

ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОПОЭТИНА НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ

**Лыков А.П.^{1,2}, Суровцева М.А.^{1,2}, Повещенко О.В.^{1,2},
Бондаренко Н.А.^{1,2}, Ким И.И.^{1,2}, Чернявский А.М.², Фомичев А.В.²**

¹ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск, Россия

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Резюме. Эритропоэтин используется в основном для стимуляции эритропоэза. В последнее время показаны его цитопротекторные эффекты на другие клетки организма человека и животных, в частности антиапоптотическое действие. Свое влияние на клетки эритропоэтин опосредует через взаимодействие с рецептором к эритропоэтину в комплексе с образованием гетеродимерной связи с β -общей цепью (CD131). В представленной работе проведено исследование изменения экспрессии рецептора к эритропоэтину, CD131 и спектра продукции биологически активных молекул костномозговыми мононуклеарами (КМ-МНК) больных ишемической болезнью сердца. Методом проточной цитофлуориметрии показано, что кратковременная инкубация КМ-МНК с эритропоэтином способствует увеличению экспрессии рецептора к эритропоэтину на гемопоэтических стволовых клетках и имеет тенденцию к уменьшению количества эндотелиальных прогениторных клеток, несущих рецептор к эритропоэтину. Методом твердофазного иммуноферментного анализа в кондиционных средах от КМ-МНК выявлено, что длительное (72 часа) воздействие эритропоэтина на КМ-МНК способствует увеличению уровней продукции IL-1 β , PDGF-AB и EPO по сравнению с базальным уровнем продукции ($p < 0,05$), а кратковременная инкубация КМ-МНК с эритропоэтином (60 минут) способствовала значимому повышению уровней продукции IL-1 β , PDGF-AB и CXCL-12/SDF-1 α , а также значимому снижению уровней продукции IL-10 по сравнению с базальным уровнем продукции ($p < 0,05$).

Ключевые слова: костномозговые стволовые клетки, эритропоэтин, цитокины, ишемическая болезнь сердца

EFFECT OF ERYTHROPOIETIN ON CYTOKINE PRODUCTION BY STEM CELLS

**Lykov A.P.^{a,b}, Surovtseva M.A.^{a,b}, Poveshchenko O.V.^{a,b},
Bondarenko N.A.^{a,b}, Kim I.I.^{a,b}, Chernyavsky A.M.^b, Fomichev A.V.^b**

^a Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

^b E. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Erythropoietin (EPO) is mainly used to stimulate erythropoiesis. Its cytoprotective effects upon other cells of the human body and animals were recently shown, in particular, anti-apoptotic effect was

Адрес для переписки:

Лыков Александр Петрович
Научно-исследовательский институт клинической
и экспериментальной лимфологии
630060, Россия, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2.
Тел.: 8 (383) 335-93-32.
E-mail: aplykov2@mail.ru

Address for correspondence:

Lykov Alexander P.
Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology
630060, Russian Federation, Novosibirsk, Timakova str., 2.
Phone: 7 (383) 335-93-32.
E-mail: aplykov2@mail.ru

Образец цитирования:

А.П. Лыков, М.А. Суровцева, О.В. Повещенко,
Н.А. Бондаренко, И.И. Ким, А.М. Чернявский,
А.В. Фомичев «Влияние эритропоэтина на продукцию
цитокинов стволовыми клетками» // Медицинская
иммунология, 2019. Т. 21, № 5. С. 861-868.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-861-868

© Лыков А.П. и соавт., 2019

For citation:

A.P. Lykov, M.A. Surovtseva, O.V. Poveshchenko,
N.A. Bondarenko, I.I. Kim, A.M. Chernyavsky, A.V. Fomichev
“Effect of erythropoietin on cytokine production by stem cells”,
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2019, Vol. 21, no. 5, pp. 861-868.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-861-868

