

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2026-41-2-152-159>  
УДК 616.12-005.4:612.112.95]-092.4

# Протективное влияние М-CSF на субпопуляционный состав моноцитов *in vitro* при ишемической болезни сердца

Гладковская М.В.<sup>1</sup>, Чумакова С.П.<sup>1,2</sup>, Уразова О.И.<sup>1</sup>, Шипулин В.М.<sup>3</sup>,  
Андреев С.Л.<sup>3</sup>, Авагимян А.А.<sup>4</sup>, Марченко М.Д.<sup>1</sup>, Крюкова А.О.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (СибГМУ Минздрава России), 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта (БФУ им. И. Канта), 236041, Российская Федерация, Калининград, ул. А. Невского, 14

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (НИИ кардиологии Томского НИМЦ), 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

<sup>4</sup> Ереванский государственный медицинский университет имени Мхитара Гераци (ЕГМУ им. М. Гераци), 0025, Республика Армения, Ереван, ул. Корюна, 2а

## Аннотация

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) характеризуется нарушениями субпопуляционного состава моноцитов крови, который при ишемической кардиомиопатии (ИКМП) имеет особенности, однако его регуляция линейноспецифичным макрофагальным колониестимулирующим фактором (M-CSF) не изучена.

**Цель:** определить характер изменения численности моноцитов и их субпопуляционного состава *in vitro* в присутствии M-CSF у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП.

**Материал и методы.** Обследованы 22 больных ИБС (11 пациентов, страдающих ИКМП, и 11 без ИКМП), а также 10 здоровых доноров, моноциты которых культивировали 6 сут без добавления и с добавлением 50 нг/мл M-CSF. В обоих пробах с помощью проточной цитофлуориметрии оценивали долю классических CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>, промежуточных CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>, неклассических CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> и переходных CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> форм от общего числа моноцитов (CD14<sup>+++</sup>клеток).

**Результаты.** У больных ИБС вне зависимости от ИКМП доля промежуточных форм (а при ИКМП и общее число CD14<sup>+++</sup>клеток) в нативной культуре моноцитов понижена относительно здоровых лиц. M-CSF вызывает торможение убыли промежуточных моноцитов *in vitro* у больных ИБС, как имеющих, так и не имеющих кардиомиопатию. При ИКМП это сопровождается приростом (до нормы) доли неклассических клеток и общего числа моноцитов в культуре.

**Заключение.** M-CSF при ИБС нормализует субпопуляционный состав и численность моноцитов *in vitro*, нарушенный в большей степени у пациентов с ИКМП, у которых неклассические и промежуточные формы проявляют к нему повышенную чувствительность.

<b>Ключевые слова:</b>	иммунофенотипы моноцитов; CSF-1; ишемическая кардиомиопатия; ишемическая болезнь сердца; дифференцировка моноцитов.
<b>Финансирование:</b>	исследование выполнено без финансовой поддержки грантов, общественных, некоммерческих, коммерческих организаций и структур.
<b>Соответствие принципам этики:</b>	исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 9299 от 28.11.2022 г.). Каждый участник исследования дал письменное информированное согласие на участие в нем.
<b>Для цитирования:</b>	Гладковская М.В., Чумакова С.П., Уразова О.И., Шипулин В.М., Андреев С.Л., Авагимян А.А., Марченко М.Д., Крюкова А.О. Протективное влияние M-CSF на субпопуляционный состав моноцитов <i>in vitro</i> при ишемической болезни сердца. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2026;41(2):152–159. <a href="https://doi.org/10.29001/2073-8552-2026-41-2-152-159">https://doi.org/10.29001/2073-8552-2026-41-2-152-159</a>

✉ Гладковская Маргарита Вадимовна, e-mail: gladkovskay0@gmail.com.

# Protective effect of M-CSF on the subpopulation composition of monocytes *in vitro* in ischemic heart disease

Gladkovskaya M.V.<sup>1</sup>, Chumakova S.P.<sup>1,2</sup>, Urazova O.I.<sup>1</sup>, Shipulin V.M.<sup>3</sup>, Andreev S.L.<sup>3</sup>, Avagimyan A.A.<sup>4</sup>, Marchenko M.D.<sup>1</sup>, Kryukova A.O.<sup>2</sup>

1 Siberian State Medical University (SSMU), 2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

2 Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Cardiology Research Institute, Tomsk NRCM), 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

3 Immanuel Kant Baltic Federal University, 14, A. Nevskogo str., Kaliningrad, 236041, Russian Federation

4 Mkhitar Heratsi Yerevan State Medical University (M. Heratsi YSMU), 0025, Republic of Armenia, Yerevan, Koryun street, 2a

## Abstract

**Background.** Coronary artery disease (CAD) is characterized by abnormalities in the subpopulation composition of blood monocytes, which has specific features in ischemic cardiomyopathy (ICM), but its regulation by lineage-specific M-CSF has not been studied.

**Aim:** To determine the nature of changes in monocyte numbers and their subpopulation composition *in vitro* in the presence of M-CSF in patients with CAD, both with and without ICM.

**Material and Methods.** 22 patients with CAD (11 with ICM and 11 without ICM) and 10 healthy donors were examined. Their monocytes were cultured for 6 days with and without the addition of 50 ng/ml M-CSF. In both samples, flow cytometry was used to assess the proportion of classical CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>, intermediate CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>, non-classical CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>, and transitional CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> forms relative to the total number of monocytes (CD14<sup>+++</sup> cells).

**Results.** In patients with coronary artery disease (CAD), regardless of ICM, the proportion of intermediate forms (and, in ICM, the total number of CD14<sup>+++</sup> cells) in native monocyte culture is reduced relative to healthy individuals. M-CSF inhibits the decline of intermediate monocytes in *in vitro* cell culture in patients with CAD, both with and without cardiomyopathy. In ICM, this is accompanied by an increase (to normal) in the proportion of non-classical cells and the total number of monocytes in the culture.

