

РОЛЬ MCP-1 И SDF-1 В НАРУШЕНИИ МОБИЛИЗАЦИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ИЗ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

**Чумакова С.П.¹, Денисенко О.А.¹, Уразова О.И.¹, Шипулин В.М.^{1,2},
Андреев С.Л.², Винс М.В.¹, Гладковская М.В.¹, Дёмин М.С.¹,
Дмитриева А.А.¹, Гуломженов А.Г.¹**

¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

² Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия

Резюме. Актуальным является изучение медиаторов ангиогенеза и мобилизации ранних эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) из костного мозга у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией (ИКМП).

Обследовано 52 больных ИБС: 30 человек, страдающих ИКМП, и 22 человека, не страдающих ИКМП, 15 здоровых доноров. Содержание ранних ЭПК (VEGFR2⁺CD34⁺CD14⁺) определяли в крови и в костном мозге у больных ИБС методом проточной цитофлуориметрии, концентрацию MCP-1, SDF-1, VEGF-A – методом мультиплексного анализа, HIF-1α – методом иммуноферментного анализа.

Содержание SDF-1 и HIF-1α в крови у больных ИБС без кардиомиопатии было выше, чем у здоровых лиц (соответственно 60,00 (50,00-80,00) пг/мл и 6,00 (5,00-6,20) нг/мл против 30,00 (5,00-45,00) пг/мл, $p = 0,049$ и 4,60 (3,28-5,11) нг/мл, $p = 0,049$), при ИКМП – соответствовало норме. При этом концентрация SDF-1 в костном мозге была больше, а уровень HIF-1α меньше, чем их содержание в кровотоке вне зависимости от наличия ИКМП (соответственно 130,0 (90,0-170,0) пг/мл, $p = 0,005$ и 0,97 (0,80-1,11) нг/мл, $p < 0,001$). Уровень MCP-1 в крови варьировал в пределах нормы у больных ИБС обеих групп исследования (190,0 (168,0-215,0) пг/мл), а в костном мозге был выше только у пациентов с ИКМП (406,5 (265,0-583,0) пг/мл, $p = 0,028$). Вне зависимости от наличия ИКМП содержание VEGF-A в крови у больных ИБС соответствовало норме (3,80 (1,00-6,50) пг/мл) и в миелоидной ткани. Численность ЭПК была повышенной в крови у больных ИБС без кардиомиопатии (0,70 (0,46-1,23) и 0,19 (0,13-0,32) %, $p < 0,001$) и соответствовала их количеству в костном мозге,

Адрес для переписки:

Чумакова Светлана Петровна
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2.
Тел.: 8 (909) 539-51-09.
Факс: 8 (3822) 53-33-09.
E-mail: chumakova_S@mail.ru

Address for correspondence:

Svetlana P. Chumakova
Siberian State Medical University
2 Moskovsky Trakt
Tomsk
634050 Russian Federation
Phone: +7 (909) 539-51-09.
Fax: +7 (3822) 53-33-09.
E-mail: chumakova_S@mail.ru

Образец цитирования:

С.П. Чумакова, О.А. Денисенко, О.И. Уразова, В.М. Шипулин, С.Л. Андреев, М.В. Винс, М.В. Гладковская, М.С. Дёмин, А.А. Дмитриева, А.Г. Гуломженов «Роль MCP-1 и SDF-1 в нарушении мобилизации эндотелиальных прогениторных клеток из костного мозга при ишемической болезни сердца» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 5. С. 1053-1060.
doi: 10.15789/1563-0625-TRO-16762

© Чумакова С.П. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

S.P. Chumakova, O.A. Denisenko, O.I. Urazova, V.M. Shipulin, S.L. Andreev, M.V. Vins, M.V. Gladkovskaya, M.S. Demin, A.A. Dmitrieva, A.G. Gulomzhenov "The role of MCP-1 and SDF-1 in impaired mobilization of endothelial progenitor cells from the bone marrow in coronary heart disease", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 5, pp. 1053-1060.
doi: 10.15789/1563-0625-TRO-16762

© Chumakova S.P. et al., 2024
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-TRO-16762

а у пациентов с ИКМП в крови регистрировались нормальные значения с накоплением этих клеток в миелоидной ткани (0,57 (0,45-0,98) %, $p = 0,019$).

Развитие ИКМП ассоциировано с аккумуляцией ранних ЭПК в миелоидной ткани вследствие повышенного их удержания избытком MCP-1 в костном мозге при слабовыраженном привлечении в кровотоки из-за отсутствия профицита SDF-1 и HIF-1 α в крови.

