

## THE ROLE OF THE MONOCYTIC AND MACROPHAGAL SYSTEM IN THE DYNAMICS OF THE REPLACEMENT REGENERATION IN CASE OF THE ELASTIN BIOMATERIAL TRANSPLANTATION

Nigmatullin R. T., Gizatullina E. R., Motygullin B. R.

*The Russian Eye and Plastic Surgery Centre of the Russian Federation  
Health Ministry, Ufa, Russia*

The article contains the results of the morphological investigations when subcutaneously transplanting two types of the elastin biomaterial: structurized and dispersed one (patent № 2440148). The experiments have been carried out on Wistar rats (n=59). The transplanted biomaterials were subjected to the stage-by-stage resorption with further formation of the connective tissue regenerate. When doing it, the cells of the macrophagal and fibroblastic differentiation come out as a unified morphofunctional system in which giant multinuclear cells are an indispensable element. Depending on the biomaterial structure there are singled out two histotopographic types of the replacement regeneration: frontal type for the structurized biomaterial and diffuse-locunar one for the dispersed biomaterial.

*Key words:* elastin biomaterial, macrophages, polynuclear cells

---

---

## ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОПОЭТИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*

Осиков М. В., Альмухаметова О. Н., Воргова Л. В.

*ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет  
Минздрава России, Челябинск, Россия*

Цель работы – в условиях *in vitro* исследовать влияние эритропоэтина (ЭПО) на поглотительную и НСТ-редуцирующую способность нейтрофилов, выделенных из крови недоношенных новорожденных (НН). Исследование выполнено на 18 новорожденных: НН от преждевременных родов (ННПР) (n=6); НН от ранних преждевременных родов (ННРПР) (n=6); НН от очень ранних преждевременных родов (ННОРПР) (n=6). ЭПО использовали в концентрациях 30 МЕ/л; 15 МЕ/л; 7,5 МЕ/л; 3,75 МЕ/л. Оценивали поглотительную способность и кислород-зависимый метаболизм нейтрофилов, выделенных из пуповинной крови. У ННРПР и ННОРПР ЭПО в экспериментальных условиях *in vitro* увеличивает, а у ННПР – снижает поглотительную способность и НСТ-редуцирующую способность нейтрофилов крови. Эффект ЭПО на поглотительную способность нейтрофилов крови в экспериментальных условиях *in vitro* не зависит от гестационного возраста и проявляется в малых дозах (3,75 МЕ/л и 7,5 МЕ/л), а на НСТ-редуцирующую способность нейтрофилов крови – в больших дозах (15 МЕ/л и 30 МЕ/л).

*Ключевые слова:* недоношенные новорожденные, эритропоэтин, нейтрофилы

**Введение.** Количество недоношенных новорожденных (НН) ежегодно увеличивается, на их долю приходится 10-15% от всех родов. Заболеваемость сепсисом у новорожденных обратно коррелирует с гестационным возрастом, а НН обладают повышенной чувствительностью к микробным патогенам. До 35% НН умирают из-за последствий инфекций в связи

с функциональной незрелостью врожденного и адаптивного иммунитета, поэтому возникает необходимость в коррекции иммунного статуса фармакологическими агентами эндогенного происхождения с минимальным набором побочных эффектов. В этом отношении перспективным агентом выступает эритропоэтин (ЭПО), плейотропные эффекты которого были

ранее продемонстрированы нами в клинических и в экспериментальных условиях [1-3]. Результаты единичных клинических испытаний применения ЭПО у детей позволили установить не только его антианемическое действие, но и положительные эффекты при энцефалопатии и ретинопатии у НН, а также связь между концентрацией ЭПО в крови у НН и маркерами системного воспалительного ответа. [4, 5].

**Цель работы** – в экспериментальных условиях *in vitro* исследовать влияние эритропоэтина на поглотительную и НСТ-редуцирующую способность нейтрофилов, выделенных из крови недоношенных новорожденных.

**Используемые методы.** Исследование выполнено на 18 новорожденных в Клинике ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, раз-

деленных на 3 группы: группа 1 (n=6) – НН от преждевременных родов (НН от ПР) (ГВ от 31 недели до 33 недель и 6 дней включительно); группа 2 (n=6) – НН от ранних преждевременных родов (НН от РПР) (ГВ от 28 недель до 30 недель и 6 дней включительно); группа 3 (n=6) – НН от очень ранних преждевременных родов (НН от ОРПР) (ГВ менее 28 недель). К 100 мкл суспензии нейтрофилов ( $5 \times 10^6$ /л), выделенных из пуповинной крови на градиенте плотности стерильных растворов фиколла («Pharmacia», Швеция) и верографина («Srofa», Чехия), добавляли 100 мкл физиологического раствора (контроль) или ЭПО («Эпокрин», Россия), разведенного в физиологическом растворе в концентрациях 30 МЕ/л; 15 МЕ/л; 7,5 МЕ/л; 3,75 МЕ/л, что соответствует 200 %,

