

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук»

Научно-исследовательский институт кардиологии
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего
образования «Национальный исследовательский Томский государственный
университет»

На правах рукописи

Гомбожапова Александра Энхэевна

ВОССТАНОВИТЕЛЬНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ НА
РАННИХ И ПОЗДНИХ СРОКАХ ИНФАРКТА МИОКАРДА:
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПОЛЯРИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ

14.01.05 – Кардиология (медицинские науки)

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук
Рябов Вячеслав Валерьевич

Научный консультант
доктор биологических наук, профессор
Кжышковска Юлия Георгиевна

Томск – 2021

Оглавление

Введение.....	5
1 Обзор литературы.....	15
1.1 Молекулярно-клеточные основы постинфарктной регенерации миокарда ..	15
1.2 Происхождение и функция сердечных макрофагов.....	19
1.3 Функциональная классификация/поляризация сердечных макрофагов	22
1.4 Фенотипическая гетерогенность и функциональная пластичность макрофагов.....	23
1.5 Моноциты/макрофаги в механизме постинфарктной регенерации и ремоделирования миокарда	29
1.6 Кардиальный фиброз и моноциты/макрофаги	33
1.7 Место макрофагов в оси «сердце-мозг-почки» при ИМ.....	38
1.8 Моноциты/макрофаги как потенциальная мишень для профилактики и лечения постинфарктного ремоделирования сердца	39
1.8.1 Циркулирующие моноциты и их резервуары как терапевтическая мишень	40
1.8.2 Фенотип макрофага как терапевтическая мишень	42
2 Материалы и методы.....	45
2.1 Объект исследования	45
2.2 Методы исследования.....	50
2.2.1 Гистопатологическое исследование	50
2.2.2 Иммуногистохимическое исследование.....	52
2.2.3 Иммунофлюоресцентное исследование	53
2.2.4 Статистическая обработка материала.....	54
3 Результаты собственных исследований.....	56
3.1 Динамика макрофагальной инфильтрации миокарда у больных на ранних и поздних сроках инфаркта миокарда.....	56
3.2 Интенсивность макрофагальной инфильтрации миокарда в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта	72

3.3	Фенотипическая характеристика макрофагальной инфильтрации миокарда в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта	78
3.4	Фенотипическая гетерогенность сердечных макрофагов у больных инфарктом миокарда.....	83
3.4.1	CD163 ⁺ /CD206 ⁻ , CD206 ⁺ /CD163 ⁻ , CD163 ⁺ /CD206 ⁺ макрофаги у пациентов с ИМ в ранние и поздние сроки инфаркта	84
3.4.2	Стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁻ макрофаги и стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁺ клетки у пациентов с ИМ в ранние и поздние сроки инфаркта.....	90
3.5	Взаимосвязь субпопуляций сердечных макрофагов и клинико-анамнестических и патоморфологических характеристик больных фатальным ИМ I типа на ранних и поздних сроках заболевания	95
3.5.1	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов, ассоциированные с фиброзом в интактном миокарде у больных ИМ.....	95
3.5.2	Взаимосвязь количества сердечных макрофагов и моноцитов периферической крови у больных ИМ	97
3.5.3	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов и функция почек у больных ИМ.....	98
3.5.4	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов у больных ИМ, осложненным развитием соматогенного делирия.....	101
3.5.5	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов у пациентов с первичным и повторным инфарктом миокарда.....	102
3.5.6	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов у пациентов ИМ в зависимости от времени начала заболевания до поступления в стационар и выбранной стратегии лечения	105
3.5.7	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов и ФВ ЛЖ у пациентов с ИМ, умерших на поздних сроках заболевания	107
3.5.8	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов, ассоциированные с патоморфологическими признаками ремоделирования ЛЖ	107

3.5.9	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов, ассоциированные с разрывом миокарда в ранние сроки ИМ	109
3.5.10	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов у пациентов с острой аневризмой ЛЖ, умерших на ранних и поздних сроках ИМ	109
3.5.11	Фенотипические характеристики сердечных макрофагов, ассоциированные с развитием кардиогенного шока в ранние сроки ИМ	111
4	Обсуждение полученных результатов	113
4.1	Пространственно-временной паттерн аккумуляции макрофагов в миокарде больных ИМ.....	113
4.2	Фенотипическая гетерогенность сердечных макрофагов у больных ИМ ...	117
4.2.1	Сердечные макрофаги, экспрессирующие маркеры CD68, CD163, CD206 и стабилин-1	117
4.2.2	Клетки с фенотипом стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁺ у больных ИМ	119
4.3	Фенотипические и функциональные характеристики сердечных макрофагов, ассоциирующиеся с про- и антифиброзной активностью	121
4.4	Взаимосвязь количества сердечных макрофагов и моноцитов периферической крови у больных ИМ	124
4.5	Функция почек у больных ИМ и ее взаимосвязь с сердечными макрофагами	126
4.6	Фенотипические и функциональные характеристики макрофагов у больных ИМ с разрывом миокарда	128
4.7	Фенотипические и функциональные характеристики макрофагов у больных ИМ с аневризмой ЛЖ	131
4.8	Фенотипические и функциональные характеристики макрофагов у больных ИМ и кардиогенным шоком.....	132
	Заключение	134
	Выводы	141
	Практические рекомендации.....	142
	Список сокращений	144
	Список литературы	145

Введение

Актуальность проблемы

Современные методы инвазивного и медикаментозного лечения инфаркта миокарда (ИМ) привели к многократному снижению ранних летальных исходов заболевания [140, 10, 87, 151]. Однако на сегодняшний день можно выделить два основных тренда, характерных для мировой практики. Первое – это сохранение показателей госпитальной летальности, несмотря на все более широкое внедрение ранней инвазивной стратегии и увеличение частоты проведения эндоваскулярной реваскуляризации миокарда [87, 151]. Второе – это увеличение количества больных с постинфарктной сердечной недостаточностью (СН) [127, 42, 36, 78].

Основной вклад в показатели госпитальной летальности вносит кардиогенный шок (КШ). В течение последних 15 лет отмечается тенденция к увеличению доли пациентов с КШ [35]. Вместе с тем летальность при КШ не снижается и составляет от 45 до 70%, несмотря на активное использование устройств механической поддержки кровообращения. Разрыв миокарда представляет собой менее частое осложнение ИМ и встречается в 5–20%, но при этом его последствия катастрофичны [137]. Аневризма левого желудочка (ЛЖ) развивается у 5–10% больных с ИМ [139]. При этом в острый период ИМ аневризма может стать причиной разрыва миокарда, а в отдаленный период ИМ способствовать прогрессированию ремоделирования сердца и СН, вызывать нарушения ритма и являться причиной системных эмболий [97]. Более того, все пациенты, пережившие острый ИМ, остаются в группе высокого риска по развитию неблагоприятного ремоделирования сердца и СН, даже несмотря на своевременное и адекватное лечение инфаркта [78].

В основе развития осложнений ИМ лежит внезапная потеря сокращающихся кардиомиоцитов и следующий за ней процесс восстановительной регенерации миокарда. То, насколько благополучно будет протекать постинфарктная регенерация миокарда, опосредует течение раннего и позднего периода ИМ. Стремительный, но не продолжительный взлет клеточной терапии в

лечении ИМ продемонстрировал недостаточность наших знаний о механизмах развития постинфарктного ремоделирования сердца [62]. Изучение тех процессов, которые определяют баланс между благоприятным и неблагоприятным течением регенерации миокарда, остается актуальным направлением в поиске новых терапевтических мишеней для предотвращения развития острой и хронической СН у больных ИМ.

Система врожденного иммунитета является важным регулятором постинфарктного ремоделирования миокарда [23]. Моноциты/макрофаги принимают участие, как в воспалительной, так и в регенераторной фазе этого процесса. Число провоспалительных сердечных моноцитов/макрофагов быстро увеличивается в первые дни после ИМ [52, 134]. В последующие дни воспалительный фенотип моноцитов/макрофагов переходит в преимущественно репаративный, а именно в фенотип, координирующий формирование рубцовой ткани [182]. Активное участие моноцитов/макрофагов в ответе на острую ишемию миокарда и новые подходы к их изучению сделали эти клетки предметом научного интереса в качестве потенциальных мишеней для предотвращения развития неблагоприятного ремоделирования сердца. Однако различные стратегии, направленные на те или иные субпопуляции моноцитов/макрофагов, дали к настоящему времени противоречивые результаты [23]. Это может быть связано с рядом факторов. Макрофаги представляют собой гетерогенную популяцию клеток, способных быстро менять свой фенотип под действием сигналов микроокружения, что делает большинство исследования *in vitro* не воспроизводимыми *in vivo* [125]. Использование упрощенной классификации моноцитов/макрофагов, разделяющих их на две полярные субпопуляции, ограничивает понимание функционирования этих клеток [125]. Острота, динамичность и мультифакториальность ИМ как заболевания делает его сложным для изучения, как в модели, так и в клинике. Специфичность сердца как органа определяет ограничения к проведению эндомикардиальной биопсии, что затрудняет накопление клинического материала.

Тем не менее, количество доказательств, демонстрирующих роль моноцитов/макрофагов в разных аспектах развития неблагоприятного раннего и позднего ремоделирования сердца после ИМ растет, а барьеры в изучении моноцитов/макрофагов становятся менее непреодолимыми [23]. Появление в недавнем времени такого метода как секвенирование единичных клеток способствует более прицельной идентификации целевой популяции макрофагов и новых сигнальных путей для терапевтического воздействия на механизмы, лежащие в основе патогенеза синдрома СН. Все большее количество исследователей склоняются к необходимости пересмотра классификации моноцитов/макрофагов и указывают на важность учета пространственно-временного паттерна аккумуляции сердечных моноцитов/макрофагов при ИМ. При этом возникает необходимость проведения механистических исследований для валидации экспериментальных данных и демонстрации функциональных значений описанных в эксперименте макрофагальных фенотипов.

Гипотеза исследования

У пациентов с фатальным течением ИМ I типа субпопуляции сердечных макрофагов типа отличаются по пространственно-временной динамике, количественным показателям, функциональной активности и ассоциируются с различными клинико-anamnestическими и патоморфологическими характеристиками больных.

Цель исследования

Изучить макрофагальную инфильтрацию миокарда у пациентов с фатальным течением ИМ I типа и ее взаимосвязь с клинико-anamnestическими и патоморфологическими характеристиками больных на ранних и поздних сроках заболевания.

Задачи исследования

1. Оценить динамику макрофагальной инфильтрации миокарда у больных фатальным ИМ I типа с использованием маркеров CD68, CD163, CD206, стабилин-1 и α -SMA.

2. Сравнить интенсивность макрофагальной инфильтрации с использованием маркеров CD68, CD163, CD206, стабиллин-1 у больных фатальным ИМ I типа и у больных из группы контроля.

3. Исследовать интенсивность макрофагальной инфильтрации в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, у больных фатальным ИМ I типа на ранних и поздних сроках заболевания.

4. Изучить фенотипы сердечных макрофагов у больных фатальным ИМ I типа в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, на ранних и поздних сроках заболевания с использованием маркеров CD68, CD163, CD206, стабиллин-1 и α -SMA.

5. Исследовать взаимосвязь субпопуляций сердечных макрофагов с клинико-anamnestическими и патоморфологическими характеристиками больных фатальным ИМ I

Научная новизна

В настоящей работе впервые разработан протокол для изучения фенотипов макрофагов и их функциональной активности у больных ИМ I типа.

Выявлено, что у больных ИМ I типа сердечные макрофаги, помимо широко изучаемых маркеров – CD68, CD163 и CD206, экспрессируют скавенджер-рецептор стабиллин-1.

Получены новые данные о динамике, интенсивности и локализации макрофагальной инфильтрации миокарда у пациентов с фатальным течением ИМ I типа на ранних и поздних сроках заболевания. У больных с фатальным течением ИМ I типа выявлена пролонгированная CD68+, CD163+, CD206+ и стабиллин-1+ макрофагальная инфильтрация миокарда. Показано, что у пациентов с ИМ I типа в ответ на острую ишемию интенсивность макрофагальной инфильтрации изменяется как в зоне инфаркта и периинфарктной зоне, так и в отдаленных от инфаркта участках миокарда.

Для изучения реактивности макрофагальной реакции у больных ИМ I типа, впервые исследована макрофагальная инфильтрация в миокарде пациентов из группы контроля, а именно погибших от травм, несовместимых с жизнью и не

имеющих в анамнезе заболеваний сердечно-сосудистой системы. Показано, что сердечные CD68+, CD163+, CD206+ и стабиллин-1+ макрофаги присутствуют в группе контроля. Выявлено, что ранняя макрофагальная реакция в ответ на острую ишемию характерна для сердечных CD68+ и CD163+ макрофагов. Получены данные о том, что стабиллин-1 и CD206 являются маркерами регенераторной фазы ИМ, о чем свидетельствует увеличение количества стабиллин-1+ макрофагов сердца относительно группы контроля лишь на 4-е сутки ИМ, а CD206+ макрофагов на 10-е сутки ИМ.

Впервые использовано клиническое моделирование для изучения косвенных проявлений пластичности и противофиброзной активности сердечных макрофагов. Косвенным проявлением свойства пластичности фенотипа макрофагов, экспрессирующих стабиллин-1, является присутствие их в группе контроля и отсутствие в воспалительную фазу ИМ. Выявленная субпопуляция стабиллин-1⁺/α-SMA⁺ клеток свидетельствует о возможности клеточной трансдифференцировки и также является косвенным проявлением свойства пластичности макрофагов. О противофиброзной активности сердечных стабиллин-1⁺ макрофагов может судить наличие ассоциации их отсутствия и присутствия фиброза в интактном миокарде у больных ИМ. Также было показано, что низкое содержание стабиллин-1⁺/α-SMA⁻ в интактном миокарде у больных ИМ ассоциируется с патоморфологическими признаками ремоделирования сердца. Косвенным проявлением профиброзной активности сердечных CD68+ макрофагов является наличие ассоциации их повышенного количества с наличием фиброза в интактном миокарде у больных ИМ.

Продемонстрирована фенотипическая гетерогенность сердечных макрофагов при ИМ на клиническом материале. Показано, что изменения количества и фенотипического профиля сердечных макрофагов на ранних и поздних сроках ИМ затрагивают зону инфаркта, периинфарктную зону и зону, отдаленную от инфаркта.

Впервые изучена взаимосвязь макрофагальной инфильтрации миокарда у пациентов с фатальным течением ИМ I типа с клинико-анамнестическими

характеристиками больных. Выявлено, что клинико-anamнестические характеристики больных фатальным ИМ I типа ассоциируются с различными субпопуляциями макрофагов, экспрессирующих тот или иной маркер – CD68, CD163, CD206, стабилин-1 и α -SMA – или их комбинацию. Взаимосвязь субпопуляций сердечных макрофагов и клинико-anamнестических показателей зависит от сроков заболевания.

На примере ИМ продемонстрировано, что классификация макрофагов на M1 и M2 типы носит упрощенный характер. Ввиду фенотипической гетерогенности макрофагов и ее динамичности, она не позволяет в полной мере характеризовать ту или иную субпопуляцию макрофагов в конкретной клинической ситуации и не позволяет проводить клинико-морфологические параллели. Характеристика макрофагов по профилю экспрессии их маркеров является более точным индикатором их функциональной активности.

Научно-практическая значимость

Полученные в ходе исследования данные о макрофагальной инфильтрации миокарда пациентов с фатальным течением ИМ I типа носят фундаментальный и прикладной характер. Результаты работы предоставляют новую информацию о процессах, протекающих в миокарде в ответ на острую ишемию, что в перспективе может внести вклад в разработку новых фармакологических подходов к регулированию постинфарктного ремоделирования сердца. Данная информация была ранее недоступна в результате отсутствия возможности исследования образцов миокарда у больных ИМ в клинической практике.

Разработанный в исследовании протокол позволил определить фенотипы сердечных макрофагов, которые могут быть прицельно использованы для дальнейшего изучения, в том числе в качестве мишеней для регуляции воспалительной реакции, протекающей при ИМ и его конкретных осложнениях в эксперименте. Предметом интереса являются фенотипы макрофагов, экспрессирующих скавенджер-рецепторы CD68, CD163, CD206, стабилин-1, а также выявленная субпопуляция миофибробластоподобных клеток с фенотипом стабилин-1⁺/ α -SMA⁺.

В результате исследования разработан способ диагностики постинфарктного воспаления в миокарде, ассоциирующегося с неблагоприятным ремоделированием сердца.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с фатальным течением ИМ I типа с 1-х по 28-е сутки заболевания была отмечена инфильтрация макрофагами, экспрессирующими следующие маркеры: CD68, CD163, CD206, стабиллин-1.

2. Количество сердечных CD68+, CD163+, CD206+, стабиллин-1+ у пациентов с фатальным течением ИМ I типа макрофагов отличается от таковых значений в контрольной группе больных, погибших от травм, несовместимых с жизнью и не имеющих в анамнезе заболеваний сердечно-сосудистой системы.

3. Инфильтрация макрофагов, экспрессирующих маркеры CD68, CD163, CD206 и стабиллин-1 была обнаружена не только в инфарктной зоне, но также и в периинфарктной зоне, и в зоне, отдаленной от инфаркта, что указывает на вовлечение в воспалительную реакцию участков миокарда, удаленных от зоны инфаркта.

4. Макрофаги в миокарде больных ИМ I типа представлены фенотипически гетерогенной популяцией клеток, изменяющих экспрессионный профиль в фазу воспаления с 1-х по 3-и сутки и в фазу регенерации с 4-х по 28-е сутки.

5. Клинико-anamнестический и патоморфологический портрет пациента с ИМ I типа отличается количественными и фенотипическими характеристиками макрофагальной инфильтрации миокарда.

Внедрение результатов работы в практику

В ходе выполнения работы был разработан и апробирован протокол иммуногистохимического и иммунофлюоресцентного анализа макрофагальной инфильтрации у больных ИМ, который может быть использован в дальнейших исследованиях для изучения потенциальных маркеров неблагоприятного течения постинфарктной регенерации миокарда и целевых методов ее регуляции. Результаты, полученные в ходе использования данного протокола, обосновывают

перспективность неинвазивной визуализации постинфарктного воспаления миокарда при помощи сцинтиграфии миокарда с ^{99m}Tc -аналогом соматостатина. Неинвазивная визуализация постинфарктного воспаления в миокарде является потенциальным инструментом для персонализированного отбора пациентов в рандомизированные клинические исследования противовоспалительных стратегий по предотвращению неблагоприятного ремоделирования миокарда, а в случае их успеха – инструментом для персонализированного назначения противовоспалительных агентов и контроля эффективности проводимого ими лечения.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре кардиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также применяются в новых научно-исследовательских протоколах по изучению системного моноцитарно-макрофагального ответа на острую ишемию миокарда у больных ИМ на базе НИИ кардиологии Томского НИМЦ.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности результатов, предоставленных в работе, обоснована соответствием дизайна исследования поставленным в работе целям и задачам, применением современных методов исследования, применением высокотехнологического оборудования и подтверждена адекватными методами статистической обработки.

Материалы диссертации представлены и обсуждены на 16 всероссийских и международных конференциях: на XVI ежегодном научно-практическом семинаре молодых ученых «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической кардиологии» (Томск, 2016), на III национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 2017), на Российском национальном конгрессе кардиологов (Санкт-Петербург, 2017; Казань, 2020, он-лайн), на XII Всероссийском форуме «Вопросы неотложной кардиологии» (Москва, 2019), на Всероссийском научно-образовательном форуме с международным участием

«Кардиология XXI века: альянсы и потенциал» (Томск, 2018; Томск 2021), на международном конгрессе по сердечной недостаточности (Париж, 2017; Вена, 2018; Афины, 2019), на международном конгрессе по неотложной кардиологии (Милан, 2018; Малага, 2019), на международном конгрессе по сердечно-сосудистой биологии (Вена, 2018), на Европейском конгрессе кардиологов (Барселона, 2017; Париж, 2019; Амстердам, 2020, он-лайн). Часть работы была поддержана Фондом содействия инновациям (программа УМНИК) в рамках выполнения проекта «Разработка метода диагностики неблагоприятного ремоделирования сердца с использованием биомаркеров макрофагов у больных во время и после инфаркта миокарда» (номер договора 11854ГУ/2017).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, из них 8 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук рецензируемых журналах перечня, 6 статей в журналах, индексируемых в Scopus; 5 статей в журналах, индексируемых в Web of Science; 2 статьи в англоязычных журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus (Q1 и Q2); 1 патент на изобретение.

Личный вклад

Личное участие автора заключалось в участии планирования исследования; изучении и анализе литературы по теме диссертации; отборе больных для включения их в исследование; формировании базы данных. Автор лично проводил иммуногистохимическое и иммунофлюоресцентное исследование миокарда больных. Личное участие автора заключалось в написании тезисов, научных статей, в оформлении патента; в выступлениях с устными и стендовыми докладами на всероссийских и международных конгрессах по кардиологии. Весь материал, полученный в ходе выполнения работы, и затем, представленный в диссертации, обработан, проанализирован и описан лично автором.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 167 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы. Диссертация иллюстрирована 52 рисунками, содержит 39 таблиц. Список литературы включает 203 источника (6 отечественных и 197 иностранных).

1 Обзор литературы

1.1 Молекулярно-клеточные основы постинфарктной регенерации миокарда

Патогенетической основой ИМ является гибель кардиомиоцитов в результате длительной ишемии миокарда [94]. Первыми ультраструктурными изменениями, которые наблюдаются через 15 минут от начала ишемии, являются уменьшение клеточного гликогена, расслабление миофибрилл и разрушение сарколеммы [61]. Митохондриальные аномалии могут быть выявлены с помощью электронной микроскопии уже через 10 минут после окклюзии коронарной артерии. Для того, чтобы можно было идентифицировать некроз кардиомиоцитов при патологоанатомическом исследовании у больных ИМ, должно пройти несколько часов. Некроз кардиомиоцитов распространяется от эндокарда к эпикарду. Период гибели клеток может быть продлен за счет увеличения коллатерального кровотока, снижения детерминант потребления кислорода миокардом и интермиттирующей окклюзией/реперфузии коронарной артерии. Своевременное проведение реперфузионной терапии уменьшает ишемическое повреждение миокарда [58, 132].

Клиническое определение ИМ включает наличие острого повреждения миокарда, обнаруженного с помощью кардиоспецифических биомаркеров некроза миокарда в сочетании с признаками ишемии [61]. ИМ, вызванный атеротромботической ишемической болезнью сердца, а именно разрывом или эрозией атеросклеротической бляшки, обозначается как ИМ I типа. Критерием ИМ I типа является нарастание и/или снижение уровня сердечного тропонина (при условии, что хотя бы одно значение превышает 99 перцентиль от верхней границы нормы) в сочетании хотя бы с одним из перечисленных признаков: симптомы ишемии миокарда, вновь возникшие ишемические изменения на электрокардиограмме, появление патологического зубца Q, выявление по данным визуализирующих методик новых участков нежизнеспособного миокарда, либо

новых участков нарушения локальной сократимости предположительно ишемической этиологии, выявление тромба в коронарных артериях по данным коронароангиографии или аутопсии [61].

Зона инфаркта становится областью механической «слабости», для устранения которой необходимо формирование рубца, предотвращающего разрыв миокарда и ограничивающего зону сократительной дисфункции органа. Это адаптивное ремоделирование сердца не допускает смерти пациента в ранний постинфарктный период. Однако чрезмерное и прогрессирующее (дезадаптивное) ремоделирование желудочков как в зоне инфаркта, так и в удаленных от инфаркта зонах, изменяет размер и функцию камер сердца, что приводит к развитию синдрома сердечной недостаточности (СН). Понимание того, что лежит в основе баланса между адаптивным и дезадаптивным ремоделированием может выявить новые диагностические и терапевтические мишени в тактике ведения больных с постинфарктной СН [23].

Ответ системы врожденного иммунитета на острую ишемию миокарда является важным регулятором процесса постинфарктного ремоделирования сердца. Он включает три ключевые фазы: фазу воспаления, фазу ранней регенерации или фазу пролиферации, а также фазу поздней регенерации [126, 23, 177]. В результате некроза кардиомиоцитов и экстрацеллюлярного матрикса происходит высвобождение молекулярных паттернов, связанных с повреждением (damage associated molecular patterns, DAMPs). Клетки врожденного иммунитета распознают DAMPs, тем самым запуская фазу асептического воспаления. В эту фазу происходит каскад высвобождения хемокинов и провоспалительных цитокинов, который приводит к рекрутированию нейтрофилов, моноцитов и макрофагов в зону повреждения. Вместе эти клетки разрушают внеклеточный матрикс и фагоцитируют некротические клетки. За фазой воспаления, пик которой приходится на 3-й день повреждения, следует более длительная фаза ранней регенерации или фаза пролиферации, которая продолжается около 10 дней. Это фаза опосредована преимущественно макрофагами и характеризуется высвобождением противовоспалительных сигналов, пролиферацией

фибробластов, образованием грануляционной ткани, началом ремоделирования внеклеточного матрикса. Фаза поздней регенерации происходит в течение последующих недель и месяцев, характеризуется ремоделированием внеклеточного матрикса и наличием небольшого количества макрофагов в зоне инфаркта. Дезадаптивное ремоделирование в виде изменения размера, формы и функции камер сердца может наблюдаться как в фазу ранней, так и в фазу поздней регенерации [14, 176].

Моноциты и макрофаги вовлечены во все фазы ответа системы врожденного иммунитета на острую ишемию миокарда. Число сердечных моноцитов и макрофагов быстро увеличивается в первые дни после ИМ [52]. В первые дни заболевания макрофаги имеют провоспалительный фенотип, который в последующие дни смещается в репаративный фенотип, тем самым координируя формирование рубцовой ткани [182]. Через 2 недели после ИМ количество моноцитов и макрофагов в зоне инфаркта возвращается к исходному уровню, в то время как в отдаленных от инфаркта зонах макрофаги могут персистировать в течение месяцев [146].

Активное участие моноцитов и макрофагов в процессах ремоделирования сердца сделали эти клетки предметом научного интереса в качестве потенциальных мишеней для профилактики и лечения реперфузионного повреждения миокарда и постинфарктной сердечной недостаточности [150, 91]. Тем не менее, результаты, полученные в ходе исследований, пока не нашли своего выхода в прикладное значение. Одной из немаловажных причин является тот факт, что результаты большинства работ получены в результате экспериментальных исследований, и научное сообщество с осторожностью относится к трансляции данных в клинику. Опыт стремительной трансляции клеточной терапии при ИМ в клинику еще раз показал, что далеко не всегда положительные результаты, полученные в эксперименте, воспроизводятся в той же степени в клинике (таблица 1) [17, 62]. Использование клеточных технологий у пациентов с ИМ все еще остается предметом дискуссий. Отсутствуют данные о влиянии клеточной терапии на конечные точки, сохраняют свою актуальность

вопросы, касающиеся механизмов действия клеточной терапии, источника и подготовки клеток, времени и способа их доставки, оценки клинической ситуации, при которой клеточная терапия может являться эффективным и безопасным методом лечения.

Таблица 1 – Рандомизированные исследования по влиянию клеточной терапии на процесс постинфарктного ремоделирования миокарда

Название исследования	Год	Количество пациентов	Тип клеток	Результат
REGENT	2009	200	ККМ	Отсутствие влияния на ФВ ЛЖ, КСО и КДО ЛЖ
HEBE	2011	200	КММ	Отсутствие влияния на ФВ ЛЖ через 4 месяца
REPAIR-AMI	2006	187	КММ	Увеличение ФВ ЛЖ на 2,5% через 4 месяца; Отсутствие влияния на КДО ЛЖ
BOOST	2009	124	КММ	Отсутствие влияния на КДО ЛЖ на всех контрольных точках в течение 5 лет наблюдения
ASTAMI	2009	100	КММ	Отсутствие влияния на КДО ЛЖ на всех контрольных точках в течение 3 лет наблюдения
FINCELL	2008	77	КММ	Увеличение ФВ ЛЖ на 5% через 6 месяцев
КДО – конечный диастолический объем; ККМ – клетки костного мозга; КСО – конечный систолический объем; ЛЖ – левый желудочек; ФВ – фракция выброса				

Таким образом, на сегодняшний день мы сталкиваемся с барьером в виде недостатка понимания сложных клеточно-молекулярных механизмов, протекающих при постинфарктной репарации миокарда, что в свою очередь приводит к отсутствию успеха в разработке новых диагностических и терапевтических подходов к ведению больных ИМ. Моноциты и макрофаги принимают участие в постинфарктной репарации миокарда на всем ее протяжении. Они представляют собой гетерогенную популяцию клеток с широким набором функций, которые строго зависят от поступающих сигналов микроокружения. Биология макрофагов при сердечно-сосудистых заболеваниях сложна и разнообразна, однако это и делает ее изучение актуальным направлением в современной кардиологии.

1.2 Происхождение и функция сердечных макрофагов

Согласно современным данным, полученным в результате проведения секвенирования единичных клеток и ядер ткани сердца доноров, сердце человека состоит из 11 основных типов клеток: предсердные кардиомиоциты, желудочковые кардиомиоциты, фибробласты, эндотелиальные клетки, перициты, гладкомышечные клетки, миелоидные и лимфоидные иммунные клетки, адипоциты, мезотелиальные и нейрональные клетки [28]. При этом иммунные клетки составляют 10,4% в ткани предсердий и 5,3% в ткани желудочков. Миелоидные клетки включают в себя макрофаги, моноциты и дендритные клетки. Сердечные макрофаги имеют различное происхождение. Выделяют пул тканевых резидентных макрофагов и пул макрофагов, происходящих из костного мозга и селезенки («пришлых» или «рекрутированных» макрофагов).

Тканевые резидентные макрофаги играют важную роль во множестве функций и межклеточных взаимодействиях как при гомеостазе, так и при воспалительных реакциях в ответ на повреждение. Резидентные макрофаги происходят из эритромиелоидных клеток-предшественников желточного мешка и печени плода [189]. Эта популяция макрофагов присутствует в ткани на протяжении всей жизни и онтогенетически является старше популяции макрофагов, происходящих из костного мозга [9]. В гомеостатических условиях резидентные макрофаги способны на низком уровне поддерживать свою популяцию за счет самообновления. Однако при воспалении способность резидентных макрофагов к пролиферации увеличивается [73]. Известно, что при гомеостазе в миокарде мышей резидентные сердечные макрофаги составляют до 5–10% от немиоцитарной популяции клеток [155]. Физиологические механизмы, в которых принимают участие сердечные макрофаги, включают в себя эффероцитоз и иммунный контроль, сердечную проводимость, регенерацию миокарда, гемодинамические взаимодействия, коронарный ангиогенез [105, 32, 106, 141, 107]. Эффероцитоз представляет собой один из видов фагоцитоза, при котором клеточная мембрана фагоцитарных клеток поглощает апоптотическую

клетку, образуя везикулу. Особенностью эффероцитоза является удаление погибших клеток до того, как целостность их мембран будет нарушена, что предотвращает попадание внутриклеточных компонентов во внеклеточный матрикс. Резидентные макрофаги также являются иммуномодуляторами при развитии патологических состояний. Они регулируют выработку как про-, так и противовоспалительных сигналов, высвобождают проангиогенные медиаторы, способствуют или подавляют рекрутирование циркулирующих иммунных клеток в зону повреждения [188, 163, 141]. Эта двойная функция резидентных макрофагов наблюдалась в моделях ИМ, в которых резидентные макрофаги могли стимулировать стойкую воспалительную реакцию, ведущую к неблагоприятному ремоделированию, и, в то же время, способствовать репарации тканей путем подавления воспалительной реакции [183].

Другой пул макрофагов, происходящих из моноцитов костного мозга и селезенки, инфильтрирует тот или иной орган при повреждении. Моноциты, попадая в кровоток, представлены двумя основными субпопуляциями – классической и неклассической. Эти субпопуляции моноцитов описаны у мышей по экспрессии лимфоцитарного антигенного комплекса 6, локус С, (Ly6C) и у людей – по экспрессии кластеров дифференцировки 14 и 16 (CD14 и CD16). Фенотипическое профилирование предполагает соответствие субпопуляций моноцитов у мышей и людей, что облегчает их характеристику в проводимых на сегодняшний день исследованиях [33]. Классические моноциты, обычно описываемые как CD14⁺CD16⁻ у людей и Ly-6C^{high} у мышей, вовлечены в процесс активного воспаления. Эти клетки высвобождаются из костного мозга и экстрамедуллярных участков кроветворения, таких как селезенка, и перемещаются в участки повреждения CCR2/MCP-1 (рецептор С-С-хемокинов 2/моноцитарный хемотаксический протеин-1) зависимым образом и составляют более 90% циркулирующих моноцитов [70]. Неклассические моноциты (CD14⁺CD16⁺/Ly-6C^{lo}), как полагают, присутствуют в кровотоке в условиях гомеостаза и их роль в воспалении менее ясна [117, 130]. Эти клетки «патрулируют» эндотелий и принимают участие в иммунном контроле.

Неклассические моноциты мыши и человека могут дифференцироваться из классических моноцитов при высоком уровне экспрессии CX3CR1 (рецептор C-X3-C-хемокинов 1). Повреждение в виде острой ишемии миокарда и гибели кардиомиоцитов запускает воспалительную реакцию, одним из компонентов которой является миграция моноцитов к очагу повреждения и их дифференцировка в макрофаги. Прижизненная микроскопия демонстрирует, что классические моноциты быстро циркулируют по кровеносному руслу, тогда как неклассические моноциты циркулируют медленнее, как бы «скользя» по эндотелию сосудистой стенки [52].

Фенотипически макрофаги отличаются от моноцитов повышенной экспрессией CD68 и МНСII (главного комплекса гистосовместимости II типа), а также F4/80 у мышей и сниженной экспрессией CD14 у людей [23]. Первоначально описанные как типичные фагоцитарные клетки, макрофаги превратились в предмет научного интереса как клетки, опосредующие разнообразные процессы – от продукции цитокинов, фагоцитоза и координации образования грануляционной ткани в контексте воспаления до органоспецифических функций в контексте поддержания гомеостаза.

Для отличия резидентных и нерезидентных макрофагов используют рецептор CCR2 (рецептор C-C-хемокинов 2). Резидентные и нерезидентные клетки имеют фенотип CCR2⁻ и CCR2⁺, соответственно [141]. Известно, что в сердце CCR2⁻ клетки в основном обнаруживают интрамиокардиально и периваскулярно, тогда как CCR2⁺ клетки располагаются в трабекулярной проекции эндокарда [141]. Резидентные макрофаги, как было сказано выше, способны поддерживать свою популяцию за счет самообновления. Однако, количество сердечных резидентных макрофагов уменьшается в течение жизни [145]. По мере взросления скорость пролиферации резидентных макрофагов снижается и становится недостаточной для сохранения резидентного пула. Кроме того, количество резидентных макрофагов может уменьшаться в результате повреждающих воздействий, например, ИМ. Как и в каком объеме происходит восстановление пула резидентных макрофагов при старении и после ИМ – за счет

рекрутированных из кровотока моноцитов или локальной пролиферации резидентных клеток – остается актуальным вопросом [199].

1.3 Функциональная классификация/поляризация сердечных макрофагов

Исследование фенотипов макрофагов *in vitro* привело к широкому использованию модели M1 и M2 поляризации макрофагов для описания функций этих клеток в контексте воспаления, в том числе и функций сердечных макрофагов [101]. Парадигма M1/M2 поляризации макрофагов сложилась из ранее существующей парадигмы Th1/Th2-поляризации иммунного ответа Т-лимфоцитов (T-helpers).

M1 или классически активированные макрофаги представляют собой провоспалительные клетки, которые принимают участие в инициации и поддержании воспалительной реакции, представлении антигенов, фагоцитозе. Обычно эта субпопуляция макрофагов происходит из моноцитов, вновь рекрутированных в очаг воспаления [103]. M2 или альтернативно активированные макрофаги являются противовоспалительными клетками, участвующими в разрешении воспалительного процесса [75, 123, 101]. Известно, что резидентные сердечные макрофаги в условиях гомеостаза, как правило, отражают именно этот фенотип [103].

Классическая активация макрофагов происходит под воздействием таких стимулов как интерферон-гамма (IFN- γ) и липополисахарид мембраны патогенных микроорганизмов (LPS). M1 макрофаги продуцируют активные формы кислорода, оксид азота, большой спектр провоспалительных цитокинов, хемокинов и матриксных металлопротеиназ, создавая и поддерживая вокруг себя провоспалительное микроокружение (таблица 2) [181, 23, 159].

Таблица 2 – Основные продукты активации M1 макрофагов

Цитокины	Хемокины	Матриксные металлопротеиназы	Другие субстанции
IL-12 IL-23 IL-27 TNF- α	CXCL9 CXCL10 CXCL11	MMP-1 MMP-2 MMP-7 MMP-9 MMP-12	NO ROS
Примечание: IL – интерлейкин, TNF- α – фактор-некроза опухоли-альфа, CXCL – CXC motif chemokine ligand, MMP – матриксная металлопротеиназа, NO – оксид азота, ROS – активные формы кислорода			

Альтернативная активация макрофагов приводит к образованию более гетерогенной субпопуляции M2 макрофагов. Среди M2 макрофагов выделяют несколько функциональных подтипов: M2a, M2b и M2c. Дифференцировка в M2a подтип происходит в ответ на стимуляцию интерлейкином (IL)-4 и IL-13; в M2b – в ответ на действие иммунных комплексов; в M2c – в ответ на стимуляцию IL-10, трансформирующим фактором роста-бета (TGF- β) и дексаметазоном [75, 133, 181]. M2 макрофаги продуцируют противовоспалительные цитокины, хемокины и факторы роста (таблица 3) [133, 181, 23]. Вместе эти медиаторы стимулируют опосредованную фибробластами продукцию внеклеточного матрикса, пролиферацию клеток и ангиогенез, тем самым принимая участие в процессе ремоделирования и репарации тканей.

Таблица 3 – Основные продукты активации M2 макрофагов

Цитокины	Хемокины	Факторы роста
IL-10 IL-1ra	CCL17 CCL18 CCL22 CCL24	TGF- β VEGF
Примечание: IL – интерлейкин, CCL – C-C motif ligand, TGF- β – трансформирующий фактор роста-бета, VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста		

Таким образом, различные стимулы микроокружения активируют и функционально поляризуют макрофаги в M1 и M2 субпопуляции.

1.4 Фенотипическая гетерогенность и функциональная пластичность макрофагов

Макрофаги экспрессируют множество маркеров, которые традиционно используются для характеристики M1 или M2 субпопуляций. Большое количество экспериментальных и клинических данных по фенотипированию макрофагов было накоплено в результате изучения маркеров при помощи доступных и информативных методов – проточной цитометрии, иммуногистохимических и иммунофлуоресцентных исследований. В настоящее время идет активное изучение транскриптома в условиях гомеостаза и при патологии, в том числе накопление результатов секвенирования единичных клеток. Секвенирование единичных клеток позволяет оценивать транскриптом на уровне отдельной клетки и обеспечивает объективную кластеризацию клеток на основе общих профилей экспрессии [23]. Сам транскриптом представляет собой совокупность всех транскриптов, синтезируемых одной клеткой или группой клеток, включая мРНК и некодирующие РНК. Транскриптом меняется в зависимости от условий микроокружения и отражает профиль экспрессии генов в конкретный момент времени [190]. Секвенирование единичных клеток позволяет получить принципиально новую информацию, однако стоимость оборудования, программного обеспечения и сложность пробоподготовки ограничивают широкое применение этого метода.

На сегодняшний день выделяют маркеры, характеризующие общую популяцию макрофагов и каждую из субпопуляций по отдельности [154]. В таблице 4 приведены примеры макрофагальных маркеров [5, 27, 68, 71, 129, 133, 22, 114].

Таблица 4 – Маркеры общей популяции макрофагов, M1 и M2 субпопуляции

Маркеры общей популяции макрофагов	Маркеры M1 макрофагов	Маркеры M2 макрофагов
CD68 Mac-3 Галектин 3/Mac-2	CD38 Fpr2 Gpr18 YKL-40	CD163 CD206/Arg1 Стабилин-1 YKL-39 MerTK Egr2

Примечание: CD – cluster of differentiation, Mac-3 – macrophage-3 antigen, Mac-2 – macrophage-2 antigen, Fpr2 – formyl peptide receptor 2, Gpr18 – G-protein coupled receptor 18, YKL-40 – хитиназа-3-подобный белок 2, Arg1 – arginase 1, YKL-40 – хитиназа-3-подобный белок 1, MerTK – myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase, Egr2 – early growth response protein 2

Ряд макрофагальных маркеров относятся к группе скавенджер-рецепторов, дословно – «рецепторов-мусорщиков» или «рецепторов-уборщиков» [4]. Экспрессия скавенджер-рецепторов увеличивается в прямой зависимости от концентрации их лигандов. Помимо мембранных форм, часть скавенджер-рецепторов существует и в растворимых формах. Эти рецепторы участвуют в поглощении модифицированных липопротеинов низкой плотности, гликированных белков, апоптотических и поврежденных клеток, измененных эритроцитов и других эндогенных и ряда экзогенных лигандов [20, 7]. В условиях гомеостаза скавенджер-рецепторы обеспечивают взаимосвязь физиологических процессов с иммунной системой и участвуют в процессах физиологического старения. Вместе с тем, функциональная активность скавенджер-рецепторов связана с различными патологическими процессами. К ним относятся заболевания, ассоциированные с хроническим воспалением – атеросклероз, ожирение, сахарный диабет 2-го типа, нейродегенеративные заболевания [60, 22, 162, 45, 161, 31]. Также скавенджер-рецепторы участвуют в процессах опухолевой трансформации и противоопухолевого иммунитета, в презентации антигенов и поляризации макрофагов в очаге воспаления и иммунокомпетентных органах.

Одним из часто используемых гистохимических маркеров общей популяции макрофагов является CD68, который относится к скавенджер-рецепторам класса D [4]. CD68 представляет собой гликозилированный трансмембранный гликопротеин I типа [82]. CD68 участвует в поглощении макрофагами апоптотических и поврежденных клеток при помощи взаимодействия с фосфатидилсерином (компонентом внутреннего слоя плазматической мембраны – другими лигандами CD68 являются E-селектины и окисленные липопротеины низкой плотности [4, 27, 7, 178]. Способность CD68 связывать окисленные липопротеины низкой плотности дает основания рассматривать его

предполагаемую роль в атерогенезе. Однако на сегодняшний день данные о роли CD68 в атерогенезе носят противоречивый характер [172, 178]. CD68 активно изучается в онкологии и является основным биомаркером для количественной оценки общего количества опухолеассоциированных макрофагов [195]. Более высокая экспрессия CD68 в строме опухоли обычно коррелирует с более тяжелой стадией опухолевого процесса, с более высокой частотой лимфогенного метастазирования и другими злокачественными характеристиками, которые характеризуют прогрессирование и агрессивность опухоли [195, 115]. Также уровень экспрессии CD68 в опухолеассоциированных макрофагах может служить прогностическим маркером для оценки выживаемости онкологических больных [138].

Другими широко используемыми маркерами макрофагов являются CD163 и CD206. CD163 относится к скавенджер-рецепторам класса I. CD163 высоко экспрессируется на макрофагах красной пульпы селезенки, костного мозга, печени, легких и некоторых других тканей [56]. Моноциты также проявляют умеренную экспрессию CD163 [179]. Основными лигандами для CD163 являются комплексы гемоглобин-гаптоглобин, которые мгновенно образуются при высвобождении гемоглобина из эритроцитов во время физиологического или патологического гемолиза. В меньшей степени CD163 может связывать и свободный гемоглобин [26]. Связывание комплекса гемоглобин-гаптоглобин с CD163 макрофагами приводит к быстрой деградации комплекса, а в случае повышенного внутрисосудистого гемолиза, наблюдаемого при малярии, серповидно-клеточной анемии, аутоиммунном гемолизе или ряде других состояний гаптоглобин может практически исчезнуть из плазмы человека. В макрофагах гемоксигеназа превращает гем в биливердин, монооксид углерода и железо. В целом удаление гемоглобина и образование метаболитов гема приводят к локализованному противовоспалительному ответу. Также CD163 связывает TNF- α -подобный слабый индуктор апоптоза (TWEAK), что может иметь роль в регуляции регенерации тканей после ишемических повреждений [25].

Наиболее известными стимуляторами экспрессии CD163 являются глюкокортикоиды, IL-6, IL-10 и комплекс гемоглобин-гаптоглобин [80, 0, 83]. IL-4, LPS, фактор-некроза опухоли-альфа (TNF- α), IFN- γ , CXC-хемокиновый лиганд 4 (CXCL4) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) подавляют экспрессию CD163 [149, 39]. Наблюдения за регуляцией CD163 демонстрируют, что экспрессия CD163 является особенностью макрофагов, которые дифференцируются в противовоспалительный M2 тип. Высокая экспрессия CD163 на макрофагах наблюдается в тканях как при острых, так и хронических воспалительных процессах [56]. Так макрофаги, экспрессирующие CD163, обнаруживаются в атеросклеротических бляшках, синовиальной оболочке суставов при артрите, в опухолевом окружении [16, 195, 148]. Высокая плотность опухолеассоциированных CD163+ макрофагов наблюдается на поздних стадиях рака яичников, множественной миеломы, рака желудка, рака молочной железы и положительно коррелирует с худшей безпрогрессивной и общей выживаемостью больных [24, 195, 59, 186, 201].

В условиях гомеостаза в плазме присутствует и растворимая форма CD163, появление которой опосредовано ферментом, расщепляющим TNF- α (TACE или ADAM17). Физиологическая роль растворимого CD163 не определена [56]. Диапазон уровня CD163, измеренного при помощи иммуноферментного анализа, у здорового человека составляет 1–4 мг/л. Его концентрация повышается при острых и хронических заболеваниях, так или иначе связанных с активностью макрофагов. Высокие уровни CD163 определяются при синдроме макрофагальной активации с гемофагоцитозом, малярии и сепсисе [98, 104, 26]. Умеренное повышение отмечается при ревматоидном артрите. Небольшое повышение отмечается при атеросклерозе, сахарном диабете 2 типа, склеродермии [184, 165, 98]. Было предположено, что растворимый CD 163 может выступать в качестве прогностического маркера. Так уровень CD163 при сепсисе показывает отрицательную корреляцию с выживаемостью больных [104]. По результатам другого исследования растворимая форма CD163 демонстрирует себя как маркер риска развития сахарного диабета 2 типа [166]. Также в одном из недавних

исследований было выявлено повышение активности TACE/ADAM17 и уровня растворимого CD163 в периферической крови у пациентов с инсультом [121].

Одним из интересных маркеров M2 макрофагов является стабиллин-1 [96]. Стабиллин-1 относится к скавенджер-рецепторов класса H [4]. Стабиллин-1 экспрессируется на тканевых макрофагах и синусоидальных эндотелиоцитах селезенки, печени, лимфатических узлов. *In vitro* экспрессия стабилина-1 индуцируется IL-4 и дексаметазоном, но не IFN- γ [175]. Лигандами стабилина-1 являются апоптотические клетки, ацетилированные липопротеины низкой плотности, гликопротеин SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine)/остеонектин [175]. Гликопротеин SPARC представляет собой растворимый неструктурный компонент внеклеточного матрикса и выполняет функцию универсального регулятора процессов репарации, ангиогенеза и тканевого ремоделирования. SPARC модулирует взаимодействия опухолево-стромальных клеток, которые зависят от васкуляризации, иммунных реакций и типа опухоли [63]. Было показано, что за счет поглощения и частичной деградации SPARC, M2 макрофаги могут активно регулировать внеклеточные концентрации SPARC и адаптировать их к изменяющимся условиям микроокружения [128]. Экспрессия стабилина-1 увеличивается при хронических воспалительных процессах и туморогенезе. Так экспрессия стабилина-1 была обнаружена на опухолеассоциированных макрофагах у мышей и больных меланомой, лимфомой, глиобластомой и раком молочной железы [96, 195]. Помимо экспрессии на макрофагах и синусоидальных эндотелиоцитах, экспрессия стабилина-1 была обнаружена на CD14⁺CD16⁺ моноцитах у больных с семейной гиперхолестеринемией [47].