**Conclusion.** M-CSF in CAD normalizes the subpopulation composition and number of monocytes *in vitro*, which is impaired to a greater extent in patients with ICM, in whom non-classical and intermediate forms exhibit increased sensitivity to it.

<b>Keywords:</b>	monocyte immunophenotypes; CSF-1; ischemic cardiomyopathy; coronary artery disease; monocyte differentiation.
<b>Funding:</b>	the study was conducted without financial support from grants, public, non-profit, or commercial organizations or entities.
<b>Compliance with ethical standards:</b>	the study was approved by the local ethics committee of the SSMU (Protocol No. 9299 dated November 28, 2022). Each study participant provided written informed consent.
<b>For citation:</b>	Gladkovskaya M.V., Chumakova S.P., Urazova O.I., Shipulin V.M., Andreev S.L., Avagimyan A.A., Marchenko M.D., Kryukova A.O. Protective effect of M-CSF on the subpopulation composition of monocytes <i>in vitro</i> in ischemic heart disease. <i>Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2026;41(2):152–159. <a href="https://doi.org/10.29001/2073-8552-2026-41-2-152-159">https://doi.org/10.29001/2073-8552-2026-41-2-152-159</a>

## Введение

Ишемическая кардиомиопатия (ИКМП) является осложненной формой хронической ишемической болезни сердца (ИБС) и характеризуется поздней диагностикой и высокой летальностью [1, 2]. При этом ИКМП сопровождается необычным для ИБС субпопуляционным составом моноцитов крови: дефицитом неклассических форм без увеличения числа промежуточных моноцитов [3, 4]. В то же время для ИБС без кардиомиопатии характерен избыток промежуточных клеток при недостатке классических и нормальном уровне неклассических моноцитов в крови [3–5]. Подобные отличия свидетельствуют об особенностях патогенеза этих двух форм ИБС и вов-

леченность в него моноцитарных клеток. Показано, что CD206<sup>+</sup>IL-4Rα<sup>+</sup> макрофаги опосредуют неблагоприятный вариант ремоделирования миокарда при ИКМП [6].

В зависимости от экспрессии мембранных молекул CD14 и CD16 моноциты подразделяются на четыре субпопуляции [7]. Ключевой задачей классических моноцитов (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>) является поглощение патогенов и дериватов погибших клеток [4, 7]. Отличительной особенностью промежуточных форм (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>) является способность к интенсификации окислительного стресса и синтезу провоспалительных цитокинов; накопление их количества в кровотоке отмечается при остром коронарном синдроме [5]. Уникальное свойство неклассических моно-

цитов (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>) заключается в протекции сосудов, очищении их интимы от апоптотических и некротических элементов, иммунных комплексов и модифицированных липопротеинов [7]. Переходные моноциты (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>) могут быть как предшественниками классических клеток (в норме), так и их производными (в случае дисфункции) [4]. Вероятно, модулирующим влиянием на субпопуляционный состав моноцитов обладает макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), который может быть использован в разработке клеточной терапии сосудистых заболеваний как один из компонентов «цитокинового коктейля» для индукции эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) моноцитарного происхождения (CD14<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup>) *in vitro*. Известно, что M-CSF (синоним CSF-1) контролирует пролиферацию, созревание, жизнеспособность и функциональную активность клеток моноцитарного ряда [8, 9]. Однако его эффекты на субпопуляционный состав моноцитов при ИКМП не описаны, что создает опасность индукции не только ЭПК [10, 11], но и проатерогенных моноцитов.

Цель исследования: определить характер изменений общей численности моноцитов и их субпопуляционного состава *in vitro* в присутствии M-CSF у больных ИБС, страдающих и не страдающих ИКМП.

## Материал и методы

В экспериментальное поперечное исследование «случай – контроль» *in vitro* был включен биоматериал 22 пациентов с ИБС, госпитализированных в НИИ кардиологии Томского НИМЦ (Томск, Россия), с целью определения тактики дальнейшего лечения. Были обследованы 19 мужчин и 3 женщины, возраст которых составил 62,0 [56,5; 64,0] года. У всех участников обнаружился постинфарктный кардиосклероз, стенокардия напряжения II–IV функционального класса, хроническая сердечная недостаточность II–III функционального класса (по NYHA). По данным характеристикам больные ИБС, страдающие и не страдающие ИКМП, были сопоставимы по возрасту (63,0 [57,0; 64,5] и 61,5 [55,0; 63,0] года,  $p = 0,628$ ) и полу (соответственно мужчин – 90,9 против 81,8%,  $p = 0,512$ ; женщин – 9,1 против 18,2%,  $p = 0,512$ ).

Пациенты были распределены на две равные группы: 11 человек (10 мужчин и 1 женщина) с ИКМП и 11 пациентов (9 мужчин и 2 женщины) без признаков ИКМП. Критериями диагностики ИКМП служило наличие систолической дисфункции левого желудочка (фракция выброса менее 40%, конечно-систолический индекс более 60 мл/м<sup>2</sup>), инфаркта миокарда в анамнезе, стеноза левой коронарной артерии более 75%, либо выраженного поражения двух и более магистральных коронарных артерий (по критериям G.M. Felker и соавт., 2002 [12]). Из участия в исследовании исключались пациенты старше 70 лет, лица с острым воспалением или обострением хронического воспалительного процесса на момент исследования или за 3 нед. до него, с онкологическими или аутоиммунными заболеваниями, получавшие иммуносупрессивную терапию, а также пациенты, не подписавшие информированное согласие.

В качестве контроля были взяты клетки крови 10 условно здоровых доноров (7 мужчин и 3 женщин) в возрасте 56,5 [47,0; 66,5] года без патологии сердечно-сосудистой системы и жалоб соответствующего характера.

