типами ремоделирования левого желудочка, Me (Q₂₅ ; Q₇₅)

Аналит	Концентрация, пг/г миокарда в 1 мл среды		Сравнение ОР ЛЖ и ПР ЛЖ (U – критерий Манна-Уитни)
	Обратное ремоделирование (ОР) ЛЖ, n=3; n ₁ = 1 с ИКМП, 2 с ИБС)	Прогрессирующее ремоделирование (ПР) ЛЖ, n=5; n ₁ =3 с ИКМП, 2 с ИБС)	
	Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	p
G-CSF	0,0 (0,0 ; 0,0)	765,2 (402,6 ; 1370,4)	0,017*
GRO	44,4 (0,0 ; 1100,5)	11035,2 (2080,4 ; 32472,1)	0,025*
IL-8	528, 8 (261,0 ; 821,5)	40628,1 (1799,7 ; 117576,4)	0,034*
IP-10	107624,9 (2798,5 ; 199928,8)	1549,9 (752,2 ; 2387,2)	0,005*
RANTES	0,0 (0,0 ; 409)	1188,0 (75,1 ; 2380,8)	0,025*

TNF α	494,9 (104,9 ; 1329,2)	25,3 (13,9 ; 41,2)	0,026*
--------------	------------------------	--------------------	--------

Прим.: при уровне значимости $p < 0,05$ между пациентами с обратным ремоделированием левого желудочка (ОР ЛЖ) и прогрессирующим ремоделированием левого желудочка (ПР ЛЖ). Данные по ОР и ПР ЛЖ включают значения обеих групп пациентов (ИБС и ИКМП); n – число пациентов; n_1 – принадлежность к группе пациентов

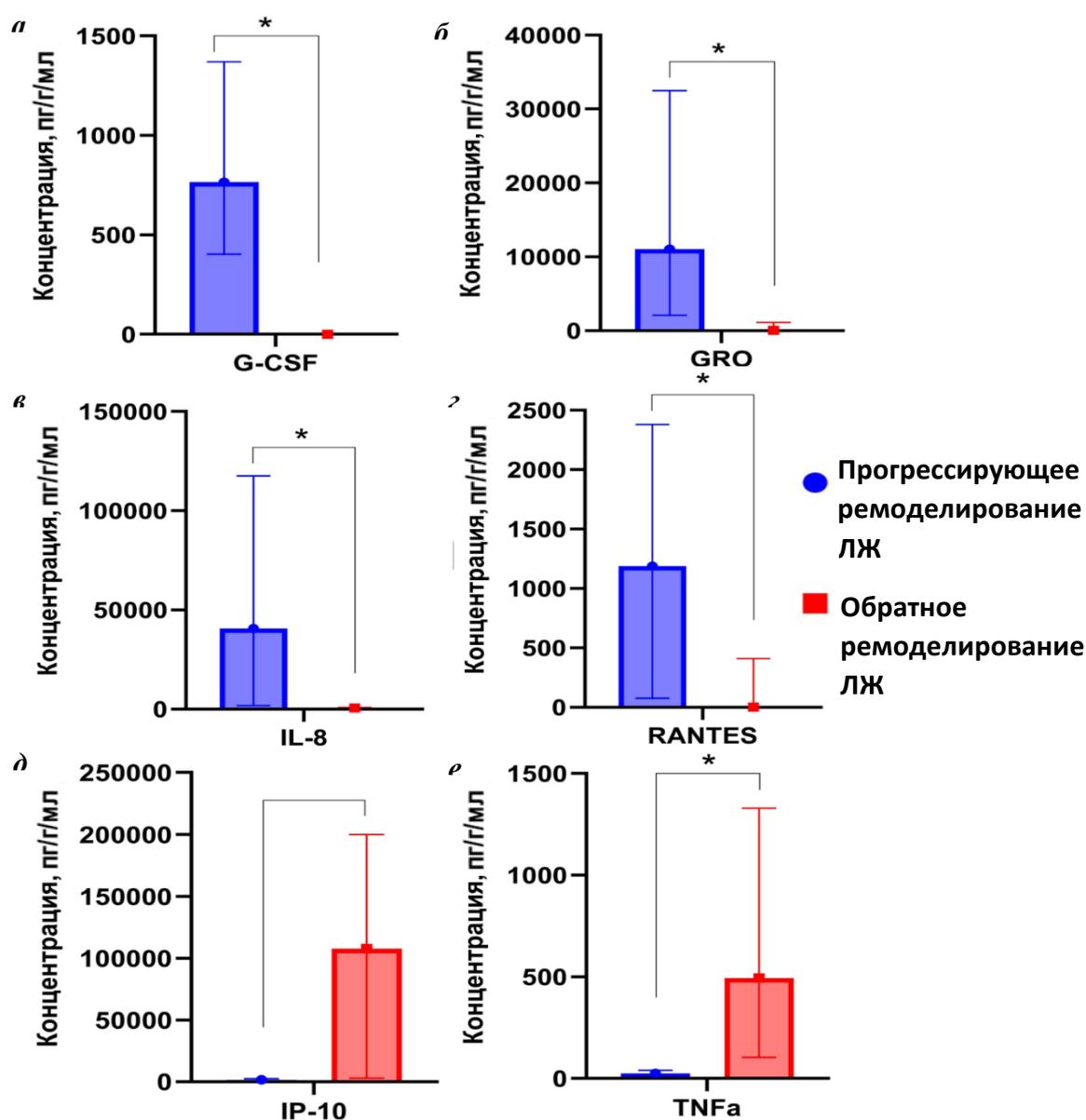


Рисунок 29 - Концентрация G-CSF (а), GRO (б), IL-8 (в), RANTES (г), IP-10 (д) и TNF α (е) в среде DMEM/F12 с гентамицином у пациентов с ишемической кардиомиопатией и пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от типа ремоделирования левого желудочка.

Примечание. Показаны медианы; * - различия достоверны при уровне значимости $p < 0,05$, ** - различия достоверны при уровне значимости $p < 0,01$. Концентрация указана в пг/г миокарда в 1 мл среды.

3.5.3 Определение взаимосвязей между концентрацией цитокинов, хемокинов и факторов роста и морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца и ишемической кардиомиопатией

Корреляционный анализ между концентрацией цитокинов, хемокинов и факторов роста с морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ИКМП и ИБС показал различные достоверные взаимосвязи (табл. 13 и 14, соответственно).

Анализ взаимосвязей морфометрических показателей с концентрацией цитокинов у пациентов с ИКМП выявил положительные достоверные связи между удельной площадью (УП) интерстициального отека миокарда и FGF-2, PDGF-AB/BB, IL-15 и отрицательные достоверные связи с IL-2, IL-5, IL-7 и TGF- α . У пациентов с ИБС наблюдалась похожая картина по показателю «УП интерстициального отека»: были выявлены отрицательные достоверные связи с IL-5, IL-7, TNF- α , TNF β и VEGF. С наличием воспалительного инфильтрата у пациентов с ИКМП отрицательно прокоррелировали такие провоспалительные цитокины, как IL-5, IL-7, IP-10, у пациентов с ИБС, наоборот, были обнаружены сильные положительные связи с IL-5, IL-8, IL-13, TNF- α , TNF β и VEGF. С этими же цитокинами была выявлена обратная взаимосвязь УП ядер кардиомиоцитов и УП ядер клеток стромы у пациентов с ИБС.

Для последующего изучения взаимосвязи концентрации цитокинов, хемокинов и факторов роста, рассматриваемых, как предикторы, и морфометрических показателей миокарда, принимаемых за результирующие переменные, был проведен множественный регрессионный анализ (табл. 15).

Таблица 13. Корреляционный анализ концентрации цитокинов, хемокинов и факторов роста с морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ишемической кардиомиопатией.

		Диаметр КМЦ, мм	Воспалите льный ИФ, шт	УП паренхи мы	УП стромы миокарда	УП ядер КМЦ	УП ядер клеток стромы	УП перинуклеар ного отека	УП интерстици ального отека	УП сосудов	УП капилляров
FGF-2	r	-0,053	0,249	-0,035	0,492	0,421	0,228	-0,293	0,755*	0,211	0,031
Eotaxin	r	0,350	-0,123	0,069	0,362	-0,021	-0,250	0,578*	-0,081	0,211	-0,473
TGF-a	r	0,086	-0,136	-0,405	-0,621*	-0,421	-0,587*	-0,211	-0,677	-0,330	0,330
G-CSF	r	-0,486	-0,478	0,326	0,385	0,357	0,060	-0,101	0,100	0,350	-0,067
Flt-3L	r	-0,135	0,229	0,135	0,462	0,410	0,347	-0,200	0,746*	0,283	0,181
GM-CSF	r	-0,097	-0,470	-0,312	-0,173	-0,134	-0,560*	-0,228	-0,533*	-0,027	0,118
Fractalkine	r	-0,280	-0,285	0,016	0,487	0,253	0,114	-0,158	0,114	0,186	-0,194
IFNa2	r	0,015	-0,004	0,119	0,332	0,333	-0,048	-0,087	0,143	0,251	0,016
IFN-y	r	-0,068	-0,279	-0,390	-0,150	-0,242	-0,330	-0,374	-0,437	-0,120	0,232
GRO	r	-0,227	0,218	0,402	0,538*	0,544*	0,228	0,050	0,302	0,509*	-0,004
IL-10	r	0,500*	-0,028	0,498*	0,112	0,537*	0,268	0,550*	0,162	0,627*	-0,259
MCP-3	r	0,365	0,228	-0,140*	0,252*	-0,196	0,364	-0,196	0,364	-0,028	0,142
IL-12p40	r	-0,056	0,036	-0,570*	-0,575*	-0,571*	-0,570*	-0,488	-0,570*	-0,571*	0,231
MDC	r	-0,035	-0,055	0,047	0,558*	0,434	0,085	0,077	0,432	0,405	-0,180
IL-12p70	r	-0,054	0,032	-0,255	0,327	0,001	-0,022	-0,451	-0,007	-0,113	0,052
PDGF-AA	r	-0,038	-0,278	0,137	-0,170	-0,049	-0,398	0,446	-0,140	0,230	-0,266
IL-13	r	-0,439	-0,401	0,373	0,044	0,223	0,080	0,048	-0,347	0,215	0,110

PDGF-AB/BB	r	-0,199	0,150	0,019	0,385	0,169	0,136	-0,140	0,780*	0,095	-0,220
IL-15	r	0,057	0,202	0,139	0,232	0,505*	0,382	-0,341	0,629*	0,424	0,290
sCD40L	r	0,160	0,153	0,099	0,176	0,177	0,433	-0,062	0,427	0,380	0,076
IL-1RA	r	0,225	0,118	0,102	0,099	-0,094	0,301	0,020	0,416	0,112	-0,103
IL-1a	r	0,421	0,228	-0,252	0,364	-0,140	-0,084	0,308	-0,084	-0,112	-0,142
IL-9	r	0,140	0,085	-0,420	-0,364	-0,420	-0,420	-0,364	-0,420	-0,420	0,369
IL-1b	r	0,094	-0,302	0,276	0,143	0,079	-0,220	0,455	-0,017	0,330	-0,457
IL-2	r	0,129	-0,189	-0,314	-0,591*	-0,334	-0,548*	-0,094	-0,664*	-0,218	0,339
IL-3	r	-0,371	-0,240	-0,141	0,323	-0,177	0,029	-0,382	-0,077	-0,195	0,210
IL-4	r	0,203	-0,101	0,095	0,107	0,419	-0,076	-0,139	0,227	0,510*	0,269
IL-5	r	-0,274	-0,512*	-0,152	-0,247	-0,222	-0,404	-0,154	-0,755*	-0,107	0,334
IL-6	r	-0,404	-0,370	0,350	0,620*	0,298	0,331	0,079	0,129	0,297	-0,250
IL-7	r	-0,348	-0,544*	-0,088	-0,279*	-0,231	-0,398	-0,183	-0,747*	-0,136	0,277
IL-8	r	-0,531*	-0,494	0,314	0,523*	0,101	0,219	0,008	0,014	0,139	-0,253
IP-10	r	-0,259	-0,523*	-0,367	-0,208	-0,519*	-0,613*	0,025	-0,570*	-0,273	0,312
MCP-1	r	-0,433	-0,422	0,367	0,517*	0,260	0,275	0,178	0,102	0,321	-0,168
MIP-1a	r	0,094	0,066	0,332	0,158	0,677*	0,155	-0,049	0,366	0,506*	-0,062
MIP-1b	r	0,093	-0,284	-0,082	-0,597*	-0,042	-0,576*	-0,032	-0,389	0,064	0,392
RANTES	r	-0,356	-0,179	0,423	0,388	0,290	0,188	0,219	0,470	0,382	-0,283
TNFa	r	-0,510*	-0,443	0,385	0,488	0,344	0,284	-0,067	0,288	0,328	-0,038
TNFb	r	-0,067	-0,452	0,150	0,088	0,123	-0,089	0,055	-0,423	0,253	0,425

VEGF на 1 гр	r	-0,403	-0,313	0,136	0,479	0,318	0,064	-0,135	0,216	0,272	-0,324
--------------	---	--------	--------	-------	-------	-------	-------	--------	-------	-------	--------

*при уровне значимости $p < 0,05$

Таблица 14. Корреляционный анализ концентрации цитокинов, хемокинов и факторов роста с морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии.

		Диаметр КМЦ, мм	Воспалите льный ИФ, шт	УП паренхи мы	УП стромы миокарда	УП ядер КМЦ	УП ядер клеток стромы	УП перинуклеар ного отека	УП интерстициа льного отека	УП сосудов	УП капилляров
FGF-2	r	0,079	0,280	-0,236	-0,321	-0,200	-0,224	0,066	0,115	-0,306	0,123
Eotaxin	r	-0,264	0,469	-0,311	0,207	-0,467	-0,155	-0,389	-0,467	0,066	0,377
TGF-a	r	0,605	0,517	-0,244	0,107	-0,233	-0,122	-0,333	0,102	-0,023	0,144
G-CSF	r	0,674*	0,280	-0,284	-0,745*	-0,090	-0,418	0,175	-0,272	-0,556	-0,043
Flt-3L	r	-0,376	-0,335	0,187	0,127	0,212	0,139	0,260	0,587	0,087	-0,116
GM-CSF	r	-0,236	0,312	-0,266	-0,382	-0,266	-0,669*	-0,211	-0,218	-0,288	0,367
Fractalkine	r	-0,055	0,549	-0,533	-0,386	-0,546	-0,484	-0,423	-0,546	-0,354	0,579
IFNa2	r	0,609	0,376	-0,325	-0,656*	-0,276	-0,349	-0,030	-0,361	-0,481	0,174
IFN-y	r	0,226	-0,030	0,198	0,027	0,047	-0,054	0,218	0,109	0,292	0,152
GRO	r	0,291	0,567	-0,345	-0,539	-0,406	-0,672*	-0,212	-0,478	-0,362	0,375
IL-10	r	0,419	-0,207	0,163	0,151	0,369	0,333	0,539	0,139	0,286	-0,313
MCP-3	r	0,333	-0,177	-0,122	0,188	0,449	0,221	0,102	0,122	-0,333	-0,199
IL-12p40	r	0,404	0,554	0,334	-0,128	0,088	-0,199	0,091	0,033	-0,344	0,087