Важно сказать, что M1/M2 классификация не отражает должным образом спектр субпопуляций макрофагов *in vivo*, присутствующих как в здоровом, так и в поврежденном органе, в том числе и в сердце [154]. *In vitro* гетерогенность макрофагов уменьшается ввиду контролируемой среды, что делает классификацию M1/M2 макрофагов более приемлемой. Тем не менее, по мере внедрения новых методов изучения моноцитов/макрофагов, было выявлено, что и

in vitro в условиях стимуляции широким набором цитокинов возникает большее число различных фенотипов, чем описывалось ранее [191]. При этом было описано 299 транскриптомов, спектр экспрессии которых не позволял отнести макрофаги только к M1 или только к M2 субпопуляции [191]. Точно так же описана и возможность ко-экспрессии канонических маркеров M1 и M2 макрофагов мыши и человека [72]. Помимо того, что макрофаги представляют собой гетерогенный пул клеток, они обладают свойством пластичности – возможностью изменять свой фенотип из M1 в M2 и наоборот, в ответ на различные стимулы и сигналы микроокружения [123, 102]. При этом макрофаги приобретают канонические маркеры другой субпопуляции и меняют свою функциональную активность. Более того, известно, что макрофаги могут менять не просто функциональную, но и органоспецифическую активность, что было показано при трансплантации макрофагов из одного органа в другой [183].

Широко распространенная парадигма M1/M2 макрофагов является упрощенной и не дает полной характеристики макрофагальных субпопуляций. Тем не менее она является понятной для специалистов из разных медицинских и научных сообществ и продолжает определять экспериментальный дизайн исследований *in vitro* и *in vivo* [125].

1.5 Моноциты/макрофаги в механизме постинфарктной регенерации и ремоделирования миокарда

В ответ на острую ишемию миокарда в зоне инфаркта увеличивается количество моноцитов и макрофагов. Прижизненная микроскопия показывает, что рекрутирование моноцитов в зону инфаркта начинается уже через 30 минут после ИМ, сначала из сосудистого русла, а затем из селезеночного резервуара [52]. Раннее рекрутирование моноцитов быстро сменяется нейтрофильной инфильтрацией. Их количество достигает пика через сутки от начала заболевания.

Недавние данные свидетельствуют о том, что ранние «патрулирующие» моноциты играют роль в привлечении нейтрофилов [79].

Экспериментальные данные по моделированию ИМ у мышей показали, что реакция моноцитов и макрофагов на острую ишемию миокарда происходит в две последовательные фазы – воспаления и восстановительной регенерации [134, 182]. Ly-6C^{hi} моноциты являются преобладающей популяцией на ранней стадии ИМ – их количество достигает пика к 3-му дню ИМ. Ly-6C^{hi} моноциты демонстрируют провоспалительный фенотип, экспрессируют TNF- α и обладают высокой протеолитической активностью. Макрофаги Ly-6C^{hi} (M1) образуют основную субпопуляцию макрофагов на этой ранней фазе, но их популяция менее многочисленна в сравнении с популяцией моноцитов [100]. Основной функцией этих клеток является элиминирование клеточного дебриса и апоптотических клеток, что является необходимым условием для начала процесса репарации. По мере разрешения воспаления начинают преобладать противовоспалительные Ly-6C^{lo} клетки (M2) – их количество достигает пика на 7-й день ИМ [182]. Эти клетки принимают участие в регуляции ангиогенеза посредством сосудистого эндотелиального фактора роста (vascular endothelial growth factor, VEGF) и образования соединительной ткани посредством трансформирующего фактора роста-бета (transforming growth factor beta, TGF- β) [19]. Первоначально считалось, что Ly-6C^{lo} клетки представляют собой отдельный пул моноцитов, инфильтрирующий миокард на более поздних сроках инфаркта. Более поздние исследования показали, что эти клетки представляют собой в основном Ly-6C^{lo} макрофаги, которые происходят из Ly-6C^{hi} моноцитов [100].

Сходный паттерн последовательного увеличения Ly-6C^{hi} и Ly-6C^{lo} клеток наблюдается и зонах, удаленных от инфаркта [134]. Однако число Ly-6C^{lo} макрофагов достигает пика на 5 дней позже, чем в зоне инфаркта. Важно отметить, что в отличие от зоны инфаркта, макрофаги и Ly-6C^{hi} моноциты могут длительное время персистировать в зонах, отдаленных от инфаркта [146].

Изменения, протекающие в инфарцированном миокарде сопровождаются увеличением количества циркулирующих моноцитов [182]. Основным

источником циркулирующих моноцитов во ранних и поздних сроках ИМ является селезеночный резервуар [153, 147, 146, 84]. Селезенка содержит миелоидные клетки-предшественники, количество которых быстро увеличивается после инфаркта. Моноцитопоз регулируется симпатической нервной системой и IL-1, как в острый период ИМ, так и на более поздних сроках. У больных ИМ наблюдается периферический моноцитоз с последовательными пиками $CD14^+CD16^-$ и $CD14^+CD16^+$ на $2,6 \pm 0,8$ день и на $4,8 \pm 2,9$ день, соответственно [85]. Посмертный анализ образцов миокарда также показал преобладание $CD14^+CD16^-$ моноцитов во время воспалительной фазы инфаркта, и наличие сопоставимых по количеству $CD14^+CD16^-$ и $CD14^+CD16^+$ моноцитов во время регенераторной фазы. При этом отмечалось истощение $CD14^+CD16^-$ моноцитарного пула в селезенке и в меньшей степени в костном мозге [118].

Роль моноцитов и макрофагов в постинфарктной регенерации миокарда и наблюдение их координированного двухфазного ответа на острую ишемию миокарда привело к гипотезе о том, что эти клетки могут играть роль в неблагоприятном ремоделировании сердца и развитии СН. Так наблюдательные исследования выявили корреляцию между моноцитозом и степенью дисфункции левого желудочка (ЛЖ) после ИМ. В эксперименте показано, что у мышей с дефицитом аполиipoproteина E нарушается процесс разрешения постинфарктного воспаления [86]. Это проявляется в персистирующей инфильтрации миокарда $Ly-6C^{hi}$ моноцитами и более низкой, по сравнению с мышами дикого типа, фракцией выброса ЛЖ, измеренной через 3 недели от ИМ [143]. У больных ИМ с подъемом сегмента ST наблюдается отрицательная корреляция между периферическим моноцитозом и фракцией выброса ЛЖ. Так же было показано, что пиковые уровни циркулирующих $CD14^+CD16^-$ моноцитов у больных ИМ отрицательно коррелируют с величиной «спасенного миокарда», измеренной при помощи магнитно-резонансной томографии на 7-й день ИМ, и фракцией выброса ЛЖ, измеренной при помощи эхокардиографии через 6 месяцев после ИМ [85]. Эти данные подтверждает и другое исследование, в котором классические моноциты были определены как $CD14^+CD62L^+$ клетки, а неклассические как $CD14^+CD62L^-$

[118]. Количество $CD14^+CD62L^+$ моноцитов периферической крови положительно коррелировало с размером инфаркта и индексом нарушения локальной сократимости ЛЖ через 4 месяца после ИМ. При этом наблюдалась тенденция к положительной корреляции между количеством неклассических $CD14^+CD62L^-$ моноцитами крови и фракцией выброса ЛЖ. Важно заметить, что эти пациенты принимали участие в исследовании НЕВЕ, в котором им интракоронарно вводили инфузию аутологичных моноклеарных клеток периферической крови на 3–8-й день ИМ. Исследование не продемонстрировало значимого влияния на размеры или функцию ЛЖ через 4 месяца наблюдения и, что интересно, выявило более высокий уровень смертности через 5 лет наблюдения по сравнению с группой контроля [99, 93]. Возможно, негативное влияние оказало несвоевременное введение дополнительного пула циркулирующих классических моноцитов, что отразилось на процессах позднего постинфарктного ремоделирования сердца. Другим наглядным примером, свидетельствующим о важной роли своевременного течения как воспалительной, так и регенераторной фазы, является опыт применения метилпреднизолона в острый период ИМ у собак [49]. Было показано, что кортикостероидная терапия увеличивает частоту разрыва сердца за счет задержки образования коллагена и формирования рубца. Эти данные демонстрируют, что, несмотря на негативные эффекты выраженного воспаления, такие, как разрыв миокарда, ранняя воспалительная реакция является предпосылкой для адекватного процесса регенерации после ИМ [14, 43, 164]. Подобные наблюдения еще раз подчеркивают сложность клеточно-молекулярных основ постинфарктного ремоделирования миокарда и необходимость учитывать большое количество факторов при разработке тех или иных методов воздействия на процессы, протекающие в сердце после ИМ.

1.6 Кардиальный фиброз и моноциты/макрофаги

Термин фиброз используется для описания избыточного отложения белков внеклеточного матрикса в паренхиматозных органах и обычно отражает несоответствующую или неконтролируемую активацию репаративной программы [64]. Фиброз является причиной дисфункции органов при многих различных заболеваниях, включая интерстициальные заболевания легких, цирроз печени, диабетическую нефропатию [198]. Что касается кардиального фиброза, то несмотря на то, что при большинстве заболеваний миокарда степень сердечного фиброза предсказывает неблагоприятный исход заболевания, фиброз не всегда является основной причиной дисфункции сердца [56]. Сердце взрослого млекопитающего обладает незначительной регенеративной способностью и процесс заживления происходит за счет образования рубца. Таким образом, во многих случаях кардиальный фиброз является репаративным, отражая замещение погибших кардиомиоцитов коллагеновым рубцом [64].

ИМ является типичным примером репаративного фиброза, так как внезапная потеря большого количества кардиомиоцитов инициирует воспаление и последующую активацию репаративных миофибробластов, что приводит к образованию рубца. Рубец обладает незначительной сократительной способностью, но он выполняет критическую защитную роль, поддерживая структурную целостность сердца, а в случае трансмурального инфаркта предотвращая катастрофические механические осложнения, такие как разрыв миокарда, о чем говорилось ранее [137]. В других случаях фиброз преимущественно развивается в интерстиции при отсутствии значительной потери кардиомиоцитов. Например, системная гипертензия связана с прогрессирующим интерстициальным и периваскулярным отложением белков внеклеточного матрикса, что приводит к увеличению жесткости миокарда и диастолической дисфункции [56, 53]. Старение, ожирение и диабет также могут вносить вклад в развитие интерстициального фиброза миокарда и уменьшать податливость желудочков, потенциально способствуя развитию СН с

сохраненной фракцией выброса [15, 18, 95]. Таким образом, кардиальный фиброз – это не обособленное заболевание, а патологический ответ, который может быть адаптивным или дезадаптивным, в зависимости от патофизиологического контекста, при котором он развивается.

Центральными клеточными эффекторами кардиального фиброза являются активированные фибробласты и миофибробласты. Термин фибробласт используется для описания клеток мезенхимального происхождения, которые представлены в соединительной ткани, лишены базальной мембраны и способны продуцировать большие количества белков внеклеточного матрикса. Согласно этому определению, широкий спектр интерстициальных клеток сердца может быть идентифицирован как фибробласты. Фибробласты можно отличить от других интерстициальных клеток миокарда на основе экспрессии рецептора 2, содержащего дискоидиновый домен (CD167b), рецептор тромбоцитарного фактора роста- α (PDGFR- α) и фактора транскрипции Tcf21 [180]. Сложность идентификации и характеристики популяций фибробластов заключается в их динамических фенотипических изменениях в поврежденных тканях. При ИМ и ряде других патологических состояний фибробласты дифференцируются в миофибробласты. Миофибробласты активно продуцируют белки внеклеточного матрикса, одновременно экспрессируя и сократительные белки, такие как α -гладкомышечный актин (α -SMA) [81]. Помимо ИМ, миофибробласты можно обнаружить при широком спектре заболеваний, таких как ишемическая кардиомиопатия, миокардит, заболеваний, связанных с перегрузкой давлением или объемом [192, 46, 66, 113]. Тем не менее, появление миофибробластов не является обязательным компонентом профибротической программы. В модели диабетической кардиомиопатии было обнаружено, что отложение интерстициального коллагена и приобретение матриксно-синтетического фенотипа сердечными фибробластами не зависят от трансдифференцировки миофибробластов [30]. По мере накопления новых знаний, становится все более очевидным, что фибробласты и миофибробласты представляют собой гетерогенные популяции клеток с различными транскриптомными профилями. В

процессе постинфарктного регенерации были идентифицированы субпопуляции миофибробластов с высокой экспрессией фиброгенных медиаторов, таких как TGF- β , а также другие субпопуляции, которые экспрессировали транскрипты, кодирующие белки с антифиброзными свойствами [170]. Связаны ли эти транскриптомные профили с антифиброзными свойствами миофибробластов, остается неизвестным.

Фибробласты, безусловно, являются основным источником миофибробластов. Однако ряд исследований показал, что при повреждении другие типы клеток, включая предшественники гематопозитических фибробластов, макрофаги, эндотелиальные клетки, также могут трансдифференцироваться в фибробласты или миофибробласты [193, 122, 194, 53]. Эти данные носят ограниченный характер и относительный вклад каждой из популяции этих клеток в пул фибробластов и миофибробластов остается не ясным. При ИМ вклад различных типов клеток может зависеть от течения заболевания [64]. В условиях реперфузии большинство фибробластов в периинфарктной зоне, вероятно, остаются жизнеспособными и могут быть основным источником миофибробластов. Напротив, при перманентной окклюзии коронарной артерии, большинство интерстициальных клеток погибает, таким образом, ограничивая свой вклад в популяцию репаративных миофибробластов. В этом случае миофибробласты могут происходить преимущественно из фибробластов, рекрутированных из неинфарктных зон, или из других типов клеток (включая циркулирующие гематопозитические клетки). К сожалению, исследования гибели клеток миокарда после инфаркта сосредоточены почти исключительно на кардиомиоцитах; информация о судьбе фибробластов и других интерстициальных клеток на сегодняшний день крайне ограничена. Уникальные клеточно-молекулярные характеристики специфических для заболеваний, ассоциированных с кардиальным фиброзом, остаются малоизученными.

Как уже было упомянуто выше, фиброз при ИМ является репаративным. Вместе с тем, очевидно, что пациенты с большей площадью рубца, имеют более неблагоприятный прогноз [160, 144]. Вероятно, это отражает связь между более

массивной потерей функциональных кардиомиоцитов и плохим исходом, а не неблагоприятными последствиями кардиального фиброза.

Несмотря на то, что коллагеновый рубец не может заменить сократительную функцию здоровых кардиомиоцитов, биохимический состав зоны инфаркта является основным определяющим фактором сердечной биомеханики и влияет на исход заболевания [64]. Экспериментальные исследования показали, что для предотвращения дезадаптивного ремоделирования сердца и развития СН после ИМ требуется строгая регуляция процессов кардиального воспаления и фиброгенеза. Миофибробласты образуют организованную сеть коллагеновых волокон, которые имеют решающее значение для предотвращения разрыва миокарда. Своевременная активация и подавление воспалительных и профиброзных сигналов, а также пространственное ограничение репаративного фиброза в области повреждения имеют важное значение для предотвращения неблагоприятного ремоделирования и систолической дисфункции сердца. Длительная, неограниченная или чрезмерная активация отложения матрикса, вызванного фибробластами, может явиться причиной развития постинфарктной сердечной СН [67]. Сверхактивная передача воспалительных сигналов может способствовать деградации белков внеклеточного матрикса, снижению прочности рубца и дилатации полостей сердца [135]. Однако, с другой стороны, сверхактивный синтез матрикса могут увеличивать жесткость миокарда, способствуя развитию диастолической дисфункции [64].

Выявление связи между составом рубца и прогнозом у больных ИМ представляет собой нерешенную проблему, учитывая ограничения современных технологий визуализации и подходов, основанных на исследовании биомаркеров. Некоторые исследования дают основания предполагать наличие связи между параметрами состава рубца, полученных с помощью магнитно-резонансной томографии сердца, и клиническим исходом у пациентов, переживших ИМ. Более того, высокая «энтропия» внутри рубца (показатель неоднородного состава рубца) была связана с более высоким уровнем смертности и повышенной аритмогенностью [55]. Потенциальная связь между этими параметрами,

полученными с помощью визуализации, и конкретными клеточными или биохимическими изменениями в миокарде остается неизвестной.

По мере созревания рубца фибробласты теряют свои свойства миофибробластов и могут подвергаться апоптозу [66, 173, 158]. Но при большом объеме поражения миокарда перегрузка давлением и объемом может привести к прогрессирующему интерстициальному фиброзу в периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, тем самым способствуя развитию и прогрессированию ремоделирования сердца [116]. Результаты экспериментальных исследований дают основания предполагать, что эти интерстициальные фиброзные изменения могут способствовать систолической и диастолической дисфункции сердца, ведущей к постинфарктной СН. В модели ИМ у животных положительные эффекты ингибирования ангиотензинпревращающего фермента и блокады рецепторов ангиотензина были связаны с ослаблением накопления интерстициального коллагена в зонах миокарда, удаленных от инфаркта. Однако данные о степени и значимости фиброза интактного миокарда у пациентов с ИМ противоречивы. При посмертном биохимическом анализе интактного миокарда повышенного содержания коллагена в нем выявлено не было [102]. В другом исследовании больных ИМ с подъемом сегмента ST и реперфузией инфаркт-связанной коронарной данные магнитно-резонансной томографии сердца показали расширение внеклеточного объема в зонах, удаленных от инфаркта, что было связано с прогрессированием сократительной дисфункции сердца [69].

Моноциты и макрофаги играют важную роль в иницировании и прогрессировании фиброза не только посредством возможности трансдифференцировки в миофибробласты. Помимо этого, макрофаги служат источниками цитокинов и факторов роста с фиброгенными свойствами, секретируют протеазы, участвующие в ремоделировании внеклеточного матрикса [200]. Более того, благодаря своим фагоцитарным свойствам, макрофаги могут способствовать фиброгенезу путем удаления погибших клеток, тем самым способствуя росту репаративных фибробластов, или же могут отрицательно регулировать фиброгенез, удаляя апоптотические миофибробласты и остатки

внечелочного матрикса, тем самым устраняя ключевые профибротические стимулы [95]. Хотя большое количество макрофагов располагается в поврежденном миокарде в непосредственной близости от миофибробластов, продуцирующих белки внечелочного матрикса, их роль в регуляции фиброзного ответа остается мало изученной [111, 57]. Для понимания клеточной биологии фиброзного ответа необходима характеристика про- и антифиброзных субпопуляций макрофагов в поврежденном миокарде и изучение их роли в регуляции фиброгенеза.

1.7 Место макрофагов в оси «сердце-мозг-почки» при ИМ

Известно, что ответ организма на ишемию миокарда локализуется не только в сердце, а носит генерализованный характер. В ответ на гипоперфузию афферентные нейроны сердца посылают сигнал в головной мозг и активируют симпатическую нервную систему. [187] Симпатическая нервная система по эфферентным волокнам передает сигнал почкам. Эта передача сигналов приводит к активации двух систем: ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и оси макрофагов «почка-сердце» [8]. β 1-адренергическая стимуляция вызывает секрецию ренина юкстагломерулярными клетками, что приводит к выработке ангиотензина II, реабсорбции натрия в почках, задержке воды, и в результате – повышению артериального давления. Ангиотензин II напрямую стимулирует патологическую гипертрофию и фиброз миокарда.

В модели ИМ у мышей стимуляция β 2-адренорецепторов индуцирует экспрессию провоспалительного фактора транскрипции *kruppel-like factor 5* (Klf5) в клетках собирающих протоков почки, что приводит к продукции и секреции белков S100A8 и S100A9 [8]. Эти белки активируют макрофаги почек, которые секретируют TNF- α . В свою очередь, TNF- α стимулирует эндотелиальные клетки почек к секреции гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующий фактор (GM-CSF) в кровотоке. Циркулирующий GM-CSF стимулирует

пролиферацию сердечных Ly-6C^{lo} (M2) макрофагов. Эта популяция M2 макрофагов индуцирует гипертрофию кардиомиоцитов и фиброз миокарда *in vitro* и *in vivo* за счет секреции амфирегулина (AREG) – белка, необходимого для процесса восстановления тканей [51]. Таким образом, паракринный сигнальный путь почек запускает выработку GM-CSF, который индуцирует гипертрофию миокарда. Как почечные макрофаги, так и Ly-6C^{lo} (M2) макрофаги являются важными участниками паракринного пути передач сигнала.

Точные роли S100A8, S100A9 и AREG нуждаются в дальнейшем изучении. Безусловно, результаты должны быть подтверждены на других моделях животных и у людей, а также при СН с сохраненной фракцией выброса – синдрома, в патогенезе которого предполагается важная роль M2 макрофагов [74].

1.8 Моноциты/макрофаги как потенциальная мишень для профилактики и лечения постинфарктного ремоделирования сердца

Гетерогенность, многофункциональность и возможность перепрограммирования одного фенотипа макрофагов в другой – те свойства, которые обеспечивают пристальное внимание к макрофагам как к потенциальной целевой клетке – терапевтической мишени, которая может изменять процесс репарации и структурно-функциональной перестройки сердца во время и после ИМ. Можно выделить два основных направления для воздействия на моноциты/макрофаги: блокирование рекрутирования моноцитов в миокард и манипулирование фенотипом сердечных моноцитов/макрофагов. Важно отметить, что данные направления, помимо всех сложностей разработки, должны избегать «ловушек». Моноциты/макрофаги играют важную роль в поддержании гомеостаза и защите организма от инфекций, и поэтому любая терапевтическая стратегия должна быть специфичной для «негативных» фенотипов/функций макрофагов, своевременной, точно дозированной и персонализированной, во избежание

нарушения системной регуляции иммунного ответа. Это подтверждают результаты исследований канакинумаба и колхицина во вторичной профилактике сердечно-сосудистых событий. Основными побочными эффектами противовоспалительной терапии являлись серьезные инфекционные осложнения – сепсис и пневмония [12, 50].

1.8.1 Циркулирующие моноциты и их резервуары как терапевтическая мишень

Наличие корреляции моноцитоза с неблагоприятными исходами ИМ привело к гипотезе о том, что интенсивная инфильтрация миокарда моноцитами играет негативную роль. В одном из первых исследований, посвященных изучению роли моноцитов/макрофагов в постинфарктной регенерации миокарда, было показано, что назначение клодронатных липосом, истощающих пул циркулирующих моноцитов либо в фазу воспаления, либо в фазу регенерации, приводит к нарушению процессов заживления инфарктированного миокарда [182]. Раннее назначение липосом приводит к образованию большого количества клеточного дебриса, за утилизацию которого ответственны $Ly-6C^{hi}$ моноциты. Более позднее назначение липосом приводит к низкому содержанию коллагена, гладкомышечных и эндотелиальных клеток, то есть к нарушению формирования грануляционной ткани, за образование которой ответственны $Ly-6C^{lo}$ моноциты. Таким образом, деплеция $Ly-6C^{hi}$ и $Ly-6C^{low}$ клеток с использованием клодронатных липосом показала важность в благополучном течении постинфарктной репарации миокарда не какой-либо одной из субпопуляций, а именно координированного двухфазного ответа про- и противовоспалительных моноцитов/макрофагов.

В ряде других исследований были предприняты попытки избирательного воздействия на рекрутирование $Ly-6C^{hi}$ моноцитов, принимая во внимание тот факт, что рекрутирование $Ly-6C^{lo}$ моноцитов происходит $CCR2/MCP-1$ независимым путем. Так в исследовании по использованию липидных наночастиц

для доставки малых интерферирующих РНК к моноцитам был продемонстрирован результат в виде блокирования CCR2 рецептора, что, в свою очередь, привело к подавлению рекрутирования Ly6-C^{hi} моноцитов и улучшению таких показателей, как фракция выброса ЛЖ и конечный диастолический объем (КДО) ЛЖ [120].

Действительно, воздействие на CCR2 рецепторы препятствует рекрутированию Ly6-C^{hi} моноцитов, однако поступление моноцитов из селезенки в кровотоки происходит CCR2 независимым путем. Было продемонстрировано, что моноциты, которые образуются в селезенке, могут способствовать дезадаптивному ремоделированию сердца [84]. В одном из исследований показано, что спленэктомия, проводимая через 8 недель после перевязки коронарной артерии, улучшает функцию ЛЖ по таким показателям как фракция выброса ЛЖ и КДО ЛЖ [153]. Интересно, что поступление моноцитов из селезенки в кровотоки зависит от рецептора ангиотензина II типа 1a, и нокаут этого рецептора снижает количество как циркулирующих, так и сердечных моноцитов после ИМ [84]. Возможно, что действие ингибиторов ренин-ангиотензиновой системы, которые являются основной группой препаратов для лечения СН, частично опосредуются этим механизмом.

Еще одним способом истощения пула сердечных моноцитов является воздействие на моноцитопоез. В эксперименте ингибирование $\text{IL-1}\beta$, цитокина, который активирует моноцитопоез после ИМ, снижает уровни циркулирующих моноцитов. При этом через 3 недели после ИМ у мышей, получавших ингибитор $\text{IL-1}\beta$, наблюдались более высокие показатели фракции выброса ЛЖ и меньшие значения КДО ЛЖ [146]. Эти результаты актуальны в свете недавнего успеха канакиумаба – моноклональных антител к $\text{IL-1}\beta$ – во вторичной профилактике сердечно-сосудистых событий [12]. Также было продемонстрировано, что передача сигналов симпатической нервной системы управляет моноцитопоезом, и рутинное использование β -адреноблокаторов в качестве кардиопротекторов при ИМ может оказывать частичный эффект через этот механизм [146]. Влияние ингибиторов ренин-ангиотензиновой системы и β -адреноблокаторов на

постинфарктную инфильтрацию миокарда моноцитами требует внимательного изучения. Отсутствие этих данных может привести к трудностям в трансляции таргетных стратегий, направленных на моноциты/макрофаги.

Другие исследования выдвинули гипотезу, что Ly-6C^{lo} моноциты могут предотвращать развитие дезадаптивного ремоделирования сердца, подавляя воспалительную реакцию. У мышей с дефицитом Nr4a1 , облигатного фактора транскрипции Ly-6C^{lo} моноцитов, наблюдалось отсутствие циркулирующих и сердечных Ly-6C^{lo} моноцитов, а также снижение фракции выброса ЛЖ и увеличение КДО ЛЖ на 21-й день после перевязки коронарной артерии [100]. Тем не менее, вместо того, чтобы опосредовать его эффекты исключительно за счет истощения Ly-6C^{lo} моноцитов, авторы продемонстрировали, что делеция Nr4a1 также модулирует активность Ly-6C^{hi} моноцитов и обеих субпопуляций макрофагов. В частности, Ly-6C^{hi} моноциты продемонстрировали повышенную экспрессию CCR2 , за счет чего увеличивалось их рекрутирование в зону инфаркта. Абсолютное количество Ly-6C^{hi} и Ly-6C^{lo} макрофагов увеличивалось в миокарде на 7-й день, а глобальная транскрипция макрофагов была смещена в сторону провоспалительного фенотипа с повышенной экспрессией $\text{IL-1}\beta$, $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 и сниженной экспрессией канонического маркера M2 макрофагов – CD206 .

1.8.2 Фенотип макрофага как терапевтическая мишень

NR4A1 является лишь одной из ряда идентифицированных молекулярных мишеней, которые связывают фенотип макрофагов с ремоделированием сердца. Первоначальные исследования показали, что у мышей после перевязки коронарной артерии активация канонических M2 генов в популяции сердечных макрофагов при помощи IL-4 или IL-10 предотвращает развитие неблагоприятного ремоделирования сердца. Однако данные подходы являются неспецифичными, так как они влияют и на другие типы клеток, включая регуляторные T-лимфоциты. Это затрудняет идентификацию причинной роли

макрофагов или какого-либо другого пула клеток. Специфичное воздействие на поляризацию макрофагов дает более убедительные доказательства причинной роли макрофагов в постинфарктном ремоделировании миокарда. Нокаут гена *Trib1* вызывает избирательное истощение популяции M2 макрофагов, экспрессирующих CD206 [11]. После перевязки коронарной артерии у мышей с дефицитом *Trib1* разрыв миокарда происходил в 9 раз чаще, чем у мышей дикого типа. Это может свидетельствовать о положительной роли CD206⁺ макрофагов в течение воспалительной фазы ИМ. Также у *Trib1*-негативных мышей имеет место снижение сократительной функции ЛЖ, чего не наблюдается у мышей дикого типа. Это может указывать на участие этой популяции макрофагов в предотвращении развития неблагоприятного ремоделирования сердца. На 7-й день после перевязки коронарной артерии у мышей с дефицитом *Mmp28* наблюдается снижение сократительной функции ЛЖ в сравнении таковой у мышей дикого типа [22]. При этом количество сердечных макрофагов изменяется не значительно, но имеет место повышение экспрессии канонических маркеров M1 макрофагов и снижение экспрессии маркеров M2 макрофагов.

Эффероцитоз или фагоцитоз апоптотических клеток был предположен как внутренний механизм клетки, при помощи которого макрофаги могут переключаться от провоспалительного к репаративному фенотипу. Нокаут *Mertk* – рецепторной тирозинкиназы, необходимой для эффективного эффероцитоза – приводит к повышенной экспрессии канонических генов M1 популяции макрофагов и усугубляет систолическую дисфункцию после перевязки коронарной артерии у мышей [103].

Другим рассматриваемым «переключателем» фенотипа макрофагов является транскрипционный фактор M1 поляризации – регуляторный фактор интерферона 5 (*Irf5*). Воздействие малых интерферирующих РНК на *Irf5* приводит к снижению экспрессии канонических маркеров M1 макрофагов TNF- α и IL-1 β , но не изменяет экспрессию маркеров M2 макрофагов на 4-й день перевязки коронарной артерии [88]. Размер инфаркта у мышей с дефицитом *Irf5* и у мышей

дикого типа был идентичен, однако через 3 недели после ИМ объемные показатели ЛЖ были меньшими у *Irf5*-дефицитных мышей.

Все эти наблюдения привели к гипотезе о том, что переключение фенотипа макрофагов с провоспалительного или M1-подобного на противовоспалительный или M2-подобный может предотвратить развитие неблагоприятного ремоделирования сердца. Тем не менее последние данные поставили под сомнение эту гипотезу. Селективный нокаут *Gata3* – фактора транскрипции, участвующего в дифференцировке M2 макрофагов – в миелоидных клетках приводит к истощению сердечных $Ly-6C^{lo}$, но не $Ly-6C^{hi}$ макрофагов после ИМ [202]. При этом через 2 месяца у мышей с дефицитом $Ly-6C^{lo}$ макрофагов отмечаются меньшие размеры и большая фракция выброса ЛЖ. Кроме того, абсолютное количество сердечных $Ly-6C^{hi}$ макрофагов у *Gata3*-дефицитных мышей было выше, что ставит под сомнение предположение о том, что наличие чрезмерного количества ранних провоспалительных популяций моноцитов/макрофагов является неблагоприятным фактором.

Для того чтобы подтвердить или опровергнуть проективную роль M2 макрофагов при ИМ требуются дальнейшие исследования. Разнообразие и ограничения методов определения субпопуляций макрофагов предполагают, что популяции клеток, описанные в различных исследованиях, могут не совпадать друг с другом. Вместе с тем отсутствие возможности проведения эндомиокардиальной биопсии у больных ИМ создает дополнительные ограничения в изучении сердечных моноцитов/макрофагов. Новые подходы к определению фенотипического спектра сердечных макрофагов у больных ИМ и их ассоциаций с различными клиническими состояниями позволят получить дополнительную информацию о динамике, локализации и функциях этих клеток в клинике.

2 Материалы и методы

Протокол исследования был одобрен Комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии (г. Томск), протокол №128 от 23 декабря 2014 года. Исследование было выполнено в соответствии с принципами Хельсинской декларации. Патологоанатомическое исследование проводилось согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 6 июня 2013 года № 354н «О порядке проведения патологоанатомических вскрытий». В рамках настоящего исследования процесс подписания информированного согласия являлся неосуществимым, но протокол исследования был одобрен Комитетом по биомедицинской этике. Таким образом, противоречия Хельсинской декларации отсутствуют. Согласно Хельсинской декларации, в случае, когда получение согласия для исследования невозможно или нецелесообразно, исследование может проводиться после рассмотрения и одобрения комитетом по этике.

2.1 Объект исследования

В настоящей работе объектом исследования являлись фрагменты миокарда больных, умерших от ИМ I типа в 2013-2014 гг. Забор фрагментов миокарда проводился из зоны инфаркта, периинфарктной зоны и зоны, отдаленной от инфаркта. Группу контроля составили образцы миокарда 9 человек, погибших от травм, несовместимых с жизнью и не имеющих заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Критериями исключения являлись ИМ II-V типов, инфекционные осложнения (сепсис, пневмония), онкологические заболевания, клапанные пороки, требующие хирургической коррекции, а также случаи, когда ИМ не являлся причиной смерти пациента.

Для изучения пространственно-временного паттерна аккумуляции сердечных макрофагов и их фенотипов (задачи 1-4) больные были разделены по

группам в зависимости от давности ИМ: 1-ая группа (n=13) – умершие в течение первых суток ИМ; 2-ая группа (n=11) – умершие в течение 24-72 часов; 3-я группа (n=9) – умершие на 4-10-е сутки; и 4-ая группа (n=8) – на 11-28-е сутки. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

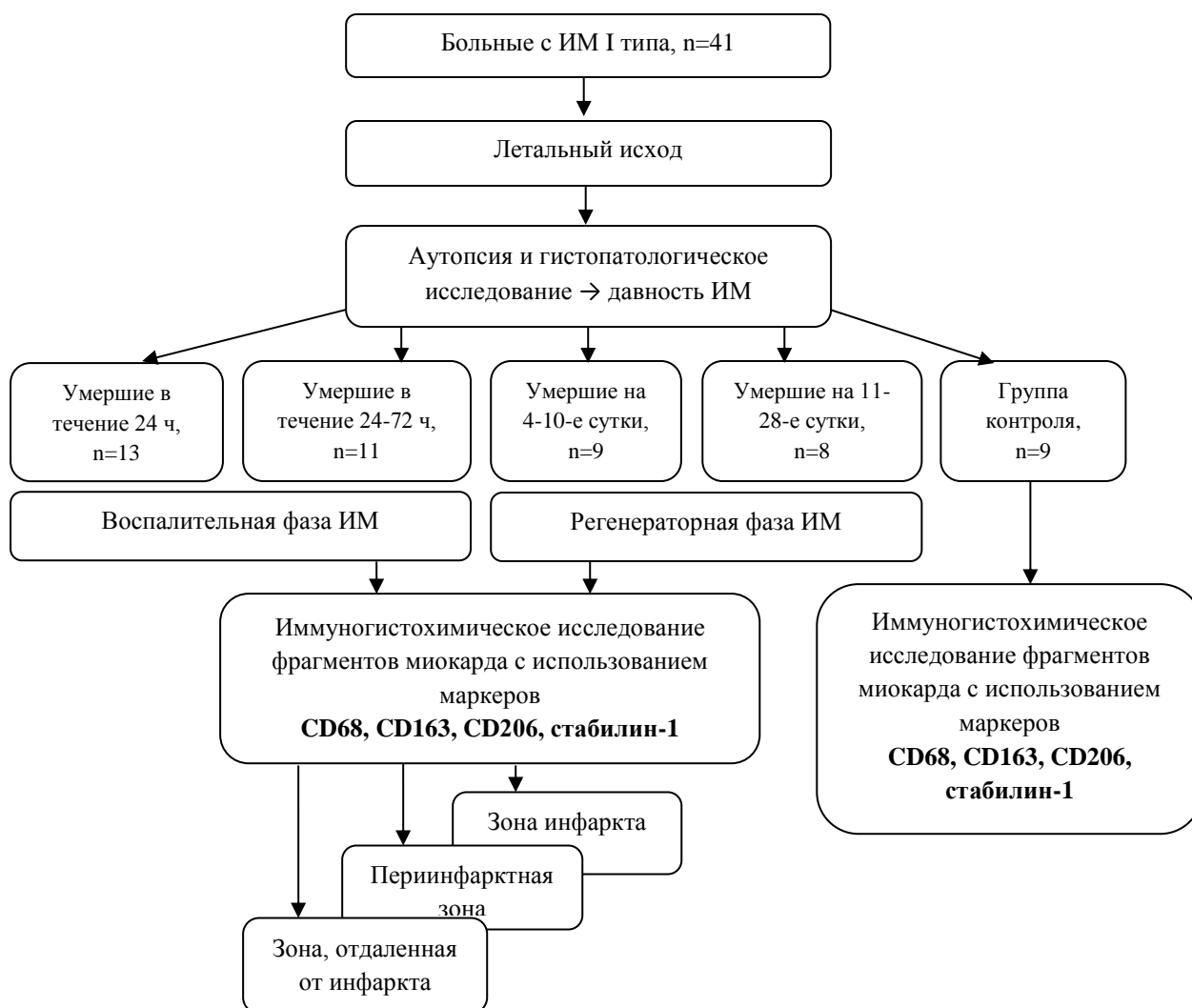


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Для изучения фенотипов (задача 4) макрофагов дополнительно проведено двойное иммунофлюоресцентное окрашивание со следующими парами маркеров: CD163 и CD206, стабилин-1 и α -SMA. Больные были разделены по группам в зависимости от давности ИМ: 1-ая группа – умершие в течение трех суток ИМ; 2-ая – умершие на 4-28-е сутки (рисунок 2).

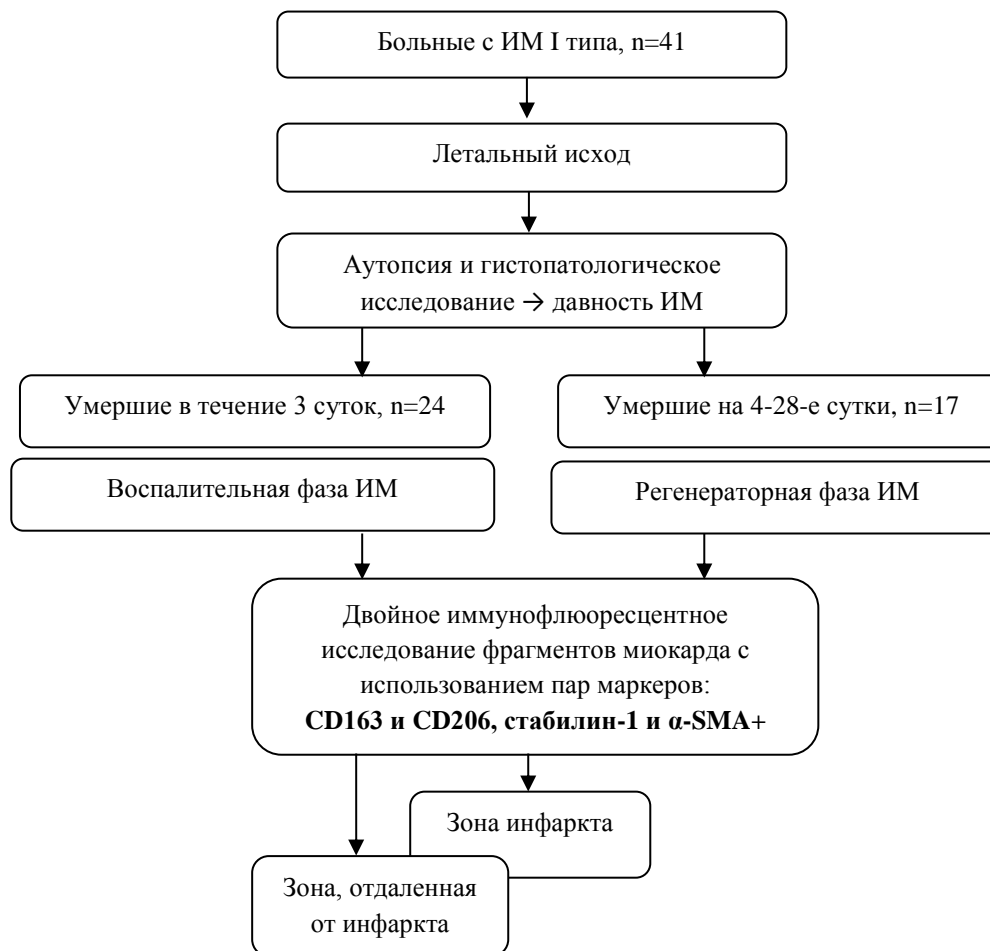


Рисунок 2 – Дизайн исследования: изучение фенотипов макрофагов при помощи двойного иммунофлуоресцентного окрашивания

Все группы больных были сравнимы по возрасту, полу и наличию факторов риска ишемической болезни сердца (таблица 5). Пациенты с обширным (циркулярным) ИМ погибали чаще ($p < 0,05$). Больные с передним ИМ с элевацией сегмента ST, имеющие в анамнезе хроническую сердечную недостаточность (СН) и обструктивную болезнь легких умирали в более ранние сроки ($p < 0,05$). Погибшие в течение первых суток имели сохранную фракцию выброса. Пациенты, умирающие на поздних сроках, чаще имели в анамнезе нарушения ритма сердца, мочекаменную болезнь и хроническую болезнь почек ($p < 0,05$). Больные, погибшие на более поздних сроках, имели стенозирующее поражение в бассейне двух коронарных артерий. Часть пациентов, умерших в течение первых суток не получила двойную антиагрегантную терапию и бета-адреноблокаторы в

стационаре, что, вероятно, связано с наступлением смерти в первые часы госпитализации. Больным, погибающим на более поздних сроках, чаще назначалась диуретическая терапия ($p < 0,05$). ИМ, осложнившийся развитием острой СН при поступлении приводил к гибели в наиболее ранний период, тогда как рецидив инфаркта и постинфарктная стенокардия наблюдались на поздних сроках госпитализации. Смерть в результате разрыва миокарда чаще происходила на ранних сроках заболевания ($p < 0,05$). Наиболее частой причиной смерти во всех группах являлся кардиогенный шок.

Основные клиничко-anamнестические характеристики пациентов, включенных в исследование, представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Клиничко-anamнестические характеристики пациентов, включенных в исследование

Параметры	Все пациенты	Первая группа	Вторая группа	Третья группа	Четвертая группа
Количество пациентов, n	41	13 (32 %)	11 (27 %)	9 (21 %)	8 (20 %)
Возраст, года	74±10	73±10	72±9	74±11	78±11
Мужской пол	17 (41 %)	5 (38 %)	4 (36 %)	5 (55 %)	3 (37 %)
ИМпST	36 (89 %)	12 (92 %)	11 (100 %)	8 (89 %)	5 (62 %) *
Локализация инфаркта					
Передний ИМ	13 (32 %)	5 (39 %)	6 (55 %)	1 (11 %) †	1 (12,5 %)
Задний ИМ	10 (24 %)	2 (15 %)	4 (36 %)	3 (33 %)	1 (12,5 %)
Циркулярный ИМ	18 (44 %)	6 (46 %)	1 (9 %) §	5 (56 %) †	6 (75 %) *
Факторы риска ИБС					
Сахарный диабет	10 (24 %)	3 (23 %)	2 (18 %)	2 (22 %)	3 (38 %)
Гипертоническая болезнь	38 (93 %)	13 (100 %)	10 (91 %)	7 (78 %)	8 (38 %)
Ожирение	12 (29 %)	4 (31 %)	4 (36 %)	3 (33 %)	1 (13 %)
Дислипидемия	10 (24 %)	0	3 (27 %)	2 (22 %)	1 (13 %)
Курение	12 (29 %)	2 (15 %)	4 (36 %)	4 (44 %)	2 (25 %)
Семейный анамнез ССЗ	3 (7 %)	0	1 (9 %)	2 (22 %)	0
Наличие в анамнезе					
Нарушения ритма сердца	6 (15 %)	0	1 (9 %)	1 (11 %)	4 (50 %) †
ХСН	21 (51 %)	2 (15 %) †	7 (64 %)	6 (67 %)	6 (75 %)
ХОБЛ	15 (36 %)	7 (54 %)	4 (36 %)	1 (11 %) †	3 (37 %)
МКБ	5 (12 %)	1 (8 %)	0	4 (44 %) †	0
Хроническая болезнь почек	17 (41 %)	1 (8 %)	6 (56 %)	8 (89 %) †	2 (25 %)
САД при поступлении, мм рт. ст.	101 (79; 127)	90 (60; 113)	110 (89; 140)	101 (89; 101)	122 (101; 134)

Окончание Таблицы 5

Поражение коронарного русла, стенозы более 70%					
Ствол ЛКА	5 (12 %)	2 (15 %)	1 (9 %)	0	2 (25 %)
ПНА	16 (39 %)	3 (23 %)	4 (36 %)	4 (44 %)	5 (62,5 %)
ОА	14 (34 %)	2 (15 %)	3 (27 %)	4 (44 %)	5 (62,5 %) [#]
ПКА	12 (29 %)	3 (23 %)	1 (8 %)	3 (33 %)	5 (62,5 %) [*]
Шкала GRACE (при поступлении), %	27 (9; 40)	40 (9; 60)	14 (6; 40)	30 (27; 40)	10 (7; 27)
Реперфузионная терапия					
Тромболизис	13 (31 %)	6 (46 %)	7 (64 %)	0 (0 %) ^{†‡}	0 (0 %) ^{**#}
Чрескожное коронарное вмешательство	19 (46 %)	5 (38 %)	4 (36 %)	5 (56 %)	5 (62,5 %)
Медикаментозная терапия					
Двойная дезагрегантная терапия	37 (90 %)	9 (69 %) [†]	11 (100 %)	9 (100 %)	8 (100 %)
Ингибиторы АПФ	7 (17 %)	0 (0 %)	2 (18 %)	2 (22 %)	3 (37,5 %) [#]
Бета-адреноблокаторы	15 (36 %)	1 (8 %) [†]	3 (27 %)	5 (56 %)	6 (75 %)
Осложнения ИМ					
ОСН при поступлении	29 (71 %)	12 (92 %) [§]	6 (55 %) [§]	7 (78 %)	4 (50 %) [#]
Аневризма ЛЖ	11 (27 %)	1 (8 %)	4 (36 %)	3 (33 %)	3 (37,5 %)
Рецидив ИМ	11 (27 %)	1 (8 %)	2 (18 %)	3 (33 %)	5 (62,5 %) [†]
Постинфарктная стенокардия	11 (27 %)	1 (8 %)	2 (18 %)	2 (22 %)	6 (75 %) [†]
Причина смерти					
Кардиогенный шок	32 (78 %)	10 (77 %)	6 (55 %)	9 (100 %) [†]	7 (88 %)
Разрыв миокарда	6 (15 %)	2 (15 %)	4 (36 %)	0 [†]	0 [*]
Аритмогенный шок (ФЖ)	3 (7 %)	1 (4 %)	1 (9 %)	0	1 (12,5 %)

Данные представлены в количественном и процентном выражении или в виде $M \pm SD$ или в виде $Me (Q1; Q3)$.

