

СРАВНЕНИЕ АКТИВАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ГЕМОСОРБЕНТОВ ПО СКОРОСТИ АДГЕЗИИ КЛЕТОК КРОВИ IN VITRO

Кузнецов С. И.¹, Киричук О. П.², Буркова Н. В.¹, Юрьев Г. О.³,
Даванков В. А.⁴, Постнов В. Н.^{1,3}, Романчук Е. В.⁵,
Свиридов Э. Е.¹, Киселева А. Д.¹

Контактная информация:

Буркова Наталья Владимировна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Долгоозерная, д. 43, Санкт-Петербург,
Россия, 197375.
E-mail: n.burk@list.ru

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Университет Гренобль-Альпы, Гренобль, Франция

³ Институт химии, Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования «Санкт-
Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург,
Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт элементоорганических соединений имени
А. Н. Несмеянова» Российской академии наук, Санкт-Петербург,
Россия

⁵ Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский
политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург,
Россия

*Статья поступила в редакцию 27 июля
2021 и принята к печати 22 ноября 2021.*

Резюме

Актуальность работы заключается в поиске новых гемоконтактных препаратов, обладающих гемосовместимостью и выраженным активационным воздействием на клеточные и гуморальные системы крови для возможного их использования в клинической практике при проведении малообъемной гемоперфузии. **Целью** работы являлась оценка активационных возможностей трех гранулированных гемосорбентов по скорости адгезии клеточных элементов крови к поверхности гранул in vitro. **Материалы и методы.** При использовании в клинике метода малообъемной гемоперфузии (МОГ) важно учитывать активационные свойства твердофазных гранулированных препаратов. Гемоконтактное взаимодействие проводили в стендовых условиях с использованием донорской крови в ротационном режиме. Пробы крови брали до начала эксперимента и через 5, 20, 40 и 60 мин. Оценивали изменения в клеточных и субклеточных популяциях крови с помощью гематологического анализатора SySmex XT 1800i (26 параметров), что давало возможность косвенно судить об активации клеток крови. Проведено 30 экспериментов. Для анализа активационных функций гемоконтактных препаратов использовали скоростно-временной адгезивный профиль клеток крови на сорбенте. **Результаты.** Эффект использования препаратов Силохром С-120 и СПС по сравнению с СКТ-6А ВЧ в качестве контактных гемоактиваторов может быть более выраженным, поскольку активационный потенциал этих сорбентов для клеток крови намного выше. Силохром S-120 имеет самые высокие возможности активации по сравнению с SPS и SCT-6A HP. **Заключение.** Показатели скорости адгезии могут быть индикаторами активации клеток крови при контакте с чуже-

родными поверхностями и служить критерием оценки активационных возможностей этих поверхностей при использовании метода МОГ в клинике.

Ключевые слова: адгезия, клеточные популяции крови, контактная активация клеток крови, лейкоциты, малообъемная гемоперфузия, тромбоциты.

Для цитирования: Кузнецов С.И., Киричук О.П., Буркова Н.В. и др. Сравнение активационных возможностей гемосорбентов по скорости адгезии клеток крови *in vitro*. Трансляционная медицина. 2021;8(5):57-66. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-5-57-66



COMPARISON OF THE ACTIVATION CAPABILITIES OF HEMOSORBENTS BY ADHESION RATE OF BLOOD CELLS IN VITRO

Kuznetsov S. I.¹, Kirichuk O. P.², Burkova N. V.¹, Yuriev G. O.³, Davankov V. A.^{1,3}, Postnov V. N.^{1,3}, Romanchuk E. V.⁵, Sviridov E. E.¹, Kiseleva A. D.¹

Corresponding author:

Burkova Natalya V.,
Almazov National Medical Research Centre,
Dolgoozernaya str. 2, Saint Petersburg,
Russia, 197375.
E-mail: n.burk@list.ru

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² University of Grenoble Alpes, Grenoble, France

³ Institute of Chemistry of Saint Petersburg University, Saint Petersburg, Russia

⁴ A.N.Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

⁵ Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University, Saint-Petersburg, Russia

Received 27 July 2021; accepted
22 November 2021.



Abstract

Background: The relevance of the work lies in the search for new hemocontact drugs with hemocompatibility and a pronounced activation effect on the cellular and humoral blood systems for their possible use in clinical practice during low-volume hemoperfusion. **The aim** of this work was to assess the activation capabilities of three granular hemosorbents by the rate of adhesion of blood cellular elements to the surface of granules *in vitro*. **Materials and methods.** When using the method of low-volume hemoperfusion (LVH) in the clinic it is important to take into account the activation properties of solid-phase granular drugs. Blood-contact interaction was carried out in bench conditions with the use of donated blood in rotary mode. Blood samples were taken before the experiment and after 5, 20, 40 and 60 minutes. Changes in blood cell and subcellular populations were evaluated using the Sysmex XT 1800i hematological analyzer (26 parameters), which made it possible to indirectly judge the activation of blood cells. 30 experiments were conducted. To analyze the activation functions of the hemocontact preparations the speed-time adhesive profile of blood cells on the sorbent was used. **Results.** The effect of using the preparations Silochrome S-120 and SPS in comparison with SCT-6A HP as contact hemoactivators can be more pronounced, since the activation potential of these sorbents for blood cells is much higher. Silochrome S-120 has the highest activation capabilities compared to SPS and SKT-6A HP. **Conclusion.** Adhesion rate indicators can be indicators of the activation of blood cells upon contact with foreign surfaces and serve as a criterion for assessing the activation capabilities of these surfaces when using the LVH method in the clinic.

