

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КЛЕТОК МИОКАРДА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА И ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

© 2023 г. А. И. Стельмашенко^{1, 2}, С. Л. Андреев³, Л. С. Литвинова^{2, 4, *}, В. В. Малащенко⁴, Н. М. Тодосенко⁴, Н. Д. Газатова⁴, И. А. Хлусов^{1, 2}, В. М. Шипулин³

¹Кафедра морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета, Томск, 634050 Россия

²Лаборатория клеточных и микрофлюидных технологий Сибирского государственного медицинского университета, Томск, 634050 Россия

³Научно-исследовательский институт кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, 634012 Россия

⁴Центр иммунологии и клеточных биотехнологий Балтийского федерального университета им. И. Канта, Калининград, 236041 Россия

*E-mail: larisalitvinova@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.04.2023 г.

После доработки 26.04.2023 г.

Принята к публикации 29.04.2023 г.

В настоящей работе проведен сравнительный анализ цитокинового профиля миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и у пациентов с ишемической кардиомиопатией (ИКМП) на фоне ИБС. Методом проточной флюориметрии с использованием мультиплексной тест-системы проведено определение концентраций 41 цитокина, секретируемых 24-часовой тканевой культурой миокарда, интраоперационно забранного из ушка правого предсердия (ПП, контроль) и перинфарктной зоны (ПЗ) левого желудочка (ЛЖ). Цель работы – изучить *in vitro* цитокиновый профиль клеток миокарда для поиска возможных предикторов неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ИБС и ИКМП. У пациентов с ИКМП на фоне ИБС секреция миокардом провоспалительных молекул GM-CSF и IFN- γ значительно выросла (до 78–80 пг/г, $p < 0.05$) по сравнению с нулевыми значениями при ИБС. В то же время наблюдали 3-кратное снижение концентрации лиганда Fractalkine 3 (Flt-3L – лиганда fms-подобной тирозинкиназы 3). Падение секреции Flt-3L отмечено именно в ПЗ-ЛЖ в сравнении с УПП. Кроме того, в сравнении с ушком ПП, в тканевой культуре миокарда ПЗ-ЛЖ резко снижались концентрации фактора роста фибробластов-2 (FGF-2), тромбоцитарного фактора роста АВ/ВВ (PDGF-AB/BB), интерлейкинов IL-15 и IL-4, а также фактора, экспрессируемого и секретируемого нормальными Т-клетками при активации (RANTES/CCL5). Обнаруженные изменения анализируются с помощью корреляционного и регрессионного анализа; предлагаются возможные предикторы риска хирургического лечения пациентов двух групп. Предлагается рассмотреть провоспалительные цитокины (IL-5, IL-6) и хемокины (Flt-3L, IL-8), а также факторы ангиогенеза (VEGF) и ангиостаза (IP-10) в качестве потенциальных маркеров неблагоприятного исхода хирургического лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: цитокиновый профиль культуры миокарда, ишемическая кардиомиопатия, ишемическая болезнь сердца, корреляционный анализ, регрессионный анализ, ремоделирование левого желудочка

DOI: 10.31857/S0041377123050097, **EDN:** POBBZE

Миокард – это многокомпонентная ткань, состоящая из кардиомиоцитов (функциональных клеток) и внеклеточного матрикса, формирующего каркас сердца и включающего в себя различные клеточные популяции (фибробласты, адипоциты, резидентные макрофаги, эндотелиальные клетки и т.д.). При воспалении и регенерации фибробласты активируются мигрирующими из крови лейкоцитами, что усиливает секрецию ангиогенных и профиброгенных факторов, а также способность дифференцироваться в миофибробласты, адипоцитоподобные клетки, хондроциты и остеобласты (Choi et al., 2010). Такая

сложная многоклеточная система организации требует регуляторного и координирующего надзора за взаимоотношениями между клеточными популяциями, который обеспечивается, в том числе, различными цитокинами и факторами роста.

Нарушение баланса про- и противовоспалительных цитокинов является маркером неблагоприятного прогноза воспалительного процесса, способствует повреждению кардиомиоцитов и, как следствие, приводит к патологическому ремоделированию миокарда (Москалёв и др., 2017; Timonen et al., 2008; Хамитова и др., 2017). При этом воспаление миокар-

да приобретает хроническое течение, что, в итоге, становится причиной потери сократительной способности и дилатации камер сердца, преобладания продуктивного воспаления вследствие избыточной продукции профиброгенных цитокинов (Prabhu et al., 2016; Berezin et al., 2020; Kologrivova, 2021).

Известно, что концентрации IL-1, хемоаттрактантного белка моноцитов (MCP-1) и фактора некроза опухоли альфа (TNF α) в крови повышены при инфаркте миокарда и сердечной недостаточности. Это приводит к увеличению размеров и гибели кардиомиоцитов за счет активации каскадных реакций, таких как NF- κ B, JAK/STAT и PI3-киназа (Murakami et al., 2015). Считается, что цитокины определяют реализацию воспаления, его длительность и исход; в частности, активными участниками воспаления являются провоспалительные TNF α , хемокины IL-8 и MCP-1, а также противовоспалительный IL-10. Эти молекулы, наряду с другими, играют роль медиаторов каскада иммунного реагирования как единого целого и определяют координацию интегральных (иммунной, эндокринной, гемопоетической и фагоцитарной) систем организма (Симбирцев, 2018; Юрова и др., 2020). Они же являются главными биомаркерами течения воспаления (Bartekova et al., 2018).

В настоящее время существует достаточно исследований, описывающих цитокиновый профиль крови у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (см., например: Urazova et al., 2019; Van der Heijden et al., 2019; Henein et al., 2022). Ряд цитокинов, включая TNF- α , TGF- β и некоторые интерлейкины (IL-1, IL-4, IL-6, IL-8 и IL-18), участвуют в развитии различных воспалительных сердечных патологий, а именно ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, сердечной недостаточности и кардиомиопатии. Другие цитокины, такие как IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 и IL-10, участвуют в восстановлении тканей после ишемии и, таким образом, считается, что они оказывают благотворное влияние на сердечную функцию (Bartekova et al., 2018). Так, выявлено статистически значимое снижение в крови провоспа-

лительного хемокина IL-8 при дилатационной кардиомиопатии и ишемической кардиомиопатии (ИКМП) на фоне повышения концентрации провоспалительного цитокина TNF α , хемокина MCP-1 и противовоспалительного хемокина IL-10. Цитокины обнаружены в атеросклеротических бляшках и на внутренней поверхности сосудов, что может играть определенную патогенетическую роль в формировании ИКМП (Хамитова и др., 2017).

В то же время интерес представляет сам миокард, как синтетически активная ткань, клетки которой способны локально продуцировать биологически активные вещества, участвующие в фиброгенезе (Maass et al., 2005; Cojan-Minzat et al., 2021). Частые осложнения хирургического лечения пациентов с ИКМП в виде постинфарктного ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) (Гриценко и др., 2020) обуславливают необходимость поиска качественных и количественных предикторов неблагоприятного развития репаративного процесса.

Цель настоящей работы заключалась в изучении *in vitro* цитокинового профиля тканевой культуры миокарда для поиска возможных предикторов неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ишемической болезнью сердца и ишемической кардиомиопатией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал. Исследование проведено на материале интраоперационных биопсий из ушка правого предсердия (ПП) и перинфарктной зоны (ПЗ) миокарда, полученных от 14 пациентов с диагнозом ИКМП и ишемическая болезнь сердца (ИБС). Пациентам с ИКМП и ИБС проводилась венстрикулопластика по методике, предложенной Дором (Dor, 1997) в модификации по Мениканти (Menicanti, 2002) в сочетании с аортокоронарным шунтированием и пластикой митрального клапана при наличии соответствующих показаний.

В группу пациентов с ИБС и ИКМП вошли 9 человек (8 мужчин и 1 женщина), средний возраст пациентов составлял 64.8 ± 2.6 лет (минимальный и максимальный – 61 и 69 лет соответственно). В группу пациентов с ИБС без ИКМП вошли 5 пациентов мужского пола, средний возраст составил 52.0 ± 7.2 года (минимальный и максимальный 45 и 61 год соответственно). Критериями включения больных в основную группу исследования являлись критерии для постановки диагноза ишемическая кардиомиопатия, предложенные в 2002 г. (Felker et al., 2002), а именно: наличие участков акинеза и дискинеза ЛЖ, конечно-систолический индекс (КСИ) ЛЖ > 60 мл/м², фракция выброса ЛЖ $\leq 40\%$, длительность ИБС > 1 года и стеноз ствола левой коронарной артерии $> 75\%$ или проксимальный стеноз передней нисходящей артерии, или стенозы, превышающие 75%, не менее чем в двух коронарных артериях.