Ключевые слова: хемокины, гипоксия, эндотелиальные прогениторные клетки, ангиогенез, миграция, ишемическая кардиомиопатия

THE ROLE OF MCP-1 AND SDF-1 IN IMPAIRED MOBILIZATION OF ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS FROM THE BONE MARROW IN CORONARY HEART DISEASE

Chumakova S.P.^a, Denisenko O.A.^a, Urazova O.I.^a, Shipulin V.M.^a,
^b, Andreev S.L.^b, Vins M.V.^a, Gladkovskaya M.V.^a, Demin M.S.^a,
Dmitrieva A.A.^a, Gulomzhenov A.G.^a

^a Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

^b Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Abstract. It is relevant to study of angiogenesis mediators and the mobilization of early endothelial progenitor cells (EPC) from bone marrow into the blood in patients with coronary heart disease (CHD), suffering and not suffering from ischemic cardiomyopathy (ICMP).

CHD patients: 30 people with ICMP and 22 people without ICMP, 15 healthy donors. The content of early EPC (VEGFR2⁺CD34⁺CD14⁺) was determined in the blood and bone marrow by flow cytometry, the concentration of MCP-1, SDF-1, VEGF-A – by multiplex analysis, of HIF-1 α – by ELISA.

The content of SDF-1 and HIF-1 α in peripheral blood in patients with CHD without cardiomyopathy was higher than in healthy individuals (respectively 60.00 (50.00-80.00) pg/mL and 6.00 (5.00-6.20) ng/mL versus 30.00 (5.00-45.00) pg/mL, $p = 0.049$ and 4.60 (3.28-5.11) ng/mL, $p = 0.049$), with ICMP corresponded to the norm. The concentration of SDF-1 in the bone marrow was higher, and the level of HIF-1 α was less than their content in the bloodstream, regardless of the presence of ICMP (respectively 130.0 (90.0-170.0) pg/mL, $p = 0.005$ and 0.97 (0.80-1.11) ng/mL, $p < 0.001$). The level of MCP-1 in the blood varied within the normal range in patients with CHD of both study groups (190.0 (168.0-215.0) pg/mL), and in the bone marrow was higher only in patients with ICMP (406.5 (265.0-583.0) pg/mL, $p = 0.028$). Regardless of ICMP presence, the content of VEGF-A in the blood of patients with CHD corresponded to the norm (3.80 (1.00-6.50) pg/mL) and in myeloid tissue. The number of EPC was increased in the blood of patients with CHD without cardiomyopathy (0.70 (0.46-1.23) and 0.19 (0.13-0.32) %, $p < 0.001$) and corresponded to their number in the bone marrow. And in patients with ICMP, normal values of the indicator were recorded in the blood with the accumulation of EPC in myeloid tissue (0.57 (0.45-0.98) %, $p = 0.019$).

The development of ICMP is associated with the accumulation of early EPC in myeloid tissue due to their increased retention by an excess of MCP-1 in the bone marrow with weak involvement in the bloodstream due to the lack of a surplus of SDF-1 and HIF-1 α in the blood.

Keywords: chemokines, hypoxia, endothelial progenitor cells, angiogenesis, migration, ischemic cardiomyopathy

Исследование выполнено за счет грантов Российского научного фонда: № 22-25-00821, <https://rscf.ru/project/22-25-00821/> (изучение иммунофенотипа клеток, MCP-1, SDF-1) и № 22-25-20038, <https://rscf.ru/project/22-25-20038/> и средств Администрации Томской области (изучение VEGF-A и HIF-1 α).

Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) сопровождается не только циркуляторной гипоксией,

но и атеросклеротическим поражением коронарных и других магистральных артерий, что закономерно должно индуцировать в организме формирование комплекса защитно-приспособительных реакций, направленных на активацию ангиогенеза и мобилизацию эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) из костного мозга в кровь [2, 3]. Стимуляция ангиогенеза при ИБС необходима для репарации пораженных артерий и формирования коллатеральных сосудов. Успешная реализации этих процессов замедляет

прогрессирование ишемии и сократительной дисфункции миокарда, что предотвращает развитие тяжелой сердечной недостаточности [8]. Между тем, треть больных ИБС, перенесших инфаркт миокарда, страдают ишемической кардиомиопатией (ИКМП), которая представляет собой диффузное поражение миокарда с формированием распространенной сократительной его дисфункции и проявляется дилатацией камер сердца в сочетании с тяжелой хронической сердечной недостаточностью. Патогенез ИКМП на сегодняшний день до конца не изучен и специфического лечения данной формы ИБС не существует, однако неуклонное прогрессирование болезни, продолжающееся даже после коронарного шунтирования, приводит в итоге к необходимости в трансплантации сердца [6, 7]. Наряду с этим в последние годы показано, что больные ИКМП имеют недостаточно развитое микроциркуляторное русло миокарда в виде уменьшения удельной площади микрососудов, содержащих гладкомышечные клетки, и формирования капилляров крайне малого диаметра [1]. Учитывая это и то, что ранние ЭПК имеют миелоидное происхождение, причиной недостаточного поступления ЭПК в кровь могут быть как нарушения мобилизации ЭПК из костного мозга, так и их генерации в костном мозге. Оба процесса контролируются гипоксия-индуцируемым фактором (HIF) и сосудистым эндотелиальным фактором роста (VEGF) [5, 11], а мобилизация ЭПК в кровь – такими хемоаттрактантами, как моноцитарный хемотаксический белок (MCP)-1 и фактор стромальных клеток (SDF)-1 [8, 14]. В связи с выше изложенным целью исследования явилось установление роли MCP-1 и SDF-1 в комплексе с HIF-1 α и VEGF-A в образовании и мобилизации ранних и поздних эндотелиальных прогениторных клеток из костного мозга в кровь у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП.