* $p < 0,05$ - различие между второй и четвертой группой; [†] $p < 0,05$ - различие между второй и третьей группой; [§] $p < 0,05$ - различие между первой и второй группой; [†] $p < 0,05$ - отличие от других групп; [‡] $p < 0,05$ - различие между первой и третьей группой; [#] $p < 0,05$ - различие между первой и четвертой группой.

АПФ - ангиотензин-превращающий фермент, ИБС - ишемическая болезнь сердца, ИМ - инфаркт миокарда, ИМпST - ИМ с подъемом сегмента ST, ЛЖ - левый желудочек, ЛКА - левая коронарная артерия, ОА - огибающая артерия, ОСН - острая сердечная недостаточность, ПНА - передняя нисходящая артерия, ПКА - правая коронарная артерия, САД - систолическое артериальное давление, ССЗ - сердечнососудистые заболевания, ФЖ - фибрилляция желудочков, ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких, ХСН - хроническая сердечная недостаточность.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Гистопатологическое исследование

Аутопсия проводилась на базе патологоанатомического отделения в течение 24 часов от момента смерти пациента. В течение суток образцы миокарда фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, что позволяло сохранить морфологию клеток. Далее, после стандартной гистологической проводки, образцы миокарда заливали в парафин при помощи гистопроцессора Thermo Scientific Excelsior ES (США). Таким образом, образцы миокарда хранились в виде парафиновых блоков и представляли собой биобанк для последующего изучения и подготовки микротомных срезов.

Из каждого парафинового блока было получено по 20 срезов миокарда. Срезы фиксировались на предметных стеклах с полилизинным покрытием, которое обеспечивало быстрое и прочное прикрепление исследуемого материала к стеклу. Помимо этого, стекла являлись устойчивыми к температурному воздействию и влиянию агрессивных химических веществ и ферментов.

Для определения сроков и локализации ИМ проводилось гистопатологическое исследование микротомных срезов миокарда с использованием микроскопа Axio Imager M2 (Zeiss, Германия) в светлом поле и в поляризованном свете. Перед микроскопией препараты были окрашены гематоксилином и эозином по стандартной методике. В таблице 6 представлена динамика морфологических изменений при ИМ [4]. Таким образом, на основании гистопатологического исследования мы отбирали фрагменты миокарда из зоны инфаркта, периинфарктной зоны и зоны, отдаленной от инфаркта.

Таблица 6 – Характеристики морфологических изменений при ИМ

Время	Первые 24 часа	24-72 часа	4-10-ые сутки	11-28-ые сутки
Фаза	Фаза некроза		Фаза миомаляции и организации	

	Воспалительная фаза		Регенераторная фаза	
Макроскопическая картина	Изменения отсутствуют <i>или</i> определяется неоднородность цвета миокарда на срезе	Неоднородность цвета миокарда на срезе, центр инфаркта желто-коричневого цвета	Гиперемия по периферии инфаркта, размягчение центра инфаркта желто-коричневого цвета Максимальное размягчение центра инфаркта желто-коричневого цвета с красно-коричневыми западающими краями инфаркта	Красно-серые западающие края инфаркта Рубец серо-белого цвета
Световая микроскопия	Отек Геморрагии Ранний коагуляционный некроз Пикноз ядер Гиперэозинофилия кардиомиоцитов Внутриклеточный миоцитолит Сегментарные контрактуры мышечных волокон или «полосы пересокращения» по периферии инфаркта	Коагуляционный некроз с утратой ядер и поперечной исчерченности мышечных волокон Активная интерстициальная нейтрофильная инфильтрация	Распад погибших миофибрилл Погибшие нейтрофилы Увеличение количества макрофагов Образование сосудисто-волоконистой грануляционной ткани по периферии инфаркта	Зрелая грануляционная ткань – зрелые коллагеновые волокна, фибробласты, сосуды синусоидного типа

2.2.2 Иммуногистохимическое исследование

Анализ белковой экспрессии маркеров макрофагов CD68, стабилина-1, CD162, CD206 проводили при помощи иммуногистохимического анализа образцов миокарда больных. Исследование проводилось в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта.

Иммуногистохимическое исследование проводилось с применением антител к маркерам макрофагов. В качестве общего маркера макрофагов был использован CD68, в качестве классических маркеров M2 макрофагов использовались CD163 и CD206, а в качестве дополнительного маркера M2 макрофагов – стабилин-1. В ходе исследования использовались мышинные моноклональные антитела к CD68 (Cell Marque, разведение 1:500), антитела к CD163 (Cell Marque, разведение 1:50), мышинные моноклональные антитела к CD206 (Santa Cruz, разведение 1:100), синтезированные в лаборатории Врожденного Иммуитета и Иммунологической Толерантности (Университет Гейдельберга) антитела к стабину-1 RS1 (разведение 1:1000).

Следуя протоколу иммуногистохимического окрашивания, на первом этапе проводилась депарафинизация срезов и отмывка в спиртах. Следующим этапом являлась демаскировка антигенов в цитратном буфере pH 6.0 (Spring Bioscience) на водяной бане при температуре 96°C. Далее на 10 минут наносился пероксидазный блок для блокирования эндогенной пероксидазы. Затем производилось блокирование неспецифического связывания сывороткой (3% бычий сывороточный альбумин в растворе натрий-фосфатного буфера – PBS, phosphate buffered saline) путем ее нанесения на срезы и инкубации срезов во влажной камере при комнатной температуре в течение 30 мин. После этого первичные антитела в рабочем разведении наносились на срезы и инкубировались во влажной камере в течение 60 минут с последующей 3-кратной отмывкой в PBS. Вторичные HRP-меченные антитела наносились на срез на 45 минут (или использовалась система визуализации для антител мышь-кролик) с последующей 4-кратной отмывкой в PBS. Далее добавляли DAB (3,3-диаминобензидин) -

хромаген субстрат и производили окрашивание ядер гематоксилином. Затем проводилась дегидратация срезов с последующим их покрытием предметным стеклом. Материал исследовался при помощи микроскопа Axio Imager M2 (Zeiss, Германия). Количество CD68+, CD163+, CD206+ и стабилин-1+ макрофагов было подсчитано в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от ИМ. Для каждого маркера производили подсчет позитивных по изучаемым маркерам макрофагов в миокарде в 20 полях зрения при оптическом увеличении 630. Подсчет клеток проводился двумя независимыми исследователями.

2.2.3 Иммунофлюоресцентное исследование

Исследование проводилось с применением антител к маркерам макрофагов. В качестве классических маркеров M2 макрофагов использовались CD163 и CD206, а в качестве дополнительного маркера M2 макрофагов – стабилин-1. В качестве маркера миофибробластов использовался α -SMA (α -гладкомышечный актин). В ходе исследования использовались первичные антитела к CD163 (Cell Marque, разведение 1:1000), к CD206 (Santa Cruz, разведение 1:1000), синтезированные в лаборатории Врожденного Иммуитета и Иммунологической Толерантности (Университет Гейдельберга) антитела к стабину-1 RS1 (разведение 1:1000), к α -SMA (разведение 1:300).

Следуя протоколу иммунофлюоресцентного окрашивания, на первом этапе проводилась депарафинизация срезов и отмывка в спиртах. Следующим этапом являлась демаскировка антигенов в цитратном буфере буфере Tris-EDTA pH 9,0 (Spring Bioscience) на водяной бане при температуре 96°C. Далее на 10 минут наносился пероксидазный блок для блокирования эндогенной пероксидазы. Затем производилось блокирование неспецифического связывания сывороткой (3% бычий сывороточный альбумин в растворе натрий-фосфатного буфера – PBS, phosphate buffered saline) путем ее нанесения на срезы и инкубации срезов во влажной камере при комнатной температуре в течение 50 мин. После этого

первичные антитела в рабочем разведении наносились на срезы и инкубировались во влажной камере в течение 25 минут с последующей 3-кратной отмывкой в PBS. Следующий этап заключался в нанесении на срезы вторичных антител в рабочем разведении: Alexa Fluor 488 (1:300), Cyanine-3 (Cy3) (1:300) и ядерный краситель 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (1:1000). Приготовление раствора вторичных антител проводилось в светонепроницаемой пробирке типа Эппендорф. Срезы инкубировались в течение 60 минут при комнатной температуре в темной влажной камере с последующей 4-кратной отмывкой в PBS. Далее на срезы наносили среду для заключения (Faramount Aqueous Mounting Medium, Dako Cytomation) и фиксировали покровное стекло. Препараты хранились при температуре 4°C в светонепроницаемом планшете с крышкой.

Материал исследовался при помощи микроскопа Axio Imager M2 (Zeiss, Германия). Количество макрофагов было подсчитано в зоне инфаркта и зоне, отдаленной от ИМ. Для каждого маркера производили подсчет позитивных по изучаемым маркерам макрофагов в миокарде в 20 полях зрения при оптическом увеличении 630. Подсчет клеток проводился двумя независимыми исследователями.

2.2.4 Статистическая обработка материала

Обработка данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 10.0» и «MedCalc 11.5.0.0». Характер распределения количественных признаков оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка и визуального представления в виде гистограмм. Количество макрофагов представлено в виде медианы и межквартильного размах. Статистическая значимость различий между двумя независимыми количественными переменными оценивались с помощью U критерия Mann-Whitney. Для сравнения двух зависимых переменных критерий Вилкоксона и критерий знаков. Для определения значимости различий при множественном сравнении (3 и более групп) применялся критерий Kruskal-Wallis

и поправка Бонферрони. Статистическую значимость различий качественных признаков оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Для выявления предикторов развития неблагоприятного ремоделирования сердца использовали ROC анализ с построением характеристических кривых и расчетом площади под кривой. Значимым считали значение площади под ROC кривой (AUC), превышающее 0,70. Корреляционный анализ выполнялся с расчетом коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Коэффициент корреляции (R) менее 0,3 рассматривался как показатель наличия слабой корреляционной связи, от 0,3 до 0,7 – как показатель наличия умеренной корреляционной связи, более 0,7 – как показатель наличия сильной корреляционной связи.

Обсуждались результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$.

3 Результаты собственных исследований

3.1 Динамика макрофагальной инфильтрации миокарда у больных на ранних и поздних сроках инфаркта миокарда

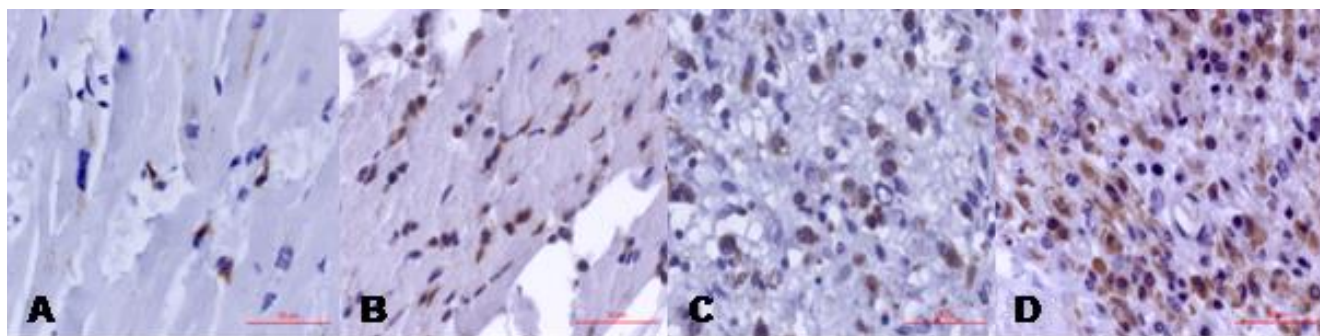
Результаты иммуногистохимического анализа CD68+ сердечных макрофагов у пациентов с ИМ представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Иммуногистохимический анализ CD68+ сердечных макрофагов у пациентов с ИМ

Показатель	Воспалительная фаза		Регенераторная фаза		Группа 5 (контроль), n=9	p
	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8		
CD68+ макрофаги в зоне инфаркта	54,0 (50,0; 109,0)	65,5 (59,0; 175,0)	441,0 (111; 761,0)	409,0 (334,5; 579,5)	17,0 (14,0; 24,0)	p ₁₋₃ =0,003 p ₂₋₃ =0,01 p ₁₋₅ <0,001
CD68+ макрофаги в перинфарктной зоне	44,0 (31,0; 71,0)	87,0 (48,0; 109)	176,0 (85,0; 256,0)	144,5 (83,5; 207,0)	17,0 (14,0; 24,0)	p ₁₋₂ =0,024 p ₁₋₃ =0,009 p ₁₋₅ <0,001
CD68+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	37,0 (31,0; 62,0)	51,0 (39,0; 85,0)	118,0 (61,0; 169,0)	92,5 (57,0; 107,0)	17,0 (14,0; 24,0)	p ₁₋₃ =0,04 p ₁₋₅ <0,001
Количество клеток в 20 полях зрения	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха					

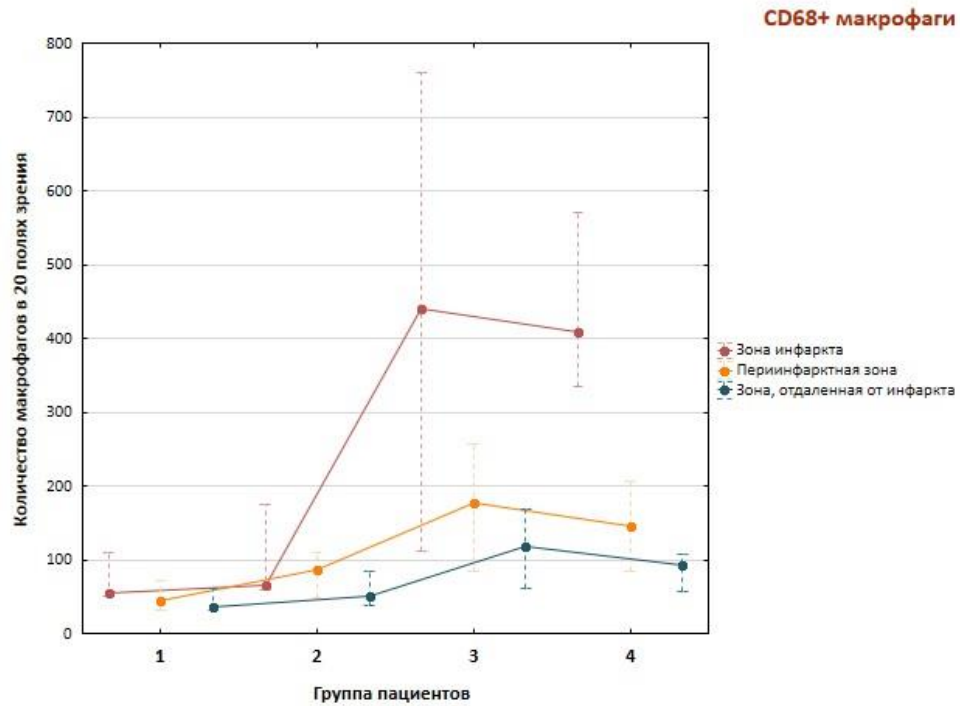
В инфарктной зоне интенсивность CD68+ макрофагальной инфильтрации в течение воспалительной фазы (24–72 часа от начала ИМ) была ниже, чем в фазе регенерации (начиная с 4-го дня ИМ) и на более поздних сроках. Количество CD68+ макрофагов (p₁₋₃=0,003, p₂₋₃=0,01) в зоне инфаркта значительно возросло и достигало пика в регенераторную фазу (с 4-го по 10-й день ИМ) и не уменьшалось на более поздних (11–28 сутки) сроках ИМ (рисунок 3, 4). В группе контроля содержание CD68+ макрофагов (p₁₋₅<0,001) было ниже, чем в инфарктной зоне, как в воспалительную, так и в регенераторную фазу. В

периинфарктной зоне количество CD68+ макрофагов ($p_{1-2}=0,024$) начинало увеличиваться несколько раньше – в фазу воспаления (24–72 часа от начала ИМ), достигало пика с 4-го по 10-й день ИМ ($p_{1-3}=0,009$) и не значительно уменьшалось на более поздних сроках заболевания. В группе контроля содержание CD68+ макрофагов ($p_{1-5}<0,001$) было ниже, чем в периинфарктной зоне, как в воспалительную, так и в регенераторную фазу. В зоне, отдаленной от инфаркта, содержание CD68+ клеток увеличивалось ($p_{1-3}=0,04$) в фазу регенерации (с 4-го по 10-й день ИМ) и не значительно уменьшалось на более поздних сроках. В зоне, отдаленной от инфаркта, количество CD68+ клеток ($p_{1-5}<0,001$) было выше, чем в группе контроля, как в воспалительную, так и в регенераторную фазу.



А – группа 1 (умершие в течение 24 часов от начала ИМ), В – группа 2 (умершие в течение 24-72 часов от начала ИМ), С – группа 3 (умершие с 4-ого по 10-ый день ИМ), D – группа 4 (умершие на 11-28 сутки ИМ)

Рисунок 3 – Динамика сердечных CD68+ макрофагов в зоне инфаркта миокарда, иммуногистохимия, scale-bar 50 μm .



Группа 1 – умершие в течение 24 часов от начала ИМ, группа 2 – умершие в течение 24–72 часов от начала ИМ, группа 3 – умершие с 4-го по 10-й день ИМ, группа 4 – умершие на 11–28 сутки ИМ

Рисунок 4 – Динамика сердечных CD68+ макрофагов у пациентов с ИМ.

Результаты иммуногистохимического анализа стаблин-1+ сердечных макрофагов у пациентов с ИМ представлены в таблице 8.

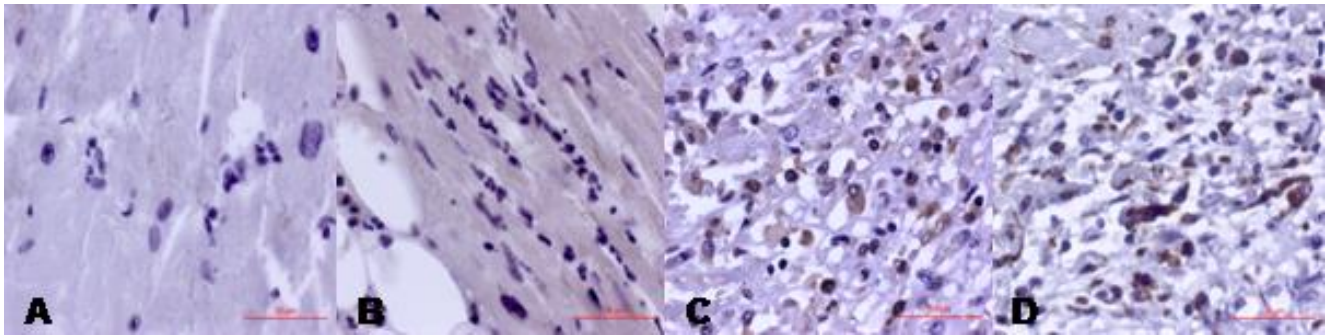
Таблица 8 – Иммуногистохимический анализ стаблин-1+ сердечных макрофагов у пациентов с ИМ

Показатель	Воспалительная фаза		Регенераторная фаза		Группа 5 (контроль), n=9	p
	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8		
Стаблин-1+ макрофаги в зоне инфаркта	0,0 (0,0; 2,0)	0,0 (0,0; 1,0)	174,0 (42,0; 233,0)	186,5 (82,0; 267,5)	18,0 (8,0; 30,0)	p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,001 p ₁₋₅ =0,01 p ₂₋₅ =0,002 p ₃₋₅ =0,02 p ₄₋₅ =0,008
Стаблин-1+ макрофаги в периинфарктной зоне	0,0 (0,0; 2,0)	0,0 (0,0; 1,0)	39,0 (1,0; 78,0)	40,5 (1,0; 71,0)	18,0 (8,0; 30,0)	p ₁₋₃ =0,02 p ₂₋₃ =0,02 p ₁₋₅ =0,003 p ₂₋₅ =0,001

Окончание Таблицы 8

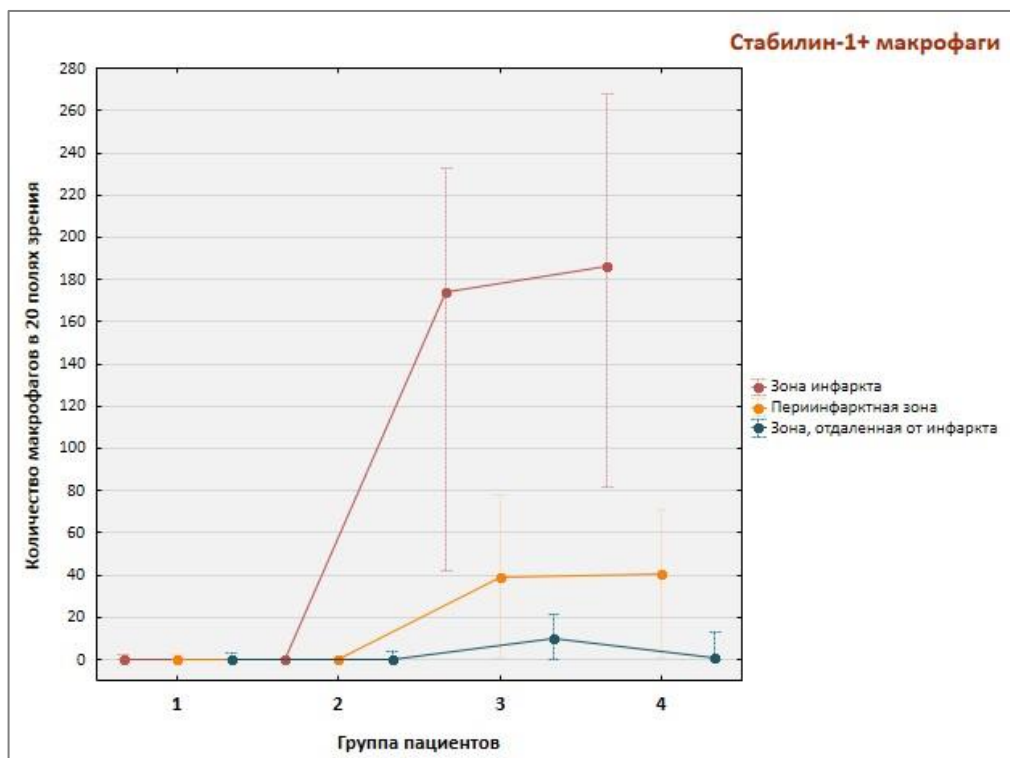
Стабилин-1+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	0,0 (0,0; 3,0)	0,0 (0,0; 4,0)	10,0 (0,0; 21,0)	0,5 (0,0; 13,0)	18,0 (8,0; 30,0)	$p_{2-3}=0,03$ $p_{1-5}=0,005$ $p_{2-5}=0,001$
<i>Количество клеток в 20 полях зрения</i>	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха					

В инфарктной зоне интенсивность стабиллин-1+ макрофагальной инфильтрации в течение воспалительной фазы (24–72 часа от начала ИМ) была ниже, чем в фазе регенерации (начиная с 4-го дня ИМ). Содержание стабиллин-1+ макрофагов ($p_{1-3}=0,001$, $p_{2-3}=0,001$) в зоне инфаркта значительно возросло и достигало пика в регенераторную фазу (с 4-го по 10-й день ИМ) и на более поздних сроках ИМ (11–28-е сутки), по-прежнему, оставалось высоким (рисунок 5, 6). При этом количество стабиллин-1+ клеток в зоне инфаркта в течение фазы воспаления было меньшим, чем в группе контроля ($p_{1-5}=0,01$), но начинало преобладать в фазу регенерации ($p_{3-5}=0,02$, $p_{4-5}=0,008$). В периинфарктной зоне количество стабиллин-1+ макрофагов также оставалось неизменным в течение фазы воспаления (24–72 часа от начала ИМ), увеличивалось ($p_{1-3}=0,02$, $p_{2-3}=0,02$) в регенераторную фазу (с 4-го по 10-й день ИМ) и не изменялось на поздних сроках инфаркта. Количество стабиллин-1+ клеток в периинфарктной области в течение фазы воспаления было меньшим, чем в группе контроля ($p_{1-5}=0,003$), но на более поздних сроках инфаркта не отличалось от контрольной группы. В зоне, отдаленной от инфаркта, содержание стабиллин-1+ клеток также увеличивалось ($p_{2-3}=0,03$) в фазу регенерации (с 4-го по 10-й день ИМ), однако, на более поздних сроках заболевания имело место тенденция к снижению их количества. В зоне, отдаленной от инфаркта, число стабиллин-1+ макрофагов ($p_{1-5}=0,005$) было меньшим, чем в контрольной группе, как в воспалительную, так и в регенераторную фазу.



А – группа 1 (умершие в течение 24 часов от начала ИМ), В – группа 2 (умершие в течение 24–72 часов от начала ИМ), С – группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день ИМ), D – группа 4 (умершие на 11–28-е сутки ИМ)

Рисунок 5 – Динамика сердечных стабиллин-1+ макрофагов в зоне инфаркта миокарда, иммуногистохимия, scale-bar 50 μ m.



Группа 1 – умершие в течение 24 часов от начала ИМ, группа 2 – умершие в течение 24–72 часов от начала ИМ, группа 3 – умершие с 4-го по 10-й день ИМ, группа 4 – умершие на 11–28-е сутки ИМ

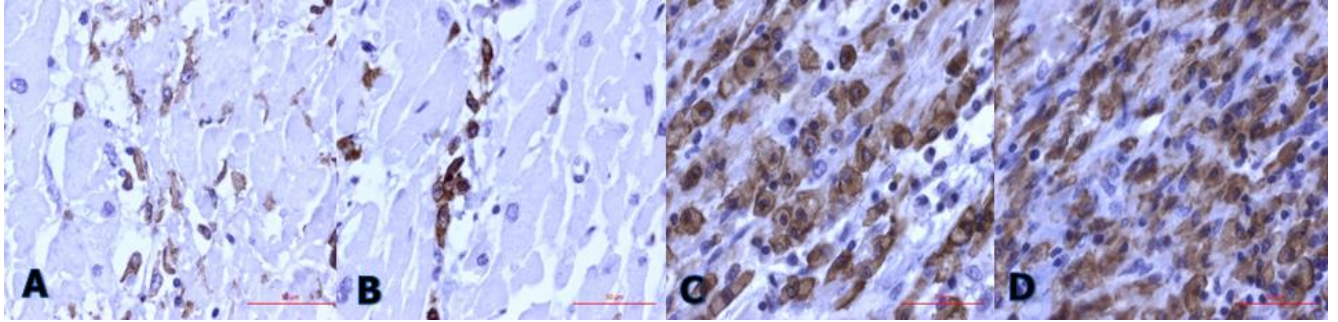
Рисунок 6 – Динамика сердечных стабиллин-1+ макрофагов у пациентов с ИМ

Результаты иммуногистохимического анализа CD163+ сердечных макрофагов у пациентов с ИМ представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Иммуногистохимический анализ CD163+ сердечных макрофагов у пациентов с ИМ

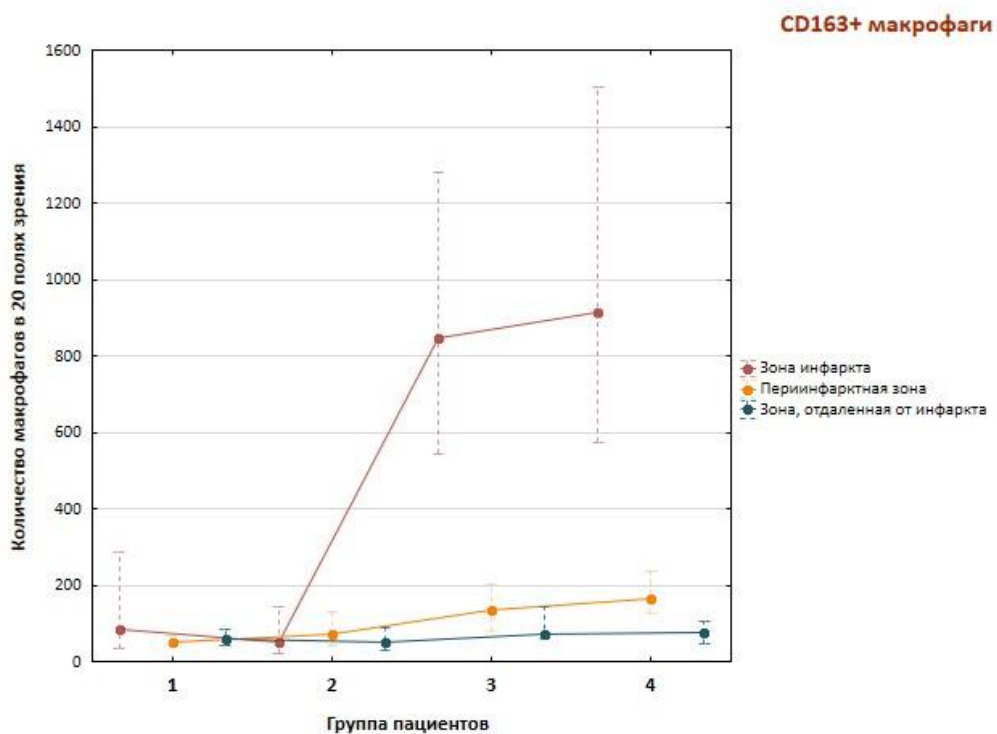
Показатель	Воспалительная фаза		Регенераторная фаза		Группа 5 (контроль), n=9	p
	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8		
CD163+ макрофаги в зоне инфаркта	85,0 (34,0; 285,0)	49,5 (23,5; 145,0)	846 (545,0; 1282,0)	916,0 (572,0; 1504,0)	32,0 (21,0; 36,0)	$p_{1-3}=0,01$ $p_{2-3}=0,007$ $p_{1-5}<0,001$
CD163+ макрофаги в перинфарктной зоне	51,0 (47,0; 66,0)	73,0 (44,5; 135,5)	135,0 (82,0; 204,0)	163,0 (72,0; 265,0)	32,0 (21,0; 36,0)	$p_{1-3}=0,01$ $p_{1-5}<0,001$
CD163+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	60,0 (42,5; 85,5)	52,0 (31,0; 87,0)	73,0 (59,0; 142,0)	77,5 (46,0; 107,0)	32,0 (21,0; 36,0)	$p_{1-5}=0,04$
<i>Количество клеток в 20 полях зрения</i>	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха					

В инфарктной зоне интенсивность CD163+ макрофагальной инфильтрации в течение воспалительной фазы (24–72 часа от начала ИМ) была ниже, чем в фазе регенерации (начиная с 4-го дня ИМ) и на более поздних сроках. Количество CD163+ макрофагов ($p_{1-3}=0,01$; $p_{2-3}=0,007$) в зоне инфаркта увеличивалось в регенераторную фазу и продолжало увеличиваться на 11–28-е сутки (рисунок 7, 8). В инфарктной зоне количество CD163+ макрофагов ($p < 0,001$) было большим, чем в группе контроля, как на ранних, так и на поздних сроках заболевания. В перинфарктной зоне содержание CD163+ макрофагов оставалось неизменным в течение фазы воспаления, увеличивалось ($p_{1-3}=0,03$) в регенераторную фазу (с 4-го по 10-й день ИМ) и далее не изменялось. В группе контроля содержание CD163+ макрофагов ($p < 0,001$) было ниже, чем в перинфарктной зоне, как в воспалительную, так и в регенераторную фазу. В зоне, отдаленной от инфаркта, количество CD163+ макрофагов значимо не изменялось, и было большим ($p_{1-5}=0,04$), чем в группе контроля, как в воспалительную, так и в регенераторную фазу.



А – группа 1 (умершие в течение 24 часов от начала ИМ), В – группа 2 (умершие в течение 24–72 часов от начала ИМ), С – группа 3 (умершие с 4-ого по 10-ый день ИМ), D – группа 4 (умершие на 11-28 сутки ИМ)

Рисунок 7 – Динамика сердечных CD163+ макрофагов в зоне инфаркта миокарда, иммуногистохимия, scale-bar 50 μ m.



Группа 1 – умершие в течение 24 часов от начала ИМ, группа 2 – умершие в течение 24–72 часов от начала ИМ, группа 3 – умершие с 4-го по 10-й день ИМ, группа 4 – умершие на 11–28-е сутки ИМ

Рисунок 8 – Динамика сердечных CD163+ макрофагов у пациентов с ИМ

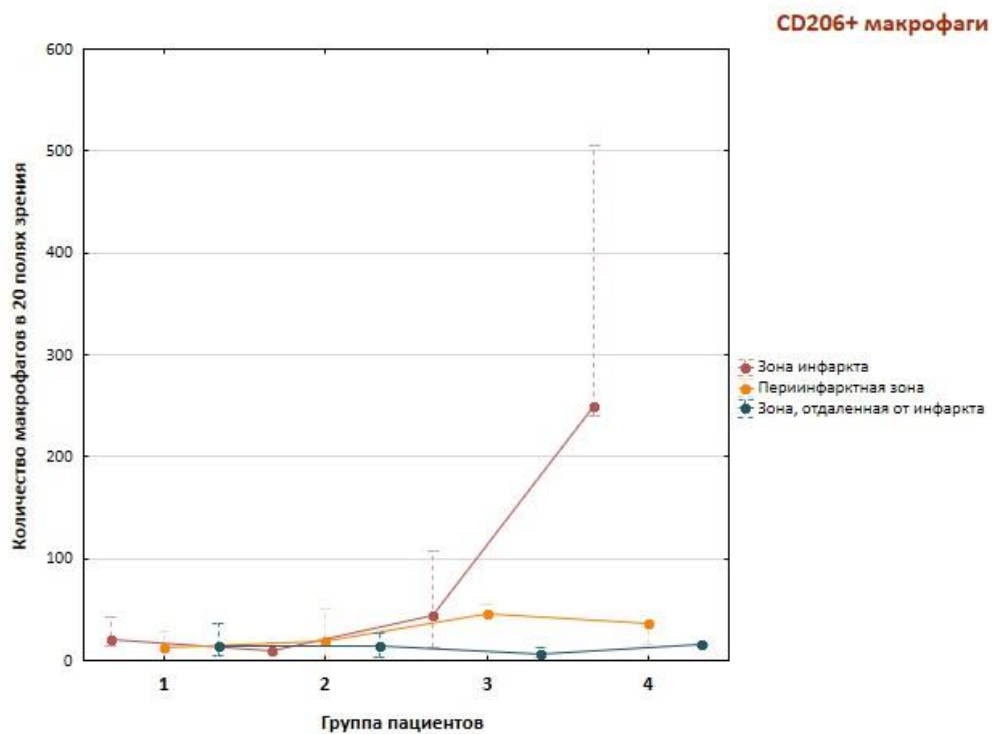
Результаты иммуногистохимического анализа CD206+ сердечных макрофагов у пациентов с ИМ представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Иммуногистохимический анализ CD206+ сердечных макрофагов у пациентов с ИМ

Показатель	Воспалительная фаза		Регенераторная фаза		Группа 5 (контроль), n=9	p
	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8		
CD206+ макрофаги в зоне инфаркта	21,0 (14,0; 43,0)	9,0 (8,0; 18,0)	45,0 (12; 108,0)	249,0 (240,0; 505,0)	24,0 (17,0; 21,0)	p ₁₋₄ =0,003 p ₂₋₄ =0,003 p ₄₋₅ =0,003
CD206+ макрофаги в перинфарктной зоне	12,0 (10,5; 29,0)	19,0 (3,0; 51,0)	46,0 (45,0; 55,0)	36,0 (16,0; 37,0)	24,0 (17,0; 21,0)	p ₁₋₃ =0,04 p ₃₋₅ =0,04
CD206+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	15,0 (5,0; 36,0)	14,0 (4,0; 27,0)	7,0 (4,0; 13,0)	16,0 (14,0; 16,0)	24,0 (17,0; 21,0)	
Количество клеток в 20 полях зрения	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха					

В инфарктной зоне интенсивность CD206+ макрофагальной инфильтрации в течение воспалительной фазы (24–72 часа от начала ИМ) была ниже, чем в фазе регенерации (начиная с 4-го дня ИМ) и на более поздних сроках (рисунок 9). Количество CD206+ макрофагов в зоне инфаркта так же возросло в регенераторную фазу и продолжало увеличиваться на поздних сроках заболевания (p₁₋₄=0,003, p₂₋₄=0,003). В ранние сроки инфаркта содержание CD206+ макрофагов не отличалось от такового в группе контроля и становилось выше (p₄₋₅=0,003) только на поздних сроках инфаркта (11–28-е сутки). В перинфарктной зоне содержание CD206+ клеток оставалось неизменным в течение фазы воспаления, увеличивалось (p₁₋₃=0,04) в регенераторную фазу (с 4-го по 10-й день ИМ) и далее значимо не изменялось. В перинфарктной зоне количество CD206+ макрофагов не отличалось от группы контроля, как на ранних, так и на поздних сроках заболевания. В зоне, отдаленной от инфаркта, количество CD206+

макрофагов значительно не изменялось и также не отличалось от группы контроля, как на ранних, так и на поздних сроках заболевания.



Группа 1 – умершие в течение 24 часов от начала ИМ, группа 2 – умершие в течение 24–72 часов от начала ИМ, группа 3 – умершие с 4-го по 10-й день ИМ, группа 4 – умершие на 11–28-е сутки ИМ

Рисунок 9 – Динамика сердечных CD206+ макрофагов у пациентов с ИМ

Выявлена взаимосвязь количества CD68+, стабилин-1+, CD163+, CD206+ макрофагов и сроком ИМ, а именно основным трендом являлось увеличение количества макрофагов вместе с увеличением давности заболевания.

Количество макрофагов коррелировало со сроками ИМ следующим образом. Умеренная положительная связь была обнаружена в динамике CD68+ макрофагов в зоне инфаркта, в периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта (таблица 11, рисунки 10–12). Схожая взаимосвязь наблюдалась в динамике стабилин-1+ и CD163+ макрофагов: умеренная положительная связь была обнаружена в зоне инфаркта и в периинфарктной области (таблица 11, рисунки 13–18). Количество CD206+ макрофагов коррелировало со сроками ИМ лишь в зоне инфаркта (таблица 11, рисунки 19–21).

Таблица 11 – Результаты корреляционного анализа количества CD68+, стабилин-1+, CD163+, CD206+ макрофагов и срока ИМ

Пары переменных	R	p
CD68+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта	0,67	<0,001
CD68+ макрофаги/сутки от ИМ в периинфарктной зоне	0,55	<0,001
CD68+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне, отдаленной от инфаркта	0,36	0,02
Стабилин-1+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта	0,6	<0,001
Стабилин-1+ макрофаги/сутки от ИМ в периинфарктной зоне	0,42	<0,001
Стабилин-1+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне, отдаленной от инфаркта	0,26	0,1
CD163+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта	0,58	<0,001
CD163+ макрофаги/сутки от ИМ в периинфарктной зоне	0,58	<0,001
CD163+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне, отдаленной от инфаркта	0,23	0,27
CD206+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта	0,43	0,02
CD206+ макрофаги/сутки от ИМ в периинфарктной зоне	0,32	0,12
CD206+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне, отдаленной от инфаркта	-0,14	0,52

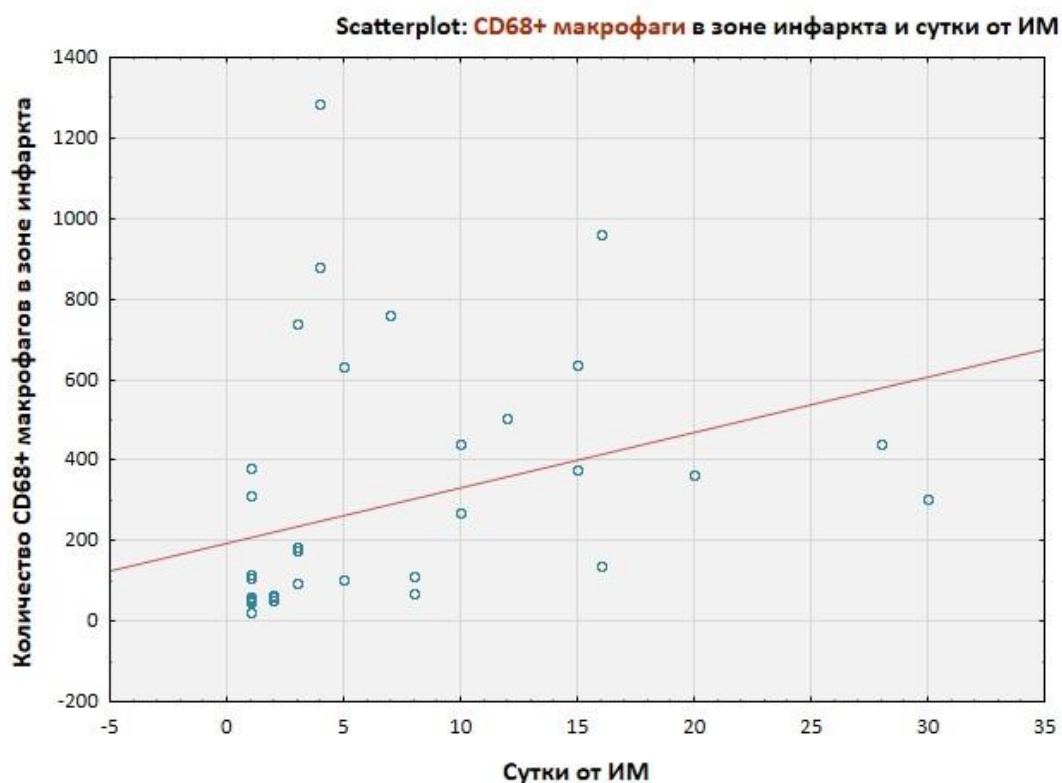


Рисунок 10 – CD68+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта

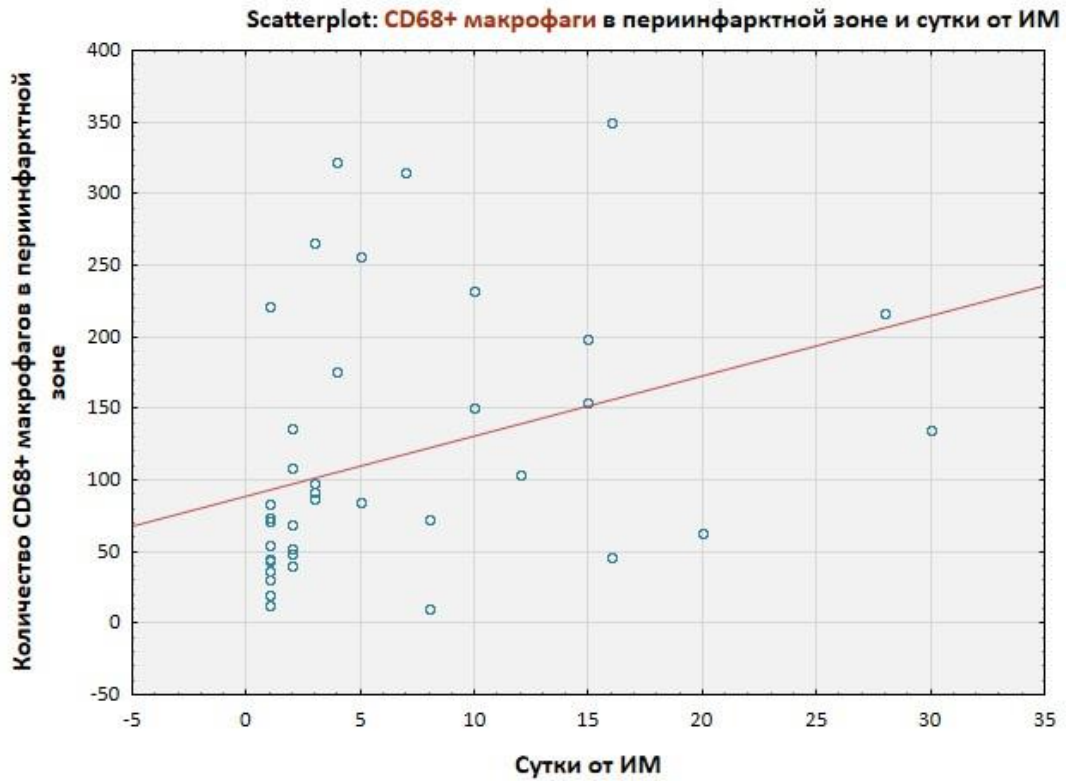


Рисунок 11 – CD68+ макрофаги/сутки от ИМ в периинфарктной зоне

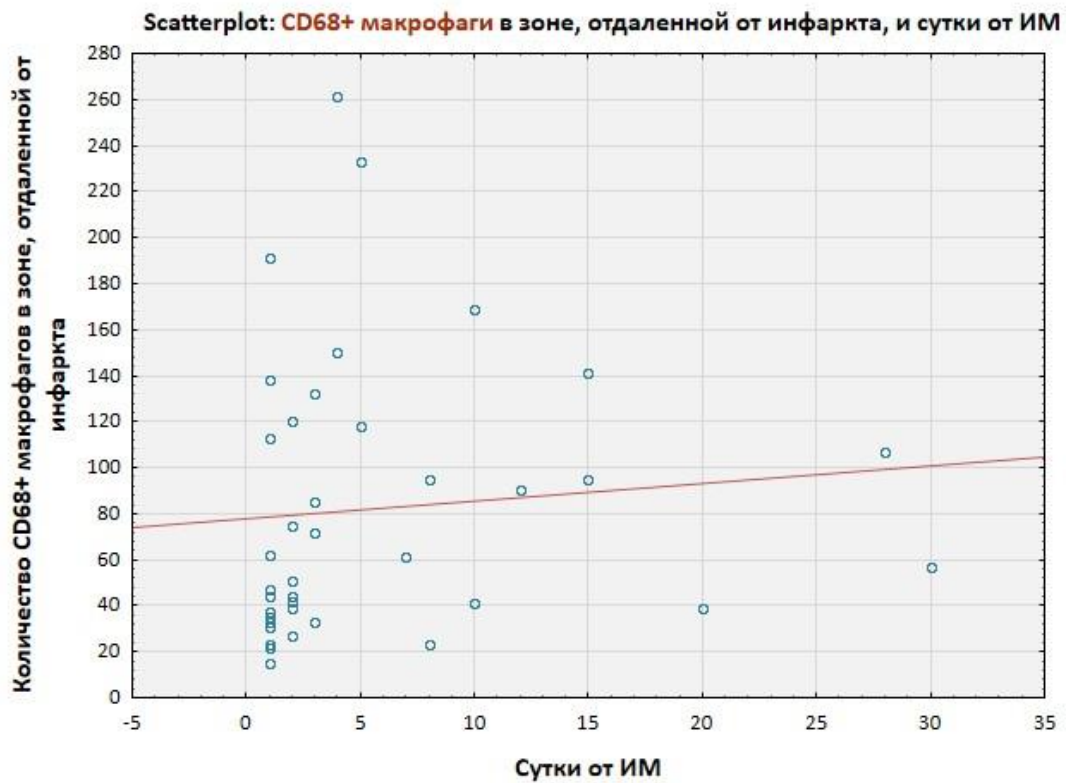


Рисунок 12 – CD68+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне, отдаленной от инфаркта