Продолжение таблицы 14

MDC	r	-0,261	0,451	-0,515	-0,078	-0,393	-0,248	-0,090	-0,200	-0,300	0,215
IL-12p70	r	0,025	0,292	-0,329	-0,200	-0,342	-0,303	-0,148	-0,484	-0,120	0,387
PDGF-AA	r	0,172	-0,425	0,411	0,423	0,533	0,398	0,411	0,263	0,424	-0,498
IL-13	r	0,261	0,823*	-0,648*	-0,575	-0,684*	-0,612	-0,321	-0,709*	-0,556	0,430
PDGF-AB/BB	r	-0,218	-0,018	-0,054	-0,200	-0,115	-0,224	-0,066	0,212	-0,256	0,110
IL-15	r	0,584	-0,259	0,190	-0,128	0,361	0,190	0,521	0,202	0,101	-0,255
sCD40L	r	0,107	-0,188	0,302	-0,056	0,124	-0,144	0,501	0,345	-0,199	0,100
IL-1RA	r	0,099	0,221	0,333	-0,101	0,133	0,088	0,200	0,309	0,205	0,202
IL-1a	r	-0,021	0,109	-0,098	0,302	0,404	0,076	0,305	-0,077	-0,188	-0,404
IL-9	r	-0,088	0,109	0,400	-0,033	-0,094	0,421	-0,209	-0,144	-0,193	0,098
IL-1b	r	0,523	-0,291	0,522	-0,058	0,522	-0,058	0,290	0,290	0,179	-0,412
IL-2	r	0,044	-0,098	0,408	-0,066	0,555	-0,122	-0,097	0,499	0,303	-0,323
IL-3	r	-0,145	0,481	-0,454	-0,381	-0,466	-0,551	-0,284	-0,309	-0,343	0,523
IL-4	r	0,321	0,127	-0,126	-0,589	-0,126	-0,439	-0,067	-0,126	-0,346	0,265
IL-5	r	0,060	0,920*	-0,745*	-0,696*	-0,781*	-0,854*	-0,563	-0,793*	-0,681*	0,609
IL-6	r	0,182	0,487	-0,393	-0,345*	-0,369	-0,466	-0,115	-0,551	-0,250	0,295
IL-7	r	0,231	0,506	-0,454	-0,406	-0,418	-0,442	-0,212	-0,636*	-0,306	0,369
IL-8	r	-0,012	0,743*	-0,587	-0,490	-0,636*	-0,672*	-0,490	-0,600	-0,450	0,603
IP-10	r	-0,097	0,317	-0,406	-0,309	-0,260	-0,369	-0,175	-0,224	-0,418	0,178
MCP-1	r	-0,097	0,371	-0,345	-0,127	-0,284	-0,357	0,054	-0,224	-0,131	0,240
MIP-1a	r	0,303	-0,052	0,017	-0,467	0,017	-0,371	0,147	-0,043	-0,174	0,158

Продолжение таблицы 14

MIP-1b	r	0,123	-0,340	-0,098	0,202	0,023	-0,304	0,268	-0,450	-0,166	-0,099
RANTES	r	-0,370	-0,121	0,200	0,163	0,187	-0,078	0,178	0,624	0,075	-0,141
TNFa	r	0,316	0,853*	-0,733*	-0,781	-0,709*	-0,745*	-0,430	-0,830*	-0,744*	0,461
TNFb	r	0,024	0,823*	-0,684*	-0,563	-0,721*	-0,733*	-0,478	-0,672*	-0,569	0,590
VEGF	r	-0,133	0,690*	-0,641*	-0,361	-0,764*	-0,566	-0,477	-0,785*	-0,369	0,665*

*при уровне значимости $p < 0,05$

Таблица 15 - Стандартизированные β -коэффициенты полученной модели множественной регрессионной связи морфометрических показателей миокарда с концентрациями цитокинов в тканевой *in vitro* культуре миокарда, эксплантированного у пациентов с ИКМП (n=9) или ИБС без кардиомиопатии (n=6). Морфометрические показатели учитывались в обеих зонах миокарда: УПП и перинфарктной зоне ЛЖ.

Цитокин/хемокин	β -коэффициент	Стандартная ошибка коэффициента	p	R ²
Пациенты с ишемической кардиомиопатией (ИКМП) (n=9)				
Диаметр кардиомиоцитов, $\mu\text{м}$				
IL-8	-0,731334	0,182277	0,001285	0,502
Удельная площадь стромы миокарда				
IL-6	0,660712	0,200617	0,005332	0,436
Пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС) (n=6)				
Воспалительный инфильтрат в миокарде, шт/ мм^2				
IL-5	0,868237	0,175416	0,001121	0,753
Удельная площадь капилляров в миокарде, количество наблюдений на 1 мм^2				
VEGF	0,657714	0,266320	0,038732	0,432

Примечание: n – число пациентов; уровень достоверности p согласно F-тесту.

Множественный регрессионный анализ показал обратно пропорциональную взаимосвязь между концентрацией IL-8 в миокарде и диаметром кардиомиоцитов у пациентов с ИКМП.

В ходе корреляционного анализа наибольшее количество корреляционных взаимосвязей было выявлено между цитокинами и такими морфометрическими показателями, как УП стромы миокарда, УП ядер стромы миокарда и УП интерстициального отека. Множественный регрессионный анализ показал прямо пропорциональную взаимосвязь между концентрацией IL-6 в миокарде и УП стромы миокарда пациентов с ИКМП (табл. 15). Для УП ядер стромы миокарда и УП интерстициального отека миокарда пациентов с ИКМП в ходе регрессионного анализа статистически достоверных значений определено не было.

Корреляционный анализ выявил положительные взаимосвязи интенсивности воспалительного инфильтрата и некоторых

провоспалительных цитокинов и факторов (табл. 13 и 14) у пациентов с ИКМП и пациентов с ИБС, однако, множественный регрессионный анализ показал IL-5, как фактор, оказывающий прямое влияние на воспалительный процесс в миокарде пациентов с ИБС (табл. 15).

В ходе корреляционного анализа данных пациентов с ИБС наибольшее количество корреляционных взаимосвязей было выявлено между цитокинами и такими морфометрическими показателями, как УП паренхимы миокарда, УП стромы миокарда, УП ядер стромы миокарда, УП интерстициального отека и УП капилляров. Множественный регрессионный анализ показал прямо пропорциональную взаимосвязь между концентрацией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в миокарде и УП капилляров у пациентов с ИБС (табл. 15). Для УП паренхимы миокарда, УП стромы и ядер стромы миокарда, а также УП интерстициального отека миокарда пациентов с ИКМП в ходе регрессионного анализа статистически достоверных значений выявлено не было.

3.5.4 Определение взаимосвязей между концентрацией цитокинов, хемокинов и факторов роста миокарда и клиническими показателями у пациентов с ишемической болезнью сердца и ишемической кардиомиопатией

Далее мы провели корреляционный анализ между концентрацией цитокинов миокарда и клиническими показателями сердца пациентов с ИКМП и пациентов с ИБС.

В ходе корреляционного анализа наибольшее количество корреляционных взаимосвязей было выявлено между цитокинами и такими гемодинамическими показателями, как фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ), измеренная до хирургической операции, ФВ ЛЖ, измеренная после хирургической операции и конечно-систолический индекс (КСИ),

рассчитанный до операции, а также связи между функциональными классами стенокардии и концентрацией цитокинов (табл. 16). Множественный регрессионный анализ показал прямо пропорциональную взаимосвязь между концентрацией IL-5 в миокарде и КСИ, рассчитанным после оперативного вмешательства у пациентов с ИКМП ($r=0,795$) (табл. 18), а также обратную связь между концентрацией IL-8 и ФВ ЛЖ, измеренной до операции ($r = -0,680$) (табл. 18). Для ФВ ЛЖ, измеренной после операции и функциональных классов стенокардии миокарда в ходе регрессионного анализа статистически достоверных значений обнаружено не было.

У пациентов с ИБС достоверные корреляционные связи были определены между концентрацией цитокинов миокарда и ФВ ЛЖ и КСИ, измеренными после оперативного вмешательства, а также корреляция с проведением тромбэктомии коронарных артерий (табл. 17).

Таблица 16 - Корреляционный анализ концентрации цитокинов, хемокинов и факторов роста с клиническими показателями миокарда у пациентов с ишемической кардиомиопатией.

		ФВ до	ФВ после	КСИ до	КСИ после	Стенокардия (ФК)	Степень артериальной гипертензии	Тромбоэмболия	ФК сердечной недостаточности по NYHA	Ранняя смертность	Инфекция (1-плеврит, 2-пневмония, 3-медиастенит, 4-мягкие ткани)
FGF-2	r	-0,259	-0,291	0,433	0,002	0,519	0,091	-0,639	0,112	0,547	0,298
Eotaxin	r	-0,099	-0,102	0,201	0,144	0,322	0,033	-0,556	-0,306	0,366	0,520
TGF-a	r	-0,109	0,322	0,244	-0,187	-0,405	-0,405	0,404	0,051	0,406	0,488
G-CSF	r	-0,225	-0,616	0,516	0,766*	0,560*	0,091	-0,500*	0,298	0,273	0,481
Flt-3L	r	-0,167	-0,550	0,283	-0,233	0,173	0,091	-0,639	0,261	0,136	0,059
GM-CSF	r	-0,434	0,016	0,237	0,898*	0,264	0,464	0,000	0,093	0,278	0,577
Fractalkine	r	-0,689*	-0,284	0,259	0,962*	0,565	0,183	-0,498*	0,447	0,412	0,580*
IFN α 2	r	-0,042	-0,779*	0,542	0,406	0,528	0,092	-0,649	0,379	0,417	0,769*
IFN- γ	r	-0,442	0,016	0,305	0,779*	0,264	0,649	0,092	0,392	0,557	0,547
GRO	r	-0,393	-0,550	0,550	0,883*	0,519	0,273	-0,532*	0,074	0,410	0,836*
IL-10	r	0,209	-0,266	0,600	0,366	-0,173	0,365	-0,365	-0,411	0,136	-0,066
MCP-3	r	0,275	0,273	-0,136	-0,273	-0,395	0,000	0,500	0,306	-0,125	-0,245
IL-12p40	r	-0,393	0,233	0,177	0,000	-0,208	0,099	0,033	0,306	-0,133	0,277
MDC	r	-0,651*	-0,516	0,183	0,383	0,866*	0,182	-0,639	-0,149	0,547	0,348
IL-12p70	r	-0,566*	0,113	0,147	0,499*	0,361	0,524	0,143	0,584	0,429	0,561

PDGF-AA	r	0,365	0,152	0,322	-0,406	-0,352	0,464	-0,278	-0,467	0,278	0,151
IL-13	r	-0,719*	-0,216	-0,016	0,833*	0,866*	0,182	-0,182	0,522	0,410	0,378
PDGF-AB/BB	r	0,259	0,000	-0,216	-0,550	0,259	0,091	0,000	-0,112	0,273	-0,109
IL-15	r	0,016	-0,209	0,237	0,351	0,217	0,183	-0,457	0,428	0,412	0,160
sCD40L	r	-0,160	-0,045	0,365	0,045	0,000	0,625	0,125	0,287	0,312	0,177
IL-1RA	r	0,275	0,273	-0,136	-0,273	-0,395	0,000	0,500	0,000	-0,125	-0,245
IL-1a	r	0,519	0,583	0,033	0,300	0,122	0,516*	0,404	0,051	0,683*	0,248
IL-9	r	-0,333	0,333	-0,201	0,128	-0,199	0,000	-0,333	0,051	-0,133	-0,099
IL-1b	r	0,412	0,000	0,410	0,136	-0,395	0,000	-0,250	0,000	-0,125	0,409
IL-2	r	0,367	0,109	0,144	0,077	-0,301	0,377	0,155	0,000	-0,355	0,200
IL-3	r	-0,678*	-0,250	0,200	0,950*	0,606	0,182	-0,091	-0,306	0,410	0,458
IL-4	r	0,056	-0,687*	0,687*	0,522	0,271	0,190	-0,476	-0,051	0,429	0,873*
IL-5	r	-0,643*	-0,530*	0,150	0,790*	0,692*	0,091	-0,273	0,261	0,273	0,488
IL-6	r	-0,634*	-0,385	0,190	0,766*	0,532*	0,365	-0,273	0,299	0,273	0,567
IL-7	r	-0,677*	-0,250	0,266	0,745*	0,560*	0,273	-0,273	0,261	0,410	0,537
IL-8	r	-0,709*	-0,521*	0,166	0,763*	0,660*	0,091	-0,273	0,298	0,273	0,488
IP-10	r	-0,309	0,000	-0,216	0,233	0,433	-0,273	0,091	-0,409	0,136	-0,139
MCP-1	r	-0,639*	-0,083	0,100	0,699*	0,606	0,365	-0,273	-0,037	0,273	0,567
MIP-1a	r	0,049	-0,504	0,337	0,574	0,257	0,488	-0,488	0,204	0,488	0,698*
MIP-1b	r	0,044	-0,309	-0,100	0,099	0,277	0,433	0,499	-0,326	0,333	0,309
RANTES	r	-0,192	-0,416	0,466	-0,333	0,086	0,273	-0,639	-0,111	0,547	-0,009
TNFa	r	-0,599*	-0,250	0,033	0,700*	0,696*	0,091	-0,182	0,186	0,273	0,488

Продолжение таблицы 16

TNFb	r	-0,649*	-0,505*	0,216	0,625*	0,560*	0,273	-0,273	0,074	0,547	0,537
VEGF на 1 гр	r	-0,412	-0,227	0,188	0,515*	0,617	0,488	-0,108	0,272	0,488	0,662

*при уровне значимости $p < 0,05$

Таблица 17 - Корреляционный анализ концентрации цитокинов, хемокинов и факторов роста с клиническими показателями миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца без кардиомиопатии.

		ФВ до	ФВ после	КСИ до	КСИ после	Стенка рдия (ФК)	Степень артериальной гипертензии	Тромбоэктомия	ФК сердечной недостаточности по NYHA	Ранняя смертность	Инфекция (1-плеврит, 2-пневмония, 3-медиастенит, 4-мягкие ткани)
FGF-2	r	-0,115	0,703*	-0,373	-0,623	-0,557	-0,352	0,719*	0,199	0,445	0,528
Eotaxin	r	0,396	0,153	-0,544	-0,386	0,353	-0,434	0,152	-0,386	-0,392	-0,248
TGF-a	r	0,341	-0,699*	0,545	0,666*	0,270	0,321	-0,524	-0,333	-0,507	-0,321
G-CSF	r	0,075	0,909*	-0,566	-0,738*	-0,385	-0,696*	0,710*	-0,073	0,275	0,174
Flt-3L	r	-0,405	0,671*	-0,234	-0,493	-0,579	-0,174	0,570	0,432	0,662*	0,523
GM-CSF	r	0,373	-0,291	0,135	0,160	0,055	0,043	-0,035	-0,283	-0,358	0,000
Fractalkine	r	0,183	0,589	-0,654*	-0,728*	-0,165	-0,523	0,641*	-0,098	0,055	0,261
IFNa2	r	0,153	0,805*	-0,548	-0,747*	-0,445	-0,616	0,791*	-0,074	0,222	0,352
IFN-y	r	0,332	-0,345	0,199	0,249	0,111	0,088	-0,143	-0,274	-0,362	-0,088
GRO	r	-0,126	0,909*	-0,590	-0,837*	-0,550	-0,522	0,852*	0,196	0,495	0,522

Продолжение таблицы 17

IL-10	r	-0,202	0,076	-0,666*	-0,543	0,276	0,000	0,213	0,271	0,082	0,261
MCP-3	r	-0,564	-0,102	-0,400	-0,300	0,223	0,353	0,000	0,600	0,011	0,353
IL-12p40	r	0,360	-0,540	0,702*	0,702*	0,000	0,248	-0,405	-0,351	-0,392	-0,248
MDC	r	-0,252	0,442	-0,467	-0,640*	-0,385	-0,087	0,639*	0,393	0,440	0,696*
IL-12p70	r	0,416	0,416	-0,241	-0,406	-0,369	-0,449	0,586	-0,292	-0,085	0,269
PDGF-AA	r	-0,127	-0,396	-0,124	0,099	0,501	0,264	-0,359	0,099	-0,167	-0,176
IL-13	r	-0,101	0,467	-0,221	-0,344	-0,275	-0,261	0,355	0,098	0,275	0,174
PDGF-AB/BB	r	-0,102	0,306	-0,373	-0,398	-0,055	-0,176	0,287	0,124	0,167	0,176
IL-15	r	0,031	0,310	-0,424	-0,486	-0,135	-0,214	0,437	0,060	0,101	0,321
sCD40L	r	0,000	-0,362	-0,235	0,000	0,527	0,166	-0,272	0,000	-0,165	-0,166
IL-1RA	r	0,000	-0,362	-0,235	0,000	0,527	0,166	-0,272	0,000	0,000	-0,166
IL-1a	r	0,000	-0,544	-0,353	0,000	0,790	0,250	-0,408	0,000	0,000	-0,250
IL-9	r	0,241	-0,362	0,471	0,471	0,000	0,166	-0,272	-0,235	-0,263	-0,166
IL-1b	r	0,396	0,153	-0,544	-0,386	0,353	-0,434	0,152	-0,386	-0,233	-0,248
IL-2	r	0,279	-0,699*	0,363	0,545	0,406	0,321	-0,524	-0,272	-0,263	-0,321
IL-3	r	-0,126	0,253	0,283	0,148	-0,303	-0,087	0,000	0,037	-0,392	-0,087
IL-4	r	0,485	0,332	-0,623	-0,598	0,055	-0,528	0,503	-0,373	-0,507	0,088
IL-5	r	0,378	-0,328	0,246	0,344	0,220	0,000	-0,284	-0,393	0,248	-0,348
IL-6	r	-0,037	0,858*	-0,566	-0,713*	-0,330	-0,609	0,639*	0,024	-0,306	0,174
IL-7	r	0,378	-0,328	0,246	0,344	0,220	0,000	-0,284	-0,393	-0,440	-0,348
IL-8	r	-0,189	0,707*	-0,295	-0,418	-0,275	-0,435	0,355	0,098	0,330	0,000

