

Численное моделирование инфаркта миокарда.

II. Анализ механизма поляризации макрофагов как терапевтической мишени

Воропаева О.Ф.*¹, Цгоев Ч.А.**^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр информационных и вычислительных технологий, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный исследовательский университет, Новосибирск, Россия

Аннотация. С применением минимальной математической модели динамики асептического воспаления изучен механизм поляризации макрофагов и его роль в «типичном» сценарии развития крупноочагового инфаркта с благоприятным исходом. Задача рассматривается в локальном приближении и в двумерной нестационарной постановке. Работа сфокусирована на актуальной проблеме анализа общих закономерностей функционирования механизма поляризации макрофагов в контексте формирования гипотетических терапевтических стратегий и уточнения «терапевтического окна». Определены основные тренды для более эффективного управления поляризацией макрофагов в терапевтических целях, а также даны приближенные оценки оптимальных воздействий на макрофаги, обеспечивающих орган-сберегающий и восстановительный эффекты. Результаты моделирования качественно и количественно согласуются с экспериментальными данными.

Ключевые слова: математическая модель, уравнения реакции–диффузии, метод мелких шагов, острый инфаркт миокарда, локальное повреждение, биохимия, макрофаги, цитокины, поляризация, перепрограммирование, «терапевтическое окно».

ВВЕДЕНИЕ

Воспаление – это запрограммированная, сформировавшаяся в ходе эволюции защитная реакция организма на тканевое повреждение любой этиологии. Современные представления об этой реакции состоят, прежде всего, в том, что воспаление носит двойственный характер: в процессе очищения зоны повреждения и активации противовоспалительных факторов создаются условия для восстановления ткани, но одновременно развитие воспаления способствует токсическому отравлению клеток пораженного органа продуктами распада, усиливая процессы гибели клеток [1]–[6]. Сохранение баланса про- и противовоспалительных факторов – это необходимое условие нормального течения воспаления с относительно быстрым его затуханием и переходом в восстановительную стадию, а дисбаланс способствует развитию локального хронического воспаления или системной воспалительной реакции, увеличивая степень поражения органов, систем и организма в целом (см., например, [7]–[10]).

*vorop@ict.nsc.ru

**chermen@tsgoyti.ru

Известно [11], что быстрый естественный и адекватный по силе иммунный ответ на повреждение невозможен без кооперативного участия клеток нелимфоидной природы. В их число входят, прежде всего, циркулирующие в кровеносном русле моноциты (это субпопуляция наиболее крупных лейкоцитов) и резидентные (тканевые) макрофаги. Численность резидентных макрофагов весьма невелика, но достаточна для перманентной защиты органа-хозяина, в том числе для запуска мощной иммунной реакции в случае серьезного повреждения. В ответ на сигналы о локальном повреждении ряды макрофагов пополняются за счет моноцитов: попадая из кровеносного русла в зону повреждения, они также дифференцируются в макрофаги.

Макрофаги играют важную роль в физиологии нормальных тканей и при многих заболеваниях и демонстрируют впечатляющую способность адаптироваться к окружающей среде. Известно, что макрофаги как ключевой элемент воспалительной реакции осуществляют и/или регулируют процессы очищения от продуктов распада (фагоцитоз), отложения внеклеточного матрикса, восстановления сосудистой системы и клеток поврежденного органа. В ходе восстановительной фазы макрофаги стимулируют пролиферацию фибробластов, дифференцировку миофибробластов и отложение коллагена. Считается, что макрофаги выполняют весь спектр функций, в значительной мере, благодаря свойству пластичности, т. е. способности изменять свой фенотип и функциональную активность под действием сигналов, поступающих из микроокружения.

Пластичность проявляется в поляризации активированных макрофагов – важнейшем механизме приспособления к изменяющимся в ходе воспалительной реакции условиям. Изучение роли макрофагов в феномене воспаления привело к открытию двух основных функционально противоположных активных состояния данной клеточной популяции – M1- и M2-поляризованных макрофагов, реализующих активности цитотоксичности и регенерации соответственно. Оказалось, что макрофаги способны реагировать на сигналы окружающей среды, активируясь и принимая «классически» активированный провоспалительный (M1), либо «альтернативно» активированный противовоспалительный (M2) фенотипы. Провоспалительный фагоцитарный фенотип M1 чаще встречается на ранних стадиях воспалительной реакции, а противовоспалительный фенотип M2 способствует окончанию острой фазы воспаления и нормальному течению восстановительного процесса.

Основными стимулами для активации макрофагов считаются медиаторы воспаления, которые вырабатываются практически на всех стадиях воспалительной реакции и также имеют свою про- или противовоспалительную направленность. Активация макрофагов приводит к увеличению концентрации цитокинов уже в первые часы после повреждения, а цитокины способствуют активации макрофагов обоих фенотипов. Классически активированные макрофаги секретируют провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин IL-1 и хемокин фактор некроза опухоли TNF- α – они играют ключевую роль в защите органа-хозяина. Альтернативно активированные макрофаги продуцируют цитокины, включая интерлейкин IL-10, которые регулируют воспаление и участвуют в образовании коллагена и восстановлении тканей.

Имеется достаточное количество данных, свидетельствующих о том, что макрофаги чрезвычайно гетерогенны и демонстрируют определенную избирательность в адаптации фенотипа и функций к изменяющемуся в ходе воспалительной реакции состоянию окружающей микросреды. Поэтому разделение макрофагов на фенотипы следует рассматривать как условное, имея в виду, что между диапазонами M1 и M2 существует целый континуум существенно менее изученных фенотипов [12]. Важно отметить также, что в зависимости от стадии воспалительной реакции и от условий микроокружения дифференцированная экспрессия генов позволяет макрофагам перепрограммироваться

из одного фенотипа в другой: секретируемые клетками микроокружения цитокины и другие сигнальные молекулы могут способствовать трансформации макрофагов от M1- к M2-фенотипу, однако поляризация макрофагов в направлении от фенотипа M1 к фенотипу M2 не является окончательным процессом – возможен и обратный переход (см., например, [7]–[10]).

Таким образом, правильная поляризация M1/M2 макрофагов имеет важное значение для разрешения воспаления и восстановления тканей и органов. Вместе с тем, возможен и функциональный «перекос» в поляризации, который наблюдается на некоторых стадиях развития организма в физиологически нормальных условиях, например, в онтогенезе и беременности. Однако чаще дисфункция поведения или фенотипа макрофагов связана с развитием патологических состояний, таких как нейродегенерация, артрит, аллергическое и хроническое воспаление, репарация тканей, атеросклероз и рак. К настоящему времени распространенной является точка зрения, что динамический дисбаланс функций макрофагов относится к числу ключевых факторов, определяющих развитие многих заболеваний и/или их регресс, и может служить основой для терапевтических стратегий, ориентированных на перепрограммирование макрофагов [10]–[19].

Универсальность описанных процессов находит подтверждение в исследованиях острого инфаркта миокарда (см., например, [20]–[29]). Из-за прекращения кровотока по крупной коронарной артерии развивается локальное ишемическое повреждение клеток миокарда, приводящее к их некрозу. При этом в поврежденной ткани наблюдается обилие макрофагов: в дополнение к постоянно дислоцирующимся в тканях резидентным макрофагам (их количество в сердечной мышце относительно мало, не превышает 5 % от общего числа макрофагов в инфарктной зоне) моноциты из костного мозга и селезенки рекрутируются в зону инфаркта и затем дифференцируются в макрофаги. Иммунные клетки, такие как нейтрофилы, а затем моноциты и макрофаги фагоцитируют некротические ткани, а также секретируют медиаторы воспаления – цитокины. Это микроокружение способствует активации макрофагов в про- и противовоспалительные фенотипы M1 и M2. Сдвиг поляризации макрофагов в направлении от M1- к M2-фенотипу при остром инфаркте начинается уже в первые дни заболевания, но количественное и функциональное доминирование M2-макрофагов проявляется с определенным запаздыванием, что, по-видимому, в конце концов и способствует снижению остроты воспаления.

Известно также, что при инфаркте провоспалительные M1-макрофаги, функционально нацеленные преимущественно на фагоцитоз, способствуют худшей репарации повреждения миокарда, в отличие от M2-макрофагов, обеспечивающих выраженные прорегенеративные эффекты (см., например, обзор [24]). Поэтому патологические изменения в количестве и/или фенотипе макрофагов нарушают естественное течение процессов воспаления и формирования новых тканей, и в дальнейшем могут определять уровень образования функционально несостоятельной рубцовой ткани. Также ясно, что подобные нарушения способны перевести острое течение воспаления – в хроническое, а острый инфаркт – в затяжной (см., например, [4, 20]).

Следует отметить, что сама идея о «терапевтическом» снижении воспалительной реакции при инфаркте зачастую обосновывается тем, что, сформировавшаяся в процессе эволюции как реакция на грубые внешние воздействия, она, по-видимому, является чрезмерной и травмирующей для сердца. Согласно современным представлениям, в терапевтических целях целесообразно сдерживать рост субпопуляции провоспалительных M1-макрофагов на начальной фазе воспаления, в том числе за счет стимулирования противовоспалительной активности M2-макрофагов.

Анализ известной литературы и обсуждаемой в ней проблематики показывает, что исследование механизма поляризации макрофагов и управление им – крайне актуальная, но пока еще далекая от окончательного решения проблема современной биомедицины, связанная с поиском принципиально новых терапевтических мишеней и стратегий при самом широком круге заболеваний [6]–[10], [13]–[34]. В контексте инфаркта миокарда в биомедицинской литературе достаточно часто как наиболее физиологичный подход к перепрограммированию иммунных клеток рассматривается переключение метаболизма иммунной клетки с гликолитического на окислительный, что позволяет макрофагам переходить из фенотипа M1 в фенотип M2 [24]. Особая роль отводится поиску эффективных методов перепрограммирования макрофагов – от ставших традиционными, таких как таргетная терапия антителами и низкомолекулярными препаратами, до передовых нанотехнологий и геной инженерии (см., например, обзор [19]). В частности, было показано, что многочисленные стратегии, основанные на цитокинах и биологически активных молекулах, лекарствах и носителях лекарств, на регуляции иммунной системы, экзосомах и стволовых клетках, стимулируют поляризацию макрофагов фенотипа M2 и улучшают восстановление сердечной ткани в биологических (живых) моделях инфаркта. Однако, несмотря на значительное количество многообещающих результатов, при переводе любого из перечисленных терапевтических методов в клинические испытания, как правило, возникают серьезные трудности, обусловленные сложностью и функциональной гетерогенностью популяции макрофагов в сердце, различиями между макрофагами у человека и у животных моделей и многими другими причинами [27]. В этих условиях математическое моделирование и вычислительный эксперимент становятся еще одним важным инструментом для проведения фундаментальных исследований в данной области биомедицины (см., например, аналитическую работу [30]).

Настоящая работа является продолжением и развитием цикла работ [31]–[34], посвященных численному исследованию пространственно-временного развития процессов воспаления и гибели клеток сердечной мышцы при инфаркте. Работа сфокусирована на актуальной проблеме анализа общих закономерностей функционирования механизма поляризации макрофагов в контексте формирования гипотетических терапевтических стратегий и уточнения «терапевтического окна» для более благоприятного течения заболевания и снижения уровня повреждения миокарда с помощью макрофагов.

2. ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

Как и в [33, 34], для простоты будем представлять расчетную область Ω как локальный участок стенки миокарда (сплошную среду), особенностями внутренней структуры и кривизной которого можно пренебречь. При этом система координат выбирается таким образом, что ось x совпадает с главным направлением миофибрилл в среднем слое миокарда в месте локализации повреждения, ось y ортогональна x . Принятая биологическая идеализация биохимических взаимодействий факторов воспалительной реакции при инфаркте схематически показана на рисунке 1 (подробное описание биологической модели можно найти в части I данной работы, опубликованной в [34]). Соответствующая ей математическая модель [33, 34] представляет собой следующую систему дифференциальных уравнений, записанную в двумерном нестационарном приближении:

$$\frac{\partial M_C}{\partial t} = \left(-\frac{q_1 I_1}{I_1 + q_5} - \frac{q_2 T_\alpha^5}{T_\alpha^5 + q_6} \right) \frac{q_3 M_C}{I_{10} + q_7} - q_4 M_C M_1, \quad (1)$$

$$\frac{\partial L_m}{\partial t} = \frac{w_1 I_1^3}{I_1^3 + w_5} L_m + \frac{w_2 T_\alpha^{0.5}}{T_\alpha^{0.5} + w_6} M_C - \frac{w_3 I_{10}^{1.4}}{I_{10}^{1.4} + w_7} L_m - w_4 L_m, \quad (2)$$

$$\frac{\partial M_{un}}{\partial t} = k_1 L_m - \left(\frac{k_2 I_1^3}{I_1^3 + c_2} + \frac{k_3 T_\alpha^2}{T_\alpha^2 + c_3} + \frac{k_4 I_{10}^{0.5}}{I_{10}^{0.5} + c_4} \right) M_{un} - d_1 M_{un}, \quad (3)$$

$$\frac{\partial M_1}{\partial t} = \left(\frac{k_2 I_1^3}{I_1^3 + c_2} + \frac{k_3 T_\alpha^2}{T_\alpha^2 + c_3} \right) M_{un} + k_5 M_2 - k_6 M_1 - d_1 M_1, \quad (4)$$

$$\frac{\partial M_2}{\partial t} = \frac{k_4 I_{10}^{0.5}}{I_{10}^{0.5} + c_4} M_{un} + k_6 M_1 - k_5 M_2 - d_1 M_2, \quad (5)$$

$$\frac{\partial T_\alpha}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left[D_x^{(1)} \frac{\partial T_\alpha}{\partial x} \right] + \frac{\partial}{\partial y} \left[D_y^{(1)} \frac{\partial T_\alpha}{\partial y} \right] + (\lambda_3 M_1 + \lambda_1 (M_{C0} - M_C)) \frac{c_5}{c_5 + I_{10}} - d_3 T_\alpha, \quad (6)$$

$$\frac{\partial I_1}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left[D_x^{(2)} \frac{\partial I_1}{\partial x} \right] + \frac{\partial}{\partial y} \left[D_y^{(2)} \frac{\partial I_1}{\partial y} \right] + (\lambda_4 M_1 + \lambda_2 (M_{C0} - M_C)) \frac{c_5}{c_5 + I_{10}} - d_4 I_1, \quad (7)$$

$$\frac{\partial I_{10}}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left[D_x^{(3)} \frac{\partial I_{10}}{\partial x} \right] + \frac{\partial}{\partial y} \left[D_y^{(3)} \frac{\partial I_{10}}{\partial y} \right] + \lambda_5 M_2 \frac{c_1}{c_1 + I_{10}} - d_2 I_{10}. \quad (8)$$

Здесь и далее M_C – плотность жизнеспособных сократительных клеток сердечной мышцы (кардиомиоцитов); L_m – плотность моноцитов; M_{un} – плотность неактивированных макрофагов (фенотип M0); M_1 и M_2 – плотность макрофагов фенотипов M1 и M2 соответственно; I_{10} , I_1 и T_α – концентрации цитокинов IL-10, IL-1 и TNF- α ; M_{C0} – характерное значение плотности кардиомиоцитов в неповрежденной ткани. Параметры q_1, \dots, q_4 , w_1, \dots, w_4 , k_1, \dots, k_6 , d_1, \dots, d_4 , $\lambda_1, \dots, \lambda_5$ – константы скоростей прироста и убыли количественных характеристик участников процесса воспаления; w_5 , w_6 , w_7 , q_5 , q_6 , q_7 , c_1, \dots, c_5 – константы Михаэлиса; $D_x^{(k)}$ и $D_y^{(k)}$ – коэффициенты диффузии цитокинов в направлениях x и y соответственно, $k = 1, 2, 3$. Дробные значения коэффициентов Хилла здесь следует расценивать, прежде всего, как следствие принятых биологических и математических идеализаций сложного реального процесса.

При калибровке модели в качестве эталонного процесса, как и в предыдущих работах, рассматривался острый инфаркт в левом желудочке сердца мыши. Система уравнений (1)–(8) обезразмеривалась с привлечением в качестве характерных масштабов усредненного начального размера области ишемии X , скорости диффузии D_0 – величины ADC в кардиомиоцитах, плотности кардиомиоцитов в неповрежденном сердце M_{C0} и характерного времени развития инфаркта T (оно полагалось равным 1 дню). Значения масштабов плотности клеток иммунной системы Q , концентраций цитокинов C_{I1} , C_{I10} , C_{T_α} определялись максимальными значениями плотностей клеточных популяций и концентраций медиаторов воспаления, согласованными с экспериментальными данными. После обезразмеривания обозначения переменных задачи остаются прежними, и вид системы (1)–(8) не изменяется. Всюду ниже, если это не оговорено особо, будут использоваться обезразмеренные переменные и их значения.

Обезразмеренные значения параметров (из биологически значимого диапазона значений, рассмотренных в данной работе) представлены в таблице 1. Вопрос выбора значений параметров подробно обсуждался авторами в [33].

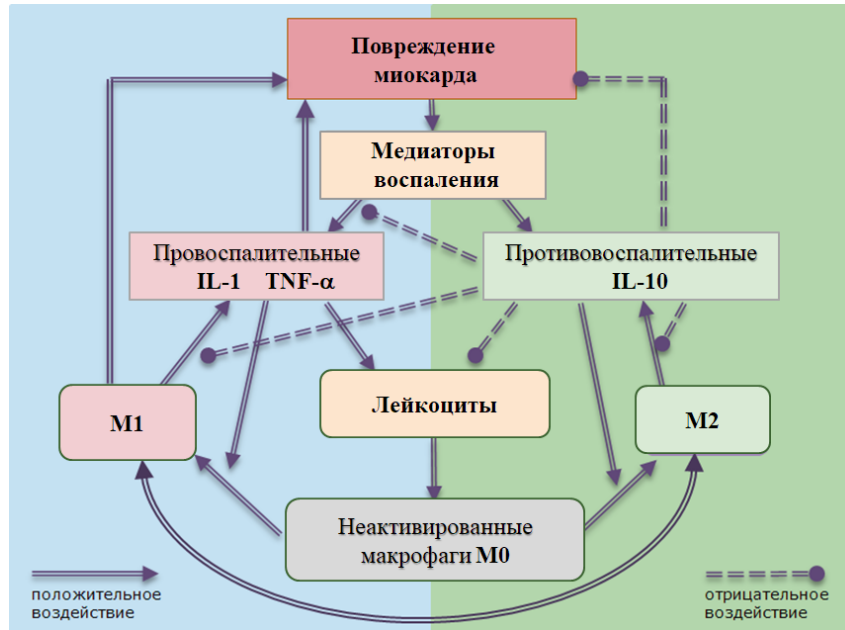


Рис. 1. Идеализированное представление взаимодействий факторов иммунного ответа при инфаркте миокарда.