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-5-861-868

observed. EPO effect upon the cells is mediated by interaction with erythropoietin receptor, with a complex forming a heterodimeric bond with β -common chain (CD131). In the present work, we studied the changes in erythropoietin receptor expression, and production spectrum of biologically active molecules in bone marrow mononuclear cells (BM-MNC) of patients with coronary heart disease. The flow cytometric assays showed that short-term incubation of BM-MNC with erythropoietin caused increased expression of the erythropoietin receptors on hematopoietic stem cells and tended to reduce the number of endothelial progenitor cells carrying the erythropoietin receptors. Solid-phase enzyme immunoassay in conditioned media from BM-MNC revealed that long-term (72 hours) exposure of BM-MNC to erythropoietin promoted increased production of IL-1 β , PDGF-AB, and Epo, if compared to the basal production level ($p < 0.05$). Short-term incubation of BM-MNC with erythropoietin (60 minutes) caused a significant increase in the IL-1 β , PDGF-AB and CXCL-12/SDF-1 α production levels, as well as significant reduction in the IL-10 production levels compared to the basal levels ($p < 0.05$).

Keywords: bone marrow stem cells, erythropoietin, cytokine, ischemic heart disease

Введение

Альтернативным методом лечения ишемической болезни сердца является клеточная терапия аутологичными костномозговыми стволовыми клетками [13, 15, 16]. Так, интрамиокардиальное введение аутологичных костномозговых мононуклеаров (КМ-МНК) способствует регенерации миокарда и восстановлению сократительной способности желудочков сердца [4, 7, 14, 17]. Однако эффективность клеточной терапии зависит от микроокружения, в которое помещаются клетки. В частности, окислительный стресс значительно снижает жизнеспособность клеток, а одним из веществ, способных влиять на жизнеспособность клеток, является эритропоэтин [9]. Показано, что эритропоэтин проявляет антигипоксическое и антиапоптотическое действие, усиливает неоваскулогенез, мобилизует эндотелиальные прогениторные клетки и усиливает ангиогенез [3, 8]. Влияние эритропоэтина опосредуется его взаимодействием с рецептором для эритропоэтина, сформировавшийся комплекс эритропоэтин/рецептор к эритропоэтину запускает каскад сигнальных путей с вовлечением янус-киназы (JAK-2), сигнального проводника и активатора транскрипции (STAT) и других сигнальных путей, вовлеченных в регуляцию пролиферации, выживаемости и экспрессии генов [11]. В то же время влияние эритропоэтина на костномозговые стволовые клетки исследовано недостаточно.

Целью настоящего исследования явилось установление влияния эритропоэтина на уровни продукции цитокинов и экспрессию рецептора к эритропоэтину после инкубации костномозговых мононуклеарных клеток с эритропоэтином *in vitro*.

Материалы и методы

Исследование проведено у 50 больных ишемической болезнью сердца (43 мужчины и 7 женщин в возрасте 52-74 лет) с функциональным классом

сердечной недостаточности по NYHA II-III класса, давших информированное согласие. Аспират костного мозга забирали из подвздошной кости традиционным способом под местной анестезией. КМ-МНК выделяли из костного мозга на градиенте плотности фиколл/верографин ($\rho = 1,077$ г/л). На проточном цитофлуориметре FACSCanto II (BD, США) исследовали количество клеток, несущих рецептор к эритропоэтину (EpoR, R&DS, США) и CD131 (BD, США) исходно и после инкубации с эритропоэтином. Экспозицию КМ-МНК с эритропоэтином (Рекормон, Швейцария, 33,4 МЕ/мл) проводили в культуральных флаконах в физиологическом растворе с добавлением 10% аутологичной сыворотки в течение 60 минут при 37 °С в CO₂-инкубаторе. Далее КМ-МНК трижды отмывали от остатков эритропоэтина и аутологичной сыворотки при 1500 об/мин в течение 5 минут. КМ-МНК, не подвергшиеся и подвергшиеся инкубации с эритропоэтином, инкубировали с моноклональными антителами к рецептору эритропоэтина и к CD131, конъюгированные с фикоэритрином или с аллофикоцианином, в течение 15 минут в темноте при комнатной температуре, далее клетки отмывали от меток и вносили фиксирующий раствор, определяли количество клеток, несущих данные маркеры на 10 000 клеток, и выражали в %. Для исследования уровней продукции цитокинов клетками, 10⁶/мл КМ-МНК инкубировали в питательной среде ДМЕМ с добавлением 10% фетальной сыворотки плода (FCS, Биолот, Россия), 2мМ L-глутамин (ICN, США), 80 мкг/мл гентамицина (Дальхимфарм, Россия) и эритропоэтина (0 и 33,4 МЕ/мл) в течение 72 часов в CO₂-инкубаторе при 37 °С, далее собирали кондиционную среду, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 минут, разливали по аликвотам и хранили при -70 °С. Кроме этого, получали кондиционные среды от КМ-МНК, предварительно проинкубированных с эритропоэтином, отмывтых от остатков эритропоэтина и помещенных в аналогичную питательную сре-