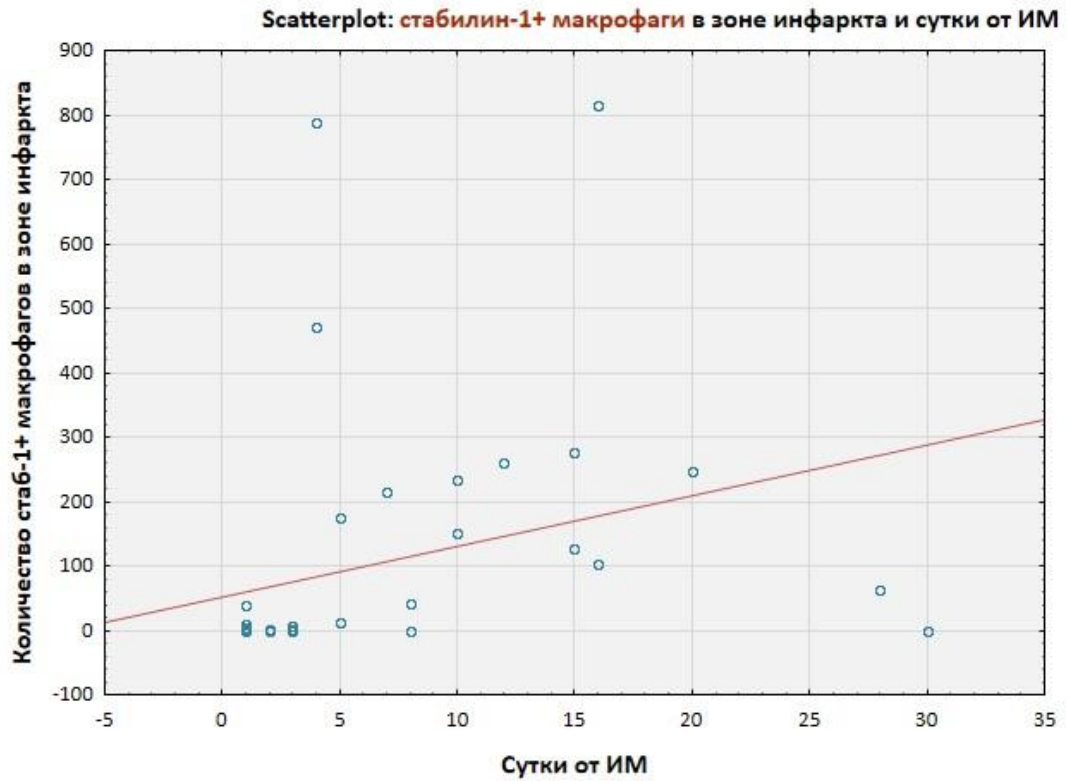


Рисунок 13 – Стабилин-1+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта

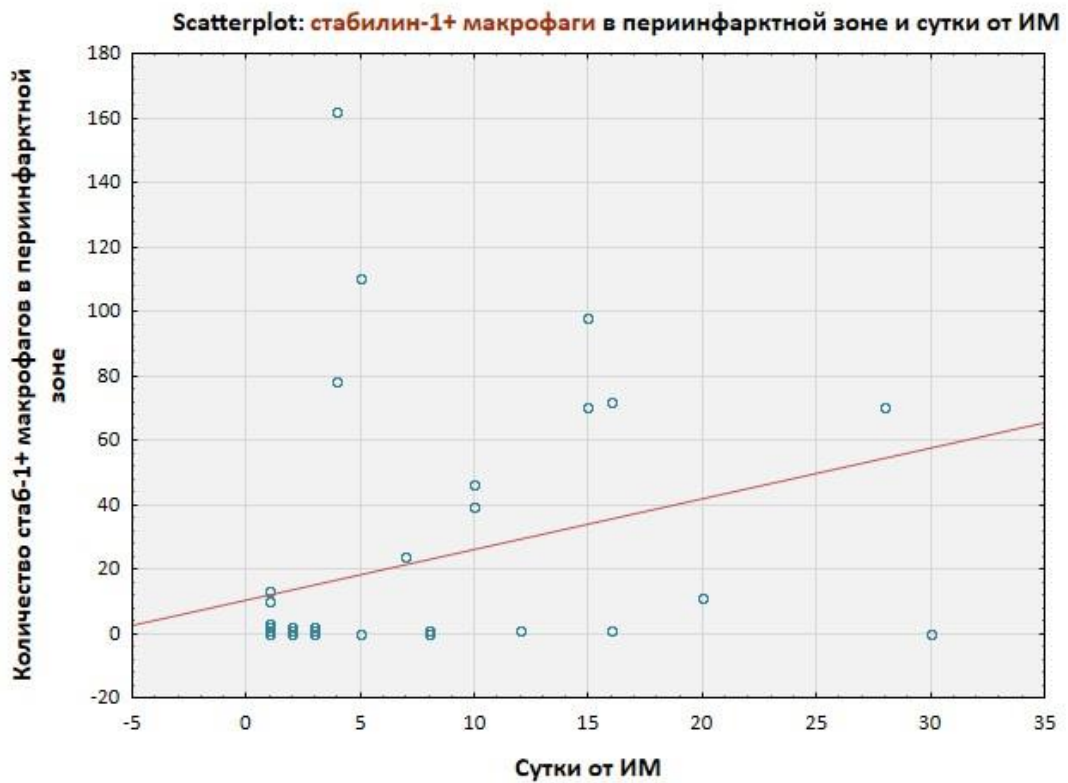


Рисунок 14 – Стабилин-1+ макрофаги/сутки от ИМ в периинфарктной зоне

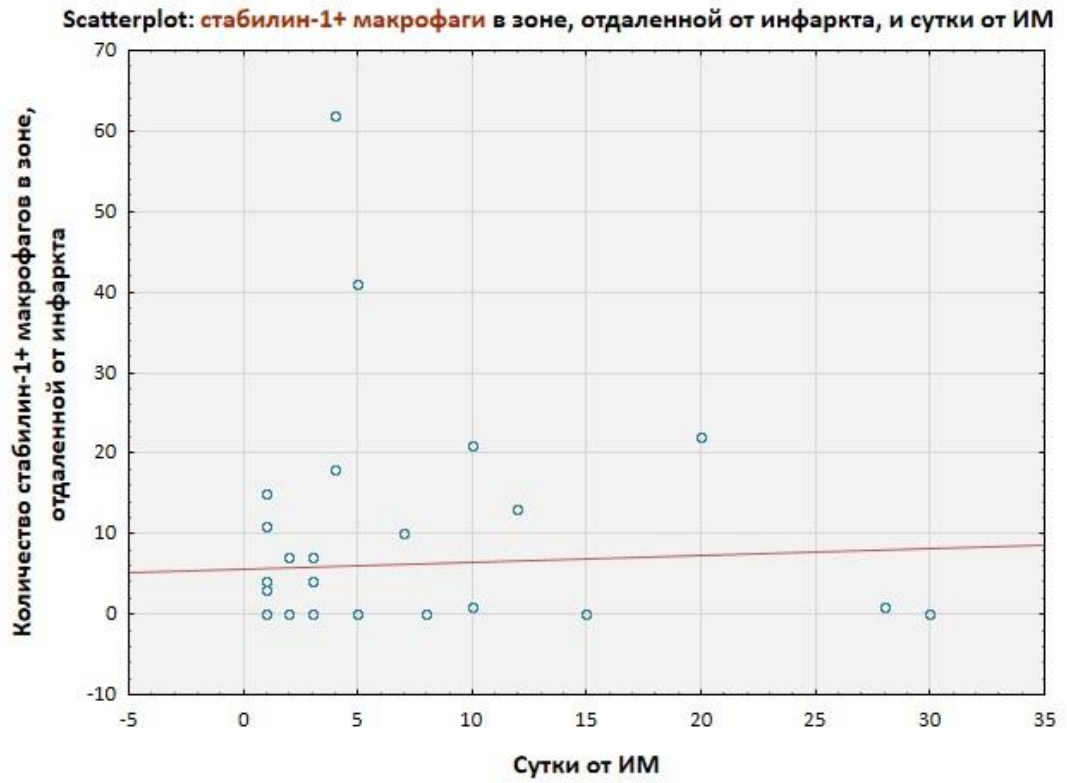


Рисунок 15 – Стабилин-1+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне, отдаленной от инфаркта

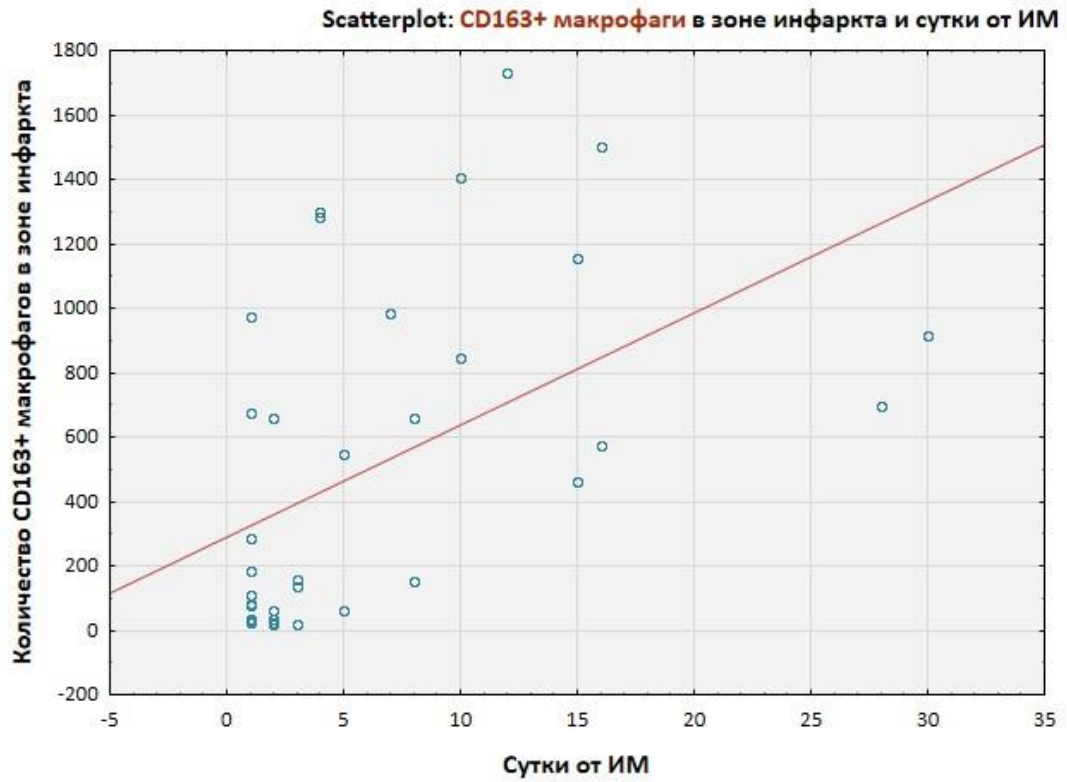


Рисунок 16 – CD163+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта

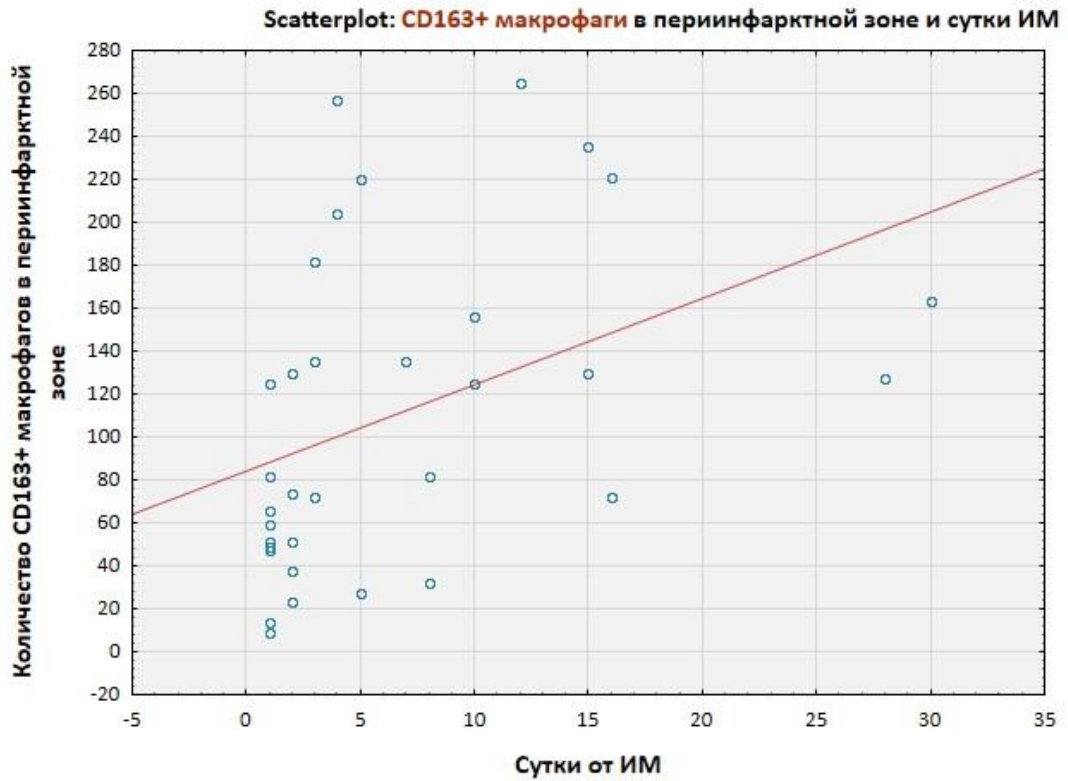


Рисунок 17 – CD163+ макрофаги/сутки от ИМ в периинфарктной зоне

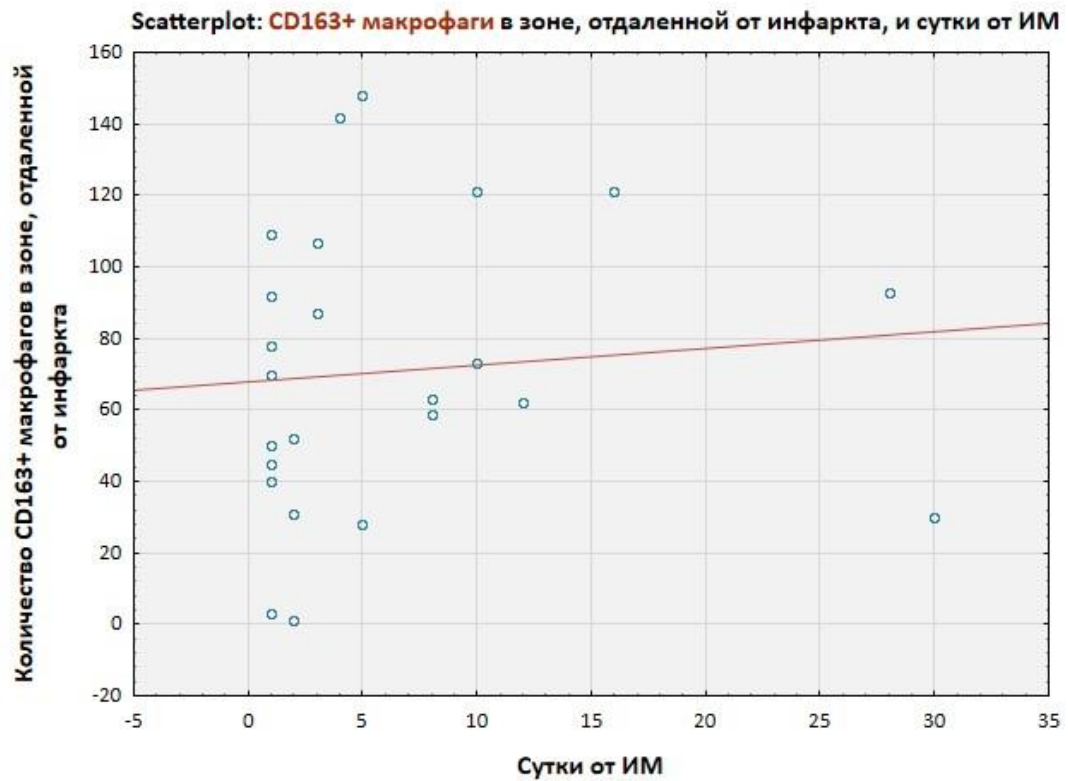


Рисунок 18 – CD163+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне, отдаленной от инфаркта

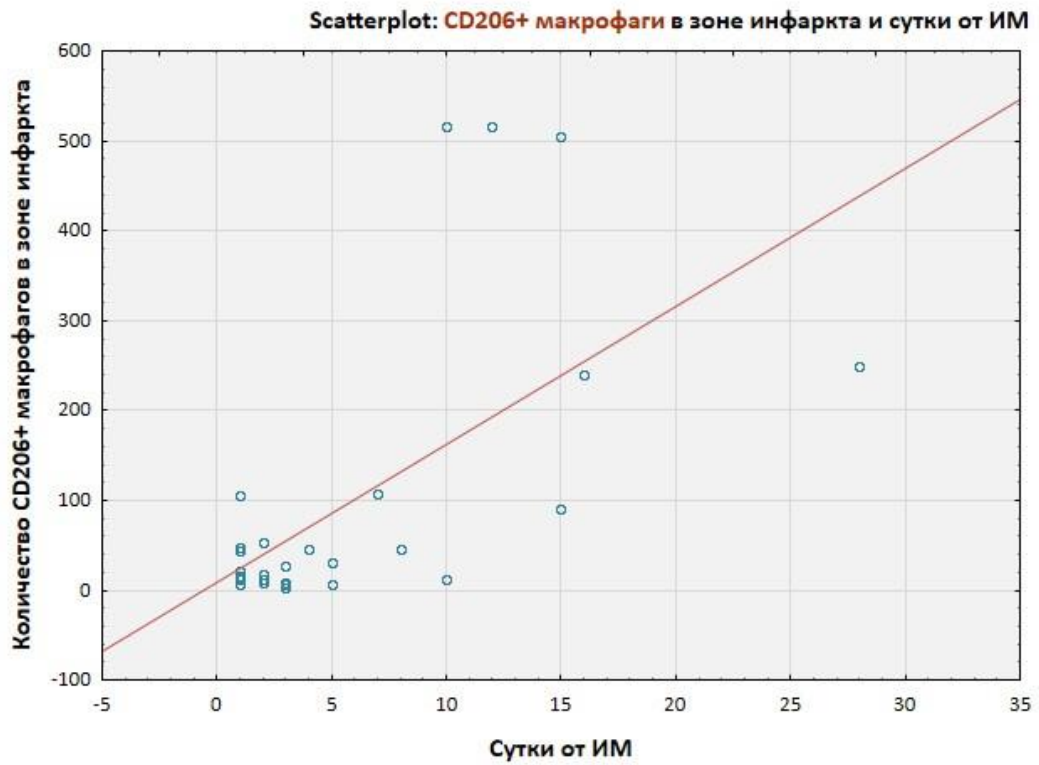
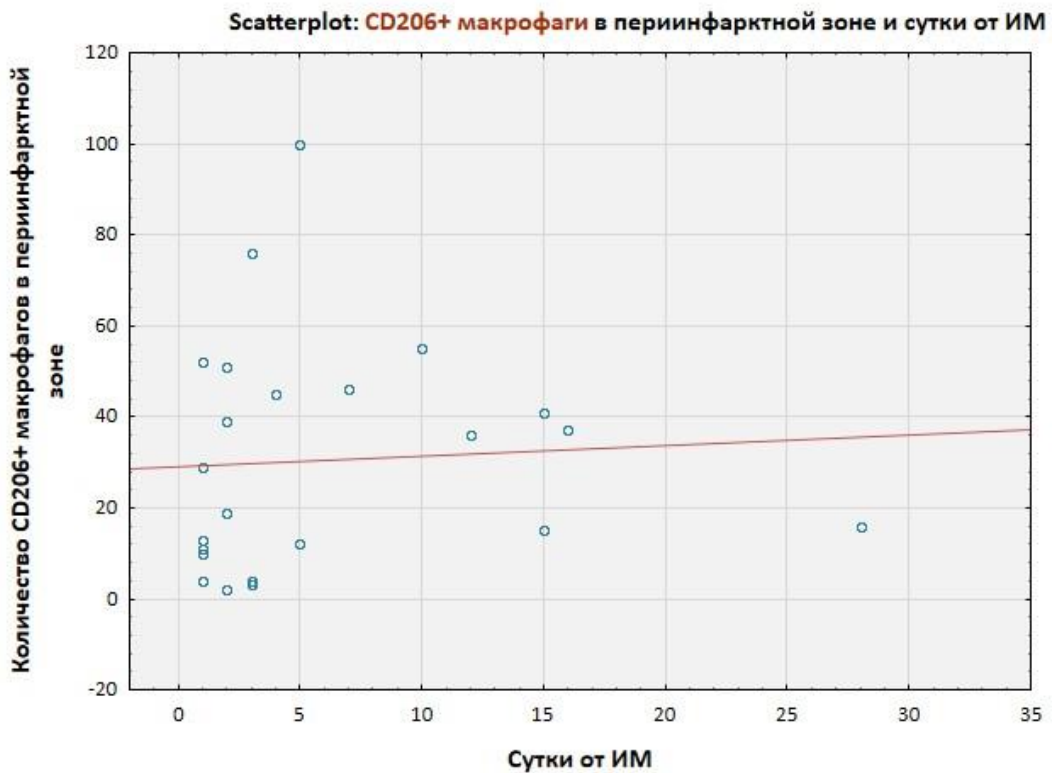


Рисунок 19 – CD206+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта



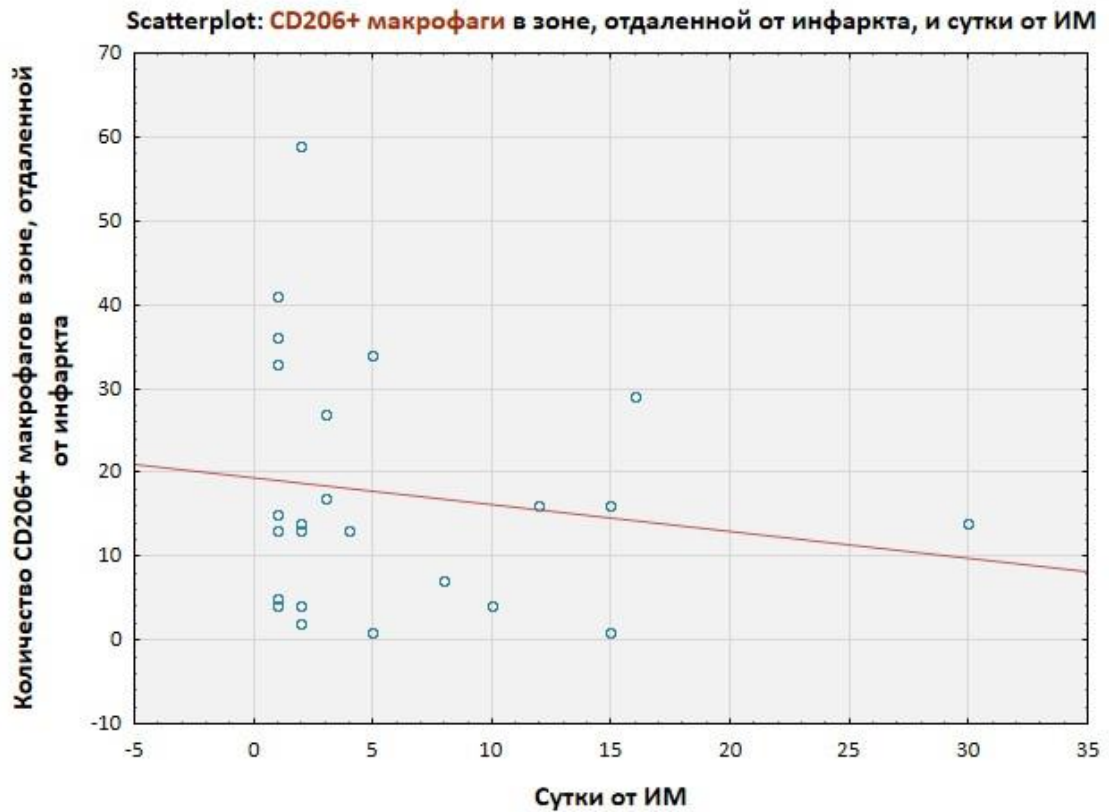


Рисунок 21 – CD206+ макрофаги/сутки от ИМ в зоне, отдаленной от инфаркта

Таким образом, у больных ИМ I типа сердечные макрофаги, помимо широко применяемых маркеров – CD68, CD163 и CD206, экспрессируют скавенджер-рецептор стабиллин-1. У пациентов с фатальным течением ИМ I типа с 1-х по 28-е сутки заболевания была отмечена инфильтрация макрофагами, экспрессирующими следующие маркеры: CD68, CD163, CD206, стабиллин-1. При этом в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, количество макрофагов, экспрессирующих скавенджер-рецепторы CD68, CD163 и стабиллин-1, увеличивается по мере продолжительности заболевания. Количество макрофагов, экспрессирующих скавенджер-рецептор CD206+ увеличивается по мере продолжительности заболевания только в зоне инфаркта.

В группе контроля, представляющей больных, погибших от травм, несовместимых с жизнью и не имеющих в анамнезе заболеваний сердечно-сосудистой системы, присутствуют сердечные CD68+, CD163+, CD206+ и стабиллин-1+ макрофаги. Ранняя макрофагальная реакция в ответ на острую ишемию миокарда характерна для сердечных CD68+ и CD163+ макрофагов,

содержание которых было выше уже в воспалительную фазу ИМ – первые 72 часа, чем в группе контроля. Стабилин-1 и CD206+ являются маркерами регенераторной фазы ИМ, о чем свидетельствует увеличение количества стабилин-1+ и CD206+ макрофагов сердца относительно группы контроля лишь на 4-е сутки ИМ и 10-е сутки ИМ, соответственно.

3.2 Интенсивность макрофагальной инфильтрации миокарда в зоне инфаркта, перинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта на ранних и поздних сроках заболевания

Результаты изучения интенсивности CD68+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, перинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, представлены в таблице 12 и на рисунке 22.

Анализ макрофагальной инфильтрации показал, что в фазу раннего воспаления (первые 24 часа от начала ИМ) количество CD68+ макрофагов было большим в зоне инфаркта (ЗИ), чем в перинфарктной зоне (ПЗ) ($p_{\text{зи-пз}}=0,002$), и зонах, отдаленных от инфаркта (ОЗ) ($p_{\text{зи-оз}}=0,016$). У пациентов, умерших в течение 24–72 часов, количество CD68+ макрофагов в разных зонах миокарда не отличалось. В фазу регенерации, с 4-го по 10-й день ИМ, отмечалось дальнейшее увеличение количества CD68+ клеток, при этом количество CD68+ макрофагов было большим в зоне инфаркта (ЗИ), чем в перинфарктной зоне (ПЗ) ($p_{\text{зи-пз}}=0,008$), и зонах, отдаленных от инфаркта (ОЗ) ($p_{\text{зи-оз}}=0,011$). На поздних сроках ИМ содержание CD68+ макрофагов в зоне инфаркта снижалось, но оставалось выше, чем в перинфарктной области ($p_{\text{зи-пз}}=0,01$) и отдаленных участках ($p_{\text{зи-оз}}=0,028$). При этом, на поздних сроках инфаркта, количество CD68+ клеток в перинфарктной зоне превышало их количество в участках, отдаленных от инфаркта ($p_{\text{пз-оз}}=0,028$). Как в воспалительную, так и в регенераторную фазу, содержание CD68+ макрофагов во всех зонах миокарда у больных инфарктом превышало содержание CD68+ клеток в группе контроля.

Таблица 12 – Интенсивность инфильтрации CD68+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта

Показатель		CD68+ макрофаги в зоне инфаркта	CD68+ макрофаги в периинфарктной зоне	CD68+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	Группа контроля	p
		Количество клеток в 20 полях зрения				
Воспалительная фаза	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	54,0 (50,0; 109,0)	44,0 (31,0; 71,0)	37,0 (31,0; 62,0)	17,0 (14,0; 24,0)	$P_{\text{зи-пз}}=0,002$ $P_{\text{зи-оз}}=0,016$ $P_{\text{зи-к}}=0,02$ $P_{\text{пз-к}}=0,03$ $P_{\text{оз-к}}=0,04$
	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	65,5 (59,0; 175,0)	87,0 (48,0; 109)	51,0 (39,0; 85,0)	17,0 (14,0; 24,0)	$P_{\text{зи-к}}=0,008$ $P_{\text{пз-к}}=0,008$ $P_{\text{оз-к}}=0,008$
Регенераторная фаза	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	441 (111; 761,0)	176 (85,0; 256,0)	118,0 (61,0; 169,0)	17,0 (14,0; 24,0)	$P_{\text{зи-пз}}=0,008$ $P_{\text{зи-оз}}=0,011$ $P_{\text{зи-к}}=0,008$ $P_{\text{пз-к}}=0,01$ $P_{\text{оз-к}}=0,01$
	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8	409,0 (334,5; 579,5)	144,5 (83,5; 207,0)	92,5 (57,0; 107,0)	17,0 (14,0; 24,0)	$P_{\text{зи-пз}}=0,01$ $P_{\text{зи-оз}}=0,028$ $P_{\text{пз-оз}}=0,028$ $P_{\text{зи-к}}=0,01$ $P_{\text{пз-к}}=0,01$ $P_{\text{оз-к}}=0,03$

Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха

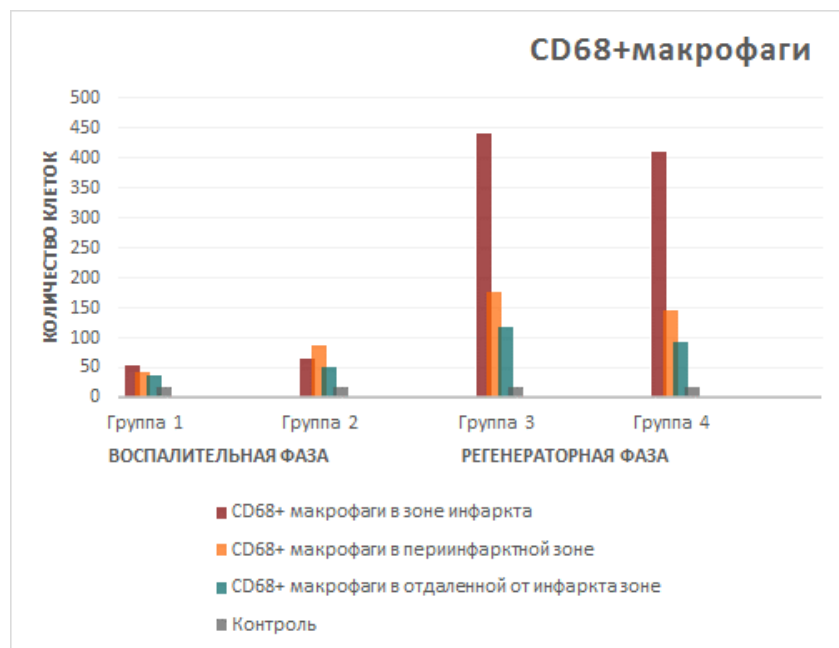


Рисунок 22 – Интенсивность инфильтрации CD68+ сердечных макрофагов сердечных макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, на разных сроках ИМ

Результаты изучения интенсивности стабилин-1+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, перинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, представлены в таблице 13 и на рисунке 23.

В течение воспалительной фазы (с 1-го по 4-й день ИМ) стабилин-1+ макрофаги в миокарде присутствовали в виде единичных клеток, и их содержание было меньшим, чем в группе контроля. Количество стабилин-1+ макрофагов увеличивалось в регенераторной фазе (с 4-го по 10-й день ИМ) и было значимо выше в инфарцированном миокарде, чем в перинфарктной ($p_{\text{зи-пз}}=0,011$), отдаленной от инфаркта зоне ($p_{\text{зи-оз}}=0,012$), а также становилось большим, чем в группе контроля ($p_{\text{зи-к}}=0,02$). При этом содержание стабилин-1+ клеток в перинфарктной области было выше, чем в отдаленных от инфаркта участках ($p_{\text{пз-оз}}=0,018$). На 11-28-ой день течения ИМ интенсивность стабилин-1+ макрофагальной инфильтрации в зоне инфаркта оставалась неизменной и была выше таковой в других зонах ($p_{\text{зи-пз}}=0,028$, $p_{\text{зи-оз}}=0,04$, $p_{\text{зи-к}}=0,02$). Одновременно с этим, на поздних сроках заболевания количество стабилин-1+ макрофагов в группе контроля превышало количество стабилин-1+ клеток в отдаленной от инфаркта зоне ($p_{\text{оз-к}}=0,03$).

Таблица 13 – Интенсивность инфильтрации стабилин-1+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, перинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта

Показатель		Стабилин-1+ макрофаги в зоне инфаркта	Стабилин-1+ макрофаги в перинфарктной зоне	Стабилин-1+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	Группа контроля	p
		Количество клеток в 20 полях зрения				
Воспалительная фаза	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	0,0 (0,0; 2,0)	0,0 (0,0; 2,0)	0,0 (0,0; 3,0)	18,0 (8,0; 30,0)	$p_{\text{зи-к}}=0,02$ $p_{\text{пз-к}}=0,02$ $p_{\text{оз-к}}=0,01$
	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	0,0 (0,0; 1,0)	0,0 (0,0; 1,0)	0,0 (0,0; 4,0)	18,0 (8,0; 30,0)	$p_{\text{зи-к}}=0,01$ $p_{\text{пз-к}}=0,01$ $p_{\text{оз-к}}=0,01$
Регенераторная фаза	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	174,0 (42,0; 233,0)	39,0 (1,0; 78,0)	10,0 (0,0; 21,0)	18,0 (8,0; 30,0)	$p_{\text{зи-пз}}=0,011$ $p_{\text{зи-оз}}=0,012$ $p_{\text{пз-оз}}=0,018$ $p_{\text{зи-к}}=0,02$

Окончание Таблицы 13

	Группа 4 (умершие на 11-28-е сутки), n=8	186,5 (82,0; 267,5)	40,5 (1,0; 71,0)	0,5 (0,0; 13,0)	18,0 (8,0; 30,0)	$p_{\text{зи-пз}}=0,028$ $p_{\text{зи-оз}}=0,043$ $p_{\text{зи-к}}=0,02$ $p_{\text{оз-к}}=0,03$
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха						

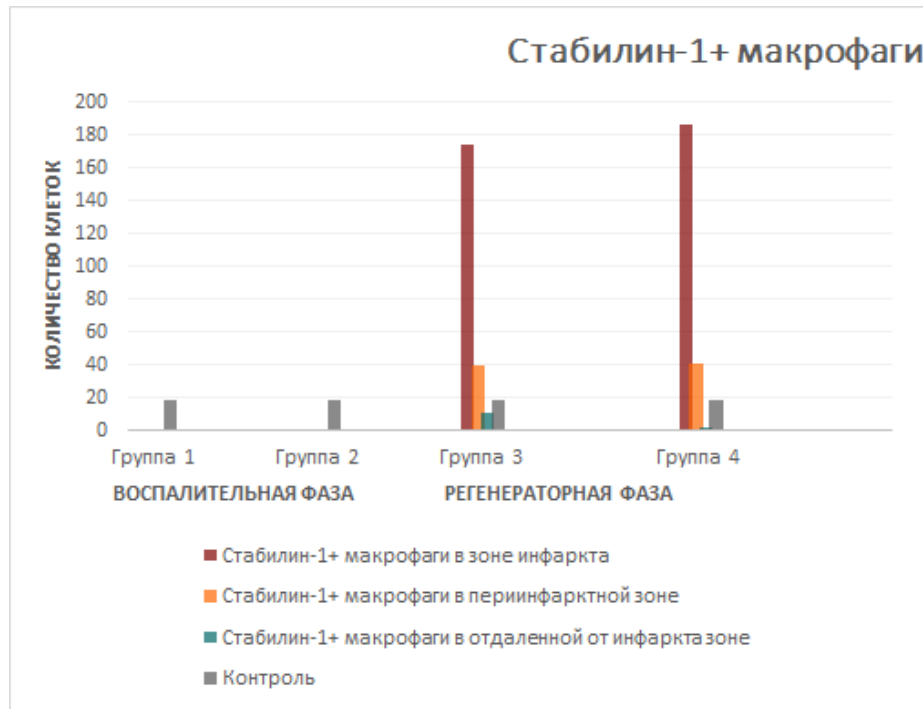


Рисунок 23 – Интенсивность инфильтрации стабилин-1+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, на разных сроках ИМ

Результаты изучения интенсивности CD163+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, представлены в таблице 14 и на рисунке 24.

В начале фазы воспаления (первые 24 часа) количество CD163+ макрофагов в зоне инфаркта и периинфарктной зоне превышало их количество в группе контроля ($p_{\text{зи-к}}=0,02$, $p_{\text{пз-к}}=0,05$), при этом в зоне инфаркта количество CD163+ клеток было большим, чем в зонах, отдаленных от инфаркта ($p_{\text{зи-оз}}=0,012$). В течение 24–72 часов наблюдалась схожая тенденция ($p_{\text{зи-к}}=0,03$, $p_{\text{пз-к}}=0,02$, $p_{\text{зи-оз}}=0,012$). Количество CD163+ макрофагов увеличивалось в регенераторной фазе (с 4-ого по 10-ый день ИМ) и было значимо выше в инфарцированном миокарде, чем в периинфарктной ($p_{\text{зи-пз}}=0,008$) и отдаленной от инфаркта зоне ($p_{\text{зи-оз}}=0,02$), а

в группе контроля содержание CD163+ клеток было ниже, чем у пациентов с ИМ ($p_{\text{зи-к}}=0,008$, $p_{\text{пз-к}}=0,01$, $p_{\text{оз-к}}=0,03$). На 11–28-й день течения ИМ интенсивность CD163+ макрофагальной инфильтрации в зоне инфаркта продолжала увеличиваться, и была выше таковой в периинфарктной зоне ($p_{\text{зи-пз}}=0,02$) и группе контроля ($p_{\text{зи-к}}=0,02$). На поздних сроках ИМ количество CD163+ макрофагов в периинфарктной зоне оставалось большим, чем в группе контроля ($p_{\text{пз-к}}=0,02$).

Таблица 14 – Интенсивность инфильтрации CD163+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта

Показатель		CD163+ макрофаги в зоне инфаркта	CD163+ макрофаги в периинфарктной зоне	CD163+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	Группа контроля	p
		Количество клеток в 20 полях зрения				
Воспалительная фаза	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	85,0 (34,0; 285,0)	51,0 (47,0; 66,0)	60,0 (42,5; 85,5)	32,0 (21,0; 36,0)	$p_{\text{зи-оз}}=0,012$ $p_{\text{зи-к}}=0,02$ $p_{\text{пз-к}}=0,05$
	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	49,5 (23,5; 145,0)	73,0 (44,5; 135,5)	52,0 (31,0; 87,0)	32,0 (21,0; 36,0)	$p_{\text{зи-оз}}=0,012$ $p_{\text{зи-к}}=0,03$ $p_{\text{пз-к}}=0,02$
Регенераторная фаза	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	846 (545,0; 1282,0)	135,0 (82,0; 204,0)	73,0 (59,0; 142,0)	32,0 (21,0; 36,0)	$p_{\text{зи-пз}}=0,008$ $p_{\text{зи-оз}}=0,02$ $p_{\text{зи-к}}=0,008$ $p_{\text{пз-к}}=0,01$ $p_{\text{оз-к}}=0,03$
	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8	916,0 (572,0; 1504,0)	163,0 (72,0; 265,0)	77,5 (46,0; 107,0)	32,0 (21,0; 36,0)	$p_{\text{зи-пз}}=0,02$ $p_{\text{зи-к}}=0,02$ $p_{\text{пз-к}}=0,02$
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха						

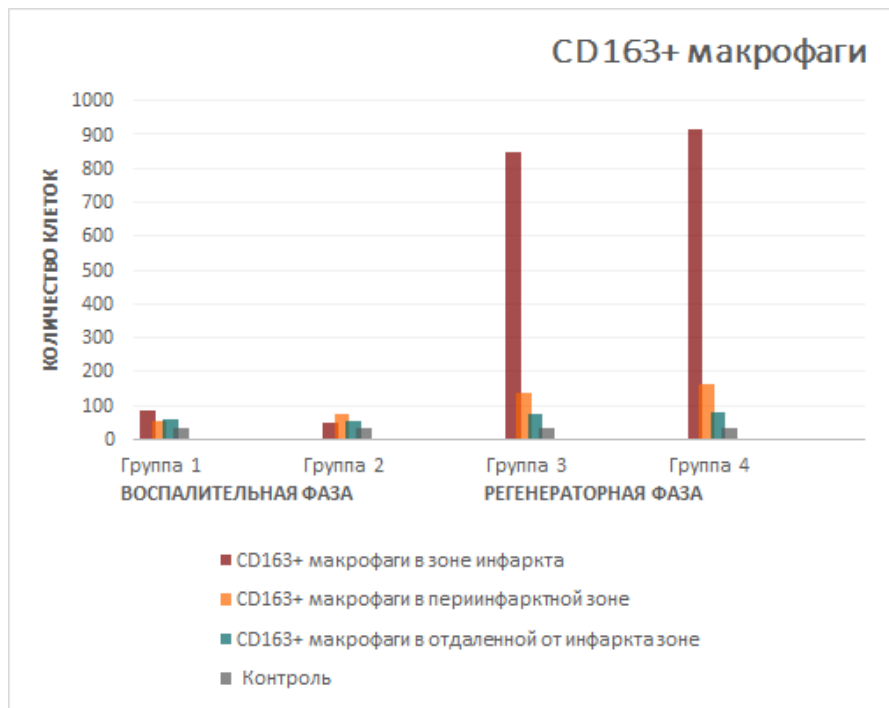


Рисунок 24 – Интенсивность инфильтрации CD163+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, на разных сроках ИМ

Результаты изучения интенсивности CD206+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, представлены в таблице 15 и на рисунке 25. Содержание CD206+ макрофагов в зоне инфаркта было высоким лишь в регенераторную фазу (на 11-28 сутки) и было большим такового в периинфарктной зоне ($p_{\text{зи-пз}}=0,04$) и группе контроля ($p_{\text{зи-к}}=0,04$).

Таблица 15 – Интенсивность инфильтрации CD206+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта

Показатель		CD206+ макрофаги в зоне инфаркта	CD206+ макрофаги в периинфарктной зоне	CD206+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	Группа контроля	p
		Количество клеток в 20 полях зрения				
Воспалительная фаза	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	21,0 (14,0; 43,0)	12,0 (10,5; 29,0)	15,0 (5,0; 36,0)	24,0 (17,0; 21,0)	$p_{\text{зи-пз}}=0,2$ $p_{\text{зи-к}}=0,1$ $p_{\text{зи-оз}}=0,2$
	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	9,0 (8,0; 18,0)	19,0 (3,0; 51,0)	14,0 (4,0; 27,0)	24,0 (17,0; 21,0)	$p_{\text{зи-пз}}=0,2$ $p_{\text{зи-к}}=0,7$ $p_{\text{зи-оз}}=0,7$
Рег-ая фаза	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	45,0 (12; 108,0)	46,0 (45,0; 55,0)	7,0 (4,0; 13,0)	24,0 (17,0; 21,0)	$p_{\text{зи-пз}}=0,7$ $p_{\text{зи-к}}=0,2$ $p_{\text{зи-оз}}=0,1$

Окончание Таблицы 15

	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8	249 (240,0; 505,0)	36 (16,0; 37,0)	16 (14,0; 16,0)	24,0 (17,0; 21,0)	$P_{\text{зи-пз}}=0,04$ $P_{\text{зи-к}}=0,04$ $P_{\text{зи-оз}}=0,03$
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха						

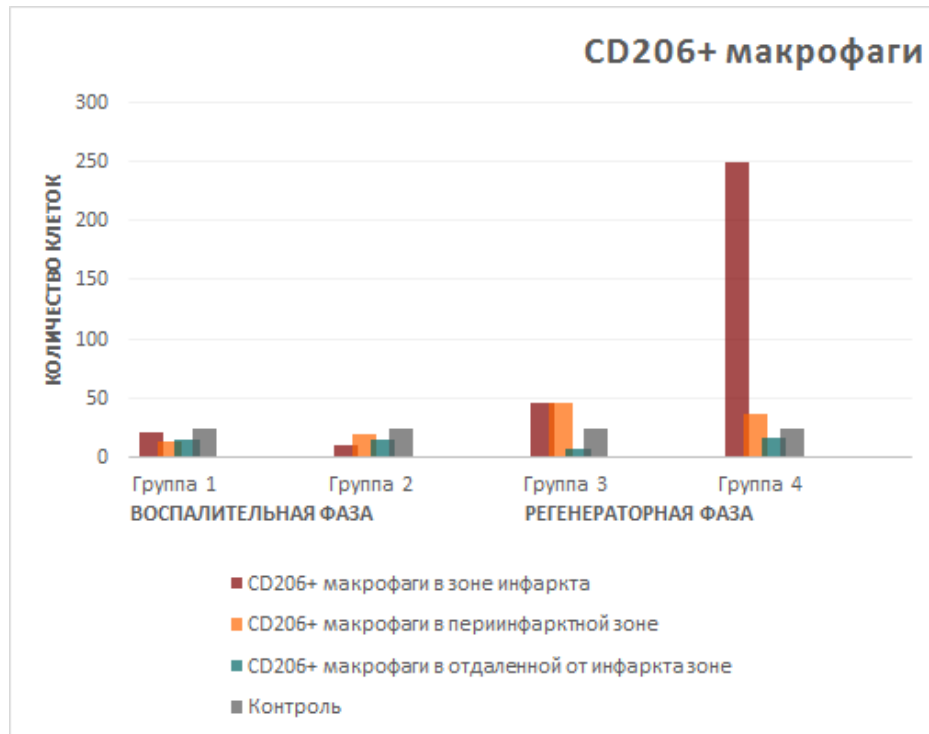


Рисунок 25 – Интенсивность инфильтрации CD206+ сердечных макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, на разных сроках ИМ

Таким образом, в ответ на острую ишемию вовлекается как зона инфаркта и периинфарктная зона, так и отдаленные от инфаркта участки миокарда. Интенсивность макрофагальной инфильтрации в различных участках миокарда изменяется в зависимости от сроков заболевания.

3.3 Фенотипическая характеристика макрофагальной инфильтрации миокарда в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта

Анализ фенотипической гетерогенности макрофагальной инфильтрации показал (таблица 16, рисунок 26), что с 1-го по 28-й день ИМ в зоне инфаркта

отмечались различия в количестве CD68+, стабиллин-1+, CD163+ и CD206+ макрофагов (от $p < 0,001$ до $p = 0,004$). При попарном сравнении было установлено, что в течение первых 24 часов ИМ количество CD68+ и CD163+ макрофагов было существенно большим, чем количество стабиллин-1+ макрофагов ($p_{68-ст1} < 0,001$, $p_{ст1-163} < 0,001$). В течение 24–72 часов заболевания количество CD68+ макрофагов превышало количество стабиллин-1+ и CD206+ макрофагов ($p_{68-ст1} < 0,001$, $p_{68-206} < 0,001$), а количество CD163+ макрофагов превышало количество стабиллин-1+ макрофагов ($p_{ст1-163} < 0,001$). С 4-го по 10-й день заболевания количество CD163+ макрофагов было большим, чем количество CD206+ макрофагов ($p_{163-206} = 0,006$). С 11-х по 28-е сутки ИМ содержание CD163+ макрофагов превышало содержание стабиллин-1+ макрофагов ($p_{ст1-163} = 0,002$).