Key words: adhesion, blood cell populations, contact activation of blood, hemosorbent, leukocyte, low-volume hemoperfusion, platelets.

For citation: Kuznetsov SI, Kirichuk OP, Burkova NV, et al. Comparison of the activation capabilities of hemosorbents by adhesion rate of blood cells in vitro. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2021;8(5):57-66. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-5-57-66

Список сокращений

МОГ — малообъемная гемоперфузия; СВАП — скоростно-временной адгезивный профиль; СКТ-6А ВЧ — медицинский углеродный адсорбент высокой чистоты; СПС — сверхсшитый полистирол марки «Стиросорб 516»;

Силохром С-120 — сорбент на основе кремнезема; ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота.

Введение

В настоящее время продолжается поиск новых гемоконтактных препаратов, обладающих не только гемосовместимостью, но и выраженным активационным воздействием на клеточные и гуморальные системы крови для возможного их использования в клинической практике при проведении МОГ [1]. Особое внимание уделяется изучению процессов клеточной адгезии.

Адгезия лейкоцитов — один из показателей активации клеток. Ведущие адгезивные структуры для лейкоцитов представлены в преобладающем количестве молекулами суперсемейства интегринов — FLA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18), p150,95 (CD11c/CD18), а также рядом β -интегринов, обеспечивающих адгезию к белковым структурам матрикса: к витронектину (α v β 3-интегрин, CD51/CD61), к коллагену (α 2 β 1-интегрин, CD49b/CD29), к ламинину (α 6 β 1-интегрин, CD49f/CD29) и др. [2]. Этапом миграции нейтрофилов в очаг воспаления является их прикрепление к эндотелию сосудов с помощью молекул адгезии L-селектина, экспрессирующегося на самих нейтрофилах, и эндотелиальных P- и E-селектинов. Кроме того, в процессе миграции доказана роль основных рецепторов адгезии нейтрофилов: ICAM-1, α Mb2-интегрина, Mac-1 и LFA-1 (CD11), а также лигандов к P-селектину — PSGL-1 и E-селектину — ESL-1 [3]. Интегрины контролируют взаимодействие клеток с их микроокружением, регулируя адгезию клетка-клетка и клетка-матрикс. К классу интегринов относятся молекулы LFA-1, лигандами для которых являются ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3 [4].

Рецепторы тромбоцитов многообразны не только по лигандам, но и по химическому составу

и включают: многочисленные интегрины (α IIb β 3, α 2b1, α 5 β 1, α 6 β 1, α V β 3); рецепторы, богатые лейцином (LRR); гликопротеины (GP1b-V-IX, Toll-подобные рецепторы); рецепторы, ассоциированные с белком G (рецепторы PAR-1 и PAR-4 к тромбину, рецепторы P2Y1 и P2Y12 к АДФ, рецепторы TP α и ск TXA2; рецепторы из семейства иммуноглобулинов (GPVI, Fc γ RIIA)); C-тип лектиновый рецептор (P-селектин); тирозинкиназные рецепторы; смешанные типы рецепторов (CD63, CD36, лиганд 1P-селектина, рецепторы фактора некроза опухоли — ФНО- α и пр.). В ходе активации тромбоцита происходит выбрасывание содержимого их гранул, после чего процесс активации становится необратимым [5, 6]. Тромбоциты способны непрерывно синтезировать белки, секретирующиеся из α -гранул, — фибриноген, тромбоспондин, фактор Виллебранда, важные компоненты системы гемостаза — тканевый фактор и ингибитор активатора плазминогена типа 1, интерлейкин IL-1 β , циклооксигеназа 1. Причем структура синтеза белка изменяется в ответ на клеточную активацию [7]. Активированные тромбоциты в кровотоке связываются с лейкоцитами, образуя циркулирующие тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты за счет быстрого обратимого взаимодействия P-селектина (CD62P) на поверхности тромбоцита с лигандом 1 гликопротеина P-селектина (PSGL-1) на плазмолемме лейкоцитов. Это начальное связывание усиливается взаимодействием различных других рецепторов, в зависимости от подтипа лейкоцитов, что приводит к взаимной активации [8].

Молекулы клеточной адгезии выполняют две основные функции: обеспечивают прилипание клеток к различным субстратам (процессы адгезии) и выполняют сигнальную функцию, т.е. передают сигнал внутрь клетки (процессы активации). Процесс взаимодействия прилипающих клеток крови с твердофазным препаратом можно представить следующим образом: в начале контакта идет интенсивная адгезия клеток крови к субстрату, затем скорость адгезии падает и наступает динамическое равновесие, после которого в гемоконтактной системе начинает преобладать процесс

перехода клеточных элементов обратно в жидкую фазу крови [9].

В данном исследовании использовали показатели адгезии клеток крови как критерий активационных возможностей поверхностей твердофазных препаратов различной физико-химической структуры, контактирующих с кровью.

Цель исследования состояла в оценке активационных возможностей трех гранулированных гемосорбентов по скорости адгезии клеточных элементов крови к поверхности гранул *in vitro*.