Принятые сокращения: ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИКМП – ишемическая кардиомиопатия; ИФ – иммуноферментный; КСИ – конечно-систолический индекс; ЛЖ – левый желудочек; ПЗ – перинфарктная зона; ПП – правое предсердие; CXCL/CCL – мотив С-Х-С хемокин/С-С мотив лиганд; EGF – эпидермальный фактор роста; FGF-2 – основной фактор роста фибробластов; Flt-3L – фракталкин-3 лиганд; Fractalkine – фракталкин; G-CSF – колониестимулирующий фактор гранулоцитов; GM-CSF – колониестимулирующий фактор гранулоцитов и моноцитов; GRO – онкоген, связанный с ростом опухоли; IFN – интерферон; IL – интерлейкин; IP-10 – гамма-интерферон индуцируемого белка 10; MCP – моноцитарный хемотаксический протеин; MDC – макрофагальный хемокин; MIP – макрофагальный белок воспаления; PDGF – тромбоцитарный фактор роста; RANTES/CCL5 – фактор, экспрессируемый и секретируемый нормальными Т-клетками при активации; sCD40L – трансмембранный гликопротеин типа I; TGF- α – трансформирующий фактор роста альфа; TNF – фактор некроза опухоли; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов.

Все пациенты проходили лечение в отделении сердечно-сосудистой хирургии Научно-исследовательского института кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН (НИИ кардиологии Томского НИМЦ) в период 2011–2022 гг. Все пациенты получили полную информацию об исследовании и дали осознанное письменное информированное согласие на добровольное участие в нем. Работа проведена с информированного согласия пациентов на основе разрешения локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 7981 от 16.12.2019 г.).

Морфометрическое исследование. Для гистологического исследования интраоперационные образцы миокарда фиксировали в 10%-ном забуференном формальдегиде, далее осуществляли стандартную проводку образцов с последующей заливкой в парафин и подготовкой серийных срезов (толщиной 3–5 мкм). Окрашивали гематоксилин-эозином (БиоВитрум, Россия) по стандартной методике.

Визуализацию изображения осуществляли в проходящем свете на микроскопе Axioskop 40 фирмы Carl Zeiss (Германия). Микрофотографии гистологических препаратов получали с помощью фотокамеры Canon G 10 (Япония) с разрешением 14 мегапикселей. Морфометрический анализ производили с помощью программы обработки графических изображений ImageJ v1.43 software (Национальный институт здоровья, Бетезда, США) в 10 случайных полях зрения, что соответствовало 1 мм² ткани. Для оценки таких морфологических изменений миокарда, как удельный объем внутриклеточного отека кардиомиоцитов, интерстициального отека, капилляров, паренхимы, стромы и ядер кардиомиоцитов, а также количественной оценки степени выраженности воспаления в сердце применяли метод точечного счета в 10 случайных полях, исключая перекрытие полей зрения.

Культивирование. Другие интраоперационные биопсии из УПП и перинфарктной зоны миокарда (объем извлеченной ткани ~1 мм³), полученные от 15 пациентов с диагнозом ИКМП и ИБС, помещали в пробирки со средой DMEM/F12, содержащей гентамицин и культивировали 24 ч при 37°C. Затем супернатанты (надосадочные жидкости) из тканевых культур центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об./мин, помещали в эппендорфы и хранили не более 1 мес. при температуре –80°C для последующего мультиплексного анализа. Вследствие некоторого разброса объема биопсийных образцов определяли их массу (табл. 1) на аналитических весах GR-202 (A&D Company, Токио, Япония) для перерасчета уровней цитокинов в культуре на 1 г ткани миокарда.

Мультиплексный ИФ-анализ по типу проточной флуориметрии. Количественное определение хемокинов, факторов роста, про- и противовоспалительных цитокинов проводили методом флуоресцентной проточной флуориметрии на автоматизированном

Таблица 1. Массы образцов биопсийного миокарда от пациентов разных групп

Пациент (n = 9)	Масса биоптата, полученного из ушка ПП (контроль), г (n ₁ = 7)	Масса биоптата, полученного из ПЗ-ЛЖ, г (n ₁ = 9)
Пациенты с ИКМП		
1	0.19 ± 0.01	0.16 ± 0.01
2	0.19 ± 0.03	0.03 ± 0.01
3	0.06 ± 0.03	0.11 ± 0.02
4	0.05 ± 0.01	0.01 ± 0.01
5	0.06 ± 0.03	0.05 ± 0.01
6	0.06 ± 0.00	0.06 ± 0.00
7	–	0.34 ± 0.01
8	–	0.03 ± 0.01
9	0.06 ± 0.01	0.21 ± 0.01
Пациенты с ИБС (n = 5; n ₁ = 5)		
1	0.10 ± 0.03	0.18 ± 0.02
2	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.01
3	0.10 ± 0.01	0.13 ± 0.02
4	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.02
5	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.01

Примечание. Даны средние значения и их стандартные отклонения; n – число пациентов; n₁ – число образцов миокарда.

анализаторе Bio-Plex Protein Assay System (Bio-Rad, США) с использованием коммерческой тест-системы MILLIPLIX MAP Human Cytokine/Chemokine Panel I, 41 plex kit (Merck Millipore, США). Для определения цитокинового профиля миокарда была выбрана следующая панель цитокинов: интерлейкины IL-1α, IL-1β, IL-1Ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17A; фактор некроза опухоли альфа (TNFα); фактор некроза опухоли бета (TNFβ); альфа-интерферон (IFN-α2); гамма-интерферон (IFNγ); эотаксин (CCL11); колониестимулирующий фактор гранулоцитов (G-CSF); колониестимулирующий фактор гранулоцитов и моноцитов (GM-CSF); трансформирующий фактор роста альфа (TGF-α); тромбоцитарный фактор роста (PDGF-AA и PDGF-AB/BB); индуцируемый гамма-интерфероном протеин 10 (IP-10); мотив C-X-C хемокин 10 (C-X-C motif chemokine 10, CXCL10); моноцитарный хемотаксический протеин-1 (MCP-1; chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2)); моноцитарный хемотаксический протеин-3 (MCP-3); макрофагальный белок воспаления 1α (MIP-1α; CCL3); макрофагальный белок воспаления 1β (MIP-1β; CCL4); фактор, экспрессируемый и секретуемый нормальными Т-клетками при активации (RANTES/CCL5); основной фактор роста фибробластов (FGF-2); фактор роста эндотелия сосудов (VEGF); эпидермальный фактор роста (EGF); онко-

ген, связанный с ростом опухоли (GRO); фракталкин (Fractalkine; Flt-3 лиганд; лиганд fms-подобной тирозинкиназы 3); трансмембранный гликопротеин типа I (sCD40L) и макрофагальный хемокин MDC (CCL22).

Концентрацию определяли по стандартной кривой для каждого набора (определяемый динамический диапазон 2–10000 пг/мл) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя (Merck Millipore, США). При статистической обработке значения уровня цитокинов, выходящие за нижнюю границу чувствительности метода (<2 пг/мл), принимали за 1 пг/мл.

Статистическая обработка результатов. Обработку выполняли с использованием пакета программ MS Excel и STATISTICA 10.0 for Windows (StatSoft Inc., США). Для проверки нормальности распределения использовали критерий Шапиро–Уилка. При распределении, отличающемся от нормального, для выявления отличий между группами использовали непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни для независимых выборок и описывали с указанием медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1–Q3). Корреляционный анализ проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при критическом уровне значимости $p < 0.05$. Зависимость между количественными признаками определяли с помощью линейного многофакторного регрессионного анализа. Для построения регрессионной модели использовалось 16 наблюдений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Секреция цитокинов, хемокинов и факторов роста у пациентов с ИБС и ИКМП. Согласно классификации цитокинов по концентрации (van den Broek et al., 2014), среди 41 цитокина, хемокина и фактора роста, секретируемых *in vitro* тканевой культурой миокарда у пациентов с ИКМП или ИБС, было выделено 4 группы биологически активных молекул. Группу цитокинов с наибольшей концентрацией (от 1000 до 10000 пг/мл) составили IL-8, MCP-1, IL-6 и GRO. Концентрация IL-8 вне зависимости от зоны миокарда (УПП или ПЗ-ЛЖ) и диагноза (ИКМП или ИБС) приближалась к максимальным значениям чувствительности мультиплексного ИФ-анализа (до 10000 пг/мл).

У пациентов с ИБС в группу цитокинов со средней концентрацией (от 100 до 1000 пг/мл) вошли: FGF-2, RANTES/CCL5, G-CSF и IP-10. Остальные цитокины и факторы роста, секретируемые клетками сердца пациентов с ИБС, были представлены в низкой (от 10 до 100 пг/мл) и следовой концентрациях (от 0 до 10 пг/мл).

У пациентов с ИКМП группу цитокинов с высокой концентрацией (от 1000 пг/мл) дополнил IL-7 (среднее значение его концентрации составило

1873.9 пг/мл). В группу цитокинов со средней концентрацией (от 100 до 1000 пг/мл) вошли IP-10, IL-5, IFN- γ , RANTES/CCL5 и FGF-2. Остальные цитокины и факторы роста, секретируемые клетками сердца пациентов с ИКМП, были представлены в низкой (от 10 до 100 пг/мл) и следовой концентрациях (от 0 до 10 пг/мл).

После биопсии участки миокарда несколько различались по массе (табл. 1), поэтому в дальнейшем концентрации цитокинов выражали в пикограммах на 1 грамм миокарда в 1 мл культуральной среды.