Продолжение таблицы 17

IP-10	r	0,101	-0,656*	0,492	0,689*	0,440	0,348	-0,710*	-0,196	-0,440	-0,522
MCP-1	r	-0,391	0,656*	-0,270	-0,418	-0,330	-0,261	0,355	0,320	0,385	0,174
MIP-1a	r	0,291	0,604	-0,651*	-0,734*	-0,186	-0,588	0,680*	-0,194	-0,385	0,245
MIP-1b	r	0,067	-0,673*	0,262	0,393	0,293	0,464	-0,379	0,000	0,550	0,000
RANTES	r	-0,113	0,442	-0,516	-0,467	0,110	-0,348	0,213	0,049	-0,015	-0,087
TNFa	r	-0,353	0,644*	-0,344	-0,492	-0,330	-0,261	0,426	0,320	-0,293	0,261
TNFb	r	0,151	0,050	-0,172	-0,098	0,165	-0,174	0,000	-0,172	0,137	-0,174
VEGF	r	0,201	0,866*	-0,660*	-0,825*	-0,369	-0,718*	0,806*	-0,139	0,522	0,269

*при уровне значимости $p < 0,05$

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Прогнозирование неблагоприятных исходов оперативного вмешательства при ишемической кардиомиопатии (ИКМП) необходимо для верной оценки рисков и определения терапевтической тактики для данной категории пациентов. Важнейшими неблагоприятными исходами хирургического лечения считаются: ранняя послеоперационная смертность (в течение 30 дней после операции) и нерезультативность проведенного хирургического вмешательства в отдаленном послеоперационном периоде (возврат анатомических и гемодинамических показателей сердца к дооперационным значениям или их ухудшение через год после операции). Основополагающим в возникновении неблагоприятных исходов является степень нарушений, произошедших в миокарде пациентов с ИКМП к моменту операции, а также недостаточность системы регуляции репаративных процессов в сердце. Оценка повреждения миокарда можно напрямую осуществить при изучении морфологии или опосредованно через молекулярные маркеры к ним относящиеся. Известно, что гистологическое состояние миокарда обладает высокой специфичностью для изучаемых неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ИКМП [11]. Однако, наряду с изучением представленности и концентрации молекулярных маркеров, в частности, маркеров воспалительного процесса в миокарде, признаков оценки состояния внеклеточного матрикса сердца (ВКМ), все это может положить начало скрининговым исследованиям неблагоприятных исходов оперативного лечения данной категории больных.

При определении морфологических предикторов неблагоприятных исходов у пациентов с ИКМП было установлено, что площадь фиброзной ткани преобладает в группе с обратным ремоделированием (ОР), где гемодинамические и морфологические показатели сердца возвращаются к дооперационным значениям, что демонстрирует благоприятный исход

хирургического лечения. Тогда как в группе пациентов с прогрессирующим ремоделированием (ПР), что свидетельствует о неблагоприятном исходе операции, было показано преобладание количества капилляров и клеток воспалительного инфильтрата в миокарде. Такая морфологическая картина может указывать на разрешившуюся стадию течения ИКМП у группы пациентов с благоприятным исходом, когда очаги поражения сердечной мышцы замещаются фиброзной тканью, воспалительный процесс «стихает» и нагрузка на сократительный аппарат сердца равномерно распределяется между интактными участками миокарда. Благоприятный исход у данных пациентов, предположительно, может быть обусловлен определенными свойствами внеклеточного матрикса миокарда, иначе говоря, качественным и количественным составом фиброзной ткани, а именно гармоничным соотношением коллагенов I и III типов. По данным Miner E.C. и соавт. в норме 85% общего коллагена ВКМ миокарда составляет коллаген I типа, 11% - коллаген III типа [114]. Фиброз миокарда сопровождается преимущественным накоплением коллагена I типа, который увеличивает жесткость ВКМ миокарда, препятствуя дилатации сердца [73]. Воспалительный инфильтрат миокарда является одним из главных факторов, способствующих прогрессированию ремоделирования сердца, что было продемонстрировано в литературных данных и в наших более ранних исследованиях [36, 45, 63]. Взаимосвязь между воспалением и гипоксией, которая является следствием ишемического повреждения тканей, была очевидна на протяжении многих лет [91, 138]. Гипоксия запускает воспалительный процесс, что также работает и в обратном направлении. Основными иммунными клетками острого воспаления являются лейкоциты и макрофаги, задачей которых является удаление поврежденных тканей и патогенов. Однако, если острое воспаление не стихает, оно переходит в хроническое с потенциально серьезными последствиями для пациента. Длительно протекающий воспалительный процесс, в частности многочисленные инфильтрирующие иммунные

клетки, поврежденная сосудистая система, истощают клетки и ткани в очаге поражения, приводя к критически низкому парциальному давлению кислорода. В сложившейся ситуации происходит запуск рекрутирования макрофагов и усиление экспрессии HIF-1 α и воспалительных цитокинов (например, воспалительного белка макрофагов 1- α (MIP-1 α), моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1) и TNF- α [91, 105].

Таким образом, увеличение количества капилляров и клеток воспалительного инфильтрата у пациентов с прогрессирующим типом ремоделирования может быть обусловлено гипоксией миокарда. Вследствие которой происходит усиление синтеза гипоксией-индуцируемых факторов (HIF), что становится мощным стимулятором ангиогенеза [5]. HIF-1 опосредует провоспалительную реакцию в ответ на острую гипоксию и синтез сосудистого фактора роста (VEGF) с целью васкулогенеза, а HIF-2 α индуцирует длительную адаптацию организма к гипоксии, активирует ремоделирование тканей, фиброз и ангиогенез [105].

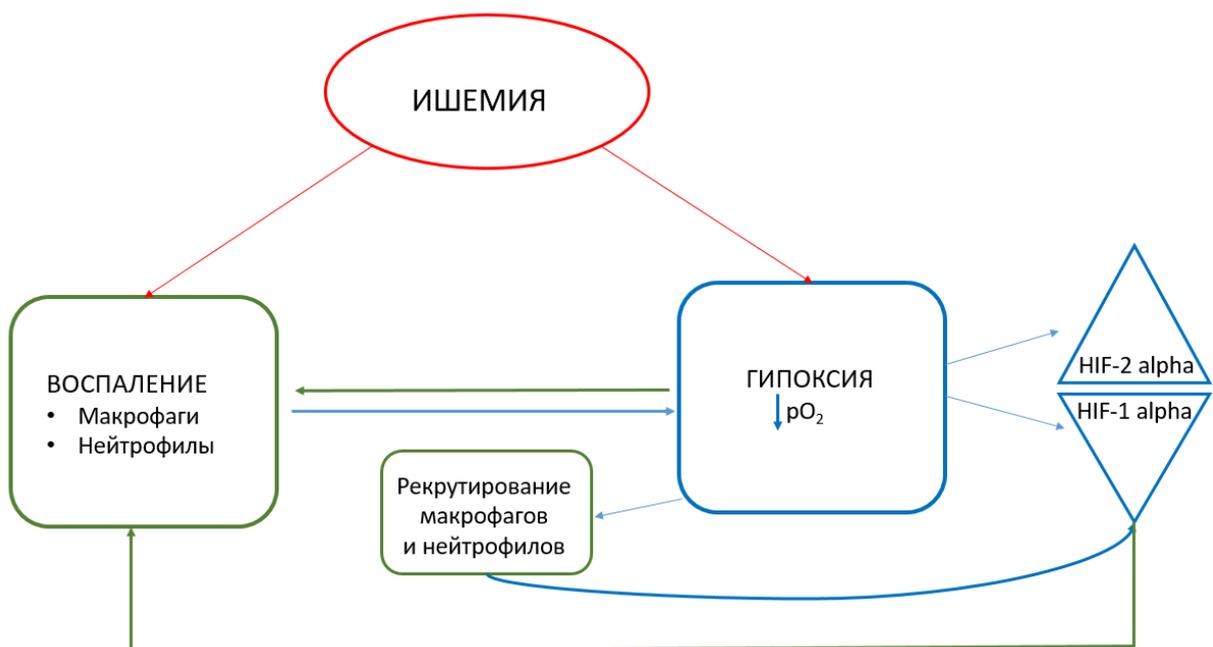


Рисунок 30 - Схема, отражающая взаимосвязь между гипоксией и воспалительным процессом в миокарде.

Гистологическое исследование биопсий, полученных от пациентов с ИБС, выявило статистически значимые отличия по морфологическим показателям пациентов контрольной группы с диагнозом ИБС, не страдающих кардиомиопатией от показателей группы пациентов с диагнозом ИКМП. Морфометрический анализ показал пятикратное количественное преобладание капилляров в миокарде пациентов с ИБС, а также значимое преобладание диаметра капилляров (в 4,5 раза) и количества гиперемированных сосудов (в 10 раз) при ИБС по сравнению с ИКМП (табл. 5). Такая картина является противоречивой, так как с одной стороны, увеличение количества капилляров говорит об ангиогенезе у пациентов с ИБС, что свидетельствует о проявлении компенсаторных и восстановительных процессов в миокарде в ответ на ишемическое повреждение и развившуюся гипоксию. С другой стороны, преобладание гиперемированных сосудов и увеличение диаметра капилляров – признак стаза крови, который может привести к значительным гемодинамическим нарушениям [40].

Для большего понимания отличий патогенеза ИБС без кардиомиопатии и ИКМП, а также механизмов развития прогрессирующего и обратного ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) были изучены молекулярные маркеры, характеризующие иммунокомпетентные клетки и состояние ВКМ сердца у данных групп. При сравнении иммуногистохимических показателей миокарда пациентов с разными типами ремоделирования статистически значимых отличий обнаружено не было, тогда как для пациентов с ИБС с ИКМП и без нее различия были выявлены для 5 маркеров из 10 исследуемых (табл. 7).

Сердечные резидентные макрофаги являются ключевыми клетками, участвующими как в регенерации миокарда, так и в его ремоделировании. При ишемическом повреждении миокарда первостепенную роль играют М1-макрофаги со значительной фагоцитарной и провоспалительной активностью. Впоследствии их популяция сменяется альтернативно активированными М2-

клетками, субпопуляцией CD163⁺ клеток, которые обладают противовоспалительным потенциалом и являются триггерами фиброза, неоангиогенеза и заживления тканей сердца [107]. Показанное высокое количество клеточных маркеров M2-макрофагов (CD68⁺, CD163⁺) в миокарде пациентов с ИКМП по сравнению с пациентами ею не страдающими (табл. 7) позволяет предположить профибротическую роль макрофагов в сердце при ИКМП, и эта функция присуща нескольким подтипам клеток M2 (M2a, M2b, M2c), где макрофаги M2a и M2c в основном взаимодействуют с клетками адаптивного иммунитета, а клетки M2b играют роль в регуляции воспаления [107, 119].

M2 природу макрофагов в миокарде пациентов с ИКМП подтверждает и исследование, выявившее повышенную концентрацию профибротических факторов (TGFβ, MMP-9, галектин-3 и др.) в сердечном кровотоке пациентов с ИКМП, которые продуцируются макрофагами M2 [86].

Таким образом, полученные результаты подтверждают ныне существующую M2-опосредованную модель развития ИКМП, в основе которой лежит усиление фиброобразования интерстиция миокарда с участием M2-макрофагов и перестройка ВКМ сердца [32, 42, 86]. Ранее показанное нами преобладание CD163⁺ клеток в миокарде пациентов с обратным ремоделированием по сравнению с пациентами с прогрессирующим ремоделированием, а также корреляция количества этих клеток и ФВ ЛЖ через >6 месяцев после операции доказывает их значимую роль в патогенезе ремоделирования ЛЖ у пациентов с ИКМП [32]. Высокое содержание CD163⁺ клеток в миокарде также может выступать в качестве предиктора обратного ремоделирования ЛЖ, когда происходит компенсаторное отложение фиброзной ткани в миокарде, вероятно, отличающейся благоприятным соотношением белков ВКМ.

Главными продуцентами фиброзной ткани в сердце выступают фибробласты и миофибробласты. В норме в сердце миофибробласты

представлены лишь в клапанах, однако, вследствие ишемии и механического растяжения происходит переход фибробластов в миофибробласты, которые активно участвуют в процессах репарации миокарда [132]. Существует множество маркеров фибробластов (Sca-1⁺, CD44⁺, CD90⁺, CD105⁺ маркеры), характеризующее различные фенотипы этих клеток, однако, CD90⁺, по данным источников литературы, является наиболее часто встречающимся фенотипом фибробластов при сердечно-сосудистых патологиях [90, 95, 98]. Катсумата и коллектив авторов (Katsumata L. et al., 2017) обнаружили, что экспрессия ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 (ТИМП-1) повышается в CD90⁺ фибробластах, что позволяет предположить ингибирование этими клетками деградации коллагена и сохранность внеклеточного матрикса [100]. Помимо выше перечисленных триггеров дифференцировки фибробластов, огромную роль играют макрофаги, в частности, популяция M2-клеток, секретирующая TGF- β (Трансформирующий фактор роста β) – один из главных индукторов образования миофибробластов [1,2]. В сердце выявляются три изоформы TGF- β , наиболее активный из которых в миокарде – TGF- β 1. TGF- β 1 представляет собой многофункциональный фактор роста пептидов, участвующий в регуляции клеточной пролиферации, дифференцировки, процессах воспаления, васкулогенеза и заживления ран. Выработка M2 – макрофагами одного из главных профибротических цитокинов, коим является TGF- β , стимулирует трансдифференцировку фибробластов в миофибробласты и приводит к более прочному сшиванию коллагена и увеличению жесткости миокарда (рис. 31). Такие изменения матриксной среды миокарда играют существенную роль в патогенезе ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) и развитии сердечной недостаточности (СН) [6]. Показанное нами преобладание CD90⁺ в миокарде пациентов с ИКМП наряду с превалированием M2–поляризованных макрофагов над M1—популяцией клеток может быть свидетельством перестройки внеклеточного матрикса сердца, приводящей к отложению и разрастанию фиброзной ткани [6, 132].

Основным маркером миофибробластов являются стресс-фибриллы, сформированные альфа-гладкомышечным актином (альфа-актин, α SMA), а также повышенная способность к контракции ВКМ [134]. α SMA в отличие от CD90⁺ экспрессируется на зрелых миофибробластах и его наличие демонстрирует процесс регенерации повреждений и образование рубца вследствие инфаркта миокарда [8, 134]. Активно экспрессирующие α SMA миофибробласты начинают продуцировать белки ВКМ, и постепенно оказываются погружёнными внутрь зоны новосинтезированного матрикса [39]. Изменение состава матрикса и увеличение секреции TGF β самими миофибробластами, а также неупорядоченно уложенные коллагены и другие компоненты матрикса приводят к увеличению жёсткости каркаса сердца [39, 126, 132]. В ряде работ показано, что увеличение жёсткости матрикса, в свою очередь, является стимулом для трансдифференцировки клеток в миофибробласты и поддержания стромального миофибробластного фенотипа [39]. Помимо того, что α SMA является белком ВКМ, он экспрессируется гладкомышечными клетками сосудов, как крупного калибра, так и сосудов микроциркулярного русла [44]. Анализ микропрепаратов миокарда пациентов с ИБС без кардиомиопатии, окрашенных антителом к α SMA, показал принадлежность данного маркера по большей части к маркеру гладкомышечных клеток сосудов, что согласуется с большим количеством сосудов микроциркуляторного русла данной категории пациентов по сравнению с ИКМП (табл. 7). α SMA не отражает исключительную функциональную специализацию клеток и может выступать как в качестве маркера зрелых миофибробластов, так и гладкомышечных клеток сосудов. В случае принадлежности к компонентам ВКМ высокая экспрессия α SMA может быть свидетельством увеличения жесткости матриксной среды. Полученная положительная взаимосвязь между соотношением коллагенов I и III типов и α SMA у пациентов с ИКМП, несмотря на преобладание экспрессии данного маркера при ИБС, может означать экспрессию α SMA компонентами ВКМ при наличии кардиомиопатии. В случае ИБС без

кардиомиопатии – отражает состояние микроциркуляторного русла [3, 39, 134].