Таблица 1. Обезразмеренные значения ^{тип} параметров модели (1)–(8), соответствующие «типичному» сценарию острого крупноочагового инфаркта

| | | | | | | | | | |
|--------|--------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| w_1 | w_2 | w_3 | w_4 | w_5 | w_6 | w_7 | q_1 | q_2 | $D_x^{(1)}$ |
| 0.469 | 41.592 | 0.318 | 0.219 | 0.006 | 94.075 | 6.572 | 1.032 | 26.114 | $4.4 \cdot 10^{-3}$ |
| q_3 | q_4 | q_5 | q_6 | q_7 | k_1 | k_2 | k_3 | k_4 | $D_x^{(2)}$ |
| 0.192 | 0.010 | 10.067 | 0.057 | 7.551 | 0.88 | 80.815 | 80.188 | 44.344 | $4.4 \cdot 10^{-3}$ |
| k_5 | k_6 | d_1 | d_2 | d_3 | d_4 | c_1 | c_2 | c_3 | $D_x^{(3)}$ |
| 0.65 | 1.025 | 0.950 | 2.416 | 0.33 | 0.48079 | 39.685 | 0.016 | 6.914 | $8.8 \cdot 10^{-3}$ |
| c_4 | c_5 | λ_1 | λ_2 | λ_3 | λ_4 | λ_5 | $D_y^{(1)}$ | $D_y^{(2)}$ | $D_y^{(3)}$ |
| 10.853 | 19.308 | 0.073 | 0.0149 | 0.034 | 0.030 | 5.313 | $4 \cdot 10^{-3}$ | $4 \cdot 10^{-3}$ | $8 \cdot 10^{-3}$ |

Начальные условия для обезразмеренной системы уравнений задаются в виде положительно определенных колоколообразных финитных функций, качественно и/или количественно согласованных с экспериментальными данными:

$$u_1(0, x, y) = 1 - u_1^0 \exp(-R^\sigma), \quad u_q(0, x, y) = u_q^0 \exp(-R^\sigma),$$

$$R = \left(\frac{x - x_0}{r_x} \right)^2 + \left(\frac{y - y_0}{r_y} \right)^2, \quad q = 2, \dots, 8. \quad (9)$$

В (9) и далее $U = (u_1, \dots, u_8) = (M_C, L_m, M_{un}, M_1, M_2, T_a, I_1, I_{10})$ – вектор решения системы (1)–(8); x_0, y_0 – координаты центра зоны максимального повреждения (ядра инфаркта); параметры r_x, r_y и σ позволяют варьировать форму, общую площадь поврежденного участка и размер ядра инфаркта; значения обезразмеренных параметров $0 \leq u_1^0 \leq 1, u_q^0 \geq 0$ ($q = 2, \dots, 8$), а в основном сценарии крупноочагового острого инфаркта они задаются согласованными с известными экспериментальными данными (см. более подробно в [31]):

$$u_1^0 = 0.03, u_2^0 = 0, u_3^0 = 0.1, u_4^0 = 0, u_5^0 = 0, u_6^0 = 1, u_7^0 = 1, u_8^0 = 0.05. \quad (10)$$

На границах расчетной области, захватывающей достаточно большой (в сравнении с общей площадью начального повреждения) участок миокарда, задаются условия Неймана. При этом учитывается тот важнейший факт, что решение начально–краевой задачи (1)–(10) характеризуется ярко выраженной стабильной локализацией возмущения в области конечных размеров, весьма близких к заданным при $t = 0$ (этот результат подробно обсуждался в [33, 34]). Моделирование проводится на интервале времени $[0, 15]$ дней, а в некоторых сценариях – до 30 дней, что соответствует известным представлениям о длительности моделируемого процесса у мышей в лабораторных условиях. Дополнительно в ходе численного анализа по аналогии с лабораторным экспериментом удобно использовать понятие контрольного времени t_c , значения которого варьируются в зависимости от моделируемого сценария инфаркта и конкретной цели исследования.

Для того чтобы выявить наиболее общие свойства принятой модели острого инфаркта, задача может рассматриваться также в предположении локальной пространственной однородности биологического процесса в области наиболее сильного повреждения миокарда (в ядре инфаркта). Тогда в системе (1)–(8) можно пренебречь пространственными производными и в рамках локально однородного приближения рассматривать модель в виде нелинейной системы ОДУ (далее – «локальная модель»), для которой ставится задача Коши с начальными условиями, согласованными с (9)–(10). Сочетание пространственно неоднородной и локальной постановок задач существенно упрощает проведение весьма трудоемких вычислительных экспериментов.

В дальнейшем уровень повреждения миокарда будем оценивать локально – по значению плотности выживших кардиомиоцитов M_C в центральной точке (x_0, y_0) ядерной зоны инфаркта, а также интегрально – с помощью величины:

$$J(t) = \frac{1}{M_{C0}} \iint_{\Omega} Dam(t, x, y) dx dy,$$

где $Dam(t, x, y) = M_{C0} - M_C(t, x, y)$ – величина дефекта плотности выживших кардиомиоцитов, $M_{C0} = 1$ с учетом обезразмеривания. Важной характеристикой является также площадь поврежденного участка, которая определяется по аналогии с общепринятой в лабораторной практике методикой:

$$S(t) = \iint_{\Omega} \mathbf{1}_{Dam} dx dy, \quad \mathbf{1}_{Dam} = \begin{cases} 1, & Dam \geq \delta_D \\ 0, & Dam < \delta_D \end{cases}, \quad \delta_D(t) = \delta \max_{x,y} Dam(t, x, y).$$

В рассматриваемых случаях при оценке общей площади повреждения S_{Ω} полагается $\delta = 0.05$, а при оценке площади S_c ядерной зоны – $\delta = 0.5$, что обеспечивает согласие с экспериментальными данными [25] по геометрическим оценкам области повреждения при крупноочаговом инфаркте у мышей (см. также [34]).

3. АЛГОРИТМ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧИ

Конечно-разностный алгоритм численного решения начально-краевой задачи (1)–(10) состоит в следующем: на каждом шаге по времени для решения дифференциальных уравнений типа реакция–диффузия применяется классическая неявная схема расщепления, в рамках которой на каждом дробном шаге решение вычисляется методом

скалярной прогонки. Для численного решения уравнений (1)–(5), а также уравнений локальной модели привлекается метод типа предиктор-корректор второго порядка с А-устойчивым методом Адамса в качестве корректора. С учетом нелинейности этих систем дифференциальных уравнений в алгоритме их решения реализована идея метода Зейделя: переменные, вычисленные на новом слое по времени, используются для расчета остальных переменных задачи на этом временном слое.

В рамках серии методических расчетов оценивалась точность численного решения начально-краевой задачи (1)–(10) и соответствующей задачи Коши для локальной модели на последовательности сеток. Численный анализ показал, что алгоритм обеспечивает численное решение задач с порядком точности, весьма близким к теоретическому. По результатам этих экспериментов при проведении основной серии расчетов использовались сетки с шагами $h_t = 0.006$, $h_x = h_y = 0.0025$. При этом погрешность решения модели (1)–(10) составляла не более 1 %, а погрешность решения ее локального аналога – около 0.01 % в норме, являющейся сеточным аналогом нормы пространства непрерывных функций.

Отметим, что далее для вектора численного решения задачи и его компонент будут использоваться те же обозначения, что и для решения исходной дифференциальной задачи (1)–(10). В случае локальной модели также удобно оставить обозначения прежними, исключив при этом указание на зависимость функций от переменных x, y .

4. ЧИСЛЕННЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМА ПОЛЯРИЗАЦИИ МАКРОФАГОВ И ЕГО ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА

Процесс активации и поляризации макрофагов является весьма сложным, запутанным и многофакторным. Формирование того или иного фенотипа макрофагов во многом определяется вырабатываемыми соседними клетками веществами (т. е. микроокружением), активацией моноцитов в кровотоке и их проникновением в очаг повреждения, диффузией медиаторов воспаления, а также разнообразными стимулами, инициирующими каскад сложнейших процессов с участием вторичных и третичных посредников. При этом, как отмечено в [30], сложность процесса сочетается с относительной линейностью его этапов, так что следует ожидать, что модификация одного этапа с целью управления общим процессом отразится на каждом последующем этапе. Согласно принятой в настоящей работе биологической идеализации и математической модели, в активации и поляризации макрофагов в той или иной мере задействованы практически все эти факторы.

Исходя из структуры уравнений модели, для удобства дальнейшего анализа будем рассматривать перечисленные процессы и воздействия с точки зрения двух основных механизмов – цитокин-зависимого механизма активации макрофагов и их перепрограммирования. Первый основан на том, что макрофаги дифференцируются из неактивированных макрофагов под сложным контролем про- и противовоспалительных цитокинов (этот механизм в контексте воздействий наиболее значимых цитокинов IL-1, TNF- α и IL-10 представлен в модели (1)–(8) явным образом с привлечением кинетической модели Хилла). Суть второго механизма состоит в том, что обретение определенного фенотипа не является окончательным: часть макрофагов фенотипа M1 может постепенно активироваться альтернативно, пополняя ряды противовоспалительных макрофагов фенотипа M2, и точно также некоторая часть M2-макрофагов способна перепрограммироваться в M1-макрофаги. Отметим, что в рамках принятой модели этот механизм аппроксимирован в общем виде – с привлечением закона действующих масс (линейное представление) без конкретизации факторов, влияющих на процесс перепрограммирования макрофагов. Очевидно, что такое представление

поляризации является весьма условным, особенно если принимать во внимание наличие автокаталитических членов и нелинейность системы уравнений. Тем не менее, оно позволяет оценить в рамках принятой модели роль каждого из указанных механизмов с акцентом на их способность стать основой для терапевтических стратегий, ориентированных именно на управление поляризацией макрофагов (см., например, [10]).

Отметим, что, по данным численного анализа [33, 34], переход от пространственно-распределенной к локальной модели оказывает весьма слабое влияние на поведение характеристик моделируемого процесса в области максимального повреждения миокарда. Это согласуется с подходами, принятыми в лабораторных экспериментах, когда для характеристики процесса используются усредненные данные, полученные в ядре инфаркта. Поэтому в ходе настоящих численных экспериментов при анализе механизмов поляризации в ядре инфаркта использовалось приближение локальной однородности моделируемых процессов без явного учета диффузии, реализованное программно с привлечением экономичного вычислительного алгоритма. В то же время, решение задачи в пространственно-неоднородной постановке позволяет дополнить эту картину данными о роли диффузии и пространственно-временных особенностях поляризации макрофагов.

Модельное представление о «типичном» сценарии поляризации макрофагов при крупноочаговом инфаркте

Как и в [34], в настоящей работе из-за отсутствия более конкретных лабораторных данных условия крупноочагового инфаркта в левом желудочке сердца мыши воспроизводятся на качественном уровне – выбором согласованного с [25] размера и конфигурации зоны повреждения, включая реалистичное соотношение размеров зоны повреждения и ее ядра. При этом, как показано в [34], динамика основной части компонент вектора решения задачи количественно согласуется с экспериментальными временными рядами [35]–[39], отражающими течение процесса в центральной зоне инфаркта в левом желудочке сердца мыши. В этих условиях один и тот же относительно благоприятный сценарий острого инфаркта миокарда, названный далее «типичным», с определенным постоянством реализуется при варьировании параметров начального повреждения в диапазоне $r_x, r_y \in [0.15, 0.6]$ и $\sigma \in [1, 3]$, а полученные решения оказались слабочувствительными к 5–15-процентным изменениям значений параметров и к шуму в экспериментальных данных [32]. «Типичный» сценарий, согласованный с экспериментальными данными, обеспечивается в модели (1)–(8) набором параметров из таблицы 1. В таблице и далее в тексте для удобства соответствующие этому сценарию числовые значения параметров и решения задачи помечаются верхним индексом *тип* (от *typical*), например, $\mathbf{U}^{тип} = (u_1^{тип}, \dots, u_8^{тип})$. Значения компонент вектора решения задачи в центральной точке (x_0, y_0) зоны повреждения представлены во временной динамике на рисунке 2 (здесь «типичному» сценарию соответствуют *сплошные линии*).

Благоприятное течение инфаркта, которое определяется относительно высокой выживаемостью подопытных мышей при перманентном лигировании левой коронарной артерии, обеспечивается в известных лабораторных экспериментах (см., например, [36]), в значительной мере, тем, что на начальной фазе инфаркта в центральной зоне повреждения количественно доминируют макрофаги провоспалительного фенотипа M1, но уже на седьмые сутки наблюдается смена доминанты в пользу макрофагов противовоспалительного фенотипа M2, и это способствует окончанию острой фазы воспаления и самого инфаркта. Данный сценарий далее будем рассматривать как «типичный» сценарий поляризации макрофагов (вариант условной нормы), он реализуется в рамках описанного «типичного» сценария острого крупноочагового инфаркта с относительно благоприятным исходом. Точно так же условной нормой, с

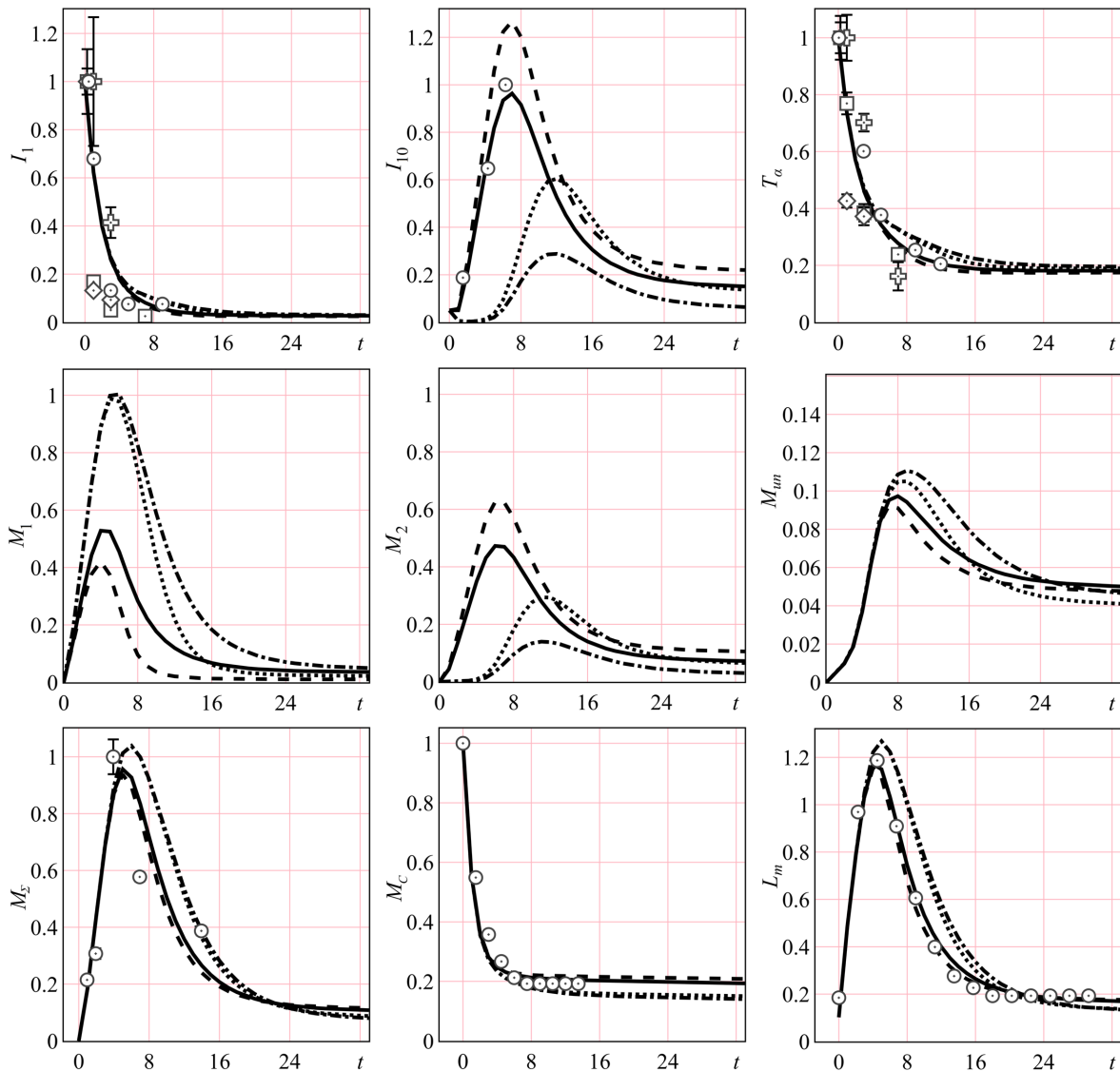


Рис. 2. Динамика обезразмеренных концентраций цитокинов (I_{10} , I_1 и T_α), плотностей кардиомиоцитов (M_C), моноцитов (L_m), неактивированных (M_{un}) и активированных (M_1 , M_2 , $M_\Sigma = M_1 + M_2$) макрофагов в центре зоны повреждения. Линии: *сплошные* – «типичный» сценарий ($k_5 = 0.65$, $k_6 = 1.025$); *пунктирные* – $k_5 = k_6 = 0$; *штриховые* – $k_5 = 0$; *штрихпунктирные* – $k_6 = 0$. Маркерами помечены экспериментальные данные: *кружки* – [35, 36]; *квадраты* – [37]; *крестики* – [38]; *ромбы* – [39].

которой будем соотносить иные сценарии развития инфаркта, сочтем наблюдаемую здесь длительность наиболее травматичной острой фазы воспаления – 10–12 дней от начала инцидента.

Основанное на результатах численных экспериментов представление о пространственно-временном развитии воспаления и процесса гибели клеток было дано в части I данного цикла исследований (см. [34], где расчеты проводились в достаточно широком диапазоне начальных условий (9), т. е. значений σ , формы и размера ядерной зоны). С этой точки зрения, помимо событий в ядерной зоне инфаркта, важен процесс формирования защитного демаркационного воспаления (далее – ДВ) на границе зоны наибольшего повреждения с неповрежденной частью миокарда, где градиенты плотности выживших кардиомиоцитов достигают максимальных значений, и наблюдается дополнительное сосредоточение факторов воспаления. В рамках принятой модели речь

идет о пространственно-неоднородной квазистационарной «валикообразной» структуре, в формировании которой задействованы (неактивированные) макрофаги фенотипа M0 – они не только непосредственно формируют ДВ раньше остальных клеточных и молекулярных факторов, но и вовлечены (благодаря IL-10) в процессы активации и поляризации макрофагов, обеспечивая доминирование M2-макрофагов в этой зоне миокарда. В конце острой фазы ($t \approx 15$ дней) ярко выраженная высокоградиентная прослойка демаркационного воспаления проявляется в виде неоднородности на периферии ядерной зоны уже для большей части параметров состояния биологической системы – M_{un} , L_m , M_1 , M_2 , I_{10} . При этом отмечается стремительное уменьшение концентрации провоспалительного цитокина IL-1, а плотность провоспалительных макрофагов фенотипа M1 оказывается вдвое меньше, чем плотность M2-макрофагов.

Ниже будут представлены результаты вычислительных экспериментов, в которых основное внимание отведено анализу влияния дисбаланса в поляризации макрофагов на течение воспалительного процесса и исход инфаркта. В ходе этих серий численных экспериментов предпочтение отдавалось экономичной локальной постановке задачи, настроенной на описание процесса в центральной точке (x_0, y_0) зоны некротического повреждения.

Общий анализ механизма поляризации макрофагов

В данной серии численных экспериментов предпринимается попытка оценить вклад основных звеньев механизма поляризации – перепрограммирования и цитокин-зависимой активации макрофагов. При этом рассматривались сценарии, дающие идеализированное представление о течении воспалительного ответа при блокировке одного из направлений перепрограммирования активных макрофагов – M1-макрофагов в фенотип M2 или наоборот, а также при полной блокировке перепрограммирования. На рисунке 2 результаты этих расчетов сопоставляются с данными о временной динамике плотностей клеточных популяций и концентраций цитокинов в центральной точке ядерной зоны инфаркта, полученными в «типичном» сценарии.