Сравнение пациентов с ИКМП и ИБС по секреции клетками сердца цитокинов и факторов роста. По результатам сравнения концентраций цитокинов, хемокинов и факторов роста у двух групп пациентов показано, что у пациентов с ИКМП секреция Flt-3L статистически значимо в 3 раза ниже, чем уровень этого лиганда в культуре миокарда пациентов с ИБС (табл. 2). С другой стороны, секреция GM-CSF и IFN- γ значительно выше (до 78–80 пг/г, $p < 0.05$) у пациентов в группе ИКМП, чем в группе ИБС с нулевыми значениями этих показателей.

При сопоставлении содержания цитокинов, хемокинов и факторов роста в культуральной среде в зависимости от зоны интереса в ПЗ-ЛЖ у пациентов с ИКМП или ИБС отмечено статистически значимое снижение (в сравнении с ушком ПП) секреции 6 аналитов: FGF-2 (до 26%, $p = 0.001$), Flt-3L (до 19%, $p = 0.003$), PDGF-AB/BB (до 30%, $p = 0.012$), IL-15 (до 0, $p = 0.007$), IL-4 (до 0, $p = 0.027$) и RANTES/CCL5 (до 15%, $p = 0.027$) (табл. 2).

При сравнении морфометрических показателей установлено, что у пациентов обеих групп наблюдения (ИБС и ИКМП) в ПЗ-ЛЖ частота встречаемости интерстициального отека и, особенно, удельного объема капилляров оказались резко сниженными соответственно в 15 ($p = 0.003$) и 61 ($p = 0.049$) раз по сравнению с соответствующими показателями в ушке ПП (рис. 1). Морфология миокарда ПЗ-ЛЖ характеризовалась наличием фиброзной ткани, а также кардиомиоцитов с признаками атрофии и компенсаторной гипертрофии (рис. 2).

Определение взаимосвязей между концентрацией цитокинов, хемокинов и факторов роста и морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ИКМП. Корреляционный анализ выявил положительные и отрицательные взаимосвязи между концентрацией цитокинов и такими морфометрическими показателями, как удельный объем интерстициального отека и удельный объем стромы миокарда, а также диаметр кардиомиоцитов и наличие воспалительного инфильтрата в сердце у пациентов с ИКМП (рис. 3а). Множественный регрессионный анализ показал обратно пропорциональную взаимосвязь между концентрацией IL-8 в миокарде и диаметром кардиомиоцитов у пациентов с ИКМП, а также прямо пропорциональную взаимосвязь между

Таблица 2. Концентрации цитокинов, хемокинов и факторов роста при 24-часовом культивировании образцов миокарда ушка ПП и ПЗ-ЛЖ от пациентов с ИКМП и ИБС

Цитокины, хемокины и факторы роста	Концентрация, пг на 1 г миокарда в 1 мл среды			
	ИБС (контроль; <i>n</i> = 5, <i>n</i> ₁ = 14)	ИКМП на фоне ИБС (<i>n</i> = 9, <i>n</i> ₁ = 27)	ПЗ-ЛЖ (<i>n</i> = 14, <i>n</i> ₁ = 41)	Ушко ПП (контроль; <i>n</i> = 12, <i>n</i> ₁ = 35)
EGF	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
FGF-2	6861.2 (3591.3–10060.8)	3512.3 (589.4–10010.6)	2669.1* (189.4–3674.6) <i>p</i> = 0.001	10 123.3 (6346.1–13952.3)
Eotaxin	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–179.7)	0.0 (0.0–0.0)
TGF-α	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
G-CSF	1514.8 (949.7–5467.0)	2327.5 (541.7–6981.2)	1437.3 (625.8–3468.5)	3603.6 (968.2–10709.9)
Flt-3L	812.8 (271.3–1296.0)	273.9* (67.5–733.9) <i>p</i> = 0.042	178.3* (82.8–312.2) <i>p</i> = 0.003	957.5 643.8–1192.0)
GM-CSF	0.0 (0.0–64.4)	80.0* (29.0–21.4) <i>p</i> = 0.026	47.4 (0.0–116.2)	67.9 (11.2–9.4)
Flt-3	853.5 (0.0–1401.2)	1149.6 (148.01–823.0)	788.1 (0.0–1689.6)	1196.1 (527.2–681.8)
IFNα2	269.1 (0.0–503.1)	182.9 (0.0–592.7)	87.5 (0.0–01.8)	411.0 (105.3–592.7)
IFN-γ	0.0 (0.0–45.6)	77.6* (25.3–130.9) <i>p</i> = 0.012	25.3 (0.0–90.1)	71.0 (17.6–84.1)
GRO	25225.2 (13777.8–33093.3)	20446.4 (1590.4–47288.6)	24317.9 (2774.9–1566.6)	21353.7 (8173.5–64494.3)
IL-10	0.7 (0.3–1.6)	0.6 (0.2–1.4)	0.8 (0.2–1.8)	0.6 (0.3–1.2)
MCP-3	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
IL-12p40	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
MDC	533.5 (400.51–656.9)	375.4 (132.4–544.9)	414.0 (117.7–556.8)	450.7 (345.1–733.3)
IL-12p70	16.2 (0.0–73.1)	39.3 (0.0–39.2)	38.3 (0.0–133.8)	17.3(0.0–95.5)
PDGF-AA	85.21 (0.0–139.8)	50.6 (0–115.5)	85.9 (0.0–139.8)	55.7 (0.0–97.3)
IL-13	79.2 (31.5–96.4)	115.5 (34.3–174.8)	94.7 (26.2–190.0)	82.9 (36.5–115.5)
PDGF-AB/BB	81Ю4 (60.7–184.8)	111.6 (18.5–245.9)	60.2* (0.0–108.8) <i>p</i> = 0.012	199.8 (83.3–264.2)
IL-15	50.9 (0.0–67.4) <i>p</i> 1 < 0.05	0.0* (0.0–17.8) <i>p</i> 1 < 0.05	0.0* (0.0–0.0) <i>p</i> = 0.007	50.9 (9.7–76.4)
sCD40L	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
IL-17A	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
IL-1RA	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
IL-1a	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
IL-9	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
IL-1b	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
IL-2	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
IL-3	8.4 (4.2–11.0)	11.4 (3.5–20.1)	9.3 (3.6–13.0)	10.4 (6.5–16.1)
IL-4	0.0 (0.0–192.2)	9.1 (0.0–278.5)	0.0* (0.0–5.2) <i>p</i> = 0.027	140.2 (0.0–472.4)
IL-5	11.9 (8.5–13.8)	18.2 (7.9–55.5)	15.8 (7.6–33.0)	14.2 (8.8–19.0)
IL-6	33452.9 (18382.3–57609.3)	40437.1 (2710.2–90352.0)	38160.3 (7907.5–95466.0)	32088.2 (9115.8–81466.6)
IL-7	299.2 (221.5–522.8)	770.6 (226.2–1143.6)	647.2 (295.8–1036.3)	430.4 (213.4–765.7)
IL-8	93824.7 (40033.1–153981.1)	133125.7 (1752.2–199863.3)	80796.6 (11 182.9–199987.0)	135778.7 (11 421.5–199795.7)
IP-10	1498.7 (815.6–2187.6)	2181.5 (1299.1–3857.4)	1511.6 (912.8–4123.0)	2182.3 (1397.2–3047.1)
MCP-1	46714.4 (27893.8–75625.4)	47304.1 (3124.7–115210.9)	47696.1 (17826.2–118332.6)	46714.4 (15794.5–98294.0)
MIP-1a	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–323.8)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–402.5)
MIP-1b	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–146.4)	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)
RANTES	1668.9 (443.9–3258.7)	1828.6 (263.8–3523.1)	501.4* (231.8–2120.0) <i>p</i> = 0.037	3258.7 (1565.6–5549.0)
TNFα	42.6 (28.5–86.8)	50.7 (23.7–82.7)	39.3 (23.9–86.8)	53.2 (24.8–82.7)
TNFβ	8.8 (4.3–13.9)	14.9 (5.4–29.6)	12.4 (5.6–29.0)	10.8 (4.8–19.3)
VEGF	0.0 (0.0–3864.9)	120.8 (0.0–2052.8)	120.7 (0.0–2775.6)	0.0 (0.0–2015.9)

Примечание. Данные представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1–Q3); (*) – различия между группами сравнения ИБС/ИКМП и ушко ПП/ПЗ-ЛЖ достоверны при *p* < 0.05 и выделены жирным шрифтом. Данные по зонам интереса (ушко ПП и ПЗ-ЛЖ) включают значения обеих групп пациентов (ИБС и ИКМП); *n* – число пациентов; *n*₁ – число определений концентраций.

