

## Дисбаланс цитокинов и численность неклассических моноцитов в крови при сердечной недостаточности ишемического генеза

### Для корреспонденции:

Дарья Александровна Погонченкова,  
azarova\_d\_a@mail.ru

Поступила в редакцию 27 мая 2019 г.

Исправлена 7 октября 2019 г.

Принята к печати 30 октября 2019 г.

### Цитировать:

Шипулин В.М., Чумакова С.П., Погонченкова Д.А., Уразова О.И., Винс М.В., Пряхин А.С., Новицкий В.В. Дисбаланс цитокинов и численность неклассических моноцитов в крови при сердечной недостаточности ишемического генеза. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2020;24(1):45-53. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-1-45-53>

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№18-015-00160\19) и Совета по грантам Президента Российской Федерации для ведущих научных школ (НШ-2690.2018.7) и молодых докторов наук (МД-2788.2019.7).

### Вклад авторов

Концепция и дизайн: В.М. Шипулин, С.П. Чумакова  
Сбор, анализ и интерпретация данных: В.М. Шипулин, С.П. Чумакова, О.И. Уразова, М.В. Винс, В.В. Новицкий  
Обзор литературы: С.П. Чумакова, Д.А. Погонченкова, А.С. Пряхин  
Написание статьи: С.П. Чумакова, Д.А. Погонченкова, О.И. Уразова  
Редактирование статьи: В.М. Шипулин, В.В. Новицкий  
Статистическая обработка данных: С.П. Чумакова  
Утверждение окончательной версии: все авторы

### ORCID ID

В.М. Шипулин, <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>

Д.А. Погонченкова, <https://orcid.org/0000-0002-5903-3662>

О.И. Уразова, <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

А.С. Пряхин, <https://orcid.org/0000-0003-0532-8091>

В.В. Новицкий, <https://orcid.org/0000-0002-9577-8370>

© В.М. Шипулин, С.П. Чумакова, Д.А. Погонченкова, О.И. Уразова, М.В. Винс, А.С. Пряхин, В.В. Новицкий, 2020

Статья открытого доступа, распространяется по лицензии [Creative Commons Attribution 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

В.М. Шипулин<sup>1,2</sup>, С.П. Чумакова<sup>2</sup>, Д.А. Погонченкова<sup>2</sup>,  
О.И. Уразова<sup>2,3</sup>, М.В. Винс<sup>2</sup>, А.С. Пряхин<sup>1</sup>, В.В. Новицкий<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт кардиологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Российская Федерация

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники», Томск, Российская Федерация

**Актуальность.** В 60% случаев хроническая сердечная недостаточность возникает на фоне ишемической болезни сердца, особенно при ишемической кардиомиопатии. Несмотря на общность ведущих механизмов развития этих двух состояний, важной задачей кардиологии является поиск дифференциальных диагностических маркеров, позволяющих на ранних стадиях верифицировать диагноз.

**Цель.** Оценить содержание неклассических моноцитов во взаимосвязи с концентрацией провоспалительных (интерлейкин (IL) 1 $\beta$ , IL-6, фактор некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ ) и противовоспалительных (IL-4, IL-10, IL-13) цитокинов в крови у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

**Методы.** Обследовано 44 больных ишемической болезнью сердца в возрасте 49–63 лет с недостаточностью кровообращения II–III функционального класса по классификация Нью-Йоркской ассоциации кардиологов, из которых 18 человек — страдающие ишемической кардиомиопатией и 26 человек — не страдающие ишемической кардиомиопатией. Группу сравнения составили 14 здоровых доноров сопоставимого возраста. В крови оценили относительное содержание неклассических (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) моноцитов методом проточной цитометрии и концентрацию IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 и TNF- $\alpha$  методом иммуноферментного анализа.

**Результаты.** У больных ишемической кардиомиопатией концентрация IL-10 в плазме крови выше (30,05 [24,75; 33,50] пг/мл,  $p = 0,0412$ ), а численность неклассических моноцитов в крови ниже нормы (5,05 [4,08; 6,58],  $p = 0,0094$ ), в то время как у больных ишемической болезнью сердца без ишемической кардиомиопатии данные показатели сохранялись в ее пределах. Концентрация IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-13 в крови у пациентов обеих групп была сопоставимой со значениями у здоровых доноров, содержание IL-4 имело нулевые значения; TNF- $\alpha$  превышало норму, а у пациентов с ишемической кардиомиопатией увеличивалось по сравнению с концентрацией цитокина у больных ишемической болезнью сердца без ишемической кардиомиопатии.

**Выводы.** Дисбаланс цитокинов в крови у больных ишемической болезнью сердца характеризовался избытком TNF- $\alpha$  и недостатком IL-4 при нормальном содержании IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-13 вне зависимости от типа ишемического поражения миокарда. У пациентов с ишемической кардиомиопатией снижение числа неклассических моноцитов ассоциировано с повышением содержания IL-10 в крови, в отличие от больных ишемической болезнью сердца без данной патологии, что может быть использовано для своевременной диагностики развития ишемической кардиомиопатии.