Таблица 16 – Фенотипическая характеристика макрофагов в зоне инфаркта

Показатель		CD68+	Стабиллин-1+	CD163+	CD206+	p
		макрофаги в зоне инфаркта	макрофаги в зоне инфаркта	макрофаги в зоне инфаркта	макрофаги в зоне инфаркта	
<i>Количество клеток в 20 полях зрения</i>						
Воспалительная фаза	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	54,0 (50,0; 109,0)	0,0 (0,0; 2,0)	85,0 (34,0; 285,0)	21,0 (14,0; 43,0)	$p < 0,001$ $p_{68-ст1} < 0,001$ $p_{ст1-163} < 0,001$
	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	65,5 (59,0; 175,0)	0,0 (0,0; 1,0)	49,5 (23,5; 145,0)	9,0 (8,0; 18,0)	$p < 0,001$ $p_{68-ст1} < 0,001$ $p_{ст1-163} < 0,001$ $p_{68-206} < 0,001$
Регенераторная фаза	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	441 (111; 761,0)	174,0 (42,0; 233,0)	846 (545,0; 1282,0)	45,0 (12; 108,0)	$p = 0,004$ $p_{163-206} = 0,006$
	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8	409,0 (334,5; 579,5)	186,5 (82,0; 267,5)	916,0 (572,0; 1504,0)	249 (240,0; 505,0)	$p = 0,003$ $p_{ст1-163} = 0,002$
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха						

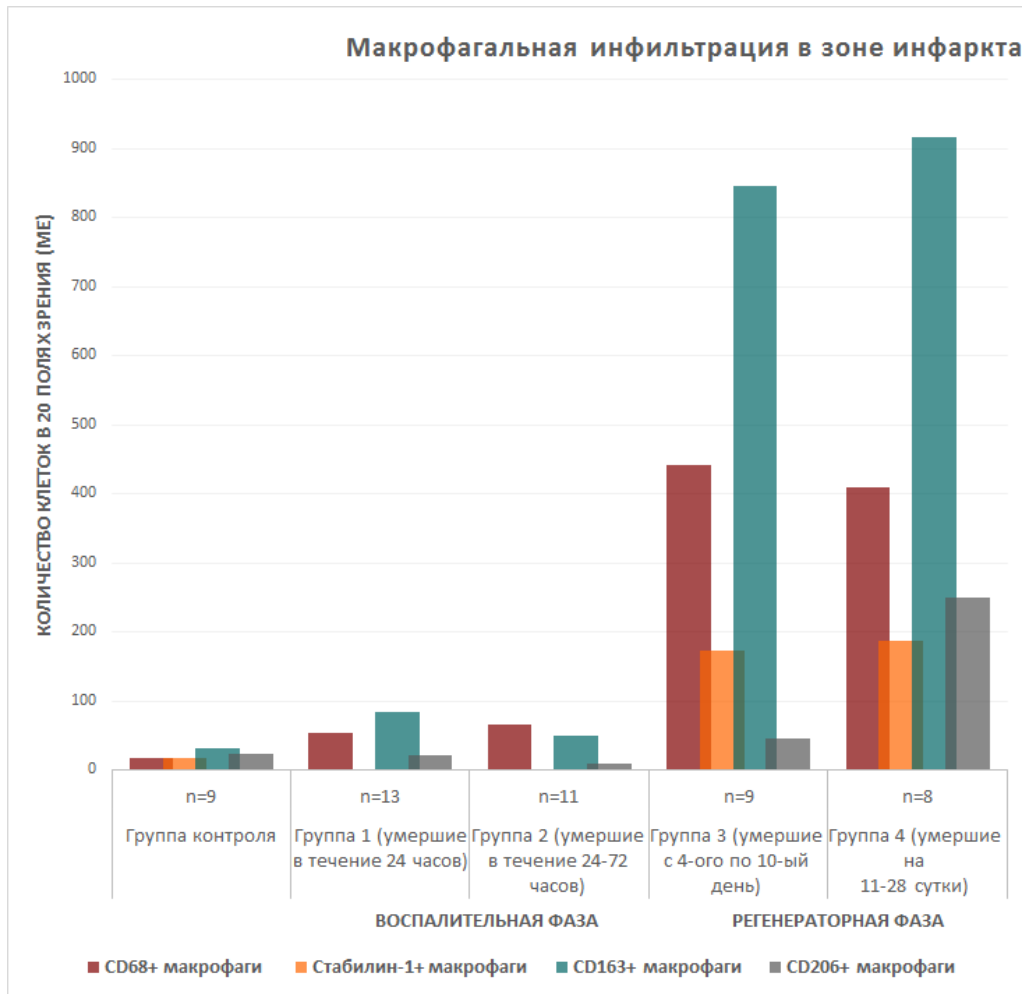


Рисунок 26 – Фенотипическая характеристика макрофагов в зоне инфаркта

С 1-го по 28-й день ИМ статистически значимые различия (от $p < 0,001$ до $p = 0,02$) в макрофагальной инфильтрации сохранялись и в периинфарктной зоне (таблица 17, рисунок 27). При попарном сравнении было установлено, что в течение первых 24 часов ИМ количество CD68+ и CD163+ макрофагов было существенно большим, чем количество стабиллин-1+ макрофагов ($p_{68-ст1} < 0,001$, $p_{ст1-163} < 0,001$). В течение 24–72 часов заболевания количество CD68+ и CD163+ макрофагов превышало количество стабиллин-1+ макрофагов ($p_{68-ст1} < 0,001$, $p_{ст1-163} < 0,001$). С 4-го по 10-й день заболевания количество CD68+ макрофагов было большим, чем количество стабиллин-1+ макрофагов ($p_{68-ст1} = 0,03$). С 11-х по 28-е сутки ИМ содержание CD68+ и CD163+ макрофагов было существенно большим, чем количество стабиллин-1+ макрофагов ($p_{68-ст1} = 0,04$, $p_{ст1-163} = 0,009$).

Таблица 17 – Фенотипическая характеристика макрофагов в перинфарктной зоне

Показатель		CD68+ макрофаги в перинфарктной зоне	Стабилин-1+ макрофаги в перинфарктной зоне	CD163+ макрофаги в перинфарктной зоне	CD206+ макрофаги в перинфарктной зоне	p
		Количество клеток в 20 полях зрения				
Воспалительная фаза	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	44,0 (31,0; 71,0)	0,0 (0,0; 2,0)	51,0 (47,0; 66,0)	12,0 (10,5; 29,0)	p<0,001 p _{68-ct1} <0,001 p _{ct1-163} <0,001
	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	87,0 (48,0;109)	0,0 (0,0; 1,0)	73,0 (44,5; 135,5)	19,0 (3,0; 51,0)	p<0,001 p _{68-ct1} <0,001 p _{ct1-163} <0,001
Регенераторная фаза	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	176 (85,0; 256,0)	39,0 (1,0; 78,0)	135,0 (82,0; 204,0)	46,0 (45,0; 55,0)	p=0,02 p _{68-ct1} =0,03
	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8	144,5 (83,5; 207,0)	40,5 (1,0; 71,0)	163,0 (72,0; 265,0)	36 (16,0; 37,0)	p=0,002 p _{68-ct1} =0,04 p _{ct1-163} =0,009

Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха

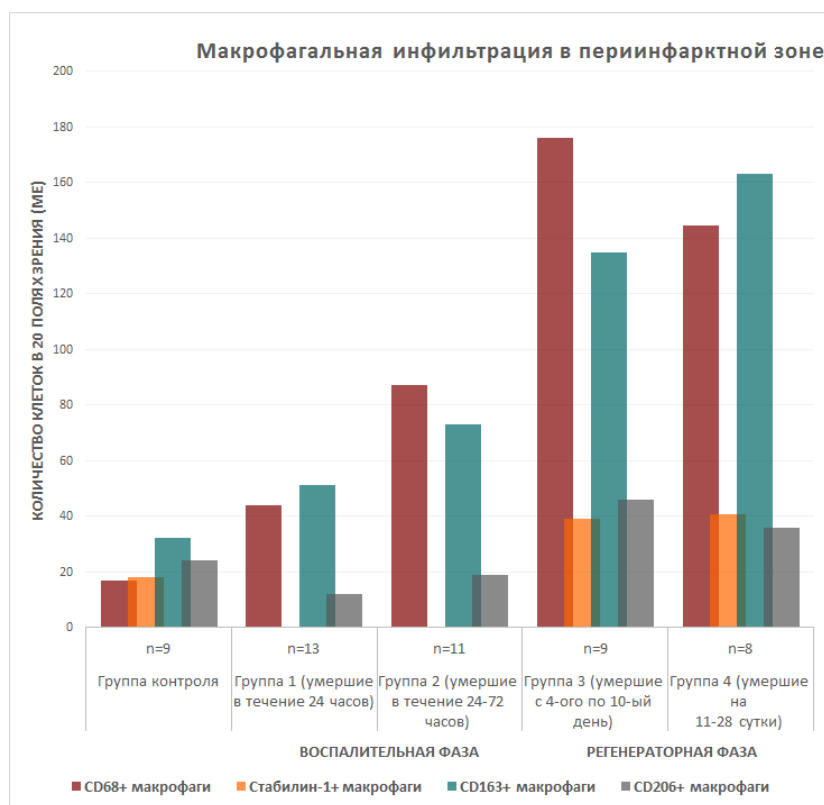


Рисунок 27 – Фенотипическая характеристика макрофагов в перинфарктной зоне

Анализ фенотипической гетерогенности макрофагальной инфильтрации В отдаленной от инфаркта зоне показал (таблица 18, рисунок 28), что с 1-го по 28-й день ИМ в зоне инфаркта также имеются различия в количестве CD68+, стабиллин-1+, CD163+ и CD206+ макрофагов ($p < 0,001$). При попарном сравнении было установлено, что в течение первых 3 суток ИМ (группа 1 и 2) количество CD68+ и CD163+ макрофагов было существенно большим, чем количество стабиллин-1+ макрофагов (от $p < 0,001$ до $p = 0,01$). С 4-го по 10-й день заболевания количество CD68+ макрофагов было большим, чем количество стабиллин-1+ ($p_{68-ст1} = 0,003$) и CD206+ макрофагов ($p_{68-206} = 0,02$). С 11-х по 28-е сутки ИМ содержание CD68+ и CD163+ макрофагов было существенно большим, чем содержание стабиллин-1+ макрофагов ($p_{68-ст1} = 0,003$, $p_{ст1-163} = 0,02$).

Таблица 18 – Фенотипическая характеристика макрофагов в отдаленной от инфаркта зоне

Показатель		CD68+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	Стабиллин-1+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	CD163+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	CD206+ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	p
		Количество клеток в 20 полях зрения				
Воспалительная фаза	Группа 1 (умершие в течение 24 часов), n=13	37,0 (31,0; 62,0)	0,0 (0,0; 3,0)	60,0 (42,5; 85,5)	15,0 (5,0; 36,0)	$p < 0,001$ $p_{68-ст1} < 0,001$ $p_{ст1-163} < 0,001$
	Группа 2 (умершие в течение 24–72 часов), n=11	51,0 (39,0; 85,0)	0,0 (0,0; 4,0)	52,0 (31,0; 87,0)	14,0 (4,0; 27,0)	$p < 0,001$ $p_{68-ст1} < 0,001$ $p_{ст1-163} = 0,01$
Регенераторная фаза	Группа 3 (умершие с 4-го по 10-й день), n=9	118,0 (61,0; 169,0)	10,0 (0,0; 21,0)	73,0 (59,0; 142,0)	7,0 (4,0; 13,0)	$p < 0,001$ $p_{68-ст1} = 0,003$ $p_{ст1-163} = 0,03$ $p_{68-206} = 0,02$
	Группа 4 (умершие на 11–28-е сутки), n=8	92,5 (57,0; 107,0)	0,5 (0,0; 13,0)	77,5 (46,0; 107,0)	16 (14,0; 16,0)	$p < 0,001$ $p_{68-ст1} = 0,003$ $p_{ст1-163} = 0,02$
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха						

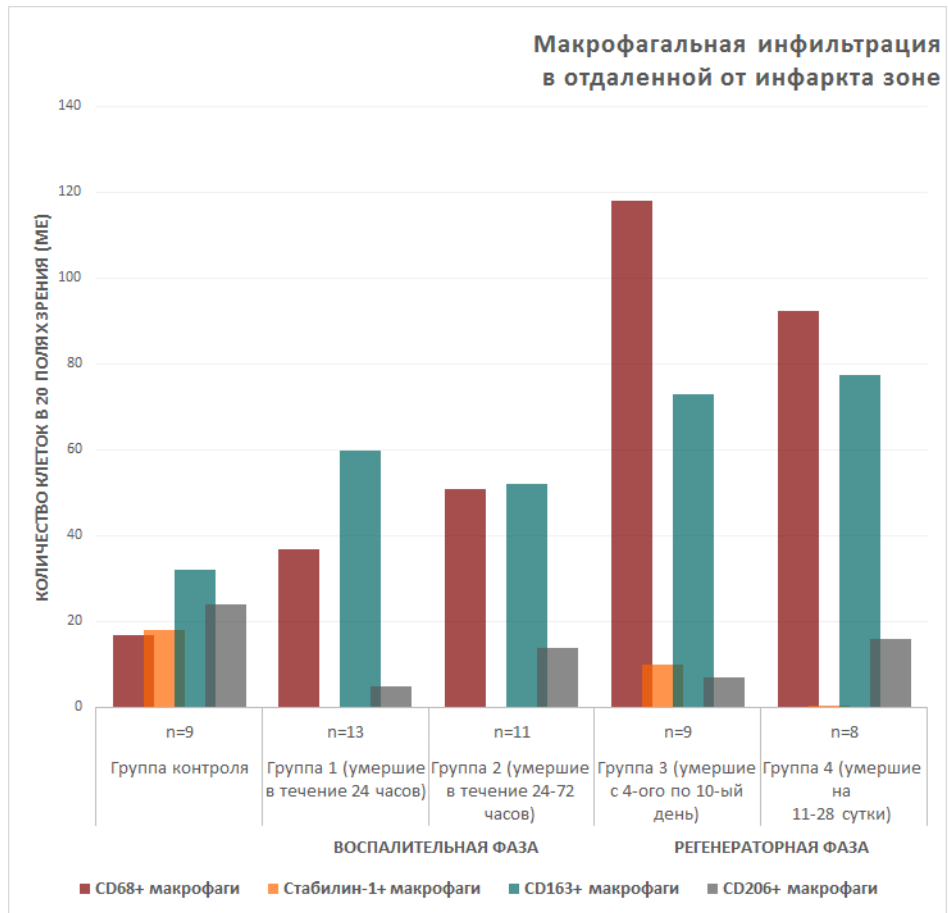


Рисунок 28 – Фенотипическая характеристика макрофагов в зоне, отдаленной от инфаркта

У больных ИМ I типа сердечные макрофаги представляют собой фенотипически гетерогенную популяцию клеток. В зависимости от сроков ИМ, наряду с изменением количества макрофагов, меняется и профиль экспрессии их рецепторов. Изменения количества и фенотипического профиля сердечных макрофагов на ранних и поздних сроках ИМ затрагивают зону инфаркта, периинфарктную зону и зону, отдаленную от инфаркта.

3.4 Фенотипическая гетерогенность сердечных макрофагов у больных инфарктом миокарда

Для изучения фенотипической гетерогенности сердечных макрофагов в тканях сердечной мышцы больных ИМ выполнено иммунофлюоресцентное двойное окрашивание.

При иммунофлюоресцентном исследовании срезов миокарда как в инфарктной, так и в неинфарктной зоне мы выявили следующие субпопуляции макрофагов: CD163⁺/CD206⁻, CD206⁺/CD163⁻, CD163⁺/CD206⁺, стабиллин-1⁺/α-SMA⁻. Также мы выявили миофибробластоподобные клетки с фенотипом стабиллин-1⁺/α-SMA⁺.

3.4.1 CD163⁺/CD206⁻, CD206⁺/CD163⁻, CD163⁺/CD206⁺ макрофаги у пациентов с ИМ в ранние и поздние сроки инфаркта

Результаты иммунофлюоресцентного анализа с определением маркеров сердечных макрофагов CD163 и CD206 у пациентов с ИМ представлены в таблице 19 и таблице 20. В зоне инфаркта количество CD163⁺/CD206⁻ и количество CD163⁺/CD206⁺ увеличивалось на 4-28-е сутки ИМ – в 4 и 8 раз, соответственно, в то время как количество CD206⁺/CD163⁻ статистически значимо не изменялось (рисунок 29).

Таблица 19 – Иммунофлюоресцентный анализ CD163⁺/CD206⁻, CD206⁺/CD163⁻, CD163⁺/CD206⁺ макрофагов у пациентов с ИМ в зоне инфаркта

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза	P
	Группа 1, n=24 (умершие в течение первых 72 ч)	Группа 2, n=17 (умершие на 4-28 сутки)	
CD163 ⁺ /CD206 ⁻ макрофаги в зоне инфаркта	22,0 (8,0; 60,0)	83,0 (20,0; 138,0)	0,034
CD206 ⁺ /CD163 ⁻ макрофаги в зоне инфаркта	30,0 (21,0; 76,0)	56,0 (28,0; 91,0)	0,34
CD163 ⁺ /CD206 ⁺ макрофаги в зоне инфаркта	12,0 (7,0; 34,0)	94,0 (42,0; 146,0)	<0,001
Количество клеток в 20 полях зрения	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха		

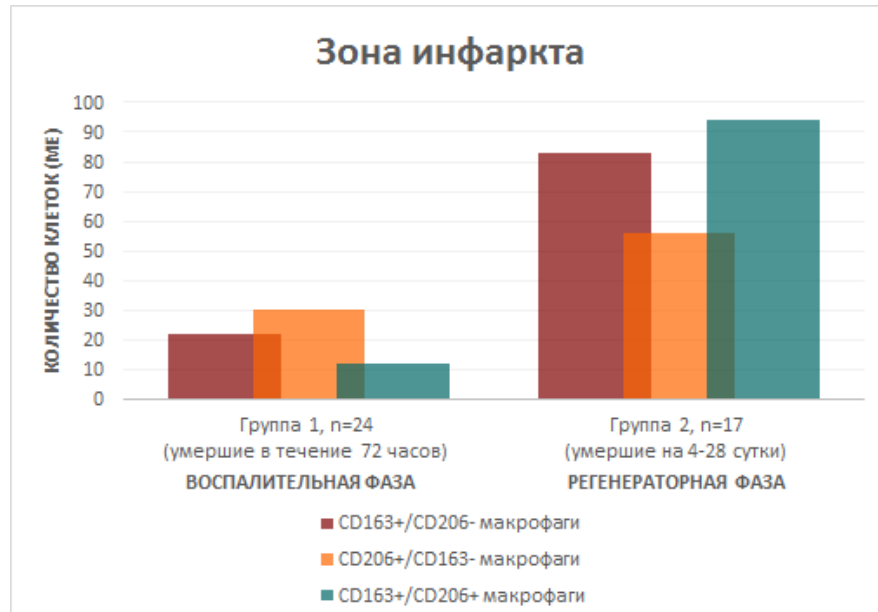


Рисунок 29 – Фенотипическая гетерогенность M2 макрофагов в зоне инфаркта

В отдаленной от инфаркта зоне наблюдалась сходная тенденция. Количество $CD163^+/CD206^-$ и количество $CD163^+/CD206^+$ увеличивалось на 4–28-ые сутки ИМ в 2 раза, а количество $CD206^+/CD163^-$ не изменялось (рисунок 30).

Таблица 20 – Иммунофлюоресцентный анализ $CD163^+/CD206^-$, $CD206^+/CD163^-$, $CD163^+/CD206^+$ макрофагов у пациентов с ИМ в отдаленной от инфаркта зоне

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза	p
	Группа 1, n=24 (умершие в течение первых 72 ч)	Группа 2, n=17 (умершие на 4–28 сутки)	
CD163⁺/CD206⁻ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	12,0 (6,0; 24,0)	23,0 (10,0; 34,0)	0,09
CD206⁺/CD163⁻ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	24,0 (12,0; 32,0)	26,0 (16,0; 48,0)	0,2
CD163⁺/CD206⁺ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	8,0 (2,0; 24,0)	14,0 (4,0; 44,0)	0,07
<i>Количество клеток в 20 полях зрения</i>	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха		

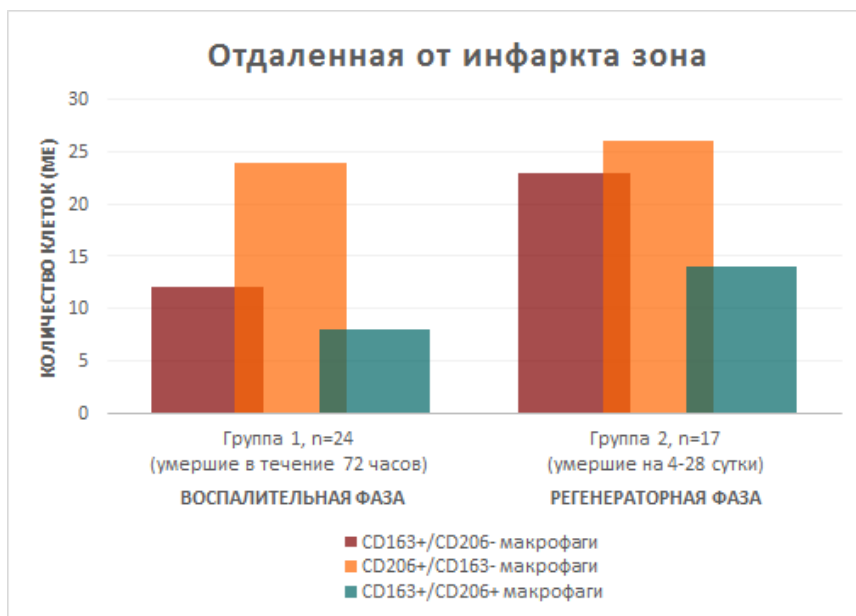


Рисунок 30 – Фенотипическая гетерогенность M2 макрофагов в отдаленной от инфаркта зоне

Как в зоне инфаркта, так и в отдаленной от инфаркта зоне выявлена взаимосвязь общего количества исследуемых макрофагов и срока ИМ, а именно увеличение количества макрофагов вместе с увеличением давности заболевания (таблица 21). Также умеренная положительная связь была обнаружена в динамике субпопуляции $CD163^+/CD206^+$ макрофагов в зоне инфаркта и субпопуляции $CD163^+/CD206^-$ макрофагов в отдаленной от инфаркта зоне (таблица 21, рисунок 31-32).

Таблица 21 – Результаты корреляционного анализа количества $CD163^+/CD206^-$, $CD206^+/CD163^-$, $CD163^+/CD206^+$ макрофагов и срока ИМ

Пары переменных	R	p
$CD163^+/CD206^-$ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта	0,23	0,2
$CD206^+/CD163^-$ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта	0,24	0,16
$CD163^+/CD206^+$ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта	0,6	<0,001
<hr/>		
$CD163^+/CD206^-$ макрофаги/сутки от ИМ в отдаленной от инфаркта зоне	0,34	0,03
$CD206^+/CD163^-$ макрофаги/сутки от ИМ в отдаленной от инфаркта зоне	0,25	0,12
$CD163^+/CD206^+$ макрофаги/сутки от ИМ в отдаленной от инфаркта зоне	0,15	0,36

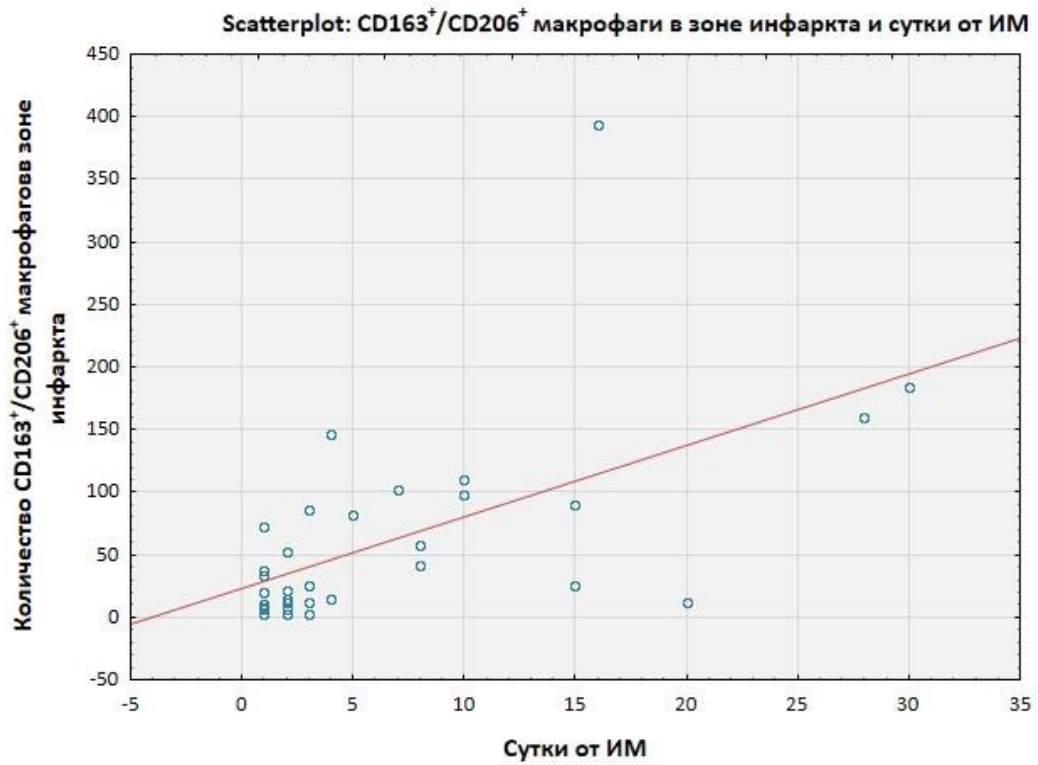


Рисунок 31 – CD163⁺/CD206⁺ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта

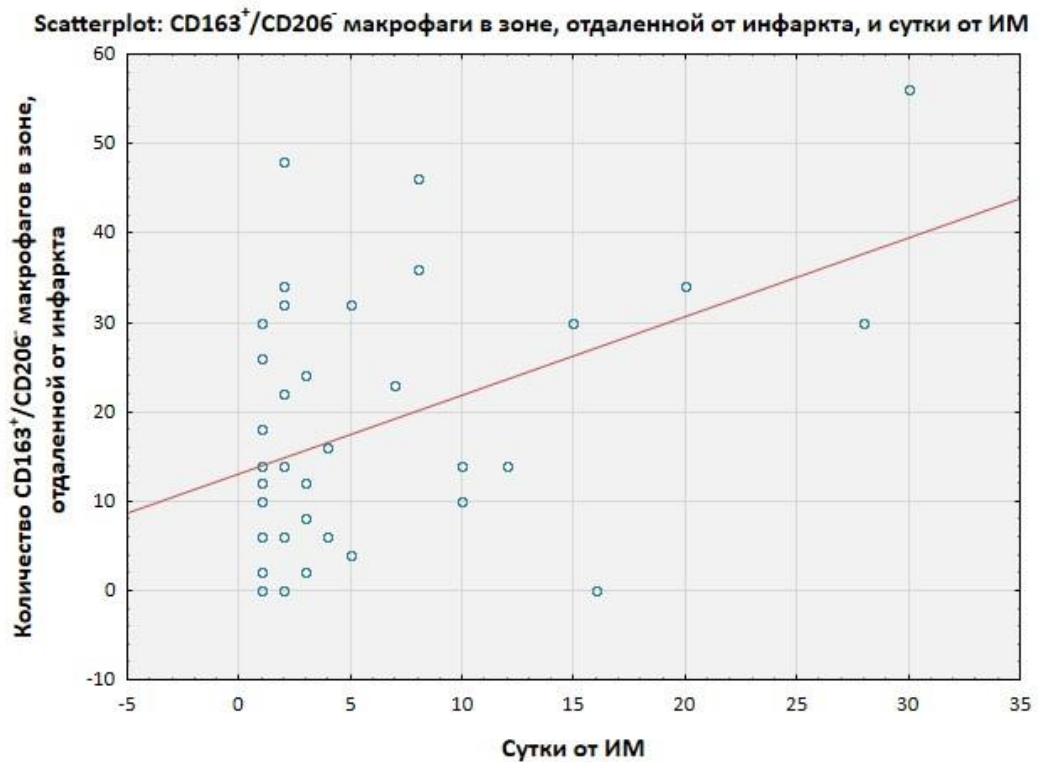


Рисунок 32 – CD163⁺/CD206⁻ макрофаги/сутки от ИМ в зоне, отдаленной от инфаркта

При исследовании субпопуляций макрофагов в инфарктной и зоне, отдаленной от инфаркта (таблица 22), было выявлено, что уже в фазу воспаления (в первые 72 часа ИМ) содержание CD163⁺/CD206⁻ (рисунок 33) и CD206⁺/CD163⁻ (рисунок 34) макрофагов в инфарктной зоне было выше, чем в неинфарктной области. В регенераторную фазу (на 4-28 сутки) количество CD206⁺/CD163⁺ макрофагов было выше количества таковой субпопуляции в зоне, отдаленной от инфаркта (рисунок 35). Также отмечалась тенденция к большему содержанию CD163⁺/CD206⁻ макрофагов в зоне инфаркта, чем в неинфарктной области. При этом, в фазу воспаления (в первые 72 часа ИМ) наиболее многочисленную субпопуляцию в зоне, отдаленной от инфаркта, представляли CD206⁺/CD163⁻ макрофаги по сравнению с CD163⁺/CD206⁻ и CD163⁺/CD206⁺ клетками (таблица 23).

Таблица 22 – CD163⁺/CD206⁻, CD206⁺/CD163⁻ и CD206⁺/CD163⁺ макрофаги в зоне инфаркта и зоне, отдаленной от инфаркта

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза
	Группа 1 (умершие в течение первых 72 часов)	Группа 2 (умершие на 4-28 сутки)
<i>Количество клеток в 20 полях зрения</i>	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха	
CD163⁺/CD206⁻ макрофаги в зоне инфаркта	22,0 (8,0; 60,0)	83,0 (20,0; 138,0)
CD163⁺/CD206⁻ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта	12,0 (6,0; 24,0)	23,0 (10,0; 34,0)
р	0,01	0,05
CD206⁺/CD163⁻ макрофаги в зоне инфаркта	30,0 (21,0; 76,0)	56,0 (28,0; 91,0)
CD206⁺/CD163⁻ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта	24,0 (12,0; 32,0)	26,0 (16,0; 48,0)
р	0,008	0,1
CD163⁺/CD206⁺ макрофаги в зоне инфаркта	12,0 (7,0; 34,0)	94,0 (42,0; 146,0)
CD163⁺/CD206⁺ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта	8,0 (2,0; 24,0)	14,0 (4,0; 44,0)
р	0,1	0,01

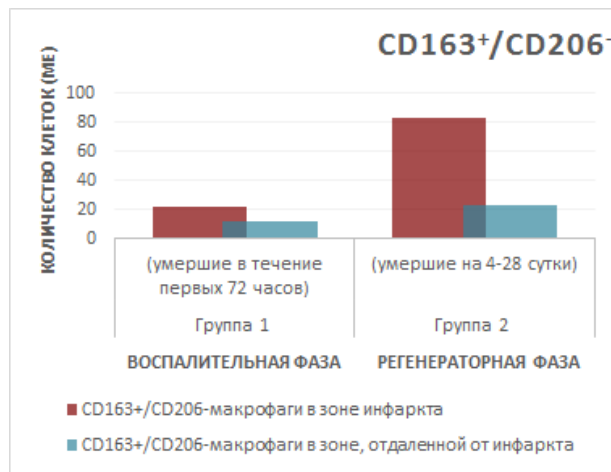


Рисунок 33 – CD163⁺/CD206⁻ макрофаги в инфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта

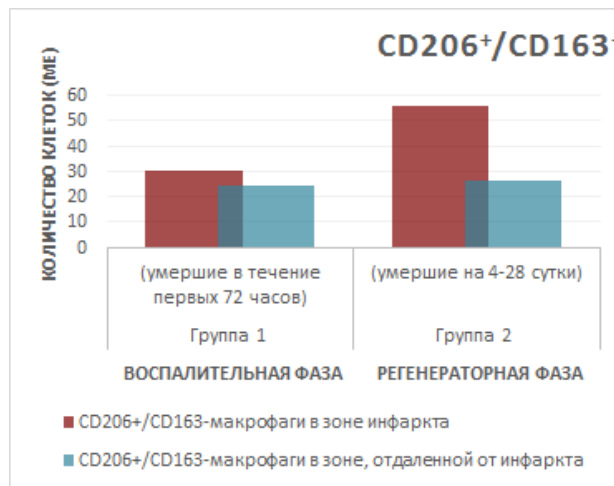


Рисунок 34 – CD206⁺/CD163⁻ макрофаги в инфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта

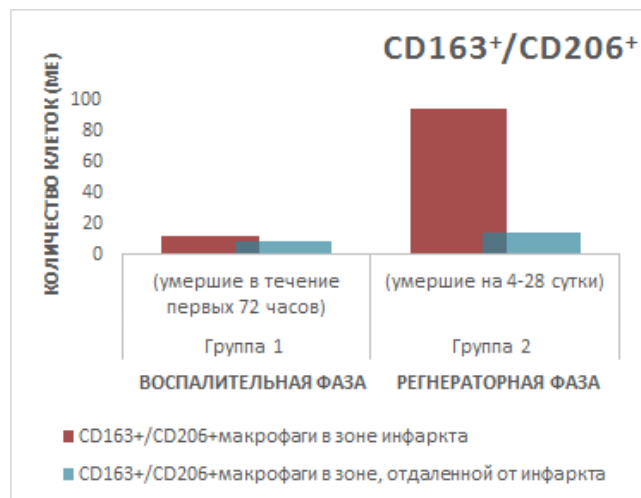


Рисунок 35 – CD163⁺/CD206⁺ макрофаги в инфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта

Таблица 23 – Фенотипическая гетерогенность макрофагов в зоне инфаркта и зоне, отдаленной от инфаркта

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза
	Группа 1 (умершие в течение первых 72 часов)	Группа 2 (умершие на 4-28 сутки)
<i>Количество клеток в 20 полях зрения</i>	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха	
CD163⁺/CD206⁻ макрофаги в зоне инфаркта	22,0 (8,0; 60,0)	83,0 (20,0; 138,0)
CD206⁺/CD163⁻ макрофаги в зоне инфаркта	30,0 (21,0; 76,0)	56,0 (28,0; 91,0)
CD163⁺/CD206⁺ макрофаги в зоне инфаркта	12,0 (7,0; 34,0)	94,0 (42,0; 146,0)
p	0,08	0,94
CD163⁺/CD206⁻ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта	12,0 (6,0; 24,0)	23,0 (10,0; 34,0)
CD206⁺/CD163⁻ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта	24,0 (12,0; 32,0)	26,0 (16,0; 48,0)
CD163⁺/CD206⁺ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта	8,0 (2,0; 24,0)	14,0 (4,0; 44,0)
p	0,008	0,29

3.4.2 Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофаги и стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клетки у пациентов с ИМ в ранние и поздние сроки инфаркта

Результаты иммунофлюоресцентного анализа с определением маркеров сердечных макрофагов стабилина-1 и α-SMA у пациентов с ИМ представлены в таблице 24 и таблице 25. В зоне инфаркта количество стабилин-1⁺/α-SMA⁻ на 4-

28-е сутки ИМ увеличивалось в 3 раза, в то время как количество стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток статистически значимо не изменялось (таблица 24, рисунок 36).

Таблица 24 – Иммунофлюоресцентный анализ стабилин-1⁺/α-SMA⁻ и стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток у пациентов с ИМ в зоне инфаркта

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза	p
	Группа 1, n=24 (умершие в течение первых 72 ч)	Группа 2, n=17 (умершие на 4-28 сутки)	
Стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁻ макрофаги в зоне инфаркта	30,0 (12,0; 54,0)	103,0 (24,0; 290,0)	0,03
Стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁺ клетки в зоне инфаркта	4,0 (0,0; 6,0)	4,0 (0,0; 22,0)	0,64
Количество клеток в 20 полях зрения	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха		



Рис. 36 – Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ и стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клетки в зоне инфаркта

В отдаленной от инфаркта зоне количество макрофагов исследуемых субпопуляций на ранних (первые 72 часа) и поздних сроках инфаркта (4-28-е сутки) не изменялось (таблица 25).

Таблица 25 – Иммунофлюоресцентный анализ стабилин-1⁺/α-SMA⁻ и стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток у пациентов с ИМ в отдаленной от инфаркта зоне

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза	p
	Группа 1, n=24 (умершие в течение первых 72 ч)	Группа 2, n=17 (умершие на 4–28 сутки)	
Стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁻ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне	21,0 (18,0; 32,0)	26,0 (20,0; 51,0)	0,42
Стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁺ клетки в отдаленной от инфаркта зоне	1,0 (0,0; 4,0)	2,0 (1,0; 9,0)	0,37
Количество клеток в 20 полях зрения	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха		

В зоне инфаркта выявлена взаимосвязь общего количества исследуемых макрофагов и срока ИМ, а именно увеличение количества макрофагов вместе с увеличением давности заболевания (таблица 26). Также отмечалась тенденция к наличию слабой положительной связи между количеством стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофагов и сроком ИМ в отдаленной от инфаркта зоне (таблица 26).

Таблица 26 – Результаты корреляционного анализа количества стабилин-1⁺/α-SMA⁻ и стабилин-1⁺/α-SMA⁺ макрофагов и срока ИМ

Пары переменных	R	p
Стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁻ макрофаги/сутки от ИМ в зоне инфаркта	0,3	0,1
Стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁺ макрофаги /сутки от ИМ в зоне инфаркта	0,08	0,7
Стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁻ макрофаги/сутки от ИМ в отдаленной от инфаркта зоне	0,1	0,5
Стабилин-1 ⁺ /α-SMA ⁺ макрофаги /сутки от ИМ в отдаленной от инфаркта зоне	0,1	0,3

При сравнении количества стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофагов в инфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта (таблица 27), было выявлено, что их содержание статистически значимо не отличается как на ранних (в первые 72 часа ИМ), так и на поздних (на 4-28 сутки) сроках ИМ. Тем не менее, в регенераторную фазу ИМ отмечалась тенденция к большему содержанию стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофагов в зоне инфаркта по сравнению с неинфарктной

областью (таблица 27, рисунок 37). Аналогичные результаты получены и при исследовании стабилин-1⁺/α-SMA⁺ макрофагов в зоне инфаркта и зоне, отдаленной от инфаркта (таблица 27).

Таблица 27 – Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ и стабилин-1⁺/α-SMA⁺ макрофаги в зоне инфаркта и зоне, отдаленной от инфаркта

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза
	Группа 1 (умершие в течение первых 72 часов)	Группа 2 (умершие на 4–28 сутки)
<i>Количество клеток в 20 полях зрения</i>	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха	
Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофаги в зоне инфаркта	30,0 (12,0; 54,0)	103,0 (24,0; 290,0)
Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта	21,0 (18,0; 32,0)	26,0 (20,0; 51,0)
p	0,67	0,09
Стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клетки в зоне инфаркта	4,0 (0,0; 6,0)	4,0 (0,0; 22,0)
Стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клетки в зоне, отдаленной от инфаркта	1,0 (0,0; 4,0)	2,0 (1,0; 9,0)
p	0,14	0,2

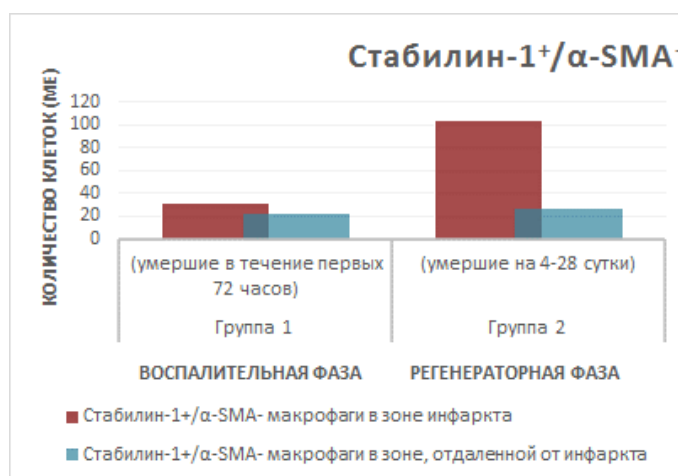


Рисунок 37 – Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофаги в инфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта

Наиболее многочисленную популяцию на ранних (первые 72 часа ИМ) и поздних (4-28-е сутки) сроках инфаркта представляли стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофаги, как в зоне инфаркта, так и в зоне, отдаленной от инфаркта (таблица 28, рисунки 38-39).

Таблица 28 – Фенотипическая гетерогенность клеток в зоне инфаркта и зоне, отдаленной от инфаркта

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза
	Группа 1 (умершие в течение первых 72 часов)	Группа 2 (умершие на 4-28 сутки)
<i>Количество клеток в 20 полях зрения</i>	Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха	
Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофаги в зоне инфаркта	30,0 (12,0; 54,0)	103,0 (24,0; 290,0)
Стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клетки в зоне инфаркта	4,0 (0,0; 6,0)	4,0 (0,0; 22,0)
р	0,004	0,04
Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта	21,0 (18,0; 32,0)	26,0 (20,0; 51,0)
Стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клетки в зоне, отдаленной от инфаркта	1,0 (0,0; 4,0)	2,0 (1,0; 9,0)
р	<0,001	0,005



Рисунок 38 – Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ и стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клетки в зоне инфарктаРисунок 39 – Стабилин-1⁺/α-SMA⁻ и стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клетки в отдаленной от инфаркта зоне

Иммунофлюоресцентный анализ также продемонстрировал, что макрофаги в миокарде больных ИМ I типа представляют собой фенотипически гетерогенную популяцию клеток, изменяющих свой экспрессионный профиль в течение заболевания. Также иммунофлюоресцентный анализ позволили выявить клетку с фенотипом стабилин-1⁺/α-SMA⁺, что косвенно свидетельствует о пластичности стабилин-1⁺ макрофагов и возможности их трансдифференцировки в миофибробласты.

3.5 Взаимосвязь субпопуляций сердечных макрофагов и клинико-анамнестических и патоморфологических характеристик больных фатальным ИМ I типа на ранних и поздних сроках заболевания

3.5.1 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов, ассоциированные с фиброзом в интактном миокарде у больных ИМ

По результатам корреляционного анализа (таблица 29) выявлена умеренная отрицательная связь между выраженностью фиброза в зоне, отдаленной от инфаркта (интактном миокарде) и количеством стабилин-1⁺ макрофагов в зоне инфаркта и периинфарктной зоне у пациентов, умерших в ранние сроки инфаркта

(в первые 72 часа ИМ). На поздних сроках ИМ (4-28-е сутки ИМ) имела место сильная положительная связь между выраженностью фиброза в интактном миокарде и содержанием стабилин-1⁺/α-SMA⁻ макрофагов в зоне инфаркта.

Таблица 29 – Взаимосвязь количества сердечных макрофагов и выраженности фиброза в интактном миокарде

Пары переменных		R	p
Воспалительная фаза (первые 72 часа ИМ)			
Стабилин-1+ макрофаги в зоне инфаркта	Выраженность фиброза в миокарде	-0,54	0,009
Стабилин-1+ макрофаги в периинфарктной зоне	Выраженность фиброза в миокарде	-0,46	0,03

У больных ИМ, умерших в воспалительную фазу заболевания, наличие интерстициального фиброза в интактном миокарде ассоциировалось с отсутствием стабилин-1+ макрофагов в соответствующей области. У больных ИМ, умерших в регенераторную фазу заболевания, наличие интерстициального фиброза в интактном миокарде ассоциировалось с большим содержанием CD68+ в соответствующей области (таблица 30).

Таблица 30 – CD68+ и стабилин-1+ макрофаги в интактном миокарде у больных ИМ с наличием интерстициального фиброза в интактном миокарде и при его отсутствии

Показатель	Больные ИМ с наличием интерстициального фиброза в интактном миокарде	Больные ИМ в отсутствии интерстициального фиброза в интактном миокарде	p
Воспалительная фаза (первые 72 часа ИМ)			
	n=17	n=7	
Стабилин-1+ макрофаги в интактном миокарде	0,0 (0,0; 0,0)	2,0 (0,0; 7,0)	0,04
Регенераторная фаза (4-28-е сутки)			
	n=12	n=5	
CD68+ макрофаги в интактном миокарде	145,5 (101,0; 201,0)	90,0 (41,0; 95,0)	0,03
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха			

3.5.2 Взаимосвязь количества сердечных макрофагов и моноцитов периферической крови у больных ИМ

У пациентов с ИМ (таблица 31), умерших на ранних сроках заболевания (в первые 72 часа), выявлена сильная положительная связь между количеством CD163⁺/CD206⁺ макрофагов в зоне, отдаленной от инфаркта (интактном миокарде) и абсолютным количеством моноцитов периферической крови, а также – отрицательная умеренная связь между количеством стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток в интактном миокарде и абсолютным количеством моноцитов периферической крови.

У пациентов с ИМ (таблица 31), умерших на поздних сроках инфаркта (на 4-28-е сутки), наблюдалась положительная связь между количеством CD206⁺/CD163⁻ макрофагов, CD163⁺ макрофагов отдаленной от инфаркта зоны и количеством моноцитов периферической крови, положительная связь между количеством CD206⁺ макрофагов в зоне инфаркта и относительным количеством моноцитов периферической крови, а также сильная отрицательная связь между количеством стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток в зоне инфаркта и количеством моноцитов периферической крови.

Таблица 31 – Взаимосвязь количества сердечных макрофагов и количества моноцитов периферической крови

Пары переменных		R	p
Воспалительная фаза (первые 72 часа ИМ)			
CD163 ⁺ /CD206 ⁺ макрофаги в интактном миокарде	Абсолютное количество моноцитов	0,9	0,005
Регенераторная фаза (4-28-е сутки)			
CD206 ⁺ /CD163 ⁻ макрофаги в интактном миокарде	Абсолютное количество моноцитов	0,7	0,003
	Относительное количество моноцитов	0,5	0,03
CD163 ⁺ макрофаги в интактном миокарде	Абсолютное количество моноцитов	0,7	0,02
CD206 ⁺ макрофаги в инфарктной зоне	Относительное количество моноцитов	0,6	0,03

3.5.3 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов и функция почек у больных ИМ

Уровень креатинина (мкмоль/л) при поступлении статистически значимо не отличался у больных ИМ, умерших на ранних сроках заболевания (первые 72 часа), и, умерших на более поздних сроках (4–28-е сутки): 105,0 (87,5; 164,5) и 116,0 (82,0; 204,0), соответственно – данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха, $p=0,6$. Скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²), вычисленной по формуле СКД-ЕРІ, также статистически значимо не различалась в двух группах и составляла 47,5 (26,5; 61,0) и 56,0 (26,0; 69,0), соответственно, $p=0,9$. Среди всех больных, включенных в исследование, тяжелая хроническая болезнь почек (ХБП) – 3б, 4 и 5 стадии – явилась причиной, по которой не проводилось чрескожное коронарное вмешательство, в 10 случаях, что составляло 24% пациентов.

У больных с 3б, 4 и 5 стадией ($n=8$) ХБП, умерших на ранних сроках ИМ, имела место более выраженная макрофагальная инфильтрация стабиллин-1⁺/ α -SMA⁺ клетками в отдаленной от инфаркта зоне, чем у больных с 1–3а стадиями ХБП ($n=12$): 6,0 (4,0; 6,0) и 0,0 (0,0; 4,0), соответственно, $p=0,03$. Также у больных, умерших на ранних сроках инфаркта, имела место умеренная положительная взаимосвязь между количеством стабиллин-1⁺/ α -SMA⁺ макрофагов в отдаленной от инфаркта зоне и тяжелой ХБП (3б, 4 и 5 стадии): $R=0,6$, $p=0,02$.

