

УДК 616.127-005.8-036.11-06+612.112
DOI <http://doi.org/10.31928/1608-635X-2020.4.917>

Зв'язок динамічних змін субпопуляцій моноцитів крові та розвитку ускладнень у хворих із гострим інфарктом міокарда

Т.В. Талаєва, О.М. Пархоменко, І.В. Третяк,
О.В. Довгань, О.В. Шумаков

ДУ «Національний науковий центр “Інститут кардіології імені акад. М.Д. Стражеска” НАМН України», Київ

Мета роботи – визначити субпопуляційний склад моноцитів (МЦ) крові у хворих із гострим інфарктом міокарда (ГІМ) у 1-шу й на 7-му добу після розвитку гострого коронарного синдрому, дослідити взаємозв'язок між їх вмістом і динамікою змін та ризиком розвитку ускладнень після ГІМ.

Матеріали і методи. Обстежено 50 хворих з ГІМ з елевацією сегмента ST, яких госпіталізували в перші 6 год від початку захворювання. Усі хворі отримували стандартну рекомендовану терапію. При госпіталізації, до проведення реперфузійного лікування, та на 7-му добу захворювання всім хворим проводили загальноклінічне, біохімічне дослідження крові, двовимірну ехокардіографію серця та визначали субпопуляційний склад моноцитів периферійної крові методом проточної цитометрії. Надалі всі хворі були розподілені на дві підгрупи – зі збільшенням відносної кількості класичних CD14hiCD16⁻ МЦ (підгрупа 1) та з її зменшенням (підгрупа 2) протягом 7 діб спостереження. Групу контролю становили 15 практично здорових осіб без ознак ішемічної хвороби серця (ІХС) і 23 пацієнти з хронічним перебігом ІХС без перенесеного ГІМ.

Результати та обговорення. У підгрупі 1 відносна кількість «класичної» фракції МЦ під час спостереження зростала до (89,0±1,2) %, що було на 4,2 % більше, ніж у 1-шу добу, і на 12,5 % більше, ніж у контролі (p<0,05), тоді як абсолютна кількість класичних МЦ на 7-му добу збільшилася на 48 % порівняно з вихідним значенням (p<0,01). Відносна кількість проміжних (CD14hiCD16⁻) МЦ крові у хворих цієї підгрупи в 1-шу добу госпіталізації була на 70 % більшою, ніж у контролі, і на 42 % більшою, ніж у хворих 2-ї підгрупи (p<0,001), проте на 7-му добу вона зменшилася на 30 % порівняно з вихідним значенням, хоча залишилася на 8 % більшою, ніж у контролі (абсолютна кількість проміжних МЦ при цьому не змінювалася). Індекс активації (ІА) проміжних МЦ у 1-шу добу не відрізнявся між підгрупами і був на 40 % більший, ніж у контролі (p<0,001). Проте в динаміці спостереження в пацієнтів підгрупи 1 цей показник не змінювався, тоді як у хворих підгрупи 2 знизився на 60 % (p<0,001). Незважаючи на те, що абсолютна кількість протизапальних (патрульних) (CD14⁺lowCD16⁺⁺) МЦ не змінювалася до 7-ї доби спостереження (а їх відносна кількість незначно знизилася), їх ІА був значно нижчим, ніж у контролі (на 95 %) і у пацієнтів підгрупи 2 (на 92 %; p<0,001). У пацієнтів підгрупи 2 зниження відносної кількості класичних МЦ становило -7,7 % (з (90,4±0,8) до (83,4±1,2) %). Попри те, що абсолютна та відносна кількість проміжних МЦ зростали в динаміці, їх ІА знизився майже вдвічі, що свідчило про зниження прозапальної здатності цих МЦ. Відносна та абсолютна кількість патрульних МЦ крові зростали в динаміці на 37,4 % (p<0,0001) і на 268,3 % (p<0,01) відповідно. ІА патрульних МЦ був майже у 12 та 7 разів вищий, ніж у пацієнтів підгрупи 1, в 1-шу та на 7-му добу спостереження відповідно, що свідчило про значну активацію протизапальної активності патрульних МЦ. У пацієнтів підгрупи 1 у 3,3 разу частіше спостерігалось внутрішньосерцеве тромбоутворення, майже у 8 разів – дилатація лівого шлуночка, у 4 рази – зниження фракції викиду, і майже у 7 разів – патологічне післяінфарктне ремоделювання лівого шлуночка.

Висновки. Результати дослідження свідчать про важливу роль різних субпопуляцій МЦ крові у процесах пошкодження та відновлення міокарда (зокрема про прозапальну роль зростання чисельності класичних моноцитів та підвищення активності проміжних моноцитів, а також протизапальну роль зростання абсолютної і відносної кількості та активності патрульних моноцитів) у хворих з ГІМ і можуть бути основою для розроблення нових підходів до діагностики й попередження ускладнень цього захворювання.

Ключові слова: гострий інфаркт міокарда, реперфузія, моноцити, запалення, ускладнення.

Незважаючи на численні дослідження, на сьогодні не вистачає чітких критеріїв оцінки ризику тяжкого перебігу та розвитку ускладнень після гострого коронарного синдрому (ГКС). Природа ураження міокарда при ішемії та реперфузії після достатньо тривалого періоду порушеного кровопостачання має багато загальних рис із запальним процесом. На ізольованому серці щурів показано, що реперфузований міокард характеризується всіма ознаками запалення: високим рівнем продукції вільних радикалів, посиленою інфільтрацією нейтрофілів та моноцитів (МЦ), зростанням експресії мРНК ядерного фактора κВ (NF-κB). Вираженість запалення відіграє визначальну роль у частці ішемізованого міокарда, та в умовах експерименту блокада фактора NF-κB при оклюзії вінцевої артерії попереджала розвиток гострого інфаркту міокарда (ГІМ). Цей ефект був пов'язаний зі зменшенням експресії генів інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) та VCAM-1, послабленням інфільтрації міокарда моноцитами, нейтрофілами та лімфоцитами. Встановлено, що захисна дія статинів в умовах реперфузії міокарда також пояснюється їх здатністю інактивувати фактор NF-κB. Це поєднується з послабленням експресії моноцитарного хемотаксичного протеїну (MCP) 1, циклооксигенази 2-го типу та ІЛ-8 [9].