**Ключевые слова:** ишемическая кардиомиопатия; неклассические моноциты; провоспалительные цитокины; сердечная недостаточность

## Введение

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является исходом многих заболеваний сердца [1]. При этом в 60% случаев она обусловлена ишемической болезнью сердца (ИБС), которая при кардио-мегалии и дилатации камер сердца обозначается как ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) [2]. Последняя характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом и значительными трудностями в ее диагностике и лечении. Так, в продромальном периоде ишемическая кардиомиопатия не сопровождается яркими клиническими проявлениями, на более поздних этапах расценивается как ХСН и только при формировании кардио-мегалии диагностируется как ИКМП [3]. Чрезвычайно важно, что патогенез ИКМП до конца не изучен. В литературе обсуждается роль макрофагов в патогенезе ИКМП, а именно в индукции апоптоза кардиомиоцитов, пролиферации фибробластов и синтезе ими коллагенов с различными свойствами, в механизмах деградации интерстициального матрикса, а также в аутоиммунных процессах повреждения сердечной мышцы [4–6].

Тканевые макрофаги, как известно, дифференцируются из моноцитов крови, среди которых в последнее время идентифицированы неклассические клетки (моноциты с иммунофенотипом CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>). Считается, что они обладают высоким аффинитетом к эндотелию и проявляют слабую фагоцитарную активность [6, 7], поэтому могут играть важную роль в атеросклеротическом поражении сосудов сердца и развитии ИКМП. В связи с тем, что дифференцировка моноцитов и макрофагов на различные субтипы определяется цитокиновым профилем внеклеточного матрикса [8, 9], содержание интерлейкинов (IL) и фактора некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ ) в крови у больных ИБС с ИКМП могут влиять на численность неклассических моноцитов в циркуляции и детерминировать развитие данной патологии.

Таким образом, сходные патогенетические факторы развития ИБС и ИКМП, сопровождающихся гипоксией и активацией клеток моноцитарно-макрофагального ряда, в сочетании с нарушением продукции как провоспалительных (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ), так и противовоспалительных (IL-4, IL-10, IL-13) цитокинов [2, 10, 11], а также трудности диагностики, неблагоприятный прогноз и малоизученный патогенез ИКМП делают актуальным поиск диф-

ференциальных диагностических признаков этих двух заболеваний, которые формируют комплекс симптомов хронической сердечной недостаточности.

Цель работы — оценить содержание неклассических моноцитов в крови во взаимосвязи с концентрацией провоспалительных (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) и противовоспалительных (IL-4, IL-10, IL-13) цитокинов в плазме крови у больных ишемической болезнью сердца с хронической сердечной недостаточностью, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией.

## Методы

В исследовании участвовали 44 больных ИБС (все мужчины) со стенокардией напряжения II–IV функционального класса и недостаточностью кровообращения II–III функционального класса по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (англ. New York Heart Association, NYHA) и 14 практически здоровых доноров (все мужчины, средний возраст 58,56  $\pm$  4,95 года), не имеющих заболеваний сердечно-сосудистой системы. Учитывая возраст обследуемых, мы допускали у группы контроля хроническую патологию других систем органов вне стадии обострения с частотой, аналогичной группам больных ИБС (табл. 1). Больным выполнялось коронарное шунтирование в сочетании с реконструкцией полости левого желудочка в условиях искусственного кровообращения. Пациенты с ИБС распределены на 2 группы: 18 человек в возрасте 57,67  $\pm$  4,06 года, страдающих ИКМП (фракция выброса левого желудочка  $\leq$ 40%, острый инфаркт миокарда или реваскуляризация, стеноз левой основной или проксимальной части левой нисходящей артерии либо двух или более эпикардиальных сосудов  $\geq$ 75% [12]) и 26 человек в возрасте 59,2  $\pm$  5,49 года, не страдающих ИКМП (фракция выброса левого желудочка  $>$ 40%, острый инфаркт миокарда или реваскуляризация, стеноз коронарных сосудов любой локализации  $\geq$ 75%). Возраст больных указан как среднее  $\pm$  стандартное отклонение (как и все другие количественные характеристики в табл. 1); больных старше 70 лет исключали из исследования с целью сопоставимости выборок по возрасту, так как ИКМП страдают лица более молодого возраста, чем ИБС без ИКМП. Группы больных ИБС были сопоставимы по функциональному

классу стенокардии и недостаточности кровообращения (табл. 1); все пациенты в анамнезе имели острый инфаркт миокарда. На дооперационном этапе больным ИБС обеих групп исследования проводилось сходное лечение лекарственными средствами: антиангинальная терапия с применением нитратов пролонгированного действия, бета1-адреноблокаторов, блокаторов  $Ca^{2+}$ -каналов, коррекция гемостаза путем назначения антиагрегантов и коррекция липидного обмена с использованием статинов. Премедикация и индукция в наркоз больных обеих групп исследования проводились аналогичным образом с использованием седативных и наркотических средств, наркотических анальгетиков и

миорелаксантов (диазепама, кетамина, фентанила, промедола, пипекурония) в сопоставимых дозах.