Материалы и методы

В исследование вошло 52 больных ИБС со стенокардией напряжения II-IV класса и недостаточностью кровообращения II-III класса по NYHA, находившихся в отделении сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии – филиала ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН»: 30 человек, страдающих ИКМП (27 мужчин и 3 женщины, 61,0 (57,0-64,5) лет) согласно критериям Felker G.M. и соавт. [7], и 22 человека, не страдающих ИКМП (17 мужчин и 5 женщин, 64,5 (58,5-68,0) лет). Группу контроля составили 15 практически здоровых доноров (13 мужчин и 2 женщины, средний возраст 57,63 \pm 8,12 лет), не имеющих каких-либо заболеваний сердечно-сосудистой системы. Больные ИБС, страдающие и не страдающие ИКМП, были сопоставимыми по возрасту, полу, индексу массы тела, продолжительности ИБС, функциональному классу стенокардии и

недостаточности кровообращения, частоте назначения ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента и статинов, что важно учитывать ввиду их противовоспалительного действия. Всем больным ИБС выполнялась операция коронарного шунтирования, при ИКМП – в сочетании с реконструкцией полости левого желудочка; все пациенты в анамнезе имели инфаркт миокарда.

Критериями исключения больных из исследования считали возраст старше 70 лет, наличие аутоиммунных заболеваний, аллергического процесса в стадии обострения, опухолевого процесса, гипопластической и мегалобластной анемий, вирусных гепатитов, сифилиса, ВИЧ-инфекции, проведение до операции курсов лечения железосодержащими препаратами, эритропоэтиновой или иммуносупрессивной терапии и наличие острых инфекционных заболеваний менее чем за 3 недели до операции, а также отказ пациента от исследования. Исследования проведены с разрешения локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 7981 от 16.12.2019 г.). У всех обследованных лиц было получено информированное согласие на участие в исследовании.

Материалом исследования служила кровь из кубитальной вены и образцы красного костного мозга, стабилизированные гепарином (25 МЕ/мл). Периферическую кровь забирали в объеме 5 мл из кубитальной вены утром натощак как у здоровых доноров, так и у больных ИБС обеих групп исследования в день операции непосредственно перед индукцией в наркоз. Костный мозг получали только у больных ИБС в начале операции коронарного шунтирования из разреза грудины после выполнения доступа к сердцу путем срединной стернотомии. Цельную кровь и костный мозг использовали для определения численности ранних и поздних эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК); плазму крови и надосадок костного мозга (получали путем центрифугирования 10 мин при 300g) – для оценки концентрации MCP-1, SDF-1, HIF-1 α , VEGF-A.

Содержание ранних ЭПК CD14⁺CD34⁺VEGFR2⁺ в крови у больных ИБС обеих групп исследования и здоровых доноров, а также в костном мозге у больных ИБС исследуемых когорт определяли методом проточной цитофлуориметрии, используя лизирующий раствор FACS Lysingsolution (BD Biosciens, США) и моноклональные антитела Mouse Anti-Human CD14-FITC, CD34-PE, VEGFR2(KDR; CD309)-Alexa Fluor 647 согласно инструкциям производителя (BD Biosciens, США). Клетки инкубировали с антителами в течение 30 мин при температуре 4 °C в темноте. После этого клетки отмывали 2 раза в 2 мл Cell-WASH-solution BD (Becton Dickinson, США), центрифугировали 5 мин при 250 g. Для анализа клетки ресуспендировали в 300 мкл Stain-Buffer (Becton Dickinson, США). Для оценки жизнеспособности клеток использо-

вали 7-AAD (eBiosciens, Inc., США). Измерения интенсивности флуоресценции проводили на проточном цитофлуориметре Accuri C6 с программным приложением BD Cell Quest for Mac OS® X (BD Biosciens, США). Результат представляли в %, пересчитывая количество ЭПК от доли всех VEGFR2⁺ клеток в биоматериале.