Следующим результатом корреляционного анализа (таблица 32) явилось наличие умеренной положительной взаимосвязи между количеством стабиллин-1⁺/ α -SMA⁺ макрофагов в зоне инфаркта и уровнем креатинина при поступлении у больных ИМ, умерших в первые 72 часа заболевания. У пациентов с ИМ, умерших на 4–28-е сутки заболевания, имели место взаимосвязи: умеренная отрицательная взаимосвязь между количеством CD206⁺ макрофагов в зоне инфаркта и уровнем креатинина при поступлении (рисунок 40), сильная отрицательная взаимосвязь между количеством CD206⁺ макрофагов в зоне инфаркта и стадией ХБП (рисунок 41), умеренная отрицательная взаимосвязь

между количеством стабилин-1+ макрофагов в зоне инфаркта и стадией ХБП (рисунок 42).

Таблица 32 – Взаимосвязь количества макрофагов и функции почек у больных ИМ

Пары переменных		R	p
Регенераторная фаза (4-28-е сутки)			
CD206+ макрофагов в зоне инфаркта	Креатинин (мкмоль/л) при поступлении	-0,6	0,03
CD206+ макрофаги в зоне инфаркта	Стадия ХБП	-0,7	0,001
Стабилин-1+ макрофаги в зоне инфаркта	Стадия ХБП	-0,5	0,04

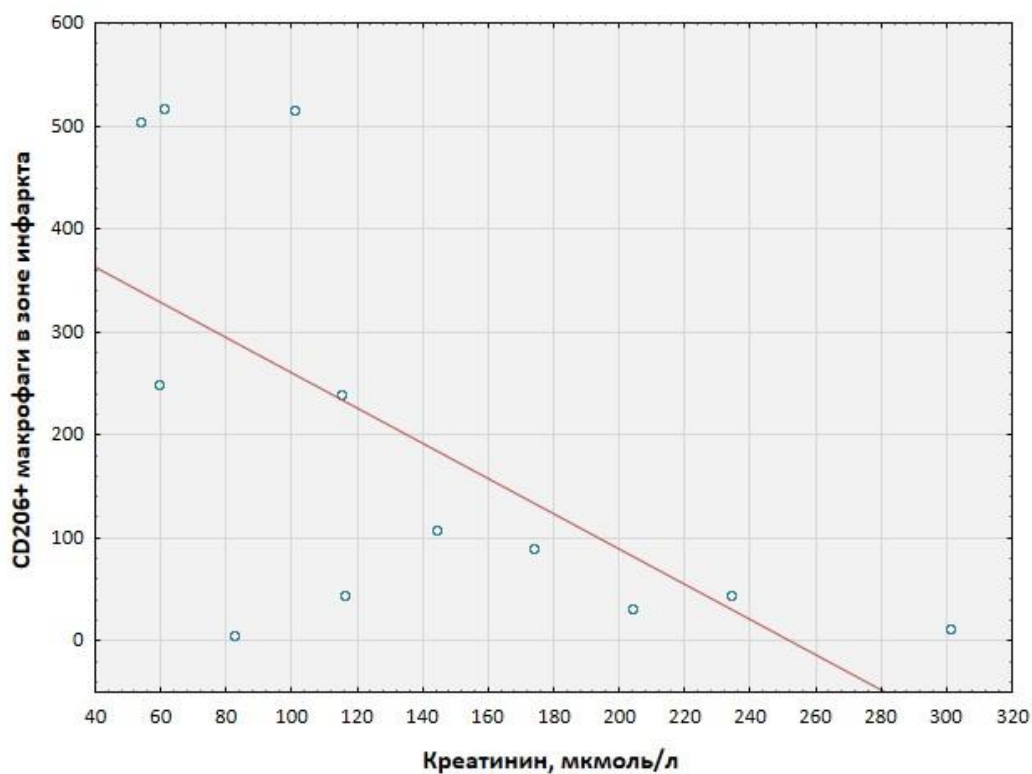


Рисунок 40 – Scatterplot: количество CD206+ макрофагов в зоне инфаркта/креатинин при поступлении у больных ИМ, умерших на 4–28-е сутки

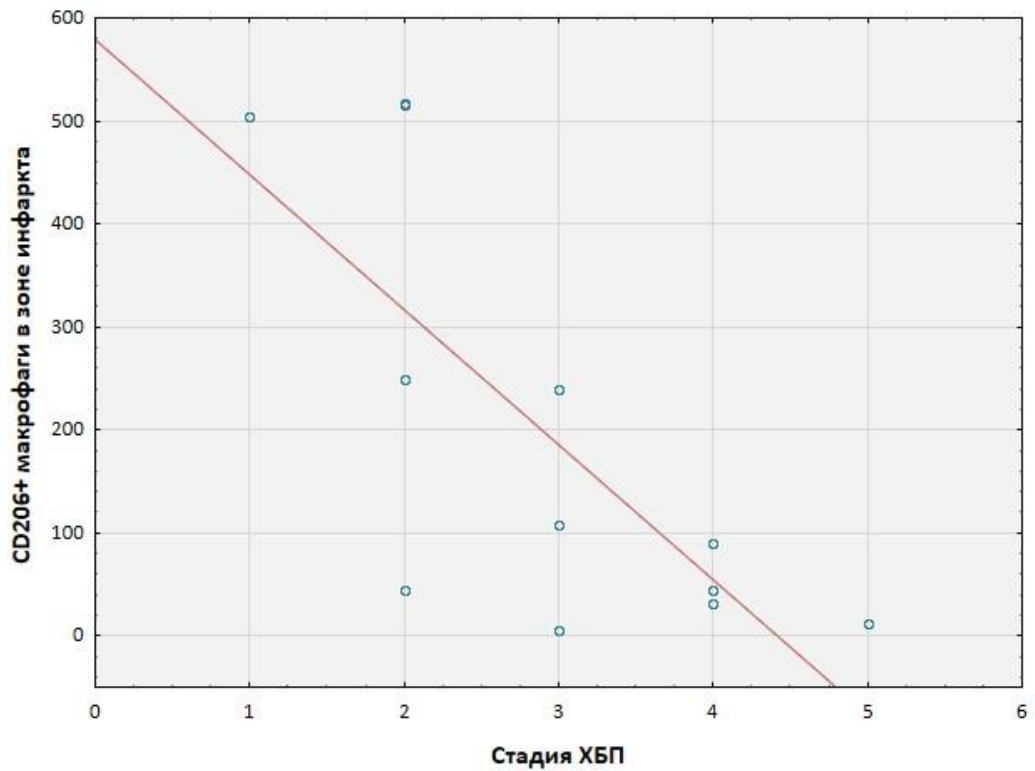


Рисунок 41 – Scatterplot: количество CD206+ макрофагов в зоне инфаркта/стадия ХБП у больных ИМ, умерших на 4–28-е сутки

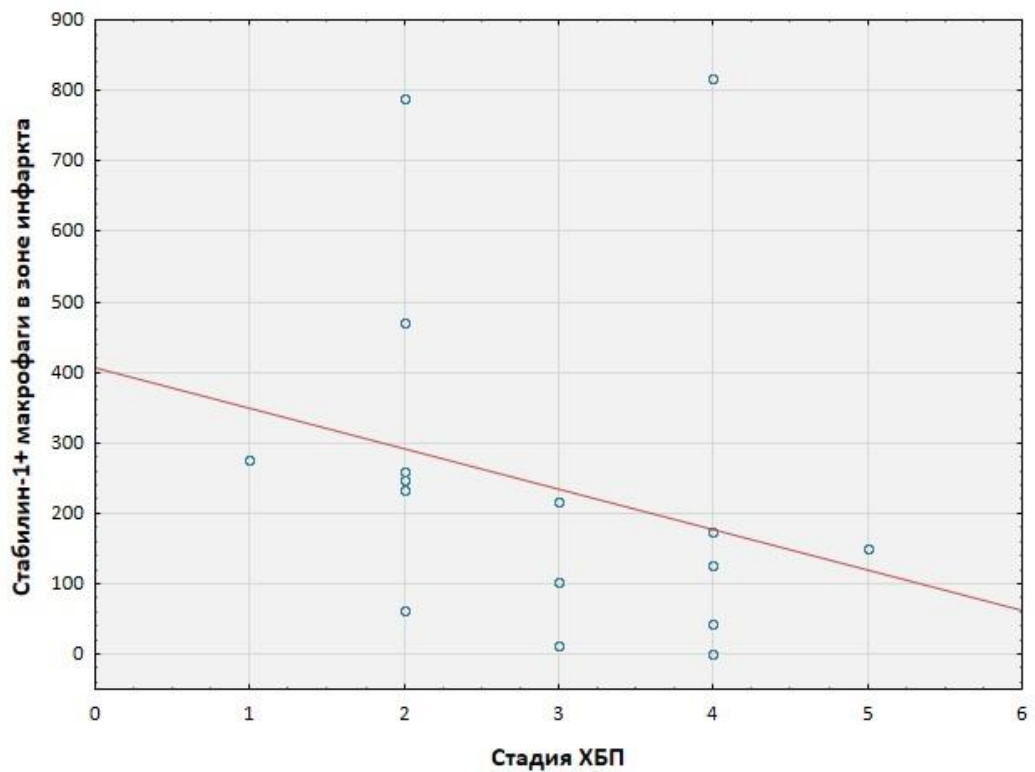


Рисунок 42 – Scatterplot: количество стабилин-1+ макрофагов в зоне инфаркта/стадия ХБП у больных ИМ, умерших на 4–28-е сутки

3.5.4 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов у больных ИМ, осложненным развитием соматогенного делирия

Соматогенный делирий развивался на поздних сроках ИМ (4–28-е сутки). Течение ИМ осложнилось развитием соматогенного делирия в 6 случаях, что составило 15% от общего числа пациентов или 35% от числа больных, умерших на поздних сроках заболевания. Пациенты с развитием делирия и в его отсутствии были сопоставимы по возрасту, по наличию факторов риска (курение, отягощенный семейный анамнез, дислипидемия, ожирение), по наличию фоновых заболеваний (гипертоническая болезнь, сахарный диабет 2 типа), а также по значению ФВ ЛЖ и риску госпитальной летальности, согласно шкале GRACE. У двух больных с развитием делирия из шести, в анамнезе имел место эпизод нарушения мозгового кровообращения.

У больных с развитием делирия, умерших на поздних сроках ИМ, отмечалось меньшее содержание CD206⁺ макрофагов (рисунок 43) в зоне инфаркта, чем у больных ИМ при отсутствии развития делирия, а также отмечалась тенденция к более низкому содержанию CD163⁺/CD206⁺ макрофагов (рисунок 44) в зоне инфаркта (таблица 33).

Таблица 33 – CD206⁺ и CD163⁺/CD206⁺ макрофаги в зоне инфаркта у больных ИМ с развитием делирия и в его отсутствии на поздних сроках заболевания

Показатель	Больные ИМ с развитием делирия, n=6	Больные ИМ без развития делирия, n=11	P
CD206⁺ макрофаги в зоне инфаркта	21,5 (9,0; 38,0)	224,5 (99,0; 510,5)	0,004
CD163⁺/CD206⁺ макрофаги в зоне инфаркта	42,0 (14,0; 82,0)	102,0 (90,0; 160,0)	0,05

Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха

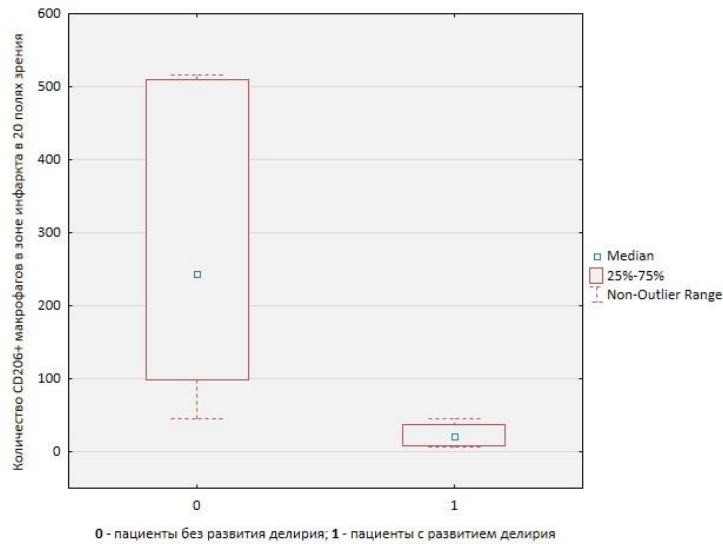


Рисунок 43 – CD206+ макрофаги в зоне инфаркта у больных ИМ с развитием делирия и в его отсутствии на поздних сроках заболевания

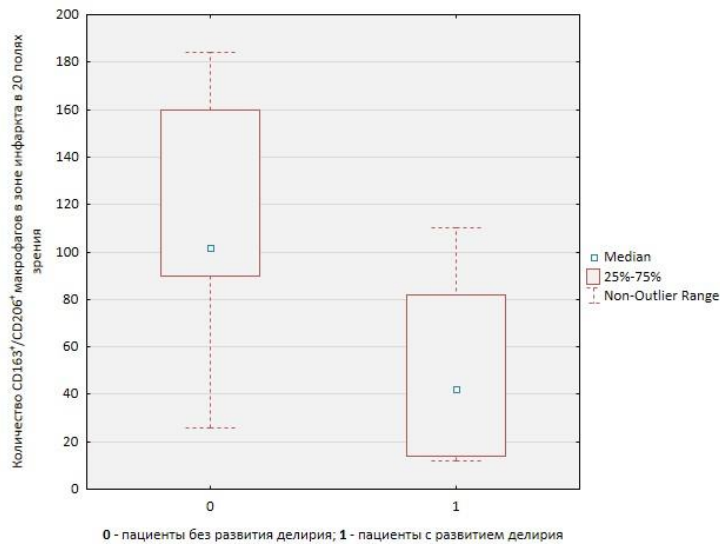


Рисунок 44 – CD163⁺/CD206⁺ макрофаги в зоне инфаркта у больных ИМ с развитием делирия и в его отсутствии на поздних сроках заболевания

3.5.5 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов у пациентов с первичным и повторным инфарктом миокарда

Из 41 пациента у 14 (34%) больных имел место повторный ИМ. Пациенты с первичным и повторным ИМ были сопоставимы по возрасту, по наличию факторов риска (курение, отягощенный семейный анамнез, дислипидемия, ожирение), по наличию фоновых заболеваний (гипертоническая болезнь,

сахарный диабет 2 типа), а также по риску госпитальной летальности, согласно шкале GRACE, и значению фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ).

У пациентов с повторным ИМ, умерших на поздних сроках ИМ (4-28-е сутки) отмечалось более высокое содержание CD163⁺/CD206⁻ макрофагов в отдаленной от инфаркта зоне (таблица 34, рисунок 45). При этом у больных с повторным ИМ, умерших на поздних сроках заболевания, процентное содержание моноцитов периферической крови на момент наступления смерти был выше, чем у больных с первичным ИМ (таблица 35, рисунок 46). По результатам корреляционного анализа, у пациентов с первичным ИМ, умерших на поздних сроках заболевания, была выявлена сильная отрицательная связь между количеством CD163⁺ макрофагов и абсолютным количеством моноцитов периферической крови на момент наступления смерти (рисунок 47).

Таблица 34 – CD163⁺/CD206⁻ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне у пациентов с повторным и первичным ИМ

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза
	Группа 1 (умершие в течение первых 72 часов)	Группа 2 (умершие на 4-28 сутки)
CD163 ⁺ /CD206 ⁻ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне у пациентов с повторным ИМ	16,0 (10,0; 26,0)	34,0 (23,0; 46,0)
CD163 ⁺ /CD206 ⁻ макрофаги в отдаленной от инфаркта зоне у пациентов с первичным ИМ	8,0 (6,0; 22,0)	14 (8,0; 23,0)
p	0,2	0,04
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха		

Таблица 35 – Моноциты периферической крови у пациентов с повторным и первичным ИМ

Показатель	Воспалительная фаза	Регенераторная фаза
	Группа 1 (умершие в течение первых 72 часов)	Группа 2 (умершие на 4-28 сутки)
Моноциты периферической крови, %, у пациентов с ИМ в анамнезе	2,4 (2,3; 2,4)	8,0 (7,4; 9,7)
Моноциты периферической крови, %, в отсутствии ИМ в анамнезе	4,5 (3,0; 7,0)	5,2 (3,0; 6,0)
p	0,27	0,03
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха		

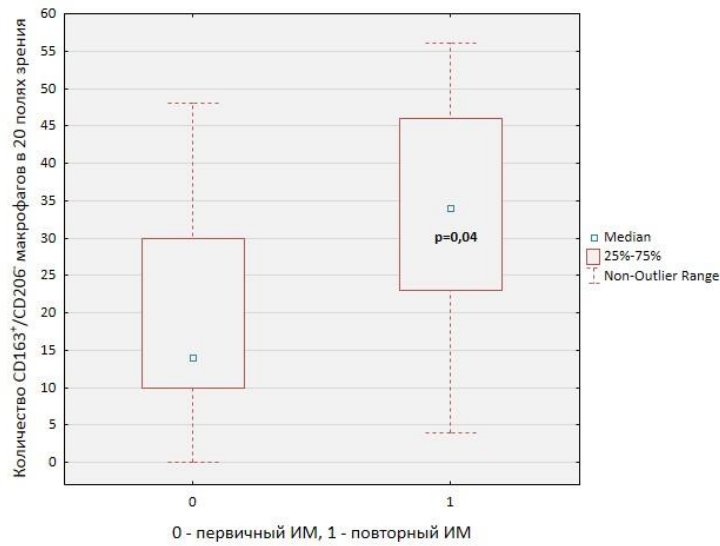


Рисунок 45 – CD163⁺/CD206⁻ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта, у пациентов с первичным и повторным ИМ, умерших на поздних сроках заболевания

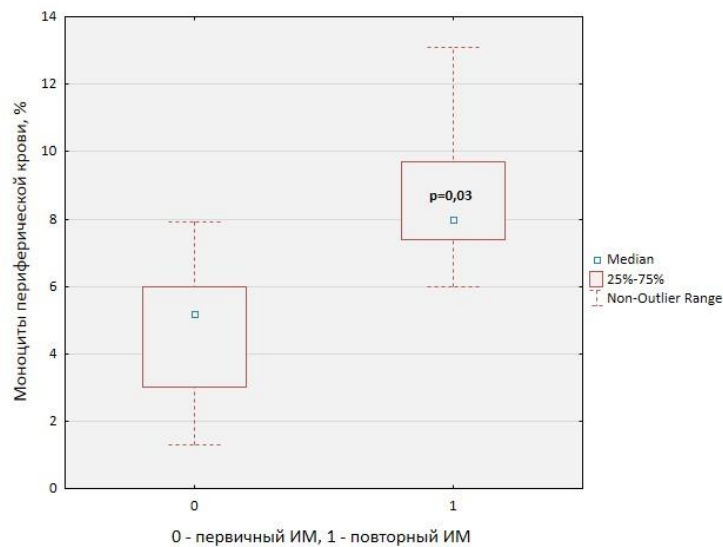


Рисунок 46 – Моноциты периферической крови у пациентов с первичным и повторным ИМ, умерших на поздних сроках заболевания

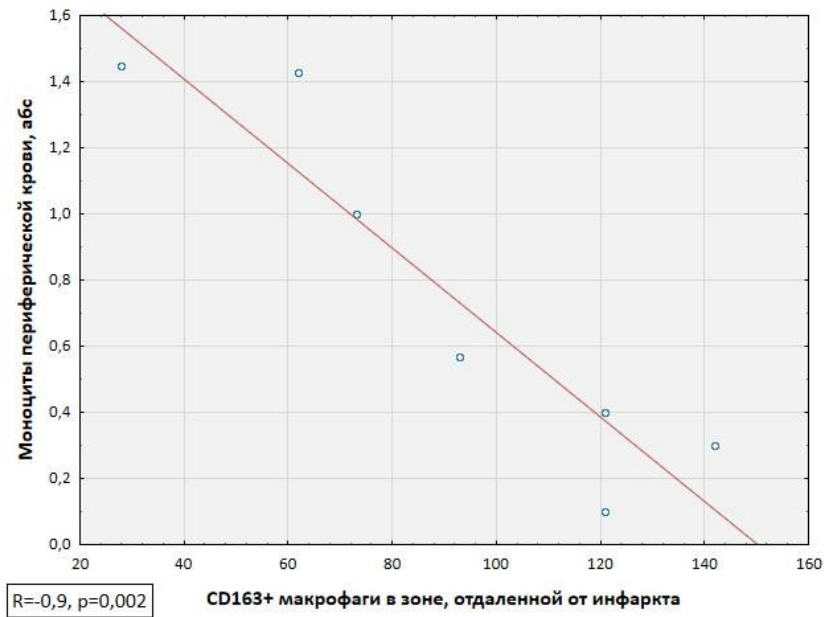


Рисунок 47 – CD163+ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта/моноциты периферической крови у больных с первичным ИМ на поздних сроках заболевания

3.5.6 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов у пациентов ИМ в зависимости от времени начала заболевания до поступления в стационар и выбранной стратегии лечения

Время начала заболевания до поступления в стационар («боль-дверь», мин) статистически значимо не отличалось у больных ИМ, умерших в первые 72 часа и на 4–28-е сутки заболевания: 180,0 (120,0; 540,0) и 240,0 (100,0; 420,0), соответственно – данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха, $p=0,9$. Однако, в группе больных, умерших на ранних сроках заболевания, отмечалась сильная положительная связь между временем «боль-дверь» и количеством CD68+ макрофагов в зоне инфаркта ($R=0,8$, $p=0,04$) и периинфарктной области ($R=0,9$, $p=0,004$), а также сильная отрицательная связь между временем «боль-дверь» и количеством CD206+ макрофагов в зоне инфаркта ($R=-0,9$, $p=0,005$).

Реваскуляризации миокарда – фармакологической или инвазивной или фармако-инвазивной – подверглись 20 (49%) пациентов. Пациенты, подвергшиеся

реваскуляризации, и, находившиеся на консервативном лечении, были сопоставимы по наличию факторов риска (курение, отягощенный семейный анамнез, дислипидемия, ожирение), по наличию фоновых заболеваний (гипертоническая болезнь, сахарный диабет 2 типа), а также по риску госпитальной летальности, согласно шкале GRACE. Больные, находившиеся на консервативном лечении, были старше больных, подвергшихся реваскуляризации: 82,0 (70,0; 84,0) года и 67,0 (61,5 и 77,0) лет, соответственно – данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха, $p=0,005$.

На ранних сроках инфаркта (первые 72 часа) пациенты, подвергшиеся реваскуляризации, и, находившиеся на консервативном лечении, не отличались между собой по выраженности макрофагальной инфильтрации. На поздних сроках заболевания (4–28 сутки) количество макрофагов ряда субпопуляций и их локализация (таблица 35) отличалось в зависимости от выбранной стратегии лечения ИМ, а именно, в группе реваскуляризации миокарда имела место более выраженная макрофагальная инфильтрация.

Таблица 35 – CD68+, стабиллин-1+ и CD163+ макрофаги у больных ИМ, умерших на поздних сроках заболевания, в зависимости от выбранной стратегии лечения

Показатель	Пациенты с ИМ, подвергшиеся реваскуляризации миокарда, n=10	Пациенты с ИМ, получавшие консервативную терапию, n=7	p
CD68+ макрофаги в зоне инфаркта	635,0 (442,0; 878,0)	136,0 (104,0; 365,0)	<0,001
CD68+ макрофаги в перинфарктной зоне	198,0 (135; 315,0)	73,0 (46,0; 154,0)	0,001
Стабиллин-1+ макрофаги в зоне инфаркта	246,5 (174,0; 471,0)	102,0 (13,0; 150,0)	0,03
CD163+ макрофаги в зоне инфаркта	1218,5 (916,0; 1407,0)	516,0 (154,0; 657,0)	0,003
CD163+ макрофаги в перинфарктной зоне	212,0 (135,0; 235,0)	77,0 (32; 130,0)	0,005
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха			

3.5.7 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов и ФВ ЛЖ у пациентов с ИМ, умерших на поздних сроках заболевания

У больных ИМ, умерших на поздних сроках заболевания (4-28-е сутки), ФВ ЛЖ в В-режиме составила 36% (30; 50) – данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха. При этом, по результатам корреляционного анализа, умеренная отрицательная связь имела место только между показателем ФВ ЛЖ и количеством CD163⁺/CD206⁻ макрофагов в зоне, отдаленной от инфаркта: R=-0,5, p=0,04 (рисунок 48).

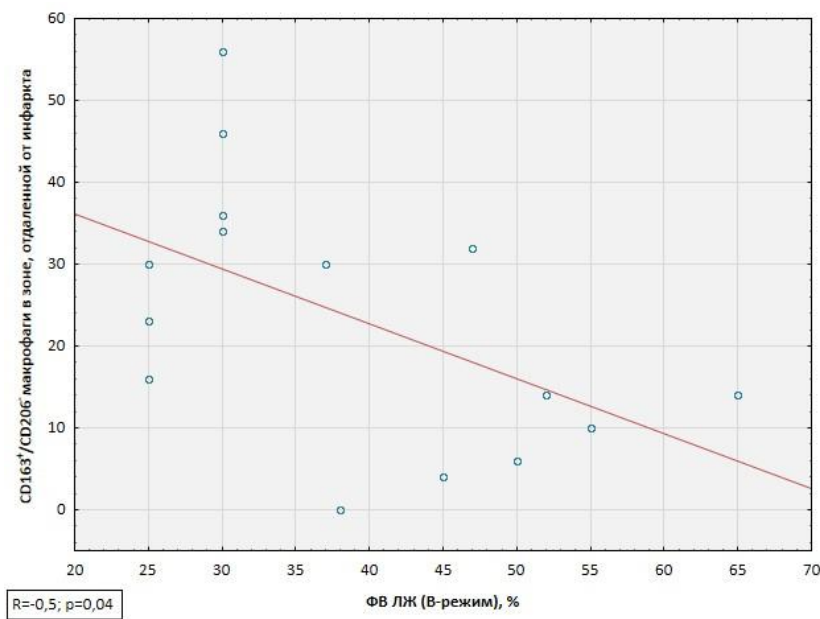


Рисунок 48 – CD163⁺/CD206⁻ макрофаги в зоне, отдаленной от инфаркта/ФВ ЛЖ у больных ИМ на поздних сроках заболевания

3.5.8 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов, ассоциированные с патоморфологическими признаками ремоделирования ЛЖ

Принимая во внимание дизайн исследования и ограниченные данные эхокардиографии, дополнительно были проанализированы размеры сердца больных. За определение неблагоприятного ремоделирования сердца было взято отношение размеров сердца «длинник/поперечник» равное 0,8–1,0. У больных

ИМ с наличием патоморфологического признака ремоделирования ЛЖ (длинник/поперечник $<1,1$) было выявлено меньшее содержание стаблин-1⁺/ α -SMA⁻ макрофагов в интактном миокарде (таблица 36).

Таблица 36 – Стаблин-1⁺/ α -SMA⁻ макрофаги в интактном миокарде у больных ИМ с наличием патоморфологического признака ремоделирования ЛЖ и при его отсутствии

Показатель	Больные ИМ с наличием патоморфологического признака ремоделирования ЛЖ (длинник/поперечник $<1,1$), n=8	Больные ИМ в отсутствии патоморфологического признака ремоделирования ЛЖ (длинник/поперечник $\geq 1,1$), n=11	p
Стаблин-1 ⁺ / α -SMA ⁻ макрофаги в интактном миокарде	18,0 (10,0; 18,0)	50,0 (26,0; 58,0)	0,02
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха			

По результатам ROC-анализа получено, что при количестве стаблин-1-позитивных/ α -SMA-негативных макрофагов $0-18/\text{мм}^2$, у больных диагностируется неблагоприятное ремоделирование сердца, ассоциирующееся с низкоинтенсивным воспалением в миокарде (рисунок 49). Чувствительность способа составила 100%, а специфичность – 88,9%. Площадь под ROC-кривой составила 0,96, а значение p-уровня значимости – менее 0,0001, что свидетельствует о высоком качестве классификатора.

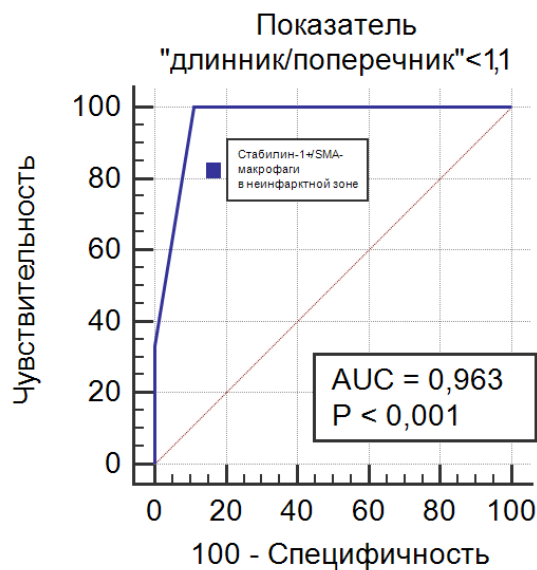


Рисунок 49 – Чувствительность и специфичность показателя длинник/поперечник сердца $<1,1$ в стратификации риска развития неблагоприятного ремоделирования сердца (ROC-анализ)

3.5.9 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов, ассоциированные с разрывом миокарда в ранние сроки ИМ

Из 24 пациентов с ИМ, умерших на ранних сроках заболевания (в первые 72 часа), у 6 (25%) больных причиной смерти явился разрыв свободной стенки ЛЖ. Пациенты с разрывом миокарда и при его отсутствии были сопоставимы по возрасту, наличию факторов риска, наличию фоновых заболеваний и риску госпитальной летальности, согласно шкале GRACE.

У больных ИМ, течение которого осложнялось разрывом миокарда, наблюдалось более высокое содержание CD68+ макрофагов в зоне инфаркта и перинфарктной зоне, а также более высокое содержание CD163+ макрофагов в перинфарктной области (таблица 37). Количество моноцитов периферической крови не отличалось в группе пациентов с разрывом миокарда и при его отсутствии. Также у пациентов с разрывом миокарда не было выявлено взаимосвязи между содержанием сердечных макрофагов и моноцитов периферической крови.

Таблица 37 – CD68+ и CD163+ макрофаги в зоне инфаркта и перинфарктной зоне у больных ИМ с разрывом миокарда и при его отсутствии

Показатель	Больные ИМ с разрывом миокарда, n=6	Больные ИМ без разрыва миокарда, n=18	P
CD68+ макрофаги в зоне инфаркта	179,0 (109,0; 380,0)	54,0 (50,0; 65,0)	0,001
CD68+ макрофаги в перинфарктной зоне	83,0 (71,0; 98,0)	46,5 (36,0; 83,0)	0,03
CD163+ макрофаги в перинфарктной зоне	135,0 (82,0; 182,0)	51,0 (38,0; 72,0)	0,01

Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха

3.5.10 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов у пациентов с острой аневризмой ЛЖ, умерших на ранних и поздних сроках ИМ

Из 41 пациента с ИМ, умерших на ранних (первые 72 часа) и на поздних сроках (4–28-е сутки) заболевания, у 12 (29%) больных имела место аневризма

левого ЛЖ. Пациенты с аневризмой ЛЖ и при ее отсутствии были сопоставимы по возрасту, наличию факторов риска, наличию фоновых заболеваний и риску госпитальной летальности, согласно шкале GRACE.

У больных ИМ, течение которого осложнялось образованием аневризмы ЛЖ, наблюдалось более высокое содержание CD68⁺ макрофагов в зоне инфаркта, CD163⁺ макрофагов в периинфарктной области и стаблин-1⁺/α-SMA⁺ макрофагов в зоне инфаркта (таблица 38, рисунки 50 – 52). Количество моноцитов периферической крови не отличалось в группе пациентов с аневризмой ЛЖ и при ее отсутствии. Также у пациентов с аневризмой ЛЖ не было выявлено взаимосвязи между содержанием сердечных макрофагов и моноцитов периферической крови.

Таблица 38 – CD68⁺, CD163⁺ и стаблин-1⁺/α-SMA⁺ макрофаги у больных ИМ с аневризмой ЛЖ и при ее отсутствии

Показатель	Больные ИМ с аневризмой ЛЖ, n=12	Больные ИМ без аневризмы ЛЖ, n=29	p
CD68 ⁺ макрофаги в зоне инфаркта	372,5 (81,5; 808,0)	106,5 (53,0; 308,5)	0,02
CD163 ⁺ макрофаги в периинфарктной зоне	182,0 (82,0; 221,0)	73,0 (48,0; 132,5)	0,04
Стаблин-1 ⁺ /α-SMA ⁺ макрофаги в зоне инфаркта	12,0 (6,0; 22,0)	2,0 (0,0; 6,0)	0,04

Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха

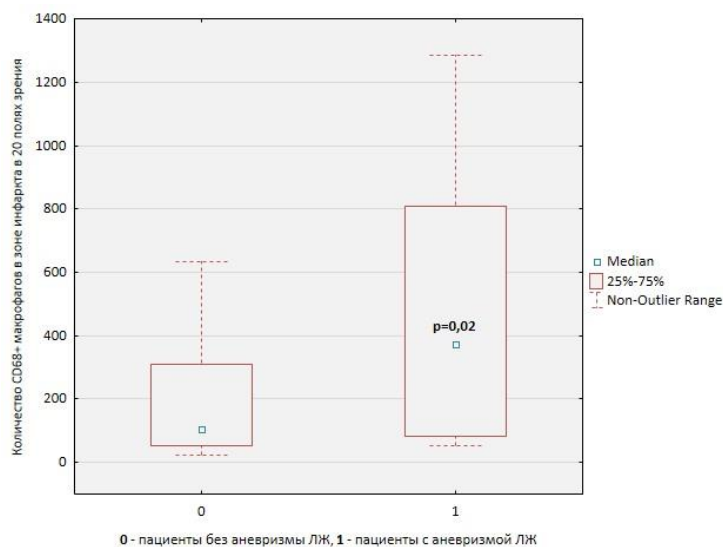


Рисунок 50 – CD68⁺ макрофаги в зоне инфаркта у пациентов с аневризмой ЛЖ и при ее отсутствии

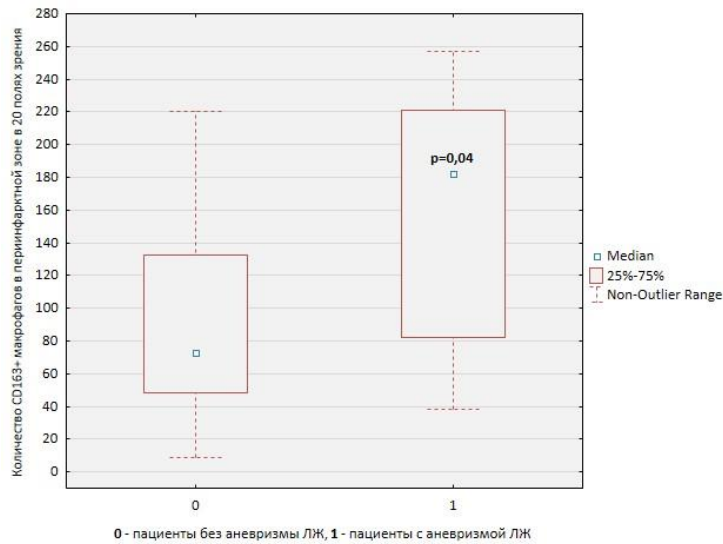


Рисунок 51 – CD163+ макрофаги в периинфарктной зоне у пациентов с аневризмой ЛЖ и при ее отсутствии

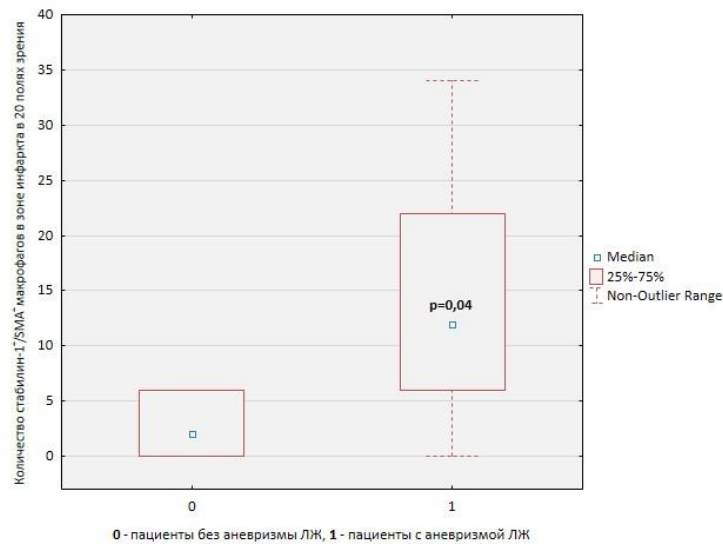


Рисунок 52 – Стабилин-1⁺/α-SMA⁺ макрофаги в зоне инфаркта у пациентов с аневризмой ЛЖ и при ее отсутствии

3.5.11 Фенотипические характеристики сердечных макрофагов, ассоциированные с развитием кардиогенного шока в ранние сроки ИМ

Из 24 пациентов с ИМ, умерших на ранних сроках заболевания (в первые 72 часа), у 16 (67%) больных причиной смерти явилось развитие кардиогенного шока (КШ). Пациенты с развитием КШ в ранние сроки инфаркта и в его отсутствии были сопоставимы по возрасту, по наличию факторов риска (курение, отягощенный семейный анамнез, дислипидемия, ожирение), по наличию фоновых

заболеваний (гипертоническая болезнь, сахарный диабет 2 типа), а также по риску госпитальной летальности, согласно шкале GRACE. Сравнение фракции выброса левого желудочка не проводилось ввиду наличия данных лишь у 31% больных с КШ. Данные отсутствовали по причине раннего наступления летального исхода.

У пациентов с КШ, умерших на ранних сроках ИМ, отмечалась менее интенсивная инфильтрация CD68⁺ макрофагами в зоне инфаркта (таблица 39). При этом у больных с КШ, умерших на ранних сроках заболевания, количество моноцитов периферической крови не отличалось от такового у пациентов в отсутствии КШ. Также у пациентов с КШ не было выявлено взаимосвязи между содержанием сердечных макрофагов и моноцитов периферической крови.

Таблица 39 – CD68⁺ и стаблин-1⁺/α-SMA⁺ макрофаги в зоне инфаркта у больных ИМ с развитием КШ в ранние сроки инфаркта и в его отсутствии

Показатель	Пациенты с развитием кардиогенного шока в ранние сроки ИМ, n=16	Пациенты в отсутствии развития кардиогенного шока в ранние сроки ИМ, n=8	p
CD68⁺ макрофаги в зоне инфаркта	54,0 (50,0; 65,0)	142,0 (65,0; 282,0)	0,02
Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха			

4 Обсуждение полученных результатов

4.1 Пространственно-временной паттерн аккумуляции макрофагов в миокарде больных ИМ

Исследование по моделированию ИМ у мышей показало, что в регуляции постинфарктной репарации миокарда принимали участие различные субпопуляции моноцитов [182]. При этом реакция моноцитов в ответ на острую ишемию миокарда носила двухфазный характер. Этот координированный ответ моноцитов/макрофагов лежал в основе благоприятного течения репарации инфарктированного миокарда. В течение первых трех дней инфаркта (I фаза) в миокарде увеличивалось и достигало своего пика количество Ly-6C^{hi} моноцитов (4×10^4 клеток/мг ткани), которые удаляли некротический дебрис за счет экспрессии медиаторов воспаления, процессов протеолиза и фагоцитоза. Далее количество Ly-6C^{hi} моноцитов уменьшалось и возвращалось к уровню моноцитов в неповрежденном миокарде к 7-му дню инфаркта ($< 0,5 \times 10^4$ клеток/мг ткани). Субпопуляция Ly-6C^{lo} моноцитов последовательно сменяла субпопуляцию Ly-6C^{hi} моноцитов. Количество Ly-6C^{lo} моноцитов увеличивалось с 4-го дня инфаркта (II фаза) и достигало пика к 7-му дню (2×10^4 клеток/мг ткани). Ly-6C^{lo} моноциты способствовали репаративным процессам – ангиогенезу и депонированию внеклеточного матрикса – ключевым особенностями образования грануляционной ткани. Количество Ly-6C^{lo} моноцитов снижалось до уровня моноцитов в неповрежденном миокарде к 16-му дню инфаркта. При этом макрофаги в миокарде мышей с ИМ представляли собой более малочисленную субпопуляцию, чем моноциты. Содержание макрофагов оставалось низким в течение первых трех дней ИМ, достигало пика к 5-му дню и снижалось до уровня макрофагов в неповрежденном миокарде к 16-му дню ИМ. В течение I и II фазы содержание макрофагов не превышало $0,5 \times 10^4$ клеток/мг ткани. У больных ИМ ранее изучалась динамика моноцитов периферической крови на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й, 8-й и 12-й день ИМ [85]. Количество циркулирующих CD14⁺CD16⁻CCR2⁺

(аналог Ly-6C^{hi} у мышей) моноцитов увеличилось и достигало пика на $2,6 \pm 0,8$ день от начала инфаркта. Количество циркулирующих моноцитов CD14⁺CD16⁺CX3CR1⁺ (аналог Ly-6C^{lo} у мышей) также увеличилось, но достигало пика позже – на $4,8 \pm 2,9$ день от начала ИМ.

В нашем исследовании наиболее высокое содержание сердечных макрофагов, экспрессирующих маркеры CD68, CD163, CD206 и стабиллин-1, определялось в инфарктной зоне, начиная с 4-го дня ИМ, что соответствует началу фазы регенерации. Однако, на поздних сроках фазы регенерации (11–28-е сутки ИМ) количество сердечных макрофагов оставалось высоким, что отличалось от динамики моноцитов/макрофагов в экспериментальной модели инфаркта.

Объектом нашего исследования являлись пациенты с ИМ I типа, у которых наличие атеросклероза было подтверждено данными патогистологического исследования. Фатальное течение заболевания можно рассматривать как исход неблагоприятной постинфарктной репарации миокарда. В эксперименте проводилось изучение процессов постинфарктной репарации у мышей с дефицитом аполипопротеина E и без него [182]. У мышей с дефицитом аполипопротеина E, гиперлипидемией и атеросклерозом наблюдался периферический Ly-6C^{hi} моноцитоз и повышенное рекрутирование моноцитов/макрофагов в инфарцированный миокард. При этом у мышей с дефицитом аполипопротеина E было выявлено высокое содержание некротической ткани и нарушение образования внеклеточного матрикса. Изменение регуляции постинфарктной репарации у мышей с дефицитом аполипопротеина E подчеркнуло необходимость сбалансированного и скоординированного ответа моноцитов/макрофагов на острую ишемию миокарда. Помимо этого, результаты исследования позволили предположить, что у пациентов с атеросклерозом и моноцитозом нарушается способность к эффективной постинфарктной репарации миокарда. Это может быть результатом повышенного количества Ly-6C^{hi} моноцитов, рекрутированных в инфарцированный миокард и задерживающих начало II фазы репарации, или

результатом изменения функций Ly-6C^{hi} и Ly-6C^{lo} моноцитов, что напрямую препятствуют эффективной репарации миокарда. Сохраняющаяся макрофагальная инфильтрация на поздних сроках заболевания (4–28-е сутки) может являться отражением нарушения координации ответа моноцитов/макрофагов на острую ишемию миокарда у больных ИМ I типа. Также можно предположить, что раннее и «глобальное» увеличение содержания CD68+ и CD163+ макрофагов в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, которое мы наблюдаем в нашем исследовании, отражает повышенное рекрутирование моноцитов/макрофагов в инфарцированный миокард, являясь неблагоприятной характеристикой постинфарктного моноцитарно-макрофагального ответа.

Согласно экспериментальным данным, было выявлено, что через 2 недели после ИМ содержание моноцитов и макрофагов в зоне инфаркта возвращается к исходному уровню, в то время как в отдаленной от инфаркта зоне макрофаги персистируют в течение 2 месяцев после инфаркта, способствуя ремоделированию миокарда [146]. Проточная цитометрия показала, что 2,9-кратное увеличение количества макрофагов в отдаленных от инфаркта зонах является результатом как повышенной локальной пролиферации макрофагов, так и рекрутирования моноцитов периферической крови. Рекрутирование сердечных моноцитов снижалось у мышей с дефицитом CCR2 и приводило к уменьшению количества сердечных макрофагов в зоне, отдаленной от инфаркта, что указывает на то, что CCR2-зависимое рекрутирование моноцитов в миокард вносит вклад в увеличенный пул макрофагов при СН со сниженной фракцией выброса. В нашем исследовании количество сердечных макрофагов в зоне инфаркта не снижалось на поздних сроках заболевания, что, возможно, является неблагоприятной характеристикой макрофагального ответа, принимая во внимание летальный исход заболевания. Вместе с тем, в зоне, отдаленной от инфаркта, мы наблюдали повышенное содержание сердечных CD68+ и CD163+ макрофагов на поздних сроках заболевания, что может являться косвенным показателем

продолжающегося рекрутирования моноцитов в зоны, отдаленные от инфаркта, на поздних сроках заболевания.

Динамика CD206+ макрофагов имела другие характеристики. В течение фазы воспаления количество сердечных CD206+ макрофагов во всех исследуемых зонах инфаркта не отличалось от группы контроля. Количество этих клеток увеличивалось относительно группы контроля в фазу регенерации, что свидетельствует о принадлежности этой популяции к противовоспалительному (M2) фенотипу. При этом их количество увеличивалось сначала в периинфарктной зоне – 24,0 (17,0; 21,0) → 46,0 (45,0; 55,0), $p=0,04$, а позже и в зоне инфаркта – 4,0 (17,0; 21,0) → 249,0 (240,0; 505,0), $p=0,003$. В зоне, отдаленной от инфаркта, количество CD206+ не изменялось на протяжении всего течения заболевания. Корреляционный анализ также подтвердил наличие факта увеличения количества CD206+ макрофагов в зоне инфаркта по мере суток, прошедших от ИМ ($R=0,43$, $p=0,02$). Количество CD206+ макрофагов отличалось между исследуемыми зонами (инфарктной, $p=0,04$, периинфарктной, $p=0,04$, и отдаленной от инфаркта, $p=0,03$) только на поздних сроках заболевания, начиная с 11-х суток. Наибольшее количество клеток определялось в зоне инфаркта – 249,0 (240,0; 505,0). В одном из исследований, было показано, что нокаут Trib1 (Tribbles псевдокиназа 1) вызывает избирательное истощение популяции CD206+ макрофагов [11]. У мышей с дефицитом Trib1 после перевязки коронарной артерии наблюдалось девятикратное увеличение случаев разрыва миокарда, что свидетельствует о протективной роли репаративных макрофагов в воспалительную фазу инфаркта. У Trib1-негативных мышей имело место снижение сократительной функции ЛЖ по сравнению с особями дикого типа, что указывает на возможную роль CD206+ макрофагов в предотвращении развития дезадаптивного ремоделирования сердца после ИМ.