Реперфузійне ураження міокарда певною мірою пов'язане з експресією на ендотелії молекул адгезії ICAM-1, наступною адгезією та трансендотеліальною міграцією нейтрофілів і МЦ. Цей процес визначається вивільненням фактора некрозу пухлини α (ФНП-α) та активацією фактора NF-κB, перебігає за класичною двохетапною схемою розвитку запалення. На першому етапі відбувається лабільний контакт запальних клітин крові з ендотеліоцитами у вигляді їх «прокатування», що визначається взаємодією P-селектину ендотеліоцитів з їх лігандами (PSGL-1) на клітинах крові та супроводжується експресією ендотеліоцитами молекул адгезії ICAM-1. На другому етапі відбувається міцна адгезія нейтрофілів та МЦ за рахунок зв'язування їх β₂-інтегринів з ендотеліальними ICAM-1. Усунення первинної адгезії лейкоцитів до ендотелію в першу фазу суттєво не впливає на вираженість та динаміку реперфузійного ураження, тоді як попередження другого етапу адгезії супроводжується вираженим кардіопротекторним ефектом [4].

Пошкоджувальна дія нейтрофілів та МЦ, що мігрували під час реперфузії в зону ішемії, пов'язана з їх здатністю вивільнювати вільні радикали кисню (супероксидний та гідроксильний), стимулювати фосфоліпазу А₂ та посилювати гідроліз фосфоліпідів клітинних мембран. Радикали кисню продукуються мембранозв'язаним фермен-

том NADPH-оксидазою, що активується прозапальними цитокінами, C5a компонентом комплексу, фактором активації тромбоцитів, ангіотензином II. Радикали кисню додатково стимулюють вивільнення з клітин крові та стінки судин прозапальних медіаторів, що посилює експресію глікопротеїнових комплексів на нейтрофілах і МЦ та молекул адгезії ICAM-1 на ендотелії в поєднанні з пригніченням продукції факторів, які мають антиадгезивні властивості (окис азоту (NO), аденозин, простагліцині). Фактор активації тромбоцитів стимулює також тромбоцити, які діють синергічно з нейтрофілами та МЦ [19].

На сьогодні участь МЦ у патогенезі ушкодження міокарда при ГКС ніким не заперечується. У низці досліджень показано наявність кореляційного зв'язку між підвищенням кількості МЦ крові, що циркулюють, та розвитком дисфункції лівого шлуночка (ЛШ) після розвитку ГІМ [4]. Водночас у інших дослідженнях [17] продемонстровано, що у хворих з підвищеним вмістом МЦ, що циркулюють, відзначено швидше відновлення функції ЛШ після ГІМ. І тільки відкриття останнім часом різних субпопуляцій МЦ крові іноді з прямо протилежними функціями пояснює отримані суперечливі результати. Виділяють три субпопуляції МЦ: класичні МЦ, що характеризуються високим рівнем експресії CD14-рецепторів на клітинній поверхні та відсутністю CD16-рецепторів (CD14^{hi}CD16⁻), перехідні МЦ з високим рівнем експресії CD14 та низьким рівнем експресії CD16 (CD14^{hi}CD16⁺) та некласичні з низьким рівнем експресії CD14 і високим рівнем експресії CD16 (CD14^{dim}CD16⁺⁺), що розрізняються фенотипічно та функціонально.

Мета роботи – визначити субпопуляційний склад моноцитів крові у хворих із гострим інфарктом міокарда у 1-шу й на 7-му добу після розвитку гострого коронарного синдрому, дослідити взаємозв'язок між їх вмістом і динамікою змін та ризиком розвитку ускладнень після гострого інфаркту міокарда.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено із залученням 50 хворих віком у середньому (61,94±1,42) року з ГІМ з елевацією сегмента ST, яких госпіталізували у відділення реанімації та інтенсивної терапії в перші 6 год від початку захворювання. Усі хворі отримували стандартну рекомендовану терапію [12]. Крім проведення коронароангіографії і стентування, призначали подвійну антитромбоцитарну терапію (ацетилсаліцилову кислоту із тикагрелором), β-адреноблокатори, інгібітори ангіотензинпер-

Таблиця 1

Клініко-анамнестична характеристика хворих з гострим інфарктом міокарда (n=50)

Показник	Значення
Чоловіки	39 (74 %)
Артеріальна гіпертензія	45 (85 %)
Цукровий діабет	12 (23 %)
Куріння	17 (32 %)
Індекс маси тіла > 30 кг/м ²	19 (36 %)
Стабільна стенокардія в анамнезі	3 (6 %)
Післяінфарктний кардіосклероз	8 (15 %)
Реваскуляризація в анамнезі	1 (2 %)
ГПМК в анамнезі	3 (6 %)
Фібриляція передсердь в анамнезі	6 (11 %)

ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу.

творювального ферменту, блокатори мінералокортикоїдних рецепторів, за потреби нітрати, антиаритмічні засоби. В аналіз не залучали хворих із тяжкою серцевою недостатністю, відомими захворюваннями нирок і печінки, хронічними захворюваннями опорно-рухового апарату. Клінічну характеристику хворих наведено в *табл. 1*.