ду с добавками, но без внесения эритропоэтина и инкубировали в аналогичных условиях 72 часа, далее кондиционную среду собирали, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 минут, разливали по аликвотам и хранили при -70 °С. В кондиционных средах исследовали уровни IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , TGF- β 1, PDGF-AB, VEGF, FGF basal, Epo, IGF-1, CXCL-12/SDF-1 α , MMP-9, TIMP-1 методом твердофазного иммуноферментного анализа. Кроме этого, в кондиционных средах оценивали уровни стойких метаболитов NO с использованием реактива Грисса. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0 for Windows (Stat Soft, США). Полученные данные проверяли на нормальность распределения согласно W-критерию Шапиро–Уилка, меры центральной тенденции и рассеяния описаны медианой, нижним и верхним квартилями – Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}); статистически значимое различие рассчитывали по U-критерию Манна–Уитни и принимали при значении p < 0,05. Связь между различными признаками определяли с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r).

Результаты

Эритропоэтин увеличивает экспрессию рецептора к эритропоэтину на гемопоэтических стволовых клетках

Как видно из таблицы 1, кратковременная инкубация КМ-МНК с эритропоэтином способствует увеличению относительного количества гемопоэтических стволовых клеток (CD34⁺/CD45⁺), несущих на своей мембране рецептор к эритропоэтину в сравнении с исходным уровнем (p < 0,05). В то же время отмечена тенденция уменьшения относительного количества клеток с фенотипом CD34⁺/CD45⁻, несущих рецептор к эритропоэтину, а также количества клеток, несущих на своей мембране CD131 и рецептор

к эритропоэтину, по сравнению с исходным количеством таких клеток до инкубации с эритропоэтином, хотя статистически незначимо (p > 0,05).

Эритропоэтин стимулирует продукцию IL-1 β

Одним из функциональных свойств полноценности клеточного трансплантата, используемого для регенеративной медицины, является уровень секреторной активности клеток, а именно уровень продукции цитокинов, ростовых факторов, металлопротеаз и молекул межклеточного взаимодействия (оксид азота). Нами показано, что КМ-МНК спонтанно продуцируют широкий спектр биологически активных веществ, включая провоспалительные (IL-1 β , TNF α , IL-6) и противовоспалительные (IL-10) цитокины, факторы роста (PDGF-AB, VEGF, FGF basal, Epo, IGF-1, TGF- β 1), металлопротеазы и ингибиторы металлопротеаз (MMP-9, TIMP-1), хемокины (IL-8, CXCL-12/SDF-1 α) и NO (табл. 2). Необходимо отметить тот факт, что без стимуляции в спектре продукции цитокинов отмечено преобладание фона противовоспалительного цитокина (IL-10), что можно расценивать как сдерживающее влияние на пролиферативный потенциал клеток.