Необходимо заметить, что в большей части исследований, посвященных изучению роли моноцитов/макрофагов в постинфарктной регенерации миокарда, не проводится анализ различий между зоной инфаркта, периинфарктной зоной и зоной, отдаленной от инфаркта. Как правило, исследователи фокусируются на

изучении непосредственной зоны инфаркта. Согласно, нашим данным моноцитарно-макрофагальный ответ на острую ишемию затрагивает весь миокарда, что согласуется с немногочисленными результатами экспериментальных исследований [163, 146]. Признание того, что популяции макрофагов могут иметь разные роли в зависимости от их местоположения, является важным концептуальным сдвигом, который может способствовать лучшему пониманию механизмов постинфарктного ремоделирования сердца.

4.2 Фенотипическая гетерогенность сердечных макрофагов у больных ИМ

Фенотипическая гетерогенность сердечных макрофагов была подтверждена результатами иммуногистохимического и двойного иммунофлуоресцентного исследования. Также при двойном иммунофлуоресцентном исследовании были выявлены клетки с иммунофенотипом α -SMA⁺/стабилин-1⁺.

4.2.1 Сердечные макрофаги, экспрессирующие маркеры CD68, CD163, CD206 и стабилин-1

Количество сердечных CD68⁺ и CD163⁺ макрофагов увеличивалось уже в первые 24 часа от ИМ. При этом, в зоне инфаркта в первые 24 часа, а также с 4-х по 28-е сутки преобладающей субпопуляцией являлись CD163⁺ макрофаги ($p < 0,001$ до $p = 0,007$). CD68⁺ макрофаги преобладали в зоне инфаркта только в течение 2-3-их суток ($p < 0,001$). В периинфарктной области CD163⁺ макрофаги преобладали только в первые 24 часа инфаркта ($p = 0,001$). В дальнейшем преобладающей субпопуляцией являлись CD68⁺ макрофаги ($p = 0,001-0,007$). В зоне, отдаленной от инфаркта, в первые 24 часа преобладало количество CD163⁺ макрофагов ($p < 0,001$), на 2–3-и сутки их содержание было равным с количеством

CD68⁺ макрофагов, а начиная с 4-го дня начинали преобладать CD68⁺ макрофаги ($p < 0,004$). При этом количество CD68⁺ и CD163⁺ макрофагов оставалось выше, чем в контроль группе, и на поздних сроках инфаркта.

Принимая во внимание пространственно-временной паттерн макрофагальной инфильтрации и ее выраженность, можно предположить, что CD68⁺ и CD163⁺ макрофаги являлись теми популяциями, которые отражали активное рекрутирование моноцитов в миокард как на ранних, так и на поздних сроках ИМ. Причинами высокого содержания CD163⁺ макрофагов может являться то, что этот маркер также экспрессируется и моноцитами, а также его связывание с комплексами гемоглобин-гаптоглобин, которые мгновенно образуются при высвобождении гемоглобина из эритроцитов во время физиологического или патологического гемолиза [179, 56]. Известно, что в зоне инфаркта через 4–12 часов могут появляться геморрагии, тем самым создавая лиганды для привлечения CD163⁺ клеток [4].

Количество CD163⁺/CD206⁻, CD206⁺/CD163⁻ и CD163⁺/CD206⁺ макрофагов в зоне инфаркта статистически значимо не различалось на протяжении ранних и поздних сроков ИМ. Однако в зоне, отдаленной от инфаркта, в воспалительную фазу заболевания преобладающей субпопуляцией являлись CD206⁺/CD163⁻ макрофаги ($p=0,008$). В регенераторную фазу инфаркта имела место тенденция к увеличению количества макрофагов, экспрессирующих маркер CD163 в той или иной комбинации (CD163⁺/CD206⁻ и/или CD163⁺/CD206⁺). Это может свидетельствовать о возможной гомеостатической функции макрофагов, экспрессирующих маркер CD206, преобладании этой субпопуляции макрофагов в отсутствии патологии.

CD163, CD206 и стабиллин-1 традиционно относят к маркерам M2 макрофагов. Мы показали, что пространственно-временной паттерн CD206⁺ и стабиллин-1⁺ макрофагов, в целом, укладывается в концепцию M1/M2 парадигмы. Тем не менее раннее увеличение количества CD163⁺ макрофагов, в том числе в зонах, отдаленных от инфаркта, не дает четкого представления о принадлежности этого фенотипа к M1 или M2 популяции. Остается вопрос, являлась ли ранняя

инфильтрация CD163+ макрофагов своевременной или же она представляла нарушение координации моноцитарно-макрофагального ответа.

Мы показали, что макрофаги в миокарде больных ИМ представлены фенотипически гетерогенной популяцией клеток, изменяющих экспрессионный профиль в фазу воспаления с 1-х по 3- сутки и в фазу регенерации с 4-х по 28-е сутки. Полученные нами результаты соотносятся с данными экспериментальных исследований о том, что фенотипы сердечных макрофагов в течение ИМ претерпевают изменения. Данные bulk секвенирования (анализ ткани/культуры клеток как единого целого) проиллюстрировали временной сдвиг фенотипов макрофагов в течение ИМ от провоспалительного к репаративному и к резидентно-подобному [109, 41]. На 3-й и 7-й день макрофаги демонстрировали преимущественно провоспалительный и репаративный профиль экспрессии, соответственно. Однако в обеих популяциях наблюдалась и смешанная экспрессия канонических генов M1 и M2 макрофагов, что вновь подтверждает необходимость более тонкого подхода к классификации макрофагов [41].

4.2.2 Клетки с фенотипом стабилин-1⁺/α-SMA⁺ у больных ИМ

При двойном иммунофлуоресцентном исследовании срезов миокарда как в инфарктной, так и в неинфарктной зоне мы выявили клетки с иммунофенотипом α-SMA⁺/стабилин-1⁺. Эти клетки представляют интерес ввиду принадлежности стабиллина-1 к маркерам M2 макрофагов, а α-SMA – к маркерам миофибробластов.

Известно, что M2 макрофаги выполняют противовоспалительные функции и создают условия для процессов заживления повреждений и регенерации. С другой стороны, длительное воздействие повреждающего фактора может приводить к неконтролируемой активации M2 макрофагов и трансформировать их в антагонистов тканевого заживления [19]. Альтернативно активированные макрофаги обладают фиброгенными свойствами, которые реализуются посредством таких факторов роста, как TGF-β, PDGFs, факторов роста

фибробластов (fibroblast growth factors, FGFs) [95]. Вместе с тем макрофаги могут отрицательно регулировать фиброгенез, удаляя апоптотические миофибробласты и остатки внеклеточного матрикса, тем самым, устраняя ключевые профибротические стимулы [95]. Фенотипы про- и антифиброзных субпопуляций макрофагов в условиях ишемии миокарда остаются малоизученными [64].

Миофибробласты присутствуют в тканях в процессе заживления. Это фибробласты с контрактильным фенотипом, экспрессирующие α -SMA. Миофибробласты в процессе репарации секретируют большое количество компонентов экстрацеллюлярного матрикса [185, 40, 124]. Способность миофибробластов к сокращению очень важна для поддержания сократительной функции миокарда в период формирования постинфарктного рубца, сокращения которого поддерживают насосную функцию сердца до полного развития компенсаторных механизмов [89]. Однако, пролонгированная либо избыточная активация миофибробластов может привести к избыточному развитию фиброзной ткани и развитию неблагоприятного ремоделирования сердца [95, 21, 196]. В частности, сохраняющаяся активация миофибробластов в неповрежденном миокарде приводит к развитию фиброза, и как следствие к диастолической и систолической дисфункции миокарда, нарушениям ритма сердца, нейрогормональной активации и развитию СН [112, 116].

Предположение о возможности трансдифференцировки макрофагов в фибробласты/миофибробласты было основано, опираясь на данные о высокой пластичности макрофагов [193]. Было предположено, что в условиях постинфарктного ремоделирования миокарда профибротическое микроокружение может способствовать образованию фибробластоподобного фенотипа макрофагов, способствующих заживлению и репаративному фиброгенезу [67, 157]. Mouton et al. идентифицировали популяцию фибробластоподобных макрофагов в зоне инфаркта на 7-й день ИМ. Эта популяция макрофагов имела гиперэкспрессию генов белков внеклеточного матрикса, включая *Colla1*, *Vlc*, *Tnc*, *Tagln* и *Postn* [109]. Исследование подтвердило возможность того, что клетки, экспрессирующие общие маркеры макрофагов и фибробластов, представляют

собой конкретную популяцию клеток. В дальнейшем Haider et al. в модели ИМ у мышей подтвердили наличие сердечных фибробластоподобных макрофагов с фенотипом Mac3⁺Col1A1⁺ в зоне инфаркта [193].

Выявленная нами субпопуляция стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток также свидетельствует о возможности клеточной трансдифференцировки и является косвенным признаком свойства пластичности макрофагов и приобретения ими профиброгенных функций. В нашем исследовании сердечные стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клетки присутствовали в небольшом количестве и их содержание в воспалительную и регенераторную фазу статистически значимо не изменялось как в зоне инфаркта (4,0 (0,0; 6,0) → 4,0 (0,0; 22,0), p=0,64), так и в отдаленной от инфаркта зоне (1,0 (0,0; 4,0) → 2,0 (1,0; 9,0), p=0,37). Вопрос о потенциальных функциях клеток с данным фенотипом требует дальнейшего изучения. На сегодняшний день вклад макрофагов в пополнение пула фибробластов и миофибробластов остается во многом не ясным. Трансдифференцировка макрофагов в фибробластоподобные клетки представляет собой интерес как потенциальный таргетный механизм воздействия на кардиальный фиброгенез, развивающийся после ИМ.

4.3 Фенотипические и функциональные характеристики сердечных макрофагов, ассоциирующиеся с про- и антифиброзной активностью

Экспрессия и функциональная роль стабилина-1 в процессе постинфарктной регенерации миокарда ранее не изучалась. Стабилин-1+ макрофаги представляют собой интерес как потенциальные клетки с антифиброзной активностью ввиду данных, полученных при исследовании их функций в экспериментальной модели фиброза печени [174]. Было выявлено, что дефицит стабилина-1+ вызывает развитие фиброза органа. Дефицит стабилина-1 приводил к нарушению захвата комплекса малонового диальдегида с липопротеинами низкой плотности (MDA-LDL) макрофагами печени и к

избыточному отложению коллагена III. Также дефицит стабилина-1 вызывал повышение внутрипеченочного уровня профиброгенного хемокина CCL3 и увеличение количества фиброгенных клеток с фенотипом GFAP+ (звездчатые клетки печени). Таким образом, исследование продемонстрировало регуляторный путь, в котором скавенджер-рецептор стаблин-1 предотвращал развитие фиброза печени. Другой причиной, по которой стаблин-1+ макрофаги привлекают внимание как клетки с потенциальной антифиброзной активностью, является их связывание с гликопротеином SPARC [175]. SPARC может оказывать фиброгенное действие за счет индукции ADAMTS1 (disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 1), а также усиливает передачу сигналов факторов роста, способствуя активации фибробластов. Макрофаги могут активно регулируют внеклеточные концентрации SPARC и адаптировать их к изменяющимся условиям микроокружения [128].

В нашем исследовании, в воспалительную фазу ИМ сердечные стаблин-1+ макрофаги во всех исследуемых зонах (инфарктной, периинфарктной и интактном миокарде) определялись лишь в виде единичных клеток. Однако, они присутствовали в группе контроля и их количество в группе контроля статистически значимо превышало количество стаблин-1+ макрофагов во всех исследуемых зонах в воспалительную фазу инфаркта. Возможно, что на ранних сроках ИМ происходила гибель макрофагов, экспрессирующих стаблин-1+, выполняющих гомеостатические функции. Также это может являться косвенным проявлением пластичности макрофагов. В этом случае можно предполагать изменение фенотипа стаблин-1+ клеток под действием сигналов микроокружения в условиях острой ишемии. Количество стаблин-1+ макрофагов увеличивалось в динамике во всех исследуемых зонах только в фазу регенерации, что свидетельствует о принадлежности этой популяции к противовоспалительному (M2) фенотипу. Однако статистически значимо содержание стаблин-1+ макрофагов отличалось от группы контроля только в зоне инфаркта ($p=0,02$, $p=0,008$). На протяжении фазы регенерации количество стаблин-1+ клеток в зоне инфаркта и периинфарктной зоне не снижалось в

динамике. В зоне, отдаленной от инфаркта, имела место тенденция к снижению количества стабиллин-1+ макрофагов на поздних сроках ИМ (начиная с 11-го дня). Корреляционный анализ показал наличие факта увеличения количества стабиллин-1+ макрофагов в зоне инфаркта ($R=0,6$, $p < 0,001$) и перинфарктной зоне ($R=0,42$, $p < 0,001$) по мере суток, прошедших от ИМ.

Мы выявили отрицательную связь между выраженностью фиброза (оцененного в баллах) в интактном миокарде и количеством стабиллин-1+ макрофагов в зоне инфаркта и перинфарктной зоне у пациентов, умерших в воспалительную фазу ИМ (в первые 72 часа). Также у больных ИМ, умерших в воспалительную фазу заболевания, наличие интерстициального фиброза в интактном миокарде ассоциировалось с отсутствием стабиллин-1+ макрофагов в соответствующей области. Очевидно, что фиброз в интактных участках миокарда, выявленный у больных, умерших на ранних сроках заболевания, не был ассоциирован с индексным инфарктом. Фиброз является неспецифическим процессом. Его наличие может отражать процесс «старения» сердца или являться частью континуума сердечно-сосудистых заболеваний, ассоциирующихся с перегрузкой объемом и/или давлением, воспалением, хронической ишемией миокарда и другими состояниями [18, 56, 95]. Полученные данные могут свидетельствовать об антифиброзной активности сердечных стабиллин-1+ макрофагов в условиях гомеостаза и при патологии.

У больных ИМ, умерших в регенераторную фазу заболевания, наличие интерстициального фиброза в интактном миокарде ассоциировалось с большим содержанием CD68+ в соответствующей области. Количество CD68+ макрофагов в интактном миокарде увеличивалось уже в воспалительную фазу инфаркта и оставалось выше значений контрольной группы и в регенераторную фазу. Полученные результаты не противоречат данным экспериментальных исследований. Было показано, что после ИМ макрофаги могут длительно персистировать в интактном миокарде, принимая участие в ремоделировании сердца [146]. При этом в модели ИМ у мышей повышенное рекрутирование моноцитов и макрофагов в интактный миокард после глобальной деплеции

сердечных резидентных макрофагов приводило к развитию неблагоприятного ремоделирования сердца, снижению фракции выброса ЛЖ, дезадаптивному фиброзу и высокому уровню смертности через 35 дней после перевязки коронарной артерии [163]. Таким образом, исследование макрофагальных популяций в зависимости от их локализации относительно инфарктной зоны является важной концепцией в изучении патогенеза неблагоприятного постинфарктного ремоделирования сердца [23].

4.4 Взаимосвязь количества сердечных макрофагов и моноцитов периферической крови у больных ИМ

В острый период ИМ в зоне инфаркта происходит гибель сердечных резидентных макрофагов. Дальнейшее увеличение количества макрофагов в очаге инфаркта происходит в результате быстрого притока циркулирующих моноцитов [48]. При том, в модели ИМ у мышей было показано, что в фазу регенерации противовоспалительные моноциты происходят преимущественно из воспалительных моноцитов, рекрутирование которых происходит на ранних сроках инфаркта [100].

У больных ИМ и успешно проведенной реваскуляризацией миокарда в виде первичного чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) восстановление фракции выброса ЛЖ (Δ ФВ ЛЖ, % – разница между ФВ ЛЖ через 8 месяцев после ИМ и ФВ ЛЖ по время госпитализации по поводу ИМ) коррелировало с пиковым значением моноцитов крови в течение ИМ ($R=-0,417$, $p < 0,001$) [152]. В другом исследовании пиковое значение моноцитов у больных ИМ и ЧКВ положительно коррелировало с конечным диастолическим объемом ЛЖ ($p=0,024$) и отрицательно коррелировало с фракцией выброса ЛЖ ($p=0,023$), измеренных во время госпитализации по поводу ИМ [143]. Очевидно, что эти исследования не подразумевали проведения корреляции между количеством моноцитов периферической крови и количеством сердечных моноцитов/макрофагов ввиду

отсутствия возможности проведения эндомиокардиальной биопсии больным острым ИМ. В посмертном исследовании образцов миокарда пациентов с ИМ было выявлено преобладание воспалительных CD14⁺CD16⁻ моноцитов (85%) на ранних сроках инфаркта и наличие сопоставимых по количеству воспалительных CD14⁺CD16⁻ (60%) и противовоспалительных CD14⁺CD16⁺ (40%) моноцитов во время регенераторной фазы. Корреляции между количеством моноцитов периферической крови и количеством сердечных моноцитов в этой работе не проводилось [119].

В настоящем исследовании показана положительная взаимосвязь между количеством сердечных макрофагов и количеством моноцитов периферической крови. При этом взаимосвязь была выявлена только для определенных фенотипов макрофагов, а именно экспрессирующих маркеры M2 типа CD163 или CD206, а также экспрессирующих оба этих маркера одновременно. При изучении взаимосвязи, помимо фенотипа макрофагов, учитывались сроки заболевания и пространственно-временной паттерн аккумуляции макрофагов в миокарде после ИМ (сроки заболевания и зона миокарда относительно инфаркта).

Взаимосвязь между количеством моноцитов периферической крови и сердечных CD163⁺/CD206⁺ макрофагов в зоне, отдаленной от инфаркта, наблюдалась в ранние сроки – в воспалительную фазу ИМ (R=0,9, p=0,005). В регенераторную фазу ИМ наблюдалась взаимосвязь между количеством моноцитов периферической крови и количеством сердечных CD206⁺ макрофагов в зоне инфаркта (R=0,6, p=0,03), а также количеством CD206⁺/CD163⁻ (R=0,7, p=0,003) и CD163⁺ (R=0,7, p=0,02) макрофагов в зоне, отдаленной от инфаркта. Интересным является факт отсутствия взаимосвязи между количеством моноцитов крови и количеством стабилин-1⁺ макрофагов несмотря на то, что для стабилин-1⁺ клеток была характерна динамика в виде увеличения их количества в регенераторную фазу, как и для макрофагов, экспрессирующих маркеры CD163 и CD206.

Особое внимание обращает наличие взаимосвязи между количеством моноцитов крови и количеством сердечных макрофагов в зоне, отдаленной от

инфаркта. В эксперименте было обнаружено 5,6-кратное увеличение количества сердечных моноцитов в интактном миокарде по сравнению с группой контроля ($p < 0,01$) [134]. При этом временная кинетика рекрутирования моноцитов в интактном миокарде происходила медленнее, чем в зоне инфаркта. Количественная полимеразная цепная реакция показала устойчивое увеличение молекул адгезии и ряда хемокинов в интактном миокарде (например, 12-кратное увеличение количества CCR2/MCP1). Помимо этого, в интактном миокарде была увеличена активность матриксной металлопротеиназы 2 и 9, что позволяет предположить, что рекрутирование моноцитов в удаленную зону способствует дилатации камер сердца после ИМ.

Полученные результаты показывают наличие взаимосвязи количества моноцитов периферической крови с количеством сердечных макрофагов после ИМ у пациентов с ИМ. Также результаты свидетельствуют о том, что анализ количества моноцитов периферической крови может рассматриваться как предиктор сохраняющегося асептического воспаления в миокарде после ИМ и неблагоприятного исхода заболевания. Актуальным направлением остается изучение количества моноцитов периферической крови вместе с прижизненной неинвазивной визуализацией моноцитов/макрофагов в миокарде больных ИМ.

4.5 Функция почек у больных ИМ и ее взаимосвязь с сердечными макрофагами

В условиях ИМ на фоне острого снижения сократительной функции сердца, обусловленного гемодинамическим стрессом и ишемией миокарда, развивается острое почечное повреждение или кардиоренальный синдром 1 типа [1, 6]. По данным литературы острое почечное повреждение развивается у каждого 4-го пациента с ИМ [156]. Острое почечное повреждение ассоциировано с неблагоприятным прогнозом и исходами ИМ [6]. Показано, что при ИМ острое почечное повреждение в 3 раза повышает риск фатального исхода в ранний

постинфарктный период [37]. Необходимо отметить, что у пациентов с ИМ распространённой ситуацией является наличие ХБП в анамнезе, которая развивается на фоне гипертонической болезни, хронической СН, сахарного диабета и других причин. Безусловно, в ряде случаев у на ранних сроках госпитализации дифференциальный диагноз острого почечного повреждения, связанного с инфарктом, и ХБП затруднителен или невозможен. Дополнительным ограничением в диагностике острого почечного повреждения в данном работе являлась гибель части пациентов в ранние сроки ИМ и ретроспективный анализ историй болезни больных.

В настоящем исследовании уровень креатинина (мкмоль/л) и СКФ (мл/мин/1,73 м², СКД-ЕРІ) при поступлении не отличались у больных, умерших в воспалительную фазу ИМ и в регенераторную фазу ИМ. Принимая во внимание возраст и наличие предшествующей сердечно-сосудистой патологии у исследуемых больных, снижение СКФ при поступлении трактовалось как наличие ХБП. Медиана значения СКФ в обеих группах соответствовала стадии ХБП 3а. Однако у 10 (24%) больных имела место более тяжелая почечная дисфункция – ХБП 3б, 4 и 5 стадии, что послужило причиной по которой не проводилось ЧКВ. Эти данные еще раз подтверждают высокую распространенность нарушения функции почек у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в том числе и с ИМ.

Изучение макрофагов почек у больных ИМ не являлось задачей данного исследования. Корреляционный анализ между количеством сердечных макрофагов и показателями функции почек был проведен, опираясь на актуальность вопроса о значении макрофагальной оси «сердце-почки» в патогенезе постинфарктного ремоделирования сердца и почечной дисфункции при ИМ [8, 169]. Так у больных, умерших в регенераторную фазу ИМ, была выявлена отрицательная взаимосвязь между количеством сердечных CD206+ макрофагов в зоне инфаркта и показателями функции почек – уровнем креатинина и стадией ХБП ($R=-0,6$, $p=0,03$ и $R=-0,7$, $p=0,001$, соответственно).

Также выявлена отрицательная взаимосвязь между количеством сердечных стабилин-1+ макрофагов в зоне инфаркта и стадией ХБП ($R=-0,5$, $p=0,04$).

Оба маркера CD206 и стабилин-1 относятся к маркерам макрофагов 2 типа. Известно, что Ly-6C^{lo} (M2) макрофаги принимают участие в паракринной передаче сигналов между почками и сердцем как в условиях гомеостаза, так и при патологических условиях – гипоксии и гипоперфузии [8]. В патологических условиях, получая сигналы от клеток собирающих протоков почек, сердечные M2 макрофаги вызывают гипертрофию кардиомиоцитов и фиброз миокарда [136].

Fujiu et al. предположили, что клетки собирающего протока почек играют роль в ответе на кардиоренальный стресс. Чтобы исследовать эту гипотезу, авторы использовали модель, в которой у мышей был инактивирован провоспалительный фактор транскрипции Klf5 в клетках собирающих протоков почек [8]. У этих мышей перегрузка сердечным давлением, вызванная путем поперечного сужения аорты, приводила к дилатации сердца и более частой гибели, по сравнению с мышами дикого типа. Исследователи предположили, что полученный в эксперименте фенотип СН был результатом отсутствия пролиферации M2 макрофагов, вследствие чего не развивалась адаптивная гипертрофия кардиомиоцитов и фиброз миокарда. Можно предположить, что у больных ИМ с более сохранной функцией почек имело место координированная активация сердечных M2 макрофагов в зоне инфаркта.

4.6 Фенотипические и функциональные характеристики макрофагов у больных ИМ с разрывом миокарда

Разрыв миокарда – это острое жизнеугрожающее, а в большинстве случаев смертельное, осложнение ИМ [197]. Разрыв миокарда относится к ранним осложнениям ИМ, которое происходит, как правило, в течение 1–10 суток от начала заболевания. Острый некроз кардиомиоцитов и разрушение внеклеточного матрикса способствуют ранней дилатации желудочков, что является триггером

для ухудшения сократительной функции сердца и подострого разрыва миокарда [13]. Образование коллагена и репаративный фиброз являются необходимыми процессами для обеспечения механической стабильности поврежденной ткани и предотвращения дилатации камер сердца.

Нарушение репаративного фиброгенеза можно объяснить следующими механизмами. Первый – это деградация внеклеточного матрикса, которая происходит под действием металлопротеиназ, секретлируемых воспалительными моноцитами/макрофагами в первые дни ИМ [29]. Воспалительные моноциты/макрофаги играют важную роль в поглощении некротической ткани, однако чрезмерная активация этих клеток может способствовать экспансии зоны инфаркта и разрыву миокарда [77, 167]. Вторым механизмом является нарушение процесса образования коллагена миофибробластами, дифференцированными из сердечных резидентных фибробластов. Активность фибробластов регулируется профибротическими цитокинами, такими как TGF- β , секретлируемого преимущественно противовоспалительными M2 моноцитами/макрофагами в регенераторной фазе ИМ. В одном из исследований было показано, что M2 макрофаги способствуют дифференцировке сердечных фибробластов в миофибробласты посредством продукции TGF- β [131, 31]. Таким образом, адекватное функционирование моноцитов/макрофагов имеет важное значение для процесса постинфарктной регенерации и предотвращения разрыва миокарда.

Ранее повышенное содержание CD68+ макрофагов в зоне инфаркта также было выявлено у больных ИМ, течение которого осложнялось разрывом миокарда [43]. У пациентов с разрывом миокарда помимо повышенного содержания CD68+ макрофагов в зоне инфаркта, определялось меньшее количество дендритных клеток и более низкая выраженность репаративного фиброза. В другом исследовании было продемонстрировано, что увеличение в сыворотке уровня С-реактивного белка у больных ИМ может выступать в качестве предиктора разрыва миокарда и формирования аневризмы ЛЖ в подострой фазе инфаркта [38]. При этом известно, что С-реактивный белок вырабатывается в печени в

ответ на действие провоспалительных цитокинов, которые активно экспрессируются моноцитами/макрофагами в инфарцированном миокарде [13, 90].

Разрыв миокарда происходил в первые 72 часа от начала ИМ. Это осложнение являлось причиной смерти 25% пациентов с ИМ, умерших в течение 72 часов от начала заболевания, и 17% в общей группе больных. У пациентов с ИМ, течение которого осложнялось разрывом миокарда, наблюдалось более высокое содержание CD68+ макрофагов не только в зоне инфаркта, но и в периинфарктной зоне. Также в периинфарктной области имело место и более высокое содержание CD163+ макрофагов, по сравнению с группой пациентов без разрыва. CD68 является маркером общей популяции макрофагов и, соответственно, не позволяет отнести клетку к про- или противовоспалительному фенотипу [27, 154]. CD163 традиционно относят к маркерам M2 макрофагов [27]. В меньшей степени CD163 экспрессируется моноцитами. Известно, что в зоне инфаркта количество моноцитов/макрофагов увеличивается за счет вновь рекрутированных моноцитов, в то время как в периинфарктной области макрофагальный пул может пополняться как счет рекрутированных, так и за счет резидентных клеток [163, 23]. Косвенно количество CD68+ и CD163+ клеток может отражать пул рекрутированных сердечных макрофагов, а их повышенное содержание в периинфарктной области может свидетельствовать о расширении зоны инфаркта. Необходимо отметить, что в настоящем исследовании CD68+ и CD163+ макрофаги являлись теми клетками, содержание которых увеличивалось уже на ранних сроках заболевания – в воспалительную фазу ИМ.

Таким образом, высокое содержание CD68+ макрофагов в зоне инфаркта и периинфарктной зоне и CD163+ макрофагов в периинфарктной зоне может являться отражением реактивного рекрутирования моноцитов, интенсивной воспалительной реакции и/или нарушения координации про- и противовоспалительного ответа, что приводит к нарушению формирования рубца и разрыву миокарда.

4.7 Фенотипические и функциональные характеристики макрофагов у больных ИМ с аневризмой ЛЖ

В формировании аневризмы ЛЖ можно выделить 2 фазы: фазу ранней дилатации и фаза позднего ремоделирования [97, 45].

Течение фазы ранней дилатации камер сердца во многом сходно с таковым при разрыве миокарда, что описано пунктом ранее. Истинная аневризма ЛЖ при ИМ может возникнуть уже через 2–14 суток от начала заболевания. Факторы, предрасполагающие к формированию аневризмы ЛЖ в ранние сроки ИМ включают женский пол, большой объем пораженного миокарда, отсутствие реперфузионных вмешательств, повышенное напряжение стенки ЛЖ, отсутствие коллатерального кровообращения и ряд других [13, 45]. В целом эти факторы способствуют и разрыву миокарда.

В позднюю фазу ремоделирования, через 2–4 недели после инфаркта, ремоделирование миокарда начинается с появления интенсивно васкуляризованной грануляционной ткани. Через 6–8 недель после инфаркта эта ткань замещается фиброзной [14, 13, 64]. По мере замещения миокарда фиброзной тканью толщина стенки желудочка может значительно уменьшаться. Клиническое проявление заключается в развитии СН со сниженной фракцией выброса.

В настоящем исследовании осложнение ИМ в виде аневризмы ЛЖ встречалось в 29% случаев. Мы выявили, что у больных ИМ, течение которого осложнялось образованием аневризмы ЛЖ, наблюдалось более высокое содержание CD68+ макрофагов в зоне инфаркта и CD163+ макрофагов в периинфарктной области. Эти результаты соотносятся с фенотипической и пространственной характеристикой макрофагов у больных с разрывом миокарда, что является логичным отражением сходно протекающих процессов. Отличием является отсутствие разницы в количестве CD68+ макрофагов в периинфарктной области у больных с аневризмой ЛЖ. Это может судить об ограничении зоны инфаркта и/или меньшей интенсивности воспалительной реакции, протекающей в

миокарде по сравнению с больными, у которых произошел разрыв миокарда. Тем не менее у больных ИМ с аневризмой ЛЖ данные функциональных, количественных и пространственных характеристик макрофагов могут свидетельствовать о развитии дезадаптивного ремоделирования миокарда, исходом чего являлось формирование аневризмы ЛЖ.

Помимо вышеперечисленных отличий у больных ИМ у больных ИМ с аневризмой ЛЖ было выявлено большее содержание стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток в зоне инфаркта. Выявленная субпопуляция стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток свидетельствует о возможности клеточной трансдифференцировки макрофагов в миофибробластоподобные клетки. Вопрос о потенциальных функциях клеток с данным фенотипом требует дальнейшего изучения. Можно предположить, что эти клетки играли роль в процессе репаративного фиброза, предотвращении разрыва миокарда и поддержании сократительной функции миокарда в период формирования постинфарктного рубца. [64, 89] Вместе с тем нельзя исключить возможную негативную функцию стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток в виде неограниченного и чрезмерного отложения внеклеточного матрикса, что могло явиться причиной дилатации полости сердца [67, 64].

4.8 Фенотипические и функциональные характеристики макрофагов у больных ИМ и кардиогенным шоком

Постинфарктная недостаточность ЛЖ остается наиболее частой причиной КШ, составляя более 80% случаев [108]. При этом КШ – это наиболее частая причина смерти пациентов, госпитализированных с ИМ [108].

Патофизиология КШ включает в себя сложный комплекс взаимосвязанных между собой механизмов [168, 34]. Выраженное снижение сократимости миокарда, приводит к снижению сердечного индекса и артериального давления, что, в свою очередь, усугубляет ишемию миокарда с последующим дополнительным снижением его сократимости. Эта классическая парадигма

также включает начальную компенсаторную системную вазоконстрикцию и последующую патологическую вазодилатацию. Снижение сердечного индекса вызывает тяжелую гипоксемию тканей, степень которой измеряется посредством определения лактата крови. Лактат при этом не является специфичным маркером КШ, поэтому в настоящее время активно продолжается поиск дополнительных биомаркеров [76, 142, 52]. Исследование фенотипических и функциональных характеристик сердечных макрофагов при КШ может внести вклад в понимание патофизиологии острой СН при ИМ, а также сформировать новое представление о потенциальных биомаркерах этого состояния.

В нашем исследовании КШ являлся причиной смерти 67% пациентов с ИМ, умерших в течение 72 часов от начала заболевания, и 78% в общей группе больных, что сопоставимо с данными литературы. У пациентов с КШ отмечалась меньшее количество CD68+ макрофагами в зоне инфаркта по сравнению с больными, умершими от других причин. Другими причинами являлись разрыв миокарда (6 случаев) и фибрилляция желудочков (2 случая). Сравнение макрофагальной инфильтрации проводилось у больных с КШ и в его отсутствии только на ранних сроках ИМ (72 часа). Это было связано с тем, что у на 4–28-е сутки ИМ кардиогенный шок являлся причиной смерти в 16 из 17 случаев. Обнаруженные отличия могут лишь свидетельствовать о том, что у больных с КШ наблюдается меньшая интенсивность макрофагальной инфильтрации в зоне инфаркта, чем у больных с разрывом миокарда и фибрилляцией желудочков. Это еще раз демонстрирует, что высокое содержание CD68+ макрофагов в первые 72 часа ИМ отражает интенсивную воспалительную реакцию, протекающую у больных ИМ, течение которого осложняет разрыв миокарда.

Безусловно, интерес представляет сравнение фенотипических и функциональных характеристик сердечных макрофагов у больных, погибших в результате КШ, и больных с благоприятным исходом этого состояния. Однако проведение подобных сравнений на сегодняшний день не представляется возможным ввиду отсутствия возможности выполнения эндомиокардиальной биопсии у больных ИМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные методы лечения ИМ привели к многократному снижению ранних летальных исходов заболевания [10, 140, 151]. Однако на сегодняшний день можно выделить два тренда, характерных для мировой кардиологической практики. Первое – это сохранение показателей госпитальной летальности [151]. Второе – это увеличение количества больных с постинфарктной СН [36, 42, 78, 127].

В основе развития осложнений ИМ лежит внезапная потеря сокращающихся кардиомиоцитов и следующий за ней процесс восстановительной регенерации миокарда. Течение раннего и позднего периода ИМ зависит от того, насколько благополучно будет протекать постинфарктная регенерация миокарда. Стремительный, но не продолжительный взлет клеточной терапии в терапии ИМ продемонстрировал недостаточность понимания механизмов развития постинфарктного ремоделирования сердца [62]. Изучение процессов, которые определяют баланс между благоприятным и неблагоприятным течением регенерации миокарда, остается актуальным направлением в поиске новых терапевтических таргетов для предотвращения развития СН у больных в раннем и поздней постинфарктном периоде.

Система врожденного иммунитета является важным регулятором постинфарктного ремоделирования миокарда [23]. Макрофаги принимают участие в воспалительной и в регенераторной фазе этого процесса. Число провоспалительных сердечных моноцитов/макрофагов быстро увеличивается в первые дни после ИМ [52, 134]. В последующие дни воспалительный фенотип моноцитов/макрофагов переходит в преимущественно репаративный, а именно фенотип, координирующий формирование рубцовой ткани [182]. Активное участие моноцитов/макрофагов в ответе на острую ишемию миокарда и новые подходы к их изучению сделали эти клетки предметом научного интереса в качестве потенциальных мишеней для предотвращения развития неблагоприятного ремоделирования сердца. Тем не менее, различные стратегии,

направленные на те или иные субпопуляции моноцитов/макрофагов, дали к настоящему времени противоречивые результаты [23]. Это может быть связано с рядом факторов. Макрофаги представляют собой гетерогенную популяцию клеток, способных быстро менять свой фенотип под действием сигналов микроокружения, что делает большинство исследований *in vitro* не воспроизводимыми *in vivo* [125]. Использование упрощенной классификации моноцитов/макрофагов, разделяющих их на две полярные субпопуляции, ограничивает понимание функционирования этих клеток [182]. Острота, динамичность и мультифакториальность ИМ как заболевания делает его сложным для изучения, как в модели, так и в клинике. Специфичность сердца как органа определяет ограничения к проведению эндомикардиальной биопсии, что затрудняет накопление клинического материала.

На сегодняшний день, количество доказательств, демонстрирующих роль моноцитов/макрофагов в разных аспектах развития неблагоприятного раннего и позднего ремоделирования сердца во время и после ИМ растет, а барьеры в изучении моноцитов/макрофагов перестают быть непреодолимыми [23].

Помимо этого, все большее количество исследователей склоняется к необходимости пересмотра классификации моноцитов/макрофагов и указывает на важность пространственно-временного паттерна аккумуляции сердечных моноцитов/макрофагов при ИМ.

В диссертационной работе была изучена макрофагальная инфильтрация миокарда у пациентов с фатальным течением ИМ I типа и ее взаимосвязь с клинико-anamnestическими и патоморфологическими характеристиками больных на ранних и поздних сроках заболевания. Методологической основой диссертационной работы стали зарубежные экспериментальные и клинические исследования в области изучения патофизиологических основ постинфарктной регенерации и ремоделирования сердца. Дизайн исследования включал анализ историй болезней и патологоанатомических исследований, гистопатологическое, иммуногистохимическое и иммунофлюоресцентное исследование образцов миокарда больных, умерших в результате ИМ I типа.

В настоящей работе был разработан протокол для изучения фенотипов макрофагов и их функциональной активности у больных ИМ I типа. Выявлено, что у больных ИМ I типа, сердечные макрофаги, помимо широко изучаемых маркеров – CD68, CD163 и CD206, экспрессируют скавенджер-рецептор стабилин-1. Стабилин-1+ макрофаги представляют собой интерес как потенциальные клетки с антифиброзной активностью ввиду данных, полученных при исследовании их функций в экспериментальной модели фиброза печени [174]. Другой причиной, по которой стабилин-1+ макрофаги привлекают внимание как клетки с потенциальной антифиброзной активностью, является их связывание с гликопротеином SPARC [175]. SPARC может оказывать фиброгенное действие за счет индукции ADAMTS1 (disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 1), а также усиливает передачу сигналов факторов роста, способствуя активации фибробластов. Макрофаги могут активно регулируют внеклеточные концентрации SPARC и адаптировать их к изменяющимся условиям микроокружения [128].

В результате исследования получены данные о динамике, интенсивности и локализации макрофагальной инфильтрации миокарда у пациентов с фатальным течением ИМ I типа на ранних и поздних сроках заболевания. У больных с фатальным течением ИМ I типа выявлена пролонгированная CD68+, CD163+, CD206+ и стабилин-1+ макрофагальная инфильтрация миокарда. Показано, что у пациентов с ИМ I типа в ответ на острую ишемию интенсивность макрофагальной инфильтрации изменяется как в зоне инфаркта и периинфарктной зоне, так и в отдаленных от инфаркта участках миокарда. Признание того, что популяции макрофагов могут иметь разные роли в зависимости от их местоположения, является важным концептуальным сдвигом, который может способствовать лучшему пониманию механизмов постинфарктного ремоделирования сердца.

Для изучения реактивности макрофагальной реакции у больных ИМ I типа, впервые исследована макрофагальная инфильтрация в миокарде пациентов из группы контроля, а именно погибших от травм, несовместимых с жизнью и не имеющих в анамнезе заболеваний сердечно-сосудистой системы. Показано, что

сердечные CD68+, CD163+, CD206+ и стабилин-1+ макрофаги присутствуют в группе контроля. Выявлено, что ранняя макрофагальная реакция в ответ на острую ишемию характерна для сердечных CD68+ и CD163+ макрофагов. Получены данные о том, что стабилин-1 и CD206 являются маркерами регенераторной фазы ИМ, о чем свидетельствует увеличение количества стабилин-1+ макрофагов сердца относительно группы контроля лишь на 4-е сутки ИМ, а CD206+ макрофагов на 10-е сутки ИМ.

Было использовано клиническое моделирование для изучения косвенных проявлений пластичности и противofiброзной активности сердечных макрофагов. Косвенным проявлением свойства пластичности фенотипа макрофагов, экспрессирующих стабилин-1, является присутствие их в группе контроля и отсутствие в воспалительную фазу ИМ. Выявленная субпопуляция стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток свидетельствует о возможности клеточной трансдифференцировки и также является косвенным проявлением свойства пластичности макрофагов [193]. О противofiброзной активности сердечных стабилин-1+ макрофагов может судить наличие ассоциации их отсутствия и присутствия фиброза в интактном миокарде у больных ИМ. Косвенным проявлением профиброзной активности сердечных CD68+ макрофагов является наличие ассоциации их повышенного количества с наличием фиброза в интактном миокарде у больных ИМ.

Была продемонстрирована фенотипическая гетерогенность сердечных макрофагов при ИМ на клиническом материале. Показано, что изменения количества и фенотипического профиля сердечных макрофагов на ранних и поздних сроках ИМ затрагивают зону инфаркта, периинфарктную зону и зону, отдаленную от инфаркта.

Была изучена взаимосвязь макрофагальной инфильтрации миокарда у пациентов с фатальным течением ИМ I типа с клинико-анамнестическими характеристиками больных. Выявлено, что клинико-анамнестические характеристики больных фатальным ИМ I типа ассоциируются с различными субпопуляциями макрофагов, экспрессирующих тот или иной маркер – CD68,

CD163, CD206, стабиллин-1 и α -SMA – или их комбинацию. Взаимосвязь субпопуляций сердечных макрофагов и клинико-анамнестических показателей зависит от сроков заболевания. Так, у больных ИМ, течение, которого осложнялось разрывом миокарда в ранние сроки заболевания, наблюдалось более высокое содержание CD68⁺ макрофагов в зоне инфаркта и периинфарктной зоне, а также более высокое содержание CD163⁺ макрофагов в периинфарктной области. У больных ИМ, течение, которого осложнялось образованием аневризмы ЛЖ, наблюдалось более высокое содержание CD68⁺ макрофагов в зоне инфаркта, CD163⁺ макрофагов в периинфарктной области и стабиллин-1⁺/ α -SMA⁺ макрофагов в зоне инфаркта

На примере ИМ продемонстрировано, что классификация макрофагов на M1 и M2 типы носит упрощенный характер. Ввиду фенотипической гетерогенности макрофагов и ее динамичности, она не позволяет в полной мере охарактеризовать ту или иную субпопуляцию макрофагов в конкретной клинической ситуации и не позволяет проводить клинико-морфологические параллели. Характеристика макрофагов по профилю экспрессии их маркеров является более точным индикатором их функциональной активности.

Полученные в ходе исследования данные о макрофагальной инфильтрации миокарда пациентов с фатальным течением ИМ I типа носят фундаментальный и прикладной характер. Результаты работы предоставляют новую информацию о процессах, протекающих в миокарде в ответ на острую ишемию, что в перспективе может внести вклад в разработку новых фармакологических подходов к регулированию постинфарктного ремоделирования сердца. Данная информация ранее была недоступна в результате отсутствия возможности исследования образцов миокарда у больных ИМ в клинической практике.

Разработанный в исследовании протокол позволил определить фенотипы сердечных макрофагов, которые могут быть прицельно использованы для дальнейшего изучения, в том числе в качестве мишеней для регуляции воспалительной реакции, протекающей при ИМ и его конкретных осложнениях в эксперименте. Предметом интереса являются фенотипы макрофагов,

экспрессирующих скавенджер-рецепторы CD68, CD163, CD206, стабиллин-1, а также выявленная субпопуляция миофибробластоподобных клеток с фенотипом стабиллин-1⁺/α-SMA⁺. В результате исследования разработан способ диагностики постинфарктного воспаления в миокарде, ассоциирующегося с неблагоприятным ремоделированием сердца. Так, по результатам ROC-анализа получено, что при количестве стабиллин-1-позитивных/α-SMA-негативных макрофагов 0–18/мм², у больных диагностируется неблагоприятное ремоделирование сердца, ассоциирующееся с низкоинтенсивным воспалением в миокарде. За определение неблагоприятного ремоделирования сердца было взято отношение размеров сердца «длинник/поперечник» равное 0,8–1,0. Чувствительность способа составила 100%, а специфичность – 88,9%. Площадь под ROC-кривой составила 0,96, а значение p-уровня значимости – менее 0,0001, что свидетельствует о высоком качестве классификатора.

Результаты, полученные в ходе использования данного протокола, обосновывают перспективность неинвазивной визуализации постинфарктной воспаления миокарда при помощи сцинтиграфии миокарда с ^{99m}Tc-аналогом соматостатина. Неинвазивная визуализация постинфарктного воспаления в миокарде является потенциальным инструментом для персонализированного отбора пациентов в рандомизированные клинические исследования противовоспалительных стратегий по предотвращению неблагоприятного ремоделирования миокарда, а в случае их успеха – инструментом для персонализированного назначения противовоспалительных агентов и контроля эффективности проводимого ими лечения.

Другим направлением будущих исследований является изучение тканевых или резидентных макрофагов сердца и их сложного взаимодействия с рекрутированными моноцитами в условиях патологических процессов. Транскриптомный анализ показал, что резидентные тканевые макрофаги обладают различными профилями экспрессии генов, которые соответствуют функциональным потребностям органа, и отличаются от профиля экспрессии генов моноцитов, рекрутируемых во время воспалительных реакций. Возможно,

новый подход к изучению моноцитов/макрофагов будет заключаться в первоначальной идентификации их происхождения и уже последующего исследования клеточных свойств, функций и потенциальных механизмов, способных их контролировать.

Выводы

1. У больных фатальным ИМ содержание сердечных CD68+ и CD163+ макрофагов в зоне инфаркта увеличивается, начиная с 1-х суток заболевания, и не снижается к 28-у дню, содержание стаблин-1+ и CD206+ макрофагов в зоне инфаркта увеличивается, начиная с 4-х и 11-х суток заболевания, соответственно, и не снижается к 28-у дню.

2. У больных фатальным ИМ с 1-х по 28-е сутки заболевания содержание сердечных CD68+ и CD163+ макрофагов превышает таковое у больных из группы контроля. С 1-х по 10-е сутки заболевания содержание сердечных CD206+ макрофагов у больных фатальным ИМ не отличается от такового у больных из группы контроля, но увеличивается в зоне инфаркта на 11-е сутки заболевания. С 1-х по 3-и сутки заболевания у больных фатальным ИМ определяется более низкое содержание сердечных стаблин-1+ макрофагов относительно такового у больных из группы контроля, но оно увеличивается в зоне инфаркта, начиная с 4-х суток заболевания.

3. У больных фатальным ИМ в зоне инфаркта наиболее высокое содержание сердечных CD68+ макрофагов наблюдается в первые сутки ИМ и на 4-е-28-е сутки заболевания, CD206+ макрофагов на 11-е-28-е сутки, CD163+ и стаблин-1+ макрофагов на 4-28-е сутки инфаркта. С 1-х по 28-е сутки заболевания содержание сердечных CD68+ макрофагов в зоне, отдаленной от инфаркта, превышает таковое у группы контроля. С 4-х по 28-е сутки заболевания содержание сердечных CD163+ макрофагов в зоне, отдаленной от инфаркта, превышает таковое у группы контроля. С 1-х по 3-и и с 11-х по 28-е сутки ИМ определяется более низкое содержание сердечных стаблин-1+ макрофагов в зоне, отдаленной от инфаркта, относительно такового у группы контроля.

4. У больных фатальным ИМ сердечные макрофаги представляют собой фенотипически гетерогенную популяцию клеток. По результатам иммуногистохимического исследования с 1-х по 28-е сутки заболевания в зоне

инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, преобладает количество CD68⁺ и CD163⁺ макрофагов. По результатам иммунофлюоресцентного анализа с 1-х по 28-е сутки заболевания количество сердечных CD163⁺/CD206⁻, CD206⁺/CD163⁻ и CD163⁺/CD206⁺ макрофагов в зоне инфаркта статистически значимо не различается, но в зоне, отдаленной от инфаркта, с 1-х по 3-и сутки заболевания преобладающей субпопуляцией являются CD206⁺/CD163⁻ макрофаги. Также в миокарде больных фатальным ИМ I типа присутствуют клетки с фенотипом стабилин-1⁺/α-SMA⁺.