Плазму крови у больных ИБС обеих групп исследования и здоровых доноров, а также надосадок костного мозга у больных ИБС исследуемых когорт, аликвотировали и хранили при температуре -80 °С не более 12 месяцев. Концентрацию VEGF-A, SDF-1, MCP-1 определяли с помощью коммерческой тест-системы для мультиплексного анализа Magnetic Lumines Assay Kit for VEGFA, VEGFB, PDGF, SDF1, SCF, FGF1, TGFb1, MCP1 (Cloud-Clone-Corp, США) и автоматизированного анализатора Bio-Plex Protein Assay System (Bio-Rad, США), концентрацию HIF-1 α – методом иммуноферментного анализа с помощью набора Human HIF-1 α ELISA Kit (Cloud-Clone-Corp, США). Результат выражали для HIF-1 α в нг/мл, для цитокинов – в пг/мл.

Статистический анализ данных был выполнен с помощью программы Statistica 10.0. Для статистического описания результатов вычисляли медиану, 25-й и 75-й перцентили. С целью сравнительного анализа выборочных данных применяли критерии Манна–Уитни (для независимых выборок) и Вилкоксона (для зависимых выборок), используя поправку Бенджамини–Хохберга на множественные сравнения. Результаты статистического анализа считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведенное исследование позволило зарегистрировать статистически значимые изменения всех изучаемых параметров крови (за исключением VEGF-A) у больных ИБС относительно либо физиологических значений, либо относительно показателей костного мозга, хотя в пределах одного типа биоматериала отличий между группами пациентов выявлено не было (табл. 1).

Содержание HIF-1 α и SDF-1 в периферической крови было повышенным относительно показателей здоровых лиц только у больных ИБС без кардиомиопатии, а у пациентов с ИКМП соответствовало таковым (табл. 1). При этом концентрация SDF-1 в костном мозге была больше, но уровень HIF-1 α , напротив, меньше, чем их содержание в кровотоке вне зависимости от наличия ИКМП. В то же время концентрация MCP-1 в крови варьировала в пределах нормы у больных ИБС обеих групп исследования (с отчетливой тенденцией к нарастанию у пациентов без ИКМП, $p = 0,105$), в костном мозге была сопоставимой между когортами больных, но в 2 раза выше, чем в крови у пациентов с ИКМП,

чего не отмечалось у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 1). Вне зависимости от наличия ИКМП содержание VEGF-A в крови у больных ИБС варьировало в физиологических пределах и соответствовало значениям в миелоидной ткани, демонстрируя у пациентов с ИКМП лишь тенденцию к накоплению VEGF-A в крови относительно нормы с некоторым превышением показателя относительно костного мозга у данной группы больных (табл. 1).

Содержание ранних ЭПК было повышенным в крови у больных ИБС без кардиомиопатии (в сравнении со здоровыми донорами) и соответствовало их количеству в костном мозге, а у пациентов с ИКМП, напротив, в крови регистрировались нормальные значения показателя с накоплением этих клеток в миелоидной ткани (относительно крови, табл. 1).

В дополнение к вышеописанным результатам важно обратить внимание на два факта. Во-первых, у пациентов с ИКМП содержание анализируемых клеточных и гуморальных факторов ангиогенеза в крови полностью соответствовало норме, в то время как у больных ИБС без кардиомиопатии большинство параметров превышали их уровень у здоровых доноров (табл. 1). Во-вторых, концентрация MCP-1 в крови у больных ИБС без кардиомиопатии достоверно не отличалась от нормы только вследствие использования поправки на множественные сравнения Бенджамини–Хохберга (табл. 1); при этом до ее введения результаты сравнительного анализа продемонстрировали статистически значимое увеличение параметра относительно показателей здоровых лиц ($p = 0,035$).

Проведенные исследования обнаружили увеличение численности ранних ЭПК в крови у больных ИБС без кардиомиопатии и физиологический их уровень у пациентов с ИКМП. Поскольку эти клетки активно участвуют в репарации эндотелия и ангиогенезе [2, 3], то профицит ранних ЭПК в крови у больных ИБС можно рассматривать как защитно-приспособительную реакцию организма в условиях хронического воспаления сосудистой стенки вследствие атеросклероза, как морфологического субстрата ИБС. Между тем, несмотря на равную степень выраженности коронарного атеросклероза по данным коронаровентрикулографии и повышенную в равной степени десквамацию эндотелия в системном кровотоке у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП [4], физиологический уровень ранних ЭПК у пациентов с ИКМП (табл. 1), очевидно, свидетельствует об отсутствии стимуляции ангиогенеза при данной патологии. Ранее нами продемонстрирована редукция микроциркуляторного русла у пациентов с ИКМП [1].