При госпіталізації (до проведення реперфузії міокарда) та на 7-му добу захворювання всім хворим проводили загальноклінічне біохімічне дослідження крові, двовимірну ехокардіографію серця. Ехокардіографічне обстеження виконували на ультразвуковому сканері SSH-880CV Aplio Artida (Toshiba Medical Systems Corporation, Японія) в 1-шу та на 8-му добу госпітального періоду. Субпопуляційний склад моноцитів периферійної крові досліджували методом проточної цитометрії за допомогою реагентів для визначення кластерів диференціації CD14, CD16 та CD45 виробництва BD Bioscience. Як антикоагулянт інкубували 100 мкл периферичної крові з КЗЕДТА протягом 15–20 хв із сумішшю FITC – кон'югованих моноклональних антитіл до CD14, PE – кон'югованих моноклональних антитіл до CD16 та APC – кон'югованих моноклональних антитіл до CD45 у захищеному від світла місці. Після інкубації проводили лізис еритроцитів за допомогою лізувального розчину OptiLyse з подальшим додаванням 500 мкл РВС, відмивали і ресуспендували клітини крові у фосфатно-сольовому буфері (РВС). Досліджували моноцити CD14⁺, які за рівнем експресії CD14 і CD16 розділяли (за апаратспецифічним протоколом) на три субпопуляції: CD14hiCD16⁻, CD14hiCD16⁺ і CD14dimCD16⁺⁺. Рівень експресії

маркерів на клітинах визначали за інтенсивністю флуоресценції (світіння) досліджуваних маркерів. Це пов'язано з принципом роботи проточного цитофлуориметра: досліджувані клітини інкубуються з моноклональними антитілами, які специфічно зв'язуються з певними антигенами (в цьому випадку – поверхневими) або їх епітопами. Кожне антитіло «мічене» флуоресцентним барвником, який при проходженні в камері проточного цитофлуориметра через промінь лазера випромінює імпульс світла певної довжини, котрий реєструється фотоелектронним примножувачем. Кількість антитіл, які зв'язуються з однією клітиною, та відповідна сила світіння залежать (за інших однакових умов) від кількості антигенів (рецепторів або їх частин) на поверхні клітини. Результатом дослідження є кількість клітин, які пройшли детекцію, та інтенсивність їх світіння. Інтенсивність флуоресценції обчислюється апаратно в умовних одиницях і вважається маркером щільності (кількості) певних антигенів, розташованих на поверхні клітини [7, 16].

Для оцінки ступеня активації МЦ оцінювали індекс їх активації (як співвідношення інтенсивності світіння CD16 до абсолютної кількості клітин) [3]. Для підрахунку кількості моноцитів у мкл до суспензії клітин додавали 100 мкл флуоросфер FlowCount (Beckman Coulter Inc., США). Цитофлуориметричний аналіз виконували на проточному цитометрі NAVIOS (Beckman Coulter Inc.).

Групу контролю становили 15 практично здорових осіб без ознак ішемічної хвороби серця (ІХС) та 23 пацієнти із хронічним перебігом ІХС без перенесеного ГІМ.

Статистичний аналіз проводили за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel 2016 та статистичної програми Statistica (StatSoft Inc, 7.0.61.0).

РЕЗУЛЬТАТИ

У пацієнтів з ГІМ у 1-шу добу захворювання відносна кількість МЦ, що мають класичний фенотип CD14hiCD16⁻, становила (88,2±6,7) % і практично не відрізнялася від аналогічного показника у хворих на ІХС, проте була на 10,3 % більша, ніж у контрольній групі (p<0,05). Розвиток ГІМ супроводжувався зростанням у периферійній крові субпопуляції МЦ, що продукують прозапальні цитокіни – відносна кількість проміжних моноцитів МЦ (CD14hiCD16⁺) у 1-шу добу після розвитку ГІС становила (7,05±0,57) %, що на 42 % перевищувало контрольне значення (p<0,05). Водночас відзначено зменшення вмісту в крові некласичної субпопуляції МЦ (CD14dimCD16⁺⁺), майже на

67 % порівняно з таким в осіб контрольної групи ($p < 0,05$).

Через 7 днів лікування у хворих не зафіксовано статистично значущих змін усіх субпопуляцій МЦ крові порівняно з аналогічними показниками, визначеними в 1-шу добу госпіталізації.

Детальніший аналіз змін субпопуляцій МЦ крові у хворих з ГІМ свідчив про існування двох видів динаміки цих змін протягом 7 днів спостереження, що мали різноспрямований характер. У зв'язку з цим усі хворі були розподілені на дві підгрупи – зі збільшенням кількості класичних МЦ (підгрупа 1) і зі зменшенням їх кількості (підгрупа 2). Клінічна характеристика хворих і дані про динаміку субпопуляцій моноцитів представлені відповідно в *табл. 2 і 3*.

За клініко-анамнестичними характеристиками в підгрупі 1 була більшою частка пацієнтів з перенесеним інфарктом міокарда в минулому, в підгрупі 2 була більшою частка пацієнтів із цукровим діабетом та переважала чоловіча стать, за іншими показниками групи статистично значуще не відрізнялися.

Динаміка відносної кількості субпопуляцій МЦ протягом 7 днів захворювання в підгрупі 1 являла собою зростання класичної субпопуляції МЦ крові та зменшення вмісту проміжної і патрульної фракції МЦ у відсотковому співвідношенні. Так, відносна кількість класичних МЦ ($CD14hiCD16^-$) під час спостереження зростала до ($89,0 \pm 1,2$) %, що було на 4,2 % більше, ніж у 1-шу добу і на 12,5 % – ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). Абсолютна кількість класичних МЦ на 7-му добу збільшилася на 48 % порівняно з вихідним значенням ($p < 0,01$). Відносна кількість проміжних ($CD14hiCD16^+$) МЦ крові у хворих цієї підгрупи в 1-шу добу госпіталізації була на 70 % більшою, ніж у контрольній групі, і на 42 % більшою, ніж у хворих підгрупи 2 ($p < 0,001$), проте на 7-му добу вона зменшилася на 30 % порівняно з вихідним значенням, хоча залишилася на 8 % більшою, ніж у контрольній групі. Водночас в абсолютних значеннях кількість проміжних МЦ практично не змінювалася

Таблиця 2

Клініко-анамнестична характеристика хворих з гострим інфарктом міокарда у підгрупах залежно від динаміки кількості окремих субпопуляцій моноцитів

Показник	Підгрупа 1 (n=21)	Підгрупа 2 (n=29)
Вік, роки	61,57±1,75	62,2±2,12
Чоловіча стать	12 (57,14 %)	23 (79,3 %)**
Час від початку больового синдрому	3,75±0,42	4,81±0,93
Артеріальна гіпертензія	20 (95,24 %)	25 (86,21 %)
Куріння	11 (52,38 %)	10 (34,48%)
Цукровий діабет	3 (14,3 %)	8 (27,59 %)*
Післяінфарктний кардіосклероз	7 (33,3 %)	1 (3,45 %)**
ГПМК в анамнезі	1 (4,76 %)	2 (6,9 %)

Категорійні показники наведено як кількість випадків і частка, кількісні – як $M \pm \sigma$. Різниця показників статистично значуща порівняно з такими у хворих підгрупи 1: * $p < 0,05$; ** $p < 0,0001$.