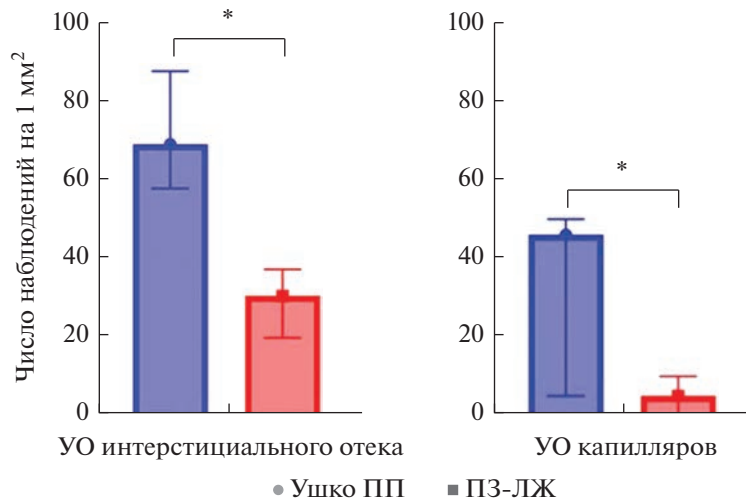


Рис. 1. Сравнительные морфометрические показатели миокарда в ушке правого предсердия (ПП; темный столбец) и перинфарктной зоне левого желудочка (ПЗ-ЛЖ; светлый столбец) в обеих группах наблюдений (ИБС и ИКМП). УО – удельный объем. Показаны медианы и квартильные размахи; (*) – различия достоверны при уровне значимости $p < 0.05$. По горизонтали показано наличие морфометрического показателя для ушка ПП и ПЗ-ЛЖ.

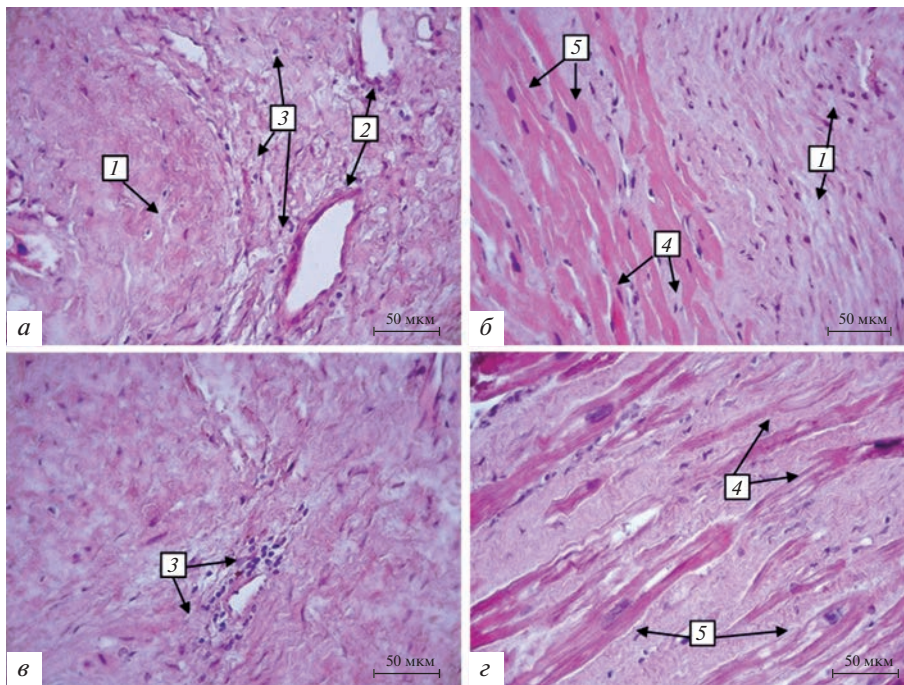


Рис. 2. Миокард перинфарктной зоны левого желудочка при ИБС сердца (а, в, г) и ИКМП (б). Показаны фиброз (1), кровеносные сосуды (2), слабо выраженный воспалительный инфильтрат (3), атрофия (4) и компенсаторная гипертрофия кардиомиоцитов (5). Окраска гематоксилин-эозином. Увел. об.: $\times 40$.

концентрацией IL-6 в миокарде и удельным объемом стромы миокарда пациентов с ИКМП (табл. 3).

Определение взаимосвязей между концентрацией цитокинов, хемокинов и факторов роста и морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ИБС. В ходе корреляционного анализа данных пациентов с ИБС наибольшее количество корреляционных

взаимосвязей было выявлено между цитокинами и такими морфометрическими показателями, как удельный объем паренхимы миокарда, удельный объем стромы миокарда, удельный объем интерстициального отека и удельный объем капилляров (рис. 3б). Множественный регрессионный анализ показал прямо пропорциональную взаимосвязь между кон-

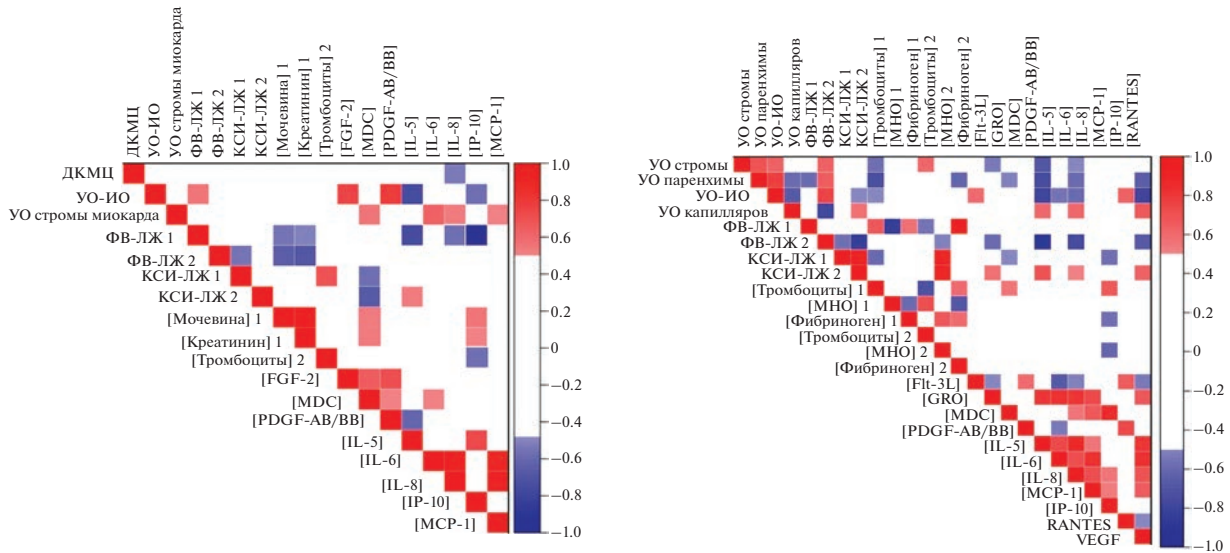


Рис. 3. Корреляции ($r > 0.5$) между морфометрическими, гемодинамическими, биохимическими показателями крови и концентрациями цитокинов в тканевой культуре миокарда, полученного от пациентов с ИКМП (а) и ИБС (б). Морфометрические показатели учитывали в обеих зонах миокарда: ушке ПП и ПЗ-ЛЖ; ДКМЦ – диаметр кардиомиоцитов; УО-ИО – удельный объем (УО) интерстициального отека (ИО); ФВ-ЛЖ – фракция выброса левого желудочка; КСИ-ЛЖ – конечно-систолический индекс левого желудочка; цифры 1 и 2 – значения измерены до и через 2 нед. после оперативного вмешательства соответственно. Квадратные скобки означают концентрацию. Шкала по вертикали отображает коэффициент корреляции Спирмена (r), где $-1 \geq r \geq -0.7/1 \geq r \geq 0.7$ означает сильную обратную/прямую линейную связь между коррелирующими показателями, $-0.7 > r \geq -0.5/0.7 > r \geq 0.5$ означает среднюю обратную/прямую линейную связь между коррелирующими показателями.

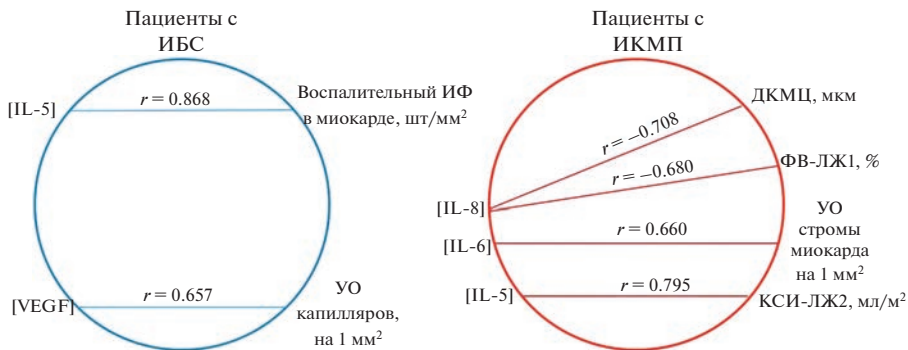


Рис. 4. Интегральная карта регрессионных взаимосвязей между концентрацией цитокинов и факторов роста в тканевой культуре миокарда с клинико-морфометрическими показателями у пациентов с ИБС и пациентов с ИКМП на фоне ИБС в соответствии с табл. 3. ИФ – инфильтрат; УО – удельный объем; ДКМЦ – диаметр кардиомиоцитов; ФВ-ЛЖ1 – фракция выброса левого желудочка, измеренная до оперативного вмешательства; КСИ-ЛЖ2 – конечно-систолический индекс левого желудочка, измеренный спустя 2 нед. после оперативного вмешательства. Квадратные скобки означают концентрацию.