В качестве материала исследования была использована периферическая кровь в количестве 30 мл, стаби-

лизированная гепарином 25 МЕ/мл, взятая из локтевой вены у пациентов и условно здоровых доноров утром натощак. Мононуклеарные клетки получали путем центрифугирования цельной крови на градиенте плотности фиколла 1,077 г/см<sup>3</sup> (ООО НПО «ПанЭко», Россия). После отмывки полученных мононуклеаров проводили иммуномагнитную сепарацию с помощью магнитной системы MiniMACS, колонок MS и антител CD14 MicroBeads и CD34 MicroBead Kit (Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG, Германия) в соответствии с протоколами производителя. Доля CD14<sup>+</sup> клеток (моноцитарной линии) в полученной суспензии составляла примерно 80–85%, CD34<sup>+</sup> клеток (гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток, потенциальных предшественников моноцитов) – 2–4%.

Жизнеспособность клеток регистрировали путем добавления 0,1% раствора трипанового синего (ООО НПО «ПанЭко», Россия). При показателе жизнеспособности  $\geq 96\%$  суспензию клеток в объеме 1 мл с концентрацией  $1 \times 10^6$ /мл помещали в парные лунки 24-луночного планшета. Клетки культивировали 6 сут в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> в полной питательной среде, включающей RPMI-1640 (ООО НПО «ПанЭко», Россия), L-глутамин, эмбриональную телячью сыворотку (10% от общего объема) и антибиотик (пенициллин-стрептомицин в дозе 2500 мкг/мл). В одну из лунок добавляли 50 нг рекомбинантного человеческого M-CSF (Cloud-Clone Corp., США) (стимулированная проба), вторая лунка стимулятор не содержала (контрольная проба). На третий день инкубации 60% культуральной среды заменяли на свежую с повторным внесением M-CSF (50 нг/лунку).

Через 6 дней культивирования клетки отделяли от дна лунки 0,05% раствором трипсина-ЭДТА (ООО НПО «ПанЭко», Россия). После отмывки 0,5% раствором PBS полученную клеточную суспензию использовали для последующего анализа субпопуляционного состава моноцитов. Идентификацию их подтипов (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>, CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>) проводили методом проточной цитофлуориметрии на приборе «CytoFLEX» (Beckman Coulter International S.A., США) с применением моноклональных антител CD14-FITC и CD16-PE («BD Biosciences», США). Для исключения нежизнеспособных клеток применяли окрашивание ядер красителем DAPI («Wuhan Servicebio Technology Co., Ltd.», Китай). Долю моноцитов различных иммунофенотипов рассчитывали относительно общего количества всех моноцитов (CD14<sup>++/+</sup> клеток), относительное содержание которых определяли среди жизнеспособных объектов, исключая область клеточного дедбриса.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета программ STATISTICA 12.0. Количественные показатели описывали медианой и межквартильным промежутком ( $Me [Q1; Q3]$ ). Сравнение количественных показателей в двух независимых группах проводили с помощью критерия Манна – Уитни, сравнение двух зависимых выборок – с помощью критерия Уилкоксона (при сравнении стимулированных и нестимулированных проб в пределах одной группы обследованных). Корректировку на множественное сравнение осуществляли методом Бенджамини – Хохберга (в таблице представлены скорректированные с учетом поправки величины уровней статистической значимости). Для анализа взаимосвязей между показателями рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена. Порог статистической значимости принимали равным 0,05.

## Результаты

Установлено, что в суспензии мононуклеаров, культивированных без добавления стимулятора, у больных ИБС (как с ИКМП, так и без нее) формировалась недостаточность промежуточных моноцитов по сравнению с их количеством у здоровых доноров, что у пациентов с ИКМП дополнительно сопровождалось дефицитом общего количества моноцитов (все CD14<sup>+</sup> клетки) и тенденцией к снижению числа неклассических клеток (таблица).

В обеих когортах больных ИБС добавление M-CSF в культуру мононуклеаров приводило к приросту доли промежуточных моноцитов до значений здоровых доноров: при ИКМП он составил 93%, а при ее отсутствии – 63% (относительно доли этих клеток в нестимулированных пробах). Дополнительно пациенты с ИКМП характеризовались аккумуляцией CD14<sup>+/+</sup> и неклассических клеток в культуре, стимулированной M-CSF (см. табл.). Доля классических и переходных форм в нативной культуре моноцитов не различалась между группами больных ИБС, соответствовала норме и не изменялась под действием M-CSF (см. табл.).

Корреляционный анализ выявил у здоровых доноров и пациентов с ИБС (в обеих группах – с ИКМП и без ИКМП) положительную связь между общим количеством моноцитов и долей их промежуточных форм при культивировании клеток без M-CSF и при его добавлении (рис. 1).

У пациентов с ИКМП в нативной культуре была установлена положительная зависимость общего числа моноцитов от трех субпопуляций одновременно: классических, промежуточных и переходных. После добавления M-CSF возникла дополнительная положительная связь между переходными и промежуточными клетками. При этом ассоциация между переходными и классическими моноцитами, напротив, исчезала (см. рис. 1).

У больных ИБС без признаков кардиомиопатии изначально наблюдалась положительная корреляция общего количества моноцитов с классическими и промежуточными формами. Однако при стимуляции M-CSF характер взаимосвязей изменялся: появлялась положительная корреляция также с переходными и неклассическими субпопуляциями. Кроме того, усиливались связи числа промежуточных моноцитов как с переходными, так и с неклассическими формами (см. рис. 1).

Проведенный корреляционный анализ зависимости содержания отдельных субпопуляций моноцитов от их общего количества в объединенной выборке пациентов с ИБС (включая как имеющих, так и не имеющих ИКМП) показал в образцах без стимулятора наличие статистически значимых положительных взаимосвязей со всеми иммунофенотипами моноцитов (рис. 2А, 2С). Под влиянием ростового фактора M-CSF эти связи становились еще более выраженными (рис. 2В, 2D), однако корреляция общего количества моноцитов с числом неклассических клеток практически не изменялась, оставаясь средней по силе ( $r_s = 0,50-0,69$ ) как в нативной, так и стимулированной пробах.