В то же время после длительной инкубации КМ-МНК с эритропоэтином (72 часа) отмечено значимое смещение продукции цитокинов в сторону провоспалительного спектра (IL-1 β , p < 0,05) в сравнении с уровнями продукции клетками без стимуляции. Также длительная стимуляция КМ-МНК эритропоэтином увеличивает уровни продукции PDGF-AB и Epo по сравнению с базальным уровнем продукции (p < 0,05). В отношении других биоактивных молекул (TNF α , IL-6, IL-8, IL-10, TGF- β 1, VEGF, FGF basal, IGF-1, CXCL-12/SDF-1 α , MMP-9, TIMP-1 и NO), продуцируемых КМ-МНК, длительная инкубация клеток с эритропоэтином не приводила к значимому изменению уровней продукции (p > 0,05).

Кратковременная инкубация КМ-МНК с эритропоэтином (60 минут) способствовала значи-

ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВО КМ-МНК, НЕСУЩИХ EpoR И CD131, ДО И ПОСЛЕ ИНКУБАЦИИ С ЭРИТРОПОЭТИНОМ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. QUANTITY OF BM-MNC EXPRESSED EpoR AND CD131 BEFORE AND POST-TREATMENT WITH ERYTHROPOIETIN, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Фенотип КМ-МНК Phenotype of BM-MNC	Исходно Basal	После инкубации с эритропоэтином Post-treatment with erythropoietin
CD34 ⁺ /CD45 ⁺ /EpoR ⁺	0,94 (0,50-6,25)	4,65 (1,90-15,47)*
CD34 ⁺ /CD45 ⁻ /EpoR ⁺	0,64 (0,40-0,94)	0,5 (0,3-0,6)
CD131 ⁺ /EpoR ⁺	5,1 (4,8-5,4)	3,45 (1,1-5,8)

Примечание. * p – статистическая значимость различия с исходным показателем (p < 0,05).

Note. * p, significance of differences with basal parameters (p < 0.05).

ТАБЛИЦА 2. УРОВНИ ПРОДУКЦИИ КМ-МНК ЦИТОКИНОВ И NO

TABLE 2. BM-MNC CYTOKINE AND NO PRODUCTION

Цитокины Cytokines	Тип продукции Type of production		
	Спонтанная Basal	Стимулированная эритропоэтином Erythropoetin stimulated	Спонтанная после инкубации с эритропоэтином Basal after erythropoietin- treatment
IL-1 β (пг/мл) pg/ml	10,25 (5,12-20,10)	60,65 (34,25-72,05)*	37,85 (34,20-56,20)*
TNF α (пг/мл) pg/ml	12,25 (4,97-36,35)	16,94 (7,70-28,00)	23,0 (10,3-1026,4)
IL-6 (пг/мл) pg/ml	1615 (1208-1743)	1651,0 (1208,5-1776,0)	1560 (824-1666)
IL-8 (пг/мл) pg/ml	1260 (1225-1320)	1270,5 (1164,0-1353,0)	1268 (1218-1280)
IL-10 (пг/мл) pg/ml	193 (63-305)	96,0 (26,5-223,4)	42,8 (13,6-81,0)*
TGF- β 1 (пг/мл) pg/ml	3,14 (2,73-5,92)	2,36 (1,52-4,94)	5,70 (2,04-21,20)
PDGF-AB (пг/мл) pg/ml	97,5 (76,8-123,0)	1310 (1240-1310)*	1270 (1220-1400)*
VEGF (пг/мл) pg/ml	128,5 (113,0-275,5)	139,0 (117,5-384,5)	129 (121-133)
FGF basal (пг/мл) pg/ml	73 (70-75)	72,5 (70,5-149,0)	73,5 (72,5-90,0)
Еро (мМЕ/мл) mIU/ml	446,10 (192,00-755,85)	844,8 (841,5-849,1)*	705,6 (265,6-836,8)**
IGF-1 (нг/мл) ng/ml	0,18 (0,15-0,21)	0,24 (0,18-0,28)	0,22 (0,16-0,25)
CXCL-12/SDF-1 α (пг/мл) pg/ml	10320 (1000-10320)	10580 (10320-21820)	10860 (10560-11500)*
MMP-9 (нг/мл) ng/ml	17 (12-21)	14,5 (12,5-24,5)	11,5 (11,0-12,0)
TIMP-1 (нг/мл) ng/ml	43 (36-52)	52,5 (43,0-84,5)	48,5 (39,0-51,0)
NO (μ М/мл) μ M/ml	1,1 (1,0-1,2)	1,05 (0,95-1,20)	1,0 (0,5-1,2)

Примечание. * p – статистическая значимость различия со спонтанной продукцией (p < 0,05), ** p – статистическая значимость различия с продукцией, стимулированной эритропоэтином.

