



**Данилова  
Ирина Георгиевна**

Ведущий научный сотрудник ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, Институт иммунологии и физиологии РАН, Екатеринбург, д.б.н., профессор

---

## **Модуляция активности макрофагов — перспективность использования в лечении инфаркта миокарда**

*Данилова И.Г., Медведева С.Ю., Юшков Б.Г., Гетте И.Ф.,  
Сарапульцев А.П., Абидов М.Т.*

ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург  
Институт иммунологии и физиологии, Екатеринбург  
Первый Московский медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

В настоящее время ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда являются одними из ведущих причин смертности населения развитых стран. Основным механизмом развития инфаркта миокарда является тромбоз и окклюзия коронарных сосудов, что влечет за собой нарушение или прекращение локального кровообращения и развитие некроза кардиомиоцитов.

Гистологической догмой до сих пор считался тот факт, что кардиомиоциты являются терминально дифференцированными клетками, не способными вступать в клеточный цикл и пролиферировать. В связи с совершенствованием современных методов конфокальной микроскопии, иммуногистохимии, морфометрии возникла альтернативная теория клеточной гиперплазии кардиомиоцитов. Согласно этой теории эти клетки могут делиться митозом, который может быть завершённым. В экспериментах на животных установлено, что особенно часто пролиферация происходит в декомпенсированном сердце при инфаркте миокарда как в остром, так и хроническом периоде. Поэтому проблема стимуляции репаративных процессов в поврежденном миокарде является актуальной проблемой кардиологии, а разработка ее функциональных основ — проблемой регенераторной медицины.

Известно, что на метаболизм, электрические и механические свойства миокарда влияют фибробласты, которые обладают хорошим пролиферативным и секреторным потенциалом. Доказана также возможность регене-

рации миокарда за счет резидентных стволовых клеток миокарда, а также гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток. Многочисленными исследованиями показано, что макрофаги, выделяя различные цитокины, ростовые факторы, биологически активные вещества, регулируют тканевой гомеостаз и регенерацию. Работами нашей лаборатории в модельных экспериментах повреждения печени и почек установлено, что макрофаги способны регулировать регенерацию тканей за счет усиления пролиферации, миграции и хоуминга стволовых клеток.

Представляется, что модулирование активности макрофагов в реабилитации больных после инфаркта миокарда является перспективным научным направлением, а экспериментальные исследования открывают широкий простор для фундаментальных выводов.

Для исследования восстановительного роста кардиомиоцитов в ИИФ УрО РАН была создана экспериментальная модель инфаркта миокарда (патент на изобретение №2437163). В качестве модулятора активности макрофагов использовали дериваты 3-аминофталгидразида (АМФ) или препарат «Тамерит».

Эксперимент проводили на 95 беспородных крысах обоего пола массой 200–230 г, содержащихся на обычном рационе вивария. Условия содержания и обращение с используемыми в эксперименте животными соответствовали Директиве Совета ЕС 2010/63/EU. Животные были разделены на 3 группы — интактные животные, контрольные (нелеченные) и группа леченных животных, которым внутримышечно вводили АМФ в дозе 5 мг/кг веса в течение всего эксперимента. Исследования проводились на 1, 5, 7, 14, 21 сутки после моделирования инфаркта миокарда.

Подготовку образцов ткани миокарда для гистологического исследования осуществляли на автоматическом процессоре Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин. Срезы толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону и Вейгерту. Микроскопическое исследование производили на микроскопе Leica DM 2500, анализ изображений выполняли в программе ВидеоТест «Морфология» 5.0.

Биохимические исследования крови включали определение активности ферментов в плазме крови аланинаминотрансферазы (АЛТ, 2.6.1.2), аспартатаминотрансферазы (АСТ, 2.6.1.1), креатинфосфокиназы МВ (КФК. 2.7.3.2.). Все биохимические исследования проводили с использованием стандартных наборов реактивов фирмы Витал Диагностика (Санкт-Петербург) на приборе DU 800 Beckman Coulter и биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (производитель Roche).

**Результаты и обсуждение.** При анализе гистологических препаратов было обнаружено, что у животных на фоне модуляции макрофагальной активности экссудативно-воспалительная реакция в миокарде выражена намного слабее, чем у контрольных нелеченных животных. На пятые сутки эксперимента у леченных животных формировался демаркационный вал, отмечались признаки пролиферации фибробластов и формировалась грануляционная ткань, тогда как в контрольной группе пер-

вые грануляции формировались только к 7 суткам эксперимента, сохранялись также умеренно выраженные признаки экссудативного воспаления с наличием миграции полиморфноядерных лейкоцитов, которые осуществляют фагоцитирующую функцию — фагоцитируют и лизируют некротические массы.

Интересно, что у леченных животных на 7–14 сутки интенсивно протекали процессы ангиогенеза с образованием гемокапилляров и сосудов синусоидального типа, артериол и венул. В рубцовой ткани сохранялась умеренная лимфоцитарная и макрофагальная инфильтрация (рисунки 1, 2).

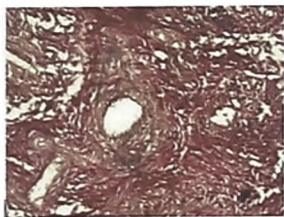


Рисунок 1. Фаза организации инфаркта на 14 сутки после действия АМФ. Формирование внутренней и наружной эластичных мембран стенки сосуда. В средней оболочке дифференцировка гладкомышечных клеток. Окраска по Ван Гизону и Вейгерту. Увеличение x 200.