Критериями исключения больных из исследования считали возраст старше 70 лет, аутоиммунное заболевание, аллергический процесс в стадии обострения, опухолевый процесс, гипопластическую и мегалобластную анемию, вирусный гепатит, сифилис, вирус иммунодефицита человека, курс лечения железосодержащими препаратами до операции, эритропоэтиновую или иммуносупрессивную терапию и острое инфекционное заболевание менее чем за 3 нед. до операции, а также отказ пациента от исследования.

**Таблица 1** Показатели клинического статуса больных хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией

Показатель	Больные ишемической болезнью сердца		Здоровые доноры
	без ишемической кардиомиопатии	с ишемической кардиомиопатией	
Количество, n	26	18	14
Возраст, лет	59,2 ± 5,49 $p_1 = 0,7343$	57,67 ± 4,06 $p_1 = 0,5066$ $p_2 = 0,4883$	58,56 ± 4,95
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	29,13 ± 3,51 $p_1 = 0,5418$	31,00 ± 3,79 $p_1 = 0,3611$ $p_2 = 0,7493$	26,80 ± 2,74
Функциональный класс стенокардии напряжения	2,82 ± 0,45	2,94 ± 0,25 $p_2 = 0,6317$	нет
Функциональный класс недостаточности кровообращения по NYHA	1,98 ± 0,63	2,17 ± 0,38 $p_2 = 0,5143$	нет
Фракция выброса левого желудочка, %	63,77 ± 6,94	37,02 ± 6,00 $p_2 = 0,0000$	не определялась
Гипертоническая болезнь, %	84,46 ± 6,27	66,67 ± 11,11 $p_2 = 0,1284$	0
Сахарный диабет 2-го типа, %	23,08 ± 8,26 $p_1 = 0,3870$	16,67 ± 8,79 $p_1 = 0,6128$ $p_2 = 0,7161$	7,14 ± 6,88
Патология желудочно-кишечного тракта (язвенная болезнь, гастрит), %	84,62 ± 7,08 $p_1 = 0,4162$	94,44 ± 5,40 $p_1 = 0,1420$ $p_2 = 0,6337$	71,43 ± 12,07
Заболевания печени и желчевыводящих путей, %	30,77 ± 9,05 $p_1 = 0,4457$	33,33 ± 11,11 $p_1 = 0,4122$ $p_2 = 1,0000$	14,29 ± 9,35
Заболевания мочевыделительной системы, %	50,00 ± 9,81 $p_1 = 0,1010$	44,44 ± 11,71 $p_1 = 0,2656$ $p_2 = 0,6767$	21,43 ± 10,87
Заболевания легких, %	11,54 ± 6,27 $p_1 = 0,9999$	33,33 ± 11,11 $p_1 = 0,1037$ $p_2 = 0,1284$	7,14 ± 6,88

*Примечание.* Среднее и стандартное отклонение; для частот — выборочная доля и средняя ошибка;  $p_1$  — уровень статистической значимости различий показателей по сравнению со здоровыми донорами,  $p_2$  — между больными ишемической болезнью сердца с ишемической кардиомиопатией и без ишемической кардиомиопатии

В забранной натошак до операции перед индукцией в наркоз гепаринизированной (25 МЕ/мл) венозной крови у здоровых доноров и больных обеих групп определяли относительное содержание неклассических (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) моноцитов методом проточной цитометрии (цитофлуориметр Accuri C6, BD Biosciens, США), принимая за 100% все клетки, положительные по CD14. Иммунофенотипирование моноцитов проводили в цельной крови после предварительного цитолиза эритроцитов при добавлении лизирующего раствора (BD Biosciens, США). С целью идентификации субпопуляций моноцитов крови использовали моноклональные антитела CD14-FITC и CD16-PE (BD Biosciens, США), согласно методическим рекомендациям, изложенным в соответствующих инструкциях производителя. Содержание цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10,

IL-13 и TNF- $\alpha$  в плазме крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов «Интерлейкин-1бета-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-4-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ», «альфа-ФНО-ИФА-БЭСТ» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия) и Human IL-13 Platinum ELISA (eBioscience, Австрия).

#### Статистический анализ

Статистический анализ данных выполнен с помощью программы Statistica 10.0. При статистическом описании результатов исследования для количественных признаков вычисляли медиану, 1-й и 3-й квартили; для частот встречаемости признака в группах рассчитывали выборочную долю и среднюю ошибку выборочной доли. С целью проверки нулевой гипотезы при сравнении количественных

**Таблица 2** Содержание цитокинов и неклассических моноцитов в крови у больных хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией, Me [Q1; Q3]