Note. * p, significance of differences with basal production (p < 0.05), ** p, significances with erythropoietin stimulated production (p < 0.05).

мому повышению уровней продукции IL-1 β , PDGF-AB и CXCL-12/SDF-1 α , а также значимому снижению уровней продукции IL-10 по сравнению с базальным уровнем продукции данных биологически активных молекул клетками без стимуляции эритропоэтином (p < 0,05). Также не выявлено существенного изменения уровней продукции КМ-МНК (TNF α , IL-6, IL-8, TGF- β 1, VEGF, FGF basal, IGF-1, MMP-9, TIMP-1 и NO) после кратковременной инкубации с эритропоэ-

тином в сравнении с аналогичными параметрами без стимуляции (p > 0,05). Необходимо отметить тот факт, что кратковременная инкубация КМ-МНК с эритропоэтином вела к значимому снижению уровней продукции Еро по сравнению с аналогичным параметром после длительной стимуляции клеток эритропоэтином (p < 0,05).

Взаимосвязи клеток с цитокинами

Между исходным количеством клеток с фенотипом CD34⁺/CD45⁺/ЕроR⁺ и уровнями продук-

ции КМ-МНК после кратковременной стимуляции эритропоэтином TNF α и IL-6 выявлены разнонаправленные взаимосвязи ($r = -0,633611$, $p < 0,05$ и $r = 0,523682$, $p < 0,05$ соответственно), что может указывать на вклад клеток данного фенотипа в продукцию этих цитокинов. Количество клеток с фенотипом CD34 $^+$ /CD45 $^+$ /EpoR $^+$ после кратковременной инкубации с эритропоэтином находилось в обратной и сильной связи с уровнями продукции TNF α , TGF- β 1 и MMP-9 ($r = -0,733333$, $p < 0,05$; $r = -0,61863$, $p < 0,05$ и $r = -0,92582$, $p < 0,05$ соответственно), что также указывает на существенный вклад данного фенотипа костномозговых стволовых клеток в спектр продукции биологически активных молекул. В то же время количество клеток с фенотипом CD34 $^+$ /CD45 $^-$ /EpoR $^+$ после кратковременной инкубации с эритропоэтином находилось в прямой и сильной взаимосвязи с уровнями продукции IL-1 β и Epo ($r = 0,723408$, $p < 0,05$ и $r = 0,487593$, $p < 0,05$ соответственно), что отражает роль этого фенотипа клеток во вкладе в спектр продуцируемых КМ-МНК биологически активных молекул.

Уровни продукции NO взаимосвязаны с уровнями продукции IL-1 β и Epo ($r = 0,728895$, $p < 0,05$ и $r = 0,738177$, $p < 0,05$ соответственно), уровни продукции TNF α сопряжены с уровнями продукции Epo ($r = 0,738095$, $p < 0,05$), уровни продукции IL-6 взаимосвязаны с уровнями продукции IL-8 ($r = 0,753145$, $p < 0,05$), а уровни продукции IL-10 сопряжены с уровнями продукции TGF- β 1 ($r = 0,8$, $p < 0,05$) КМ-МНК при длительной стимуляции эритропоэтином. В то же время уровни продукции IL-1 β взаимосвязаны с уровнями продукции IL-6 ($r = 0,809524$, $p < 0,05$), уровни продукции IL-6 – с уровнями продукции IL-10 ($r = 0,711303$, $p < 0,05$), уровни продукции IL-8 – с уровнями продукции IGF-1 ($r = 0,80387$, $p < 0,05$), а уровни продукции IL-10 сопряжены с уровнями продукции Epo и NO ($r = 0,574966$, $p < 0,05$ и $r = 0,665943$, $p < 0,05$ соответственно), что отражает наличие сложной сети взаимодействий (сдерживание и/или стимуляция) между биологически активными молекулами, продуцируемыми костномозговыми стволовыми клетками.