протягом спостереження. Індекс активації МЦ, що оцінювався як відношення інтенсивності світіння CD16 до абсолютної кількості клітин, в 1-шу добу спостереження становив 0,054 ум. од., що було на 40 % більше, ніж у контрольній групі ($p < 0,001$), і практично таким само, як і в пацієнтів підгрупи 2. Проте до 7-ї доби спостереження в пацієнтів підгрупи 1 інтенсивність активації проміжних МЦ залишалася на тому ж рівні і перевищувала аналогічний показник у пацієнтів підгрупи 2 на 60 % ($p < 0,001$), у яких він різко знизився. У пацієнтів підгрупи 1 у 1-шу добу госпіталізації вміст патрульних МЦ становив ($5,94 \pm 0,70$) %, на 7-му добу спостереження відзначено зниження відносної кількості патрульної субпопуляції МЦ до ($5,65 \pm 0,50$) %. Незважаючи на те, що абсолютна кількість

Таблиця 3

Зміни відносної кількості субпопуляцій моноцитів крові у підгрупах хворих з гострим інфарктом міокарда ($M \pm \sigma$)

Показник	Підгрупа 1 (n=21)		Підгрупа 2 (n=29)	
	1-ша доба	7-ма доба	1-ша доба	7-ма доба
Класичні Мц ($CD14hiCD16^-$), %	85,44±1,30	89,04±1,20*	90,42±0,80	83,44±1,20**
Проміжні Мц ($CD14hiCD16^+$), %	8,25±0,70	5,77±0,50*	5,80±0,50	7,97±0,50*
Патрульні Мц ($CD14dimCD16^{++}$), %	5,94±0,70	5,65±0,60	3,68±0,40	8,52±0,90**

Різниця показників статистично значуща порівняно з такими у хворих відповідної підгрупи в 1-шу добу: * $p \leq 0,01$; ** $p \leq 0,0001$.

Таблиця 4

Частота ускладнень госпітального перебігу в підгрупах хворих з гострим інфарктом міокарда

Показник	Підгрупа 1 (n=21)	Підгрупа 2 (n=29)
Аневризма	8 (38 %)	8 (28,5 %)
Внутрішньосерцеве тромбоутворення	5 (23,76 %)	2 (7,14 %)*
Гостра лівошлуночкова недостатність	5 (23,8 %)	6 (21,4 %)
Дилатація ЛШ (зростання КДО > 10 %)	12 (57 %)	3 (7 %)**
Патологічне ремоделювання (↑КДО + ↓ФВ)	5 (23,8 %)	1 (3,5 %)
Зниження ФВ	9 (43 %)	2 (10,3 %)**

КДО – кінцеводіастолічний об'єм; ФВ – фракція викиду. Різниця показника статистично значуща порівняно з такими ж хворих підгрупи 1: * $p < 0,05$; ** $p < 0,0001$.

патрульних МЦ не зростала до 7-ї доби спостереження, індекс їх активації був значно нижчим (на 95 %), ніж у контрольній групі і в пацієнтів підгрупи 2 (на 92 %, $p < 0,001$). Це могло свідчити про виснаження протизапальних властивостей неklasичних МЦ у пацієнтів підгрупи 1.

Зниження відносної кількості класичної субпопуляції МЦ у пацієнтів підгрупи 2 становило $-7,7$ % (з $(90,4 \pm 0,8)$ до $(83,4 \pm 1,2)$ %). Незважаючи на те, що кількість проміжних МЦ, як у відсотковому, так і в абсолютних значеннях, зростала до 7-ї доби спостереження, індекс їх активності знизився майже вдвічі, що свідчило про зниження прозапальної здатності даних МЦ. Кількість протизапальних (патрульних) МЦ крові зростала до 7-ї доби спостереження на $37,4$ % – з $(3,68 \pm 0,40)$ до $(8,52 \pm 0,90)$ % ($p < 0,0001$). Аналогічним чином відзначено зростання цих МЦ і в абсолютних значеннях: з $(19,24 \pm 1,53)$ мкл до $(70,86 \pm 6,76)$ мкл ($p < 0,01$). Індекс активації патрульних МЦ був майже у 12 та 7 разів вищим, ніж у пацієнтів підгрупи 1 у 1-шу та на 7-му добу спостереження відповідно, що свідчило про значну активацію протизапальної активності патрульних МЦ.

У подальшому було проведено аналіз розвитку ускладнень у пацієнтів обох підгруп (табл. 4).

Відзначено, що у хворих підгрупи 1 у 3,3 разу частіше спостерігали внутрішньосерцеве тромбоутворення, майже у 8 разів – дилатацію ЛШ, у 4 рази – зниження ФВ, і майже у 7 разів – патологічне післяінфарктне ремоделювання ЛШ (одночасне зростання КДО та зниження ФВ).

ОБГОВОРЕННЯ

У крові людини МЦ становлять від 3 до 8 % лейкоцитів периферійної крові. Уперше неоднорідність популяції МЦ була показана в експериментальних дослідженнях на мишах [13]. Спочатку на мишах за рівнем експресії поверхневих маркерів Gr та Ly6C було виділено дві основні субпопуляції МЦ: Gr1⁺ (Ly6C⁺) та Gr1⁻ (Ly6C⁻), пізніше було доведено існування 3-ї субпопуляції з унікальними властивостями Gr1 (Ly6Cdim) [19]. Кожна субпопуляція володіє індивідуальним набором пріоритетних функцій.