## Обсуждение

В ходе исследования выявлены особенности дифференцировочного потенциала моноцитов у больных ИБС при наличии и отсутствии ИКМП. Так, при ИКМП в контрольной пробе отмечалось уменьшение содержания общего количества моноцитов (в 4 раза) и промежуточ-

ных моноцитов относительно показателей у здоровых доноров (см. табл.). Больные ИБС без кардиомиопатии отличались меньшим дефицитом промежуточных моноцитов при соответствующем норме общем количестве моноцитов (см. табл.). Учитывая равную у всех групп обследованных лиц чистоту культуры клеток до культивирования (около 85% по CD14<sup>+/+</sup>) и уменьшение доли CD14<sup>+/+</sup> клеток после культивирования (до 40% даже у здоровых доноров) при высокой и равной в группах жизнеспособности клеток после культивирования 95–96%, можно предположить трансдифференцировку моноцитов в CD14<sup>-</sup> клетки [13]. Поскольку лишь для промежуточных форм установлен дефицит в нативной культуре у больных ИБС обеих групп, вероятно, именно они наиболее активно дифференцируются в немоноцитарные клетки. Согласно полученным результатам и корреляционному анализу, данный процесс в отсутствие стимуляторов присущ всем обследованным группам лиц (убыль CD14<sup>+</sup> клеток и положительная корреляция CD14<sup>+</sup> клеток с долей промежуточных моноцитов), но активнее происходит при ИБС (обнаруживается дополнительная связь с классическими формами) и еще более выражен при ИКМП (есть две дополнительные связи с классическими и переходными формами) (см. рис. 1).

Моноциты, обладая высокой пластичностью, могут осуществлять переход как между субпопуляциями, так и дифференцироваться в другие клетки: в макрофаги, характеризующиеся сниженной экспрессией CD14, и фибробласты / фиброциты, совершенно не экспрессирующие данный маркер [13]. Кроме того, моноциты с иммунофенотипом CD14<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>VEGFR2<sup>+</sup> рассматриваются как ЭПК, составляющие около 1–6% от общего числа моноцитов в периферической крови [10, 11], и при наличии специфических «эндотелиальных» условий могут дифференцироваться в клетки эндотелиального типа [14, 15].

Повышенная способность моноцитов больных ИКМП трансдифференцироваться в CD14<sup>-</sup> клетки *in vitro* может быть патогенетическим фактором развития ИКМП *in vivo* и объяснять склонность к фиброзированию миокарда [16] ввиду их перехода в фиброциты [17].

Промежуточные и неклассические субпопуляции моноцитов являются наиболее дифференцированными и активированными формами, их доля в крови возрастает при многих заболеваниях [10]. Вероятно, поэтому именно их численность максимально уменьшалась при культивировании у больных ИБС обеих групп (см. табл.). При этом выраженная тенденция к недостатку неклассических моноцитов в контрольной пробе у пациентов с ИКМП согласуется с данными об их дефиците в крови [3, 4].

По данным литературы, наиболее пластичной является классическая субпопуляция моноцитов [18]. При этом отсутствие различий в численности классических моноцитов у больных ИБС в культуре относительно нормы (см. табл.) не противоречит этому и может быть обусловлено тем, что при культивировании классические клетки дифференцируются сначала в промежуточные формы (такой переход происходит даже *in vivo* [17]), а затем последние, вероятно, трансдифференцируются в CD14<sup>-</sup> клетки.

В целом корреляционная матрица для культуры без стимулятора выявила особенности у обследованных лиц: у здоровых доноров общее количество моноцитов определялось только числом их активированных форм (промежуточными и неклассическими). У пациентов с ИБС без кардиомиопатии в трансформационные процессы

**Таблица.** Содержание моноцитов и их субпопуляций в культуре мононуклеаров, стимулированных и не стимулированных М-СФ, у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией, *Me* [Q1; Q3]

**Table.** The content of monocytes and their subpopulations in the culture of mononuclear cells stimulated and non-stimulated with M-CSF in patients with coronary heart disease, suffering and not suffering from ICMP, *Me* [Q1; Q3]

Содержание моноцитов, %	Группа обследуемых лиц					
	ИБС без ИКМП		ИКМП		Здоровые доноры	
	Контроль	М-СФ	Контроль	М-СФ	Контроль	М-СФ
Все моноциты CD14 <sup>++</sup> , %	17,79 [7,15; 35,63] $p_{за} = 0,127$	24,30 [4,93; 45,01] $p_{за} = 0,310$ $p_{к} = 0,477$	10,63 [6,80; 17,64] $p_{за} = 0,005$ $p_{ибс} = 0,265$	18,86 [8,72; 25,60] $p_{за} = 0,109$ $p_{к} = 0,033$ $p_{ибс} = 1,000$	40,42 [21,70; 47,62]	37,56 [15,69; 47,43] $p_{к} = 0,327$
Классические моноциты CD14 <sup>++</sup> CD16 <sup>-</sup> , %	5,45 [2,13; 15,27] $p_{за} = 0,428$	7,84 [2,08; 18,64] $p_{за} = 0,875$ $p_{к} = 0,333$	6,08 [1,76; 8,84] $p_{за} = 0,228$ $p_{ибс} = 1,000$	4,90 [2,05; 15,63] $p_{за} = 0,851$ $p_{к} = 0,575$ $p_{ибс} = 0,897$	10,72 [6,73; 2,04]	10,22 [3,37; 1,186] $p_{к} = 0,249$
Промежуточные моноциты CD14 <sup>++</sup> CD16 <sup>+</sup> , %	9,12 [5,23; 23,06] $p_{за} = 0,042$	14,90 [2,24; 19,8] $p_{за} = 0,118$ $p_{к} = 0,721$	3,64 [2,03; 8,59] $p_{за} = 0,003$ $p_{ибс} = 0,100$	7,02 [4,31; 11,73] $p_{за} = 0,059$ $p_{к} = 0,036$ $p_{ибс} = 0,408$	30,42 [13,36; 35,77]	24,61 [9,17; 36,37] $p_{к} = 0,249$
Неклассические моноциты CD14 <sup>-</sup> CD16 <sup>++</sup> , %	0,86 [0,47; 1,28] $p_{за} = 0,875$	0,87 [0,30; 1,14] $p_{за} = 1,000$ $p_{к} = 0,508$	0,19 [0,18; 1,11] $p_{за} = 0,138$ $p_{ибс} = 0,187$	0,62 [0,31; 2,11] $p_{за} = 0,572$ $p_{к} = 0,028$ $p_{ибс} = 1,000$	0,92 [0,56; 1,27]	0,93 [0,68; 1,25] $p_{к} = 0,600$
Переходные моноциты CD14 <sup>-</sup> CD16 <sup>-</sup> , %	2,90 [1,49; 4,47] $p_{за} = 0,636$	2,55 [1,70; 5,97] $p_{за} = 0,263$ $p_{к} = 0,333$	2,48 [1,53; 4,80] $p_{за} = 0,662$ $p_{ибс} = 0,965$	2,71 [2,42; 4,28] $p_{за} = 0,345$ $p_{к} = 0,889$ $p_{ибс} = 1,000$	2,53 [2,11; 4,78]	4,27 [2,64; 9,52] $p_{к} = 0,753$