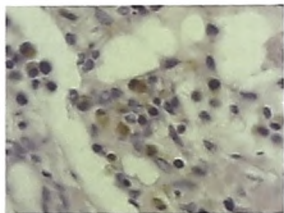


Рисунок 2. Зона инфаркта на 14 сутки с введением препарата. Активный фагоцитоз и санация зоны повреждения макрофагами. Окраска эозином и гематоксилином. Увеличение x 200.

На двадцать первые сутки исследования репаративные процессы в зоне поражения завершались формированием рубца, представленного волокнистой соединительной тканью без очагов фиброза с выраженной васкуляризацией. В зоне рубца определялись сосуды разного калибра с хорошо сформированными оболочками сосудистой стенки. В части сосудов обнаруживалась периваскулярная пролиферация перицитов с признаками их последующей дифференцировки в гладкомышечные клетки.

Биохимический анализ крови животных после введения 3-аминофталгидразида показал снижение активности аминотрансфераз и в крови по сравнению с контрольной группой животных (таблицы 1, 2), что, вероятно, связано с эпикардиальным повреждением миокарда и меньшим количеством альтеративных кардиомиоцитов. Активность КФК в плазме крови леченных животных, наоборот, была более высокая, особенно на 5 сутки эксперимента (таблица 3), что вызвано, возможно, повышенным фагоцитозом некротизированных кардиомиоцитов и формированием грануляционной ткани.

Таблица 1  
Активность аспаратаминотрансферазы, U/l (мкмоль/л·мин)

Интактные животные	Инфаркт миокарда			
	1 сутки	5 сутки	7 сутки	14 сутки
11,6±0,8	24,9±2,0 °	17,4±3,0	17,3±1,4 °	17,2±0,4 °
	Инфаркт миокарда + АМФ			
	1 сутки	5 сутки	7 сутки	14 сутки
	15,3±2,1 ** n	12,3±1,8	10,6±1,5 **	14,0±1,1 **

\* — различие с группой интактных достоверно при  $P < 0,05$ ; \*\* — различие леченных животных с контрольными (инфаркт миокарда) достоверно при  $P < 0,05$ .

Согласно «туннельной теории ангиогенеза», образование сосудов и грануляций происходит при сформировавшемся экстрацеллюлярном матриксе в области, свободной от некротизированных кардиомиоцитов. В контрольной группе на 14 сутки, когда, по данным гистологического анализа, происходит ангиогенез, активность КФК в крови не отличалась от значений показателя интактных крыс.

Таблица 2  
Активность аланинаминотрансферазы, U/l (мкмоль/л·мин)

Интактные животные	Инфаркт миокарда			
	1 сутки	5 сутки	7 сутки	14 сутки
10,5±0,7	23,7±3,7°	18,7±3,3°	17,5±1,6°	15,3±2,2
	Инфаркт миокарда + АМФ			
	1 сутки	5 сутки	7 сутки	14 сутки
	10,7±1,7 **	16,3±3,6	14,4±1,5	11,0±1,5

\* — различие с группой интактных достоверно при  $P < 0,05$ ; \*\* — различие леченных животных с контрольными (инфаркт миокарда) достоверно при  $P < 0,05$ .

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что модуляция активности макрофагов дериватами 3-аминофталгидразида снижает выраженность экссудативно-деструктивной фазы воспаления в ответ на повреждение, что проявляется в уменьшении площади некротических изменений в миокарде. Зона инфаркта у леченных животных локализовалась субэпикардially в отличие от трансмурального повреждения миокарда контрольной группы. Уменьшалось также количество некротизированных и дистрофически измененных кардиомиоцитов в прилегающей к зоне инфаркта ткани. У леченных животных реализация регуляторного действия макрофагов проявляется в активации пролиферации фибро-

Таблица 3  
Креатинкиназы МВ, U/l (мкмоль/л·мин)

Интактные животные	Инфаркт миокарда			
	1 сутки	5 сутки	7 сутки	14 сутки
126,8 ± 14,6	175,2 ± 9,6 *	168,5 ± 21,6	248,1 ± 41,5 *	192,5 ± 13,9 *
	Инфаркт миокарда + АМФ			
	1 сутки	5 сутки	7 сутки	14 сутки
	322,6 ± 43,8 *	405,3 ± 27,8 **, **	291,4 ± 18,9 *	129,2 ± 18,5 **

\* — различие с группой интактных достоверно при  $P < 0,05$ ; \*\* — различие леченых животных с контрольными (инфаркт миокарда) достоверно при  $P < 0,05$ .

бластов, стимуляции фиброплазии и ангиогенеза. В зоне инфаркта образуются не только сосуды и капилляры синусоидального типа, но и также артериолы и крупные субэпикардиальные сосуды с периваскулярной пролиферацией гладкомышечных клеток. В средней оболочке обнаруживаются гладкомышечные клетки. Индукция ангиогенеза усиливает репаративные процессы в поврежденном миокарде. Образовавшаяся рубцовая ткань, в отличие от контрольной группы животных, представлена хорошо васкуляризованной волокнистой соединительной тканью, в которой помимо коллагеновых волокон формируются эластические структуры. Активность органоспецифических ферментов в крови не отличается от значений интактных животных, что также свидетельствует о снижении количества поврежденных кардиомиоцитов.

Полученные результаты дают основание использовать модулирование функциональной активности макрофагов дериватами 3-аминофталгидразида как одну из возможностей управления регенераторными процессами в инфарцированном миокарде.