В численном эксперименте при $k_5 = 0$ (рис. 2, *штриховые линии*), когда блокируется способность макрофагов фенотипа M2 изменять фенотип на провоспалительный M1, как и в «типичном» сценарии поляризации, в первые 3–4 дня макрофагов фенотипа M1 больше, чем M2-макрофагов. Однако уже после 4-го дня наблюдается резкий рост плотности M2-макрофагов, так что к 6-му дню эта величина достигает своего максимума, превышающего почти на 30 % данный показатель в «типичном» сценарии. Это происходит на фоне почти 50-процентного снижения уровня M1-макрофагов. К 14-му дню инфаркта, когда, согласно экспериментальным данным, в «норме» должна заканчиваться острая фаза инфаркта, уровень M2-макрофагов остается достаточно высоким по сравнению с «типичным». Наиболее значимый отклик на изменение в динамике перепрограммирования демонстрирует противовоспалительный цитокин IL-10: его концентрация в ядре повреждения увеличилась более чем на 20 % к 6–8-му дню после начала инфаркта, т. е. в то же время, когда наблюдался максимум плотности макрофагов фенотипа M2. На рисунке 2 можно заметить также, что эти изменения повлияли, помимо прочего, на процесс активации M0-макрофагов.

Иная картина наблюдается в численном эксперименте при $k_6 = 0$, когда, согласно модели, блокируется способность M1-макрофагов изменять свой фенотип на противовоспалительный фенотип M2. На рисунке 2 можно видеть (см. *штрихпунктирные линии*), что этот процесс характеризуется значимым (до 30 % в острой фазе воспаления) повышением плотности M1-макрофагов в ядре инфаркта и значимым увеличением длительности острой фазы воспаления. Формирование пула альтернативно

активированных М2-макрофагов происходит со значительным запаздыванием (в рамках принятой модели для инфаркта в левом желудочке сердца мыши временной лаг составляет не менее 5-ти дней), как и накопление противовоспалительного цитокина IL-10 в центральной зоне повреждения. Относительно низкий уровень макрофагов фенотипа М2 на протяжении всей острой фазы указывает на общее подавление противовоспалительных факторов. Все это негативно влияет на ход воспалительной реакции и, как следствие, на течение восстановительного процесса.

Для оценки общего вклада цитокин-зависимого механизма активации рассматривался сценарий полной блокировки смены фенотипов активированными макрофагами. Численное решение задачи, полученное при $k_5 = k_6 = 0$, представлено на рисунке 2 (*пунктирные линии*). Можно видеть, что в этих условиях общие тенденции в динамике процесса весьма близки к случаю $k_6 = 0$, однако при этом, несмотря на запаздывание в формировании противовоспалительного звена иммунной реакции, уровни противовоспалительных факторов оказываются вдвое выше при всех $t > 6$ дней, что несколько сокращает длительность острой фазы, приближая ее к «типичному» сценарию.

Для того чтобы дополнительно проиллюстрировать общие тенденции в трансформации «типичного» сценария инфаркта из-за полной блокировки перепрограммирования, на рисунке 3 показаны значения функции $g_i(t) = (u_i - u_i^{typ})/u_i^m \cdot 100\%$, где $u_i(t)$ – компоненты вектора численного решения локальной модели, полученного при $k_5 = k_6 = 0$; $u_i^m = \max_t(u_i^{typ}(t))$, $i = 1, \dots, 8$. Видно, что наибольшие изменения связаны с динамикой плотностей лейкоцитов и макрофагов, а также с поведением концентрации противовоспалительного цитокина IL-10. Изменения концентраций провоспалительных цитокинов IL-1 и TNF- α оказались весьма малыми, однако и они, по-видимому, сыграли определенную роль в интенсификации воспалительного ответа: в первые 1–4 дня динамика уровней IL-1 и TNF- α практически та же, что и в «типичном» сценарии, а в последующие дни существенное (не менее 50 % в норме, являющейся сеточным аналогом нормы пространства непрерывных функций) превышение уровня макрофагов провоспалительного фенотипа М1 сопровождается некоторым увеличением I_1 и T_α . При этом уровни противовоспалительных факторов – макрофагов фенотипа М2 и интерлейкина IL-10 – начинают расти только на 5-й день инфаркта и лишь к 11–12-му дню достигают значений, наблюдавшихся в «типичном» сценарии. Выравнивание уровней М1- и М2-макрофагов, которое, согласно известным представлениям, создает условия для завершения острого воспаления, достигается в это же самое время – на 11–12-й день, т. е. с запаздыванием на 4–5 дней. Следует отметить также, что хотя выход из острой фазы воспаления характеризуют повышенные уровни альтернативно активированных М2-макрофагов и противовоспалительного цитокина IL-10, а также гораздо более стремительное снижение уровня провоспалительных М1-макрофагов, тем не менее, максимальные значения M_2 и I_{10} при $k_5 = k_6 = 0$ почти вдвое ниже, чем в «типичном» сценарии. Интересно, что в конечном итоге все это находит отражение в замедлении цитокин-зависимой активации макрофагов, подтверждая важную роль перепрограммирования М1 и М2 макрофагов в регуляции этого процесса и формировании микроокружения в ходе воспалительного ответа.

Интересно отметить, что в рамках принятой модели в реализованных сценариях динамика концентраций провоспалительных цитокинов IL-1 и TNF- α оказалась достаточно консервативной, хотя при повышении уровня классически активированных М1-макрофагов общий уровень провоспалительных цитокинов тоже несколько увеличивается, и все это приводит к определенному ускорению роста численности погибших клеток миокарда в центральной зоне инфаркта. Эти дополнительные (по

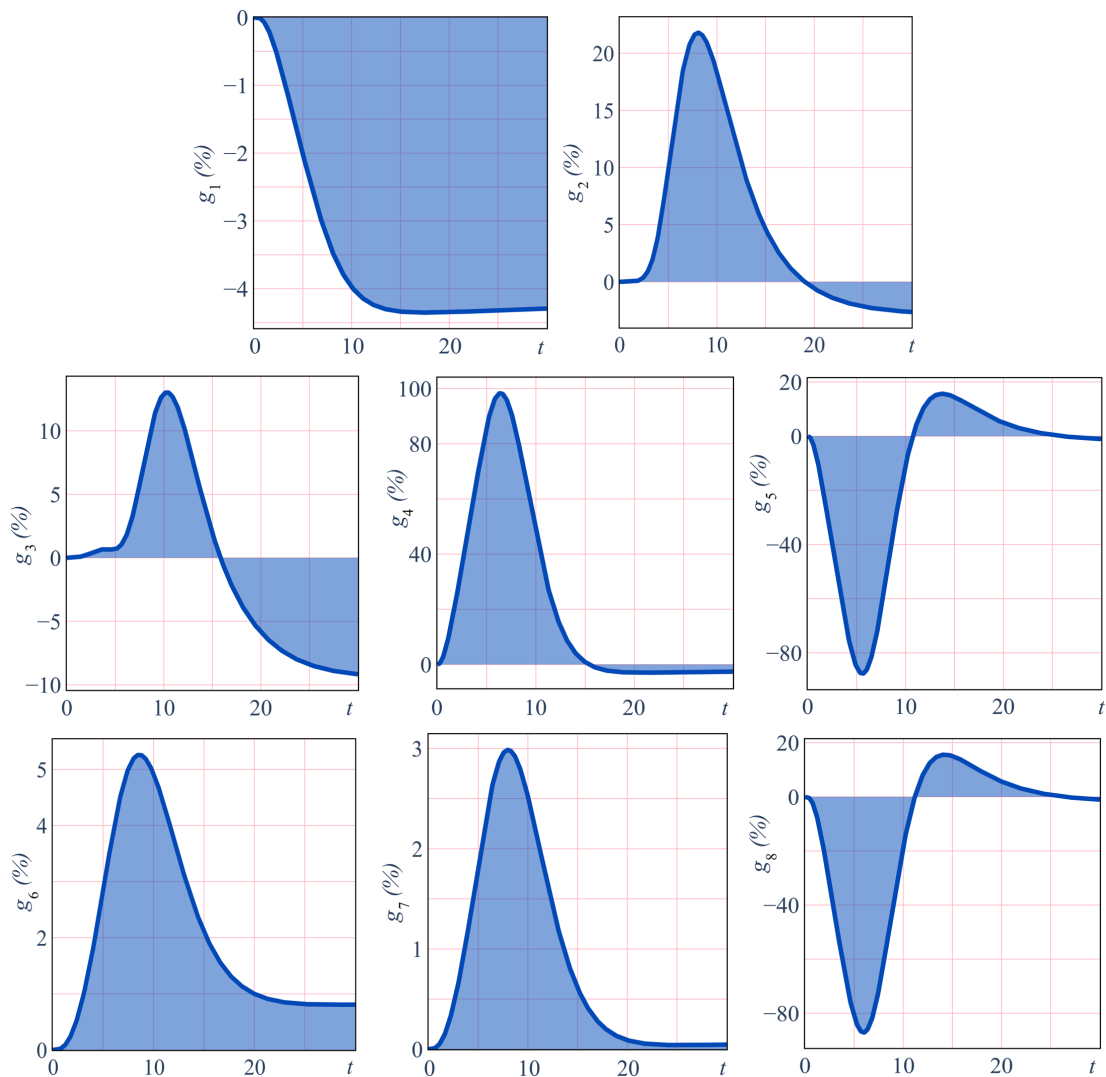


Рис. 3. Функции $g_i(t)$ ($i = 1, \dots, 8$), иллюстрирующие динамику отклонений основных переменных задачи при $k_5 = k_6 = 0$ от решения U^{typ} .

сравнению с «типичным» сценарием) потери составляют около 5 % от доинфарктного уровня, что может оказаться весьма чувствительным для состояния пациента (см., например, данные лабораторных экспериментов и их оценку в [40]).

Таким образом, результаты вычислительного эксперимента показали, что цитокин-зависимая активация макрофагов является решающей для инициации и формирования воспалительного ответа, обеспечивающего очищение зоны повреждения от продуктов распада. Сценарий перепрограммирования макрофагов, во-многом, определяет дальнейший сценарий развития инфаркта, сдерживая избыточную воспалительную реакцию. Полученные в ходе моделирования данные продемонстрировали ключевую роль перепрограммирования макрофагов как непосредственной реакции на изменение микроокружения, которая способна обеспечить благоприятное течение заболевания.

Имея в виду терапевтический потенциал управления поляризацией макрофагов, можно заключить следующее. Сценарий с блокировкой перепрограммирования M2-макрофагов в фенотип M1 качественно близок к «типичному», который здесь рассматривается как сценарий с относительно благополучным исходом. Отличие сценария с блокировкой состоит в дополнительном усилении противовоспалительного

звена воспалительного ответа не только во время острой фазы воспаления, но и в ее финале, причем преимущественно за счет уменьшения пула M1-макрофагов. Такие показатели оцениваются в литературе как благоприятные, поскольку, в дополнение к основному механизму, перепрограммированные из M1 в фенотип M2 макрофаги перестают синтезировать провоспалительные цитокины, блокируя местный иммунный ответ, и начинают выделять в окружающую среду прорепаративные факторы, ускоряющие восстановление тканей и прорастание кровеносных сосудов, которые будут обеспечивать питание этих тканей [40]. Это позволяет рассматривать данный сценарий как важную составляющую гипотетических терапевтических стратегий, основанных на управлении макрофагами при инфаркте. Напротив, в рамках принятой модели нокаут механизма смены фенотипа M1-макрофагами следует считать нежелательным из-за значительного усиления провоспалительного звена иммунного ответа, что в корне меняет сценарий инфаркта – формирование противовоспалительного звена запаздывает, и возрастает длительность и интенсивность острой фазы воспаления. В то же время, полная блокировка самонастраивающегося под состояние микроокружения механизма перепрограммирования макрофагов, практически исключая действие противовоспалительных факторов вплоть до 6–8-го дня инфаркта, лишь до некоторой степени позволяет сгладить эту негативную картину – разбалансировка процесса поляризации M1/M2 макрофагов в пользу провоспалительного пула макрофагов сохраняется, несмотря на сдерживание реполяризации M2-макрофагов. В этом сценарии, как и в случае нокаута перепрограммирования M1-макрофагов, временной лаг играет негативную роль в балансировке про- и противовоспалительного звеньев иммунной реакции на всех стадиях инфаркта. Все это в комплексе способствует повышению уровня повреждения миокарда, которое во многих случаях может рассматриваться как критичное для органа-мишени.

Основываясь на представленных данных, можно предположить, что управление механизмом перепрограммирования макрофагов, а также ранняя интенсификация продукции противовоспалительных факторов, таких как IL-10, могут привести к значимому терапевтическому эффекту. Далее этот вопрос будет проанализирован более детально.

Управление перепрограммированием макрофагов

В данной серии экспериментов ставилась задача численного анализа реакции биологической системы на изменение «типичного» сценария перепрограммирования M1-макрофагов в фенотип M2 и наоборот. Регулирующие механизм перепрограммирования константы скоростей соответствующих биохимических реакций (параметры k_5, k_6) варьировались одновременно и независимо друг от друга, принимая равномерно распределенные значения из области $[0, q_5 k_5^{тип}] \times [0, q_6 k_6^{тип}]$, причем размеры этой области последовательно увеличивались с ростом $q_5, q_6 \in [1, 5]$; значения остальных параметров модели оставались такими, как в таблице 1. Отметим, что здесь и далее выбор биологически значимых диапазонов изменения параметров основан на результатах численных экспериментов.

Для того чтобы оценить общие тенденции и возможный эффект от воздействия одновременно на оба механизма смены фенотипов макрофагами – из M1 в M2 и из M2 в M1, из решений серий прямых задач были составлены статистические выборки объемом от 6900 до 107100 событий в зависимости от величины $q_5, q_6 \in [1, 5]$. Здесь каждое событие, соответствующее разным конфигурациям значений (k_5, k_6) , – это новый сценарий инфаркта миокарда, в той или иной мере отклоняющийся от хорошо изученного «типичного» сценария. Поэтому каждое событие (сценарий) имеет смысл оценивать с

точки зрения эффекта от управления перепрограммированием макрофагов, причем не только по отношению к безынфарктному состоянию, но и по отношению к «типичному» сценарию инфаркта. Тогда более предпочтительный, чем «типичный» – сценарий с «положительным» (терапевтическим) эффектом – характеризуется повышенной плотностью выживших кардиомиоцитов и/или более выраженным доминированием М2-макрофагов, в противном случае можно делать заключение об отсутствии эффекта или об «отрицательном» эффекте.

Анализ результатов моделирования свидетельствует как о достаточно большом числе событий с «положительным» эффектом, так и о возможности «отрицательного» эффекта. Причем по мере расширения интервалов изменений варьируемых параметров (с ростом q_5, q_6) растет вероятность более благоприятного течения воспаления и относительного снижения уровня повреждения (увеличения плотности выживших кардиомиоцитов). В качестве иллюстрации на рисунке 4 представлены гистограммы значений плотностей выживших кардиомиоцитов $M_C(t_c)$ и активированных макрофагов $M_1(t_c)$ и $M_2(t_c)$, полученных при $t_c = 6, 15, 30$ дней, т. е. в разгар острой фазы и в ее финале. В таблице 2 представлены основные числовые характеристики каждой выборки. Эти данные показывают, что при снижении интенсивности процесса перепрограммирования макрофагов, которое моделируется варьированием k_5, k_6 в диапазоне $[0, k_5^{typ}] \times [0, k_6^{typ}]$, принятый в настоящей работе «типичный» сценарий относится к числу наиболее вероятных, и эта тенденция сохраняется с увеличением диапазона изменения параметров, когда $q > 1$ (здесь $q = q_5 = q_6$). При этом также увеличивается доля сценариев с «положительным» эффектом, так что, например, при $q = 3$ свыше 60 % всех сценариев оказались более благоприятными, чем «типичный». Этот результат, в первую очередь, связан с особенностями поляризации: в большинстве сценариев во время острой фазы воспаления ярко выражена тенденция к доминированию макрофагов фенотипа М2 и других противовоспалительных факторов при снижении плотности субпопуляции М1-макрофагов. Что касается характерных значений плотности выживших кардиомиоцитов $M_C(t_c)$, то важно отметить их изменение в ядре инфаркта от опасных 13 % до благоприятных 25 %, тогда как в «типичном» сценарии эта величина составляет чуть более 20 % от доинфарктного уровня.

Таким образом, полученные данные подтверждают наличие терапевтического потенциала в управлении перепрограммированием активированных макрофагов при инфаркте. Терапевтический эффект может состоять в обеспечении наиболее благоприятного динамического соотношения пулов про- и противовоспалительных макрофагов во время острой фазы воспаления. Этот результат согласуется с известными данными лабораторного анализа эффективности соответствующих терапевтических стратегий [21]–[29].

Дополнительно на рисунке 5 данные об изменении в ядерной зоне инфаркта характерных значений $M_C(t_c)$, $M_1(t_c)$ и $M_2(t_c)$ при $t_c = 6, 15$ дней изображены в плоскости параметров (k_5, k_6) . Эти результаты дают наглядное представление об общей картине зависимости наиболее важных параметров состояния системы от констант скоростей химических реакций, ответственных за перепрограммирование макрофагов. Они указывают на наибольшую эффективность гипотетической стратегии управления перепрограммированием макрофагов: $k_5 \rightarrow 0$ при $k_6 \rightarrow 5k_6^{typ}$. Тем самым, в контексте формирования возможных терапевтических стратегий перспективной может оказаться блокировка способности М2-макрофагов изменять свой фенотип на М1 в сочетании с ускорением перепрограммирования М1-макрофагов в фенотип М2. Очевидно, что в рамках принятой модели это один из «предельных» вариантов противовоспалительной стратегии перепрограммирования макрофагов, который, вполне возможно, не является

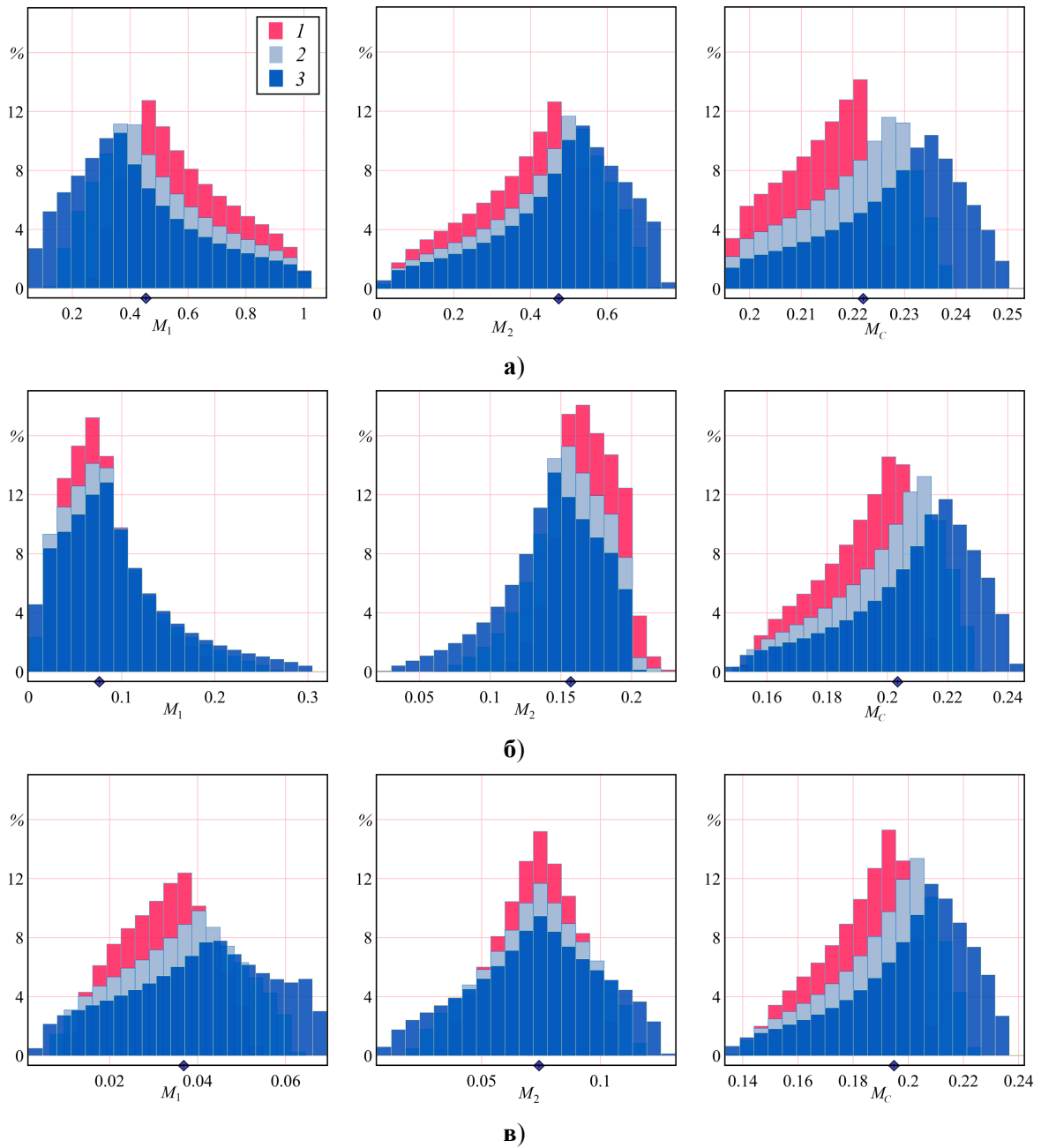


Рис. 4. Гистограммы распределения значений параметров состояния системы $M_C(t_c)$, $M_1(t_c)$ и $M_2(t_c)$ при $k_5, k_6 \in [0, qk_5^0] \times [0, qk_6^0]$: **а)** $t_c = 6$, **б)** $t_c = 15$, **в)** $t_c = 30$ дней после начала инфаркта миокарда; $1 - q = 1$, $2 - q = 2$, $3 - q = 3$. Маркером обозначены значения, полученные в «типичном» сценарии.

идеальным, поскольку игнорирует негативные последствия почти тотальной утраты макрофагов провоспалительного пула, выполняющих достаточно широкий спектр функций.

Для уточнения этих выводов отметим, что в рамках принятой модели в первые 3–7 дней инфаркта оптимальное с точки зрения будущего восстановления миокарда соотношение плотностей про- и противовоспалительных макрофагов достигается при условиях $k_5 \leq k_5^{typ}$, $k_6 \geq 3k_6^{typ}$. При этом желаемый «терапевтический» эффект, выраженный в повышении плотности прорепаративных M2-макрофагов за счет снижения плотности M1-макрофагов, может достигать 50 % по сравнению с соответствующими показателями в «типичном» сценарии. А через 15 дней инфаркта уровень макрофагов

Таблица 2. Числовые характеристики распределений $M_C(t_c)$, $M_1(t_c)$ и $M_2(t_c)$ при $k_5, k_6 \in [0, qk_5^{typ}] \times [0, qk_6^{typ}]$; контрольное время $t_c = 6, 15, 30$ дней.

| t_c | характ. | M_C | | | M_1 | | | M_2 | | |
|-------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | $q=1$ | $q=2$ | $q=3$ | $q=1$ | $q=2$ | $q=3$ | $q=1$ | $q=2$ | $q=3$ |
| 6 | Q_1 | 0.207 | 0.212 | 0.219 | 0.448 | 0.345 | 0.261 | 0.283 | 0.339 | 0.382 |
| | Q_2 | 0.215 | 0.222 | 0.230 | 0.554 | 0.457 | 0.382 | 0.406 | 0.469 | 0.509 |
| | Q_3 | 0.220 | 0.228 | 0.237 | 0.714 | 0.633 | 0.561 | 0.485 | 0.553 | 0.599 |
| | среднее | 0.213 | 0.220 | 0.227 | 0.587 | 0.498 | 0.426 | 0.378 | 0.438 | 0.477 |
| | σ | 0.008 | 0.010 | 0.013 | 0.175 | 0.203 | 0.223 | 0.138 | 0.155 | 0.165 |
| | «тип» | 0.221 | | | 0.455 | | | 0.473 | | |
| 15 | Q_1 | 0.181 | 0.188 | 0.196 | 0.048 | 0.048 | 0.049 | 0.156 | 0.140 | 0.124 |
| | Q_2 | 0.194 | 0.203 | 0.213 | 0.072 | 0.077 | 0.082 | 0.170 | 0.157 | 0.147 |
| | Q_3 | 0.203 | 0.213 | 0.223 | 0.099 | 0.110 | 0.122 | 0.185 | 0.176 | 0.168 |
| | среднее | 0.191 | 0.199 | 0.208 | 0.078 | 0.085 | 0.093 | 0.170 | 0.156 | 0.143 |
| | σ | 0.014 | 0.018 | 0.021 | 0.039 | 0.050 | 0.061 | 0.020 | 0.026 | 0.034 |
| | «тип» | 0.203 | | | 0.075 | | | 0.157 | | |
| 30 | Q_1 | 0.172 | 0.178 | 0.186 | 0.025 | 0.026 | 0.028 | 0.062 | 0.058 | 0.054 |
| | Q_2 | 0.186 | 0.195 | 0.204 | 0.033 | 0.037 | 0.041 | 0.074 | 0.074 | 0.074 |
| | Q_3 | 0.195 | 0.205 | 0.216 | 0.039 | 0.046 | 0.053 | 0.085 | 0.089 | 0.092 |
| | среднее | 0.183 | 0.191 | 0.199 | 0.032 | 0.036 | 0.040 | 0.073 | 0.073 | 0.072 |
| | σ | 0.015 | 0.019 | 0.022 | 0.010 | 0.013 | 0.016 | 0.016 | 0.021 | 0.027 |
| | «тип» | 0.194 | | | 0.036 | | | 0.073 | | |

обоих фенотипов снижается и приближается к уровню, характерному для «типичного» сценария. Следует также отметить, что управление в виде $k_5 \leq 0.5k_5^{typ}$ дает нужный «терапевтический» эффект практически при любом k_6 , причем интересно, что в этом случае предпочтительнее уменьшать, а не увеличивать k_6 , однако при этом «терапевтический» эффект не превысит 10 %.

Что касается потенциальной возможности снижения уровня повреждения кардиомиоцитов, то, согласно данным на рисунке 5, в рамках данной «терапевтической» стратегии независимо от стадии воспаления оптимальными можно считать условия $k_5 \leq k_5^{typ}$ при $k_6 \geq 4k_6^{typ}$, при которых достигается 12–18-процентный «терапевтический» эффект. Полученные оптимальные условия, обеспечивающие орган-сберегающий и восстановительный эффекты, не противоречат друг другу. Они важны, в первую очередь, с точки зрения понимания общей тенденции в организации соответствующих лабораторных экспериментов, указывая на возможность «тонкой» настройки терапевтических воздействий. Тем не менее, судя по результатам моделирования, для снижения уровня повреждения сердца при инфаркте необходимы все же более решительные терапевтические меры, причем уже на самой ранней стадии развития инфаркта.

Управление цитокин-зависимым механизмом активации M0-макрофагов

Следующая серия численных экспериментов нацелена на оценку (в рамках принятой модели) реакции биологической системы на усиление/ослабление роли каждого из трех

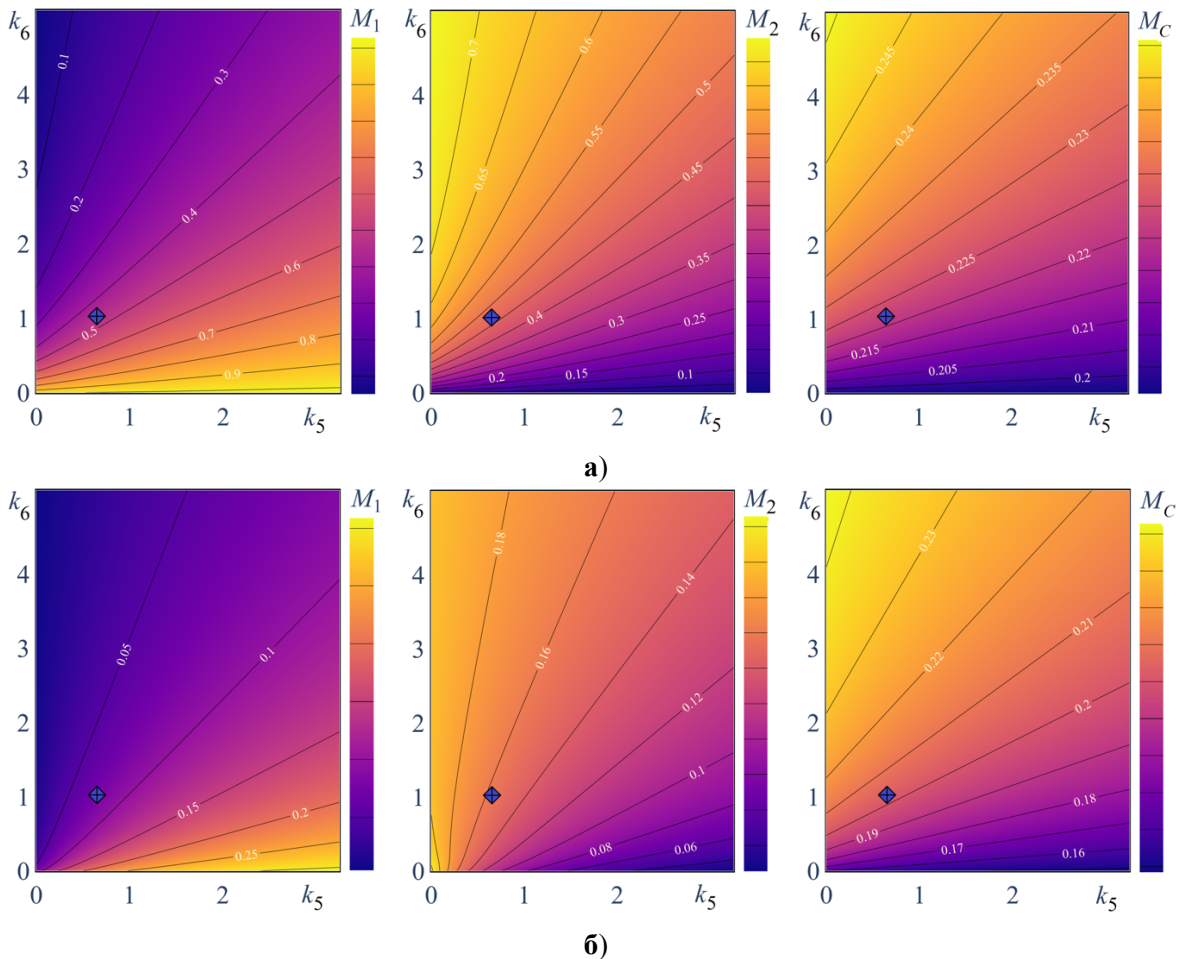


Рис. 5. Распределение характерных значений плотностей макрофагов $M_1(t_c)$ и $M_2(t_c)$ и кардиомиоцитов $M_C(t_c)$ в плоскости параметров (k_5, k_6) ; **а)** $t_c = 6$, **б)** $t_c = 15$ дней после начала инфаркта; маркер соответствует «типичному» сценарию.

важнейших цитокинов в процессе активации макрофагов. В модели (1)–(8) варьировались значения параметров k_2, k_3, k_4 , регулирующих собственно процесс активации макрофагов фенотипа M0 под влиянием цитокинов IL-1, TNF- α и IL-10 соответственно. Каждый из параметров k_2, k_3 и k_4 изменялся поочередно или одновременно в сторону роста и убывания относительно значений из таблицы 1 по правилу: $k_p = q_p k_p^{тип}$, где $q_p \in [0, 4]$, $p = 2, 3, 4$, при этом остальные значения параметров оставались такими, как в «типичном» сценарии.

В качестве примера, характеризующего изменения в динамике плотностей макрофагов трех фенотипов, на рисунке 6 представлены три компоненты M_{un}, M_1, M_2 вектора решения задачи, полученного при поочередном двукратном уменьшении или увеличении каждой из констант скоростей биохимических реакций, ответственных за управление цитокин-зависимой активацией M0-макрофагов. Как и ожидалось, основная тенденция изменений в балансе макрофагов состоит в том, что плотность популяции неактивированных M0-макрофагов во все время наблюдения оказывается заниженной или завышенной в сравнении с «типичным» сценарием при увеличении или уменьшении значений параметров соответственно. При этом влияние изменения k_2 проявляется, начиная с $t > 0$, и особенно ярко – во время острой фазы воспаления, но по истечении первых 12-ти дней выражено чрезвычайно слабо. Напротив, при изменении k_4 изменения в динамике M_{un} проявляются лишь при $t \geq 4$ дней, т. е. на более поздней стадии воспалительного процесса, и эта тенденция сохраняется во все время наблюдений.

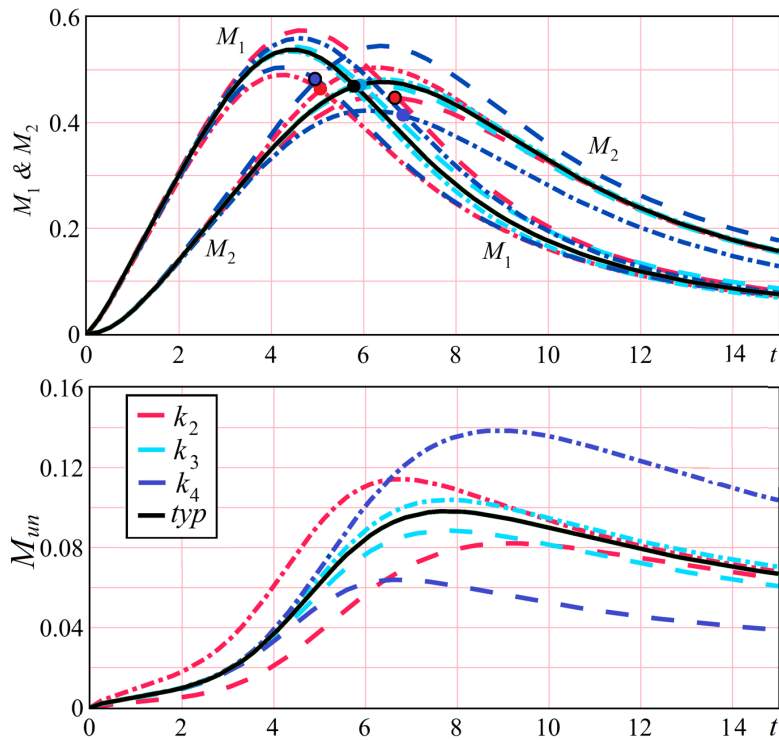


Рис. 6. Динамика обезразмеренных плотностей неактивированных (M_{un}) и активированных (M_1, M_2) макрофагов в ядре инфаркта при варьировании параметров модели $k_p = qk_p^{typ}$, $p = 2, 3, 4$: сплошные линии – $q = 1$ («типичный» сценарий), штриховые – $q = 2$; штрихпунктирные – $q = 0.5$; маркерами отмечены состояния равновесия $M_1 = M_2$.

Что касается поляризации активированных макрофагов, то, судя по данным на рисунке 6, сценарии, полученные в расчетах при $k_2 = 2k_2^{typ}$ и $k_4 = 0.5k_4^{typ}$, весьма близки друг к другу, их характеризует тенденция к усилению пула M1-макрофагов и ослаблению пула M2-макрофагов во время острой фазы воспаления. Особо отметим сценарий с $k_4 = 2k_4^{typ}$, в рамках которого во время острой фазы воспаления наблюдается выраженное перераспределение субпопуляций активированных макрофагов в пользу противовоспалительного фенотипа M2. Такое изменение баланса активированных макрофагов, безусловно, является ожидаемым, оно соответствует известным представлениям о регуляторной функции цитокинов про- и противовоспалительного пулов и, тем самым, служит еще одним подтверждением адекватности принятой модели. Вместе с тем, в этих наблюдениях угадывается возможная терапевтическая стратегия, основанная на управлении активацией макрофагов. По данным на рисунке 6, даже двукратное усиление функции IL-10 как активатора макрофагов гипотетически позволяет а) понизить плотность макрофагов провоспалительного фенотипа M1 в 3–5-й дни инфаркта, т. е. в разгар острой фазы воспаления, б) повысить (до 20 % в норме, являющейся сеточным аналогом нормы пространства непрерывных функций) плотность макрофагов фенотипа M2, обеспечив более раннее (начиная с 5-го дня инфаркта), чем в «типичном» сценарии, доминирование противовоспалительных факторов. Интересно, что подобный эффект может быть достигнут и посредством ингибирования активирующей роли IL-1, однако, как показано на рисунке 6, при таком воздействии уровень M2-макрофагов не столь высок, как при усилении активирующей функции IL-10.

Эти выводы подтверждают также данные на рисунке 7, представленные в виде функций $g_i(t)$, где верхний индекс $p = 2, 3, 4$ указывает на соответствие варьируемому параметру модели $k_p = q_p k_p^{typ}$, $i = 3, 4, 5$ – порядковый номер соответствующей

компоненты вектора решения U локальной модели. В этих расчетах параметры модели еще сильнее (в четыре раза) отклонялись от «типичных» в сторону роста и убывания. Видно, что самым проблемным сценарием следует считать снижение IL-10–зависимой активации макрофагов, из-за которого возникает недостаточность M2-макрофагов, способных через разные механизмы сдерживать рост уровня M1-макрофагов и, тем самым, контролировать интенсивность острой фазы воспалительной реакции. Наилучшим с терапевтической точки зрения оказался, как и ранее, сценарий, полученный при $k_4 = 4k_4^{typ}$, который характеризуется наиболее благоприятным соотношением M1/M2 макрофагов во время острой фазы воспаления, а также обеспечивает, согласно известным представлениям, более благоприятное течение процесса постинфарктного восстановления. Вновь отметим относительно низкую эффективность воздействия, связанного с ингибированием IL-1-зависимой активации макрофагов, однако, вполне вероятно, что этот результат не является окончательным, и такое различие обусловлено лишь рамками проведенного численного эксперимента, включая выбор биомаркеров, используемых для оценки состояния системы, и/или ограничениями принятой модели. Ниже этому вопросу будет уделено более пристальное внимание.

Интересно отметить, что TNF- α -зависимое звено механизма активации макрофагов показало наименьшую управляемость – отклик на воздействие через параметр k_3 оказался минимальным, хотя в [32] в рамках этой же модели было показано, что TNF- α – одна из лучших терапевтических мишеней для снижения уровня повреждения миокарда при инфаркте, однако при этом были задействованы некоторые другие функции и связи TNF- α , не затрагивающие непосредственно поляризацию макрофагов.

Примечательны также общие оценки изменений в динамике трех важнейших параметров состояния биологической системы – плотностей макрофагов фенотипов M0, M1 и M2 – в сравнении со сценариями с блокировкой перепрограммирования макрофагов. Согласно расчетам, общий эффект от полной или частичной (только из M1 в M2) блокировки перепрограммирования макрофагов совпадает с эффектом от усиления активации M0-макрофагов провоспалительными цитокинами IL-1 или TNF- α – он заключается в увеличении пула M1-макрофагов во время острой фазы воспалительной реакции при сниженном уровне M2-макрофагов. Однако суммарный результат блокировки перепрограммирования оказывается существенно более выраженным – эта мера может вызвать 5–10-кратное изменение показателей характеристик «типичного» сценария поляризации.

Для получения более полной картины, позволяющей оценить эффект от управления цитокин-зависимой активацией макрофагов, в качестве индикаторов течения воспалительной реакции и ее составной части – процесса активации макрофагов, привлекались величины максимальной плотности активированных макрофагов $M_{1m} = \max_t(M_1)$, $M_{2m} = \max_t(M_2)$ и время t_m , при котором эти значения достигаются. На рисунке 8 приведены траектории «движения» системы в плоскости параметров состояния (t_m, M_{1m}) и (t_m, M_{2m}) на фоне поочередного изменения значений $k_p = q_p k_p^{typ}$ ($p = 2, 3, 4$) в диапазоне $q_p \in [0, 4]$. Видно, что наибольший отклик системы на воздействие связан с изменением параметров k_2 и k_4 . Согласно этим данным, интервалы изменений параметров состояния таковы, что при тщательном выборе воздействия гипотетически можно почти на сутки сократить длительность острой фазы воспаления, вдвое снизить уровень макрофагов провоспалительного фенотипа и/или почти вдвое повысить уровень макрофагов противовоспалительного фенотипа. При этом для лучшего управления M1-макрофагами следует использовать IL-1-зависимую активацию (варьируемый параметр k_2), а для управления M2-макрофагами – IL-10-зависимую активацию (варьируемый параметр k_4).

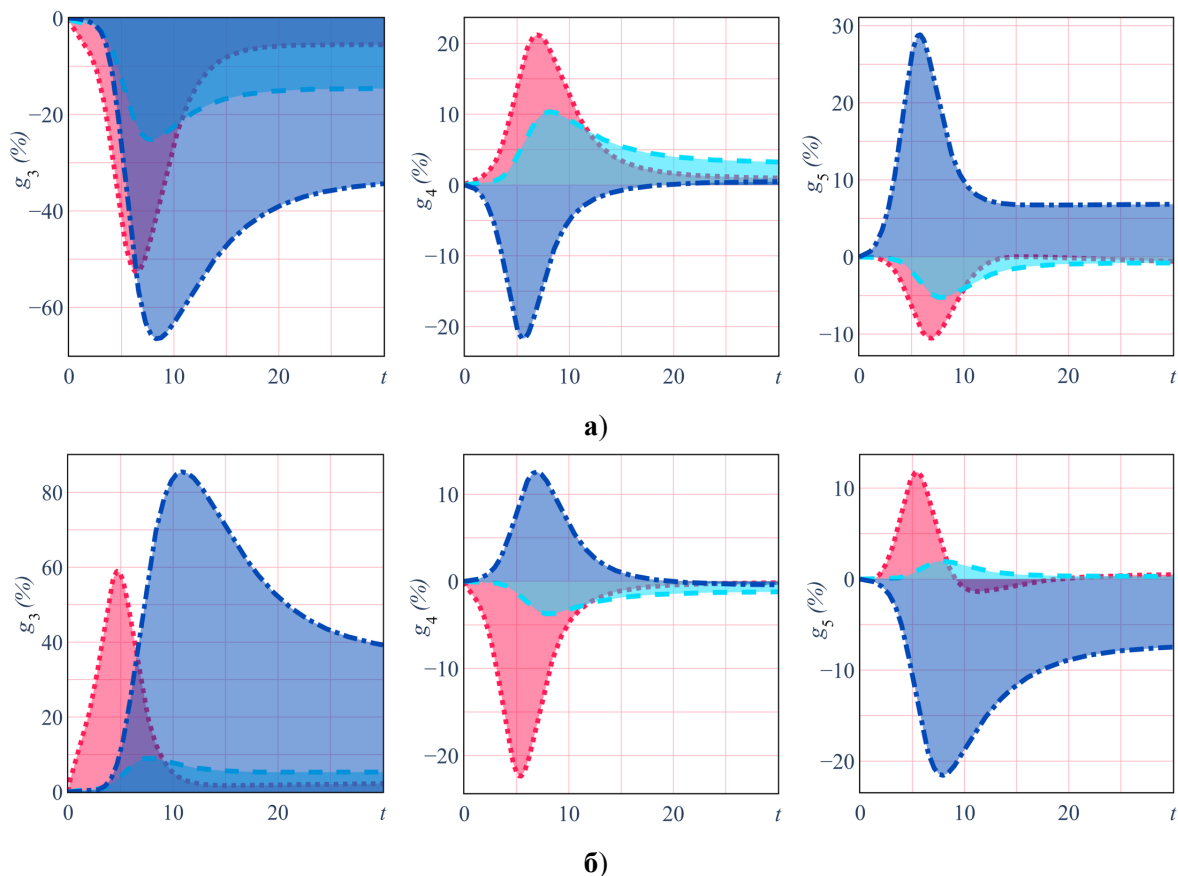


Рис. 7. Динамика отклонений плотностей макрофагов фенотипов M0 (g_3), M1 (g_4) и M2 (g_5) от решения U^{typ} при варьировании параметров $k_p = qk_p^{typ}$: **а)** $q = 4$, **б)** $q = 0.25$; пунктирные линии – k_2 , штриховые – k_3 , штрихпунктирные – k_4 .

Судя по маркерам процесса поляризации, самым неблагоприятным следует считать сценарий с затуханием функции IL-10 как активатора M2-макрофагов (при $k_4 \rightarrow 0$): ему соответствует острая фаза с наиболее выраженным доминированием провоспалительных макрофагов и наиболее низким уровнем M_{2m} . Следует отметить, что этот результат, основанный на анализе маркеров поляризации макрофагов, согласуется с предыдущими оценками, полученными при анализе частных примеров управления активацией. В то же время, один из самых благоприятных сценариев поляризации, который характеризуется оптимальным соотношением M_{1m} и M_{2m} , ярко выраженным и ранним доминированием противовоспалительных M2-макрофагов, получен при ингибировании активирующей функции IL-1 (при $k_2 \rightarrow 0$). Заметим, что эта оценка несколько расходится с оценкой, данной на предыдущем этапе анализа (о предпочтительности интенсификации IL-10-зависимой активации), однако и не вступает с ней в кардинальное противоречие. Это обстоятельство лишь подчеркивает тот факт, что поиск оптимальной терапевтической стратегии может быть связан с управлением одновременно двумя механизмами – IL-1- и IL-10-зависимой активацией макрофагов. При этом результат анализа, очевидно, может зависеть от выбора маркера – конкретной характеристики, которая принята в качестве индикатора состояния системы.

В связи с этим на рисунке 9 показаны результаты одновременного варьирования параметров k_2 и k_4 . Полученные в этой серии численных экспериментов данные об изменении характерных значений $M_C(t_c)$, $M_1(t_c)$ и $M_2(t_c)$ представлены в плоскости параметров (k_2, k_4) . Можно видеть, что во время острой фазы воспаления (контрольное время $t_c = 6$ дней) близкое к оптимальному (с точки зрения прорепаративной функции)

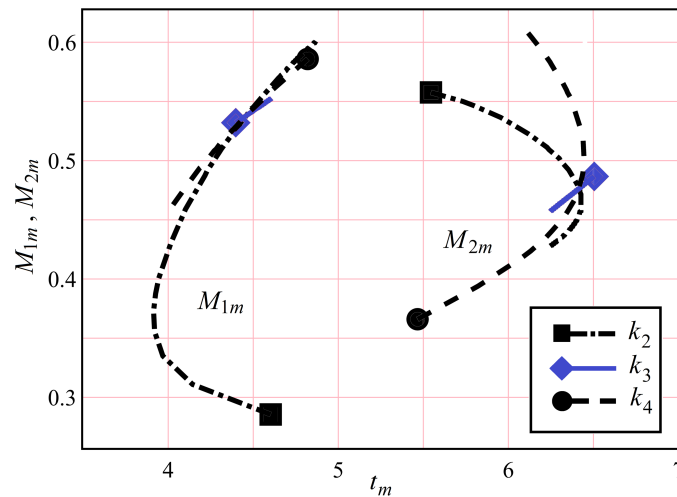


Рис. 8. Траектории «движения» системы в плоскости параметров $(t_m, M_{1m}), (t_m, M_{2m})$ при $k_p = qk_p^{typ}$ ($p = 2, 3, 4$); маркерами помечены состояния при $k_p = 0$.

соотношение плотностей про- и противовоспалительных макрофагов достигается практически при любом $k_4 \geq 0$, если $k_2 \rightarrow 0$, а максимальный эффект – при условии $k_4 \geq 2k_4^{typ}$, когда $k_2 \leq 0.15k_2^{typ}$. При этом «терапевтический» эффект от управления цитокин-зависимой активацией, выраженный в повышении плотности прорепаративных М2-макрофагов за счет снижения плотности М1-макрофагов, достигая примерно 50 %, все же не превышает эффект от перепрограммирования макрофагов (в рамках принятой модели). Позже, на 15-й день инфаркта, уровень макрофагов обоих фенотипов закономерно снижается, как и в «типичном» сценарии, но наиболее предпочтительной «терапевтической» стратегией оказалась та, при которой одновременно $k_4 \geq 2k_4^{typ}$ и $k_2 \rightarrow 0$. Ее преимущество определяется не столько благоприятным соотношением М1/М2 макрофагов (как уже отмечалось, это соотношение весьма слабо изменится, если варьировать k_2 в максимально широком диапазоне), сколько тем, что оно обеспечивает бóльшую сохранность кардиомиоцитов (возможно, только в рамках данной «терапевтической» стратегии). При этом полученные данные, как и в случае варьирования параметров k_5 и k_6 , несомненно, свидетельствуют о предпочтительности более раннего начала терапии для снижения уровня повреждения клеток миокарда.

Таким образом, в рамках принятой модели при анализе терапевтического потенциала гипотетических стратегий управления цитокин-зависимой активацией макрофагов оптимальной оказалась та, которая сочетает в себе регуляцию ИЛ-1-зависимого механизма со стимулированием ИЛ-10-зависимой активацией макрофагов и предполагает вполне определенную настройку этих двух механизмов. Сравнение этой стратегии с ранее рассматривавшейся стратегией управления перепрограммированием макрофагов указывает на определенные преимущества последней как с точки зрения гипотетической возможности сохранения большей мышечной массы сердца, так и с точки зрения создания лучших условий для восстановительной фазы инфаркта. Представленные данные иллюстрируют также тот факт, что М1/М2 поляризация макрофагов представляет собой аддитивный эффект функционирования, как минимум, двух механизмов – цитокин-зависимого механизма активации и перепрограммирования активированных макрофагов. Причем уже на данном этапе исследований можно заключить, что эффект от управления перепрограммированием в терапевтических целях может значительно превышать эффект от управления активацией посредством изменения цитокинового профиля. Данный результат следует рассматривать, по-видимому, как обоснование для

формирования такой терапевтической стратегии, связанной с макрофагами, которая соединит в себе управление одновременно всеми рассмотренными звеньями механизма поляризации.

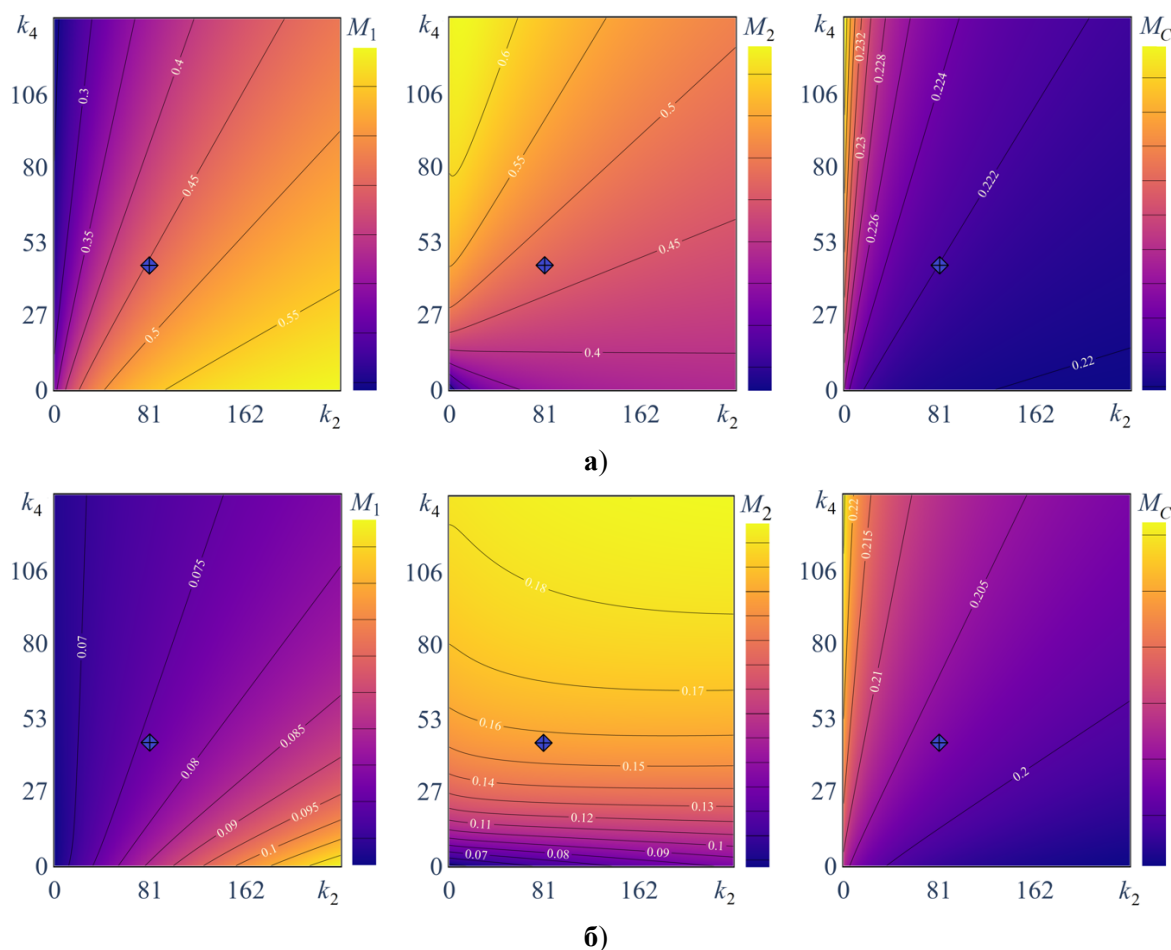


Рис. 9. Распределение характерных значений плотностей кардиомиоцитов $M_C(t_c)$, макрофагов $M_1(t_c)$ и $M_2(t_c)$ в плоскости параметров (k_2, k_4) : **а)** $t_c = 6$, **б)** $t_c = 15$ дней после начала инфаркта; маркер соответствует состоянию в «типичном» сценарии.

О существовании «терапевтического окна», связанного с управлением поляризацией макрофагов

Выше подробно обсуждалась эффективность гипотетических «терапевтических» воздействий на моделируемую биологическую систему, которые осуществляются постоянно, начиная с момента времени $t^0 = t_0$, где $t_0 = 0$ – начало отсчета длительности инфаркта. Представляет интерес более детальный анализ зависимости эффективности воздействия от t^0 с целью уточнения «терапевтического окна» – временного интервала для наиболее результативной корректировки течения инфаркта. В связи с этим в данном вычисленном эксперименте рассматривались варианты более позднего $t^0 > t_0$ начала «терапевтического» воздействия, при этом мишенями для воздействий были как отдельные элементы, так и целые звенья механизма поляризации. Для простоты предполагалось, что во все время наблюдений поддерживаются условия, обеспечивающие постоянство уровня «терапевтического» воздействия.

Основываясь на результатах предыдущих исследований, для удобства дальнейшего изложения введем условные обозначения гипотетических «терапевтических» стратегий, имея в виду указание на конкретную мишень воздействия: «IL-1» ($k_2 \rightarrow 0$), «IL-10»

($k_4 \rightarrow k_4^{max}$), «M2» ($k_5 \rightarrow 0$), «M1» ($k_6 \rightarrow k_6^{max}$), «IL-1+IL-10» ($k_2 \rightarrow 0$ и $k_4 \rightarrow k_4^{max}$ одновременно), «M1+M2» ($k_5 \rightarrow 0$ и $k_6 \rightarrow k_6^{max}$), «comb» или «IL-1+IL-10+M1+M2» – комбинированная стратегия, включающая одновременно все «терапевтические» мишени ($k_2 \rightarrow 0$, $k_4 \rightarrow k_4^{max}$, $k_5 \rightarrow 0$ и $k_6 \rightarrow k_6^{max}$).

На рисунке 10 для сравнения представлены траектории «движения» системы в плоскости параметров (M_1, M_2) в условиях, когда (при отсутствии терапии) инфаркт развивается по «типичному» сценарию или, начиная с самого раннего момента времени $t^0 = 0$, к нему применяются указанные «терапевтические» воздействия. Очевидно, что все варианты воздействий следует оценивать как успешные, поскольку «терапевтические» траектории сдвигаются в область более низких, чем в «типичном» сценарии, значений M_1 и захватывают область повышенных значений M_2 . При этом цитокин-зависимые «терапевтические» стратегии с единственной мишенью «IL-1» и «IL-10» менее эффективны в управлении поляризацией, чем стратегии с перепрограммированием макрофагов «M2», «M1», «M1+M2». Стратегии, нацеленные на стимулирование противовоспалительных факторов («IL-10» и в особенности «M2»), демонстрируют выраженный релаксационный эффект. Наибольшую эффективность демонстрирует комбинированная «comb»-стратегия, включающая воздействия одновременно на все перечисленные «терапевтические» мишени. Однако с точки зрения более благоприятного течения воспаления и будущего восстановления в рамках рассмотренного континуума гипотетических «терапевтических» сценариев, возможно, предпочтение следует отдавать «M1+M2»-стратегии.

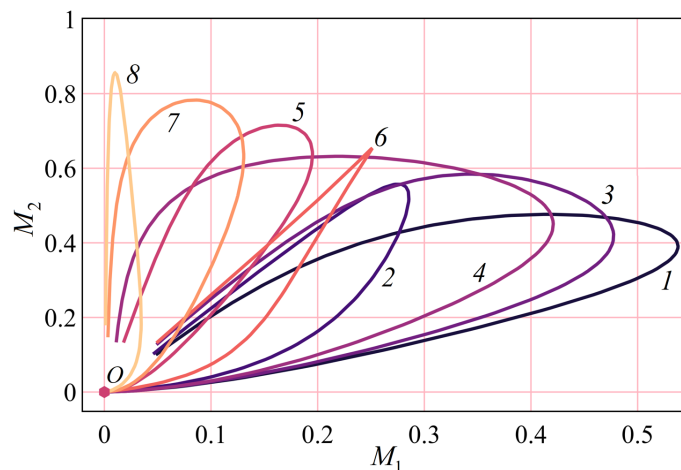


Рис. 10. Траектории «движения» системы в фазовой плоскости (M_1, M_2) в «типичном» сценарии инфаркта (линия 1) и при «терапевтическом» воздействии: 2 – «IL-1», 3 – «IL-10», 4 – «M2», 5 – «M1», 6 – «IL-1+IL-10», 7 – «M1+M2», 8 – «comb»; O – начальное состояние.

Далее в рамках данного вычислительного эксперимента «типичный» сценарий инфаркта рассматривался как базовый, к которому «терапевтические» воздействия применялись, начиная с момента времени $t^0 \in (0, 11]$ дней. Для лучшего контроля результата терапии время наблюдений полагалось равным 20-ти дням, что несколько превышает длительность острой фазы воспаления в «типичном» сценарии с благоприятным исходом, согласованным с экспериментальными данными. Как и ранее, эффект от воздействия оценивался как с точки зрения возможности снижения уровня повреждения миокарда через регуляцию провоспалительного звена иммунного ответа, так и с точки зрения создания лучших условий для восстановительной фазы инфаркта.

В качестве примера на рисунке 11 динамика плотностей активированных

макрофагов, иллюстрирующая ход поляризации макрофагов в рамках гипотетических «терапевтических» сценариев «IL-1+IL-10», «M1+M2» и «*comb*», сравнивается с «типичным» сценарием. Видно, что во всех этих сценариях при любом t^0 наблюдается выраженный «терапевтический» эффект, заключающийся в снижении плотности субпопуляции провоспалительных M1-макрофагов в пользу субпопуляции M2-макрофагов противовоспалительной направленности. Сравнение трех разных воздействий наглядно демонстрирует также преимущество «M1+M2»-терапии перед «IL-1+IL-10» и наибольший эффект при «*comb*»-терапии, который с точки зрения практического применения может оказаться даже избыточным. Причем при воздействиях, включающих в себя управление перепрограммированием макрофагов в пользу фенотипа M2, длительность острой фазы резко снижается, а в ее финале плотность M1-макрофагов устремляется к нулю на фоне повышения плотности M2-макрофагов, обладающих также прорепаративной активностью.

Следует заметить, что наиболее эффективное подавление субпопуляции провоспалительных M1-макрофагов наблюдается при возможно более раннем воздействии – в рамках принятой модели при $t^0 = 0$. В этом случае при «IL-1+IL-10»-терапии плотность M2-макрофагов может увеличиться примерно на треть, а плотность M1-макрофагов снизиться вдвое по сравнению с «типичным» сценарием. При «*comb*»-терапии плотность M2-макрофагов гипотетически может увеличиться почти вдвое, а плотность M1-макрофагов снизиться почти на порядок по сравнению с «типичным» сценарием. Вместе с тем, при относительно слабом ишемическом повреждении миокарда, возможно, более предпочтительным может оказаться «терапевтическое окно» от 3-го до 5-го дня, когда на начальной стадии инфаркта активируется достаточное для наиболее эффективного эффероцитоза и фагоцитоза количество M1-макрофагов, а в разгар острой фазы – максимальное количество M2-макрофагов.

Более полное представление о «терапевтическом окне» для снижения повреждения миокарда дает рисунок 12, на котором приведены значения плотности выживших кардиомиоцитов $M_C(t_c)$ в ядре инфаркта, полученные в финале острой фазы инфаркта ($t_c = 15$ дней). Здесь для сравнения с «типичным» сценарием без терапии (*линия 1*) представлены результаты моделирования всех ранее перечисленных «терапевтических» воздействий (*линии 2–8*), время начала каждой из которых t^0 варьировалось от 1 часа до 11 дней после начала инфаркта. Можно видеть, что эффект любой терапии максимален в первые сутки после инцидента, а при запаздывании лечения он резко снижается. Причем для наиболее эффективных и сложных стратегий, таких как «*comb*» или «M1+M2», «терапевтическое окно» составляет около 12-ти часов от начала инфаркта, а далее с каждым часом «терапевтический» эффект стремительно падает; напротив, для наименее эффективных и простых стратегий с единственной мишенью, таких как «IL-1», «IL-10» или «M2», «терапевтическое окно» может достигать двух дней от начала инфаркта. Согласно расчетам, после трех дней задержки ожидаемый эффект снижается почти вдвое даже для самых результативных «терапевтических» стратегий, а, начиная с 4-го дня, эффективность любого из рассмотренных воздействий не превышает 2 % от доинфарктного уровня (или менее 10 % от числа кардиомиоцитов, выживших в «типичном» сценарии инфаркта без терапии).

В рамках принятой модели наименее оправданными оказались воздействия с единственной мишенью – даже в первые часы эффект от «IL-10»-терапии составил менее 3 %, от «M2»- или «IL-1»-терапий – менее 8 % от уровня M_C в «типичном» сценарии. Можно видеть также, что при раннем начале сложные терапии с двумя мишенями «IL-1+IL-10» или «M1+M2» являются более предпочтительными, чем

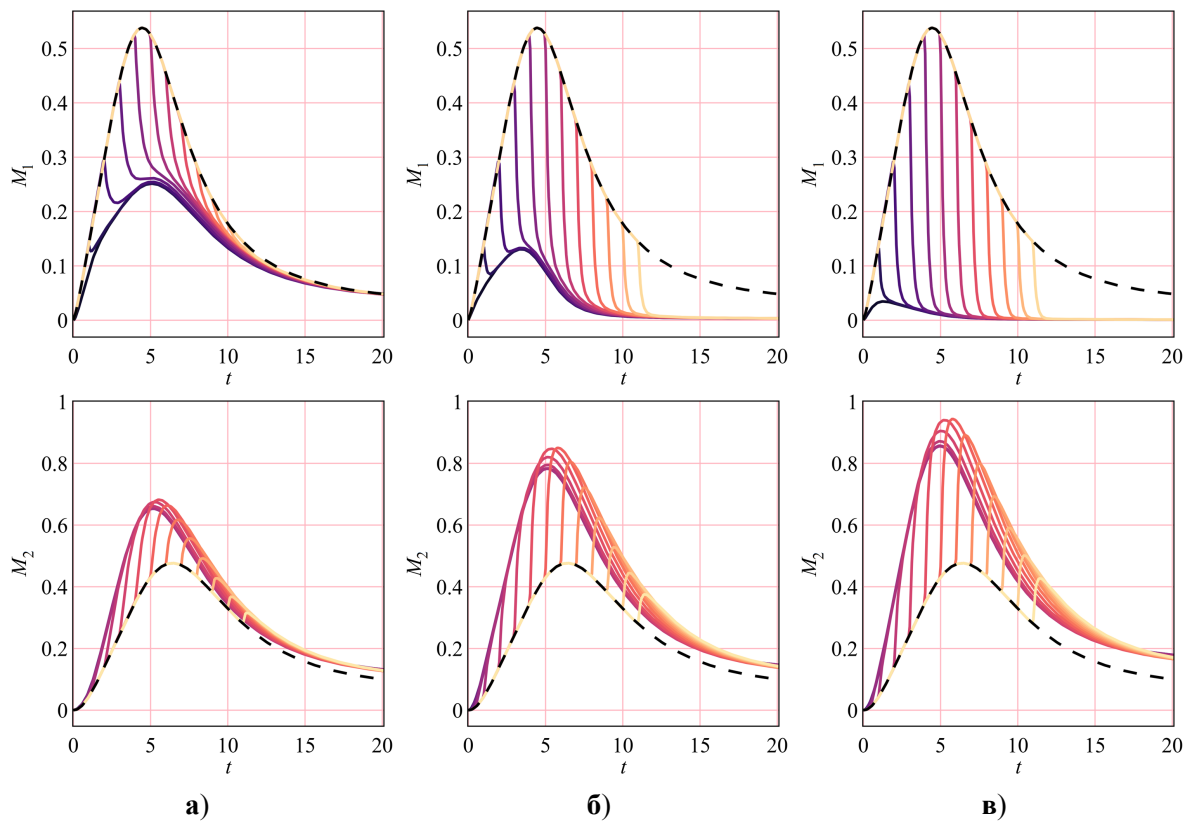


Рис. 11. Динамика плотностей макрофагов фенотипов M_1 и M_2 в зависимости от времени начала терапии $t^0 = 0, \dots, 11$ дней (сплошные линии) и вида терапии: **а)** «IL-1+IL-10»-терапия, **б)** «M1+M2»-терапия, **в)** «comb»-терапия; штриховые линии – «типичный» сценарий без терапии.

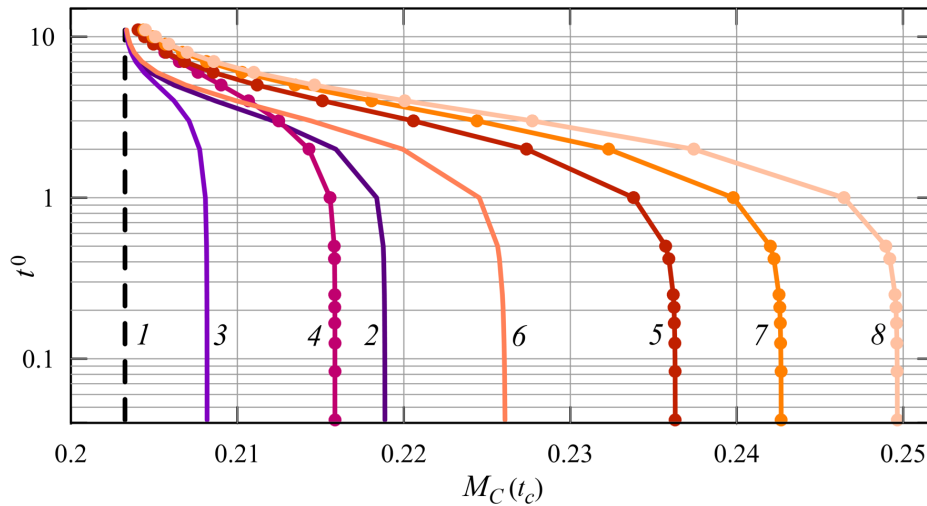


Рис. 12. Значения плотности кардиомиоцитов $M_C(t_c)$ в зависимости от времени начала t^0 и вида терапии: 1 – «типичный» сценарий инфаркта, 2 – «IL-1», 3 – «IL-10», 4 – «M2», 5 – «M1», 6 – «IL-1+IL-10», 7 – «M1+M2», 8 – «comb». Время t^0 показано в днях от начала инфаркта; контрольное время $t_c = 15$ дней.

каждая из составляющих их терапий с единственной мишенью. Однако с ростом времени, прошедшего после начала инцидента, этот эффект становится менее заметным. Кроме того, необходимо обратить внимание, что любая терапия, составной частью которой является управление перепрограммированием активных макрофагов, является

орган-сберегающей. Наибольший эффект от лечения в первые 10–12 часов инфаркта получен при комплексной терапии с использованием сложных разнонаправленных воздействий сразу на все рассматриваемые мишени. При этом можно ожидать увеличение плотности выживших кардиомиоцитов до 25 %, тогда как в «типичном» сценарии доля выживших клеток сердца составляла около 20 % от доинфарктного уровня плотности кардиомиоцитов.

Таким образом, результаты моделирования демонстрируют вариативность возможных терапевтических воздействий на макрофаги, что, по мнению авторов, создает основу для выработки наиболее эффективной стратегии управления поляризацией макрофагов в лабораторных условиях, в том числе и для адаптации оптимального выбора «терапевтического окна» к конкретным условиям инфаркта.

5. ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ИНФАРКТА, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ДЕРЕГУЛЯЦИЕЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ МАКРОФАГОВ

Общий анализ основных звеньев механизма поляризации макрофагов

Далее будет показана важная роль цитокин-зависимой активации и перепрограммирования макрофагов в локализации местного воспаления в области конечных размеров, внутри которой формируется ядро инфаркта, а на периферии – валикообразная квазистационарная структура, скопление клеток иммунной системы и цитокинов, известное в медицине как демаркационное воспаление.

Данные об уровне повреждения миокарда $J(t_c)$, общей площади поврежденного участка миокарда $S_{\Omega}(t_c)$ и площади ядерной зоны $S_c(t_c)$ представлены в таблице 3; контрольное время $t_c = 15$ дней от начала инфаркта. Как и ожидалось, при блокировке смены фенотипа M1 на M2 ($k_6 = 0$) наблюдается относительно слабо выраженное увеличение общей площади зоны инфаркта, однако в этом случае значительно (более чем на 15 %) возрос уровень повреждения, причем преимущественно за счет увеличения площади ядерной зоны (в данном численном эксперименте – почти на 20 %). В то же время, блокировка смены фенотипа M2 на M1 ($k_5 = 0$) дает хоть и менее выраженный, но все же обратный, т. е. «положительный» эффект, характеризующийся снижением уровня повреждения миокарда и площади поврежденного участка на 3 – 4 % по сравнению с «типичным» сценарием инфаркта. Учитывая существенную нелинейность исследуемого процесса и его математической модели, интересно оценить аддитивный эффект этих мер и значение цитокин-зависимой активации макрофагов, сопоставив результаты экспериментов с полученными при $k_5 = k_6 = 0$. Судя по данным, представленным в таблице 3, эффект оказался неоднозначным: полная блокировка перепрограммирования приводит к некоторому (не более 1 – 2 %) сокращению площади инфаркта и ее ядерной зоны, при этом уровень повреждения миокарда в этой зоне повышается почти на 3 %.

Таблица 3. Уровень повреждения миокарда J , площадь поврежденной области S_{Ω} и площадь ядра инфаркта S_c на 15-й день после начала инфаркта в «типичном» сценарии инфаркта и при блокировке перепрограммирования макрофагов.

| Сценарии | S_c | S_{Ω} | J |
|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| <i>тип</i> | 0.500 | 0.631 | 0.344 |
| $k_5 = 0$ | 0.496 (–0.8 %) | 0.610 (–3.3 %) | 0.331 (–3.8 %) |
| $k_6 = 0$ | 0.512 (+2.4 %) | 0.750 (+18.9 %) | 0.397 (+15.4 %) |
| $k_5 = k_6 = 0$ | 0.497 (–0.6 %) | 0.619 (–1.9 %) | 0.354 (+2.9 %) |

Численный анализ показал, что формирование демаркационного воспаления, прежде всего, связано с возникновением высокого градиента плотности кардиомиоцитов на границе между ядром и неповрежденной областью миокарда и реакцией на это противовоспалительного цитокина IL-10 (в рамках принятой модели), который высвобождается из поврежденных кардиомиоцитов и привлекает в эту зону непосредственно или через посредников моноциты и неактивированные макрофаги, доставляющие медиаторы воспаления на своей клеточной мембране. К перечисленным процессам подключаются также дополнительные эффекты, связанные с пространственным распространением цитокинов [34].

С этой точки зрения наиболее показательным представляется случай с блокировкой перепрограммирования M1-макрофагов в фенотип M2. На рисунках 13 и 14 представлены пространственно-временные распределения концентрации интерлейкина IL-10 и плотности макрофагов фенотипа M2, полученные в «типичном» сценарии и в расчетах при $k_6 \rightarrow 0$ соответственно (контрольное время $t_c = 1, 2, 6, 15$ дней). Можно видеть, что сценарий с блокировкой характеризуется значительно более ранним, чем в «типичном» сценарии, формированием ДВ. Причем, согласно расчетам, в этот процесс вовлечены все основные факторы воспалительного ответа, так что на границе зоны повреждения отмечается повышенный уровень неактивированных макрофагов фенотипа M0, которые затем активируются в макрофаги фенотипа M2 и через посредников влияют на продукцию IL-10. Уже на 2-е сутки инфаркта демаркационный «валик» выражен достаточно ярко, тогда как в «типичном» сценарии подобную картину можно наблюдать лишь на 13–15-й день инфаркта. Отметим также, что уровень этих факторов в зоне демаркационного воспаления и конфигурация самого «валика» на интервале времени от 6-го до 20-го дней изменяется незначительно, что сигнализирует о формировании квазистационарной структуры (на биологически значимом интервале времени). Интересно отметить, что стремительное формирование ДВ уже в первые сутки острого инфаркта миокарда характеризует также и «нетерапевтический» случай $k_5 = k_6 = 0$.

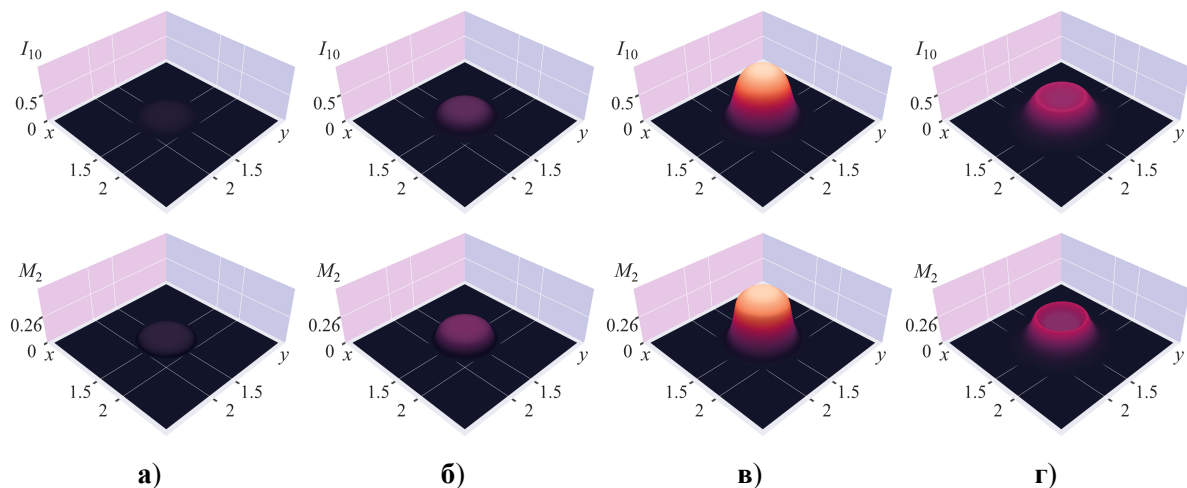


Рис. 13. Распределение плотности макрофагов фенотипа M2 и концентрации цитокинов IL-10 в «типичном» сценарии без терапии: **а)** $t_c = 1$, **б)** $t_c = 2$, **в)** $t_c = 6$, **г)** $t_c = 15$ дней.

На рисунке 15 изолинии плотностей M1- и M2-макрофагов иллюстрируют наиболее характерные изменения в их пространственно-временных распределениях в сценариях с полной или частичной блокировкой перепрограммирования макрофагов и в финале «типичного» сценария инфаркта (контрольное время $t_c = 15$ дней). Отметим сначала, что в «типичном» сценарии (рис. 15,а) наблюдается практически равномерное пространственное распределение макрофагов в ядерной зоне и ярко

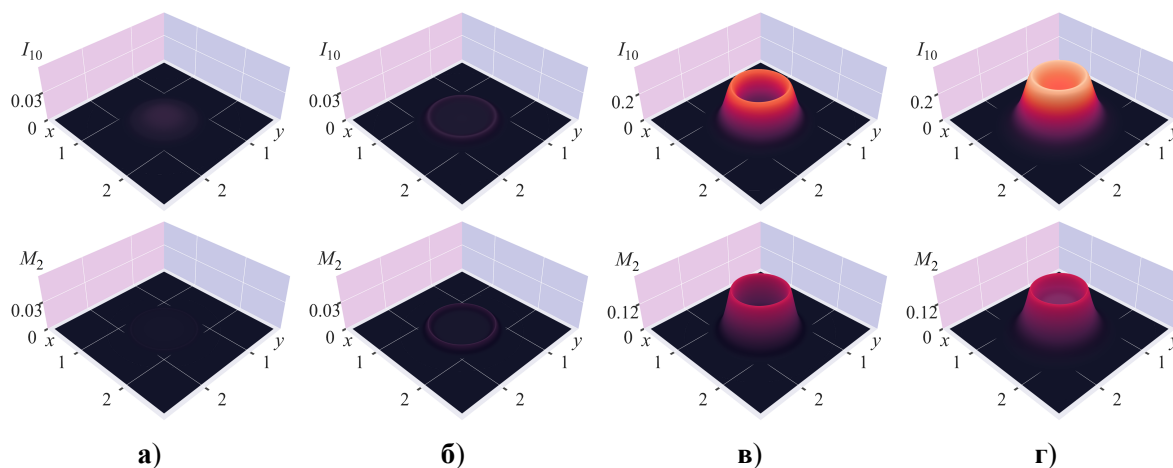


Рис. 14. Распределение плотности макрофагов фенотипа M2 и концентрации цитокинов IL-10 в сценарии с $k_6 \rightarrow 0$: **а)** $t_c = 1$, **б)** $t_c = 2$, **в)** $t_c = 6$, **г)** $t_c = 15$ дней.

выраженная неоднородность на границе между ядром инфаркта и неповрежденной областью миокарда. В этом относительно благоприятном сценарии ДВ характеризуется повышенным уровнем плотности макрофагов при ярко выраженном доминировании субпопуляции M2-макрофагов. Следует обратить внимание также и на то, что при любом варианте блокировки перепрограммирования макрофагов несколько увеличивается размер области миокарда, занятой демаркационным воспалением, что, очевидно, является следствием нарушения естественного динамического баланса про- и противовоспалительных факторов в зоне инфаркта.

При блокировке смены фенотипа M1 на M2 ($k_6 = 0$, рис. 15,б) в зоне локализации ДВ, т. е. на периферии инфарктной области, наблюдается близкое к равновесию соотношение плотностей макрофагов двух фенотипов при слабо выраженной тенденции к преобладанию M2-макрофагов. Предположительно, это предотвращает дальнейшее распространение обусловленного избыточным воспалением повреждения в здоровую часть ткани миокарда. В то же время, ядро инфаркта, в отличие от «типичного» сценария, остается зоной преимущественной локализации M1-макрофагов, что, по-видимому, способствует развитию вторичного повреждения миокарда из-за цитотоксичности провоспалительных факторов. Развивая тему изменений в качественном составе цитокинов и доминирующем фенотипе макрофагов в зоне ДВ, отметим, что в ходе численных экспериментов был получен еще более негативный сценарий с явным доминированием M1-макрофагов, которое возникает в условиях, связанных с блокировкой перепрограммирования M1-макрофагов в фенотип M2 при одновременном подавлении противовоспалительного и гиперактивации провоспалительного пулов цитокинов.

При блокировке смены макрофагами фенотипа M2 на M1 ($k_5 = 0$, рис. 15,в) демаркационное воспаление, как и в случае «типичной» поляризации, формируется на начальной стадии инфаркта, когда преимущественный вклад в поляризацию вносят неактивированные макрофаги, но со временем «валик» демаркационного воспаления заполняется почти исключительно макрофагами фенотипа M2. На рисунке 15 видно, что в финале острой фазы наиболее ярко выраженный перевес в сторону макрофагов противовоспалительного фенотипа M2 в ядерной зоне и особенно в зоне ДВ наблюдается в тех случаях, когда блокируется только смена фенотипа M2 на M1 ($k_5 = 0$), и несколько менее выражено – когда в эксперименте производится полная блокировка перепрограммирования, и, тем самым, решающую роль в поляризации играет процесс цитокин-зависимой активации макрофагов ($k_5 = k_6 = 0$, рис. 15,г). Напомним,

что сценарий, моделируемый с помощью $k_5 = k_6 = 0$, не рассматривается как гипотетическая терапевтическая стратегия, он лишь дает представление о вкладе механизмов перепрограммирования и цитокин-зависимой активации макрофагов в процесс поляризации макрофагов и в общее течение инфаркта.

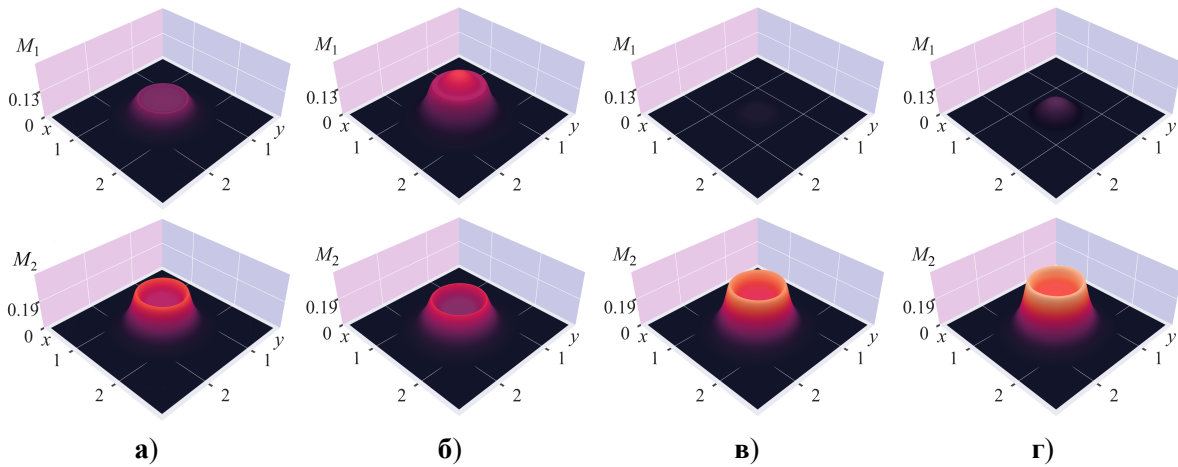


Рис. 15. Распределение плотности макрофагов фенотипов M1 и M2: **а)** «типичный» сценарий, **б)** $k_6 = 0$, **в)** $k_5 = 0$, **г)** $k_5 = k_6 = 0$; $t_c = 15$ дней.

Таким образом, результаты моделирования демонстрируют важную роль цитокин-зависимой активации и перепрограммирования макрофагов в локализации местного воспаления в области конечных размеров, но особенно – в формировании квазистационарной структуры демаркационного воспаления. Изменчивость пространственно-временных характеристик иммунной реакции, обусловленная сменой режима функционирования механизма поляризации, оказывает существенное влияние на процесс гибели клеток миокарда и тяжесть инфаркта.

Анализ пространственно-временных аспектов развития инфаркта при «терапевтических» воздействиях на макрофаги

Как и в случае локальной постановки задачи, в ходе анализа численных решений модели (1)–(10) установлено, что управление поляризацией макрофагов является полезной гипотетической стратегией регуляции иммунного ответа и постинфарктного восстановления сердечной мышцы. Ниже приведены некоторые данные о пространственно-временных аспектах развития инфаркта при реализации наиболее успешных стратегий управления поляризацией макрофагов – «M2», «M1+M2», «IL-1+IL-10» и «comb».

На рисунках 16 и 17 представлены распределения плотности макрофагов фенотипов M1 и M2 в «типичном» сценарии и при «M1+M2»- и «comb»-терапии; выбор контрольного времени позволяет проиллюстрировать динамику процесса поляризации в течение всей наиболее травматичной острой стадии воспаления. Можно видеть, что при «терапевтическом» управлении поляризацией макрофагов плотность макрофагов провоспалительного фенотипа M1 существенно ниже, чем в «типичном» сценарии в соответствующие моменты времени, причем с ростом времени она только снижается. В то же время, плотность макрофагов противовоспалительного фенотипа M2 заметно превышает «типичный» уровень в ядерной зоне. К 3-му дню инфаркта это различие становится почти двукратным, и в последующие дни острой фазы (по крайней мере до 6-го дня) ее уровень изменяется весьма незначительно. Все это способствует изменению цитокинового профиля, обеспечивая доминирование противовоспалительного пула медиаторов воспаления (IL-10) и, в конечном итоге,

снижение общего уровня повреждения сердечной мышцы. Наиболее выражен этот эффект в случае «comb»-стратегии.

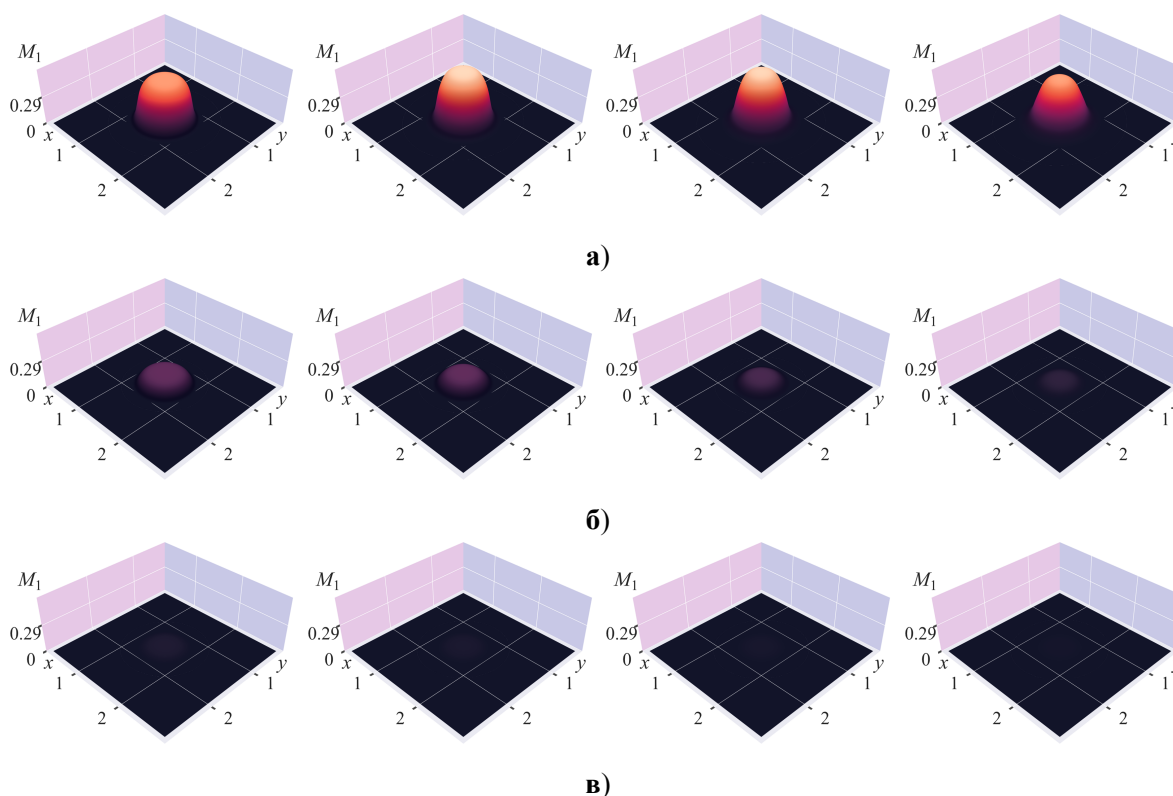


Рис. 16. Распределение плотности макрофагов провоспалительного фенотипа M1. Слева направо: контрольное время $t_c = 3, t_c = 4, t_c = 5, t_c = 6$ дней после начала инфаркта; а) «типичный» сценарий, б) «M1+M2»-терапия, в) «comb»-терапия; $t^0 = 0$.

В таблице 4 представлены значения интегральных характеристик повреждения миокарда J, S_Ω, S_c в «типичном сценарии» без терапии и при варьируемом времени t^0 начала наиболее удачных вариантах «терапевтических» воздействий – «IL-1+IL-10», «M1+M2» и «comb». Здесь же сопоставляются значения плотности кардиомиоцитов в центре зоны повреждения, полученные с привлечением локальной M_C^{loc} и пространственно распределенной M_C^{sd} постановок задачи. В таблице, как и ранее, проценты исчисляются по отношению к соответствующей оценке в «типичном» сценарии инфаркта, контрольное время $t_c = 15$ дней приблизительно соответствует финалу этого процесса. Следует отметить, что данные о локальных оценках уровня повреждения миокарда, полученные с привлечением двух постановок задач, оказались весьма близкими, и они поддерживают все тенденции в оценке эффективности гипотетических терапевтических стратегий, отмеченные ранее в рамках более экономичной локальной модели. В частности, наименее действенной из представленных здесь оказалась «IL-1+IL-10»-стратегия, но и при ее реализации удастся снизить уровень повреждения более чем на 4 %. Наиболее эффективной является комбинированная «comb»-стратегия, в рамках которой уровень повреждения снизился на 9 %, площадь ядерной зоны – на 4 %.

Наконец, в рамках сопоставлений двух постановок задач представляется важным с методической точки зрения проиллюстрировать роль диффузии в самой пространственно распределенной модели. С этой целью в таблице 4 представлены сценарии, помеченные верхним индексом D^- – это результаты решения соответствующей начально-краевой задачи (1)–(10) при $D_x^{(\kappa)} = D_y^{(\kappa)} = 0, \kappa = 1, 2, 3$. Сравнение с данными о характеристиках повреждения миокарда, полученных при ненулевых коэффициентах

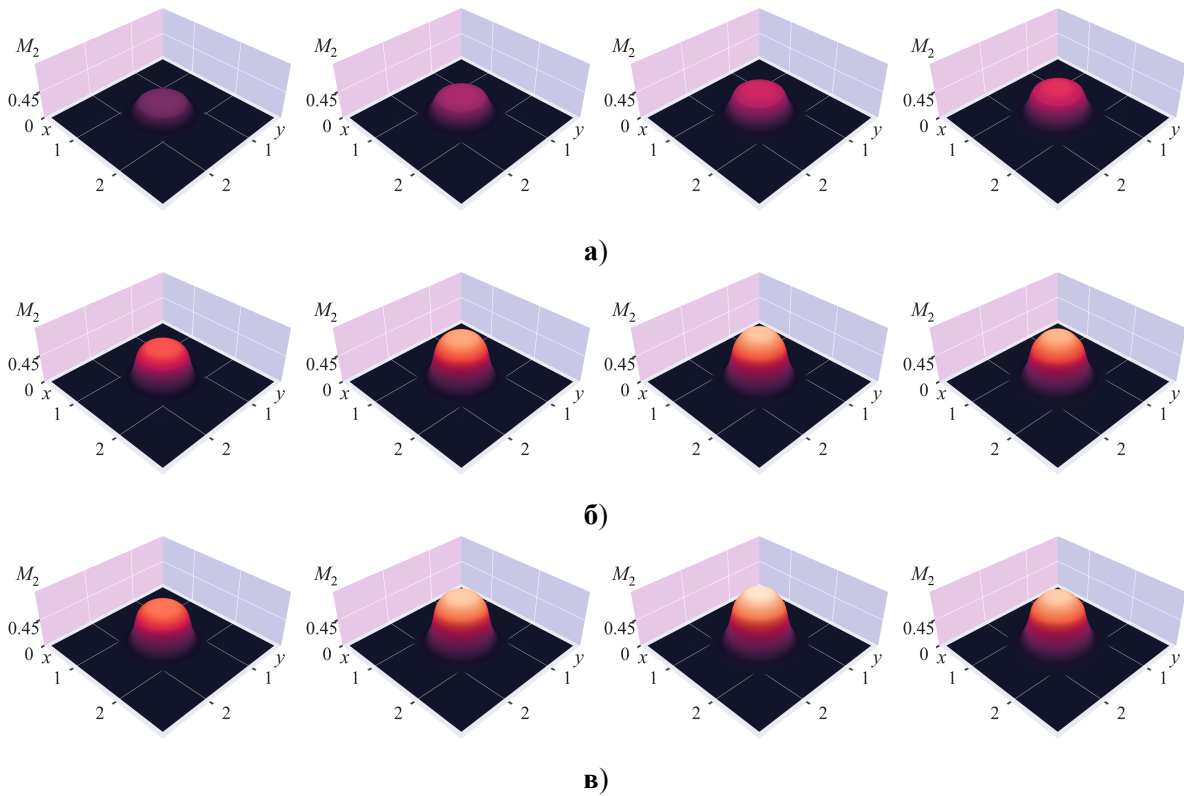


Рис. 17. Распределение плотности макрофагов противовоспалительного фенотипа M_2 . Слева направо: контрольное время $t_c = 3, t_c = 4, t_c = 5, t_c = 6$ дней после начала инфаркта; **а)** «типичный» сценарий, **б)** «M1+M2»-терапия, **в)** «comb»-терапия.

Таблица 4. Уровень повреждения миокарда J , общая площадь поврежденной области S_Ω , площадь ядра инфаркта S_c , плотность кардиомиоцитов в центре зоны повреждения M_C^{loc} и M_C^{sd} на 15-й день инфаркта в «типичном» сценарии без терапии и при «терапевтических» воздействиях. Время начала терапии t^0 исчисляется в *днях* после начала инфаркта.

| Сценарии | S_c | S_Ω | J | M_C^{loc} | $M_C^{sd}(x_0, y_0)$ |
|-------------------------|----------------|----------------|-----------------|-------------|----------------------|
| «тип» | 0.500 | 0.631 | 0.344 | 0.203 | 0.204 |
| «IL-1+IL-10», $t^0 = 0$ | 0.499 (-0.2 %) | 0.623 (-1.2 %) | 0.329 (-4.4 %) | 0.226 | 0.226 |
| «M1+M2», $t^0 = 0$ | 0.496 (-0.8 %) | 0.607 (-3.9 %) | 0.316 (-8.1 %) | 0.242 | 0.242 |
| «comb», $t^0 = 0$ | 0.496 (-0.8 %) | 0.605 (-4.1 %) | 0.313 (-9.0 %) | 0.250 | 0.249 |
| «comb», $t^0 = 1$ | 0.496 (-0.8 %) | 0.606 (-4.0 %) | 0.315 (-8.4 %) | 0.246 | 0.245 |
| «comb», $t^0 = 3$ | 0.497 (-0.6 %) | 0.610 (-3.3 %) | 0.324 (-5.8 %) | 0.227 | 0.226 |
| «comb», $t^0 = 5$ | 0.498 (-0.4 %) | 0.613 (-2.8 %) | 0.329 (-4.36 %) | 0.215 | 0.214 |
| «comb», $t^0 = 7$ | 0.498 (-0.4 %) | 0.616 (-2.3 %) | 0.332 (-3.49 %) | 0.209 | 0.208 |
| «comb», $t^0 = 0, D^-$ | 0.505 (+1.0 %) | 0.603 (-4.4 %) | 0.332 (-3.5 %) | - | 0.248 |
| «тип», D^- | 0.510 (+2.0 %) | 0.619 (-1.9 %) | 0.358 (+4.1 %) | - | 0.202 |

диффузии $D_x^{(k)}, D_y^{(k)}$, указывает на то, что в рамках принятой модели отказ от учета диффузии ведет к завышению локальной оценки уровня повреждения – не более чем на 1 %, погрешности в определении общей площади зоны повреждения и площади ее ядра – на 2 % независимо от сценария. Наибольшая погрешность возникает в оценке общего

уровни повреждения миокарда – до 6 %, что, по-видимому, обусловлено избыточной сосредоточенностью веществ в зоне инфаркта при отсутствии диффузии. Наконец, исключение из рассмотрения диффузии фактически позволяет оценить погрешность отказа от локальной постановки задачи в пользу плоской постановки с поправкой на погрешности метода решения пространственной задачи. Так, в таблице 4 можно видеть, что она составляет менее 1 % по величине $M_C(x_0, y_0)$ для «типичного» сценария.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Управление поляризацией макрофагов – один из важных современных мировых трендов в сфере разработки новых антидегенеративных стратегий при самом широком круге заболеваний, в том числе при инфаркте миокарда. В настоящей работе предпринята попытка применить для анализа процесса поляризации макрофагов инструментарий в виде достаточно лаконичной реакционно–диффузионной математической модели, основанного на методе дробных шагов численного алгоритма решения начально-краевой задачи и соответствующего программного комплекса.

Вычислительный эксперимент, базирующийся на известных экспериментальных данных о развитии инфаркта в левом желудочке сердца мыши, сфокусирован на двух взаимосвязанных направлениях – на общей проблеме изучения закономерностей функционирования механизма поляризации макрофагов и на анализе терапевтического потенциала гипотетических стратегий управления макрофагами. В связи со сложностью и запутанностью биологического процесса и нелинейностью его математической модели анализировалось поведение интегральных и локальных характеристик, в том числе претендующих на роль маркеров поляризации макрофагов, статистические выборки, а также графические данные о пространственно-временных распределениях полей плотностей клеток иммунной системы и миокарда и концентраций цитокинов. Дополнительно проводилось сопоставление результатов, полученных на основе локальной и двумерной нестационарной математических постановок задачи. Следует иметь в виду, что все количественные оценки справедливы в пределах, обусловленных рамками принятых биологических и математических идеализаций.

На основании формально-математического описания механизма поляризации макрофагов с учетом пространственно-временного развития биохимических процессов гибели клеток миокарда и иммунного ответа на повреждение установлен ряд общих закономерностей функционирования и способов управления этим механизмом, которые согласуются с известными биомедицинскими представлениями, лабораторными и клиническими данными. Во-первых, показано, что M1/M2 поляризация макрофагов представляет собой аддитивный эффект функционирования, как минимум, двух механизмов – цитокин-зависимого механизма активации и перепрограммирования активированных макрофагов. Первый из них является решающим для инициации и формирования воспалительного ответа, обеспечивающего очищение зоны повреждения от продуктов распада, а второй во-многом определяет дальнейший сценарий развития инфаркта, сдерживая избыточную воспалительную реакцию при инфаркте. Во-вторых, полученные в ходе моделирования данные продемонстрировали ключевую роль перепрограммирования макрофагов как непосредственной реакции на изменение микроокружения, которая способна обеспечить благоприятное течение и исход заболевания. В-третьих, процесс поляризации макрофагов играет важную роль в локализации местного воспаления в области конечных размеров, внутри которой формируется ядро инфаркта, а на периферии – валикообразная квазистационарная структура, скопление клеток иммунной системы и цитокинов, в виде демаркационного воспаления.

Результаты вычислительных экспериментов согласуются с данными большинства лабораторных и клинических исследований в том, что управление поляризацией макрофагов представляет интерес именно как терапевтическая стратегия. В настоящей работе в рамках принятой идеализации биологического процесса установлены основные тренды для более эффективного управления поляризацией макрофагов в терапевтических целях, а также даны приближенные оценки оптимальных воздействий на макрофаги, обеспечивающих орган-сберегающий и восстановительный эффекты.

В работе проанализированы возможные варианты управления поляризацией макрофагов с одной, двумя и четырьмя мишенями, и определен континуум наиболее успешных гипотетических терапевтических стратегий. Во-первых, удалось показать, что любая терапия, составной частью которой является управление перепрограммированием активированных макрофагов, является орган-сберегающей, при этом терапевтический эффект может обеспечиваться за счет благоприятного динамического соотношения пулов про- и противовоспалительных макрофагов во время острой фазы воспаления. Во-вторых, цитокин-зависимые терапевтические стратегии с единственной мишенью «IL-1» или «IL-10» могут быть достаточно эффективны в управлении поляризацией, но все же (в рамках принятой модели) они уступают стратегиям с перепрограммированием макрофагов. Наибольшую эффективность продемонстрировала комбинированная «*comb*»-стратегия, сочетающая в себе одновременно управление активацией макрофагов и их перепрограммированием. Однако теоретически с точки зрения более благоприятного течения воспаления и будущего восстановления в рамках рассмотренного континуума гипотетических «терапевтических» сценариев, вполне возможно, более предпочтительной может оказаться «M1+M2»-стратегия управления перепрограммированием.

Все рассмотренные в работе варианты управления поляризацией макрофагов, в том числе с помощью цитокинов, следует оценивать как успешные, в особенности с учетом представлений об оптимальном «терапевтическом окне». Показано, что эффект любой терапии максимален в первые сутки после инцидента, а при запаздывании лечения он резко снижается. Причем для наиболее эффективных и сложных стратегий, таких как «*comb*» или «M1+M2», «терапевтическое окно» – это первые 12 часов инфаркта, а далее с каждым часом терапевтический эффект стремительно падает; напротив, для наименее эффективных и простых стратегий с единственной мишенью, таких как «IL-1», «IL-10» или «M2», «терапевтическое окно» может достигать двух дней от начала инфаркта.

Таким образом, результаты моделирования демонстрируют вариативность возможных терапевтических воздействий на макрофаги, что создает основу для выработки наиболее эффективной стратегии управления поляризацией макрофагов в лабораторных условиях, в том числе и для адаптации оптимального выбора «терапевтического окна» к индивидуальным условиям течения инфаркта.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для Федерального исследовательского центра информационных и вычислительных технологий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов. *Медицинская иммунология*. 2001. Т. 3. № 3. С. 361–368.
2. Ярилин А. А. *Иммунология*. ГЭОТАР-Медиа, 2010. 749 с.
3. Ferrante C.J., Leibovich S.J. Regulation of Macrophage Polarization and Wound Healing. *Advances in wound care*. 2011. V. 1. № 1. P. 10–16. doi: [10.1089/wound.2011.0307](https://doi.org/10.1089/wound.2011.0307)
4. Hesketh M., Sahin K.B., West Z.E., Murray R.Z. Macrophage Phenotypes Regulate Scar

- Formation and Chronic Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. Article No. 1545. doi: [10.3390/ijms18071545](https://doi.org/10.3390/ijms18071545)
5. Титов Л.П. Моноциты, макрофаги и дендритные клетки: генез, классификация, иммунобиологические свойства. *Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук.* 2018. Т. 15. № 3. С. 363–382. doi: [10.29235/1814-6023-2018-15-3-363-382](https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-363-382)
 6. Федоров А.А., Ермак Н.А., Геращенко Т.С., Топольницкий Е.Б., Шефер Н.А., Родионов Е.О., Стахеева М.Н. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции. *Сибирский онкологический журнал.* 2022. Т. 21. №. 4. С. 124–136. doi: [10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136](https://doi.org/10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136)
 7. Малышев И.Ю., Круглов С.В., Бахтина Л.Ю., Малышева Е.В., Зубин М., Норкин М. Стресс-ответ и апоптоз/некроз в про- и противовоспалительном фенотипе макрофагов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2004. Т. 138. № 8. С. 162–165.
 8. Малышев И.Ю. Матричное репрограммирование иммунных клеток и роль его нарушения в патогенезе опухолей. *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.* 2012. Т. 23. № 2. С. 21–33.
 9. Малышев И.Ю. Феномены и сигнальные механизмы репрограммирования макрофагов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2015. Т. 59. № 2. С. 99–111.
 10. Sica A., Erreni M., Allavena P., Porta C. Macrophage polarization in pathology. *Cell Mol. Life Sci.* 2015. V. 72. № 21. P. 4111–4126. doi: [10.1007/s00018-015-1995-y](https://doi.org/10.1007/s00018-015-1995-y)
 11. Metchnikoff El. *Immunity in the infectious diseases.* Cambridge: Cambridge Univ.Press, 1905. 617 p.
 12. Orekhov A.N., Orekhova V.A., Nikiforov N.G., Myasoedova V.A., Grechko A.V., Romanenko E.B., Zhang D., Chistiakov D.A. Monocyte differentiation and macrophage polarization. *Vessel Plus.* 2019. V. 3. doi: [10.20517/2574-1209.2019.04](https://doi.org/10.20517/2574-1209.2019.04)
 13. Черных Е.Р., Шевела Е.Я., Останин А.А. Роль макрофагов в восстановлении повреждений центральной нервной системы: новые возможности в лечении неврологических расстройств. *Медицинская иммунология.* 2017. Т. 19. № 1. С. 7–18. doi: [10.15789/1563-0625-2017-1-7-18](https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-1-7-18)
 14. Hwang J., Zheng M., Wiraja C., Cui M., Yang L., Xu C. Reprogramming of macrophages with macrophage cell membrane-derived nanohosts. *Nanoscale Adv.* 2020. V. 2. P. 5254–5262.
 15. Малышева И.Е., Тихонович Э.Л., Олейник Е.К.1, Топчиева Л.В., Балан О.В. Поляризация макрофагов при саркоидозе. *Медицинская иммунология.* 2021. Т. 23. № 1. С. 7–16.
 16. Kumar S. , Mittal S., Gupta P., Singh M., Chaluvally-Raghavan P., Pradeep S. Metabolic reprogramming in tumor-associated macrophages in the ovarian tumor microenvironment. *Cancers.* 2022. Т. 14. №. 21. Article No. 5224.
 17. Liu Y., Xu R., Gu H., Zhang E., Qu J., Cao W., Huang X., Yan H., He J., Cai Z. Metabolic reprogramming in macrophage responses. *Biomarker Research.* 2021. Т. 9. № 1. С. 1–17.
 18. Cai H., Zhang Y., Wang J., Gu J. Defects in Macrophage Reprogramming in Cancer Therapy: The Negative Impact of PD-L1/PD-1. *Front. Immunol.* 2021. V. 12. Article No. 690869. doi: [10.3389/fimmu.2021.690869](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.690869)
 19. Bart V.M.T., Pickering R.J., Taylor P.R., Ipseiz N. Macrophage reprogramming for therapy. *Immunology.* 2021. V. 163. P. 128–144.
 20. Baron T., Hambraeus K., Sundström J., Erlinge D., Jernberg T., Lindahl B., TOTAL-AMI study group. Type 2 myocardial infarction in clinical practice. *Heart.* 2015. V. 101. P. 101–106.
 21. Troidl C., Möllmann H., Nef H., Masseli F., Voss S., Szardien S., Willmer M., Rolf A.,

- Rixe J., Troidl K., Kostin S., Hamm C., Elsässer A. Classically and alternatively activated macrophages contribute to tissue remodelling after myocardial infarction. *J. Cell. Mol. Med.* 2009. V. 13. № 9B. P. 3485–3496. doi: [10.1111/j.1582-4934.2009.00707.x](https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00707.x)
22. Frantz S., Nahrendorf M. Cardiac macrophages and their role in ischaemic heart disease. *Cardiovascular research.* 2014. T. 102. № 2. С. 240–248.
 23. Saxena A., Russo I., Frangogiannis N.G. Inflammation as a therapeutic target in myocardial infarction: learning from past failures to meet future challenges. *Translat. Res.* 2016. V. 167. № 1. P.152–166.
 24. Стафеев Ю.С., Меньшиков М.Ю., Ткачук В.А., Парфёнова Е.В. Роль макрофагов в репарации миокарда после повреждения и перспективы метаболического перепрограммирования иммунных клеток в целях регуляции постинфарктного восстановления миокарда. *Кардиология.* 2017. Т. 57. №. 12. С. 53–59.
 25. Chen M., Li X., Wang S., Yu L., Tang J., Zhou S. The Role of Cardiac Macrophage and Cytokines on Ventricular Arrhythmias. *Front. Physiol.* 2020. V. 11. Article No. 1113. doi: [10.3389/fphys.2020.01113](https://doi.org/10.3389/fphys.2020.01113)
 26. Lafuse W. P., Wozniak D. J., Rajaram M. V. S. Role of cardiac macrophages on cardiac inflammation, fibrosis and tissue repair. *Cells.* 2020. T. 10. № 1. С. 51.
 27. Kim Y., Nurakhayev S., Nurkesh A., Zharkinbekov Z., Saparov A. Macrophage polarization in cardiac tissue repair following myocardial infarction. *International journal of molecular sciences.* 2021. T. 22. № 5. С. 2715. doi: [10.3390/ijms22052715](https://doi.org/10.3390/ijms22052715)
 28. Wang Y., Hou M., Duan S., Zhao Z., Wu X., Chen Y., Yin L. Macrophage-targeting gene silencing orchestrates myocardial microenvironment remodeling toward the anti-inflammatory treatment of ischemia-reperfusion (IR) injury. *Bioactive Materials.* 2022. V. 17. P. 320–333.
 29. Fontaine M.A.C., Jin H., Gagliardi M., Rousch M., Wijnands E., Stoll M., Li X., Schurgers L., Reutelingsperger C., Schalkwijk C., et al. Blood Milieu in Acute Myocardial Infarction Reprograms Human Macrophages for Trauma Repair. *Adv. Sci.* 2023. V. 10. Article No. 2203053.
 30. Сахаров В.Н., Литвицкий П.Ф. Математическое моделирование процесса перепрограммирования макрофагов при воспалении и реализации иммунных реакций: преграды и перспективы. *Сеченовский вестник.* 2015. № 1. С. 27–30.
 31. Voropaeva O.F., Tsgoev C.A. A Numerical Model of Inflammation Dynamics in the Core of Myocardial Infarction. *Journal of Applied and Industrial Mathematics.* 2019. V. 13, № 2. P. 372–383.
 32. Tsgoev C.A., Voropaeva O.F., Shokin Y.I. Mathematical modelling of acute phase of myocardial infarction. *Russian Journal of Numerical Analysis and Mathematical Modelling.* 2020. T. 35. № 2. С. 111–126.
 33. Voropaeva O.F., Tsgoev C.A., Shokin Yu.I. Numerical simulation of the inflammatory phase of myocardial infarction. *Journal of Applied Mechanics and Technical Physics.* 2021. V. 62. № 3. P. 441–450.
 34. Воропаева О.Ф., Цгоев Ч.А. Численное моделирование инфаркта миокарда. I. Анализ пространственно-временных аспектов развития местной воспалительной реакции. *Математическая биология и биоинформатика.* 2023. Т. 18. № 1. С.49–71. doi: [10.17537/2023.18](https://doi.org/10.17537/2023.18)
 35. Jin Y.F., Han H.C., Berger J., Dai Q., Lindsey M.L. Combining experimental and mathematical modeling to reveal mechanisms of macrophage-dependent left ventricular remodeling. *BMC Systems Biology.* 2011. V. 5. Article No. 60. doi: [10.1186/1752-0509-5-60](https://doi.org/10.1186/1752-0509-5-60)
 36. Wang Y., Yang T., Ma Y., Halade G.V., Zhang J., Lindsey M.L., Jin Y.F. Mathematical modeling and stability analysis of macrophage activation in left ventricular remodeling

- post-myocardial infarction. *BMC Genomics*. 2012. V. 13. Article No. S21. doi: [10.1186/1471-2164-13-S6-S21](https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-S6-S21)
37. Saxena A., Bujak M., Frunza O., Dobaczewski M., Gonzalez-Quesada C., Lu B., Gerard C., Frangogiannis N.G. CXCR3-independent actions of the CXC chemokine CXCL10 in the infarcted myocardium and in isolated cardiac fibroblasts are mediated through proteoglycans. *Cardiovascular Research*. 2014. V. 103. P. 217–227. doi: [10.1093/cvr/cvu138](https://doi.org/10.1093/cvr/cvu138)
38. Bujak M., Dobaczewski M., Chatila K., Mendoza L.H., Li N., Reddy A., Frangogiannis N.G. Interleukin-1 Receptor Type I Signaling Critically Regulates Infarct Healing and Cardiac Remodeling. *Am. J. Pathol.* 2008. V. 173. P. 57–67. doi: [10.2353/ajpath.2008.070974](https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070974)
39. van ZuYLEN V.L., den Haan M.C., Roelofs H., Fibbe W.E., SchaliJ M.J., Atsma D.E. . Myocardial infarction models in NOD/Scid mice for cell therapy research: permanent ischemia vs ischemia–reperfusion. *SpringerPlus*. 2015. V. 4. Article No. 336. doi: [10.1186/s40064-015-1128-y](https://doi.org/10.1186/s40064-015-1128-y)
40. Jung M., Ma Y., Iyer R.P., DeLeon-Pennell K.Y., Yabluchanskiy A., Garrett M.R., Lindsey M.L. IL-10 improves cardiac remodeling after myocardial infarction by stimulating M2 macrophage polarization and fibroblast activation. *Basic research in cardiology*. 2017. T. 112. С. 1–14. doi: [10.1007/s00395-017-0622-5](https://doi.org/10.1007/s00395-017-0622-5)
41. Яненко Н.Н. *Метод дробных шагов решения многомерных задач математической физики*. Новосибирск: Наука, 1967. 195 с.

Рукопись поступила в редакцию 01.09.2023.

Переработанный вариант поступил 25.09.2023.

Дата опубликования 27.10.2023.

Numerical modelling of myocardial infarction.

II. Analysis of macrophage polarization mechanism as a therapeutic target

Voropaeva O.F.¹, Tsgoev Ch.A.^{1,2}

¹*Federal Research Center for Information and Computational Technologies, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia*

Abstract. In this study, we explore the mechanism of macrophage polarization and its significance in the development of large-scale infarction with favorable outcomes, using a minimal mathematical model of aseptic inflammation dynamics. The problem is considered in the local approximation and in the two-dimensional non-stationary formulation. The study aims to address the pertinent problem of analyzing general principles governing macrophage polarization in the context of devising therapeutic strategies and refining the «therapeutic window». Key trends are identified to enhance the effectiveness of macrophage polarization for therapeutic purposes, along with providing approximate estimations of optimal macrophage interventions that yield organ-preserving and regenerative effects.

Our findings reveal that M1/M2 macrophage polarization results from an additive interplay of at least two mechanisms – cytokine-dependent activation and reprogramming of activated macrophages. Furthermore, our modeling data demonstrate the pivotal role of macrophage reprogramming as a direct response to microenvironmental changes, facilitating favorable disease progression and its outcomes. Moreover, we establish that the process of macrophage polarization plays a crucial role in localizing focal inflammation, leading to the formation of the infarction core within finite dimensions and quasi-stationary structure at the periphery, comprising immune cell clusters.

The modeling results exhibit qualitative and quantitative agreement with the experimental data. Importantly, the computational experiments results align with the majority of laboratory and clinical studies, emphasizing the therapeutic potential of macrophage polarization management as a promising treatment strategy. The paper is a follow-up of the previously published work series, devoted to the study of spatial and temporal aspects of the inflammation and death processes development in heart muscle cells.

Key words: *mathematical model, reaction–diffusion equations, method of fractional steps, acute myocardial infarction, local injury, biochemistry, cardiomyocytes, cytokines, macrophages, demarcation inflammation, polarization, macrophages reprogramming, «therapeutic window».*