Материалы и методы

Эксперименты по изучению активационных свойств чужеродных поверхностей проводили в стендовых условиях. Донорскую кровь получали на станции переливания крови ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, которую забирали у здоровых волонтеров из локтевой вены в вакуумную пробирку с гепарином лития в объеме 9,0 мл.

В качестве гемоконтактных препаратов использовали:

1. СКТ-6А ВЧ — медицинский углеродный гемосорбент высокой чистоты, разрешенный к применению в клинической практике в качестве гемосорбента и в качестве гемоактиватора в процедуре малообъемной гемоперфузии [1].

2. СПС — гранулы темно-коричневого цвета размером 0,3–1,2 мм. Удельная поверхность 800–1000 м²/г, суммарный объем пор — 1,0–1,1 мл/г. Поры двух типов: транспортные — диаметром 80 нм и нанопоры — диаметром 1–3 нм. Полимер нейтрален, не содержит функциональных групп, обладает гидрофобной поверхностью, не меняет объема в средах в интервале pH 1–14 независимо от ионной силы раствора.

3. Силохром С-120 — гранулы белого цвета неправильной формы размером 0,3–0,5 мм. Удельная поверхность гранул — 130 м²/г, размер пор — 28 нм.

В колонки, изготовленные из одноразовых шприцев объемом 20 мл, помещали фильтр из нетканого материала и капроновую сетку, которые плотно фиксировали у торцевой поверхности шприца прижимным кольцом, и загружали гемоконтактные препараты, хранившиеся в 20%-ном растворе этанола, в объеме 1,8–2,0 мл. Перед началом работы из шприц-колонок удаляли раствор этанола, гемоконтактный препарат три раза промывали стерильным физиологическим раствором (1:10), а затем еще три раза физиологическим раствором с гепарином (20 ед/мл). Затем в шприц-колону забирали гепаринизированную донорскую кровь из вакуумной пробирки из расчета сорбент: кровь

(1:4), предварительно отобрав пробу крови «до контакта». Загруженные кровью шприц-колонки помещали в горизонтальном положении на роторную мешалку и включали вращение со скоростью 10 об/мин. Эксперименты проводили в течение 60 мин при комнатной температуре в постоянном ротационном режиме. Брали пробы крови каждые 5, 20, 40 и 60 мин от начала эксперимента в объеме 1,8–2,0 мл в пробирки с ЭДТА. До подсчета клеток пробы крови хранили в холодильнике. После завершения эксперимента во всех пробах регистрировали показатели крови (26 параметров) с использованием гематологического анализатора SySmex XT 1800i. Было выполнено 30 экспериментов (по 10 с каждым из гемоконтактных препаратов).

Во всех пробах исследовали прилипающие клетки крови — тромбоциты, лейкоциты и их субпопуляции (гранулоциты и агранулоциты), регистрировали количество фиксированных к субстрату (сорбенту) клеток по их числу, оставшихся в жидкой фазе крови. Скорость адгезии клеток за каждый временной интервал рассчитывали по формуле:

$$V = (A - B) / t,$$

где: V — скорость адгезии клеток; A — количество клеток в единице объема крови в предыдущей пробе; B — количество клеток в единице объема крови в последующей пробе; t — время между соответствующими точками проведения анализа.

Для исследования развития активационных процессов клеток в зависимости от скорости адгезии их к субстрату в разные временные интервалы контакта использовали скоростно-временной адгезивный профиль (СВАП) клеток крови на сорбенте. Исследования проводили в пробах крови «до», «5 мин», «20 мин», «40 мин» и «60 мин», но при анализе гемограмм для построения временного профиля были определены реперные точки:

1 — проба «5 мин» от начала контакта крови с сорбентом (по методике проведения МОГ в клинике время контакта крови с сорбентом СКТ-6А ВЧ составляло 3–5 мин) [1];

2 — временная точка, включающая период от начала контактного взаимодействия и до точки, в которой еще преобладает адгезия клеток к субстрату над их отлипанием и уходом в жидкую фазу крови;

3 — временная точка, завершающая период преобладания отлипания клеток крови от сорбента. Этот период длится от второй реперной точки, когда начинают превалировать процессы ухода клеток с сорбента в жидкую фазу крови, и до конца эксперимента — «60 мин».

Для получения скоростного профиля реакции прилипающих клеток крови на контактное взаи-