МЦ субпопуляції Gr1⁺ виконує важливу роль у захисті від інфекції та заживленні тканин [13]. Це класична субпопуляція МЦ людини (CD14hiCD16⁻). Завдяки високій експресії на мембрані CCR2 (хемокіновий рецептор до MCP-1), CD62L (L-селектин) вони здатні мігрувати у вогнище гострого запалення, де для виконання ефекторних функцій диференціюються в запальні макрофаги або в антигенпрезентаційні дендритні клітини [15, 20]. Активовані МЦ (CD14hiCD16⁻) володіють високою фагоцитарною активністю, секретують антимікробні фактори, активні форми кисню, NO, мієлопероксидазу, хемокіни, стимулюють проліферацію T-ефекторів [10].

Характерна особливість МЦ Gr1⁻ або неklasичних МЦ (CD14dimCD16⁺⁺) пов'язана з активним синтезом протизапальних (IL-10, трансформувальний фактор росту β) та проангіогенних факторів (VTGF, FGF) [2]. Крім того, неklasична субпопуляція МЦ має на поверхні високий рівень рецепторів до фракталкіну (CXCR1 та CXCR2). Фракталкін експресований на мембрані ендотеліальних та епітеліальних клітин та виконує роль молекули адгезії. Експерименти з міграцією МЦ через шар ендотеліальних клітин показали, що цей процес іде за участю рецептора до фракталкіну CX3CR1 [18]. Висока концентрація CX3CR1 дозволяє субпопуляції МЦ (CD14dimCD16⁺⁺) здійснювати трансміграцію через інтактний ендотелій судин, що обумовило назву цієї субпопуляції як «патрульну», оскільки ці клітини здатні прикріплюватися до ендотелію судин, рухатися впродовж капілярів, дрібних вен та артерій і здійснювати контроль за станом ендотелію [2]. Фракталкін – унікальний хемокін, що функціонує не тільки як хемоатрактант, а і як молекула адгезії. Розчинений у крові фракталкін викликає міграцію МЦ, тоді як фіксований на мембрані фракталкін забезпечує їх захоплення, посилену міграцію в судинну стінку та їх активацію.

Динамічні зміни експресії фракталкіну зареєстровані при ішемічних ураженнях. Показано зниження експресії фракталкіну на ендотеліальних

клітинах на етапі гострого ураження, що триває від 1 до 4 діб, і підвищення – у 2-й фазі заживлення тканин. Відповідно до цих даних описано два етапи залучення різних субпопуляцій МЦ при формуванні різних фаз запалення і після ГІМ. У гострій фазі (у перші 4 дні) під дією прозапальних цитокінів та хемокінів (CCL2), що вивільнюються з уражених тканин, у вогнище мігрують класичні МЦ (CD14hiCD16⁻). Ця субпопуляція МЦ фагоцитуює некротизовані та апоптотично змінені клітини, синтезує протеази, що призводить до санації вогнища ураження та деградації позаклітинного матриксу, створення умов для переміщення клітин. У період заживлення завдяки інтенсивній експресії фракталкіну на поверхні ураженого ендотелію у вогнище запалення мігрують некласичні МЦ, що мають на поверхні рецептори до фракталкіну. Ці клітини беруть участь у репарації тканин, залучаючи у вогнище фіброласти, стимулюючи ангиогенез, формуючи грануляції та знижуючи ознаки запалення. Некласична субпопуляція МЦ (CD14dimCD16⁺⁺) в основному розташована в маргінальному пулі крові вздовж ендотелію судин і володіє високою міграційною активністю навіть через неактивовані ендотелії. Фізична активність та стрес супроводжуються значним підвищенням вмісту в крові патрульних МЦ за рахунок їх переміщення з маргінального пулу. Такий перерозподіл субпопуляцій пов'язують з підвищенням рівня катехоламінів у крові.

У крові людей була виявлена ще одна субпопуляція МЦ – проміжна (CD14hiCD16⁺). Для цих МЦ характерна помірна фагоцитарна активність, обмежена здатність до респіраторного вибуху та синтезу хемокінів при одночасному активному синтезі прозапальних цитокінів (ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6), що не характерно для інших субпопуляцій. Завдяки цим особливостям проміжна субпопуляція МЦ здатна підтримувати активну запальну реакцію та брати участь в ураженні тканин, зокрема – міокарда.

У клінічному дослідженні L.D. Tarr та співавтори розподілили МЦ на три субпопуляції та вивчили їх динаміку в пацієнтів, що перенесли ГІМ з елевацією сегмента ST [21]. Виявлено значне підвищення вмісту проміжної субпопуляції МЦ (CD14hiCD16⁺) у перші дні після події. Водночас в іншому дослідженні виявлено підвищення кількості некласичних (CD14⁺lowCD16⁺) МЦ у хворих на ІХС порівняно з ангиографічно здоровими особами [20].

У дослідженні, проведеному у хворих з ГІМ, визначено, що вміст MCP-1-хемоатрактанту МЦ зростає через 3 год після больового нападу, досягає максимуму через 24 год з наступним поступовим зменшенням. У дослідженні OPUS-TIMI 16 рівень MCP-1 (у 2270 пацієнтів з ГІМ) був незалежно

пов'язаний з підвищеним ризиком смерті або розвитку повторного інфаркту міокарда протягом наступних 10 місяців. Це пов'язують зі зростанням проникнення прозапальних МЦ (CD14⁺hiCD16⁻) в міокард, що негативно впливає на його заживлення [14, 17].

В експерименті показано, що в мишей з відсутнім геном MCP-1 відзначено нижчу експресію мРНК ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 через 6 год реперфузії після експериментального ГІМ унаслідок зменшення міграції проміжної субпопуляції МЦ крові [8].