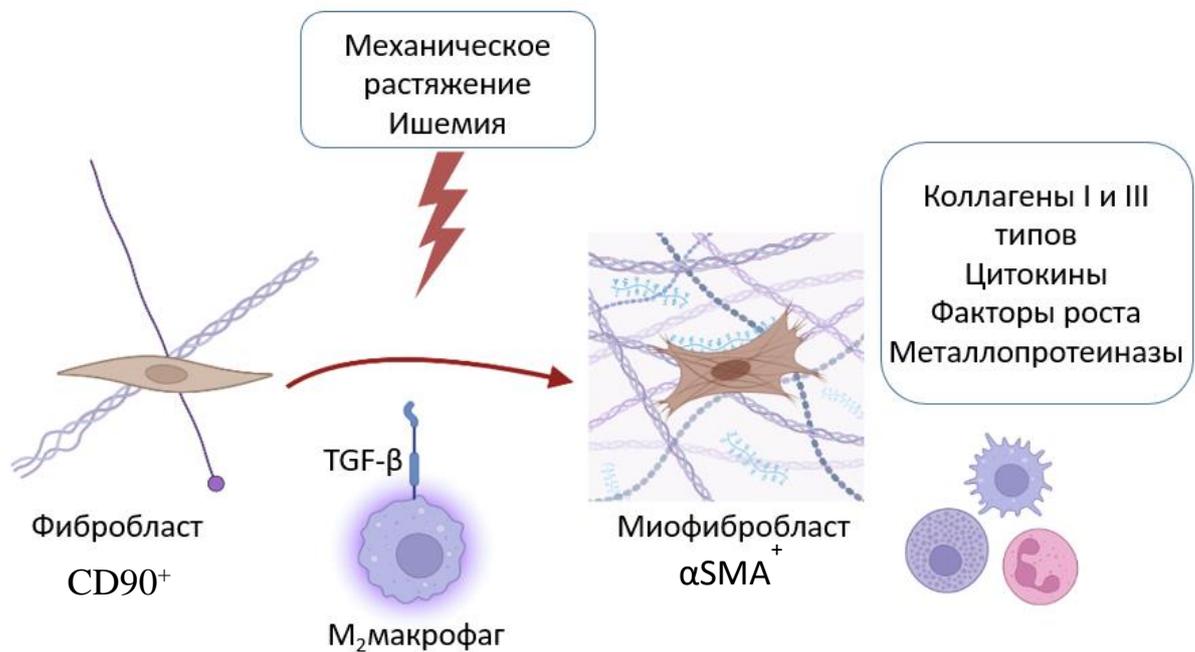


Рисунок 31 - Схематическое представление процесса трансдифференцировки миофибробластов из фибробластов.

Фибробласты и миофибробласты являются основными продуцентами белков внеклеточного матрикса (ВКМ), который является структурным каркасом сердца и средой для протекания физиологических процессов. Основу ВКМ сердца составляют коллагеновые волокна I и III типов, соотношение которых определяет жесткость и упругость каркаса сердца [7, 120]. Свойство повышенной жесткости и упругости матриксу миокарда придает преобладание коллагена I типа над коллагеном III типа [114], что было продемонстрировано у пациентов с диагнозом ИБС без кардиомиопатии (табл. 7). Преобладание коллагена I типа в матриксе миокарда у пациентов с ИБС, исходя из соотношения коллагенов I и III типов, наталкивает на мысль о меньшем риске дилатации сердца в послеоперационном периоде у исследованной группы больных. Исходя из соотношения коллагенов I и III

типов, можно сделать вывод о преобладании коллагена III типа у пациентов с ИКМП, что говорит о увеличении растяжимости ВКМ и приводит к повышенному риску дилатации камер сердца [73]. Выявленная нами статистически значимая связь между коллагенами I и III типов показывает достоверность и важность их соотношения при оценке состояния внеклеточного матрикса миокарда, как возможных маркеров ремоделирования сердца.

В патогенезе ИКМП, помимо гибели кардиомиоцитов, воспалительного компонента и состава ВКМ, большую роль играет деструкция экстрацеллюлярного матрикса при участии матриксных металлопротеиназ (ММП) [126]. ММП представляют собой группу из 28 протеолитических ферментов, которые способны денатурировать фибриллы коллагена [6, 104]. В физиологических условиях существует баланс между активностью ММП и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ТИМП). Однако было показано, что при сердечно-сосудистых заболеваниях в сыворотке крови нарушается баланс между работой ММП и ТИМП, что приводит к развитию фиброза. В условиях хронической ишемии происходит разрушение межклеточного матрикса за счет резкого повышения активности металлопротеиназ [136]. Коллективом авторов Каски и др. (Kaski J.C. et al., 2018) было определено, что повышенная плазменная концентрация ММП-2 является биомаркером фиброза миокарда [126]. Помимо этого, показано, что ММП-2 является независимым маркером смертности пациентов с ХСН в период более 24 месяцев [66]. По причине того, что ММП являются яркими участниками процессов ремоделирования ВКМ сердца, их принято считать эффекторными маркерами ремоделирования миокарда и маркерами прогрессирования сердечной недостаточности (СН), а значит ММП можно рассматривать в качестве терапевтической мишени при лечении пациентов с СН [2, 6]. В подтверждение этому, рядом исследований было показано, что при ингибировании активности ММП-2 и ММП-9 происходило существенное

уменьшение дилатации сердца, а также наблюдался противовоспалительный эффект [66, 117]. Показанная нами взаимосвязь ММП-2 с маркерами иммунокомпетентных клеток CD68⁺ и CD3⁺ не противоречит выше приведенным данным (рис. 16). Основываясь на полученных данных и на информации, взятой из источников литературы, повышенную концентрацию ММП-2 типа, как в сыворотке крови, так и в сердечной ткани, можно рассматривать в качестве маркера воспалительного процесса в миокарде и маркера неблагоприятного ремоделирования сердца.

Еще одним важным маркером, служащим посредником между активацией макрофагов и фиброзом миокарда и положительно коррелирующим с ММП-2 и ТИМП-1 является галектин-3 [85]. Изучение этого маркера не было задачей данного исследования, однако, в другой работе, нашим коллективом была показана высокая концентрация галектина-3 в крови (на 27,1% выше) при ИКМП по сравнению с ИБС без кардиомиопатии, что подтверждает значимость данного маркера для оценки течения ИКМП, а также его влияние на популяцию тканевых макрофагов и субпопуляционный состав моноцитов крови [131].

Тканевые макрофаги представляют собой гетерогенную популяцию клеток и составляют до 8% от несердечных клеток в сердце [81, 99]. Предшественниками тканевых макрофагов являются моноциты крови, которые в ответ на повреждающее воздействие, способны рекрутироваться в миокард и восполнять популяцию резидентных сердечных макрофагов. В зависимости от факторов и условий окружения, макрофаги имеют способность к смене поляризации: от М1-провоспалительных к М2-противовоспалительным клеткам, и наоборот [47, 106]. В клинической практике оценка фенотипа сердечных макрофагов затруднена из-за их тканевой локализации [86]. С этим связано преобладание в мировой литературе исследований, оценивающих моноциты в крови, как клетки, более доступные для фенотипирования. В нашем исследовании мы сопоставили

данные проточной цитофлуориметрии и иммунофлуоресцентного анализа, тем самым сравнив субпопуляции моноцитов крови и популяции тканевых макрофагов при ИКМП и ИБС без нее, соответственно (табл. 9).

В миокарде пациентов с ИКМП моноциты, по предположению авторов, дифференцируются в M2-макрофаги, так как в этом исследовании были зафиксированы высокие концентрации TGF β , галектина-3 и ММП-9 в сердце, присущие секреторному профилю клеток M2. Причем концентрация галектина-3 коррелировала с количеством классических моноцитов, а в крови пациентов с ИКМП был отмечен дефицит неклассических клеток на фоне нормальных значений концентрации остальных популяций [16]. Нами была выявлена умеренная обратная взаимосвязь между количеством CD68⁺CD206⁺ клеток (M2-макрофагов) в сердце и количеством CD14⁺⁺CD16⁻ (классических) моноцитов крови (табл. 9), а также между количеством CD68⁻CD206⁺ клеток и количеством CD14⁺⁺CD16⁻ (классических) моноцитов, у пациентов с ИБС вне зависимости от наличия кардиомиопатии. Предшественниками M2-макрофагов считаются неклассические моноциты, популяция классических клеток отвечает за образование M1-провоспалительных макрофагов, однако, существуют данные о дифференцировке классических моноцитов в M2 клетки на завершающих этапах воспаления перед процессами репарации [47, 106]. Однозначной позиции в этом вопросе нет, так как дифференцировка моноцитов всегда зависит от клеточного микроокружения и спектра цитокинов, продуцируемых им.

Ориентируясь на выше описанные результаты о преобладании M2-макрофагов в воспалительном инфильтрате пациентов с ИКМП (табл. 7), сопоставление популяции тканевых макрофагов и субпопуляции моноцитов крови (табл. 9), а также работу Чумаковой С.П. и соавт. (Chumakova S. et al., 2021) о M2-опосредованной модели течения ИКМП, можно сделать заключение о том, что высокое содержание M2-макрофагов в ткани приводит к низкой концентрации классических моноцитов в крови. Однако, в

отношении популяции моноцитов крови при ИКМП получились противоречащие работе Чумаковой С.П. и соавт. (Chumakova S. et al., 2021) данные, где был отмечен дефицит неклассических клеток на фоне нормальных значений концентрации остальных популяций [16]. Несоответствие результатов может быть объяснено некоторыми ограничениями данного раздела исследования. Во-первых, небольшая выборка пациентов, во-вторых корреляционный характер данного исследования, поэтому в дальнейшем необходимо расширить число пациентов для выявления закономерности между тканевыми макрофагами сердца и субпопуляцией моноцитов периферической крови.

На данном этапе можно отметить отчетливую связь между циркулирующими популяциями моноцитов в крови и патологическими процессами в сердце, в частности диссонанс в образовании и деградации ВКМ на фоне хронического воспаления. Не исключено, что накопление и гиперактивация M2-макрофагов вследствие дисбаланса моноцитарно-макрофагальной системы становятся причиной неадекватного фиброза миокарда при ИКМП [131]. Последующий анализ субпопуляционного состава моноцитов и возможностей их дифференцировки наряду с изучением тканевых макрофагов в миокарде может пролить свет на новые маркеры прогрессирования ИКМП, и возможность ранней диагностики патологических механизмов, приводящих к дилатации сердца при ИБС.

Представляют интерес, выявленные в ходе иммунофлуоресцентного анализа биопсий миокарда, полученных от пациентов с ИБС, неосложненной кардиомиопатией, клетки CD68⁺CD206⁺ с нетипичным набором маркеров. В литературе встречаются сведения о возможности трансдифференцировки моноцитов в миофибробласты под действием окислительного стресса, этот процесс изучен на примере патологий, в основе которых лежит фиброзирование здоровых тканей, в частности, фиброз почки [110, 118]. Исходя из литературных данных и ориентируясь на морфологию данных

клеток (вытянутые в продольной оси клетки), можно предположить, что клетки негативные по CD68⁻ маркеру и позитивные по маркеру CD206⁺ могут представлять собой миофибробласты, которые дифференцировались из моноцитарных предшественников, и проходя, вероятно, через M2 фенотип, потеряли маркер CD68⁺, а вместе с ним и причастность к макрофагам [110].

Макрофаги являются одними из главных клеток-продуцентов цитокинов и хемокинов в миокарде. По мнению ряда исследователей, нарушение баланса цитокинов стимулирует повреждающее воздействие цитокинов на ткани, а высокие концентрации провоспалительных цитокинов являются самостоятельным маркером неблагоприятного прогноза. Продолжительное нарастание концентрации провоспалительных цитокинов способствует повреждению кардиомиоцитов и, в конечном итоге, приводит к ремоделированию миокарда [69]. В результате оценки секреторного профиля тканевой культуры миокарда у пациентов с ИБС вне зависимости от наличия кардиомиопатии нами были выделены 4 группы цитокинов, хемокинов и факторов роста в зависимости от их концентрации, согласно классификации цитокинов [72]. Группу цитокинов и хемокинов с наибольшей концентрацией (от 1000 до 10000 пг/мл) составили GRO (онкоген, регулирующий рост), IL-6, MCP-1 (моноцитарный хемотаксический протеин-1), IL-8 (табл. 11). Три последних из выше перечисленных цитокина являются мощнейшими провоспалительными факторами. Концентрация IL-8 вне зависимости от зоны миокарда (ушко правого предсердия (УПП) или периинфарктная зона ЛЖ) и диагноза (ИКМП или ИБС) приближалась к максимальным значениям чувствительности мультиплексного иммуноферментного анализа (ИФА) (до 10 000 пг/мл). Клетками-продуцентами IL-8 являются макрофаги, лимфоциты, эпителиальные клетки и фибробласты. Высокая концентрация IL-8 ассоциируется с острыми и хроническими воспалительными состояниями. Показано, что при остром инфаркте миокарда IL-8, наряду с IL-6, является одним из главных медиаторов острой фазы ответа [94].

IL-6 продуцируется активированными макрофагами и Т-клетками и стимулирует иммунный ответ. Особенно его роль велика при травматическом поражении ткани, ожогах и других повреждениях, которые ведут к воспалению и ремоделированию сердца [78]. Однако, ряд исследований, показал положительное влияние рекомбинантного IL-6, направленное на уменьшение зоны ишемии и ее длительности после перенесенного инфаркта миокарда при условии нокдауна гена IL-6 [92, 113]. Концентрации IL-6 в миокарде, секретируемые *in vitro* тканевой культурой миокарда, подходили к максимальным значениям чувствительности ИФА, что, предположительно, является по большей степени негативным фактором, отягощающим течение ИКМП и ИБС, нежели, чем терапевтической мишенью в случае данной категории больных.

MCP-1/CCL2 является одним из ключевых хемокинов, регулирующих миграцию и инфильтрацию моноцитов/макрофагов в ткани, одних из главных участников как воспалительного процесса, так и процесса репарации в миокарде [115]. Однако, было показано, что MCP-1 не играет важной роли в патогенезе ИКМП [86].

Высокие концентрации выше перечисленных цитокинов можно рассматривать, на наш взгляд, как ключевые факторы хронического воспаления и, как следствие, риска патологического ремоделирования сердца для пациентов обеих групп.

Таким образом, оценивая цитокиновый профиль миокарда пациентов с ИКМП и ИБС без ИКМП, можно сделать заключение о протекании воспалительных процессов в сердечной ткани разного характера, как острого, так и хронического, ключевыми участниками которых являются макрофаги и Т-лимфоциты. Данные результаты согласуются с нашими данными морфологического и иммуногистохимического исследования. Оценка маркеров воспаления может послужить прогностическим предиктором развития осложнения сердечно-сосудистых заболеваний, а ингибирование

провоспалительных цитокинов может стать новым направлением лечения данной категории пациентов. Так, к примеру, препарат канакинумаб достоверно ингибирует провоспалительный цитокин IL-1 β , тем самым уменьшая риск развития сердечно-сосудистых заболеваний [54, 96].

При сравнении цитокинового профиля миокарда пациентов с ИКМП и ИБС (табл. 11) статистически значимые различия были выявлены для Fractalkine 3 ligand (Flt-3l) ($p=0,007$), который может экспрессироваться на лимфоцитах, макрофагах и моноцитах [129, 136]. Выявленная нами повышенная концентрация хемокина Flt-3L в культуре миокарда у пациентов с ИБС без ИКМП может указывать на риск острого поражения большого объема ткани сердца вследствие микроциркуляторной обструкции сосудов и реперфузионного повреждения миокарда. Данное предположение согласуется с литературными источниками, освещающими основные причины развития ИБС, одной из которых выступает микрососудистая дисфункция [14]. Действительно, Спрей и соавт. (2021) считают, что рецептор CX3CR1 к Flt-3L играет ключевую роль в развитии ишемии и реперфузионного повреждения миокарда. Спустя 90 минут после проведения реперфузии происходит связывание рецептора CX3CR1 с Flt-3L на эндотелии сосудов микроциркуляторного русла и эмиграция Т-лимфоцитов из кровотока в миокард, где иммунные клетки не только выступают в качестве активаторов воспаления, но и запускают апоптоз кардиомиоцитов при помощи провоспалительных цитокинов [140].