модействие с сорбентами рассчитывали скорости адгезии клеток в периоды между реперными точками. Для каждого гемоконтактного препарата рассчитывали и представляли графически СВАП. Скорость взаимодействия клеток с гранулами сорбента выражали в изменении количества клеток в единице объема в минуту (кл/мкл/мин). Данные величины позволяют определить, какие процессы преобладают в гемоконтактной системе в исследуемый период времени и каково количество клеток, прилипающих к субстрату или возвращающихся в жидкую фазу крови.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием прикладных пакетов Statistica 7.0 for Windows и Excel 2013. Достоверность изменения показателей внутри групп оценивали с помощью t-критерия Стьюдента для попарно связанных выборок и критерия Вилкоксона для парных сравнений, достоверность различий показателей между группами — с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок и U-критерия Манн-Уитни. Для анализа непараметрических показателей применяли метод Фишера, тест χ^2 Пирсона. Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Проведен анализ СВАП различных твердофазных гемоконтактных препаратов для определения способности активировать клеточные элементы крови, что важно учитывать при проведении процедуры МОГ. СВАП для тромбоцитов крови человека при ее контакте с твердофазными препаратами СКТ-6А ВЧ, СПС марки «Стиросорб-516» и Силохром С-120 представлен на рисунке 1. Максимальную скорость адгезии для тромбоцитов наблюдали в период «5 мин» от начала контакта со всеми исследуемыми препаратами. Процесс адгезии клеток на препарате Силохром С-120 происходил в период «0–5 мин», затем процесс отлипания клеток от сорбента становился ведущим и длился до окончания эксперимента «60 мин». При контакте крови с СКТ-6А ВЧ и СПС процесс адгезии тромбоцитов продолжался до пробы «20 мин». Временные профили гемоконтактного взаимодействия препаратов СКТ-6А ВЧ и СПС сопоставимы. По сравнению с препаратом СКТ-6А ВЧ ($21,22 \pm 1,47$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин скорость адгезии тромбоцитов в пробах «5 мин» контакта наиболее высокая для Силохрома С-120 ($30,6 \pm 1,62$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин и для СПС ($27,52 \pm 1,83$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$). Вторая реперная точка для СКТ-6А ВЧ и СПС совпадала и составляла «20 мин» контакта. Реперная точка «20 мин» для препарата Силохром

С-120 отсутствовала. Скорость адгезии тромбоцитов в период «20 мин» для сорбентов СКТ-6А ВЧ и СПС снижалась и составляла ($6,17 \pm 0,368$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин и ($7,98 \pm 0,536$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин соответственно ($p < 0,05$). Начиная с пробы «5 мин» при контакте крови с препаратом Силохром С-120 и с пробы «20 мин» на препаратах СКТ-6А ВЧ и СПС до окончания эксперимента «60 мин» преобладали процессы отлипания тромбоцитов и переход их в жидкую фазу крови. В результате показатели скорости адгезии имели отрицательные значения: для СКТ-6А ВЧ — ($-1,02 \pm 0,122$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин; для СПС — ($-0,37 \pm 0,060$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин; для Силохром С-120 — ($-2,02 \pm 0,093$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин.

Диаграмма скорости взаимодействия лейкоцитов с сорбентами СКТ-6А ВЧ, СПС марки «Стиросорб-516» и Силохром С-120 представлена на рисунке 2. Можно наблюдать совпадение временных характеристик адгезивных профилей для общей популяции лейкоцитов — «5 мин», «20 мин» и «60 мин». В период «0–5 мин» скорость адгезии лейкоцитов при контакте крови с СКТ-6А ВЧ ($310,6 \pm 43,2$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин ниже, чем с СПС ($449,0 \pm 37,9$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$) и с препаратом Силохром С-120 ($501,0 \pm 44,41$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$). При сравнении скорости адгезии лейкоцитов в период «20 мин» контакта отмечали различия между препаратами СКТ-6А ВЧ и СПС: СКТ-6А ВЧ — ($126,8 \pm 13,3$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин; СПС — ($179,4 \pm 11,9$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$). При сравнении скорости адгезии лейкоцитов на препаратах СКТ-6А ВЧ и Силохром С-120 в период «20 мин» скорости адгезии лейкоцитов на обоих сорбентах практически не отличались: Силохром С-120 — ($134,0 \pm 10,50$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин. Можно отметить, что скорость адгезии лейкоцитов на СПС выше по сравнению с данными показателями на препарате Силохром С-120 ($p < 0,05$). При анализе скорости отлипания клеток в период «20–60 мин» отмечена тенденция к снижению показателей скорости адгезии на исследуемых гемосорбентах в следующем порядке: СПС ($-25,6 \pm 4,01$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин > СКТ-6А ВЧ ($-22,4 \pm 6,17$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин > Силохром С-120 ($-13,4 \pm 3,92$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин. Диаграмма, характеризующая скорости прилипания и отлипания гранулоцитов при контакте с исследуемыми препаратами, представлена на рисунке 3.

Показатели скорости адгезии гранулоцитов на сравниваемых сорбентах несколько ниже и не различались между собой в период «0–5 мин»: СКН-6А ВЧ — ($255,3 \pm 38,87$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин; СПС — ($303,4 \pm 32,50$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин; Силохром С-120 — ($366,4 \pm 35,09$) $\times 10^3$ кл/мкл/мин ($p > 0,05$). Для исследуемого временного периода «0–20 мин»

характерны следующие показатели: СКТ-6А ВЧ — $(81,6 \pm 10,29) \times 10^3$ кл/мкл/мин; СПС — $(130,5 \pm 9,50) \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$); Силохром С-120 — $(111,2 \pm 8,34) \times 10^3$ кл/мкл/мин. Отмечены различия в показателях между СКТ-6А ВЧ и Силохром С-120. В период «20–60 мин»: СКТ-6А ВЧ — $(-15,9 \pm 3,27) \times 10^3$ кл/мкл/мин; СПС — $(-28,2 \pm 3,84) \times 10^3$ кл/мкл/мин; Силохром С-120 — $(-9,9 \pm 3,36) \times 10^3$ кл/мкл/мин.