Показано, що підвищена кількість CD14⁺hiCD16⁻ МЦ на 7-му добу після ГІМ негативно пов'язана з відновленням міокарда після ГІМ [21]. Збільшення кількості цієї фракції МЦ було пов'язано з розвитком дисфункції ЛШ після розвитку ГІМ [22].

В експериментальних дослідженнях M. Nahrendorf та співавтори продемонстрували, що CD14⁺hiCD16⁻ МЦ домінують у вогнищах ураження в міокарді протягом перших 3 днів після ГІМ і поглинають некротичні маси, таким чином здійснюють свою фагоцитарну, протеолітичну, прозапальну функції [13]. На 4-ту–7-му добу після ГІМ у зоні uszkodження міокарда накопичуються CD14⁺dimCD16⁺ МЦ і зменшується кількість CD14⁺hiCD16⁻ МЦ. Водночас значне зростання CD14⁺hiCD16⁻ МЦ у міокарді на 7-му–10-ту добу розвитку ГІМ негативно корелює з відновленням uszkodженого міокарда.

Близькі до описаних у літературі даних були отримані в нашому дослідженні, коли на тлі розвитку тромботичних ускладнень і ремоделювання ЛШ у хворих підгрупи 1 ми спостерігали зменшення у крові відносної кількості прозапальної субпопуляції МЦ з високим показником індексу активації. Враховуючи, що вираженість експресії рецепторів на поверхні МЦ (на яку вказує індекс активації) свідчить про здатність МЦ продукувати прозапальні цитокіни, хемокіни та молекули адгезії, можна стверджувати, що зростання індексу активації є показником підвищення прозапального потенціалу цього пулу МЦ [1, 6, 19]. Також у нашому дослідженні ми спостерігали зменшення відсотка патрульної субпопуляції МЦ зі зниженням індексу їх активації (яке в цьому контексті можна розглядати як зменшення протизапального потенціалу) у хворих підгрупи 1 [1]. Динамічне зменшення відносної кількості проміжної та патрульної субпопуляцій МЦ у периферичній крові може бути пояснене їх міграцією в зону uszkodження міокарда, де, зокрема, підвищена продукційна здатність CD14hiCD16⁺ МЦ реалізується в підтриманні прозапальних процесів із порушенням загоювання серця [5, 6]. Водночас ми не спостерігали збільшення абсолютної кількості МЦ цих

двох субпопуляцій у динаміці спостереження у хворих підгрупи 1, тоді як кількість класичних МЦ значно зростала. Це збігається з результатами, отриманими в дослідженні PHAMOS [11].

ВИСНОВКИ

Результати дослідження свідчать про важливу роль субпопуляційного складу моноцитів кро-

ві у процесах пошкодження та відновлення міокарда (зокрема, про прозапальну роль зростання чисельності класичних моноцитів та підвищення активності проміжних моноцитів, а також проти-запальну роль зростання абсолютної і відносної кількості та активності патрульних моноцитів) у хворих з гострим інфарктом міокарда і можуть бути основою для розроблення нових підходів до діагностики та попередження ускладнень цього захворювання.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція та проєкт дослідження – О.П., Т.Т.; збір матеріалу – О.Д., О.Ш., І.Т.; огляд літератури, написання тексту – Т.Т., О.Д., О.Ш.; статистичне опрацювання даних – О.Д., І.Т.; редактування тексту – О.П., Т.Т., О.Ш.

Література

1. Матвеева В.Г., Григорьев Е.В. Проблемы и перспективы изучения субпопуляций моноцитов крови в патогенезе заболеваний, связанных с воспалением // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.– 2016.– Т. 60, № 4.– С. 154–159. doi: 10.25557/0031-2991.2016.04.154-159.
2. Frangogiannis N.G. Regulation of the inflammatory response in cardiac repair // Circ. Res.– 2012.– Vol. 110.– P. 159–173. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303577.
3. Gawdat K., Legere S., Wong C. et al. Changes in Circulating Monocyte Subsets (CD16 Expression) and Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio observed in patients undergoing Cardiac Surgery // Front. Cardiovasc. Med.– 2017.– Vol. 4.– P. 1–12. doi: 10.3389/fcvm.2017.00012.
4. Ghattas A., Griffiths H.R., Devitt A. et al. Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis // J. Amer. Coll. Cardiol.– 2013.– Vol. 62.– P. 1541–1551. doi: 10.1016/j.jacc.2013.07.043.
5. Glezeva N., Voon V., Watson C. et al. Exaggerated Inflammation and Monocytosis Associate With Diastolic Dysfunction in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Evidence of M2 Macrophage Activation in Disease Pathogenesis // J. Card. Fail.– 2015.– Vol. 21 (2).– P. 167–177. doi: 10.1016/j.cardfail.2014.11.004.
6. Gómez-Olarte S., Bolaños N., Echeverry M. et al. Intermediate monocytes and cytokine production associated with severe forms of chagas disease // Front. Immunol.– 2019.– Vol. 10.– P. 1671. doi: 10.3389/fimmu.2019.01671.
7. Goyert S.M., Cohen L., Gangloff S.C. et al. CD14 Workshop panel report, 1997, Leucocyte Typing VI, White Cell Differentiation Antigens // Garland Publishing, Inc.– 1997.– P. 963–965.
8. Heidt T., Courties G., Dutta P. et al. Differential contribution of monocytes to heart macrophages in steady-state and after myocardial infarction // Circ. Res.– 2014.– Vol. 115.– P. 284–295. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.303567.
9. Hernandez-Rodriguez J., Seggara M., Vilardell C. et al. Elevated production of interleukin-6 is associated with a low incidence of disease-related ischemic events in patients with giant-cell arteritis // Circulation.– 2003.– Vol. 107 (19).– P. 2428–2434. doi: 10.1161/01.CIR.0000066907.83923.32.
10. Hilgendorf I., Gerhardt L.M.S., Tan T.C. et al. Ly-6Chi monocytes depend on Nr4a1 to balance both inflammatory and reparative phases in the infarcted myocardium // Circ. Res.– 2014.– Vol. 114.– P. 1611–1622. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.303204.
11. Hopfner F., Jacob M., Ulrich C. et al. Subgroups of monocytes predict cardiovascular events in patients with coronary heart disease. The PHAMOS trial (Prospective Halle Monocytes Study) // Hellenic J. Cardiology.– 2019.– Vol. 60 (5).– P. 311–321. doi: 10.1016/j.hjc.2019.04.012.
12. Ibanez B., James S., Agewall S. et al. 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) // Eur. Heart J.– 2018.– Vol. 39 (2).– P. 119–177. doi: 10.1093/eurheartj/ehx393.
13. Nahrendorf M., Swirski F.K., Aikawa E. et al. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions // J. Exp. Med.– 2007.– Vol. 204.– P. 3037–3047. doi: 10.1084/jem.20070885.
14. Park H.J., Chang K., Park C.S. et al. Coronary collaterals: the role of MCP-1 during the early phase of acute myocardial infarction // Int. J. Cardiol.– 2008.– Vol. 130.– P. 409–413. doi: 10.1016/j.ijcard.2007.08.128.
15. Prabhu S.D. It takes two to tango: monocyte and macrophage duality in the infarcted heart // Circ. Res.– 2014.– Vol. 114.– P. 1558–1560. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.303933.
16. Schmidt R.E., Perussia B. Cluster report: CD16, 1989, Leucocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens // Oxford University Press.– 1989.– P. 574–578.
17. Schwarz E.R., Meven D.A., Sulemanijee N.Z. et al. Monocyte chemoattractant protein 1-induced monocyte infiltration produces angiogenesis but not arteriogenesis in chronically infarcted myocardium // J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.– 2004.– Vol. 9.– P. 279–289. doi: 10.1177/107424840400900408.
18. Shantsila E., Lip G.Y.H. Monocytes in Acute Coronary Syndromes // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.–