Трехкратное падение уровня Flt-3L в миокарде пациентов с ИКМП (табл. 11) может предполагать качественное изменение репаративных и патологических процессов при ИКМП в сравнении с группой ИБС. При поиске таких качественных взаимосвязей (рис. 32) между концентрацией цитокинов и клинико-морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ИКМП на фоне ИБС выявлена обратная связь между концентрацией IL-8 и диаметром кардиомиоцитов, а также прямая связь между концентрацией IL-6 и удельным

объемом стромы миокарда (рис. 32). Как уже было описано выше Хамитовой и соавт. (2017), длительное нарастание концентраций IL-6 и IL-8 приводит к утончению миофибрилл, конденсации и утрате ядра кардиомиоцитами вследствие апоптоза, и, как следствие, уменьшению диаметра клеток. Оба цитокина обладают провоспалительной активностью, а длительное нарастание концентрации последних запускает процесс апоптоза кардиомиоцитов [69].

Провоспалительный фон стимулирует дифференцировку миофибробластов, которые активно продуцируют матрикс сердца, все больше замещая функциональную ткань сердца на соединительную ткань [69, 98]. Установленная прямая корреляция высокого уровня IL-6 с удельным объемом стромы в миокарде ($r = 0,66$; рис.32) соответствует литературным данным. В свою очередь, обнаруженная обратная связь ($r = - 0,68$) между концентрацией IL-8 и ФВ ЛЖ, рассчитанной до операции (рис. 32), как одного из самых важных гемодинамических показателей сердца для постановки диагноза и показаний для проведения операции, также предполагает развитие фиброза миокарда. Еще одним важным гемодинамическим показателем сердца принято считать КСИ ЛЖ, измеренный спустя более 6 месяцев после операции. Этот показатель необходим для прогнозирования исхода хирургического лечения (обратное или прогрессирующее ремоделирование ЛЖ, соответственно, благоприятный или неблагоприятный исход хирургического лечения).

Так, в результате сравнения цитокиновой активности миокарда у пациентов с разными исходами хирургического лечения, при прогрессирующем ремоделировании (ПР) ЛЖ отмечена повышенная секреция провоспалительных факторов GRO и IL-8, в 248 и 77 раз, соответственно, в отличие от пациентов с обратным ремоделированием (ОР) ЛЖ. Секреция G-CSF и RANTES значительно выросла (до 765 и 1188 пг/г, соответственно, $p < 0,05$) у пациентов в группе ПР в отличие от нулевых значений при ОР ЛЖ (табл. 12). Высокие концентрации факторов воспаления при

прогрессирующем ремоделировании ЛЖ согласуются с данными о преобладании воспалительного инфильтрата у пациентов с неблагоприятным исходом хирургического лечения в отличие пациентов с благоприятным исходом.

У пациентов с ОР ЛЖ была показана повышенная секреция факторов IP-10 и TNF α (в 70 и 20 раз, соответственно, $p < 0,05$) по сравнению с пациентами с ПР ЛЖ (табл. 12). TNF α индуцирует экспрессию IP-10 моноцитами, фибробластами и эндотелиальными клетками, поэтому связь двух цитокинов очевидна. IP-10 рассматривают как потенциальный эндогенный ингибитор ангиогенеза, обладающий ангиостатическим влиянием [21, 29]. Данный факт согласуется с нашими морфометрическими данными, свидетельствующими о преобладании капилляров в миокарде пациентов с ПР. Тогда как, при обратном ремоделировании высокая секреция клетками миокарда фактора IP-10 может оказывать ингибирующее влияние на процесс ангиогенеза. Полученные сведения о цитокиновом профиле тканевой культуры миокарда подтверждают связь гипоксии и воспалительного процесса в миокарде у пациентов с неблагоприятным исходом хирургического лечения.

При сравнении цитокиновой активности миокарда пациентов с ИКМП и ИБС, при ИБС отмечалось содействие IL-5 с высокой степенью детерминации $R^2=0,85$ накоплению воспалительного клеточного инфильтрата в миокарде ($r = 0,92$; рис.32). В свою очередь, при ИКМП прямая связь ($r = 0,795$; рис.32) концентрации IL-5 с КСИ ЛЖ, измеренным после операции, позволяет предположить участие в патологическом процессе клеток гуморального иммунитета, поскольку IL-5 стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов [60]. Другим очень важным свойством IL-5 является его способность оказывать воздействие на рост, пролиферацию и привлечение эозинофилов, участие в воспалительных процессах, сопровождающихся эозинофильной инфильтрацией [137]. Однако, при изучении клеточного

состава воспалительного инфильтрата у пациентов с ИБС и ИКМП, эозинофилов обнаружено не было, инфильтрат носил преимущественно моноклеарный характер (рис. 4).

Немаловажным оказалось сопоставление секреции цитокинов, хемокинов и факторов роста в зависимости от локализации миокарда (ушко правого предсердия (УПП) и перинфарктная зона (ПЗ) ЛЖ) у пациентов с ИКМП и пациентов с ИБС (табл. 11). В результате которого было показано статистически значимое снижение в ПЗ ЛЖ по сравнению с УПП концентрации 6 биологически активных молекул: FGF-2 (до 26%, $p=0,001$), Flt-3L (до 19%, $p=0,003$), тромбоцитарного фактора роста-AB/BB (PDGF-AB/BB) (до 30%, $p=0,012$), IL-15 (до 0, $p=0,007$), IL-4 (до 0, $p=0,027$) и RANTES (до 15%, $p=0,027$). По ранее полученным данным, можно утверждать, что морфофункциональное состояние УПП дает основание для суждения о состоянии миокарда в целом [19]. При сравнении морфометрических показателей было установлено, что у пациентов обеих групп наблюдения (ИБС и ИКМП) в ПЗ-ЛЖ частота встречаемости интерстициального отека (в 15 раз, $p=0,003$) и, особенно, удельная площадь капилляров (в 61 раз, $p=0,049$) оказались резко сниженными по сравнению с соответствующими показателями в УПП. Поэтому резкое падение удельного объема капилляров в ПЗ-ЛЖ в сравнении с УПП (рис.8) отражает неблагоприятную тенденцию острой ишемии при ИБС с переходом в мало васкуляризованную соединительную ткань у пациентов с ИКМП. Действительно, в первое время после инфаркта миокарда перинфарктная зона морфологически характеризуется увеличенным объемом капилляров. Так, известно, что первые очаги ангиогенеза появляются в перинфарктной зоне на 3 день после инфаркта; однако, в процессе формирования рубца количество капилляров в ПЗ-ЛЖ снижается [19].

В этом плане падение секреции FGF-2 и PDGF-AB/BB в ПЗ-ЛЖ, в сравнении с УПП, может быть молекулярным механизмом сниженной

васкуляризации миокарда. FGF-2, помимо митогенной активности по отношению к фибробластам, модифицирует миграцию эндотелиальных клеток и выступает как ангиогенный фактор [128]. PDGF-AB/BB также является одним из ключевых факторов ангиогенеза, фактор значительно увеличивает приток иммунных клеток и фибробластов в поврежденные ткани, стимулирует выработку коллагена и тем самым принимает важное участие в перестройке межклеточного матрикса [80, 95].

Концентрация IL-15 достоверно отличалась при сравнении пациентов двух групп (ИКМП и ИБС), а также при сравнении локализаций миокарда (табл. 11). IL-15, как провоспалительный цитокин, активируется при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях, таких как инфаркт миокарда и атеросклероз, является признаком острых состояний. Кроме того, IL-15 оказывает защитное действие при инфаркте миокарда и миокардите, уменьшая гибель кардиомиоцитов, напрямую ингибируя инфильтрацию воспалительными макрофагами и способствуя поляризации противовоспалительных макрофагов M2, что, в свою очередь, ослабляет апоптоз кардиомиоцитов и местный воспалительный процесс [129]. Кроме того, доказана роль IL-15 в защите кардиомиоцитов от окислительного стресса посредством активации пути PI3K/ERK1/2 [93]. В работе Dozio et. al. было показано, что содержание IL-15 и IL-15R α в плазме крови было выше у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), чем у пациентов без ИБС [52]. Такие данные согласуются с нашими результатами и могут свидетельствовать об остром состоянии заболевания пациентов с ИБС по сравнению с пациентами с ИКМП, у которых концентрация IL-15 в миокарде близка к нулевым значениям (табл.11).

При поиске взаимосвязей между концентрацией цитокинов и клинико-морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ИБС без ИКМП было показано, что лишь концентрация VEGF значимо влияет на плотность капилляров в миокарде ($r = 0,657$; рис.32). Это неудивительно, так как VEGF

является одним из основных сигнальных белков, вырабатываемых клетками для стимулирования васкулогенеза и ангиогенеза [34]. Связь концентрации VEGF с плотностью капилляров в миокарде ИБС полностью согласуется с полученными нами данными морфометрического анализа о количественном преобладании капилляров (в 5 раз) и их диаметра (в 10 раз) в миокарде пациентов с ИБС в сравнении с ИКМП.

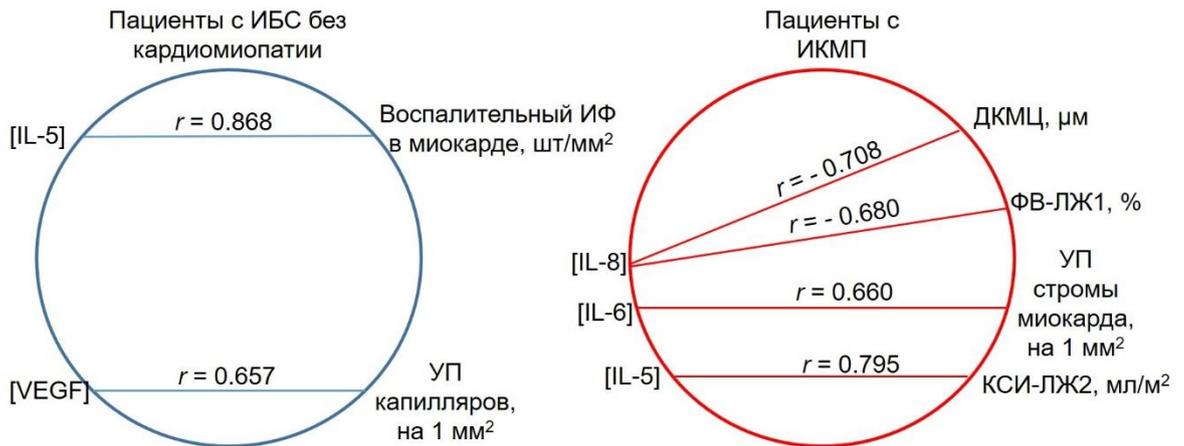


Рисунок 32 - Интегральная карта взаимосвязей между концентрацией цитокинов и факторов роста в тканевой культуре миокарда *in vitro* и клинико-морфометрическими показателями сердца пациентов с ИБС без кардиомиопатии и пациентов с ИКМП.

Примечание. УП – удельная площадь, ФВ-ЛЖ1 – фракция выброса левого желудочка, измеренная до операции, КСИ-ЛЖ2 – конечно-систолический индекс левого желудочка, рассчитанный после операции.

Таким образом, *in vitro* оценка цитокинового профиля миокарда пациентов с ИКМП и ИБС свидетельствует о протекании воспалительных процессов в сердечной ткани разного характера, сначала острого, в последствии хронического, частым неблагоприятным исходом которых является патологическое ремоделирование миокарда. Данные результаты согласуются с полученными ранее данными морфологического и иммуногистохимического исследования [32, 45]. Оценка маркеров воспаления может послужить прогностическим предиктором развития осложнения сердечно-сосудистых заболеваний, а ингибирование провоспалительных цитокинов может стать новым направлением лечения данной категории

пациентов. Анализ секреторной активности миокарда показал важность оценки факторов ангиогенеза и ангиостаза и провоспалительных цитокинов. В совокупности эти факторы могут послужить маркерами осложнений болезней сердца, либо стать эффективными терапевтическими мишенями, тем самым ложась в основу новых подходов диагностики и лечения данной категории больных.

В целом, патогенез ИБС без ИКМП и ИКМП схож (рис. 33 и 34), в основе которого лежит ишемическое повреждение миокарда, вызванное нарушением коронарного кровообращения [1,2]. Морфологическая картина характеризуется сопоставимым удельным объемом паренхимы и стромы миокарда при равной степени выраженности интерстициального отека, воспалительного инфильтрата, фиброза и дегенерации соединительной ткани (рис. 4 и 7, табл. 5). Однако, при ИБС имеются признаки острой ишемии вследствие микрососудистой дисфункции, о чем свидетельствует трехкратное повышение концентрации Flt-3L в тканевой культуре миокарда (табл. 11) и компенсаторное увеличение доли компонентов микрососудистого русла: секреция VEGF клетками сердца (табл. 15), увеличение УП капилляров и их диаметра по сравнению с ИКМП, преобладание экспрессии маркера гладкомышечных клеток сосудов α SMA, свидетельствующие о протекании защитно-приспособительных механизмов (табл. 5 и 7, соответственно).

Больные ИБС с ИКМП и без нее были сопоставимы по возрасту, полу, функциональным классам стенокардии напряжения, функциональным классам классификации выраженности хронической сердечной недостаточности Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA), по степени артериальной гипертензии. Однако они достоверно различались по конечным диастолическим и систолическим показателям, и фракции выброса левого желудочка, рассчитанным и измеренным как до операции, так и в течение более 6 месяцев с момента хирургической манипуляции (табл. 2).

Различия были выявлены для показателей, которые являлись критериями диагностики ИКМП и разделения больных на группы.

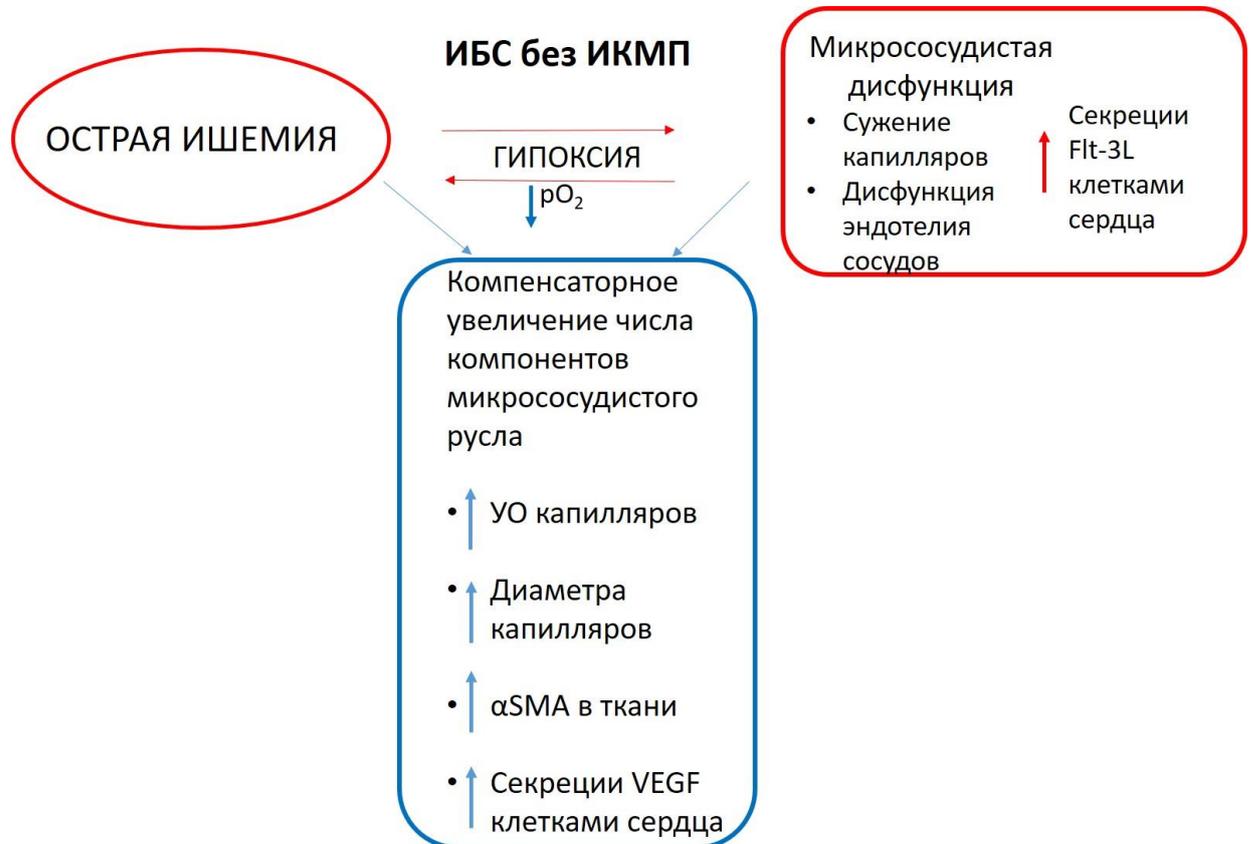


Рисунок 33 – Патогенез ишемической болезни сердца без кардиомиопатии.

При ИКМП (вне зависимости от типа послеоперационного ремоделирования миокарда), в отличие от ИБС без кардиомиопатии, имеет место быть ишемическое повреждение кардиомиоцитов вследствие недостаточного объема сосудистой сети миокарда с образованием незрелых сосудов, а также накопление M2-макрофагов и фибробластов в миокарде с нарушением механических свойств соединительной ткани сердца вследствие уменьшения соотношения коллагенов I и III типов (табл. 7), с преобладанием коллагена III типа, придающим свойство растяжимости ВКМ, и как следствие, является предрасполагающим фактором к дилатации сердца. Анализ цитокинового профиля тканевой культуры миокарда

пациентов с ИКМП подтверждает процессы перестройки ВКМ при ИКМП, демонстрируя высокую интрамиокардиальную концентрацию GM-CSF по сравнению с нулевыми значениями при ИБС без кардиомиопатии (табл. 11). GM-CSF является одним из ключевых активаторов дифференцировки сердечных фибробластов в миофибробласты и реструктуризации миокарда, особенно на фоне воспалительного процесса [131].

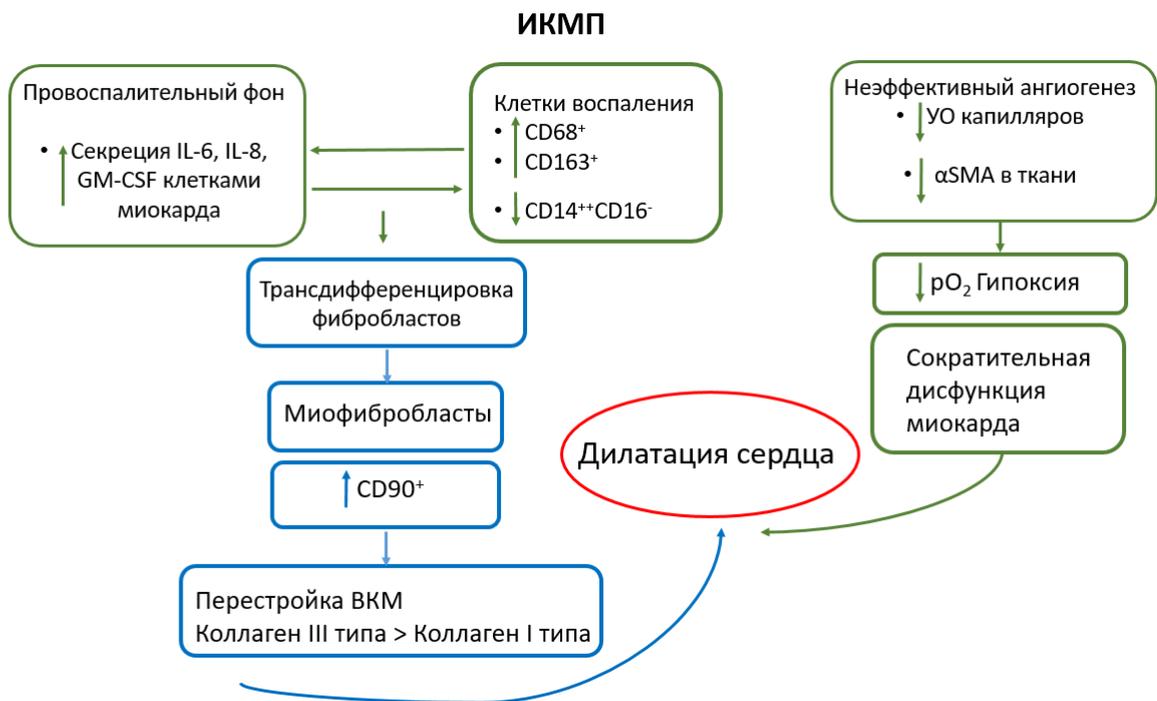


Рисунок 34 – Патогенез ишемической кардиомиопатии.

Вне зависимости от наличия ИКМП при ИБС аккумуляция M2-макрофагов в миокарде сопряжена с уменьшением классических моноцитов в крови, однако, не сопровождается отличиями по содержанию классических, промежуточных, неклассических и переходных моноцитов в крови между больными ИБС, страдающими и не страдающими ИКМП (табл. 10).

Прогрессирующее послеоперационное ремоделирование сердца при ИКМП обусловлено наличием воспалительного процесса и секрецией высоких концентраций провоспалительных цитокинов (IL-8, GRO, G-CSF, RANTES)

тканевой культурой миокарда, которые поддерживают хроническое течение воспаления (табл. 12). Несмотря на преобладание капилляров в миокарде при ПР по сравнению с группой пациентов с ОР (табл. 4), по всей видимости, прогрессирующий тип ремоделирования ЛЖ характеризуется неэффективным ангиогенезом (формированием капилляров без развития других структур микроциркуляторного русла) и недостаточностью образования фиброзной ткани в миокарде на момент проведения хирургического вмешательства (рис. 35). При этом содержание M2-макрофагов, фибробластов, Т-лимфоцитов, типов коллагенов в миокарде и процессы деградации ВКМ не влияют на тип послеоперационного ремоделирования сердца (табл. 6).

ИКМП с прогрессирующим ремоделированием ЛЖ



ИКМП с обратным ремоделированием ЛЖ



Рисунок 35 – Патогенез прогрессирующего и обратного ремоделирования левого желудочка при ишемической кардиомиопатии.

Заключение

Патологические процессы, лежащие в основе ИКМП и ИБС без кардиомиопатии имеют схожие черты: эндотелиальная дисфункция коронарных артерий, их атеросклероз и ишемия, вызывающая гипоксическое повреждение миокарда [16]. Однако, ответ организма на схожие патологические процессы у пациентов в действительности оказывается различным, и у части пациентов (до 35%) формируется тяжелая форма ИБС - ишемическая кардиомиопатия [16, 58, 87]. По данным ряда источников, столь разная реакция может быть связана с особенностями структуры внеклеточного матрикса (ВКМ) сердца и затяжным воспалительным процессом при ИКМП, что сопровождается дисбалансом цитокинов и разрозненностью процессов синтеза и деградации компонентов ВКМ [16, 42, 47, 63, 114, 144]. В диссертационной работе были показаны морфологические различия ИКМП и ИБС без кардиомиопатии, заключающиеся в увеличении доли компонентов микрососудистого русла у пациентов с ИБС, неосложненной кардиомиопатией, как фактора защитно-приспособительной реакции сердца. Относительно ВКМ также были показаны различия по соотношению основных компонентов ВКМ – коллагенов I и III типов, с превалированием у больных ИКМП коллагена III типа с низкой жесткостью, а у больных ИБС без кардиомиопатии – коллагена I типа с высокой жесткостью. Данные факты демонстрируют инициацию компенсаторных процессов в миокарде при ИБС без кардиомиопатии, предотвращающих формирование этого тяжелого осложнения, которые у больных с ИКМП не реализуются.

В свою очередь, успешно проведенное хирургическое лечение ИКМП до 35% случаев заканчивается прогрессирующим ремоделированием сердца, означающим возвращение геометрии и гемодинамических показателей ЛЖ к дооперационным значениям. Поэтому прогрессирующее ремоделирование (ПР) сердца представляет серьезную проблему современной кардиохирургии, что предполагает постановку задачи поиска предикторов неблагоприятного

исхода операции, которые могут оказаться информативными на дооперационном этапе. Продемонстрированное наличие воспалительного процесса в миокарде ЛЖ у пациентов с его прогрессирующим ремоделированием и высокая интрамиокардиальная концентрация провоспалительных цитокинов позволяет отнести воспаление к основному фактору, отягчающему послеоперационное течение ИКМП. Отличия в тканевом и клеточном составе миокарда указывают на существование морфологического субстрата неблагоприятного отдаленного послеоперационного исхода (прогрессирующее ремоделирование) у пациентов с ИКМП.

В качестве прогностических предикторов неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ИКМП на дооперационном этапе можно предложить визуализацию маркеров воспалительного процесса в сердце: воспалительного инфильтрата и чрезмерного роста капиллярной сети. Несмотря на отсутствие достоверных отличий по маркерам, характеризующим ВКМ сердца, при разных типах ремоделирования, превалирующее количество фиброзной ткани было выявлено у пациентов с обратным типом ремоделирования, вероятно, структура и состав фиброзной ткани, в таком случае, выполняют немаловажную роль для поддержания каркаса сердца, препятствуя дилатации. Углубленное изучение компонентов ВКМ, взаимоотношений между процессами синтеза и распада матриксной среды может стать направлением будущих исследований.

Продемонстрированная роль M2-макрофагов в патогенезе ИКМП и их взаимосвязь с популяцией классических моноцитов крови при ИБС (вне зависимости от наличия кардиомиопатии) обосновывает необходимость дальнейшего изучения механизмов рекрутирования моноцитов крови в ишемизированный миокард и открывает возможность управления составом инфильтрата в сердце с целью уменьшения доли M2-макрофагов. Кроме того, модификация клеточных свойств, функций и потенциалов дифференцировки

моноцитов крови может повлиять на состав микроокружения кардиомиоцитов и секреторный профиль миокарда, замедлив прогрессирование ИКМП.

ВЫВОДЫ

1. Морфометрические показатели миокарда у пациентов с ишемической кардиомиопатией (ИКМП) были сопоставимы с больными ишемической болезнью сердца (ИБС) с сохраненными гемодинамическими параметрами сердца и перенесенным инфарктом миокарда (без кардиомиопатии) по удельной площади паренхимы и стромы миокарда, интерстициального отека, выраженности воспалительного инфильтрата и фиброза в миокарде, но характеризовались меньшей степенью выраженности перинуклеарного отека кардиомиоцитов, количеством капилляров в сердце и величиной их просвета.
2. При ИКМП отмечено преобладание коллагена III типа над коллагеном I типа, повышенное количество фибробластов CD90⁺ и меньшее процентное содержание α SMA в миокарде относительно больных с ИБС без кардиомиопатии при равной между группами больных экспрессии MMP-2 и TIMP-1 в сердце. Миокард пациентов с ИКМП инфильтрирован преимущественно CD163⁺ и CD68⁺ макрофагами по сравнению с ИБС без кардиомиопатии.
3. Соотношение циркулирующих моноцитов крови и тканевых макрофагов сердца показало обратно пропорциональную связь между субпопуляцией «классических» CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов крови и M2-популяцией CD68⁺CD206⁺ макрофагов у пациентов с ишемической болезнью сердца вне зависимости от наличия кардиомиопатии. При этом отличий в субпопуляционном составе моноцитов (CD14⁺⁺CD16⁻, CD14⁺⁺CD16⁺, CD14⁺CD16⁺⁺, CD14⁺CD16⁻) в крови и макрофагов (CD68⁺CD206⁺ и CD68⁺CD80⁺) в миокарде у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, не выявлено.
4. Цитокиновый профиль миокарда *in vitro* у пациентов с ИКМП и у больных ИБС без кардиомиопатии характеризовался высокой концентрацией провоспалительных цитокинов и хемокинов (GRO, IL-6,

МСР-1, IL-8) в обеих группах исследования. При этом интрамиокардиальная концентрация хемокина Fractalkine 3 ligand у пациентов ИБС без кардиомиопатии преобладала над таковой у пациентов с ИКМП.

5. Маркерами неблагоприятного исхода хирургического лечения пациентов с ИКМП в виде прогрессирующего ремоделирования миокарда являются: визуализация большого объема воспалительного инфильтрата и капиллярной сети в миокарде при меньшей доли соединительной ткани во внеклеточном матриксе сердца, а также повышенная интрамиокардиальная концентрация провоспалительных цитокинов IL-8, GRO, G-CSF и RANTES.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов publisher: Москва. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Базылев, В. В. Роль матриксных металлопротеиназ в ремоделировании миокарда / В. В. Базылев, Т. В. Канаева // CardioСоматика. – 2020. – Т. 11. – № 3. – С. 22-28.
3. Батюшин, М. М. Выявление виментина, панцитокератина, гладкомышечного актина, Е-катгерина и антител к CD-10-маркеров эпителиально-мезенхимальной трансформации при хроническом гломерулонефрите / М. М. Батюшин, Д. Г. Пасечник // Нефрология. – 2014. – Т. 18. – № 5. – С. 52-58.
4. Беленков, Ю. Н. Эпидемиологические исследования сердечной недостаточности: состояние вопроса / Ю. Н. Беленков, В. Ю. Мареев, Ф. Т. Агеев // Consilium Medicum. – 2002. – Т. 4. – Эпидемиологические исследования сердечной недостаточности. – № 3.
5. Биохимические и иммуногистохимические особенности нестабильных атеросклеротических бляшек при атеросклерозе коронарных артерий / И. С. Мурашов, Я. В. Полонская, Е. В. Каштанова [и др.] // Сибирский медицинский вестник. – 2018. – № 4. – С. 3-12.
6. Внеклеточный матрикс сердца и его изменения при фиброзе миокарда / О. В. Гриценко, Г. А. Чумакова, И. В. Шевляков, Н. Г. Веселовская // Кардиология. – 2020. – Т. 60. – № 6. – С. 107-112.
7. Гасанов, А. Г. Роль Изменений Внеклеточного Матрикса При Возникновении Сердечно-Сосудистых Заболеваний / А. Г. Гасанов, Т. В. Бершова // Биомедицинская Химия. – 2009. – Т. 55. – № 2.
8. Гетерогенность опухолеассоциированных фибробластов в колоректальном раке / Н. А. Олейникова, О. А. Харлова, Н. В. Данилова [и др.] // Архив патологии. – 2020. – Т. 82. – № 4. – С. 5-12.
9. Горелик, С. Г. НЕЙРОГУМОРАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОПЕРАЦИОННОГО СТРЕССА ПРИ СИНДРОМЕ СТАРЧЕСКОЙ АСТЕНИИ / С. Г. Горелик.
10. Григоркевич, О. С. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы / О. С. Григоркевич, Г. В. Мокров, Л. Ю. Косова // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2019. – № 2. – С. 3-16.

11. Гутор, С. С. Прогностическая значимость морфологических и молекулярных показателей состояния миокарда для исходов хирургического лечения больных ишемической кардиомиопатией / С. С. Гутор. – 2014.
12. Дземешкевич, С. Л. Дисфункции миокарда и сердечная хирургия / С. Л. Дземешкевич, Стивенсон Ларри У. – ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 352 с.
13. ДИА-М. Мультиплексный анализ / ДИА-М. – URL: <https://www.diam.ru/catalog/lab/multipleksnyj-analiz/> (дата обращения: 10.06.2023). – Текст : электронный.
14. Ежов, М. В. Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические рекомендации. / М. В. Ежов, Ю. А. Карпов, В. В. Кухарчук. – 2020. – 114 с. – URL: https://medi.ru/klinicheskie-rekomendatsii/stabilnaya-ishemicheskaya-bolezn-serdtsa_14287/ (дата обращения: 04.06.2023). – Текст : электронный.
15. Зюзенков, М. В. Ишемическая кардиомиопатия / М. В. Зюзенков // Военная медицина. – 2013. – № 1. – С. 35-36.
16. Ишемическая кардиомиопатия: моноциты крови и медиаторы их дифференциации / С. П. Чумакова, В. М. Шипулин, О. И. Уразова [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2019. – Т. 74. – № 6. – С. 396-404.
17. Казаков, В. А. Тканевые, клеточные и молекулярные аспекты послеоперационного ремоделирования левого желудочка у больных ишемической кардиомиопатией / В. А. Казаков. – Томск : ГОУВПО "Сибирский государственный медицинский университет", 2011.
18. Ким, Л. Б. Постинфарктное Ремоделирование Левого Желудочка И Фазы Репаративного Фиброза / Л. Б. Ким, В. Ю. Куликов, Н. Г. Минина // Атеросклероз. – 2010. – Т. 6. – № 1.
19. Кожевников, М. Л. Морфологические признаки вероятности послеоперационного ремоделирования левого желудочка у больных с приобретенными пороками сердца / М. Л. Кожевников. – 2009. – URL: [https://earthpapers.net/morfologicheskie-priznaki-veroyatnosti-posleoperatsionnogo-remodelirovaniya-levogo-zheludochka-u-bolnyh-s-priobretennymi-](https://earthpapers.net/morfologicheskie-priznaki-veroyatnosti-posleoperatsionnogo-remodelirovaniya-levogo-zheludochka-u-bolnyh-s-priobretennymi-porokami-serdca/) (дата обращения: 05.06.2023). – Текст : электронный.
20. Кривошеков, Е. В. Патоморфологические предикторы послеоперационного ремоделирования сердца у больных ишемической кардиомиопатией / Е. В. Кривошеков,. – 2005. – Т. 6. – № 5. – С. 157.
21. Кропачева, Е. С. Внутрисердечный тромбоз: частота, факторы риска и место пероральных антикоагулянтов в лечении / Е. С. Кропачева // Атеротромбоз. – 2020. – № 1. – С. 127-145.

22. Лежнёв, А. А. Клинико-морфологические аспекты послеоперационного ремоделирования левого желудочка у пациентов с ишемической кардиомиопатией / А. А. Лежнёв. – Томск : Научно-исследовательский институт кардиологии Томского научного центра Сибирского отделения РАМН, 2010. – URL: <http://www.dslib.net/kardiologia/kliniko-morfologicheskie-aspekty-posleoperacionnogo-remodelirovaniya-levogo.html> (дата обращения: 04.06.2023). – Текст : электронный.
23. Мареев, В. Ю. Организация исследования и характеристика больных в исследовании «ФАСОН» / В. Ю. Мареев // Журн. сердечная недостаточность. – 2002. – № 2. – С. 97-98.
24. Маркеры воспаления-моноцитарный хемотаксический белок-1 (MCP-1) и С-реактивный белок в крови пациентов с нестабильной стенокардией и стабильной стенокардией напряжения / С. И. Проваторов, Т. П. Арефьева, И. И. Кухтина [и др.] // Терапевтический архив. – 2006. – Т. 78. – № 6. – С. 66-69.
25. Миклишанская, С. В. Механизмы Формирования Миокардиального Фиброза В Норме И При Некоторых Сердечно-Сосудистых Заболеваниях. Методы Его Диагностики / С. В. Миклишанская, Н. А. Мазур, Н. В. Шестакова // Медицинский Совет. – 2017. – № 12.
26. Монастырская, Е. А. M1 и M2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии / Е. А. Монастырская, С. В. Лямина, И. Ю. Малышев // Патогенез. – 2008. – Т. 6. – № 4. – С. 31-39.
27. Моноциты крови в поддержании баланса деструктивных и репаративных процессов в сосудистой эндотелии при ишемической кардиомиопатии / С. П. Чумакова, О. И. Уразова, О. А. Денисенко [и др.] // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2022. – Т. 11. – № 3. – С. 84-96.
28. Нестеров, В. С. Хроническая сердечная недостаточность: современные проблемы и пути их решения / В. С. Нестеров, И. А. Урванцева, А. С. Воробьев // Медицинская Наука И Образование Урала. – 2018. – Т. 19. – Хроническая сердечная недостаточность. – № 3 (95).
29. Общие механизмы и медиаторы воспаления в развитии атеросклероза и псориаза / В. В. Соболев, М. Е. Саутин, А. Л. Пирузян [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2017. – № 15. – С. 16-19.
30. Осовская, Н. Ю. Ишемическая кардиомиопатия: терминология, эпидемиология, патофизиология, диагностика, подходы к лечению | Интернет-издание «Новости медицины и фармации». – URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/16868> (дата обращения: 04.06.2023). – Текст : электронный.

31. Отдаленный Прогноз Повторного Ремоделирования Левого Желудочка После Хирургического Лечения Ишемической Кардиомиопатии: Возможности Нагрузочной Радионуклидной Томоэнцефалографии / В. В. Шипулин, А. И. Мишкина, М. О. Гуля [и др.] // Российский Кардиологический Журнал. – 2020. – Т. 25. – Отдаленный Прогноз Повторного Ремоделирования Левого Желудочка После Хирургического Лечения Ишемической Кардиомиопатии. – № 11.
32. Оценка состояния экстрацеллюлярного матрикса миокарда у пациентов с ишемической кардиомиопатией / А. И. Стельмашенко, С. А. Беляева, Р. М. Карпов, С. Л. Андреев. – 2021. – Т. 19. – № 4. – С. 65-71.
33. Павлов, А. В. Виды хирургического лечения постинфарктных аневризм левого желудочка / А. В. Павлов, М. Л. Гордеев, В. И. Терещенко // Альманах Клинической Медицины. – 2015. – № 38.
34. Полиморфизм генов фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и матриксных металлопротеиназ (ММП) при первичной лимфедеме конечностей / А. В. Шевченко, В. Ф. Прокофьев, В. И. Коненков [и др.] // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 497-506.
35. Результаты реконструктивных вмешательств у больных с ишемической кардиомиопатией / А. С. Пряхин, В. М. Шипулин, С. Л. Андреев [и др.] // Современные Проблемы Науки И Образования. – 2020. – № 2.
36. Розенберг, В. Д. Патоморфологические критерии ремоделирования постинфарктного сердца / В. Д. Розенберг, Л. М. Непомнящих // Бюллетень Экспериментальной Биологии И Медицины. – 2003. – Т. 135. – № 1.
37. Розенберг, В. Д. Постинфарктное ремоделирование сердца: варианты патоморфологических изменений правого желудочка / В. Д. Розенберг, Л. М. Непомнящих // Бюллетень Экспериментальной Биологии И Медицины. – 2003. – Т. 136. – Постинфарктное ремоделирование сердца. – № 9.
38. Саркисов, Д. С. Микроскопическая техника. Т. 544 / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – 1996.
39. Секретируемые в составе внеклеточных везикул микроРНК как потенциальные медиаторы антифибротического действия мезенхимных стромальных клеток / Н. А. Басалова, Г. Д. Сагарадзе, М. С. Арбатский [и др.] // Гены и Клетки. – 2019. – Т. 14. – № 5. – С. 35-36.
40. Сиротин, Б. З. Состояние микроциркуляторного русла у больных ишемической болезнью сердца и влияние на него курения табака / Б. З. Сиротин, И. К. Явная, К. В. Жмеренецкий // Профилактическая медицина. – 2013. – Т. 16. – № 3. – С. 44-48.

41. Современное состояние проблемы хирургического лечения ишемической кардиомиопатии / В. М. Шипулин, А. С. Пряхин, С. Л. Андреев [и др.] // Кардиология. – 2019. – Т. 59. – № 9.
42. Современные клиничко-фундаментальные аспекты в диагностике и лечении пациентов с ишемической кардиомиопатией (обзор) / В. М. Шипулин, А. С. Пряхин, С. Л. Андреев [и др.] // Сибирский Журнал Клинической И Экспериментальной Медицины. – 2021. – Т. 36. – № 1.
43. Содержание цитокиновых маркеров воспаления у больных при хронической сердечной недостаточности, обусловленной некоторыми кардиомиопатиями / К. А. Хамитова, А. Н. Чепурная, В. И. Никуличева, Г. Ш. Сафуанова // Acta biomedica scientifica. – 2017. – Т. 2. – № 3 (115). – С. 48-54.
44. Сократительные белки сосудистых гладкомышечных клеток-универсальные маркеры сосудов микроциркуляторного русла / Л. А. Богданов, Е. А. Великанова, А. Ю. Каноныкина [и др.] // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2022. – Т. 11. – № 3. – С. 162-176.
45. Стельмашенко, А. И. Морфологические и молекулярные предикторы повторного ремоделирования левого желудочка при ишемической кардиомиопатии / А. И. Стельмашенко, С. А. Беяева // Морфологический Альманах Имени В.г. Ковешникова. – 2019. – Т. 17. – № 4.
46. Сторожаков, Г. И. Кардиомиопатии: эволюция взглядов на проблему / Г. И. Сторожаков // Лечебное Дело. – 2009. – Кардиомиопатии. – № 1.
47. Субпопуляционный состав моноцитов крови и костного мозга у больных с хронической сердечной недостаточностью / М. В. Винс, С. П. Чумакова, О. И. Уразова [и др.] // Бюллетень Сибирской Медицины. – 2018. – Т. 17. – № 4.
48. Суровцева, М. В. Ремоделирование органов-мишеней у больных хронической сердечной недостаточностью ишемической этиологии и возможности его коррекции / М. В. Суровцева. – 2014. – С. 40.
49. Чувилева, В. А. Ишемическая кардиопатия в практике врача / В. А. Чувилева, В. В. Скворцов, Г. В. Еремина // Медицинский алфавит. – 2020. – № 7. – С. 27-30.
50. Эпидемиология хронической систолической сердечной недостаточности на современном этапе / А. А. Зарудский, Е. В. Шелякина, И. Ю. Шкилева [и др.] // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2017. – Т. 19. – № 12. – С. 167-171.
51. Goudswaard, L. J. Do the chemokines MDC and TARC contribute to obesity-related platelet hyperactivity and cardiovascular disease? / L. J. Goudswaard. – 2019. – P. 133.

52. A theoretical timeline for myocardial infarction: immunohistochemical evaluation and western blot quantification for Interleukin-15 and Monocyte chemoattractant protein-1 as very early markers / E. Turillazzi, M. Di Paolo, M. Neri [et al.] // *Journal of Translational Medicine*. – 2014. – Vol. 12. – A theoretical timeline for myocardial infarction. – P. 188.
53. Activated T lymphocytes are essential drivers of pathological remodeling in Ischemic Heart Failure / S. S. Bansal, M. A. Ismahil, M. Goel [et al.] // *Circulation. Heart Failure*. – 2017. – Vol. 10. – № 3. – P. e003688.
54. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease / P. M. Ridker, B. M. Everett, T. Thuren [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. – 2017. – Vol. 377. – № 12. – P. 1119-1131.
55. Association of heart failure and its comorbidities with loss of life expectancy / M. Drozd, S. D. Relton, A. M. N. Walker [et al.] // *Heart (British Cardiac Society)*. – 2021. – Vol. 107. – № 17. – P. 1417-1421.
56. Baum, J. Fibroblasts and myofibroblasts: what are we talking about? / J. Baum, H. S. Duffy // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2011. – Vol. 57. – Fibroblasts and myofibroblasts. – № 4. – P. 376-379.
57. Berezin, A. E. Adverse Cardiac Remodelling after Acute Myocardial Infarction: Old and New Biomarkers / A. E. Berezin, A. A. Berezin // *Disease Markers*. – 2020. – Vol. 2020. – Adverse Cardiac Remodelling after Acute Myocardial Infarction. – P. 1215802.
58. Bhandari, B. Ischemic Cardiomyopathy / B. Bhandari, B. S. Quintanilla Rodriguez, W. Masood. – Text : electronic // *StatPearls*. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2023. – URL: (date accessed: 05.06.2023).
59. Bhatt, A. S. Adverse Remodeling and Reverse Remodeling After Myocardial Infarction / A. S. Bhatt, A. P. Ambrosy, E. J. Velazquez // *Current Cardiology Reports*. – 2017. – Vol. 19. – № 8. – P. 71.
60. Boren, E. Inflamm-aging: autoimmunity, and the immune-risk phenotype / E. Boren, M. E. Gershwin // *Autoimmunity Reviews*. – 2004. – Vol. 3. – Inflamm-aging. – № 5. – P. 401-406.
61. Burch, G. E. Ischemic cardiomyopathy / G. E. Burch, T. D. Giles, H. L. Colcolough // *American Heart Journal*. – 1970. – Vol. 79. – № 3. – P. 291-292.
62. Cathepsin S-mediated fibroblast trans-differentiation contributes to left ventricular remodelling after myocardial infarction / H. Chen, J. Wang, M.-X. Xiang [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2013. – Vol. 100. – № 1. – P. 84-94.

63. Cells of the Immune System in Cardiac Remodeling: Main Players in Resolution of Inflammation and Repair After Myocardial Infarction / I. Kologrivova, M. Shtatolkina, T. Suslova, V. Ryabov // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – Cells of the Immune System in Cardiac Remodeling. – P. 664457.
64. Chemokines and Heart Disease: A Network Connecting Cardiovascular Biology to Immune and Autonomic Nervous Systems / V. Dusi, A. Ghidoni, A. Ravera [et al.] // *Mediators of Inflammation*. – 2016. – Vol. 2016. – Chemokines and Heart Disease. – P. 5902947.
65. Chemokines regulate small leucine-rich proteoglycans in the extracellular matrix of the pressure-overloaded right ventricle / A. Waehre, M. Vistnes, I. Sjaastad [et al.] // *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*. – 2012. – Vol. 112. – № 8. – P. 1372-1382.
66. Circulating matrix metalloproteinase-2 but not matrix metalloproteinase-3, matrix metalloproteinase-9, or tissue inhibitor of metalloproteinase-1 predicts outcome in patients with congestive heart failure / J. George, S. Patal, D. Wexler [et al.] // *American Heart Journal*. – 2005. – Vol. 150. – № 3. – P. 484-487.
67. Clinical determinants of mortality in patients with angiographically diagnosed ischemic or nonischemic cardiomyopathy / B. A. Bart, L. K. Shaw, C. B. McCants [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1997. – Vol. 30. – № 4. – P. 1002-1008.
68. Critical role for granulocyte colony-stimulating factor in inflammatory arthritis / K. E. Lawlor, I. K. Campbell, D. Metcalf [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2004. – Vol. 101. – № 31. – P. 11398-11403.
69. Cytokines, interstitial collagen and ventricular remodelling in dilated cardiomyopathy / P. Timonen, J. Magga, J. Risteli [et al.] // *International Journal of Cardiology*. – 2008. – Vol. 124. – № 3. – P. 293-300.
70. Davey, H. M. Flow cytometric techniques for the detection of microorganisms / H. M. Davey // *Methods in Cell Science: An Official Journal of the Society for In Vitro Biology*. – 2002. – Vol. 24. – № 1-3. – P. 91-97.
71. Dick, S. A. Chronic Heart Failure and Inflammation: What Do We Really Know? / S. A. Dick, S. Epelman // *Circulation Research*. – 2016. – Vol. 119. – Chronic Heart Failure and Inflammation. – № 1. – P. 159-176.
72. Differential response of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, dermal fibroblasts, and keratinocytes to burn wound exudates: potential role of skin-specific chemokine CCL27 / L. J. van den Broek, K. L. Kroeze, T. Waaijman [et al.] // *Tissue Engineering. Part A*. – 2014. – Vol. 20. – Differential response of human

adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, dermal fibroblasts, and keratinocytes to burn wound exudates. – № 1-2. – P. 197-209.

73. Dilated cardiomyopathy is associated with significant changes in collagen type I/III ratio / M. Pauschinger, D. Knopf, S. Petschauer [et al.] // *Circulation*. – 1999. – Vol. 99. – № 21. – P. 2750-2756.

74. Dor, V. Left ventricular aneurysms: the endoventricular circular patch plasty / V. Dor // *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 1997. – Vol. 9. – Left ventricular aneurysms. – № 2. – P. 123-130.

75. Doulamis, I. P. Left ventricular reconstruction surgery in ischemic heart disease: a systematic review of the past two decades / I. P. Doulamis, D. N. Perrea, I. A. Chloroyiannis // *The Journal of Cardiovascular Surgery*. – 2019. – Vol. 60. – Left ventricular reconstruction surgery in ischemic heart disease. – № 3. – P. 422-430.

76. Dynamic interactions between myocytes, fibroblasts, and extracellular matrix / I. Banerjee, K. Yekkala, T. K. Borg, T. A. Baudino // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 1080. – P. 76-84.

77. Early and late outcome of left ventricular reconstruction surgery in ischemic heart disease / P. Klein, J. J. Bax, L. J. Shaw [et al.] // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery: Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery*. – 2008. – Vol. 34. – № 6. – P. 1149-1157.

78. Effects of G-CSF on left ventricular remodeling and heart failure after acute myocardial infarction / H. Takano, Y. Qin, H. Hasegawa [et al.] // *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*. – 2006. – Vol. 84. – № 3. – P. 185-193.