Обсуждение

Регенеративная медицина ишемических заболеваний на основе стволовых клеток рассматривается как новый метод восстановления ишемизированных тканей и стимулирования неоангиогенеза. Эритропоэтин способствует выживаемости, пролиферации и дифференцировке эритроидных прогениторов. Рецептор к эритропоэтину – это 95 кДа пептид, выявленный не только на эритроидных, но и на эндотелиаль-

ных клетках, моноклеарах периферической крови. Известны антиишемические эффекты эритропоэтина, но механизмы этого действия изучены недостаточно. Показано, что эритропоэтин увеличивает пролиферацию эндотелиоцитов и неоангиогенез, запускает пролиферацию, дифференцировку и адгезию прогениторных клеток и проявляет антиапоптотическое влияние [5, 12].

Выявленное нами увеличение количества гемопоэтических клеток с фенотипом CD34 $^+$ /CD45 $^+$, экспрессирующих рецептор к эритропоэтину, не противоречит литературным данным. Так, авторы показали, что среди мобилизованных в периферическое русло костномозговых стволовых клеток, введением гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, у здоровых доноров до 40% клеток несли рецептор к эритропоэтину [10]. В нашем исследовании мы целенаправленно исследовали уровни экспрессии рецептора к эритропоэтину среди предшественников гемопоэза (CD34 $^+$ /CD45 $^-$) и среди предшественников эндотелиальных прогениторных клеток (CD34 $^+$ /CD45 $^-$), что существенно уменьшало количество клеток в общем пуле КМ-МНК, экспрессирующих рецептор к эритропоэтину, но выявленное нами увеличение гемопоэтических стволовых клеток, несущих рецептор к эритропоэтину, укладывается в результаты других исследований и не противоречит им. В отношении выявленного уменьшения количества клеток с фенотипом CD34 $^+$ /CD45 $^-$, экспрессирующих рецептор к эритропоэтину, в доступной нам литературе такого рода исследований не выявлено, но показано, что эритропоэтин способствует мобилизации эндотелиальных клеток в очаг ишемии [6]. В работе авторов на эндотелиальной линии из вен пуповины (HUVEC) было показано, что связывание эритропоэтина с рецептором к эритропоэтину зависит от времени экспозиции и достигает пика через 4 часа, при этом необходимо помнить об интернализации комплекса эритропоэтин/рецептор к эритропоэтину, что может привести к уменьшению количества рецепторов к эритропоэтину на мембране клеток [1].

Известно, что эритропоэтин влияет на клетки с образованием гетеродимерного комплекса с β -общей цепью (CD131), трансмембранным гликопротеином суперсемейства иммуноглобулинов с молекулярной массой 120-140 кДа, что обеспечивает цитопротекторный эффект [2]. Кроме этого, авторы показали, что на эндотелиальных клетках из пуповинной крови после инкубации с эритропоэтином увеличивается экспрессия рецептора к эритропоэтину и CD131, что отражает их возможную ковалентную связь. В нашем исследовании мы не выявили суще-

ственного влияния кратковременной экспозиции КМ-МНК с эритропоэтином на количество клеток, экспрессирующих CD131 и рецептор к эритропоэтину. Возможно, что это следствие недостаточной длительности инкубации клеток с эритропоэтином и оценки экспрессии этих поверхностных молекул в общем пуле клеток, а не на отдельном типе стволовых клеток. Эритропоэтин – основной регулятор эритропоэза, но имеет и негемопоэтический эффект. У имаго вовлечен в физиологический и патологический ангиогенез, врожденный ответ организма на повреждение тканей, особенно на ишемию. На молекулярном уровне цитопротекторный эффект эритропоэтина опосредован ассоциацией рецептора к эритропоэтину с CD131, что подтверждено на *knockout* по CD131 мышях, не способных к развитию цитопротекторного эффекта в ответ на эритропоэтин [2].