Показатель крови	Больные ишемической болезнью сердца		Здоровые доноры
	без ишемической кардиомиопатии	с ишемической кардиомиопатией	
Концентрация IL-1 $\beta$ , пг/мл	2,54 [0,00; 3,19] $p_1 = 0,4795$	2,93 [0,04; 3,65] $p_1 = 0,2159$ $p_2 = 0,9296$	1,21 [0,00; 1,79]
Концентрация IL-4, пг/мл	0 [0,00; 0,00] $p_1 = 0,0067$	0 [0,00; 0,00] $p_1 = 0,0067$ $p_2 = 1,0000$	0,29 [0,08; 1,26]
Концентрация IL-6, пг/мл	2,20 [1,53; 4,95] $p_1 = 0,3657$	2,01 [1,46; 2,76] $p_1 = 0,4214$ $p_2 = 0,9476$	1,58 [0,00; 2,14]
Концентрация IL-10, пг/мл	24,00 [23,00; 28,50] $p_1 = 0,8825$	30,05 [24,75; 33,50] $p_1 = 0,0412$ $p_2 = 0,1523$	19,50 [18,00; 24,00]
Концентрация IL-13, пг/мл	0,60 [0,41; 0,82] $p_1 = 0,6207$	0,82 [0,40; 0,95] $p_1 = 0,3428$ $p_2 = 0,4485$	0,50 [0,40; 0,75]
Концентрация TNF- $\alpha$ , пг/мл	1,16 [0,90; 2,37] $p_1 = 0,0492$	2,23 [1,06; 7,12] $p_1 = 0,0358$ $p_2 = 0,2643$	0,46 [0,00; 0,83]
Содержание неклассических моноцитов CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> , %	9,10 [6,02; 17,93] $p_1 = 0,9999$	5,05 [4,08; 6,58] $p_1 = 0,0094$ $p_2 = 0,0348$	10,07 [9,34; 13,84]

*Примечание.*  $p_1$  — уровень статистической значимости различий показателей по сравнению со здоровыми донорами,  $p_2$  — между больными ишемической болезнью сердца с ишемической кардиомиопатией и без ишемической кардиомиопатии

признаков использовали критерий Манна – Уитни, для частот встречаемости признака в группах — точный критерий Фишера. Для оценки взаимосвязей между изучаемыми показателями рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена. С целью выявления закономерности влияния изучаемых показателей на развитие ИКМП применяли многофакторную логистическую регрессию. Для изучения предсказательной ценности изучаемых параметров при верификации ИБС с ИКМП и ИБС без ИКМП проводили ROC-анализ, вычисляя площадь под ROC-кривой и ее доверительный интервал. Результаты статистического анализа считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Анализ данных показал, что концентрация TNF- $\alpha$  в плазме крови у больных ИБС обеих групп исследования превышала показатели здоровых доноров с тенденцией к большим значениям у пациентов с ИКМП по сравнению с больными ИБС без ИКМП. При этом содержание IL-1 $\beta$  и IL-6 в крови пациентов варьировало в пределах нормы вне зависимости от ишемической кардиомиопатии (табл. 2).

Концентрация противовоспалительного цитокина IL-13 у больных обеих групп соответствовала норме, а содержание IL-4 было ниже границы чувствительности метода, что не отмечалось у

здоровых доноров (табл. 2). Между тем, для концентрации IL-4 в крови были характерны высокие значения площади под ROC-кривой у больных ИБС по отношению к здоровым донорам (около 0,9 при нижней границе доверительного интервала более 0,5; табл. 3). Для цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  и IL-13 площадь под ROC-кривой варьировала около 0,6 и нижняя граница доверительного интервала не достигала предела 0,5 (табл. 3).

Характерными особенностями анализируемых параметров у больных ИКМП, в отличие от пациентов без данной патологии, были увеличение концентрации IL-10 в плазме крови и почти двукратное снижение численности неклассических моноцитов в кровотоке у больных ИКМП по отношению к аналогичным показателям у здоровых доноров (табл. 2). Кроме того, выявлялась отрицательная взаимосвязь плазменной концентрации IL-10 с численностью неклассических моноцитов в крови как у пациентов с ИКМП ( $r = -0,62$ ;  $p < 0,05$ ), так и без ИКМП ( $r = -0,65$ ;  $p < 0,05$ ). ROC-анализ продемонстрировал среднюю величину площади под ROC-кривой для плазменной концентрации IL-10 у больных ИКМП, по сравнению со здоровыми донорами, а численность неклассических моноцитов — высокую, по сравнению с больными ИБС без ИКМП, и очень высокую, по сравнению со здоровыми донорами (табл. 3).

**Таблица 3** Результаты ROC-анализа показателей крови у больных хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза (площадь под ROC-кривой и ее доверительный интервал)

Показатель в крови	Больные ишемической болезнью сердца без ишемической кардиомиопатии / здоровые доноры	Больные ишемической болезнью сердца с ишемической кардиомиопатией / здоровые доноры	Больные ишемической болезнью сердца с ишемической кардиомиопатией / без ишемической кардиомиопатии
Концентрация IL-1 $\beta$	0,620 [0,333; 0,908]	0,604 [0,436; 0,772]	0,519 [0,243; 0,794]
Концентрация IL-4	0,917 [0,734; 1,000]	0,917 [0,734; 1,000]	0,665 [0,452; 0,878]
Концентрация IL-6	0,644 [0,378; 0,910]	0,629 [0,347; 0,911]	0,512 [0,260; 0,765]
Концентрация IL-10	0,531 [0,246; 0,815]	0,693 [0,521; 0,865]	0,665 [0,452; 0,878]
Концентрация IL-13	0,575 [0,291; 0,864]	0,643 [0,382; 0,904]	0,587 [0,371; 0,802]
Концентрация TNF- $\alpha$	0,712 [0,428; 0,996]	0,598 [0,292; 0,904]	0,645 [0,409; 0,880]
Содержание неклассических моноцитов CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup>	0,520 [0,135; 0,905]	0,971 [0,886; 1,000]	0,886 [0,663; 1,000]