Примечание: ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИКМП – ишемическая кардиомиопатия, М-СФ – колониестимулирующий фактор макрофагов, рк – уровень статистической значимости различий по сравнению с содержанием клеток в контрольной (нативной) пробе, рзд – в аналогичной пробе у здоровых доноров, рибс – в аналогичной пробе у больных ИБС без кардиомиопатии. Сумма относительного содержания всех четырех популяций моноцитов в культуре может не совпадать со значением относительного содержания в графе «все моноциты» в той же группе пациентов примерно на 10% от данной цифры, так как в графах представлены не средние значения, а медианные, которые отражают наиболее часто встречающееся значение в выборке больных, и для разных субпопуляций клеток эти медианные значения не всегда принадлежат одному и тому же пациенту.



**Рис. 1.** Корреляционный анализ содержания отдельных субпопуляций моноцитов с их суммарным количеством у больных ишемической болезнью сердца, страдающих и не страдающих ишемической кардиомиопатией, и у здоровых доноров

Примечание: Control – проба без стимулятора, М-СФ – проба с добавлением М-СФ (все корреляции положительные и статистически значимые,  $p < 0,05$ ).

Fig. 1. Correlation analysis of the content of individual monocyte subpopulations with their total number in patients with coronary heart disease, with and without ICMP, and healthy donors

Note: Control is sample without stimulator, M-CSF is sample with the addition of M-CSF (all correlations are positive and statistically significant,  $p < 0.05$ ).

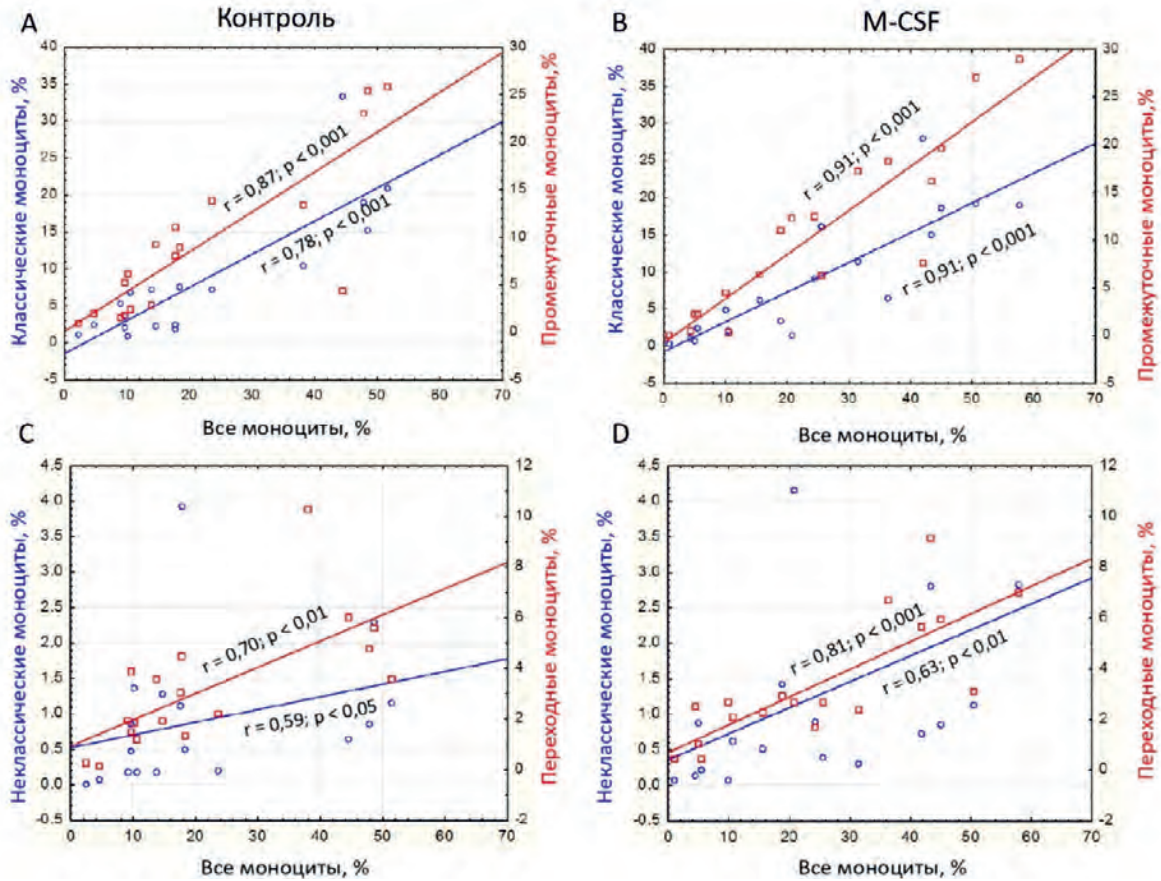


Рис. 2. Взаимосвязь общего количества моноцитов в культуре с их отдельными субпопуляциями в контрольной пробе (А и С) и в присутствии М-СФС (В и D).