Способность эритропоэтина влиять на продукцию клетками биологически активных

веществ подтверждена и в исследовании авторов [10]. В ответ на эритропоэтин мобилизованные из костного мозга гранулоцитарным колониестимулирующим фактором стволовые клетки отвечали увеличением экспрессии (IL-8, IL-10, FGF basal, PDGF, MMP-9 и интегринов) опосредованно через активацию JAK2 и Akt сигнальных путей.

Заключение

Наличие взаимосвязей между количеством стволовых клеток в общем пуле КМ-МНК, экспрессирующих рецептор к эритропоэтину, с уровнями продукции клетками биологически активных веществ может отражать их вклад в стимуляцию или же снижение этой продукции в ответ на кратковременное (60 минут) или длительное (72 часа) воздействие эритропоэтина на КМ-МНК у больных с ишемической болезнью сердца.

Список литературы / References

1. Anagnostou A., Lee E.S., Kessimian N., Levinson R., Steiner M. Erythropoietin has a mitogenic and positive chemotactic effect on endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, Vol. 87, no. 15, pp. 5978-5982.
2. Bennis Y., Sarlon-Bartoli G., Guillet B., Hubert L., Pellegrini P., Velly L., Blot-Chabaud M., Dignat-Georges F., Sabatier F., Pisano P. Priming of late endothelial progenitor cells with erythropoietin before transplantation requires the CD131 receptor subunit and enhances their angiogenic potential. *J. Thromb. Haemost.*, 2012, Vol. 10, pp. 1914-1928.
3. Ercan E., Bagla A.G., Aksoy A., Gacar G., Unal Z.S., Asgun H.F., Karaoz E. *In vitro* protection of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells by erythropoietin. *Acta Histochem.*, 2014, Vol. 116, no. 1, pp. 117-125.
4. Fisher S.A., Doree C., Brunskill S.J., Mathur A., Martin-Rendon E. Bone marrow stem cell treatment for ischemic heart disease in patients with no option of revascularization: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, no. 6, e64669. doi: 10.1371/journal.pone.0064669.
5. George J., Goldstein E., Abashidze A., Wexler D., Hamed S., Shmilovich H., Deutsch V., Miller H., Keren G., Roth A. Erythropoietin promotes endothelial progenitor cell proliferative and adhesive properties in a PI 3-kinase-dependent manner. *Cardiovasc. Res.*, 2005, Vol. 68, pp. 299-306.
6. Heeschen C., Aicher A., Lehmann R., Fichtlscherer S., Vasa M., Urbich C., Mildner-Rihm C., Martin H., Zeiher A.M., Dimmeler S. Erythropoietin is a potent physiologic stimulus for endothelial progenitor cell mobilization. *Blood*, 2003, Vol. 102, no. 4, pp. 1340-1346.
7. Henry T.D., Schaer G.L., Traverse J.H., Povsic T.J., Davidson C., Lee J.S., Costa M.A., Bass T., Mendelsohn F., Fortuin F.D., Pepine C.J., Patel A.N., Riedel N., Junge C., Hunt A., Kereiakes D.J., White C., Harrington R.A., Schatz R.A., Losordo D.W., and the ACT34-CMI Investigators. Autologous CD34⁺ cell therapy for refractory angina: 2-year outcomes from the ACT34-CMI study. *Cell Transplant.*, 2016, Vol. 25, pp. 1701-1711.
8. Hirata A., Minamino T., Asanuma H., Fujita M., Wakeno M., Myoishi M., Tsukamoto O., Okada K., Koyama H., Komamura K., Takashima S., Shinozaki Y., Mori H., Shiraga M., Kitakaze M., Hori M. Erythropoietin enhances neovascularization of ischemic myocardium and improves left ventricular dysfunction after myocardial infarction in dogs. *J. Am. Coll. Cardio.*, 2006, Vol. 48, pp. 176-184.
9. Hu R., Cheng Y., Jing H., Wu H. Erythropoietin promotes the protective properties of transplanted endothelial progenitor cells against acute lung injury via PI3K/Akt pathway. *Shock*, 2014, Vol. 42, no. 4, pp. 327-336.
10. Jang J., Yun J.Y., Hur I.J., Kang J.A., Choi J.I., Ko S.B., Lee J., Kim J.Y., Hwang I.C., Park Y.B., Kim H.S. Erythropoietin priming improves the vasculogenic potential of G-CSF mobilized human peripheral blood mononuclear cells. *Cardiovasc. Res.*, 2014, Vol. 104, pp. 171-182.
11. Kimakova P., Solar P., Solarova Z., Komel R., Debeljak N. Erythropoietin and its angiogenic activity. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017, Vol. 18, no. 7, 1519. doi: 10.3390/ijms18071519.
12. Lisowska K.A., Debska-Slizien A., Bryl E., Rutkowski B., Witkowski J.M. Erythropoietin receptor is expressed on human peripheral blood T and B lymphocytes and monocytes and is modulated by recombinant human erythropoietin treatment. *Artif. Organs*, 2010, Vol. 34, pp. 654-662.
13. Madigan M., Atoui R. Therapeutic use of stem cells for myocardial infarction. *Bioengineering (Basel)*, 2018, Vol. 5, no. 2, E28. doi: 10.3390/bioengineering5020028.