Ввиду того, что образование ранних ЭПК происходит в красном костном мозге [3], то не-

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИРУЕМОГО ФАКТОРА, ПРОАНГИОГЕННЫХ ЦИТОКИНОВ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И КОСТНОМ МОЗГЕ У БОЛЬНЫХ ИБС, СТРАДАЮЩИХ И НЕ СТРАДАЮЩИХ ИКМП, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. THE CONTENT OF HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR, PROANGIOGENIC CYTOKINES AND ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS IN PERIPHERAL BLOOD AND IN BONE MARROW IN CHD PATIENTS WITH AND WITHOUT ICMP, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Параметры Parameters	Здоровые доноры Healthy donors	Больные ИБС без ИКМП Patients CHD without ICMP		Больные ИБС с ИКМП Patients CHD with ICMP	
		кровь blood	костный мозг bone marrow	кровь blood	костный мозг bone marrow
MCP-1, пг/мл MCP-1, pg/mL	190,0 (168,0-215,0)	223,0 (180,0-297,0) p _к = 0,105	279,0 (206,0-341,0) p ₁ = 0,263	202,5 (170,5-249,8) p _к = 0,429 p ₂ = 0,685	406,5 (265,0-583,0) p ₁ = 0,028 p ₂ = 0,438
SDF-1, пг/мл SDF-1, pg/mL	30,00 (5,00-45,00)	60,00 (50,00-80,00) p _к = 0,049	120,0 (95,0-180,0) p ₁ = 0,003	49,00 (37,00-56,00) p _к = 0,087 p ₂ = 0,051	130,0 (90,0-170,0) p ₁ = 0,005 p ₂ = 0,944
VEGF-A, пг/мл VEGF-A, pg/mL	3,80 (1,00-6,50)	4,50 (3,00-8,00) p _к = 0,314	4,01 (3,55-4,58) p ₁ = 0,722	6,00 (3,00-9,50) p _к = 0,216 p ₂ = 0,502	4,00 (4,00-4,18) p ₁ = 0,180 p ₂ = 0,839
HIF-1α, нг/мл HIF-1α, ng/mL	4,60 (3,28-5,11)	6,00 (5,00-6,20) p _к = 0,049	1,08 (0,80-1,14) p ₁ < 0,001	5,40 (4,50-6,00) p _к = 0,209 p ₂ = 0,374	0,97 (0,80-1,11) p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,712
Ранние ЭПК, % Early EPCs, %	0,19 (0,13-0,32)	0,70 (0,46-1,23) p _к < 0,001	0,58 (0,49-1,36) p ₁ = 0,530	0,31 (0,15-0,64) p _к = 0,260 p ₂ = 0,427	0,57 (0,45-0,98) p ₁ = 0,019 p ₂ = 0,546

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИКМП – ишемическая кардиомиопатия; MCP – моноцитарный хемотаксический белок, SDF – фактор стромальных клеток, VEGF – фактор роста сосудистого эндотелия; HIF – гипоксия-индуцируемый фактор, ЭПК – эндотелиальные прогениторные клетки; p_к – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с содержанием медиаторов у здоровых доноров, p₁ – у больных ИБС в периферической крови, p₂ – у больных ИБС без кардиомиопатии.

Note. CHD, coronary heart disease; ICMP, ischemic cardiomyopathy; MCP, monocyte chemotactic protein; SDF, stromal cell-derived factor; VEGF, vascular endothelial growth factor; EPC, endothelial progenitor cells; p_к, the level of statistical significance of the differences in indicators compared with the mediators content in healthy donors, p₁, in patients with coronary artery disease in peripheral blood, p₂, in patients with CHD without cardiomyopathy.

достаточное их содержание в крови может быть вызвано как снижением пролиферации и дифференцировки этих клеток в миелоидной ткани, так и нарушением их миграции из костного мозга в кровотоки. Согласно полученным данным численность ранних ЭПК в костном мозге у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП, не отличалась между группами пациентов, но при ИКМП содержание ЭПК в миелоидной ткани было больше, чем в кровотоке, а при ИБС без кардиомиопатии – равным значениям в крови (табл. 1). Следовательно, физиологический уровень ранних ЭПК в крови при ИКМП не связан с нарушением их генерации в костном мозге (где их больше, чем в крови) и обуславливается затруднением мобилизации этих клеток в кровь, что и объясняет аккумуляцию ранних ЭПК в миелоидной ткани относительно крови у пациентов с ИКМП (табл. 1). Так как ранние ЭПК являются

клетками моноцитарного иммунофенотипа, то элиминация их из костного мозга может контролироваться с помощью MCP-1. Поскольку они имеют эндотелиальный иммунофенотип, то этот процесс может быть также опосредован VEGF-A и, ввиду того, что это прогениторные клетки – при участии SDF-1 [11, 14, 15].