Диаграмма, характеризующая скорости прилипания и отлипания агранулоцитов при контакте с исследуемыми препаратами, представлена на рисунке 4. Показатели скорости адгезии агранулоцитов в пробах «5 мин» регистрировали при контакте с препаратом СКТ-6А ВЧ: $(130,0 \pm 16,68) \times 10^3$ кл/мкл/мин; с СПС: $(141,4 \pm 14,08) \times 10^3$ кл/мкл/мин; с Силохром С-120: $(98,6 \pm 11,05) \times 10^3$ кл/мкл/мин. В период «0–20 мин» показатели

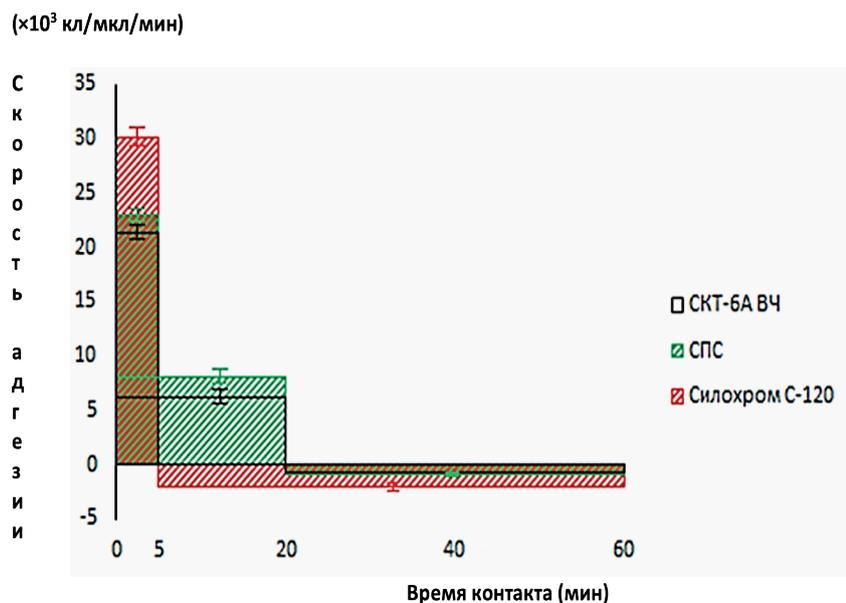


Рис. 1. Скоростно-временной адгезивный профиль для тромбоцитов при контакте крови с сорбентами СКТ-6А ВЧ, СПС и Силохром С-120

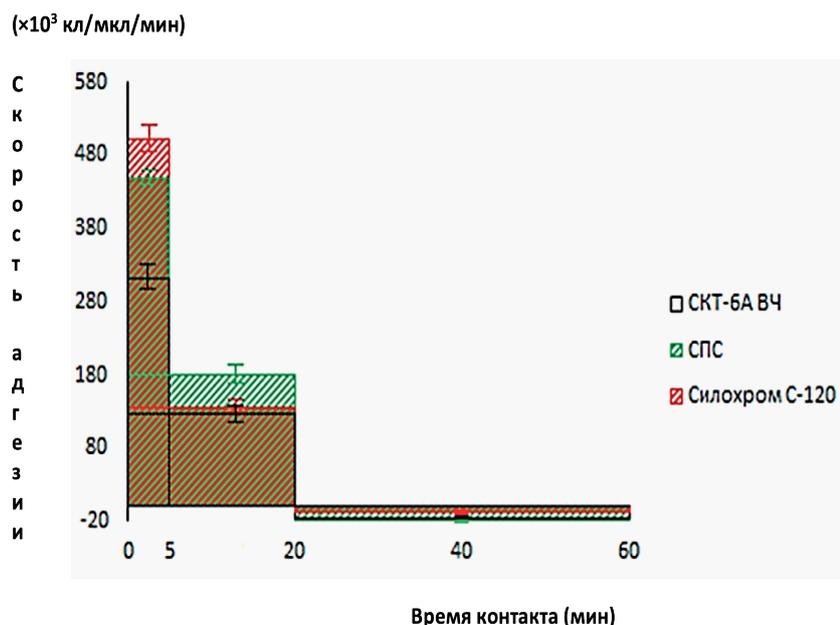


Рис. 2. Скоростно-временной адгезивный профиль для лейкоцитов при контакте крови с сорбентами СКТ-6А ВЧ, СПС и Силохром С-120