5. У больных фатальным ИМ I типа, умерших с 1-х по 3-и сутки заболевания, отсутствие стабилин-1⁺ макрофагов в интактном миокарде ассоциируется с наличием фиброза в соответствующей области. У больных ИМ, умерших на 4-28-е сутки, наличие фиброза в интактном миокарде ассоциируется с большим содержанием CD68⁺ в соответствующей области. Низкое содержание стабилин-1⁺/α-SMA⁻ в интактном миокарде у больных ИМ ассоциируется с патоморфологическими признаками ремоделирования сердца. Разрыв миокарда ассоциируется с повышенным содержанием сердечных CD68⁺ макрофагов в зоне инфаркта и периинфарктной области, а также CD163⁺ макрофагов в периинфарктной области. Наличие аневризмы ЛЖ ассоциируется с повышенным содержанием CD68⁺ макрофагов в зоне инфаркта и CD163⁺ макрофагов в периинфарктной области, а также повышенным содержанием стабилин-1⁺/α-SMA⁺ клеток в зоне инфаркта.

Практические рекомендации

Рекомендовано использовать разработанный протокол иммуногистохимического и иммунофлюоресцентного исследования для изучения постинфарктной пространственно-временной аккумуляции сердечных макрофагов. Рекомендовано продолжить использование неинвазивной

визуализации постинфарктного воспаления миокарда при помощи сцинтиграфии миокарда с ^{99m}Tc -аналогом соматостатина.

Список сокращений

ЗИ – зона инфаркта

ИМ – инфаркт миокарда

КШ – кардиогенный шок

ЛЖ – левый желудочек

ОЗ – отдаленная от инфаркта зона

РНК – рибонуклеиновая кислота

СН – сердечная недостаточность

ПЗ – периинфарктная зона

ФВ – фракция выброса

ХБП – хроническая болезнь почек

IL – интерлейкин

SPARC – кислый секретлируемый белок, богатый цистеином

TGF- β – трансформирующий фактор роста бета

Список литературы

1. Керчева М. А. Роль макрофагов в формировании кардиоренального синдрома при инфаркте миокарда / М. А. Керчева, В. В. Рябов // Российский кардиологический журнал. – 2021. – № 26 (4). – С. 143–148.
2. Межонов Е. М. Прогностическое значение острого кардиоренального синдрома у пациентов с острой кардиальной патологией / Е. М. Межонов, Ю. А. Вялкина, С. В. Шалаев // Кардиология. – 2019. – № 59 (8S). – С. 44–55.
3. Основы патологии заболеваний по Роббинсу и Котрану / В. Кумар, А. К. Аббас, Н. Фаусто, Дж. К. Астер ; пер. с англ. : в 3 т. – М. : Логосфера, 2016. – Т. 2 : гл. 11–20. – 616 с.
4. Физиологическая и патогенетическая роль рецепторов-мусорщиков у человека / Е. Ю. Гусев, Н. В. Зотова, Ю. А. Журавлева, В. А. Черешнев // Медицинская иммунология. – 2020. – № 22 (1). – С. 7–48.
5. Хитиназоподобные белки как перспективные маркеры при злокачественных новообразованиях / И. В. Ларионова, Т. Н. Севастьянова, А. А. Ракина [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2018. – № 17 (4). – С. 99–105.
6. Шутов А. М. Кардиоренальный и ренокардиальный синдромы / А. М. Шутов, В. А. Серов // Нефрология. – 2009. – № 13 (4). – С. 59–63.
7. A consensus definitive classification of scavenger receptors and their roles in health and disease / M. R. PrabhuDas, C. L. Baldwin, P. L. Bollyky [et al.] // Journal of Immunology. – 2017. – Vol. 198, № 10. – P. 3775–3789.
8. A heart-brain-kidney network controls adaptation to cardiac stress through tissue macrophage activation / K. Fujiu, M. Shibata, Y. Nakayama [et al.] // Nature Medicine. – 2017. – Vol. 23, № 5. – P. 611–622.
9. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells / C. Schulz, E. Gomez Perdiguero, L. Chorro [et al.] // Science. – 2012. – Vol. 336, № 6077. – P. 86–90.

10. Acute myocardial infarction: changes in patient characteristics, management, and 6-month outcomes over a period of 20 years in the FAST-MI program (French Registry of Acute ST-Elevation or Non-ST-Elevation Myocardial Infarction) 1995 to 2015 / E. Puymirat, T. Simon, G. Cayla [et al.] // *Circulation*. – 2017. – Vol. 136. – P. 1908–1919.
11. Alternatively activated macrophages determine repair of the infarcted adult murine heart / Y. Shintani, K. Yashiro, H. Ishida [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2016. – Vol. 126. – P. 2151–2166.
12. 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.
13. Anzai T. Inflammatory Mechanisms of Cardiovascular Remodeling // *Circulation Journal*. – 2018. – Vol. 82, № 3. – P. 629–635.
14. Anzai T. Post-infarction inflammation and left ventricular remodeling : a double-edged sword // *Circulation Journal*. – 2013. – Vol. 77, №3. – P. 580–587.
15. Asbun J. The pathogenesis of myocardial fibrosis in the setting of diabetic cardiomyopathy / J. Asbun, F. J. Villarreal // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2006. – Vol. 47. – P. 693–700.
16. Association of CD163+ macrophages and local production of soluble CD163 with decreased lymphocyte activation in spondylarthropathy synovitis / D. Baeten, H. J. Møller, J. Delanghe [et al.] // *Arthritis & Rheumatology*. – 2004. – Vol. 50. – P. 1611–1623.
17. Begley C. Reproducibility in science: improving the standard for basic and preclinical research / C. Begley, J. Ioannidis // *Circulation Research*. – 2015. – Vol. 116, №1. – P. 116–126.
18. Biernacka A. Aging and cardiac fibrosis / A. Biernacka, N. G. Frangogiannis // *Aging and Disease*. – 2011. – Vol. 2. – P. 158–173.
19. Braga T. T. Macrophages during the fibrotic process: M2 as friend and foe / T. T. Braga, J. S. Agudelo, N. O. Camara // *Frontiers in Immunology*. – 2015. – Vol. 6. – P. 1–8.

20. Canton J. Scavenger receptors in homeostasis and immunity / J. Canton, D. Neculai, S. Grinstein // *Nature Reviews Immunology*. – 2013. – Vol. 13, № 9. – P. 621–634.
21. Cardiac fibrosis : The Fibroblast awakens / J. G. Travers, F. A. Kamal, J. Robbins [et al.] // *Circulation Research*. – 2016. – Vol. 118. – P. 1021–1040.
22. Cardiac macrophage biology in the steady-state heart, the aging heart, and following myocardial infarction / Y. Ma, A. J. Mouton, M. L. Lindsey // *Translational Research*. – 2018. – Vol. 191. – P. 15–28.
23. Cardiac monocytes and macrophages after myocardial infarction / C. Peet, A. Ivetic, D. I. Bromage, A. M. Shah // *Cardiovascular Research*. – 2020. – Vol. 116, № 6. – P. 1101–1112.
24. CD163 as a novel target gene of STAT3 is a potential therapeutic target for gastric cancer / Z. Cheng, D. Zhang, B. Gong [et al.] // *Oncotarget*. – 2010. – Vol. 8, № 50. – P. 87244–87262.
25. CD163 interacts with TWEAK to regulate tissue regeneration after ischaemic injury / H. Akahori, V. Karmali, R Polavarapu [et al.] // *Nature Communications*. – 2015. – Vol. 6. – P. e7792.
26. CD163 is the macrophage scavenger receptor for native and chemically modified hemoglobins in the absence of haptoglobin / D. J. Schaer, C. A. Schaer, P. W. Buehler [et al.] // *Blood*. – 2006. – Vol. 107. – P. 373–380.
27. CD68/macrosialin: not just a histochemical marker / D. A. Chistiakov, M. C. Killingsworth, V. A. Myasoedova [et al.] // *Laboratory Investigation*. – 2017. – Vol. 97. – P. 4–13.
28. Cells of the adult human heart / M. Litviňuková, C. Talavera-López, H. Maatz [et al.] // *Nature*. – 2020. – Vol. 588, № 7838. – P. 466–472.
29. 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. – P. 1–19.

- 30.Characterization of a mouse model of obesity-related fibrotic cardiomyopathy that recapitulates features of human heart failure with preserved ejection fraction / L. Alex, I. Russo, V. Holoborodko, N. G. Frangogiannis // *The American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2018. – Vol. 315. – P. H934–H949.
- 31.Class A1 scavenger receptor modulates glioma progression by regulating M2-like tumor-associated macrophage polarization / H. Zhang, W. Zhang, X. Sun [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7, № 31. – P. 50099–50116.
- 32.Cleavage on Resident Cardiac Macrophages Compromises Repair After Myocardial Ischemia Reperfusion Injury / M. DeBerge, X. Y. Yeap, S. Dehn [et al.] // *Circulation Research*. – 2017. – Vol. 121, № 8. – P. 930–940.
- 33.Comparison of gene expression profiles between human and mouse monocyte subsets / M. A. Ingersoll, R. Spanbroek, C. Lottaz [et al.] // *Blood*. – 2010. – Vol. 115, № 3. – P. e10-19; Erratum in: *Blood*. – 2010. – Vol. 116, № 5. – P. 857.
- 34.Contemporary management of cardiogenic shock – a scientific statement / S. van Diepen, J. N. Katz, N. M. Albert [et al.] // *Circulation*. – 2017. – Vol. 136. – P. e232–e268.
- 35.Contemporary trends in cardiogenic shock : Incidence, intra-aortic balloon pump utilisation and outcomes from the London Heart Attack Group / K. S Rathod, S. Koganti, M. B. Iqbal [et al.] // *European Heart Journal : Acute Cardiovascular Care*. – 2018. – Vol. 7. – P. 16–27.
- 36.Contemporary trends in heart failure with reduced and preserved ejection fraction after myocardial infarction: a community study / Y. Gerber, S. A. Weston, C. Berardi [et al.] // *American Journal of Epidemiology*. – 2013. – Vol. 178. – P. 1272–1280.
- 37.Contrast induced acute kidney injury in acute coronary syndrome patients : A single centre experience / S. Farhan, B. Vogel, I. Tentzeris [et al.] // *European Heart Journal. Acute Cardiovascular Care*. – 2016. – Vol. 5, № 1. – P. 55–61.

38. C-reactive protein as a predictor of infarct expansion and cardiac rupture after a first Q-wave acute myocardial infarction / T. Anzai, T. Yoshikawa, H. Shiraki [et al.] // *Circulation*. – 1997. – Vol. 96. – P. 778–784.
39. CXCL4 downregulates the atheroprotective hemoglobin receptor CD163 in human macrophages / C. A. Gleissner, I. Shaked, C. Erbel [et al.] // *Circulation Research*. – 2010. – Vol. 106, № 1. – P. 203–211.
40. Davis J. Myofibroblasts : trust your heart and let fate decide / J. Davis, J. D. Molkenin // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2014. – Vol. 70. – P. 9–18.
41. Deciphering the dynamic transcriptional and post-transcriptional networks of macrophages in the healthy heart and after myocardial injury / W. Walter, L. Alonso-Herranz, V. Trappetti [et al.] // *Cell Reports*. – 2018. – Vol. 23. – P. 622–636.
42. Declining in-hospital mortality and increasing heart failure incidence in elderly patients with first myocardial infarction / J. A. Ezekowitz, P. Kaul, J. A. Bakal [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2009. – Vol. 53. – P. 13–20.
43. Decreased myocardial dendritic cells is associated with impaired reparative fibrosis and development of cardiac rupture after myocardial infarction in humans / T. Nagai, S. Honda, Y. Sugano [et al.] // *Journal of the American Heart Association*. – 2014. – Vol. 3, № 3. – P. e000839.
44. Deficiency of GATA3-positive macrophages improves cardiac function following myocardial infarction or pressure overload hypertrophy / M. Yang, L. Song, L. Wang [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2018. – Vol. 72. – P. 885–904.
45. Deletion of class A scavenger receptor deteriorates obesity-induced insulin resistance in adipose tissue / X. Zhu, G. Zong, L. Zhu [et al.] // *Diabetes*. – 2014. – Vol. 63, № 2. – P. 562–577.
46. Development of murine ischemic cardiomyopathy is associated with a transient inflammatory reaction and depends on reactive oxygen species / O. Dewald, N.

- G. Frangogiannis, M. Zoerlein [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2003. – Vol. 100. – P. 2700–2705.
47. Different functions of monocyte subsets in familial hypercholesterolemia: potential function of CD14⁺ CD16⁺ monocytes in detoxification of oxidized LDL / S. Mosig, K. Rennert, S. Krause [et al.] // *FASEB Journal*. – 2009. – Vol. 23, № 3. – P. 866–874.
48. Differential contribution of monocytes to heart macrophages in steady-state and after myocardial infarction / T. Heidt, G. Courties, P. Dutta [et al.] // *Circulation Research*. – 2014. – Vol. 115. – P. 284–295.
49. Dose-dependent effects of short-term methylprednisolone on myocardial infarct extent, scar formation, and ventricular function / H. Hammerman, R. A. Kloner, S. Hale [et al.] // *Circulation*. – 1983. – Vol. 68, № 2. – P. 446–452.
50. Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction / J. C. Tardif, S. Kouz, D. D. Waters [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. – 2019. – Vol. 381, № 26. – P. 2497–2505.
51. Emerging functions of amphiregulin in orchestrating immunity, inflammation, and tissue repair / D. M. Zaiss, W. C. Gause, L. C. Osborne, D. Artis // *Immunity*. – 2015. – Vol. 42. – P. 216–226.
52. Endoscopic time-lapse imaging of immune cells in infarcted mouse hearts / K. Jung, P. Kim, F. Leuschner [et al.] // *Circulation Research*. – 2013. – Vol. 112. – P. 891–899.
53. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis / E. M. Zeisberg, O. Tarnavski, M. Zeisberg [et al.] // *Nature Medicine*. – 2007. – Vol. 13. – P. 952–961.
54. Enhanced efferocytosis of apoptotic cardiomyocytes through myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase links acute inflammation resolution to cardiac repair after infarction // E. Wan, X. Y. Yeap, S. Dehn [et al.] // *Circulation Research*. – 2013. – Vol. 113. – P. 1004–1012.
55. Entropy as a novel measure of myocardial tissue heterogeneity for prediction of ventricular arrhythmias and mortality in post-infarct patients / A. F. A.

- Androulakis, K. Zeppenfeld, E. H. M. Paiman [et al.] // *JACC : Clinical Electrophysiology*. – 2019. – Vol. 5. – P. 480–489.
56. Etzerodt A. CD163 and inflammation : biological, diagnostic, and therapeutic aspects / A. Etzerodt, S. Moestrup // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2013. – Vol. 18, № 17. – P. 2352–2363.
57. Evidence for an active inflammatory process in the hibernating human myocardium / N. G. Frangogiannis, S. Shimoni, S. M. Chang [et al.] // *American Journal of Pathology*. – 2002. – Vol. 160. – P. 1425–1433.
58. Evolving therapies for myocardial ischemia/reperfusion injury / B. Ibáñez, G. Heusch, M. Ovize, F. Van de Werf // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2015. – Vol. 65. – P. 1454–1471.
59. Expression of M2-polarized macrophages is associated with poor prognosis for advanced epithelial ovarian cancer / C. Lan, X. Huang, S. Lin [et al.] // *Technology in Cancer Research & Treatment*. – 2013. – Vol. 12, № 3. – P. 259–267.
60. Expression pattern of scavenger receptors and amyloid- β phagocytosis of astrocytes and microglia in culture are modified by acidosis : implications for alzheimer's disease / J. Eugeni, A. Vecchiola, P. Murgas [et al.] // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2016. – Vol. 53, № 3. – P. 857–873.
61. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018) / K. Thygesen, J. S. Alpert, A. S. Jaffe [et al.] // *European Heart Journal*. – 2019. – Vol. 40, № 3 – P. 237–269.
62. Fraccarollo D. Novel therapeutic approaches to post-infarction remodelling / D. Fraccarollo, P. Galuppo, J. Bauersachs // *Cardiovascular Research*. – 2012. – Vol. 94, № 2. – P. 293–303.
63. Framson P. E. SPARC and tumor growth : where the seed meets the soil? / P. E. Framson, E. H. Sage // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2004. – Vol. 92. – P. 679–690.
64. Frangogiannis N. G. Cardiac fibrosis // *Cardiovascular Research*. – 2021. – Vol. 117, № 6. – P. 1450–1488.

65. Frangogiannis N. G. Cardiac fibrosis : cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2019. – Vol. 65. – P. 70–99.
66. Frangogiannis N. G. Myofibroblasts in reperfused myocardial infarcts express the embryonic form of smooth muscle myosin heavy chain (SMemb) / N. G. Frangogiannis, L. H. Michael, M. L. Entman // *Cardiovascular Research*. – 2000. – Vol. 48. – P. 89–100.
67. Frangogiannis N. G. The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodeling // *Nature Reviews Cardiology*. – 2014. – Vol. 11. – P. 255–265.
68. Galectin-3 in autoimmunity and autoimmune diseases / F. L. de Oliveira, M. Gatto, N. Bassi [et al.] // *Experimental Biology and Medicine*. – 2015. – Vol. 240. – P. 1019–1028.
69. Garg P. Extra-cellular expansion in the normal, non-infarcted myocardium is associated with worsening of regional myocardial function after acute myocardial infarction / P. Garg, D. A. Broadbent, P. P. Swoboda [et al.] // *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*. – 2017. – Vol. 19. – P. 1–13.
70. Geissmann F. Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties / F. Geissmann, S. Jung, D. R. Littman // *Immunity*. – 2003. – Vol. 19, № 1. – P. 71–82.
71. Gene-expression profiles and transcriptional regulatory pathways that underlie the identity and diversity of mouse tissue macrophages / E. L. Gautier, T. Shay, J. Miller [et al.] // *Nature Reviews Immunology*. – 2012. – Vol. 13. – P. 1118–1128.
72. Genetic programs expressed in resting and IL-4 alternatively activated mouse and human macrophages: similarities and differences / F. O. Martinez, L. Helming, R. Milde [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol. 121. – P. e57–e69.
73. Ginhoux F. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis / F. Ginhoux, S. Jung // *Nature Reviews Immunology*. – 2014. – Vol. 14, № 6. – P. 392–404.
74. Glezeva N. Monocyte and macrophage subsets along the continuum to heart failure: misguided heroes or targetable villains? / N. Glezeva, S. Horgan, J. A.

- Baugh // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2015. – Vol. 89. – P. 136–145.
75. Gordon S. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions / S. Gordon, F. O. Martinez // *Immunity*. – 2010. – Vol. 32, № 5. – P. 593–604.
76. Growth-differentiation factor 15 and osteoprotegerin in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock—a biomarker substudy of the IABP-SHOCK II-trial / G. Fuernau, C. Poenisch, I. Eitel [et al.] // *European Journal of Heart Failure*. – 2014. – Vol. 16. – P. 880–887.
77. Hanna A. Validation of diagnostic criteria and histopathological characterization of cardiac rupture in the mouse model of nonreperfused myocardial infarction / A. Hanna, A. V. Shinde, N. G. Frangogiannis // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2020. – Vol. 319, № 5. – P. H948–H964.
78. Heart failure is a common complication after acute myocardial infarction in patients with diabetes: A nationwide study in the SWEDHEART registry / V. Ritsinger, T. Nyström, N. Saleh [et al.] // *European Journal of Preventive Cardiology*. – 2020. – Vol. 27, № 17. – P. 1890–1901.
79. Heart-resident CCR2+ macrophages promote neutrophil extravasation through TLR9/MyD88/CXCL5 signaling / W. Li, H.-M. Hsiao, R. Higashikubo [et al.] // *JCI Insight*. – 2016. – Vol. 1. – P. e87315.
80. Heme induces heme oxygenase 1 via Nrf2: role in the homeostatic macrophage response to intraplaque hemorrhage / J. J. Boyle, M. Johns, J. Lo [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2011. – Vol. 31. – P. 2685–2691.
81. Hinz B. The myofibroblast : paradigm for a mechanically active cell // *Journal of Biomechanics*. – 2010. – Vol. 43. – P. 146–155.
82. Holness C. L. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins / C. L. Holness, D. L. Simmons // *Blood*. – 1993. – Vol. 81. – P. 1607–1613.

83. Human monocytes express CD163, which is upregulated by IL-10 and identical to p155 / T. H. Sulahian, P. Högger, A. E. Wahner [et al.] // *Cytokine*. – 2000. – Vol. 12. – P. 1312–1321.
84. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites / F. K. Swirski, M. Nahrendorf, M. Etzrodt [et al.] // *Science*. – 2009. – Vol. 325. – P. 612–617.
85. Impact of heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets on myocardial salvage in patients with primary acute myocardial infarction / H. Tsujioka, T. Imanishi, H. Ikejima [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2009. – Vol. 54, № 2. – P. 130–138.
86. Impaired infarct healing in atherosclerotic mice with Ly-6Chi Monocytosis / P. Panizzi, F. K. Swirski, J. L. Figueiredo [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2010. – Vol. 55. – P. 1629–1638.
87. Improved outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction during the last 20 years are related to implementation of evidence-based treatments: experiences from the SWEDHEART registry 1995-2014 / K. Szummer, L. Wallentin, L. Lindhagen [et al.] // *European Heart Journal*. – 2017. – Vol. 38, № 41. – P. 3056–3065.
88. In vivo silencing of the transcription factor IRF5 reprograms the macrophage phenotype and improves infarct healing / G. Courties, T. Heidt, M. Sebas [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2014. – Vol. 63. – P. 1556–1566.
89. Infarct scar as living tissue / Y. Sun, M. F. Kiani, Postlethwaite A.E. [et al.] // *Basic Research in Cardiology*. – 2002. – Vol. 97. – P. 343–347.
90. Inflammation and cardiovascular diseases: lessons from seminal clinical trials / L. Liberale, F. Montecucco, L. Schwarz [et al.] // *Cardiovascular Research*. 2021. – Vol. 117, № 2. – P. 411–422.
91. Innate immunity as a target for acute cardioprotection / C. J. Zuurbier, A. Abbate, H. A. Cabrera-Fuentes [et al.] // *Cardiovascular Research*. – 2019. – Vol. 115, № 7. – P. 1131–1142.

92. Interleukin-12p35 deletion promotes CD4 T-cell-dependent macrophage differentiation and enhances angiotensin II-Induced cardiac fibrosis / Y. Li, C. Zhang, Y. Wu [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2012. – Vol. 32. – P. 1662–1674.
93. Intracoronary infusion of mononuclear cells from bone marrow or peripheral blood compared with standard therapy in patients after acute myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention: results of the randomized controlled HEBE / A. Hirsch, R. Nijveldt, P. V. D. Vleuten [et al.] // *European Heart Journal*. – 2011. – Vol. 32. – P. 1736–1747.
94. Jennings R.B. Structural changes in myocardium during acute ischemia / R.B. Jennings, C.E. Ganote // *Circulation Research*. – 1974. – Vol. 35. – P. 156–172.
95. Kong P. The pathogenesis of cardiac fibrosis / P. Kong, P. Christia, N. G. Frangogiannis // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2014. – Vol. 71. – P. 549–574.
96. Kzhyshkowska J. Multifunctional receptor stabilin-1 in homeostasis and disease // *Scientific World Journal*. – 2010. – Vol. 10. – P. 2039–2053.
97. Left Ventricular Reconstruction for Postinfarction Left Ventricular Aneurysm: Review of Surgical Techniques / A. Ruzza, L. S. C. Czer, F. Arabia [et al.] // *Texas Heart Institute Journal*. – 2017. – Vol. 44. – P. 326–335.
98. Levels of soluble CD163 and severity of malaria in children in Ghana / K. A. Kusi, B. A. Gyan, B. Q. Goka [et al.] // *Clinical and Vaccine Immunology*. – 2008. – Vol. 15. – P. 1456–1460.
99. Long term outcome after mononuclear bone marrow or peripheral blood cells infusion after myocardial infarction / R. Delewi, A. V. D. Laan, L. Robbers [et al.] // *Heart*. – 2015. – Vol. 101. – P. 363–368.
100. Ly-6C high monocytes depend on Nr4a1 to balance both inflammatory and reparative phases in the infarcted myocardium / I. Hilgendorf, L. M. S. Gerhardt, T. C. Tan [et al.] // *Circulation Research*. – 2014. – Vol. 114. – P. 1611–1622.

101. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm / C. D. Mills, K. Kincaid, J. M. Alt [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2000. – Vol. 164, № 12. – P. 6166–6173.
102. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines / P. J. Murray, J. E. Allen, S. K. Biswas [et al.] // *Immunity*. – 2014. – Vol. 41, № 1. – P. 14–20.
103. Macrophage Plasticity and Function in the Eye and Heart / Z. Wang, A. L. Koenig, K. J. Lavine, R. S. Apte // *Trends in Immunology*. – 2019. – Vol. 40, № 9. – P. 825–841.
104. Macrophage serum markers in pneumococcal bacteremia: prediction of survival by soluble CD163 / H. J. Møller, S. K. Moestrup, N. Weis [et al.] // *Critical Care Medicine*. – 2006. – Vol. 34, № 10. – P. 2561–2366.
105. Macrophages are required for neonatal heart regeneration / A. B. Aurora, E. R. Porrello, W. Tan [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2014. – Vol. 124, № 3. – P. 1382–1392.
106. Macrophages Facilitate Electrical Conduction in the Heart / M. Hulsmans, S. Clauss, L. Xiao [et al.] // *Cell*. – 2017. – Vol. 169, № 3. – P. 510–522.e20.
107. Macrophages regulate salt-dependent volume and blood pressure by a vascular endothelial growth factor-C-dependent buffering mechanism / A. Machnik, W. Neuhofer, J. Jantsch [et al.] // *Nature Medicine*. – 2009. – Vol. 15, № 5. – P. 545–552.
108. Management of cardiogenic shock complicating myocardial infarction: an update 2019 / H. Thiele, E. Magnus Ohman, S. de Waha-Thiele [et al.] // *European Heart Journal*. – 2019. – Vol. 40, № 32. – P. 2671–2683.
109. Mapping macrophage polarization over the myocardial infarction time continuum / A. J. Mouton, K. Y. DeLeon-Pennell, O. J. Rivera Gonzalez [et al.] // *Basic Research in Cardiology*. – 2018. – Vol. 113. – P. 1–18.
110. Marijianowski M. M. Remodeling after myocardial infarction in humans is not associated with interstitial fibrosis of noninfarcted myocardium / M. M.

- Marijianowski, P. Teeling, A. E. Becker // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1997. – Vol. 30. – P. 76–82.
111. MCSF expression is induced in healing myocardial infarcts and may regulate monocyte and endothelial cell phenotype / N. G. Frangogiannis, L. H. Mendoza, G. Ren [et al.] // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2003. – Vol. 285. – P. H483–H492.
112. Mechanical coupling between myofibroblasts and cardiomyocytes slows electric conduction in fibrotic cell monolayers / S. A. Thompson, C. R. Copeland, D. H. Reich [et al.] // *Circulation Research*. – 2011. – Vol. 123. – P. 2083–2093.
113. Mechanical force regulation of myofibroblast differentiation in cardiac fibroblasts / J. Wang, H. Chen, A. Seth, C. A. McCulloch // *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*. – 2003. – Vol. 285. – P. H1871–H1881.
114. MerTK expression and ERK activation are essential for the functional maturation of osteopontin-producing reparative macrophages after myocardial infarction / K. Shirakawa, J. Endo, M. Kataoka [et al.] // *Journal of the American Heart Association*. – 2020. – Vol. 9, № 18. – P. e017071.
115. Microlocalization of CD68+ tumor-associated macrophages in tumor stroma correlated with poor clinical outcomes in oral squamous cell carcinoma patients / Y. H. Ni, L. Ding, X. F. Huang [et al.] // *Tumor Biology*. – 2015. – Vol. – 36. P. 5291–5298.
116. Molecular imaging for efficacy of pharmacologic intervention in myocardial remodeling / S.W. van den Borne, S. Isobe, H. R. Zandbergen [et al.] // *JACC: Cardiovascular Imaging*. – 2009. – Vol. 2. – P. 187–198.
117. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior / C. Auffray, D. Fogg, M. Garfa [et al.] // *Science*. – 2007. – Vol. 317, № 5838. – P. 666–670.
118. Monocyte subset accumulation in the human heart following acute myocardial infarction and the role of the spleen as monocyte reservoir / A. V. D.

- Laan, E. T. Horst, R. Delewi [et al.] // *European Heart Journal*. – 2014. – Vol. 35. – P. 376–385.
119. Monocyte subset accumulation in the human heart following acute myocardial infarction and the role of the spleen as monocyte reservoir / A. M. van der Laan, E. N. Ter Horst, R. Delewi [et al.] // *European Heart Journal*. – 2014. – Vol. 35, № 6. – P. 376–385.
120. Monocyte-directed RNAi targeting CCR2 improves infarct healing in atherosclerosis-prone mice / M. D. Majmudar, E. J. Keliher, T. Heidt [et al.] // *Circulation*. – 2013. – Vol. 127. – P. 2038–2046.
121. Monocyte-lymphocyte cross-communication via soluble CD163 directly links innate immune system activation and adaptive immune system suppression following ischemic stroke / G. C. O'Connell, C. S. Tennant, N. Lucke-Wold [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 1–14.
122. Monocytic fibroblast precursors mediate fibrosis in angiotensin-II-induced cardiac hypertrophy / S. B. Haudek, J. Cheng, J. Du [et al.] // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2010. – Vol. 49. – P. 499–507.
123. Mphi1 and Mphi2 can be re-polarized by Th2 or Th1 cytokines, respectively, and respond to exogenous danger signals / A. Gratchev, J. Kzhyshkowska, K. Köthe [et al.] // *Immunobiology*. – 2006. – Vol. 211, № 6-8. – P. 473–486.
124. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling / J. J. Tomasek, G. Gabbiani, B. Hinz [et al.] // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2002. – Vol. 3. – P. 349–363.
125. Nahrendorf M. Abandoning M1/M2 for a network model of macrophage function / M. Nahrendorf, F. K. Swirski // *Circulation Research*. – 2016. – Vol. 119. – P. 414–417.
126. Nahrendorf M. Myeloid cell contributions to cardiovascular health and disease // *Nature Medicine*. – 2018. – Vol. 24. – P. 711–720.

127. National trends in heart failure hospitalization after acute myocardial infarction for Medicare beneficiaries 1998-2010 / J. Chen, A. F. C. Hsieh, K. Dharmarajan [et al.] // *Circulation*. – 2013. – Vol. 128. – P. 2577–2584.
128. Novel function of alternatively activated macrophages: Stabilin-1-mediated clearance of SPARC / J. Kzhyshkowska, G. Workman, M. Cardo-Vila [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2006. – Vol. 176. – P. 5825–5832.
129. Novel markers to delineate murine M1 and M2 macrophages / K. A. Jablonski, S. A. Amici, L. M. Webb [et al.] // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol. 8. – P. 1–25.
130. Nr4a1-dependent Ly6C(low) monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal / L. M. Carlin, E. G. Stamatiades, C. Auffray [et al.] // *Cell*. – 2013. – Vol. 153, № 2. – P. 362–375.
131. Oishi Y. Macrophages in inflammation, repair and regeneration / Y. Oishi, I. Manabe // *International Immunology*. – 2018. – Vol. 30, № 11. – P. 511–528.
132. Pathophysiology of ST-segment elevation myocardial infarction: Novel mechanisms and treatments / F. Montecucco, F. Carbone, T.H. Schindler // *European Heart Journal*. – 2016. – Vol. 37. – P. 1268–1283.
133. Perspectives for Monocyte/Macrophage-Based Diagnostics of Chronic Inflammation / J. Kzhyshkowska, A. Gudima, K. Moganti [et al.] // *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. – 2016. – Vol. 43, № 2. – P. 66–77.
134. PET/MRI of inflammation in myocardial infarction / W. W. Lee, B. Marinelli, A. V. D. Laan [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology* – 2012. – Vol. 59. – P. 153–163.
135. Physiological implications of myocardial scar structure / W. J. Richardson, S. A. Clarke, T. A. Quinn, J W. Holmes // *Comprehensive Physiology*. – 2015. – Vol. 5. – P. 1877–1909.
136. Piek A. The fibrosis-cell death axis in heart failure / A. Piek, R. A. de Boer, H. H. Sillje // *Heart Failure Reviews*. – 2016. – Vol. 21. – P. 199–211.

137. Post-infarct cardiac rupture : recent insights on pathogenesis and therapeutic interventions / X. M. Gao, D. A. White, A. M. Dart, X. J. Du // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2012. – Vol. 134. – P. 156–179.
138. Prespecified candidate biomarkers identify follicular lymphoma patients who achieved longer progression-free survival with bortezomib-rituximab versus rituximab / B. Coiffier, W. Li, E. D. Henitz [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2013. – Vol. 19. – P. 2551–2561.
139. Prevalence and prognosis of ventricular tachycardia/ventricular fibrillation in patients with post-infarction left ventricular aneurysm : Analysis of 575 cases / X. Ning, X. Ye, Y. Si [et al.] // *Journal of Electrocardiology*. – 2018. – Vol. 51. – P. 742–746.
140. Primary angioplasty versus fibrinolysis in acute myocardial infarction: long-term follow-up in the Danish acute myocardial infarction 2 trial / P. H. Nielsen, M. Maeng, M. Busk [et al.] // *Circulation*. – 2010. – Vol. 121. – P. 1484–1491.
141. Primitive Embryonic Macrophages are Required for Coronary Development and Maturation / J. Leid, J. Carrelha, H. Boukarabila [et al.] // *Circulation Research*. – 2016. – Vol. 118, № 10. – P. 1498–1511.
142. Prognostic impact of established and novel renal function biomarkers in myocardial infarction with cardiogenic shock: a biomarker substudy of the IABP-SHOCK II-trial / G. Fuernau, C. Poenisch, I. Eitel [et al.] // *International Journal of Cardiology*. – 2015. – Vol. 191. – P. 159–166.
143. Prognostic significance of peripheral monocytosis after reperfused acute myocardial infarction: a possible role for left ventricular remodeling / Y. Maekawa, T. Anzai, T. Yoshikawa [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2002. – Vol. 39. – P. 241–246.
144. Prognostic value of myocardial infarct size and contractile reserve using magnetic resonance imaging / S. Kelle, S. D. Roes, C. Klein [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2009. – Vol. 54. – P. 1770–1777.

145. Progressive replacement of embryo-derived cardiac macrophages with age / K. Molawi, Y. Wolf, P. K. Kandalla [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2014. – Vol. 211, № 11. – P. 2151–2158.
146. Proliferation and recruitment contribute to myocardial macrophage expansion in chronic heart failure / H. B. Sager, M. Hulsmans, K. J. Lavine [et al.] // *Circulation Research*. – 2016. – Vol. 119. – P. 853–864.
147. Rapid monocyte kinetics in acute myocardial infarction are sustained by extramedullary monocytopoiesis / F. Leuschner, P. J. Rauch, T. Ueno [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2012. – Vol. 209. – P. 123–137.
148. Ratcliffe N. R. Immunocytochemical detection of Fcγ receptors in human atherosclerotic lesions / N. R. Ratcliffe, S. M. Kennedy, P. M. Morganelli. *Immunology Letters*. – 2001. – Vol. 77. – P. 169–174.
149. Regulation of scavenger receptor CD163 expression in human monocytes and macrophages by pro- and antiinflammatory stimuli / C. Buechler, M. Ritter, E. Orsó [et al.] // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2000. – Vol. 67. – P. 97–103.
150. Regulation of Type 2 Immunity in Myocardial Infarction / J. Y. Xu, Y. Y. Xiong, X. T. Lu, Y. J. Yang // *Frontiers in Immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1–18.
151. Relations between implementation of new treatments and improved outcomes in patients with non-ST-elevation myocardial infarction during the last 20 years : experiences from SWEDHEART registry 1995 to 2014 / K. Szummer, L. Wallentin, L. Lindhagen [et al.] // *European Heart Journal*. – 2018. – Vol. 39, № 42. – P. 3766–3776.
152. Relationship between peripheral monocytosis and nonrecovery of left ventricular function in patients with left ventricular dysfunction complicated with acute myocardial infarction / Y. J. Hong, M. H. Jeong, Y. Ahn [et al.] // *Circulation Journal*. – 2007. – Vol. 71, № 8. – P. 1219–1224.
153. Remodeling of the mononuclear phagocyte network underlies chronic inflammation and disease progression in heart failure critical importance of the

- cardiosplenic axis / M. A. Ismahil, T. Hamid, S. S. Bansal [et al.] // *Circulation Research*. – 2014. – Vol. 114. – P. 266–282.
154. Resident cardiac macrophages: crucial modulators of cardiac (patho)physiology / M. Sansonetti, F. J. G. Waleczek, M. Jung [et al.] // *Basic Research in Cardiology*. – 2020. – Vol. 115. – P. 1–15.
155. Revisiting Cardiac Cellular Composition / A. R. Pinto, A. Ilinykh, M. J. Ivey [et al.] // *Circulation Research*. – 2016. – Vol. 118, № 3. – P. 400–409.
156. Risk factors for acute kidney injury in patients with acute myocardial infarction / C. Wang, Y. Y. Pei, Y. H. Ma [et al.] // *Chinese Medical Journal*. – 2019. – Vol. 132, № 14. – P. 1660–1665.
157. Roche P. L. Intracellular signaling of cardiac fibroblasts / P. L. Roche, K. L. Filomeno, R. A. Bagchi, M. P. Czubyrt // *Comprehensive Physiology*. – 2015. – Vol. 5. – P. 721–760.
158. Role of apoptosis in the disappearance of infiltrated and proliferated interstitial cells after myocardial infarction / G. Takemura, M. Ohno, Y. Hayakawa [et al.] // *Circulation Research*. – 1998. – Vol. 82. – P. 1130–1138.
159. Role of Macrophages in Cardioprotection / J. Yap, H. A. Cabrera-Fuentes, J. Irei [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – Vol. 20, № 10. – P. 1–18.
160. Scar extent, left ventricular end-diastolic volume, and wall motion abnormalities identify high-risk patients with previous myocardial infarction: a multiparametric approach for prognostic stratification G. Di Bella, V. Siciliano, G. D. Aquaro [et al.] // *European Heart Journal*. – 2013. – Vol. 34. – P. 104–111.
161. Scavenger receptor structure and function in health and disease / I. A. Zani, S. L. Stephen, N. A. Mughal [et al.] // *Cells*. – 2015. – Vol. 4, № 2. – P. 178–201.
162. Scavenger receptors and their potential as therapeutic targets in the treatment of cardiovascular disease / S. L. Stephen, K. Freestone, S. Dunn [et al.] // *International Journal of Hypertension*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 1–22.

163. Self-renewing resident cardiac macrophages limit adverse remodeling following myocardial infarction / S.A. Dick, J.A. Macklin, S. Nejat [et al] // *Nature Immunology*. – 2019. – Vol. 20. – P. 29–39.
164. Serum C-reactive protein elevation in left ventricular remodeling after acute myocardial infarction – role of neurohormones and cytokines / T. Takahashi, T. Anzai, T. Yoshikawa [et al.] // *International Journal of Cardiology*. – 2003. – Vol. 88. – P. 257–265.
165. Serum levels of soluble CD163 in patients with systemic sclerosis / W. Nakayama, M. Jinnin, K. Makino [et al.] // *Rheumatology International*. – 2012. – Vol. 32. – P. 403–407.
166. Serum soluble CD163 predicts risk of type 2 diabetes in the general population / H. J. Moller, R. Frikke-Schmidt, S. K. Moestrup [et al.] // *Clinical Chemistry*. – 2011. – Vol. 57. – P. 291–297.
167. Shi S. S100A8/A9 promotes MMP-9 expression in the fibroblasts from cardiac rupture after myocardial infarction by inducing macrophages secreting TNF α / S. Shi, J. L. Yi // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. – 2018. – Vol. 22, № 12. – P. 3925–3935.
168. Shock in acute myocardial infarction: the Cape Horn for trials? / H. Thiele, B. Allam, G. Chatellier [et al.] // *European Heart Journal*. – 2010. – Vol. 31. – P. 1828–1835.
169. Silljé H. H. W. Heart failure: Macrophages take centre stage in the heartbrain431 kidney axis / H. H. W. Silljé, R. A. de Boer // *Nature Reviews Nephrology*. – 2017. – Vol. 13, № 7. – P. 388–390.
170. Single-cell expression profiling reveals dynamic flux of cardiac stromal, vascular and immune cells in health and injury / N. Farbehi, R. Patrick, A. Dorison [et al.] // *Elife*. – 2019. – Vol. 8. – P. e43882.
171. Soluble CD163 : a biomarker linking macrophages and insulin resistance / T. Parkner, L. Sørensen, A. Nielsen [et al.] // *Diabetologia*. – 2012. – Vol. 55. – P. 1856–1862.

172. Song L. Deletion of the murine scavenger receptor CD68 / L. Song, C. Lee, C. Schindler // *Journal of Lipid Research*. – 2011. – Vol. 52. – P. 1542–1550.
173. Specialized fibroblast differentiated states underlie scar formation in the infarcted mouse heart / X. Fu, H. Khalil, O. Kanisicak [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2018. – Vol. 128. – P. 2127–2143.
174. Stabilin-1 expression defines a subset of macrophages that mediate tissue homeostasis and prevent fibrosis in chronic liver injury / P. Rantakari, D. A. Patten, J. Valtonen [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2016. – Vol. 113, № 33. – P. 9298–9303.
175. Stabilin-1, a homeostatic scavenger receptor with multiple functions / J. Kzhyshkowska, A. Gratchev, S. Goerdts // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2006. – Vol. 10, № 3. – P. 635–649.
176. Sutton M. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy / M. Sutton, N. Sharpe // *Circulation*. – 2000. – Vol. 101. – P. 2981–2988.
177. Swirski F. K. Cardioimmunology: the immune system in cardiac homeostasis and disease / F. K. Swirski, M. Nahrendorf // *Nature Reviews Immunology*. – 2018. – Vol. 18. – P. 733–744.
178. Synergically increased expression of CD36, CLA-1 and CD68, but not of SR-A and LOX-1, with the progression to foam cells from macrophages / K. Tsukamoto, M. Kinoshita, K. Kojima [et al.] // *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. – 2002. – Vol. 9, № 1. – P. 57–64.
179. Systematic validation of specific phenotypic markers for in vitro polarized human macrophages / C. A. Ambarus, S. Krausz, M. van Eijk [et al.] // *Journal of Immunological Methods*. – 2012. – Vol. 75, № 1-2. – P. 196–206.
180. Tallquist M. D. Cardiac fibroblast diversity // *Annual Review of Physiology*. – 2020. – Vol. 82. – P. 63–78.
181. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization / A. Mantovani, A. Sica, S. Sozzani, [et al.] // *Trends in Immunology*. – 2004. – Vol. 25, № 12. – P. 677–686.

182. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions / M. Nahrendorf, F.K. Swirski, E. Aikawa [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2007. – Vol. 204. – P. 3037–3047.
183. The Macrophage in cardiac homeostasis and disease: JACC macrophage in CVD series (Part 4) / K. J. Lavine, A. R. Pinto, S. Epelman [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2018. – Vol. 72. – P. 2213–2230.
184. The monocytic lineage specific soluble CD163 is a plasma marker of coronary atherosclerosis / L. P. Aristoteli, H. J. Møller, B. Bailey [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2006. – Vol. 184. – P. 342–347.
185. The myofibroblast, a key cell in normal and pathological tissue repair / I. A. Darby, N. Zakuan, F. Billet [et al.] // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2016. – Vol. 73. – P. 1145–1157.
186. The presence of tumor associated macrophages in tumor stroma as a prognostic marker for breast cancer patients / C. Medrek, F. Pontén, K. Jirström [et al.] // *BMC Cancer*. – 2012. – P. 1–9.
187. The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications / F. Triposkiadis, G. Karayannis, G. Giamouzis [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2009. – Vol. 54. – P. 1747–1762.
188. Tissue resident CCR2⁻ and CCR2⁺ cardiac macrophages differentially orchestrate monocyte recruitment and fate specification following myocardial injury / G. Bajpai, A. Bredemeyer, W. Li [et al.] // *Circulation Research*. – 2019. – Vol. 124. – P. 263–278.
189. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythromyeloid progenitors / E. Gomez Perdiguero, K. Klapproth, C. Schulz [et al.] // *Nature*. – 2015. – Vol. 518, № 7540. – P. 547–551.
190. Transcriptome analysis using next-generation sequencing / K. O. Mutz, A. Heilkenbrinker, M. Lönne [et al.] // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2013. – Vol. 24, № 1. – P. 22–30.

191. Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation / J. Xue, S. V. Schmidt, J. Sander [et al.] // *Immunity*. – 2014. – Vol. 40. – P. 274–288.
192. Transforming growth factor-beta-dependent Wnt secretion controls myofibroblast formation and myocardial fibrosis progression in experimental autoimmune myocarditis / P. Blyszczuk, B. Muller-Edenborn, T. Valenta [et al.] // *European Heart Journal*. – 2017. – Vol. 38. – P. 1413–1425.
193. Transition of macrophages to fibroblast-like cells in healing myocardial infarction / N. Haider, L. Boscá, H. R. Zandbergen [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2019. – Vol. 74. – P. 3124–3135.
194. Trial J. Mesenchymal stem cell-derived inflammatory fibroblasts mediate interstitial fibrosis in the aging heart / J. Trial, M. L. Entman, K. A. Cieslik // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2016. – Vol. 91. – P. 28–34.
195. Tumor-Associated Macrophages in Human Breast, Colorectal, Lung, Ovarian and Prostate Cancers / I. Larionova, G. Tuguzbaeva, A. Ponomaryova [et al.] // *Frontiers in Oncology*. – 2020. – Vol. 10. – P. e566511.
196. Turner N. A. Function and fate of myofibroblasts after myocardial infarction / N. A. Turner, K. E. Porter // *Fibrogenesis Tissue Repair*. – 2013. – Vol. 6. – P. 1–10.
197. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) / B. Ibanez, S. James, S. Agewall [et al.] // *European Heart Journal*. – 2018. – Vol. 39, № 2. – P. 119–177.
198. Wynn T. A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis // *The Journal of Pathology*. – 2008. – Vol. 214. – P. 199–210.
199. Wynn T. A. Macrophage biology in development, homeostasis and disease / T. A. Wynn, A. Chawla, J. W. Pollard // *Nature*. – 2013. – Vol. 496, № 7446. – P. 445–555.

200. Wynn T. A. Macrophages: master regulators of inflammation and fibrosis / T. A. Wynn, L. Barron // *Seminars in Liver Disease*. – 2010. – Vol. 30. – P. 245–257.
201. Yafei Z. Correlation between macrophage infiltration and prognosis of ovarian cancer-a preliminary study / Z. Yafei, G. Jun, G. Guolan // *Biomedical Research*. – 2016. – Vol. 27, № 2. – P. 305–312.
202. Yang Z. Functions of arginase isoforms in macrophage inflammatory responses: Impact on cardiovascular diseases and metabolic disorders / Z. Yang, X. F. Ming // *Frontiers in Immunology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 1–10.
203. Zhang Z. Predictive risk factors of early onset left ventricular aneurysm formation in patients with acute ST-elevation myocardial infarction / Z. Zhang, J. Guo // *Heart & Lung*. – 2020. – Vol. 49, № 1. – P. 80–85.