- 2009.– Vol. 29.– P. 1433–1438. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.180513.
19. Swirski F.K., Robbins C.S. Neutrophils usher monocytes into sites of inflammation // *Circ. Res.*– 2013.– Vol. 112.– P. 744–745. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.300867.
20. Tallone T., Turconi G., Soldati G. et al. Heterogeneity of human monocytes: an optimized four-color flow cytometry protocol for analysis of monocyte subsets // *J. Cardiovasc. Trans. Res.*– 2011.– Vol. 4 (2).– P. 211–219. doi: 10.1007/s12265-011-9256-4.
21. Tapp L.D., Shantsila E., Wrigley B.J. et al. The CD14⁺⁺CD16⁺ monocyte subset and monocyte-platelet interactions in patients with ST-elevation myocardial infarction // *J. Thromb. Haemost.*– 2012.– Vol. 10.– P. 1231–1241. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04603.x.
22. Tsujioka H., Imanishi T., Ikejima H. et al. Impact of heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets on myocardial salvage in patients with primary acute myocardial infarction // *J. Am. Coll. Cardiol.*– 2009.– Vol. 54 (2).– P. 130–138. doi: 10.1016/j.jacc.2009.04.021.

Связь динамических изменений субпопуляций моноцитов крови и развития осложнений у больных с острым инфарктом миокарда

Т.В. Талаєва, А.Н. Пархоменко, И.В. Третьяк, Е.В. Довгань, А.В. Шумаков

ГУ «Национальный научный центр “Институт кардиологии имени акад. Н.Д. Стражеско” НАМН Украины», Киев

Цель работы – определить субпопуляционный состав моноцитов (МЦ) крови у больных с острым инфарктом миокарда (ОИМ) в 1-е и 7-е сутки после развития острого коронарного синдрома, исследовать взаимосвязь между их содержанием и динамикой изменений и риском развития осложнений после ОИМ.

Материалы и методы. Обследовано 50 больных с ОИМ с элевацией сегмента ST, поступивших в первые 6 ч от начала заболевания. Все больные получали стандартную рекомендованную терапию. При поступлении в стационар, до проведения реперфузионного лечения, и на 7-е сутки заболевания всем больным выполняли общеклиническое, биохимическое исследование крови, двумерную эхокардиографию сердца и определяли субпопуляционный состав моноцитов периферической крови методом проточной цитометрии. В дальнейшем все больные были разделены на две подгруппы – с увеличением процента «классических» CD14^{hi}CD16⁻ МЦ (подгруппа 1) и с их уменьшением (подгруппа 2) в течение 7 суток наблюдения. Группу контроля составили 15 практически здоровых лиц без признаков ишемической болезни сердца (ИБС) и 23 пациента с хроническим течением ИБС без перенесенного ОИМ.