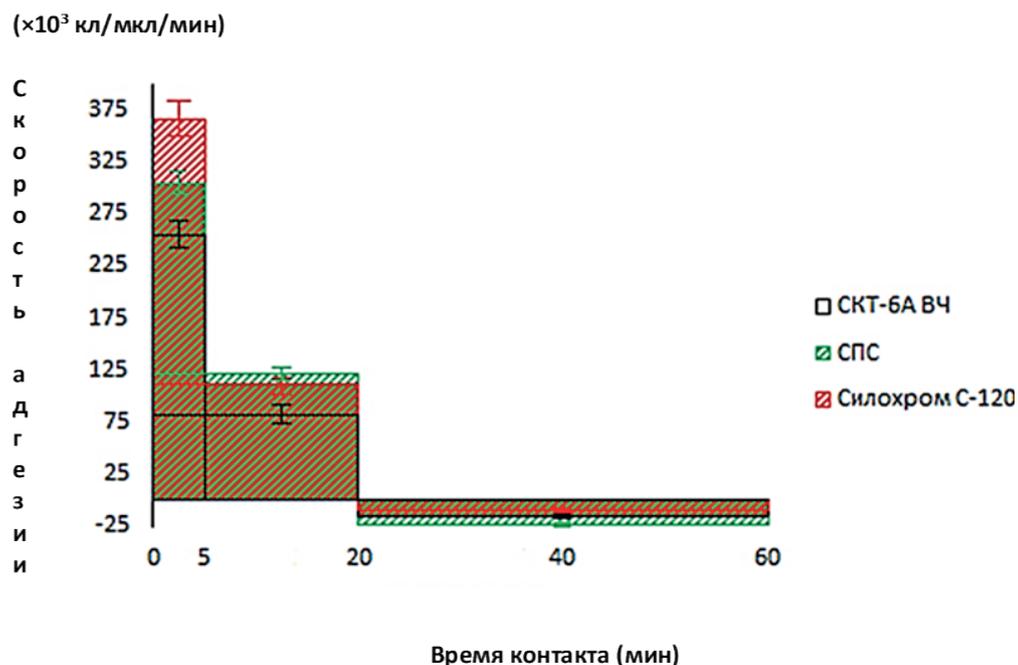


Рис. 3. Скоростно-временной адгезивный профиль для гранулоцитов при контакте крови с сорбентами SKT-6A ВЧ, СПС и Силохром С-120

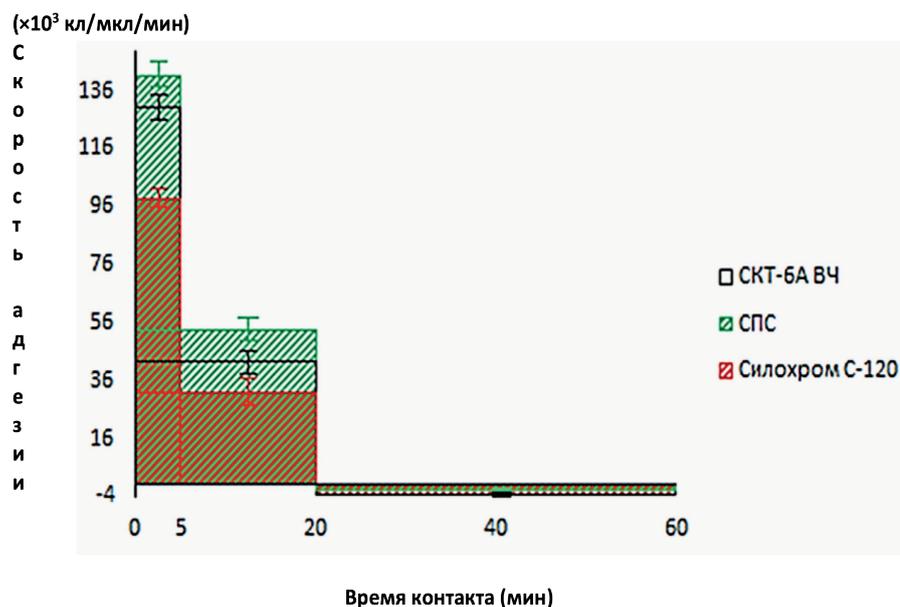


Рис. 4. Скоростно-временной адгезивный профиль для агранулоцитов при контакте крови с сорбентами SKT-6A ВЧ, СПС и Силохром С-120

скорости адгезии на исследуемых гемоконтактных препаратах составили: SKT-6A ВЧ — $(42,6 \pm 5,09) \times 10^3$ кл/мкл/мин; СПС — $(53,5 \pm 6,61) \times 10^3$ кл/мкл/мин; Силохром С-120 — $(31,7 \pm 5,69) \times 10^3$ кл/мкл/мин. Отмечены различия между показателями СПС и Силохром С-120 ($p < 0,05$).

В заключительный временной интервал контакта «20–60 мин» преобладало отлипание клеток от гранул сорбентов: SKT-6A ВЧ — $(-3,4 \pm 0,68) \times 10^3$ кл/мкл/мин; Силохром С-120 — $(-3,1 \pm 0,62) \times 10^3$ кл/мкл/мин; СПС — $(-1,5 \pm 0,36) \times 10^3$ кл/мкл/мин.

Обсуждение результатов

Таким образом, для лейкоцитов, в отличие от тромбоцитов, определен «классический» профиль их реакции на контактное взаимодействие крови с тремя исследуемыми препаратами, который характерен для углеродного сорбента СКТ-6А ВЧ. Однако скоростные характеристики этого взаимодействия крови с сорбентами в пробах «5 мин» различались, что свидетельствовало об их активационных возможностях различной степени выраженности для клеток лейкоцитарного ряда. Существенным являлось значительное снижение скорости адгезии этих клеток по сравнению с тромбоцитами, что, очевидно, связано с количеством лейкоцитов в крови, их размером и разнородностью, а также с особенностями развития и реализации адгезивных процессов в различных клетках крови.

Все лейкоциты крови условно могут быть разделены на гранулоциты (нейтрофилы, базофилы и эозинофилы) и агранулоциты (моноциты и лимфоциты). В лейкоцитарной формуле крови человека преобладают гранулоциты. Поэтому СВАП для гранулоцитов на исследованных сорбентах полностью совпал с профилем, характерным для общей популяции лейкоцитов. В развитии реакции активации отмечали сходные тенденции в те же временные точки. Сравнивая показатели активации гранулоцитов при контакте с исследуемыми сорбентами, можно отметить различия между СКТ-6А ВЧ и СПС ($p < 0,05$), а также СПС и Силохром С-120 ($p < 0,05$).