## Обсуждение

Наше исследование выявило высокую концентрацию TNF- $\alpha$  при нормальном содержании IL-1 $\beta$  и IL-6 в плазме крови у больных ИБС обеих групп. Данный факт, наиболее вероятно, обусловлен ХСН, при которой клетки ишемизированных тканей способны синтезировать провоспалительные цитокины, особенно TNF- $\alpha$ , индуцированная гиперпродукция которого определяется даже при бессимптомной патологии [4]. Гипоксия непосредственно стимулирует выработку индуцируемого гипоксией фактора-1 и TNF- $\alpha$  в миокарде и других тканях организма, активирует моноциты/макрофаги, способные продуцировать ряд провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и др.), ферментов и прооксидантов, что усугубляет повреждение ишемизированных тканей [13].

Тенденцию к повышению содержания TNF- $\alpha$  в плазме крови у пациентов с ИКМП, по сравнению с больными ИБС без ИКМП, можно объяснить распространенным гипоксическим поражением миокарда при ИКМП в отличие от очаговой ишемии у больных ИБС без таковой [2, 3]. Концентрация TNF- $\alpha$  в крови при ХСН, согласно данным литературы, сильно варьирует от высоких показателей до 0, то есть ниже уровня чувствительности метода [1]. Последнее может быть обусловлено наличием в циркуляции растворимых рецепторов к TNF- $\alpha$ , которые связывают цитокин и затрудняют его определение. В некоторых случаях отсутствие положительного результата при измерении концентрации TNF- $\alpha$  в плазме крови путем иммуноферментного анализа не исключает гиперпродукцию этого цитокина *in vivo* [1]. С учетом этого и широкой вариативности концентрации TNF- $\alpha$  в крови, а также данных ROC-анализа предсказательная ценность измерения этого цитокина в крови для дифференциальной диагностики ИБС с ИКМП и без таковой представляется сомнительной.

Тот факт, что при ХСН не всегда отмечается повышение концентрации основных провоспалительных цитокинов в крови, согласуется с данными литературы: увеличение содержания IL-6 и IL-1 $\beta$  характерно только для тяжелых форм ХСН, а повышение уровня IL-6 обнаруживается в основном при острой декомпенсации сердечной недостаточности и быстро снижается при купировании [1]. Вероятно, эти закономерности объясняют соответствующее норме содержание IL-6 и IL-1 $\beta$  в крови у больных обеих групп

исследования, которые страдали ХСН средней степени тяжести и находились в стабильном состоянии.

Системная воспалительная реакция при ИБС и ХСН характеризуется нарушением баланса про- и противовоспалительных цитокинов [10]. Действительно, содержание IL-4 в крови у обследованных пациентов обеих групп было ниже нормы, а концентрация IL-13 соответствовала таковой. Дефицит IL-4 при коронарном атеросклерозе отражает, по всей видимости, угнетение адаптивного иммунитета у больных ИБС, поскольку данный цитокин является классическим активатором Т-хелперов 2-го типа [14]. Следовательно, у больных ИБС вне зависимости от ИКМП нарушение баланса цитокинов в крови характеризуется избытком TNF- $\alpha$  при отсутствии IL-4 на фоне нормальных концентраций IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-13. Данный факт не позволяет рассматривать уровень этих цитокинов в системном кровотоке как дифференциальный признак одной из патологий, обе из которых сопровождаются ХСН, что согласуется с данными ROC-анализа. Для цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  и IL-13 площадь под ROC-кривой варьировала около 0,6 с границей доверительного интервала менее 0,5, свидетельствуя о слабой классификационной способности этих признаков. Данные цитокины не могут быть использованы для подтверждения диагноза ХСН, в отличие от концентрации IL-4, дефицит которого присущ больным ХСН, но не позволяет отличить ИБС с ИКМП от ИБС без ИКМП (при сравнении этих групп площадь под ROC-кривой варьировала около 0,6 и нижняя граница доверительного интервала не достигала предела 0,5).

Отличия в группах больных ИБС зарегистрированы только для содержания IL-10 и неклассических моноцитов в крови, недостаток которых определялся у пациентов с ИКМП при избытке IL-10, что не обнаруживалось у больных ИБС без ИКМП. Поскольку гиперпродукция IL-10 свойственна адаптации к долговременной гипоксии [15], избыток данного цитокина в крови у больных ИКМП, очевидно, обусловлен прогрессированием распространенной ишемии миокарда в отличие от очаговой ишемии при ИБС без ИКМП. Являясь противовоспалительным и иммуносупрессорным медиатором, IL-10 подавляет секрецию провоспалительных цитокинов и функцию макрофагов [14], что, вероятно, угнетает дифференцировку неклассических моноцитов. Это подтверждается отрицательной взаимосвязью плазменной

концентрации IL-10 с численностью неклассических моноцитов в крови у пациентов как с ИКМП, так и без ИКМП. При этом у больных без ИКМП данная связь, очевидно, не реализовалась в изменение количества неклассических моноцитов, так как концентрация IL-10 в крови соответствовала норме. Не исключено, что дефицит в крови неклассических моноцитов, вследствие нарушения их дифференцировки у больных ИКМП, потенцируется усилением аккумуляции этих клеток в большом объеме ишемизированного миокарда при генерализованном гипоксическом поражении, где эти клетки созревают в макрофаги и участвуют в ремоделировании сердечной мышцы.

Важность оценки содержания IL-10 и неклассических моноцитов в крови для идентификации ИКМП подтверждается результатами ROC-анализа: плазменная концентрация IL-10 имеет среднюю (0,6–0,7) классификационную ценность для больных ИКМП по сравнению со здоровыми донорами, а численность неклассических моноцитов — высокую (0,8–0,9), по сравнению с больными ИБС без ИКМП, и очень высокую (более 0,9), по сравнению со здоровыми донорами. Иными словами, кроме функционального критерия ИКМП (снижение фракции выброса сердца), лабораторным признаком этого заболевания может служить повышение концентрации IL-10 при низком содержании неклассических моноцитов в крови у пациентов с коронарным атеросклерозом.

Считается, что неклассические моноциты взаимосвязаны с популяцией резидентных тканевых макрофагов, имеют выраженные антиген-презентирующие свойства, активно синтезируют IL-1 $\beta$ , обладают высоким аффинитетом к эндотелию, но проявляют слабую фагоцитарную активность [6, 7]. Их наиболее вероятной функцией в кровотоке является «патрулирование» эндотелия, так как неклассические моноциты способны элиминировать окисленные липиды, погибшие клетки и патогены с поверхности сосудистой стенки [16]. Следовательно, у больных ИКМП формируется дефицит моноцитов, способствующих очищению эндотелия. Не полноценность этого физиологического механизма протекции эндотелия предрасполагает к развитию ИКМП, вследствие фиксации липидов в стенке самых мелких коронарных артерий, которые обычно не поражаются атеросклерозом, поскольку в них отсутствуют высокие напряжения сдвига [17]. Так, вероятно,

реализуется паттерн распространенного ишемического поражения миокарда при ИКМП с участием неклассических моноцитов.

Установленные в настоящем исследовании взаимосвязи могут стать основой разработки антицитокиновой коррекции численности неклассических моноцитов с помощью антител против IL-10 с целью профилактики ИКМП. Кроме того, результаты исследования носят и прикладное значение. Выявление избытка IL-10 при недостатке численности неклассических моноцитов в крови у больных с коронарным атеросклерозом может служить дополнительным (лабораторным) признаком ИКМП при снижении фракции выброса левого желудочка менее 40% или фактором риска развития таковой при сохранной фракции выброса, что поможет идентифицировать группу больных, предрасположенных к ИКМП, и установить за ними динамическое наблюдение.

### **Ограничения**

Ограничения исследования могут быть связаны с клиническим статусом больных, которые были обследованы накануне операции, то есть при достаточно значимой коронарной патологии, требующей хирургического лечения. Кроме того, отсутствие достоверных отличий по содержанию IL-10 в крови между больными ИБС с ИКМП и без таковой может объясняться небольшим числом обследованных пациентов с ИКМП, что обусловлено редкой встречаемостью заболевания, и при увеличении объема выборки отличия между группами больных ИБС по содержанию IL-10 могут стать статистически значимыми. Также ограничением является то, что выводы сделаны на основе однофакторного анализа.

### **Выводы**

Таким образом, формирование ХСН средней степени тяжести вне зависимости от типа ишемического поражения миокарда характеризуется увеличением концентрации TNF- $\alpha$  и дефицитом IL-4 при нормальном содержании IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-13 в плазме крови. Дисбаланс цитокинов в крови у больных ИБС с преобладанием провоспалительного потенциала (избыток TNF- $\alpha$ ) над противовоспалительным (недостаток IL-4) сочетается у больных ИКМП, в отличие от пациентов без данной патологии, с дефицитом неклассических моноцитов и профицитом IL-10 в крови, которые отрицательно коррелируют

между собой. Следовательно, концентрация IL-10 и численность неклассических моноцитов в крови могут быть использованы для верификации диагноза ИКМП на ранних стадиях формирования и выявления пациентов с высоким риском болезни.

### Список литературы / References

1. Токмачев Р.Е., Будневский А.В., Кравченко А.Я. Роль воспаления в патогенезе хронической сердечной недостаточности. *Терапевтический архив*. 2016;88(9):106-110. [Tokmachev R.E., Budnevsky A.V., Kravchenko A.Ya. The role of inflammation in the pathogenesis of chronic heart failure. *Therapeutic archive = Terapevticheskij archiv*. 2016;88(9):106-110. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17116/terarkh2016889106-110>
2. Коваленко В.Н., Гавриш А.С. Ишемическая кардиомиопатия: нейрогуморальные и иммуновоспалительные аспекты пато- и морфогенеза. *Украинский кардиологический журнал*. 2013;(4):14-20. [Kovalenko V.N., Gavrish A.S. Ischemic cardiomyopathy: neurohumoral and immuno-inflammatory aspects of patho- and morphogenesis. *Ukrainian cardiology journal = Ukrainii kardiologicheskii zhurnal*. 2013;(4):14-20 (In Russ.)]
3. Казаков В.А., Суходоло И.В., Шипулин В.М., Огуркова О.Н., Гусакова А.М., Гутор С.С., Лежнев А.А., Ватолина Т.В. Поиск молекулярных маркеров послеоперационного ремоделирования левого желудочка у больных ишемической кардиомиопатией. *Сибирский медицинский журнал*. 2010;25(2):34-38. [Kazakov V.A., Sukhodolo I.V., Shipulin V.M., Ogurkova O.N., Gusakova A.M., Gutov S.S., Lezhnev A.A., Vatolina T.V. Search of molecular markers of postoperative remodeling of left ventricle in patients with ischemic cardiomyopathy. *Siberian Medical Journal = Sibirskij medicinskij zhurnal*. 2010;25(2-2):34-38. (In Russ.)]
4. Bartekova M., Radosinska J., Jelemensky M., Dhalla N.S. Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease. *Heart Fail Rev*. 2018;23(5):733-58. PMID: 29862462. <https://doi.org/10.1007/s10741-018-9716-x>
5. Kaya Z., Leib C., Katus H.A. Autoantibodies in heart failure and cardiac dysfunction. *Circulation Research*. 2012;110(1):145-58. PMID: 22223211. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.243360>
6. Shahid F, Lip G.Y., Shantsila E. Role of monocytes in heart failure and atrial fibrillation. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(3). <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.007849>
7. Ziegler-Heitbrock L. The CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> blood monocytes: their role infection and inflammation. *J Leukoc Biol*. 2007;81(3):584-92. PMID: 17135573. <https://doi.org/10.1189/jlb.0806510>
8. Rojas J., Salazar J., Martínez M.S., Palmar J., Bautista J., Chávez-Castillo M., Gómez A., Bermúdez V. Macrophage heterogeneity and plasticity: impact of macrophage biomarkers on atherosclerosis. *Scientifica (Cairo)*. 2015;2015:851252. <https://doi.org/10.1155/2015/851252>
9. Shapouri-Moghaddam A., Mohammadian S., Vazini H., Taghadosi M., Esmaili S.A., Mardani F., Seifi B., Mohammadi A., Afshari J.T., Sahebkar A. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol*. 2018;233(9):6425-40. PMID: 29319160. <https://doi.org/10.1002/jcp.26429>
10. Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Новицкий В.В., Хардикова С.А. Цитокины как индукторы постперфузионной системной воспалительной реакции у кардиохирургических больных с различной продолжительностью коронарной патологии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(4):260-269 [Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Novitsky V.V., Khardikova S.A. Cytokines as inducers of postperfusion systemic inflammatory reaction in cardiac surgical patients with different duration of coronary pathology. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017;16(4):260-268. (In Russ.)] <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-260-268>
11. Закирова Н.Э., Хафизова Н.Х., Карамова И.М., Закирова А.Н., Оганов Р.Г. Иммуновоспалительные реакции при ишемической болезни сердца. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2007;3(2):16-19. [Zakirova N.E., Chafizova N.H., Karamova I.M., Zakirova A.N., Oganov R.G. Immuno-inflammatory response in ischemic heart disease. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology = Racional na farmakoterapiâ v kardiologii*. 2007;3(2):16-19. (In Russ.)] <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2007-3-2-16-19>
12. Felker G.M., Shaw L.K., O'Connor C.M. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(2):210. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01738-7](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01738-7)
13. Лямина С.В., Малышев И.Ю. Поляризация макрофагов в современной концепции формирования иммунного ответа. *Медицинские науки. Фундаментальные исследования*. 2014;10:930-935. Режим доступа: <http://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=35767> [Lyamina S.V., Malyshev I.Y. Macrophage polarization in the modern concept of immune response development. *Medical sciences. Fundamental research = Medicinskije nauki. Fundamentalnie issledovaniya*. 2014;10:930-935. (In Russ.) Available from: <http://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=35767>]
14. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб: Фолиант, 2008. 552 с. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. *Cytokines*. Saint Petersburg: Folio, 2008. 552 p. (In Russ.)]
15. Kang J.G., Sung H.J., Amar M.J., Pryor M, Remaley A.T., Allen M.D., Noguchi A.C., Springer D.A., Kwon J., Chen J., Park J.H., Wang P.Y., Hwang P.M. *Low ambient oxygen prevents atherosclerosis*. *J Mol Med (Berl)*. 2016;94(3):277-86. <https://doi.org/10.1007/s00109-016-1386-3>
16. Dutta P, Nahrendorf M. Monocytes in myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(5):1066-70. PMID: 25792449, PMCID: PMC4409536. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304652>
17. Патофизиология сердечно-сосудистой системы. Под ред. Л.С. Лилли. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2016. 735 с. [Lilly L.S., editor. *Pathophysiology of the cardiovascular system*. Moscow: Binom. Knowledge Laboratory, 2016. 735 p. (In Russ.)]

## Interleukin-10 and non-classical monocytes as biomarkers of ischemic cardiomyopathy

Vladimir M. Shipulin<sup>1</sup>, Svetlana P. Chumakova<sup>2</sup>, Daria A. Pogonchenkova<sup>2</sup>, Olga I. Urazova<sup>2,3</sup>,  
Maria V. Vins<sup>2</sup>, Andrey S. Pryakhin<sup>1</sup>, Vyacheslav V. Novickiy<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>3</sup>Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics, Tomsk, Russian Federation

**Corresponding author.** Daria A. Pogonchenkova, [azarova\\_d\\_a@mail.ru](mailto:azarova_d_a@mail.ru)

**Background.** Chronic heart failure frequently occurs against the background of ischemic heart disease (IHD), and has also been associated with the diagnosis of ischemic cardiomyopathy (ICMP). While there are significant commonalities with respect to underlying mechanisms, it would be most important to identify differential diagnostic markers to facilitate diagnosis and verification at the early stages of disease.

**Aim.** The intent of this study was to perform a quantitative assessment of non-classical monocytes in patients diagnosed with IHD with or without ICMP and to identify any relationships between non-classical monocytes and plasma concentrations of proinflammatory (interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, tumour necrosis factor (TNF)- $\alpha$ ) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10, IL-13) cytokines.

**Methods.** We examined 44 patients diagnosed with IHD, aged 49 - 63 years, with class II-III heart failure as per the New York Heart Association criteria. Of this group, 18 were also diagnosed with ICMP. The comparison group included 14 age-matched healthy controls. Percentages of non-classical (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) monocytes in peripheral blood were determined by flow cytometry and the concentrations of IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 and TNF- $\alpha$  were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

**Results.** Amongst the patients diagnosed with ICMP, the concentration of IL-10 in blood plasma was higher than in those without this diagnosis, detected at 30.05 pg/ml (range 24.75 - 33.50 pg/ml,  $p=0.0412$ ); the percentage of non-classical monocytes was lower, at 5.05% (range 4.08 - 6.58%,  $p=0.0094$ ). Amongst patients diagnosed with IHD without ICMP, these parameters were within normal limits. The plasma concentrations of IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-13 in both groups were comparable to values obtained from healthy donors and IL-4 was undetectable throughout. Amongst patients diagnosed with ICMP, plasma TNF- $\alpha$  was detected at elevated levels that were comparable to those determined for patients diagnosed with IHD without ICMP.

**Conclusion.** Imbalance of cytokines in blood in patients with coronary artery disease is characterized by excess TNF- $\alpha$ , absence of IL-4, and normal levels of IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-13, regardless of the type of ischemic myocardial injury. In patients with ICMP, we detected an overall decrease in the fraction of non-classical monocytes in association with an increase in plasma IL-10; these features were not detected in patients diagnosed with IHD without ICMP. As such, these biological responses may be used for timely diagnosis of ICMP.

**Key words:** ischemic cardiomyopathy; heart failure; non-classical monocytes; proinflammatory cytokines

Received 27 May 2019. Revised 7 October 2019. Accepted 30 October 2019.

**Funding:** The work is supported by grants of the Russian Foundation for Basic Research No. 18-015-00160\19 and the President of the Russian Federation No. HШ-2690.2018.7 and No. МД-2788.2019.7.

**Conflict of interest:** Authors declare no conflict of interest.

### Author contributions

Conception and study design: V.M. Shipulin, S.P. Chumakova. Data collection and analysis: V.M. Shipulin, S.P. Chumakova, O.I. Urazova, M.V. Vins, V.V. Novickiy. Literature review: S.P. Chumakova, D.A. Pogonchenkova, A.S. Pryakhin.

Drafting the article: S.P. Chumakova, D.A. Pogonchenkova, O.I. Urazova. Critical revision of the article: V.M. Shipulin, V.V. Novickiy. Statistical analysis: S.P. Chumakova. Final approval of the version to be published: V.M. Shipulin, S.P. Chumakova, D.A. Pogonchenkova, O.I. Urazova, M.V. Vins, A.S. Pryakhin, V.V. Novickiy

### ORCID ID

V. M. Shipulin, <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>; S. P. Chumakova, <https://orcid.org/0000-0003-3468-6154>

D. A. Pogonchenkova, <https://orcid.org/0000-0002-5903-3662>; O. I. Urazova, <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

A. S. Pryakhin, <https://orcid.org/0000-0003-0532-8091>; V.V. Novickiy, <https://orcid.org/0000-0002-9577-8370>

**Copyright:** © 2020 Shipulin et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

**How to cite:** Shipulin V.M., Chumakova S.P., Pogonchenkova D.A., Urazova O.I., Vins M.V., Pryakhin A.S., Novickiy V.V. Interleukin-10 and non-classical monocytes as biomarkers of ischemic cardiomyopathy. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2020;24(1):45-53. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2020-1-45-53> (In Russ.).