Примечание: Control – проба без стимулятора, М-СФС – проба с добавлением М-СФС, А – содержание классических и промежуточных моноцитов в контрольной пробе, В – содержание классических и промежуточных моноцитов в присутствии М-СФС, С – содержание неклассических и переходных моноцитов в контрольной пробе, D – содержание неклассических и переходных моноцитов в присутствии М-СФС.

Fig. 2. Relationship between the total number of monocytes in the culture and their individual subpopulations in the control sample (A and C) and in the presence of M-CSF (B and D)

Note: Control – sample without stimulator, M-CSF – sample with the addition of M-CSF, A – content of classical and intermediate monocytes in the control sample, B – content of classical and intermediate monocytes in the presence of M-CSF, C – content of non-classical and transitional monocytes in the control sample, D – content of non-classical and transitional monocytes in the presence of M-CSF.

вовлекались как активированные, так и неактивированные моноциты (включая промежуточные и классические подтипы). В то же время у больных ИКМП наблюдалось участие всех разновидностей моноцитов в процессах взаимных переходов, включая даже наиболее недифференцированные формы – классические и переходные (см. рис. 1). Следует заметить, что положительная связь любого параметра с CD14<sup>++</sup> клетками логически идентична отрицательной связи с CD14<sup>-</sup> клетками, то есть уменьшение субпопуляций моноцитов в культуре сопряжено с приростом немонацитарных клеток. Внесение М-СФС изменяет эти процессы.

Общая численность моноцитов и их субпопуляций в культуре при добавлении М-СФС у здоровых доноров не изменялась по сравнению с пробой без стимулятора (см. табл.), что, возможно, объясняется существованием в норме толерантности моноцитов к М-СФС в дозе 50 нг/мл в условиях *in vitro*. Сигналы М-СФС внутрь клетки передаются через рецептор CSF-1R (CD115) [13]. При ИБС вне зависимости от наличия ИКМП дефицит промежуточных моноцитов под действием М-СФС нивелировался, что указывает на высокую чувствительность моноцитов к М-СФС на фоне ИБС, которая еще более усилена при

наличии ИКМП (прирост неклассических моноцитов и CD14<sup>++</sup> клеток в 3,3 и 1,8 раза соответственно, см. табл.). Это отражает большую способность М-СФС ингибировать спонтанную трансдифференцировку моноцитов именно при ИКМП.

Известно, что активации CSF-1R способствует интерлейкин (IL) 34, который служит его дополнительным лигандом [9]. Повышенная чувствительность моноцитов к М-СФС у пациентов с ИКМП может быть обусловлена сверхэкспрессией рецепторов CSF-1R, что описано в условиях избытка М-СФС [19]. Содержание М-СФС в крови у больных ИБС без кардиомиопатии снижено, но при ИКМП соответствует норме [4] и даже сочетается с накоплением IL-34 [20]. Очевидно, избыток IL-34 потенцирует чувствительность моноцитов к М-СФС, который посредством активации транскрипционного ядерного фактора NF-κB стимулирует экспрессию CSF-1R на CD14<sup>-</sup> клетках у пациентов с ИКМП [20]. Поэтому исчезновение в условиях М-СФС уникальной для ИКМП положительной связи числа классических и переходных моноцитов в нативной культуре (рис. 1) можно объяснить М-СФС-зависимой экспрессией CD14<sup>-</sup> и/или активацией дифференцировки моноцитов из CD34<sup>+</sup> предшественников. При этом для ИБС

без кардиомиопатии уникальной является содружественная дифференцировка классических и промежуточных моноцитов, на которую M-CSF, напротив, не влияет (см. рис. 1).

Примечательно, что неклассические моноциты – самая малочисленная субпопуляция, однако эффект M-CSF на их дифференцировку при ИКМП оказался максимальным (прирост в 3,3 раза против контроля, см. табл.). В совокупности это означает, что M-CSF при ИКМП тормозит переход моноцитов в CD14<sup>+</sup> клетки (вероятно, в фиброциты), но не увеличивает долю провоспалительных промежуточных моноцитов, стимулируя дифференцировку ангиопротективных форм в пределах нормы.

## Заключение

Таким образом, вне зависимости от наличия кардиомиопатии ИБС характеризуется снижением доли промежуточных моноцитов *in vitro*, что у пациентов с ИКМП сочетается с убылью общего числа моноцитов вследствие их спонтанного перехода в CD14<sup>+</sup> клетки. Добавление M-CSF предотвращает данный процесс без накопления проатерогенных клеток, а при ИКМП дополнительно увеличивает долю ангиопротективных неклассических форм и общее количество моноцитов, которые у больных ИКМП обладают, очевидно, повышенной чувствительностью к цитокину (ответ моноцитов на M-CSF в виде нормализации их общего количества и субпопуляционного состава выше, чем при ИБС без кардиомиопатии, а в норме ответная реакция совершенно отсутствует). Это демонстрирует применимость M-CSF для индукции *in vitro* моноцитарных ЭПК у пациентов с ИКМП без нарушений субпопуляционного состава моноцитов и риска усугубления атерогенеза.

## Благодарности

Коллектив авторов благодарит научного сотрудника Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России канд. мед. наук К.В. Невскую за помощь в постановке культуральных методов исследования и подробные рекомендации по работе на проточном цитофлуориметре.