Содержание агранулоцитов в крови значительно меньше, чем гранулоцитов. Кроме того, у субпопуляций агранулоцитов адгезивный аппарат клеток выражен слабее, поэтому можно предположить, что скорости адгезии этих клеток будут меньше. Анализ показал, что временной профиль агранулоцитов совершенно одинаков для всех сорбентов и идентичен профилю общей популяции лейкоцитов, но числовые величины значительно меньше. Для агранулоцитов отмечали тенденцию к снижению скорости отлипания клеток от сорбентов в следующем ряду: СКТ-6А ВЧ > Силохром С-120 > СПС.

Таким образом, при сравнении показателей СВАП исследуемых гемоконтактных препаратов можно отметить, что временные профили сорбентов СКТ-6А ВЧ и СПС для всех популяций и субпопуляций клеток крови полностью совпадают в реперных точках «5 мин», «20 мин» и «60 мин». Показатели СВАП гемоконтактного препарата Силохром С-120 для тромбоцитов отличались от профилей двух других исследуемых

сорбентов. Реперные точки данного препарата соответствовали «5 мин» и «60 мин». На препарате Силохром С-120 адгезия клеток к сорбенту происходила очень интенсивно. Преобладание этого процесса завершилось в первые «5 мин» контакта. Можно сделать заключение, что Силохром С-120 наиболее мощный активатор тромбоцитов, затем, по степени активации, следует СПС, и меньшей активностью ($p < 0,05$) обладает СКТ-6А ВЧ. Также отмечено, что скоростные характеристики адгезии клеток крови в временных интервалах «0–5 мин» и «0–20 мин» значительно выше у препаратов СПС и Силохром С-120 по сравнению с СКТ-6А ВЧ. Это относится как к показателям контакта с тромбоцитами, так и с лейкоцитами и их субпопуляциями. Во временном интервале «20–60 мин» на всех сорбентах преобладал процесс отлипания клеток от субстрата (для Силохром С-120 начиная с «5 мин»), поэтому показатели скорости адгезии клеток в этот временной интервал имели отрицательные величины. Скорость отрицательной адгезии (отлипания клеток) в этот период времени на всех исследуемых сорбентах была незначительной, но, учитывая длительность этого процесса, можно заключить, что существенная часть прилипающих клеток возвращается обратно в жидкую фазу крови в течение всего эксперимента. Однако оценить влияние скорости отрицательной адгезии на активационную функцию гемоконтактных препаратов пока не представляется возможным.

Известно, что углеродный сорбент СКТ-6А ВЧ, используемый в качестве гемоконтактного препарата при проведении МОГ у больных с тяжелыми поражениями конечностей, дает значительный положительный эффект при включении данного метода в стандартную схему лечения [1]. Метод МОГ основан на способности гемоконтактного препарата запускать активационные процессы в гуморальных и клеточных системах крови, что приводит к изменению регуляторно-эффекторного потенциала крови путем образования огромного количества биоактивных молекул. Попадая в область поражения с током крови, они оказывают позитивный эффект на процессы саногенеза в перфузируемой области. В данном исследовании показано, что временные профили сорбентов СКТ-6А ВЧ и СПС совпадают. Причем скорости адгезии (активация клеток крови) на СПС значительно выше, чем на углеродном сорбенте СКТ-6А ВЧ, что свидетельствует о более высоком активационном потенциале. Можно полагать, что при использовании СПС в качестве гемоконтактного препарата в методе МОГ для лечения больных с тяжелыми поражениями конечностей будет получен анало-

гичный лечебный эффект. При проведении процедуры МОГ время контактного взаимодействия крови с сорбентом у больных составляло 3–5 мин, поэтому использование препарата Силохром С-120 также может быть перспективным. Активационный эффект данного сорбента максимально реализуется в первые 5 мин контакта как для тромбоцитов, так и для лейкоцитов.

Выводы

1. По развитию процесса адгезии можно судить об активации клеток крови, контактировавших с поверхностями твердофазных материалов, а также оценивать их активационные возможности.

2. Эффект применения в качестве контактных гемоактиваторов препаратов Силохром С-120 и СПС по сравнению с эталоном СКТ-6А ВЧ может быть более выраженным, так как активационный потенциал этих сорбентов для клеток крови значительно выше.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