Таблица. Влияние ЭПО на показатели активности нейтрофилов у НН (Ме (Q25-Q75))

Показатели	Группы	Контроль + физ. р-р	+ ЭПО 3,75 МЕ/л	+ ЭПО 7,5 МЕ/л	+ ЭПО 15 МЕ/л	+ ЭПО 30 МЕ/л
АФ, %	НН от ПР	62,0 (57,0-66,0)	62,0 (54,0-67,0)	44,0 (43,0-53,0)*	53,0 (47,0-54,0)	52,0 (51,0-56,0)
	НН от РПР	46,00 (41,0-50,0)	48,00 (48,0-51,0)	56,00 (52,0-59,0)*	47,00 (44,0-48,0)	52,00 (51,0-54,0)
	НН от ОРПР	48,0 (48,0-55,0)	60,0 (59,0-64,0)*	58,0 (55,0-62,0)*	56,0 (54,0-57,0)	50,0 (46,0-52,0)
ИФ, у.е.	НН от ПР	2,23 (2,13-2,33)	1,96 (1,94-2,24)*	1,28 (1,23-1,96)*	1,71 (1,63-1,92)	2,10 (1,68-2,10)
	НН от РПР	1,52 (1,30-1,94)	1,76 (1,63-1,98)	2,16 (2,14-2,32)*	1,58 (1,23-1,74)	1,97 (1,81-2,14)
	НН от ОРПР	1,88 (1,72-1,88)	2,32 (1,94-2,34)*	2,15 (2,10-2,54)*	2,21 (2,07-2,22)	2,12 (1,81-2,16)
ФЧ, у.е.	НН от ПР	3,70 (3,59-4,20)	3,50 (3,20-3,60)	2,90 (2,90-3,60)*	3,50 (3,20-3,60)	3,70 (3,30-3,70)
	НН от РПР	3,80 (2,70-3,90)	3,90 (3,10-4,00)	4,20 (3,90-4,30)*	3,60 (3,60-3,60)	3,50 (3,40-3,80)
	НН от ОРПР	3,45 (3,24-3,80)	3,60 (3,20-3,90)	3,83 (3,60-3,90)	3,90 (3,60-4,00)	4,10 (3,60-4,10)
СНСТТ, акт-ть, %	НН от ПР	21,0 (21,0-21,0)	18,0 (17,00-20,0)	17,0 (11,0-18,0)	14,0 (13,0-17,0)*	10,0 (9,0-11,0)*
	НН от РПР	5,0 (4,0-5,0)	5,0 (3,00-6,0)	7,0 (4,0-7,0)	7,0 (6,0-10,0)	8,0 (7,0-9,0)*
	НН от ОРПР	12,0 (9,0-17,0)	11,0 (10,0-12,0)	17,0 (11,0-21,0)	6,0 (2,0-9,0)	27,0 (15,0-28,0)*
СНСТТ, инт-ть, у.е.	НН от ПР	0,24 (0,24-0,31)	0,22 (0,19-0,23)	0,20 (0,16-0,23)	0,16 (0,15-0,17)*	0,11 (0,11-0,13)*
	НН от РПР	0,05 (0,04-0,05)	0,05 (0,03-0,06)	0,07 (0,04-0,07)	0,09 (0,06-0,13)	0,09 (0,07-0,09)*
	НН от ОРПР	0,20 (0,11-0,20)	0,12 (0,12-0,13)	0,26 (0,13-0,27)	0,06 (0,03-0,11)	0,33 (0,15-0,39)*
ИНСТТ, акт-ть, %	НН от ПР	22,0 (20,0-25,0)	24,0 (21,0-25,0)	20,0 (15,0-29,0)	20,0 (19,0-21,0)	15,0 (15,0-23,0)
	НН от РПР	18,0 (17,0-21,0)	6,0 (6,0-12,0)	22,0 (14,0-25,0)	13,0 (1,0-24,0)	28,0 (22,0-30,0)
	НН от ОРПР	22,0 (19,0-31,0)	32,0 (19,0-32,0)	26,0 (25,0-26,0)	29,0 (17,0-29,0)	18,0 (17,0-30,0)
ИНСТТ, инт-ть, у.е.	НН от ПР	0,30 (0,24-0,34)	0,29 (0,26-0,32)	0,24 (0,18-0,38)	0,25 (0,23-0,32)	0,25 (0,20-0,33)
	НН от РПР	0,28 (0,26-0,30)	0,08 (0,06-0,16)	0,18 (0,17-0,24)	0,17 (0,01-0,36)	0,24 (0,10-0,41)
	НН от ОРПР	0,31 (0,31-0,47)	0,41 (0,22-0,44)	0,32 (0,30-0,34)	0,41 (0,25-0,42)	0,23 (0,21-0,43)

Примечание. р – значимые ( $p < 0,01$ ) различия с группой контроля по парному критерию Вилкоксона.

100 %, 50 %, 25 % от его нормальной концентрации в крови здоровых взрослых людей. После 30 мин инкубации в условиях термостата при 37°C оценивали поглотительную способность и кислород-зависимый метаболизм нейтрофилов. Поглотительную способность лейкоцитов исследовали с частицами монодисперсного полистирольного латекса, учитывали активность (АФ), интенсивность фагоцитоза (ИФ) и фагоцитарное число (ФЧ). Кислород-зависимый метаболизм нейтрофилов исследовали, учитывая интенсивность восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) в диформазан в спонтанном и индуцированном НСТ-тесте (СНСТТ и ИНСТТ). Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы Statistica v.10.0.

**Основные результаты.** Полученные результаты представлены в таблице. ЭПО в условиях *in vitro* изменяет функциональную активность нейтрофилов НН от РПР: в дозе 7,5 МЕ/л снижает активность фагоцитоза и фагоцитарное число, в дозах 3,75 МЕ/л и 7,5 МЕ/л снижает интенсивность фагоцитоза, в дозах 15 МЕ/л и 30 МЕ/л снижает активность и интенсивность спонтанного НСТ-теста. При анализе показателей активности нейтрофилов, выделенных из крови НН от РПР, выявлено увеличение активности, интенсивности фагоцитоза и фагоцитарного числа после контакта с ЭПО в дозе 7,5 МЕ/л, увеличение активности и интенсивности спонтанного НСТ-теста при добавлении ЭПО в дозе 30 МЕ/л. Влияние ЭПО на нейтрофилы НН от РПР проявляется в дозах 3,75 МЕ/л и 7,5 МЕ/л повышением активности и интенсивности фагоцитоза, в дозе 30 МЕ/л – повышением активности и интенсивности спонтанного НСТ-теста. ЭПО не оказывал статистического значимого на активность и интенсивность индуцированного НСТ-теста нейтрофилов.

Таким образом, эффект ЭПО на поглотительную и НСТ-редуцирующую способности нейтрофилов НН от РПР носит ингибирующий характер, а на нейтрофилы НН от РПР и НН от ОРПР – стимулирующий характер. Полагаем, что влияние ЭПО на нейтрофилы НН реализуется напрямую через специфические рецепторы на мембране клеток, зависит от исходной функциональной активности нейтрофилов и направлен на ее модуляцию, а сам ЭПО выступает в роли регулятора поглотительной и НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов.

### Выводы:

1. У недоношенных новорожденных от ранних преждевременных родов и очень ранних преждевременных родов ЭПО в экспериментальных условиях *in vitro* увеличивает, а у недоношенных новорожденных от преждевременных родов – снижает поглотительную способность и НСТ-редуцирующую способность нейтрофилов крови.

2. Эффект ЭПО на поглотительную способность нейтрофилов крови в экспериментальных условиях *in vitro* не зависит от гестационного возраста и проявляется в малых дозах (3,75 МЕ/л и 7,5 МЕ/л), а на НСТ-редуцирующую способность нейтрофилов крови – в больших дозах (15 МЕ/л и 30 МЕ/л).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Осиков М. В., Ахматов В. Ю., Телешева Л. Ф., Федосов А. А., Агеев Ю. И. и др. Плейотропные эффекты эритропоэтина при хронической почечной недостаточности. Фундаментальные исследования 2013, 7-1, 218-224. Osikov M. V., Akhmatov V., Telesheva L. F., Fedosov A. A., Ageev, Y. I. et al. Pleiotropic effects of erythropoietin in chronic renal failure. Fundamental research 2013, 7-1, 218-224.
2. Осиков М. В., Телешева Л. Ф., Кишкин А. М., Федосов А. А. Влияние эритропоэтина на показатели врожденного иммунитета в ранние сроки экспериментальной термической травмы. Фундаментальные исследования 2014, 7-1, 334-339. Osikov M. V., Telesheva L. F., Kishkin A. M., Fedosov A. A. Effect of erythropoietin on indicators of innate immunity in the early stages of experimental thermal injury. Fundamental research 2014, 7-1, 334-339.
3. Осиков М. В., Ахматов К. В., Кривохижина Л. В. Патофизиологический анализ влияния эритропоэтина на психологический статус у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе. Человек. Спорт. Медицина 2010, 19(195), 110-116. Osikov M. V., Akhmatov K. V., Krivokhizhina L. V. Pathophysiological analysis of the impact of erythropoietin on the psychological status in patients with chronic renal failure on hemodialysis. People. Sport. Medicine 2010, 19(195), 110-116.
4. Logan J. W., Allred E. N., Fichorova R. N., Engelke S., Dammann O. et al. Endogenous erythropoietin varies significantly with inflammation-related proteins in extremely premature newborns. Cytokine 2014, 69(1), 22-28.
5. Ohls R. K., Kamath-Rayne B. D., Christensen R. D., Wiedmeier S. E., Rosenberg A. et al. Cognitive outcomes of preterm infants randomized to darbepoetin, erythropoietin, or placebo. Pediatrics 2014, 133(6), 1023-1030.

## EFFECT OF ERYTHROPOIETIN ON FUNCTIONAL ACTIVITY OF BLOOD NEUTROPHILS OF PREMATURE INFANTS IN EXPERIMENT *IN VITRO*

Osikov M. V., Almukhametova O. N., Vorgova L. V.

South Ural State Medical University, Russian Ministry of Health,  
Chelyabinsk, Russia

Aim of the study – to investigate the effect of erythropoietin (EPO) on the absorption and NBT-reducing capacity of neutrophils isolated from the blood of preterm neonates (PN) *in vitro*. The study was performed on 18 infants: PN from premature birth (PB) (n=6); PN from early preterm birth (EPB) (n=6); PN from a very early preterm birth (VEPB) (n=6). The EPO used in concentrations of 30 IU/l; 15 IU/l; 7,5 IU/l; 3,75 IU/L. Evaluated the absorption capacity and oxygen-dependent metabolism of neutrophils isolated from umbilical cord blood. Have PN from EPB and VEPB, EPO in *in vitro* experimental conditions increases, and PN from PB – reduces the absorption capacity and NBT-reducing capacity of blood neutrophils. EPO effect on the absorption capacity of blood neutrophils in *in vitro* experimental conditions does not depend on gestational age and manifests itself in small doses (3,75 IU/l and 7.5 IU/l), and NBT-reducing capacity of blood neutrophils in large doses (15 IU/l and 30 IU/l).

*Key words:* preterm infants, erythropoietin, neutrophils

---

## ВЛИЯНИЕ ЛОКАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЭРИТРОПОЭТИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ГИБЕЛИ ЛИМФОЦИТОВ В КРОВИ В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Осиков М. В., Симонян Е. В., Сاعدгалина О. Т.,  
Бивалькевич В. А.

ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия

Цель работы – Исследовать влияние локального применения эритропоэтина (ЭПО) в составе трансдермальной пленки (ТДП) на показатели гибели лимфоцитов в крови в динамике экспериментальной термической травмы (ТТ). Эксперимент выполнен на 90 белых нелинейных крысах, которые были случайно разделены на 3 группы: 1 – интактные, 2 – животные с ТТ и асептической повязкой (n=40), 3 – животные с ТТ на фоне применения ТДП с ЭПО (n=40). Моделирование ТТ IIIA степени и площадью 3,5% осуществляли путем погружения межлопаточной области кожи животного в очищенную воду с температурой 98-99°C на 12 с. В предварительных исследованиях была разработана ТДП на основе натрия карбоксиметилцеллюлозы с ЭПО в дозе 500 МЕ/г. Перевязку осуществляли ежедневно. Исследования проводили на 3, 5, 8 и 14 сутки. Показатели гибели лимфоцитов оценивали при окрашивании клеток конъюгированным с флюорохромом аннексином и 7-аминоактиномицином D на проточном цитофлуориметре «Navios». Установлено, что при ТТ на 3, 5 и 8 сутки увеличивается количество лимфоцитов с фенотипом Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/7-AAD<sup>-</sup> и Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/7-AAD<sup>+</sup>, на 5 и 8 сутки снижается количество лимфоцитов с фенотипом Annexin-5-FITC<sup>-</sup>/7-AAD<sup>-</sup>. В условиях применения ТДП с ЭПО при ТТ на 5 и 14 сутки снижается количество лимфоцитов с фенотипом Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/7-AAD<sup>-</sup>, на 8 и 14 сутки снижается количество Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/7-AAD<sup>+</sup> лимфоцитов, на 5 и 14 сутки увеличивается количество лимфоцитов Annexin-5-FITC<sup>-</sup>/7-AAD<sup>-</sup>. Таким образом, применение при ТТ ТДП с ЭПО приводит к снижению в крови количества лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза.

*Ключевые слова:* термическая травма, эритропоэтин, лимфоциты, трансдермальная пленка