Несмотря на то, что VEGF-A представляет собой важный медиатор ангиогенеза [11, 16], в настоящем исследовании не было обнаружено особенностей его содержания в крови и костном мозге у больных ИБС двух групп исследования. Концентрация VEGF-A не отличалась между типами биоматериала в группах (табл. 1), а в миокарде она была повышенной в равной степени вне зависимости от ИКМП [4]. Отсутствие каких-либо отличий между группами больных ИБС в нескольких типах биоматериала можно объяснить повышающейся при воспалении экспрессией на

эндотелиоцитах и многих лейкоцитах рецептора типа I для VEGF (VEGFR1), который выступает в роли ловушки для VEGF-A, связывает данный цитокин, повышая проницаемость сосудов, и не дает ему взаимодействовать с VEGFR2, который опосредует проангиогенные реакции [16]. Вероятно, поэтому VEGF-A не определяет особенности ангиогенеза при ИКМП, что делает малоэффективной стратегию его стимуляции посредством VEGF-A.

Ключевым индуктором ангиогенеза служит HIF, который непосредственно синтезируются клетками, находящимися в условиях кислородного голодания, и далее активирует синтез как VEGF-A, так и SDF-1 [9, 11]. Продукция HIF-1 нарастает в условиях острой (1-2% O₂) или циклической гипоксии, а HIF-2 — в большей степени при хронической кислородной недостаточности (< 5% O₂) [5]. Это объясняет высокие концентрации HIF-1α у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 1), у которых в момент приступа стенокардии развивается, очевидно, острая гипоксия. Между тем, при наличии аналогичной по степени тяжести недостаточности кровообращения II-III класса по NYHA у пациентов с ИКМП определяется физиологический уровень HIF-1α в крови, который, очевидно, связан с редкими и слабовыраженными эпизодами острой гипоксии во время приступов стенокардии, но длительной кислородной недостаточностью вследствие редукции сосудистой сети миокарда [1, 7]. Примечательно, что в костном мозге концентрация HIF-1α определялась ниже, чем в крови, у больных обеих групп исследования (табл. 1), что позволяет сделать вывод о дистантном характере участия HIF-1α в гемопоэзе, т. е. о преимущественном его образовании вне костного мозга. Это согласуется с общеизвестным фактом о том, что при недостаточности кровообращения развивается циркуляторная гипоксия, наиболее выраженная в дистальных участках тела и нижних конечностей.

Известно, что HIF-1α связывается с промотором *SDF-1 (CXCL12)*, инициируя его транскрипцию и синтез SDF-1, который представляет собой пептид с массой 8 кДа. Он служит хемоаттрактантом для ЭПК, гемопоэтических стволовых клеток (СК), мезенхимальных СК, эндогенных СК сердца, регенеративных клеток жировой ткани для обеспечения их миграции и хоуминга, что определило успех использования SDF-1 в клеточной терапии ишемии [8, 15]. Согласно полученным данным концентрация SDF-1 в крови у больных ИБС без кардиомиопатии превышала норму (табл. 1), обеспечивая усиленную мобилизацию ЭПК из костного мозга и увеличение их числа в крови (табл. 1). Высокая концентрация SDF-1 у этих больных связана, очевидно, с ишемией тканей и органов, где данный пептид активно производится (в эндотелии сосудов, в строме сердца и кардиомиоцитах, в почках, печени, се-

лезенке, волокнах скелетных мышц и др.) [15]. Физиологический уровень SDF-1 в крови у пациентов с ИКМП, соответственно, обуславливал норму и для ранних ЭПК в кровотоке (табл. 1). Это может быть вызвано как анергией его продукции вследствие физиологической концентрации HIF-1α в крови у данной группы больных, так и повышенным разрушением SDF-1 дипептидилпептидазой-4 в положении 2-3 или матриксной металлопротеиназой-2 и -9 в положении 4-5 (деструкция в положении 4-5 приводит к потере способности SDF-1 связываться со своим рецептором CXCR4) [8, 15]. Экспрессия CXCR4 повышается непосредственно за счет HIF-1 и HIF-2, поскольку промотор гена CXCR4 содержит мотив HRE. Так, хроническая гипоксия под действием HIF-2 увеличивает экспрессию CXCR4 в эндотелиальных клетках-предшественниках и макрофагах, что привлекает их в очаг ишемии [9].

В костном мозге SDF-1 тоже активно синтезируется ретикулярными клетками с участием транскрипционного фактора Foxc1, обеспечивая фиксацию ЭПК, гемопоэтических и мезенхимальных СК [10, 15]. Вероятно, именно поэтому концентрация SDF-1 в миелоидной ткани была выше, чем в крови у больных ИБС обеих групп исследования (табл. 1). Дестабилизация контакта между CXCR4, экспрессируемым гемопоэтическими предшественниками, и SDF-1, синтезируемым стромальными клетками костного мозга, считается необходимой для отделения закрепленных предшественников от костномозговых ниш, что приводит к дальнейшей их мобилизации в кровотоки [10, 15]. Исходя из вышеизложенного, фиксация ранних ЭПК в костном мозге с участием SDF-1 при ИКМП не усилена, но, вероятно, имеет место недостаточная мобилизация этих клеток вследствие меньшего градиента этого пептида между кровью и костным мозгом.

Кроме индукции ангиогенеза HIF-1α ингибирует апоптоз кардиомиоцитов, активирует синтез ферментов гликолиза и (посредством NF-κB) образование провоспалительных цитокинов, в том числе MCP-1 [11]. Этим, вероятно, объясняется стойкая тенденция к увеличению концентрации MCP-1 в крови у больных ИБС без кардиомиопатии (табл. 1), что без введения поправки Бенджамини—Хохберга демонстрировало даже статистически значимые различия. Источниками MCP-1 являются эндотелиальные клетки, эпителиальные клетки, гладкомышечные клетки, моноциты/макрофаги, фибробласты, астроциты и клетки микроглии [13]. Поскольку ранние ЭПК имеют моноцитарный иммунофенотип, то они могут быть элиминированы из костного мозга в кровотоки под действием MCP-1, взаимодействующего со своим рецептором CCR2 [13, 14]. Моноциты в костном мозге малоподвижны и находятся вблизи с

Nestin⁺ стромальными клетками, которые после акцепции сигнала с Toll-подобного рецептора 4-го типа в результате его связывания с провоспалительными стимулами увеличивают продукцию MCP-1 и моноциты начинают смещаться [14]. При этом обсуждается 2 модели мобилизации моноцитов: модель хемокинеза – MCP-1 увеличивает подвижность моноцитов и вероятность их контакта с эндотелием кровеносных сосудов; модель хемотаксиса – MCP-1, продуцируемый вблизи сосудистых синусов, связывается с гликозаминогликанами и образует хемокиновый градиент, который привлекает моноциты к абминальной части эндотелия и затем направляет их трансмиграцию в кровотоки [12]. Вторая модель объясняет нарушение элиминации ранних ЭПК и аккумуляцию их в костном мозге у пациентов с ИКМП, у которых концентрация MCP-1 в миелоидной ткани была в 2 раза выше, чем в крови (табл. 1), вероятно, удерживая ранние ЭПК в костном мозге. Кроме того, воздействие MCP-1 приводит к снижению чувствительности моноцитов к SDF-1 в костном мозге, возможно, за счет интернализации комплексов их рецепторов CCR2-CXCR4, что с одной стороны ослабляет сигнал якоря CXCR4 [14], а с другой может ухудшать ответ клеток на внекостномозговую SDF-1 как хемоаттрактант.

Заключение

Развитие ИБС, осложненной и неосложненной ИКМП, характеризуется физиологической концентрацией VEGF-A в крови сопоставимой с таковой в костном мозге при наличии особенностей мобилизации ЭПК из миелоидной ткани и отсутствия нарушений образования этих клеток в ней. Формирование ИКМП ассоциировано с аккумуляцией ранних ЭПК в костном мозге вследствие повышенного их удержания избытком MCP-1 в данной ткани в сочетании со слабовыраженным привлечением ранних ЭПК в кровотоки из-за отсутствия профицита SDF-1 и HIF-1 α в крови. Развитие ИБС без кардиомиопатии, напротив, сопровождается активной мобилизацией ранних ЭПК из костного мозга вследствие избытка SDF-1 и HIF-1 α в крови при отсутствии отрицательного градиента для MCP-1 в костном мозге. Таким образом, при ИКМП отмечается анергия проангиогенного ответа организма на гипоксию и гранулематозное воспаление сосудистой стенки при атеросклерозе, что не позволяет обеспечить протекцию эндотелия, рост коллатералей, улучшение перфузии миокарда и его сократимости.

Публикация размещена при участии Балтийского федерального университета им. И. Канта.

Список литературы / References

1. Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Суходоло И.В., Стельмашенко А.И., Денисенко О.А., Андреев С.Л., Дёмин М.С., Чурина Е.Г. Продукция медиаторов ангиогенеза и структура сосудистой стенки в сердце при ишемической кардиомиопатии // *Acta Biomedica Scientifica*, 2023. Т. 8, № 6. С. 81-90. [Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Sukhodolo I.V., Stelmashenko A.I., Denisenko O.A., Andreev S.L., Demin M.S., Churina E.G. Production of angiogenesis mediators and the structure of the vascular wall in the heart in ischemic cardiomyopathy *Acta Biomedica Scientifica = Acta Biomedica Scientifica*, 2023. Vol. 8, no. 6. pp. 81-90. (In Russ.)]
2. Calabrese E.J. Hormesis and endothelial progenitor cells. *Dose Response*, 2022, Vol. 20, no. 1, 15593258211068625. doi: 10.1177/15593258211068625
3. Chopra H., Hung M.K., Kwong D.L., Zhang C.F., Pow E.H.N. Insights into endothelial progenitor cells: origin, classification, potentials, and prospects. *Stem Cells Int.*, 2018, Vol. 2018, 9847015. doi: 10.1155/2018/9847015.
4. Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Andreev S.L., Denisenko O.A., Gladkovskaya M.V., Litvinova L.S., Bubenchikov M.A. Role of angiopoietic coronary endothelial dysfunction in the pathogenesis of ischemic cardiomyopathy. *Biomedicines*. 2023, Vol. 11, no. 7, 1950. doi: 10.3390/biomedicines11071950.
5. Cowman S.J., Koh M.Y. Revisiting the HIF switch in the tumor and its immune microenvironment. *Trends Cancer*, 2022, Vol. 8, no. 1, pp. 28-42.
6. Del Buono M.G., Moroni F., Montone R.A., Azzalini L., Sanna T., Abbate A. Ischemic cardiomyopathy and heart failure after acute myocardial infarction. *Curr. Cardiol. Rep.*, 2022, Vol. 24, no. 10, pp. 1505-1515.
7. Felker G.M., Shaw G.M., O'Connor C.M. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2002, Vol. 39, no. 2, pp. 208-210.
8. Jiang Q., Huang K., Lu F., Deng S., Yang Z., Hu S. Modifying strategies for SDF-1/CXCR4 interaction during mesenchymal stem cell transplantation. *Gen. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 2022, Vol. 70, no. 1, pp. 1-10.
9. Korbecki J., Kojder K., Kapczuk P., Kupnicka P., Gawronska-Szklarz B., Gutowska I., Chlubek D., Baranowska-Bosiacka I. The effect of hypoxia on the expression of CXC chemokines and CXC chemokine receptors – a review of literature. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 2, 843. doi: 10.3390/ijms22020843.
10. Nagasawa T. CXCL12/SDF-1 and CXCR4. *Front. Immunol.*, 2015, Vol. 6, 301. doi: 10.3389/fimmu.2015.00301.
11. Sato T., Takeda N. The roles of HIF-1 α signaling in cardiovascular diseases. *J. Cardiol.*, 2023, Vol. 81, no. 2, pp. 202-208.
12. Shi C., Pamer E.G. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011, Vol. 11, no. 11, pp. 762-774.

13. Singh S., Anshita D., Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Int. Immunopharmacol.*, 2021, Vol. 101, Part B, 107598. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107598.
14. Teh Y.C., Ding J.L., Ng L.G., Chong S.Z. Capturing the fantastic voyage of monocytes through time and space. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 834. doi: 10.3389/fimmu.2019.00834.
15. Zhong J., Rajagopalan S. Dipeptidyl peptidase-4 regulation of SDF-1/CXCR4 axis: implications for cardiovascular disease. *Front. Immunol.*, 2015, Vol. 6, 477. doi: 10.3389/fimmu.2015.00477.
16. Zhou Y., Zhu X., Cui H., Shi J., Yuan G., Shi S., Hu Y. The Role of the VEGF family in coronary heartdisease. *Front. Cardiovasc. Med.*, 2021, Vol. 8, 738325. doi: 10.3389/fcvm.2021.738325.

Авторы:

- Чумакова С.П.** — д.м.н., доцент, профессор кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия
- Денисенко О.А.** — соискатель кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия
- Уразова О.И.** — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия
- Шипулин В.М.** — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт кардиологии — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; профессор кафедры госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия
- Андреев С.Л.** — к.м.н., врач — сердечно-сосудистый хирург, старший научный сотрудник отделения сердечно-сосудистой хирургии, Научно-исследовательский институт кардиологии — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия
- Винс М.В.** — к.м.н., доцент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия
- Гладковская М.В.** — очный аспирант и лаборант-исследователь кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия
- Дёмин М.С.** — аспирант кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия
- Дмитриева А.А.** — студент 6-го курса медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия
- Гулумженов А.Г.** — студент 6-го курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Authors:

- Chumakova S.P.**, PhD, MD (Medicine), Assistant Professor, Professor, Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation
- Denisenko O.A.**, Applicant of the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation
- Urazova O.I.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation
- Shipulin V.M.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of Russia, Chief Research Associate, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Hospital Surgery with a Course of Cardiovascular Surgery, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation
- Andreev S.L.**, PhD (Medicine), Cardiovascular Surgeon, Senior Research Associate, Department of Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation
- Vins M.V.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation
- Gladkovskaya M.V.**, Full-time Postgraduate Student and Laboratory Researcher, Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation
- Demin M.S.**, Postgraduate Student, Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation
- Dmitrieva A.A.**, 6th year Student of the Faculty of Medical Biology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation
- Gulomzhenov A.G.**, 6th year Student at the Faculty of Medicine, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Поступила 30.03.2024
Отправлена на доработку 06.04.2024
Принята к печати 18.04.2024

Received 30.03.2024
Revision received 06.04.2024
Accepted 18.04.2024