центрацией IL-5 и количеством воспалительного инфильтрата в миокарде, а также концентрацией VEGF в миокарде и удельным объемом капилляров (табл. 3 и рис. 4).

Определение взаимосвязей между концентрацией цитокинов, гемокинов и факторов роста и гемодинамическими показателями сердца у пациентов с ИКМП. В ходе корреляционного анализа наибольшее количество взаимосвязей было выявлено между цитокинами и такими гемодинамическими показателями, как фракция выброса ЛЖ, измеренная до и после хирургической операции, и конечно-систолический индекс (КСИ), рассчитанный до операции (рис. 3а).

Множественный регрессионный анализ показал прямо пропорциональную взаимосвязь между концентрацией IL-5 в миокарде и индексом КСИ, рассчитанным после оперативного вмешательства у пациентов с ИКМП ($r = 0.795$) (табл. 3 и рис. 4), а также обратную связь между концентрацией IL-8 и фракцией выброса ЛЖ, измеренной до операции ($r = -0.680$).

Таблица 3. Стандартизированные β -коэффициенты в полученной модели множественной регрессионной связи морфометрических, гемодинамических и биохимических показателей с концентрациями цитокинов в тканевой культуре миокарда, полученного от пациентов с ИКМП

Цитокин (хемокин)	β -Коэффициент (К)	Стандартная ошибка К	p	R^2
Пациенты с ИКМП ($n = 16$)				
Диаметр кардиомиоцитов, мкм				
IL-8	-0.708334	0.182277	0.001285	0.502
УО стромы миокарда				
IL-6	0.660712	0.200617	0.005332	0.436
КСИ после операции				
IL-5	0.795798	0.161843	0.000227	0.633
Фракция выброса ЛЖ до операции				
IL-8	-0.680400	0.195860	0.003723	0.463
Концентрация мочевины в крови до операции, мМ				
MDC (CCL22)	0.687331	0.209683	0.006606	0.472
Концентрация креатинина в крови до операции, мкм				
MDC (CCL22)	0.677116	0.235695	0.030610	0.472
Концентрация тромбоцитов до операции, $10^9/\text{л}$				
IP-10	-0.678342	0.258031	0.048969	0.578
Пациенты с ИБС ($n = 10$)				
Воспалительный инфильтрат в миокарде, шт/ мм^2				
IL-5	0.868237	0.175416	0.001121	0.753
Удельный объем капилляров в миокарде, число наблюдений на 1 мм^2				
VEGF	0.657714	0.266320	0.038732	0.432

Примечание. Морфометрические показатели учитывали в обеих зонах миокарда: ушке ПП и ПЗ-ЛЖ. n – число пациентов; (*) – уровень достоверности p ; R^2 – коэффициент детерминации.

Определение взаимосвязей между концентрацией цитокинов, хемокинов и факторов роста и биохимическими показателями крови у пациентов с ИКМП. Для пациентов с ИКМП в ходе корреляционного анализа наибольшее количество корреляционных взаимосвязей было выявлено с такими биохимическими показателями, как международное нормализованное отношение (МНО), концентрация мочевины и креатинина, измеренными до операции, и между концентрацией фибриногена и количеством тромбоцитов, измеренных в течение двух недель после операции (рис. 5). Множественный регрессионный анализ (табл. 3) показал прямо пропорциональную взаимосвязь между концентрацией МDC (CCL2) в миокарде и концентрациями мочевины и креатинина, измеренными до оперативного вмешательства у пациентов с ИКМП ($r = 0.687$ и $r = 0.677$ соответственно), а также обратную связь между концентрацией IP-10 и содержанием тромбоцитов крови, измеренных в течение 1 нед. после операции пациентов с ИКМП ($r = -0.678$).

Множественный регрессионный анализ позволил получить стандартизированные коэффициенты линейной регрессии морфометрических, гемодинамических, биохимических показателей и секретиру-

емых миокардом цитокинов для группы пациентов с ИКМП (табл. 3).

Определение взаимосвязей между концентрацией цитокинов, хемокинов и факторов роста и биохимическими показателями крови у пациентов с ИБС. У этих пациентов достоверные корреляционные связи были определены между концентрацией цитокинов в миокарде (MDC (CCL2), IL-12p70, IL-8) и содержанием тромбоцитов, лейкоцитов и концентрациями общего белка, мочевины и глюкозы, измеренными и до оперативного лечения пациентов с ИБС, и в течение 2-х нед. после операции. Однако в ходе множественного регрессионного анализа достоверных различий между этими показателями обнаружено не было.

ОБСУЖДЕНИЕ

Локальное нарушение баланса цитокинов, по мнению многих исследователей, стимулирует повреждающее воздействие цитокинов на ткани сердца и является маркером неблагоприятного прогноза течения заболевания (Timonen et al., 2008; Хамитова и др., 2017; Симбирцев, 2018). В проведенном нами исследовании была выявлена группа провоспалительных

тельных цитокинов (GRO, IL-6, MCP-1 и IL-8), концентрация которых в миокарде приближалась к максимальным значениям чувствительности мультиплексного ИФ-анализа у пациентов с ИКМП на фоне ИБС и пациентов с ИБС без ИКМП (до 10000 пг/мл). Высокие концентрации перечисленных цитокинов можно рассматривать, на наш взгляд, как ключевые факторы хронического воспаления и, как следствие, риска патологического ремоделирования сердца для пациентов обеих групп.

В литературе представлены доказательства того, что повышенная концентрация в крови провоспалительных молекул (таких как TNF α , IL-1, IL-6, галлектин 3) при сердечной недостаточности подтверждает ключевую роль воспаления в ее прогрессировании (Москалёв и др., 2017). IL-6, наряду с IL-8, играет двоякую роль при повреждении миокарда. В острую фазу они обеспечивают защитную роль за счет снижения сократительной способности кардиомиоцитов и индукции антиапоптотической программы. В свою очередь высокие (>1000 пг/мл) концентрации IL-6 и IL-8 при длительном воздействии являются патогенными, что в конечном итоге приводит к хроническому воспалению и ремоделированию сердца (Hirota et al., 1995; Fontes et al., 2015; Ridker et al., 2017). MCP-1/CCCL2 является одним из ключевых хемокинов, регулирующих миграцию и инфильтрацию моноцитов (макрофагов) в ткани. Миграция моноцитов из кровотока через эндотелий сосудов необходима для рутинного иммунологического надзора и возникает в ответ на воспалительный процесс, пополняя пул тканевых макрофагов – основных участников воспалительного процесса в миокарде (Deshmane et al., 2009).

Ущерб, нанесенный сердечной мышце при инфаркте миокарда, является результатом двух процессов: острой ишемии и последующей реперфузии (Ibanez et al., 2015). Согласно экспериментальным данным, при инфаркте миокарда именно реперфузионным повреждением спровоцировано около 50% окончательного размера зоны повреждения (Yang et al., 2007). Выявленная нами повышенная концентрация хемокина Flt-3L в культуре миокарда у пациентов с ИБС без ИКМП может указывать на риск острого поражения большого объема ткани сердца вследствие микроциркуляторной обструкции сосудов и реперфузионного повреждения миокарда. Действительно, некоторые авторы (Spray et al., 2021, Damás et al., 2005, Voag et al., 2015) считают, что рецептор CX3CR1 к Flt-3L играет ключевую роль в развитии ишемии и реперфузионного повреждения миокарда. Спустя 90 мин после проведения реперфузии происходит связывание рецептора CX3CR1 с Flt-3L на эндотелии сосудов микроциркуляторного русла и эмиграция Т-лимфоцитов из кровотока в миокард, где иммунные клетки не только выступают в качестве активаторов воспаления, но и запускают апоптоз кардиомиоцитов при помощи провоспалительных цитокинов (Корнева, Доросевич, 2016; Spray et al., 2021).

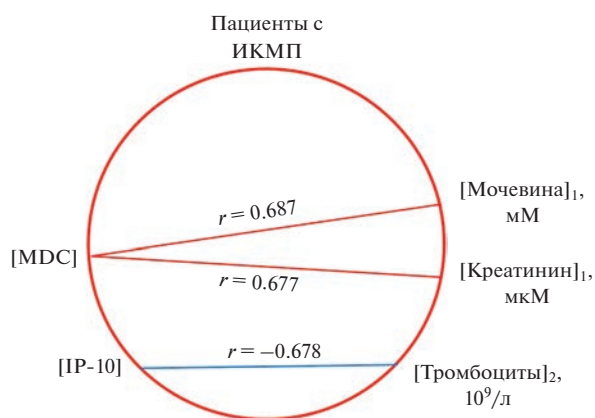


Рис. 5. Интегральная карта регрессионных взаимосвязей между концентрацией цитокинов в тканевой культуре миокарда и биохимическими показателями крови пациентов с ИКМП в соответствии с табл. 3. Квадратные скобки означают концентрацию, индексы 1 и 2 – значения измерены до и через 2 нед. после оперативного вмешательства соответственно.

Трехкратное падение уровня Flt-3L в миокарде пациентов с ИКМП (табл. 2) может предполагать качественное изменение репаративных и патологических процессов в сравнении с группой ИБС. При поиске таких качественных взаимосвязей (рис. 3) между концентрацией цитокинов и клинико-морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ИКМП на фоне ИБС выявлена обратная связь между концентрацией IL-8 и диаметром кардиомиоцитов, а также прямая связь между концентрацией IL-6 и УО стромы миокарда (рис. 4). Как уже было описано выше (Хамитова и др., 2017), длительное нарастание концентраций IL-6 и IL-8 приводит к утончению миофибрилл, конденсации и утрате ядра кардиомиоцитами вследствие апоптоза, и, как следствие, к уменьшению диаметра клеток. Провоспалительный фон стимулирует дифференцировку миофибробластов, которые активно продуцируют матрикс сердца, все больше замещая функциональную ткань сердца на соединительную (Timonen et al., 2008; Jiang, Rinkevich, 2018). Установленная прямая корреляция высокого уровня IL-6 с УО стромы в миокарде ($r = 0.66$; рис. 4) соответствует данным из литературы. В свою очередь обнаруженная обратная связь ($r = -0.68$) между концентрацией IL-8 и фракцией выброса ЛЖ, рассчитанной до операции (рис. 4), как одного из самых важных гемодинамических показателей сердца для постановки диагноза и показаний для проведения операции, также предполагает развитие фиброза миокарда. Еще одним важным гемодинамическим показателем сердца принято считать КСИ-ЛЖ, измеренный спустя более 6 мес после операции. Этот показатель необходим для прогнозирования исхода хирургического лечения (обратное или прогрессирующее ремоделирование ЛЖ со-

ответственно – благоприятный или неблагоприятный исход хирургического лечения).

В рамках пилотного исследования нам не удалось выявить изменения цитокинов при разных исходах хирургического лечения. Тем не менее, при ИБС IL-5 способствует с высокой степенью детерминации $R^2 = 0.85$ (R^2 – коэффициент детерминации) накоплению воспалительного клеточного инфильтрата в миокарде ($r = 0.92$; рис. 4). В свою очередь, при ИКМП прямая связь ($r = 0.795$; рис. 4) концентрации IL-5 с КСИ-ЛЖ, измеренным после операции, позволяет предположить участие в патологическом процессе клеток гуморального иммунитета, поскольку IL-5 стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов (Boren, Gershwin, 2004).

При поиске взаимосвязей между концентрацией цитокинов и клиничко-морфометрическими показателями миокарда у пациентов с ИБС без ИКМП было показано, что лишь концентрация VEGF значимо влияет на плотность капилляров в миокарде ($r = 0.657$; рис. 4). Это неудивительно, так как VEGF является одним из основных сигнальных белков, вырабатываемых клетками для стимулирования васкулогенеза и ангиогенеза (Шевченко и др., 2020). Морфофункциональное состояние ушка ПП дает основание для суждения о состоянии миокарда в целом (Кожевников, 2009). Поэтому резкое падение удельного объема капилляров в ПЗ-ЛЖ в сравнении с ушком ПП (рис. 1) отражает неблагоприятную тенденцию острой ишемии при ИБС с переходом в мало васкуляризованную соединительную ткань у пациентов с ИКМП. Действительно, в первое время после инфаркта миокарда перинфарктная зона морфологически характеризуется увеличенным объемом капилляров. Так, известно, что первые очаги ангиогенеза появляются в перинфарктной зоне на 3 сут после инфаркта; однако в процессе формирования рубца количество капилляров в ПЗ-ЛЖ снижается (Корнева, Доросевич, 2016; Шперлинг и др., 1989).

В этом плане падение секреции FGF-2 и PDGF-AB/BB в ПЗ-ЛЖ, в сравнении с ушком ПП, может быть молекулярным механизмом сниженной васкуляризации миокарда. FGF-2, помимо митогенной активности по отношению к фибробластам, модифицирует миграцию эндотелиальных клеток и выступает как ангиогенный фактор (Shvangiradze et al., 2016). PDGF-AB/BB также является одним из ключевых факторов ангиогенеза (Narasimhalu et al., 2015).

По результатам корреляционного (рис. 3) и регрессионного (табл. 3) анализа между концентрацией цитокинов/хемокинов, секретлируемых культурой миокарда, и биохимическими показателями крови, значимые связи были выявлены только в группе пациентов с ИКМП (рис. 5). Между концентрацией MDC в миокарде и концентрацией креатинина и мочевины в крови были установлены прямые связи ($r = 0.677$ и $r = 0.68$ соответственно) (рис. 5). MDC/CCL22 – хемокин, вырабатываемый макро-

фагами, играет важную роль в рекрутировании клеток Т-хелперов 2 типа в очаг воспаления, а также в регуляции иммунных реакций, связанных с Т-хелперами 2 типа. Помимо участия в хемотаксисе лейкоцитов, хемокин может усиливать функцию тромбоцитов, поскольку тромбоциты экспрессируют рецептор CCR4, с которым связывается MDC (Goudswaard, 2019). Прямое объяснение взаимосвязи этих показателей дать трудно, однако это может помочь заново взглянуть на доступные для исследования на дооперационном этапе биохимические показатели крови в качестве возможных предикторов послеоперационных осложнений.

Для концентрации IP-10 в миокарде и количества тромбоцитов в крови нами была показана обратная связь ($r = -0.680$) (рис. 5). IP-10 можно рассматривать как потенциальный эндогенный ингибитор ангиогенеза, обладающий ангиостатическим влиянием (Hueso et al., 2018). Поэтому секреция данного цитокина в перинфарктной зоне может быть молекулярным механизмом снижения удельного объема капилляров, выявленного на срезах миокарда (рис. 1).

С другой стороны, IP-10 является одним из цитокинов/хемокинов, ассоциированных с тромбозом (Robba et al., 2020). В нашем исследовании IP-10 входил в группу цитокинов, продуцируемых культурой миокарда *in vitro* в средней концентрации (от 100 до 1000 пг/мл). Отрицательная регрессия растущей концентрации IP-10 в миокарде с числом тромбоцитов в крови после операции ventрикулопластики не согласуется с данными из литературы, но является интересным фактом, требующим дальнейшего изучения в плане благоприятного прогностического фактора снижения риска послеоперационного тромбоза.

В целом рис. 4 и 5 показывают число регрессионных связей изученных показателей у пациентов с ИКМП, двукратно (6 против 3) превышающее таковое у больных ИБС. Согласно работе Гольдберга и соавторов (1996), увеличение взаимосвязей параметров в биологической системе отражает снижение ее пластичности и уменьшение вариантов исходов (реституция, субституция, гибель) при воздействии вторичных или постоянных раздражителей. Таким образом, *in vitro* оценка цитокинового профиля миокарда пациентов с ИКМП и ИБС свидетельствует о протекании воспалительных процессов в сердечной ткани разного характера, сначала острого, впоследствии хронического, частым неблагоприятным исходом которых является патологическое ремоделирование миокарда. Данные результаты согласуются с полученными ранее данными морфологического и иммуногистохимического исследования (Стельмашенко и др., 2019, 2020).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение *in vitro* цитокинового профиля тканевой культуры миокарда и связи гуморальных факто-

ров с клинико-морфометрическими показателями сердца и биохимией крови позволило предположить таргетные молекулярные механизмы и обозначить потенциальные предикторы исходов хирургического лечения пациентов с ИБС и ИКМП. У пациентов с ИКМП на фоне ИБС секреция миокардом провоспалительных молекул GM-CSF и IFN- γ значительно растет в отличие от нулевых значений в группе ИБС. В то же время отмечено 3-кратное снижение концентрации Flt-3L в ПЗ-ЛЖ в сравнении с ушком ПП. Кроме того, в сравнении с ушком ПП, в тканевой культуре миокарда ПЗ-ЛЖ резко снижались концентрации фактора роста фибробластов-2 (FGF-2), тромбоцитарного фактора PDGF-AB/BB, интерлейкинов IL-15 и IL-4, а также фактора RANTES/CCL5, экспрессируемого и секретируемого нормальными Т-клетками при активации. Молекулярные изменения в миокарде больных с ИКМП, вариации концентраций провоспалительных цитокинов (IL-5, IL-6) и хемокинов (Flt-3L, IL-8), факторов ангиогенеза и ангиостаза (VEGF, IP-10) могут служить молекулярными механизмами вялотекущего течения воспалительного процесса, патологической реструктуризации матрикса сердца, а также факторами значительного риска повторного ремоделирования миокарда ЛЖ, то есть неблагоприятного исхода хирургического лечения. При этом с самой высокой степенью детерминации ($R^2 = 0.85$) накопление инфилтратов в ткани миокарда, обусловленное IL-5 и свидетельствующее об активном течении воспаления у больных ИБС, может быть потенциальным предиктором сниженного риска развития ИКМП и повторного (патологического) ремоделирования миокарда ЛЖ после хирургического лечения.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Сибирскому государственному медицинскому университету за частичную поддержку в рамках Программы стратегического академического лидерства “Приоритет-2030”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-315-90051: Молекулярные, клеточные и тканевые маркеры неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Работа проведена с информированного согласия пациентов на основе разрешения локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ (протокол № 7981 от 16.12.2019 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.И. Стельмашенко: постановка цели и задач, планирование экспериментов, анализ результатов, написание статьи; И.А. Хлусов: постановка цели и задач, планирование экспериментов, написание статьи; С.Л. Андреев, В.М. Шипулин: предоставление клинического материала; А.И. Стельмашенко, Л.С. Литвинова, В.В. Малащенко, Н.Д. Тодосенко, Н.М. Газатова: постановка экспериментов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Удут В.В., Наумов С.А., Хлусов И.А. 1996. Закономерности структурной организации систем жизнеобеспечения в норме и при развитии патологического процесса. Томск. 283 с. (Gol'dberg E.D., Dygay A.M., Uduy V.V., Naumov S.A., Khlusov I.A. 1996. Regularities of structural organization of life support systems in norm and in development of pathological process. Tomsk. 283 p.)
- Гриценко О.В., Чумакова Г.А., Шевляков И.В., Веселовская Н.Г. 2020. Внеклеточный матрикс сердца и его изменения при фиброзе миокарда. Кардиология. Т. 60. № 6. С. 107. (Gritsenko O.V., Chumakova G.A., Shevlyakov I.V., Veselovskaya N.G. 2020. Extracellular matrix of the heart and its changes in myocardial fibrosis. *Kardiologiya*. V. 6. № 6. P. 107.) <https://doi.org/10.18087/cardio.2020.6.n773>
- Кожневников М.Л. 2009. Морфологические признаки вероятности послеоперационного ремоделирования левого желудочка у больных с приобретенными пороками сердца. Автореф. канд. дис. Томск. 23 с. (Kozhevnikov M.L. 2009. Morphological signs of the likelihood of postoperative left ventricular remodeling in patients with acquired heart defects. PhD Thesis. Tomsk. 23 p.)
- Корнева Ю.С., Доросевич А.Е. 2016. Динамика морфологических изменений в пограничной зоне при организации инфаркта миокарда. Медицинский вестник Северного Кавказа. Т. 11. № 3. С. 417. (Korneva Yu.S., Dorosevich A.E. 2016. Dynamic of morphological changes in border zone during myocardial infarction organization. *Med. News of North Caucasus*. V. 3. № 3. P. 417.) <https://doi.org/10.14300/mnnc.2016.11092>
- Москалёв А.В., Рудой А.С., Апчел В.Я. 2017. Хемокины, их рецепторы и особенности развития иммунного ответа. Вестник Российской военно-медицинской академии. Т. 2. С. 182. (Moskalev A.V., Rudoy A.S., Apchel V.Ya. 2017. Chemokines, their receptors and features of development of the immune answer. *Bull. Russ. Military Med. Acad.* V. 2. P. 182.)
- Симбирцев А.С. 2018. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. СПб: Фолиант. 512 с. (Simbircev A.S. 2018. Cytokines in pathogenesis and treatment of human diseases. SPb: Foliant. 512 p.)
- Стельмашенко А.И., Беляева С.А. 2019. Морфологические и молекулярные предикторы повторного ремоделирования левого желудочка при ишемической кардиомиопатии. Морфологический альманах имени В.Г. Ковеш-

- никова. Т. 17. № 4. С. 71. (*Stelmashenko A.I., Belyaeva S.A.* 2019. Morphological and molecular predictors of left ventricular remodeling in ischemic cardiomyopathy. V.G. Koveshnikov Morphological Almanac. V. 17. № 4. P. 71.)
- Стедьмашенко А.И., Беляева С.А., Ракина М.А., Андреев С.Л.* 2020. Роль макрофагов в ремоделировании левого желудочка у пациентов с ишемической кардиомиопатией. Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова. Т. 18. № 4. С. 61. (*Stelmashenko A.I., Belyaeva S.A., Rakina M.A., Andreev S.L.* 2020. The role of macrophages in left ventricular remodeling in patients with ischemic cardiomyopathy. Koveshnikov Morphological Almanac. V. 18. № 4. P. 61.)
- Хамитова К.А., Чепурная А.Н., Никуличева В.И., Сафуанова Г.Ш.* 2017. Содержание цитокиновых маркеров воспаления у больных при хронической сердечной недостаточности, обусловленной некоторыми кардиомиопатиями. Acta Biomed. Sci. Т. 2. № 3. С. 48. (*Khamitova K.A., Chepurnaya A.N., Nikulichева V.I., Safuanova G.Sh.* 2017. Content of cytokine inflammatory markers in patients with chronic heart failure caused by cardiomyopathy. Acta Biomed. Sci. V. 2. № 3. P. 48.)
- Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Коненков В.И., Хапаев Р.С., Нимаев В.В.* 2020. Полиморфизм генов фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и матриксных металлопротеиназ (MMP) при первичной лимфедеме конечностей. Медицинская иммунология. Т. 22. № 3. С. 497. (*Shevchenko A.V., Prokofyev V.F., Konenkov V.I., Khapaev R.S., Nimaev V.V.* 2020. Polymorphism of vascular endothelial growth factor gene (VEGF) and matrix metalloproteinase (MMP) genes in primary limb lymphedema. Med. Immunol. V. 22. № 3. P. 497.)
<https://doi.org/10.15789/1563-0625-POV-1913>
- Шперлинг И.Д., Аракелян Л.А.* 1989. Число и размеры желудочковых кардиомиоцитов человека и количество ядер в них. Цитология. Т. 31. № 4. С. 426. (*Sperling I.D., Arakelyan L.A.* 1989. Number and size of human ventricular cardiomyocytes and number of nuclei in them. Cell Tiss. Biol. (Tsitologiya). V. 31. № 4. P. 426.)
- Юрова К.А., Хазиахматова О.Г., Малащенко В.В., Норкин И.К., Иванов П.А., Хлусов И.А., Шунькин Е.О., Тодосенко Н.М., Мелашченко Е.С., Литвинова Л.С.* 2020. Клеточно-молекулярные аспекты воспаления, ангиогенеза и остеогенеза. Краткий обзор. Цитология. Т. 62. № 5. С. 305. (*Yurova K.A., Khaziakhmatova O.G., Malashchenko V.V., Shunkin E.O., Todosenko N.M., Norkin I.K., Ivanov P.A., Khlusov I.A., Melashchenko E.S., Litvinova L.S.* 2020. Cellular-molecular aspects of inflammation, angiogenesis and osteogenesis. A short review. Cell Tiss. Biol. (Tsitologiya). V. 62. № 5. P. 305.)
- Bartekova M., Radosinska J., Jelemensky M., Dhalla N.S.* 2018. Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease. Heart Fail Rev. V. 5. P. 733.
<https://doi.org/10.1007/s10741-018-9716-x>
- Berezin A.E., Berezin A.A.* 2020. Adverse cardiac remodeling after acute myocardial infarction: old and new biomarkers. Disease Markers. V. 2020. P. 21
<https://doi.org/10.1155/2020/1215802>
- Boag S.E., Das R., Shmeleva E.V., Bagnall A., Egred M., Howard N., Spyridopoulos I.* 2015. T lymphocytes and fractalkine contribute to myocardial ischemia/reperfusion injury in patients. J. Clin. Invest. V. 125. P. 3063.
<https://doi.org/10.1172/JCI80055>
- Boren E., Gershwin M.E.* 2004. Inflamm-aging: autoimmunity, and the immune-risk phenotype. Autoimmunity rev. V. 3. P. 401.
- Choi W., Wolber R., Gerwat W., Mann T., Batzer J., Smuda C., Liu H., Kolbe L., Hearing V.J.* 2010. The fibroblast-derived paracrine factor neuregulin-1 has a novel role in regulating the constitutive color and melanocyte function in human skin. J. of Cell Science. V. 123. P. 3102.
<https://doi.org/10.1242/jcs.064774>
- Cojan-Minzat B.O., Zlibut A., Agoston-Coldea L.* 2021. Non-ischemic dilated cardiomyopathy and cardiac fibrosis. Heart Fail. Rev. V. 26. P. 1081.
<https://doi.org/10.1007/s10741-020-09940-0>
- Damás J.K., Boullier A., Wæhre T., Smith C., Sandberg W.J., Green S., Quehenberger O.* 2005. Expression of fractalkine (CX3CL1) and its receptor, CX3CR1, is elevated in coronary artery disease and is reduced during statin therapy. Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biol. V. 25. P. 2567.
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000190672.36490.7b>
- Deshmane S.L., Kremlev S., Amini S., Sawaya B.E.* 2009. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): An overview. J. Interferon Cytokine Res. V. 29. P. 313.
<https://doi.org/10.1089/jir.2008.0027>
- Dor V.* 1997. Left ventricular aneurysms: The endoventricular circular patch plasty. Seminars in thoracic and cardiovascular surgery. V. 9. P. 123.
- Felker G.M., Shaw L.K., O'Connor C.M.* 2002. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research. J. Am. Coll. Cardiol. V. 39. P. 210.
[https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01738-7](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01738-7)
- Fontes J.A., Rose N.R., Čiháková D.* 2015. The varying faces of IL-6: From cardiac protection to cardiac failure. Cytokine. V. 74. P. 62.
<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.12.024>
- Goudswaard L.J.* 2019. Do the chemokines MDC and TARC contribute to obesity-related platelet hyperactivity and cardiovascular disease? Abstracts of the 1st Platelet Society Meeting. Bristol. P. 133. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09537104.2019.1693140>
- Henein M.Y., Vancheri S., Longo G., Vancheri F.* 2022. The role of inflammation in cardiovascular disease. Int. J. Mol. Sci. V. 23. P. 12906.
<https://doi.org/10.3390/ijms232112906>
- Hirota H., Yoshida K., Kishimoto T., Taga T.* 1995. Continuous activation of gp130, a signal-transducing receptor component for interleukin 6-related cytokines, causes myocardial hypertrophy in mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 92. P. 4862.
<https://doi.org/10.1073/pnas.92.11.486>
- Hueso L., Ortega R., Selles F., Wu-Xiong N.Y., Ortega J., Civera M., Ascaso J.F., Sanz M.J., Real J.T., Piqueras L.* 2018. Upregulation of angiostatic chemokines IP-10/CXCL10 and I-TAC/CXCL11 in human obesity and their implication for adipose tissue angiogenesis. Int. J. Obes. (Lond.). V. 42. P. 1406.
<https://doi.org/10.1038/s41366-018-0102-5>
- Ibáñez B., Heusch G., Ovize M., Van de Werf F.* 2015. Evolving therapies for myocardial ischemia/reperfusion injury. J. Am. College Cardiol. V. 65. P. 1454.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.02.032>