14. Mozid A., Yeo C., Arnous S., Ako E., Saunders N., Locca D., Brookman P., Archbold R.A., Rothman M., Mills P., Agrawal S., Martin J., Mathur A. Safety and feasibility of intramyocardial versus intracoronary delivery of autologous cell therapy in advanced heart failure: the REGENERATE-IHD pilot study. *Regen. Med.*, 2014, Vol. 9, no. 3, pp. 269-278.
15. Pavo I.J., Michel-Behnke I. Clinical cardiac regenerative studies in children. *World J. Cardiol.*, 2017, Vol. 9, no. 2, pp. 147-153.
16. Rupp S., Jux C., Bonig H., Bauer J., Tonn T., Seifried E., Dimmeler S., Zeiher A.M., Schranz D. Intracoronary bone marrow cell application for terminal heart failure in children. *Cardiol. Young.* 2012, Vol. 22, no. 5, pp. 558-563.
17. Seurder D., Radrizzani M., Turchetto L., Lo Cicero V., Soncin S., Muzzarelli S., Auricchio A., Moccetti T. Combined delivery of bone marrow-derived mononuclear cells in chronic ischemic heart disease: rationale and study design. *Clin. Cardiol.*, 2013, Vol. 36, no. 8, pp. 435-441.

Авторы:

Лыков А.П. — к.м.н., ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Суровцева М.А. — к.м.н., старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Повещенко О.В. — д.м.н., заведующая лабораторией, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; заведующая лабораторией ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Authors:

Lykov A.P., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Senior Research Associate, E. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Surovtseva M.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Senior Research Associate, E. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Poveshchenko O.V., PhD, MD (Medicine), Head of Laboratory, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Head of Laboratory, E. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Бондаренко Н.А. — к.б.н., старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; старший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Ким И.И. — к.м.н., научный сотрудник, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; младший научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Чернявский А.М. — д.м.н., руководитель ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Фомичев А.В. — к.м.н., научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Bondarenko N.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Senior Research Associate, E. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Kim I.I., PhD (Medicine), Research Associate, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Junior Research Associate, E. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Chernyavsky A.M., PhD, MD (Medicine), Head, E. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Fomichev A.V., PhD (Medicine), Research Associate, E. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 06.02.2019
Отправлена на доработку 07.03.2019
Принята к печати 24.04.2019

Received 06.02.2019
Revision received 07.03.2019
Accepted 24.04.2019