Результаты и обсуждение. В подгруппе 1 относительное количество классической фракции МЦ при наблюдении возросло до (89,0±1,2) %, что было на 4,2 % больше, чем в 1-е сутки и на 12,5 % – чем в контроле (p<0,05), тогда как абсолютное количество классических МЦ на 7-е сутки увеличилось на 48 % по сравнению с исходным значением (p<0,01). Относительное количество промежуточных (CD14^{hi}CD16⁺) МЦ крови у больных данной подгруппы в 1-е сутки госпитализации было на 70 % больше, чем в контроле, и на 42 % больше, чем у больных подгруппы 2 (p<0,001), однако на 7-е сутки оно уменьшилось на 30 % по сравнению с исходным значением, хотя осталось на 8 % больше, чем в контроле (абсолютное количество промежуточных МЦ при этом не изменялось). Индекс активации (ИА) промежуточных МЦ в 1-е сутки не отличался между подгруппами и был на 40 % больше, чем в контроле (p<0,001). Однако в динамике наблюдения у пациентов подгруппы 1 этот показатель не менялся, тогда как в подгруппе 2 ИА снизился на 60 % (p<0,001). Несмотря на то, что абсолютное количество противовоспалительных (патрулирующих) (CD14^{low}CD16⁺⁺) МЦ не изменялось к 7-м суткам наблюдения (а их процент незначительно снизился), их ИА был значительно ниже, чем в контроле (на 95 %) и у пациентов подгруппы 2 (на 92 %; p<0,001). У пациентов подгруппы 2 снижение относительного количества классических МЦ составило –7,7 % (с (90,4±0,8) % до (83,4±1,2) %). Несмотря на то, что абсолютное и относительное количество промежуточных МЦ в этой подгруппе возрастали в динамике, индекс их активности снизился почти в 2 раза, что свидетельствовало о снижении провоспалительной способности данных МЦ. Относительное и абсолютное количество патрулирующих МЦ крови в подгруппе 2 увеличились в динамике на 37,4 % (p<0,0001) и 268,3 % (p<0,01) соответственно. ИА патрулирующих МЦ был почти в 12 и 7 раз выше, чем у пациентов подгруппы 1 в 1-е и 7-е сутки наблюдения соответственно, что свидетельствовало о значительной активации противовоспалительной активности патрулирующих МЦ. У пациентов подгруппы 1 в 3,3 раза чаще наблюдалось внутрисердечное тромбообразование, почти в 8 раз – дилатация левого желудочка, в 4 раза – снижение фракции выброса и почти в 7 раз – патологическое постинфарктное ремоделирование левого желудочка.

Выводы. Результаты исследования свидетельствуют о важной роли различных субпопуляций МЦ крови в процессах повреждения и восстановления миокарда (в частности, о провоспалительной роли роста численности классических МЦ и повышении активности промежуточных МЦ, а также о противовоспалительной роли увеличения абсолютного и относительного количества и активности патрулирующих МЦ) у больных с ОИМ и могут быть основой для разработки новых подходов к диагностике и предупреждению осложнений этого заболевания.

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда, реперфузия, моноциты, воспаление, осложнения.

Relationship between dynamic changes in subpopulations of blood monocytes and the development of complications in patients with acute myocardial infarction

T.V. Talayeva, O.M. Parkhomenko, I.V. Tretyak, O.V. Dovhan, O.V. Shumakov

National Scientific Center «M.D. Strazhesko Institute of Cardiology» of NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The aim – to determine the extent of different subpopulations of blood monocytes in acute myocardial infarction (AMI) with ST-segment elevation patients on day 1 and 7 and to evaluate the relationship between their content and the dynamics of changes and the risk of complications after AMI.

Materials and methods. The composition of individual subpopulations of monocytes in the peripheral venous blood (and general clinical and biochemical blood tests) was evaluated in 50 pts with STEMI (who were admitted within 6 hours after the onset of the disease) at admission (before primary PCI) and on day 7. All patients received standard recommended therapy. Dynamic heart echocardiography was also performed on the 1st and 7th day. All patients were divided into 2 groups depending on the dynamical increase (1 group – 21 pts) or decrease (2 group – 29 pts) of classical monocytes (CD14^{hi}CD16⁻) subpopulation during 7 days of follow-up. The control group included 15 healthy subjects with no signs of coronary heart disease and 23 pts with chronic coronary heart disease without AMI.

Results and discussion. In subgroup 1, the percentage of the «classical» fraction of monocytes during the observation increased to $89.0 \pm 1.2\%$, which was 4.2 % more than on the 1st day and 12.5 % more than in the control group ($p < 0.05$), while the absolute amount of classic monocytes on day 7 increased by 48 % compared to initial value ($p < 0.01$). The percentage of «intermediate» (CD14^{hi}CD16⁺) blood monocytes in patients of this subgroup on the 1st day of hospitalization was 70 % higher than in the control group, and 42 % higher than in the 2nd subgroup of patients ($p < 0.001$), however, on the 7th day it decreased by 30 % compared to baseline, although it remained by 8 % more than in the control group (the absolute number of «intermediate» monocytes did not change). The activation index (IA) of the «intermediate» monocytes on the first day did not differ between subgroups and was 40 % higher than in the control group ($p < 0.001$). However, in the dynamics of observation, in patients of subgroup 1, this figure did not change, while in subgroup 2 IA decreased by 60 % ($p < 0.001$). Despite the fact that the absolute number of anti-inflammatory («patrolling») (CD14⁺lowCD16⁺⁺) monocytes did not change until the 7th day of observation (and their percentage decreased slightly), their IA was significantly lower than in the control group (95 %) and in patients of subgroup 2 (92 %, $p < 0.001$). In patients of subgroup 2, the decrease of the percentage of «classic» monocytes was -7.7 % (from 90.4 ± 0.8 to $83.4 \pm 1.2\%$). Despite the fact that the number and percentage of intermediate monocytes increased in dynamics, their IA decreased almost 2 times, which may indicate a decrease in the pro-inflammatory ability these monocytes. The percentage and number of «patrolling» monocytes increased in dynamics by 37.4 % ($p < 0.0001$) and by 268.3 % ($p < 0.01$), respectively. IA of patrolling monocytes was almost 12 and 7 times higher than in patients of subgroup 1 on the 1st and 7th day of observation, respectively, which may indicate a significant activation of anti-inflammatory activity of patrolling monocytes. Intracardiac thrombosis was 3.3 times more common in patients of subgroup 1, in this subgroup was also more often noted (compared to the subgroup 2): dilatation of the left ventricle (almost 8 times), reduction of left ventricular ejection fraction (4 times), and pathological post-infarction remodeling of the left ventricle (almost 7 times).

Conclusions. The results of the study indicate the important role of different subpopulations of blood monocytes in the processes of myocardial damage and recovery (in particular, the pro-inflammatory role of increasing the number of classical monocytes and increasing the activity of intermediate monocytes, as well as the anti-inflammatory role of increasing the number, percentage and activity of patrolling monocytes) in patients with AMI and can be the basis for developing new approaches to the diagnosis and prevention of complications of this disease.

Key words: acute myocardial infarction, reperfusion, monocytes, inflammation, complication.