## Литература / References

- Pastena P., Frye J.T., Ho C. et al. Ischemic cardiomyopathy: epidemiology, pathophysiology, outcomes, and therapeutic options. *Heart Fail. Rev.* 2024;29(1):287–299. <https://doi.org/10.1007/s10741-023-10377-4>
- Mori D., Miyagawa S., Matsuura R. et al. Pioglitazone strengthen therapeutic effect of adipose-derived regenerative cells against ischemic cardiomyopathy through enhanced expression of adiponectin and modulation of macrophage phenotype. *Cardiovasc. Diabetol.* 2019;18(1):39. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0829-x>
- Чумакова С.П., Шипулин В.М., Уразова О.И. и др. Ишемическая кардиомиопатия: моноциты крови и медиаторы их дифференциации. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2019;74(6):396–404. <https://doi.org/10.15690/vramn1185>. EDN: MOGXIH
- Chumakova S.P., Shipulin V.M., Urazova O.I. et al. Ischemic cardiomyopathy: blood monocytes and mediators of their differentiation. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2019;74(6):396–404. (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/vramn1185>. EDN: MOGXIH
- Urazova O.I., Chumakova S.P., Vins M.V. et al. Characteristics of humoral regulation of differentiation of bone marrow monocyte subpopulations in patients with ischemic cardiomyopathy. *International Journal of Biomedicine.* 2019;9(2):91–96. [https://doi.org/10.21103/Article9\(2\)\\_OA1](https://doi.org/10.21103/Article9(2)_OA1). EDN: CLBORY
- Kapellos T.S., Bonaguro L., Gemünd I. et al. Human monocyte subsets and phenotypes in major chronic inflammatory diseases. *Front. Immunol.* 2019;10:2035. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02035>
- Wang Q., Ismahil M.A., Zhu Y. et al. CD206(+)/IL-4Ralpha(+) macrophages are drivers of adverse cardiac remodeling in ischemic cardiomyopathy. *Circulation.* 2025;152(4):257–273. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.124.072411>
- Ruder A.V., Wetzels S.M.W., Temmerman L. et al. Monocyte heterogeneity in cardiovascular disease. *Cardiovasc. Res.* 2023;119(11):2033–2045. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvad069>
- Ushach I., Zlotnik A. Biological role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) on cells of the myeloid lineage. *J. Leukoc. Biol.* 2016;100(3):481–448. <https://doi.org/10.1189/jlb.3RU0316-144R>
- Inoue K., Qin Y., Xia Y. et al. Bone marrow Adipoq-lineage progenitors are a major cellular source of M-CSF that dominates bone marrow macrophage development, osteoclastogenesis, and bone mass. *Elife.* 2023;12:e82118. <https://doi.org/10.7554/eLife.82118>
- Williams H., Mack C., Baraz R. et al. Monocyte differentiation and heterogeneity: inter-subset and interindividual differences. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(10):8757. <https://doi.org/10.3390/ijms24108757>
- Peet C., Ivetic A., Bromage D.I., Shah A.M. Cardiac monocytes and macrophages after myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.* 2020;116(6):1101–1112. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz336>
- 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):210–218. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(01\)01738-7](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(01)01738-7)
- Pilling D., Fan T., Huang D. et al. Identification of markers that distinguish monocyte-derived fibrocytes from monocytes, macrophages, and fibroblasts. *PLoS One.* 2009;4(10):e7475. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007475>
- Lopes-Coelho F., Silva F., Gouveia-Fernandes S. et al. Monocytes as endothelial progenitor cells (EPCs), another brick in the wall to disentangle tumor angiogenesis. *Cells.* 2020;9(1):107. <https://doi.org/10.3390/cells9010107>
- Денисенко О.А., Чумакова С.П., Уразова О.И. Эндотелиальные прогениторные клетки: происхождение и роль в ангиогенезе при сердечно-сосудистой патологии. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2021;36(2):23–29. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-2-23-29>
- Denisenko O.A., Chumakova S.P., Urazova O.I. Endothelial progenitor cells: Origin and role of angiogenesis in cardiovascular diseases. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2021;36(2):23–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-2-23-29>. EDN: UJDHLQ
- Степашенко А.И., Беляева С.А., Карпов Р.М., Андреев С.Л. Оценка состояния экстрацеллюлярного матрикса миокарда у пациентов с ишемической кардиомиопатией. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова.* 2021;19(4):65–71. EDN: CPVJHJ
- Stelmashenko A.I., Belyaeva S.A., Karpov R.M., Andreev S.L. Assessment of the state of the extracellular matrix of the myocardium in patients with ischemic cardiomyopathy. *Morphological almanac named after V.G. Koveshnikov.* 2021;19(4):65–71. (In Russ.). EDN: CPVJHJ
- Patel A.A., Zhang Y., Fullerton J.N. et al. The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation. *J. Exp. Med.* 2017;214(7):1913–1923. <https://doi.org/10.1084/jem.20170355>
- Orozco S.L., Canny S.P., Hamerman J.A. Signals governing monocyte differentiation during inflammation. *Curr. Opin. Immunol.* 2021;73:16–24. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2021.07.00>
- Brach M.A., Henschler R., Mertelsmann R.H., Herrmann F. Regulation of M-CSF expression by M-CSF: role of protein kinase C and transcription factor NF kappa B. *Pathobiology.* 1991;59(4):284–288. <https://doi.org/10.1159/000163664>
- Zhuang L., Zong X., Yang Q. et al. Interleukin-34-NF-kB signaling aggravates myocardial ischemic/reperfusion injury by facilitating macrophage recruitment and polarization. *EBioMedicine.* 2023;95:104744. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104744>

## Информация о вкладе авторов

Гладковская М.В., Чумакова С.П. осуществляли написание текста рукописи и анализ литературы по теме исследования; Чумакова С.П. разработала дизайн исследования и проводила статистическую обработку данных; Гладковская М.В., Марченко М.Д. осуществляли подготовку материала, выполняли культуральные методы исследования и проточную цитофлуориметрию; Уразова О.И., Авагимян А.А. внесли существенный вклад в корректировку текста рукописи; Шипулин В.М., Андреев С.Л., Крюкова А.О. предоставили клинический материал и осуществляли консультирование по вопросам планирования исследования и интерпретации клинических данных.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Сведения об авторах

**Гладковская Маргарита Вадимовна**, аспирант, ассистент кафедры патофизиологии, СибГМУ, Томск, Россия, e-mail: [gladkovskay0@gmail.com](mailto:gladkovskay0@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0003-1163-3439>.