79. Eight years survival after partial left ventriculectomy / E. N. Soo, R. Ascione, P. Wilde, G. D. Angelini // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery: Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery*. – 2005. – Vol. 27. – № 4. – P. 724-725.

80. Elevated platelet-derived growth factor AB/BB is associated with a lower risk of recurrent vascular events in stroke patients / K. Narasimhalu, L. Ma, D. A. De Silva [et al.] // *International Journal of Stroke: Official Journal of the International Stroke Society*. – 2015. – Vol. 10. – № 1. – P. 85-89.

81. Embryonic and adult-derived resident cardiac macrophages are maintained through distinct mechanisms at steady state and during inflammation / S. Epelman, K. J. Lavine, A. E. Beaudin [et al.] // *Immunity*. – 2014. – Vol. 40. – № 1. – P. 91-104.

82. Epidemiology of heart failure / A. Groenewegen, F. H. Rutten, A. Mosterd, A. W. Hoes // *European Journal of Heart Failure*. – 2020. – Vol. 22. – № 8. – P. 1342-1356.

83. Equivalence of the acute cytokine surge and myocardial injury after coronary artery bypass grafting with and without a novel extracorporeal circulation system / T. Murakami, H. Iwagaki, S. Saito [et al.] // *The Journal of International Medical Research*. – 2005. – Vol. 33. – № 2. – P. 133-149.
84. Felker, G. M. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research / G. M. Felker, L. K. Shaw, C. M. O'Connor // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2002. – Vol. 39. – № 2. – P. 210-218.
85. Fu, J. D. Direct reprogramming of fibroblasts into cardiomyocytes for cardiac regenerative medicine - PubMed / J. D. Fu, D. Srivastava. – 2015. – P. 1372.
86. Galectin 3 and non-classical monocytes of blood as myocardial remodeling factors at ischemic cardiomyopathy / S. Chumakova, O. Urazova, V. Shipulin [et al.] // *International Journal of Cardiology. Heart & Vasculature*. – 2021. – Vol. 33. – P. 100766.
87. Global Epidemiology of Ischemic Heart Disease: Results from the Global Burden of Disease Study / M. A. Khan, M. J. Hashim, H. Mustafa [et al.] // *Cureus*. – 2020. – Vol. 12. – Global Epidemiology of Ischemic Heart Disease. – № 7. – P. e9349.
88. HDAC class I inhibitor, Mocetinostat, reverses cardiac fibrosis in heart failure and diminishes CD90+ cardiac myofibroblast activation / H. F. Nural-Guvener, L. Zakharova, J. Nimlos [et al.] // *Fibrogenesis & Tissue Repair*. – 2014. – Vol. 7. – P. 10.
89. Heart failure in cardiomyopathies: a position paper from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology / P. M. Seferović, M. Polovina, J. Bauersachs [et al.] // *European Journal of Heart Failure*. – 2019. – Vol. 21. – Heart failure in cardiomyopathies. – № 5. – P. 553-576.
90. Human cardiosphere-derived cells from patients with chronic ischaemic heart disease can be routinely expanded from atrial but not epicardial ventricular biopsies / H. L. Chan, Z. Meher Homji, R. S. M. Gomes [et al.] // *Journal of Cardiovascular Translational Research*. – 2012. – Vol. 5. – № 5. – P. 678-687.
91. Hypoxemia in the absence of blood loss or significant hypotension causes inflammatory cytokine release / W. Ertel, M. H. Morrison, A. Ayala, I. H. Chaudry // *The American Journal of Physiology*. – 1995. – Vol. 269. – № 2. – P. 160-166.
92. Hypoxia-inducible factor 2-alpha-dependent induction of IL-6 protects the heart from ischemia/reperfusion injury / J.-W. Wu, H. Hu, D. Li, L.-K. Ma // *Aging*. – 2021. – Vol. 13. – № 3. – P. 3443-3458.

93. IL-15: A novel pro-survival signaling pathway in cardiomyocytes / Y. Yeghiazarians, N. Honbo, I. Imhof [et al.] // *Journal of cardiovascular pharmacology*. – 2014. – Vol. 63. – № 5. – P. 406.
94. Immunohistochemical study of collagen types I and II and procollagen IIA in human cartilage repair tissue following autologous chondrocyte implantation / S. Roberts, J. Menage, L. J. Sandell [et al.] // *The Knee*. – 2009. – Vol. 16. – № 5. – P. 398-404.
95. Inflammatory markers and their association with post stroke cognitive decline / K. Narasimhalu, J. Lee, Y. L. Leong [et al.] // *International Journal of Stroke: Official Journal of the International Stroke Society*. – 2015. – Vol. 10. – № 4. – P. 513-518.
96. Interferon gamma-induced protein 10 (IP-10) and cardiovascular disease in African Americans / C. Leavitt, N. A. Zakai, P. Auer [et al.] // *PloS One*. – 2020. – Vol. 15. – № 4. – P. e0231013.
97. Ischaemic cardiomyopathy: pathophysiology, assessment and the role of revascularisation / N. Briceno, A. Schuster, M. Lumley, D. Perera // *Heart (British Cardiac Society)*. – 2016. – Vol. 102. – Ischaemic cardiomyopathy. – № 5. – P. 397-406.
98. Jiang, D. Defining Skin Fibroblastic Cell Types Beyond CD90 / D. Jiang, Y. Rinkevich // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2018. – Vol. 6. – P. 133.
99. Jr, S. Heart regeneration: beyond new muscle and vessels / S. Jr, R. Pr // *Cardiovascular research*. – 2021. – Vol. 117. – Heart regeneration. – № 3.
100. Katsumata, L. W. Portal fibroblasts marked by the surface antigen Thy1 contribute to fibrosis in mouse models of cholestatic liver injury / L. W. Katsumata, A. Miyajima, T. Itoh // *Hepatology Communications*. – 2017. – Vol. 1. – № 3. – P. 198-214.
101. Kehat, I. Molecular pathways underlying cardiac remodeling during pathophysiological stimulation / I. Kehat, J. D. Molkentin // *Circulation*. – 2010. – Vol. 122. – № 25. – P. 2727-2735.
102. Kellar, K. L. Multiplexed microsphere-based flow cytometric assays / K. L. Kellar, M. A. Iannone // *Experimental Hematology*. – 2002. – Vol. 30. – № 11. – P. 1227-1237.
103. Leukocyte iNOS is required for inflammation and pathological remodeling in ischemic heart failure / J. R. Kingery, T. Hamid, R. K. Lewis [et al.] // *Basic Research in Cardiology*. – 2017. – Vol. 112. – № 2. – P. 19.

104. Li, L. Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis / L. Li, Q. Zhao, W. Kong // *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology*. – 2018. – Vols. 68-69. – P. 490-506.
105. Lin, N. Hypoxia-inducible factors: key regulators of myeloid cells during inflammation / N. Lin, M. C. Simon // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2016. – Vol. 126. – Hypoxia-inducible factors. – № 10. – P. 3661-3671.
106. Macrophage Activities in Myocardial Infarction and Heart Failure / S. E. Duncan, S. Gao, M. Sarhene [et al.] // *Cardiology Research and Practice*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 4375127.
107. Macrophage Heterogeneity and Plasticity: Impact of Macrophage Biomarkers on Atherosclerosis / J. Rojas, J. Salazar, M. S. Martínez [et al.] // *Scientifica*. – 2015. – Vol. 2015. – Macrophage Heterogeneity and Plasticity. – P. 851252.
108. Macrophages Facilitate Electrical Conduction in the Heart / M. Hulsmans, S. Clauss, L. Xiao [et al.] // *Cell*. – 2017. – Vol. 169. – № 3. – P. 510-522.e20.
109. Maisch, B. Ventricular remodeling / B. Maisch // *Cardiology*. – 1996. – Vol. 87 Suppl 1. – P. 2-10.
110. Mechanoregulation of cardiac myofibroblast differentiation: implications for cardiac fibrosis and therapy / K. W. Yong, Y. Li, G. Huang [et al.] // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2015. – Vol. 309. – Mechanoregulation of cardiac myofibroblast differentiation. – № 4. – P. H532-542.
111. Menicanti L. Surgical left ventricle reconstruction, pathophysiologic insights, results and expectation from the STICH trial / L. Menicanti, M. Di Donato // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery: Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery*. – 2004. – Vol. 26 Suppl 1. – P. S42-46; discussion S46-47.
112. Menicanti, L. The Dor procedure: what has changed after fifteen years of clinical practice? / L. Menicanti, M. Di Donato // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2002. – Vol. 124. – The Dor procedure. – № 5. – P. 886-890.
113. Meta-analysis reveals inhibition of the inflammatory cytokine IL-6 affords limited protection post-myocardial ischemia/infarction / S. Duddu, M. Agrawal, R. Chakrabarti [et al.] // *Heliyon*. – 2022. – Vol. 8. – № 8. – P. e10435.
114. Miner, E. A look between the cardiomyocytes: the extracellular matrix in heart failure - PubMed / E. Miner, W. Miller. – 2006. – Vol. 125. – № 1. – P. 117-146.
115. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview / S. L. Deshmane, S. Kremlev, S. Amini, B. E. Sawaya // *Journal of Interferon & Cytokine Research*:

The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research. – 2009. – Vol. 29. – Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). – № 6. – P. 313-326.

116. Mouton, A. J. Myocardial infarction remodeling that progresses to heart failure: a signaling misunderstanding / A. J. Mouton, O. J. Rivera, M. L. Lindsey // American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology. – 2018. – Vol. 315. – Myocardial infarction remodeling that progresses to heart failure. – № 1. – P. H71-H79.

117. Multiple organ dysfunction in SARS-CoV-2: MODS-CoV-2 / C. Robba, D. Battaglini, P. Pelosi, P. R. M. Rocco // Expert Review of Respiratory Medicine. – 2020. – Vol. 14. – Multiple organ dysfunction in SARS-CoV-2. – № 9. – P. 865-868.

118. Nikolic-Paterson, D. J. Macrophages promote renal fibrosis through direct and indirect mechanisms / D. J. Nikolic-Paterson, S. Wang, H. Y. Lan // Kidney International Supplements. – 2014. – Vol. 4. – № 1. – P. 34-38.

119. Oishi, Y. Macrophages in inflammation, repair and regeneration / Y. Oishi, I. Manabe // International Immunology. – 2018. – Vol. 30. – № 11. – P. 511-528.

120. Pauschinger, M. Myocardial remodeling in viral heart disease: possible interactions between inflammatory mediators and MMP-TIMP system / M. Pauschinger, K. Chandrasekharan, H.-P. Schultheiss // Heart Failure Reviews. – 2004. – Vol. 9. – Myocardial remodeling in viral heart disease. – № 1. – P. 21-31.

121. Peripheral blood CD14^{high} CD16⁺ monocytes are main producers of IL-10 / J. Skrzeczyńska-Moncznik, M. Bzowska, S. Loseke [et al.] // Scandinavian Journal of Immunology. – 2008. – Vol. 67. – № 2. – P. 152-159.

122. Prabhu, S. D. The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction: From Inflammation to Fibrosis / S. D. Prabhu, N. G. Frangogiannis // Circulation Research. – 2016. – Vol. 119. – The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction. – № 1. – P. 91-112.

123. Prediction of left ventricular remodeling and analysis of infarct resorption in patients with reperfused myocardial infarcts by using contrast-enhanced MR imaging / G. K. Lund, A. Stork, K. Muellerleile [et al.] // Radiology. – 2007. – Vol. 245. – № 1. – P. 95-102.

124. Predictors of adverse events after surgical ventricular restoration for advanced ischaemic cardiomyopathy / M. Pocar, A. Di Mauro, D. Passolunghi [et al.] // European Journal of Cardio-Thoracic Surgery: Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery. – 2010. – Vol. 37. – № 5. – P. 1093-1100.

125. Progressive replacement of embryo-derived cardiac macrophages with age / K. Molawi, Y. Wolf, P. K. Kandalla [et al.] // *The Journal of Experimental Medicine*. – 2014. – Vol. 211. – № 11. – P. 2151-2158.
126. Reappraisal of Ischemic Heart Disease / J.-C. Kaski, F. Crea, B. J. Gersh, P. G. Camici // *Circulation*. – 2018. – Vol. 138. – № 14. – P. 1463-1480.
127. Report from a workshop on multianalyte microsphere assays / M. C. Earley, R. F. Vogt, H. M. Shapiro [et al.] // *Cytometry*. – 2002. – Vol. 50. – № 5. – P. 239-242.
128. Rocic, P. Can microRNAs be biomarkers or targets for therapy of ischemic coronary artery disease in metabolic syndrome? / P. Rocic // *Current drug targets*. – 2017. – Vol. 18. – № 15. – P. 1722-1732.
129. Role of interleukin-15 in cardiovascular diseases / L. Guo, M.-F. Liu, J.-N. Huang [et al.] // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2020. – Vol. 24. – № 13. – P. 7094-7101.
130. Sartipy, U. The Dor procedure for left ventricular reconstruction. Ten-year clinical experience / U. Sartipy, A. Albåge, D. Lindblom // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery: Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery*. – 2005. – Vol. 27. – № 6. – P. 1005-1010.
131. Sca-1+ cardiac fibroblasts promote development of heart failure / G. Chen, W. Bracamonte-Baran, N. L. Diny [et al.] // *European Journal of Immunology*. – 2018. – Vol. 48. – № 9. – P. 1522-1538.
132. Segura, A. M. Fibrosis and heart failure / A. M. Segura, O. H. Frazier, L. M. Buja // *Heart Failure Reviews*. – 2014. – Vol. 19. – № 2. – P. 173-185.
133. Sekulic, M. Ischemic Cardiomyopathy and Heart Failure / M. Sekulic, M. Zacharias, B. Medalion // *Circulation. Heart Failure*. – 2019. – Vol. 12. – № 6. – P. e006006.
134. Shinde, A. V. The role of α -smooth muscle actin in fibroblast-mediated matrix contraction and remodeling / A. V. Shinde, C. Humeres, N. G. Frangogiannis // *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*. – 2017. – Vol. 1863. – № 1. – P. 298-309.
135. Survival after myocardial revascularization for ischemic cardiomyopathy: a prospective ten-year follow-up study / P. J. Shah, D. L. Hare, J. S. Raman [et al.] // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2003. – Vol. 126. – Survival after myocardial revascularization for ischemic cardiomyopathy. – № 5. – P. 1320-1327.

136. T lymphocytes and fractalkine contribute to myocardial ischemia/reperfusion injury in patients / S. E. Boag, R. Das, E. V. Shmeleva [et al.] // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2015. – Vol. 125. – № 8. – P. 3063-3076.
137. Takatsu, K. Interleukin-5 and IL-5 receptor in health and diseases / K. Takatsu // *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences*. – 2011. – Vol. 87. – № 8. – P. 463-485.
138. Taylor, C. T. Hypoxia and gastrointestinal disease / C. T. Taylor, S. P. Colgan // *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*. – 2007. – Vol. 85. – № 12. – P. 1295-1300.
139. Temporal dynamics of cardiac immune cell accumulation following acute myocardial infarction / X. Yan, A. Anzai, Y. Katsumata [et al.] // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2013. – Vol. 62. – P. 24-35.
140. The Fractalkine receptor CX3CR1 links lymphocyte kinetics in CMV-seropositive patients and acute myocardial infarction with adverse left ventricular remodeling / L. Spray, C. Park, S. Cormack [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 605857.
141. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions / M. Nahrendorf, F. K. Swirski, E. Aikawa [et al.] // *The Journal of Experimental Medicine*. – 2007. – Vol. 204. – № 12. – P. 3037-3047.
142. Translational overview of cytokine inhibition in acute myocardial infarction and chronic heart failure / M. H. T. Hartman, H. E. Groot, I. M. Leach [et al.] // *Trends in Cardiovascular Medicine*. – 2018. – Vol. 28. – № 6. – P. 369-379.
143. Turnover of muscle protein in the fowl. Collagen content and turnover in cardiac and skeletal muscles of the adult fowl and the changes during stretch-induced growth / G. J. Laurent, M. P. Sparrow, P. C. Bates, D. J. Millward // *The Biochemical Journal*. – 1978. – Vol. 176. – № 2. – P. 419-427.
144. α -smooth muscle actin is not a marker of fibrogenic cell activity in skeletal muscle fibrosis / W. Zhao, X. Wang, K.-H. Sun, L. Zhou // *PloS One*. – 2018. – Vol. 13. – № 1. – P. e0191031.