- Jiang D., Rinkevich Y. 2018. Defining skin fibroblastic cell types beyond CD90. *Frontiers Cell Devel. Biol.* V. 6. P. 133. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00133>
- Kologrivova I., Shtatolkina M., Suslova T., Ryabov V. 2021. Cells of the immune system in cardiac remodeling: Main players in resolution of inflammation and repair after myocardial infarction. *Front. Immunol.* V. 12. P. 664457. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.664457>
- Maass D.L., White J., Horton J.W. 2005. Nitric oxide donors alter cardiomyocyte cytokine secretion and cardiac function. *Crit. Care Med.* V. 33. P. 2794.
- Menicanti L. 2002. The Dor procedure: What has changed after fifteen years of clinical practice? *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* V. 124. P. 886. <https://doi.org/10.1067/mtc.2002.129140>
- Murakami T., Iwagaki H., Saito S. 2015. Equivalence of the acute cytokine surge and myocardial injury after coronary artery bypass grafting with and without a novel extracorporeal circulation system. *J. Int. Med. Res.* V. 33. P. 133. <https://doi.org/10.1177/147323000503300201>
- Narasimhalu K., Ma L., De Silva D.A., Wong M.C., Chang H.M., Chen C. 2015. Elevated platelet-derived growth factor AB/BB is associated with a lower risk of recurrent vascular events in stroke patients. *Int. J. Stroke.* V. 10. P. 85. <https://doi.org/10.1111/ijcs.1235>
- Prabhu S.D., Frangogiannis N.G. 2016. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: From inflammation to fibrosis. *Circ. Res.* V. 119. P. 91. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303577>
- Ridker P.M., Everett B.M., Thuren T., MacFadyen J.G., Chang W.H., Ballantyne C., Fonseca F., Nicolau J., Koenig W., Anker S., Kastelein J.P., Cornel Jan H., Pais P., Pella D., Genest J. et al. 2017. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. V. 377. P. 1119. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1707914>
- Robba C., Battaglini D., Pelosi P., Rocco P.R.M. 2020. Multiple organ dysfunction in SARS-CoV-2: MODS-CoV-2. *Expert Rev. Respir. Med.* V. 14. P. 865. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1778470>
- Shvangiradze T.A., Bondarenko I.Z., Troshina E.A., Shestakova M.V., Ilyin A.V., Nikankina L.V., Karpukhin A.V., Muzafarova T.A., Kipkeeva F.M., Grishina K.A., Kuzevanova A.Y. 2016. Profile of micrnas associated with coronary heart disease in patients with type 2 diabetes. *Obesity Metabolism.* V. 13. P. 34. <https://doi.org/10.14341/omet2016434-38>
- Spray L., Park C., Cormack S., Mohammed A., Panahi P., Boag S., Bennaceur K., Sopova K., Richardson G., Stangl V., Rech L., Rainer P., Ramos G., Hofmann U., Stellos K. et al. 2021. The fractalkine receptor CX3CR1 links lymphocyte kinetics in CMV-seropositive patients and acute myocardial infarction with adverse left ventricular remodeling. *Front. Immunol.* V. 12. P. 605857. <https://doi.org/10.1007/s00109-005-0035-z>
- Timonen P., Magga J., Risteli J., Punnonen K., Vanninen E., Turpeinen A., Tuomainen P., Kuusisto J., Vuolteenaho O., Peuhkurinen K. 2008. Cytokines, interstitial collagen and ventricular remodelling in dilated cardiomyopathy. *Int. J. Cardiol.* V. 124. P. 293. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.02.004>
- Urazova O., Chumakova S., Vins M., Maynagasheva E., Shipulin V., Pryahin A., Poletika V., Kononova T., Kolobovnikova Y., Novitskiy V. 2019. Characteristics of humoral regulation of differentiation of bone marrow monocyte subpopulations in patients with ischemic cardiomyopathy. *Int. J. Biomed.* V. 9. P. 91. [https://doi.org/10.21103/Article9\(2\)_OA1](https://doi.org/10.21103/Article9(2)_OA1)
- Van den Broek L.J., Kroeze K.L., Waaijman T., Breetveld M., Sampat-Sardjoepersad S.C., Niessen F.B., Gibbs S. 2014. Differential response of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, dermal fibroblasts, and keratinocytes to burn wound exudates: potential role of skin-specific chemokine CCL27. *Tiss. Eng. Part 1.* V. 20. P. 197. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2013.0123>
- Van der Heijden T., Bot I., Kuiper J. 2019. The IL-12 cytokine family in cardiovascular diseases. *Cytokine.* V. 122. P. 154. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.10.010>
- Yang X.C., Liu Y., Wang L.F., Cui L., Wang T., Ge Y.G., Zhao Z.Q. 2007. Reduction in myocardial infarct size by post-conditioning in patients after percutaneous coronary intervention. *J. Invasive Cardiol.* V. 19. P. 424.

Cytokine Profile of Myocardial Cells in Coronary Heart Disease and Ischemic Cardiomyopathy

A. I. Stelmashenko^{a, b}, S. L. Andreev^c, L. S. Litvinova^{b, d, *}, V. V. Malashchenko^d, N. M. Todosenko^d, N. D. Gazatova^d, I. A. Khlusov^{a, b}, and V. M. Shipulin^c

^aMorphology and General Pathology Department, Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

^bLaboratory of Cellular and Microfluidic Technologies, Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

^cCardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634012 Russia

^dCenter of Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, 236041 Russia

*e-mail: larisalitvinova@yandex.ru

In the present work, we carried out a comparative analysis of myocardial cytokine profile in patients with coronary heart disease (CHD) and in patients with ischemic cardiomyopathy (ICMP) associated with CHD. The concentrations of 41 cytokines secreted by 24-hour myocardial tissue culture intraoperatively sampled from the right atrial auricle (RAA, control) and peri-infarct left ventricular zone (PZ-LV) were determined by flow fluorimetry using a multiplex test system. The aim was to study in vitro cytokine profile of myocardial cells to search for possible predictors of adverse outcomes of surgical treatment of patients with CHD and ICMP. Myocardial secretion of proinflam-

matory molecules GM-CSF and IFN- γ increased significantly (up to 78-80 pg/g, $p < 0.05$) in patients with ICMP associated with CHD in contrast to zero values in CHD. At the same time, there was a three-fold decrease in the concentration of fractalkin 3 ligand (Flt-3L; FMS-like tyrosine kinase 3 ligand). A decrease in Flt-3L secretion was observed in the PZ-LV in comparison with the RAA. In addition, compared with RAA, concentrations of fibroblast growth factor-2 (FGF-2), platelet-derived growth factor-AB/BB (PDGFAB/BB), interleukins IL-15 and IL-4, and a regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES; CCL5) were strongly reduced in PZ-LV myocardial tissue culture. Differences in the course of CHD and ICMP are discussed, and possible predictors of surgical treatment risk in patients of the two groups are suggested using correlation and regression analyses. Proinflammatory cytokines (IL-5, IL-6) and chemokines (Flt-3L, IL-8), as well as angiogenesis factors (VEGF) and angiostasis (IP-10), are proposed to be considered as potential markers of adverse outcome of surgical treatment of cardiovascular disease.

Keywords: myocardial culture cytokine profile, ischemic cardiomyopathy, coronary heart disease, correlation and regression analysis, left ventricular remodeling