**Чумакова Светлана Петровна**, д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патофизиологии, СибГМУ, Томск, Россия; профессор, научно-образовательный центр «Стоматология», БФУ им. И. Канта, Калининград, Россия, e-mail: [chumakova\\_s@mail.ru](mailto:chumakova_s@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0003-3468-6154>.

**Уразова Ольга Ивановна**, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заведующий кафедрой патофизиологии, СибГМУ, Томск, Россия, e-mail: [urazova.oi@ssmu.ru](mailto:urazova.oi@ssmu.ru); <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>.

**Шипулин Владимир Митрофанович**, д-р мед. наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник, НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: [shipulin@cardio-tomsk.ru](mailto:shipulin@cardio-tomsk.ru); <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>.

**Андреев Сергей Леонидович**, канд. мед. наук, врач-сердечно-сосудистый хирург, старший научный сотрудник, отделение сердечно-сосудистой хирургии, НИИ кардиологии Томского НИМЦ, Томск, Россия, e-mail: [Anselen@rambler.ru](mailto:Anselen@rambler.ru); <https://orcid.org/0000-0003-4049-8715>.

**Авагимян Ашот Арманович**, канд. мед. наук, преподаватель кафедры пропедевтики внутренних болезней, ЕГМУ им. М. Гераци, Ереван, Республика Армения, e-mail: [avagimyan.cardiology@mail.ru](mailto:avagimyan.cardiology@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0002-5383-835>.

**Марченко Максим Денисович**, студент 6-го курса, медико-биологический факультет, СибГМУ, Томск, Россия, e-mail: [maxmar0222@gmail.com](mailto:maxmar0222@gmail.com); <https://orcid.org/0009-0002-9389-3487>.

**Крюкова Александра Олеговна**, ассистент, научно-образовательный центр «Стоматология», БФУ им. И. Канта, Калининград, Россия, e-mail: [AOKryukova@kantiana.ru](mailto:AOKryukova@kantiana.ru); <https://orcid.org/0009-0004-5043-9043>.

Поступила 02.03.2026;  
рецензия получена 28.04.2026;  
принята к публикации 06.05.2026.

## Information on author contributions

Gladkovskaya M.V. and Chumakova S.P. wrote the manuscript and analyzed the literature on the topic of the study. Chumakova S.P. developed the study design and performed statistical processing of the data, Gladkovskaya M.V. and Marchenko M.D. prepared the material, performed the culture methods of the study, and performed flow cytometry. Urazova O.I. and Avagimyan A.A. made a significant contribution to the revision of the manuscript. Shipulin V.M., Andreev S.L., and Kryukova A.O. provided the clinical material and consulted on study planning and interpretation of the clinical data.

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

## Information about the authors

**Margarita V. Gladkovskaya**, Graduate Student, Assistant Professor, Pathophysiology Division, SSMU, Tomsk, Russia, e-mail: [gladkovskay0@gmail.com](mailto:gladkovskay0@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0003-1163-3439>.

**Svetlana P. Chumakova**, Dr. Sci. (Medicine), Professor, Pathophysiology Division, SSMU; Professor, Scientific and Educational Center "Dentistry", Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia, e-mail: [chumakova\\_s@mail.ru](mailto:chumakova_s@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0003-3468-6154>.

**Olga I. Urazova**, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Pathophysiology Division, SSMU, Tomsk, Russia, e-mail: [urazova.oi@ssmu.ru](mailto:urazova.oi@ssmu.ru); <https://orcid.org/0000-0002-9457-8879>.

**Vladimir M. Shipulin**, Dr. Sci. (Med.), Professor, Honored Scientist of Russia, Chief Researcher, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMС, Tomsk, Russia, e-mail: [shipulin@cardio-tomsk.ru](mailto:shipulin@cardio-tomsk.ru); <https://orcid.org/0000-0003-1956-0692>.

**Sergey L. Andreev**, Cand. Sci. (Med.), Cardiovascular Surgeon, Senior Research Scientist, Cardiovascular Surgery Department, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMС, Tomsk, Russia, e-mail: [Anselen@rambler.ru](mailto:Anselen@rambler.ru); <https://orcid.org/0000-0003-4049-8715>.

**Ashot A. Avagimyan**, Cand. Sci. (Med.), Lecturer, Department of Propaedeutics of Internal Medicine, M. Heratsi Yerevan State Medical University, Yerevan, Republic of Armenia, e-mail: [avagimyan.cardiology@mail.ru](mailto:avagimyan.cardiology@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0002-5383-835>.

**Maxim D. Marchenko**, Sixth-year-student, Biomedicine Department, SSMU, Tomsk, Russia, e-mail: [maxmar0222@gmail.com](mailto:maxmar0222@gmail.com); <https://orcid.org/0009-0002-9389-3487>.

**Alexandra O. Kryukova**, Assistant Professor, Scientific and Educational Center "Dentistry", Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia, e-mail: [AOKryukova@kantiana.ru](mailto:AOKryukova@kantiana.ru); <https://orcid.org/0009-0004-5043-9043>.

Received 02.03.2026;  
review received 28.04.2026;  
accepted for publication 06.05.2026.