- Burkova NV, Kuznetsov SI, Tyukavin AI. Effects of small volume blood perfusion activated by hemosorbents. *Vestnik Sankt-Peterburgskoi meditsinskoi akademii postdiplomnogo obrazovaniia*. 2011; 3(4): 24–32. In Russian [Буркова Н.В., Кузнецов С.И., Тюкавин А.И. Эффекты малообъемной перфузии крови, активированной гемосорбентами. Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии постдипломного образования. 2011; 3(4): 24–32].
- Galkin AA, Demidova VS. The role of adhesion in activation of neutrophils and their cytotoxic interaction with endothelium. *Uspekhi sovremennoi biologii*. 2011; 131(1): 62–78. In Russian [Галкин А.А., Демидова В.С. Роль адгезии в активации нейтрофилов в цитотоксическом взаимодействии нейтрофилов с эндотелием. Успехи современной биологии. 2011; 131(1): 62–78].
- Yuan SY, Shen Q, Rigor RR, Wu MH. Neutrophil transmigration, focal adhesion kinase and endothelial barrier function. *Microvasc Res*. 2012; 83(1): 82–88. DOI: 10.1016/j.mvr.2011.06.015.
- Herter J, Zarbock A. Integrin Regulation during Leukocyte Recruitment. *J Immunol*. 2013 May 1; 190(9): 4451–4457. DOI: 10.4049/jimmunol.1203179.
- Burkova NV, Kirichuk OP, Kuznetsov SI, et al. Contact of chitosan films with cellular elements of human venous blood in vitro. *Vestnik Smolenskoi gosudarstvennoi meditsinskoi akademii*. 2019; 18(1): 34–41. In Russian [Буркова Н.В., Киричук О.П., Кузнецов С.И. и др. Контакт пленок хитозана с клеточными элементами венозной крови человека in vitro. Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2019; 18(1): 34–41].
- Yakimenko AO, Verholomova FY, Kotova YN, Ataullakhanov FI, Pantelev MA. Identification of different

proaggregatory abilities of activated platelet subpopulations. *Biophys J*. 2012; 102(10): 2261–2269. DOI: 10.1016/j.bpj.2012.04.004.

7. Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev*. 2015; 29(3): 153–162. DOI: 10.1016/j.blre.2014.10.003.

8. Sviridova SP, Somonova OV, Kashiya ShR, et al. The role of platelets in inflammation and immunity. *Research'n Practical Medicine Journal*. 2018; 5(3): 40–52. In Russian [Свиридова С.П., Сомонова О.В., Кашия Ш.Р. и др. Роль тромбоцитов в воспалении и иммунитете. Исследования и практика в медицине. 2018; 5(3): 40–52]. DOI: 10.17709/2409-2231-2018-5-3-4.

9. Kirichuk OP, Burkova NV, Romanchuk EV, et al. Valuation of Activation Capabilities of Solid-Phase Surfaces by the Rate of Adhesion of Blood Cells. *Translational Medicine*. 2019; 6(3): 53–60. In Russian [Киричук О.П., Буркова Н.В., Романчук Е.В. и др. Оценка активационных возможностей твердофазных поверхностей по скорости адгезии клеток крови. Трансляционная медицина. 2019; 6(3): 53–60]. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2019-6-3-53-60>

Информация об авторах:

Кузнецов Сергей Иванович, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник НИЛ биопротезирования и кардиопротекции Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Киричук Оксана Петровна, аспирант, лаборатории междисциплинарной физики (LIPhy), Университет Гренобль-Альпы, Гренобль, Франция;

Буркова Наталья Владимировна, д.б.н., доцент, заведующий кафедрой физиологии, профессор кафедры физиологии Лечебного факультета Института медицинского образования, ведущий научный сотрудник НИЛ биопротезирования и кардиопротекции Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России

Юрьев Глеб Олегович, аспирант Института химии СПбГУ, инженер ресурсного центра «Инновационные технологии композитных наноматериалов» научного парка СПбГУ;

Даванков Вадим Александрович, д.х.н., профессор, заведующий лабораторией стереохимии сорбционных процессов Института элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН;

Постнов Виктор Николаевич, к.х.н., доцент, старший научный сотрудник НИЛ нанотехнологий Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, доцент кафедры химии твердого тела Института химии СПбГУ;

Романчук Елизавета Вячеславовна, студент кафедры медицинской физики Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого;

Свиридов Эрик Евгеньевич, студент лечебного факультета Института медицинского образования, лаборант-исследователь НИЛ биопротезирования и кардиопротекции Центра экспериментального биомоделирования Института экспериментальной медицины, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Киселева Анастасия Дмитриевна, студент лечебного факультета Института медицинского образования, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Kuznetsov Sergei I., Dr. Sci., prof., chief researcher of the Research laboratory of Biological Prosthetic Valve Replacement and Cardioprotection of the Center for Experimental Surgical Bio-Modelling of the Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Kirichuk Oksana P., PhD student, Interdiscipline physical laboratory (LIPhy), University of Grenoble Alpes;

Burkova Natalya V., Dr. Sci., head of the Department of physiology, prof. of the Department of physiology of the medical faculty of the Institute of Medical Education; Leading Researcher of the Research Laboratory of Biological Prosthetic Valve Replacement and Cardioprotection of the Center for Experimental Surgical Bio-Modelling of the Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Yuryev Gleb O., postgraduate student of the Institute of Chemistry, Saint-Petersburg State University;

Davankov Vadim A., Dr. Sci., prof., Head of the Laboratory of Stereochemistry of Sorption Processes of the A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds; Postnov Viktor N., PhD, Senior Researcher of the Research Laboratory of Nanotechnologies, Center for experimental Biomodeling A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds;

Romanchuk Elizaveta V., student of the Department of Medical Physics, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University;

Sviridov Erik E., student of the Medical Faculty of the Institute of Medical Education, laboratory researcher of the Research Laboratory of Biological Prosthetic Valve Replacement and Cardioprotection of the Center for Experimental Surgical Bio-Modelling of the Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Kiseleva Anastasia D., student of the Medical Faculty of the Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre.