

<https://doi.org/10.17816/mechnikov33931>

## ОБ УЧАСТИИ ЭОЗИНОФИЛОВ В ВОССТАНОВЛЕНИИ ТКАНЕЙ ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЫ

Л.Л. Шагров<sup>1</sup>, Н.А. Шутский<sup>1</sup>, С.Л. Кашутин<sup>1</sup>, В.И. Николаев<sup>2</sup>, С.И. Малявская<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Архангельск;

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Для цитирования: Шагров Л.Л., Шутский Н.А., Кашутин С.Л., и др. Об участии эозинофилов в восстановлении тканей после локальной холодовой травмы // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2020. – Т. 12. – № 2. – С. 71–78. <https://doi.org/10.17816/mechnikov33931>

Поступила: 27.04.2020

Одобрена: 20.05.2020

Принята: 15.06.2020

♦ Изучено соотношение содержания эозинофилов периферической крови и красного костного мозга и уровня фактора роста фибробластов (FGF-21), инсулиноподобного фактора (IGF-1) и васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF-C) в сыворотке крови при формировании дермального коллагена после локального холодового повреждения. Животным опытной группы после наступления наркотического сна на депилированной коже спины моделировали контактное отморожение III степени. На 3, 7, 14 и 21-е сутки эксперимента в сыворотке крови определяли концентрацию факторов роста, содержание дермального коллагена, а также содержание эозинофилов в периферической крови и красном костном мозге. Результаты исследований показали, что эозинопения после локальной холодовой травмы развивается за счет секвестрации эозинофилов в зоне поражения. Реактивные изменения после локальной холодовой травмы не только в периферической крови, но и в красном костном мозге могут свидетельствовать об участии эозинофилов в процессах восстановления тканей после локальной холодовой травмы.

♦ **Ключевые слова:** эозинофилы; красный костный мозг; периферическая кровь; факторы роста; холодовая травма.

## ON THE PARTICIPATION OF EOSINOPHILS IN TISSUE RECOVERY AFTER A LOCAL COLD INJURY

L.L. Shagrov<sup>1</sup>, N.A. Shutsky<sup>1</sup>, S.L. Kashutin<sup>1</sup>, V.I. Nikolaev<sup>2</sup>, S.I. Malyavskaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia;

<sup>2</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

For citation: Shagrov LL, Shutsky NA, Kashutin SL, et al. On the participation of eosinophils in tissue recovery after a local cold injury. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2020;12(2):71-78. <https://doi.org/10.17816/mechnikov33931>

Received: April 27, 2020

Revised: May 20, 2020

Accepted: June 15, 2020

♦ The article studies the correlation of the content of peripheral blood and red bone marrow eosinophils with the level of secretion of fibroblast growth factor (FGF-21), insulin-like factor (IGF-1) and vasculoendothelial growth factor (VEGF-C) in blood serum during the formation of dermal collagen after local cold damage. Animals of the experimental group after the onset of narcotic sleep on the depilated skin of the back were simulated contact frostbite of the 3<sup>rd</sup> degree. On the 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> day of the experiment, the concentrations of growth factors, % dermal collagen content, and also the content of eosinophils in peripheral blood and red bone marrow were determined in the blood serum. The research results showed that the development of eosinopenia after a local cold injury occurs due to the sequestration of eosinophils in the affected area. The presence of reactive changes after a local cold injury not only in peripheral blood, but also in the red bone marrow may indicate the participation of eosinophils in tissue repair processes after a local cold injury.

♦ **Keywords:** eosinophils; red bone marrow; peripheral blood; growth factors; cold injury.

**Введение**

Восстановление тканей после термических поражений, в частности обморожений, — одно из актуальных направлений регенеративной медицины [1–6].

Активностью адгезии, миграции, пролиферации и дифференцировки клеток в пораженной ткани определяет результат: либо ткань восстановится и будет выполнять свои функции, либо все закончится фиброзом [7–10]. В связи с этим представляет интерес изучение механизмов регуляции синтеза коллагена фибробластами.

Как известно, структура коллагенового матрикса определяет функциональную активность фибробластов: при фрагментации коллагенового матрикса нарушаются фокальные контакты между фибробластами и коллагеновым матриксом, что и наблюдается в первые сутки после термического повреждения. Как следствие, фибробласты теряют возможность находиться в растянутом состоянии, которое является обязательным условием для их метаболической активности — синтеза и секреции [11, 12]. Вместе с тем в условиях нарушения структуры коллагенового матрикса стимулировать пролиферацию и синтетическую активность фибробластов способны факторы роста [3, 13–16].

Данных об участии эозинофильных лейкоцитов в восстановлении тканей после термических повреждений, а именно о наличии связи между эозинофилами и синтезом коллагена фибробластами или уровнем секреции ростовых факторов, практически нет. В то же время большое количество цитотоксических продуктов, повышенное содержание которых обуславливает формирование выраженного микробицидного потенциала в отношении не только инородных субстанций, но и окружающих тканей, показывает, что функциональные возможности эозинофильных лейкоцитов выходят за пределы традиционного понимания, в частности, развития аллергических заболеваний и противогельминтного иммунитета [17–21].

В связи с этим представляло интерес сопоставление динамики содержания эозинофилов периферической крови и красного костного мозга и уровня секреции фактора роста фибробластов (FGF-21), инсулиноподобного фактора (IGF-1) и васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF-C) при формировании дермального коллагена после локального холодового повреждения.

**Методы исследования**

Локальное холодовое повреждение проводили на беспородных самцах и самках крыс массой 180–200 г, содержащихся в одинаковых условиях, при стандартном пищевом режиме, в соответствии с Правилами лабораторной практики (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»), а также с учетом положений Международной Хельсинкской конвенции о гуманном отношении к животным (1972).

Контактное отморожение осуществляли по методике, предложенной В.В. Бойко и соавт. [22]: после наступления наркотического сна к депилированной коже спины крысы прикладывали металлическую гирьку диаметром 2,5 см, охлажденную в жидком азоте. В результате такого воздействия у экспериментальных животных развивалось локальное отморожение III степени.

Вывод из эксперимента проводили путем передозировки средства для наркоза на 3, 7, 14 и 21-е сутки. Для получения статистически достоверных результатов группы формировали из 20 животных. Критерием исключения из эксперимента было присоединение вторичной инфекции.

Контрольную группу составили беспородные крысы той же массы тела, содержащиеся в таких же условиях, как и опытная группа. Крыс декапитировали с соблюдением принципов гуманности согласно приложению № 4 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления) животного» к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к Приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977).

**Методика определения содержания эозинофилов периферической крови и красного костного мозга**

Забор крови для гематологического исследования проводили после торакотомии путем пункции полости сердца перед выведением животного из эксперимента. Забор красного костного мозга осуществляли в соответствии с методом Е.И. Гольдберга, при котором использовали материал, непосредственно взятый из проксимального отдела бедренной кости [23]. Мазки крови и костного мозга после фиксации окрашивали по Романовскому – Гимзе и подсчитывали лейкограмму и миелограмму соответственно.

### Методика определения содержания коллагена дермы

Содержание коллагена дермы определяли в соответствии с разработанным нами способом [24]. Кусочек пораженной кожи забирали посредством панч-скальпеля № 5. На первом этапе кожу высушивали. Предварительно взвешенный и замороженный при  $-80^{\circ}\text{C}$  в 1 мл 0,9 % изотонического раствора хлорида натрия кусочек ткани высушивали в лиофильной сушилке при температуре  $-46^{\circ}\text{C}$  и давлении 0,040 мБар, измельчали путем нарезания микротомным лезвием на фрагменты толщиной не более 3 мм.

На втором этапе кожу подготавливали к ферментативному гидролизу. Полученные фрагменты помещали в градуированную пробирку Эппендорфа вместимостью 1,5 мл, заливали 1 мл 15 % водного раствора гидроксида натрия на 24 ч при температуре  $18-20^{\circ}\text{C}$ , после чего неоднократно промывали дистиллированной водой при температуре  $18-20^{\circ}\text{C}$  в объеме 1 мл. После достижения целевого уровня pH надосадочной жидкости 7,0 супернатант аспирировали дозатором таким образом, чтобы количество осадка в пробирке не превышало 0,3 мл. Полученный материал замораживали при  $-80^{\circ}\text{C}$ , высушивали в лиофильной сушилке и взвешивали на аналитических весах, определяя массу материала  $m_1$ .

На третьем этапе проводили ферментативный гидролиз коллагена. Полученный безводный осадок разводили в 900 мкл фосфатного буферного раствора (pH 7,0) и добавляли 100 мкл раствора коллагеназы (Россия), который заранее приготавливали путем растворения лиофильно высушенного препарата коллагеназы в 10 мл фосфатного буферного раствора (pH 7,0). Затем пробирку с содержимым устанавливали в шейкер-инкубатор ES-20 (BioSan, Латвия) при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  и интенсивно перемешивали в течение 2 ч. После этого пробирку центрифугировали при 13 400 об./мин в течение 5 мин, аспирировали дозатором надосадочную жидкость, добавляли дистиллированную воду до объема 1 мл, гомогенизировали полученный материал. Процедуру, включающую гомогенизацию путем ресуспендирования дозатором, центрифугирование, аспирацию надосадочной жидкости и добавление воды до объема 1 мл, повторяли 5 раз. После этого материал замораживали при  $-80^{\circ}\text{C}$ , лиофильно высушивали и взвешивали, определяя массу материала  $m_2$ . По разнице масс  $m_1$  и  $m_2$  определяли массу коллагена, содержавшегося в исследуемой

ткани. Процентное содержание коллагена в ткани определяли как отношение определенной массы коллагена к массе образца ткани.

Таким образом, содержание коллагена вычисляли по формуле

$$m_{\text{коллагена}} = m_1 - m_2,$$

где  $m_1$  — масса кожи до ферментативного гидролиза, г;  $m_2$  — масса кожи после ферментативного гидролиза, г.

Долю содержания коллагена в ткани вычисляли по формуле

$$\begin{aligned} \% \text{ содержание коллагена} &= \\ &= \frac{\text{масса коллагена}}{\text{масса образца ткани}} \cdot 100 \%. \end{aligned}$$

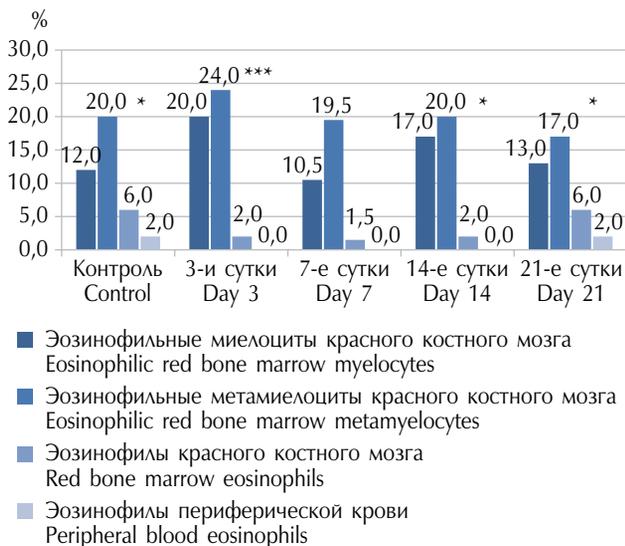
### Методика определения факторов роста

Пробы крови получали во время декапитации животных, затем центрифугировали при 15 000 об./мин и  $4^{\circ}\text{C}$  в течение 10 мин. На аппарате иммуноферментного анализа Multiskan Fc (Thermo Fisher, США) определяли факторы роста в сыворотке крови: фактор роста фибробластов крысы (FGF21) (ELISA, BioVendor, Чехия), инсулиноподобный фактор (IFG-1) (ELISA, Mediagnost, Германия), фактор роста эндотелия сосудов крысы (VEGF-C) (ELISA, Bender MedSystems, Австрия).

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы SPSS 13.0 for Windows. Выборки описывали путем расчета медианы ( $Md$ ) и межквартильного интервала ( $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ ). Вероятность различий оценивали по непараметрическим критериям Колмогорова – Смирнова и Уилкоксона. Корреляционный анализ проводили с использованием критерия Кендалла ( $\tau$ ).

### Результаты исследования

На 3-и сутки после локальной холодовой травмы (рис. 1) реактивные изменения регистрировали как в красном костном мозге, так и в периферической крови. Суть данных изменений заключалась в тенденции к увеличению концентрации эозинофильных миелоцитов (с 12,0 % (10,0; 23,0) до 20,0 % (13,0; 24,0);  $Z = 0,88$ ;  $p = 0,41$ ) и метамиелоцитов (с 20,0 % (10,0; 21,0) до 24,0 % (19,0; 30,0);  $Z = 1,28$ ;  $p = 0,07$ ) на фоне снижения содержания эозинофилов в красном костном мозге (с 6,0 % (2,0; 9,0) до 2,0 % (2,0; 5,0);  $Z = 1,16$ ;  $p = 0,16$ ) и, особенно, в периферической крови (с 2,0 % (1,0; 4,0) до 0,0 % (0,0; 1,0);  $Z = 1,98$ ;  $p = 0,001$ ).



**Рис. 1.** Соотношение содержания эозинофилов красного костного мозга и периферической крови у крыс после локальной холодовой травмы (Me, %); \*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

**Fig. 1.** The ratio of the content of eosinophils of red bone marrow and peripheral blood in rats after local cold damage (Me, %); \*  $p < 0.05$ ; \*\*\*  $p < 0.001$

На 7-е сутки в красном костном мозге наметилась обратная тенденция: снижение концентрации эозинофильных миелоцитов (до 10,5 % (9,0; 13,5);  $Z = 1,33$ ;  $p = 0,05$ ) и метамиелоцитов (до 19,5 % (12,0; 21,5);  $Z = 1,12$ ;  $p = 0,16$ ), что сопровождалось снижением уровня эозинофилов в красном костном мозге (до 1,5 % (0,0; 5,75)), в результате чего различие в содержании эозинофилов красного костного мозга и периферической крови исчезло ( $W = -1,6$ ;  $p = 0,1$ ) (рис. 1). На 14-е сутки после локальной холодовой травмы в красном костном мозге прослеживалась слабая тенденция к увеличению уровня эозинофильных миелоцитов (до 17,0 % (9,0; 23,0);  $Z = 0,92$ ;  $p = 0,35$ ) и эозинофилов (до 2,0 % (1,0; 3,0);  $Z = 0,47$ ;  $p = 0,97$ ) без изменений концентрации их в периферической крови, что привело к восстановлению различий в содержании эозинофилов в красном костном мозге и периферической крови ( $W = -2,03$ ;  $p = 0,04$ ). Только на 21-е сутки эксперимента наблюдали увеличение содержания эозинофилов как в красном костном мозге (до 6,0 % (4,5; 9,5);  $Z = 1,68$ ;  $p = 0,007$ ), так и в периферической крови (до 2,0 % (1,0; 3,0);  $Z = 1,26$ ;  $p = 0,08$ ) на фоне снижения концентрации эозинофильных миелоцитов (до 13,0 % (9,5; 13,5);  $Z = 1,18$ ;  $p = 0,12$ ) и метамиелоцитов (до 17,0 % (16,0; 23,5);  $Z = 1,14$ ;  $p = 0,14$ ).

В первые трое суток после холодового повреждения доля коллагена дермы статистически значимо снизилась (с 70,3 % (69,5; 71,5) до 23,7 % (21,3; 25,0);  $Z = 1,79$ ;  $p = 0,003$ ) (рис. 2, a). Начиная с 3-х суток значение изучаемого показателя начало увеличиваться, достигнув к 7-м суткам 38,8 % (36,9; 40,1) ( $Z = 1,79$ ;  $p = 0,003$ ), к 14-м суткам — 52,1 % (50,8; 59,8) ( $Z = 1,79$ ;  $p = 0,003$ ), а к 21-м суткам — 58,6 % (56,5; 59,8) ( $Z = 1,79$ ;  $p = 0,003$ ).

Снижение концентрации FGF21 на 3-и сутки после локальной холодовой травмы (с 487,7 пг/мл (423,4; 610,6) до 209,6 пг/мл (69,0; 303,1);  $Z = 0,47$ ;  $p = 0,84$ ) сменилось увеличением, достигнув пикового значения на 7-е сутки (827,1 пг/мл (514,9; 1798,3);  $Z = 1,28$ ;  $p = 0,07$ ) (рис. 2, b). После 7-х суток вновь сформировалась тенденция к снижению, в результате чего на 21-е сутки концентрация FGF21 была такой же, как в группе контроля (494,2 (389,2; 749,4);  $Z = 0,44$ ;  $p = 0,98$ ).

Концентрация инсулиноподобного фактора роста IGF-1 в первые трое суток после локальной холодовой травмы снизилась с 6,0 пг/мл (2,3; 10,8) до 2,2 пг/мл (1,5; 9,2);  $Z = 1,24$ ;  $p = 0,09$  (рис. 2, c). К 7-м суткам его содержание в плазме увеличилось (до 12,9 пг/мл (4,0; 18,0);  $Z = 1,16$ ;  $p = 0,13$ ). Статистически значимое максимальное значение зарегистрировано на 14-е сутки (до 18,0 пг/мл (10,2; 21,0);  $Z = 1,92$ ;  $p = 0,001$ ) и сохранялось до окончания эксперимента.

Содержание васкулоэндотелиального фактора роста VEGF-C в сыворотке крови крыс снизилось к 3-м суткам (с 417,2 пг/мл (113,8; 646,9) до 209,6 пг/мл (69,0; 303,1);  $Z = 1,07$ ;  $p = 0,19$ ) (рис. 2, d). Затем его концентрация увеличивалась до уровня контрольной группы к 7-м суткам (464,0 пг/мл (204,0; 648,0);  $Z = 0,57$ ;  $p = 0,90$ ) и до 14-х суток (440,6 пг/мл (154,6; 719,5);  $Z = 0,51$ ;  $p = 0,95$ ). После чего происходило резкое увеличение концентрации к 21-м суткам (1684,8 пг/мл (614,8; 1899,4);  $Z = 1,80$ ;  $p = 0,003$ ).

## Обсуждение результатов

Итак, суть реактивных изменений заключается в формировании эозинопении уже на 3-и сутки после локальной холодовой травмы: 0,0 % (0,0; 1,0) против 2,0 % (1,0; 4,0) ( $Z = 1,98$ ;  $p = 0,001$ ). Как известно, эозинопения встречается при острых вирусных и бактериальных инфекциях, а также при обострении хронических инфекционных заболеваний [25]. Учитывая возможность увеличения секреции

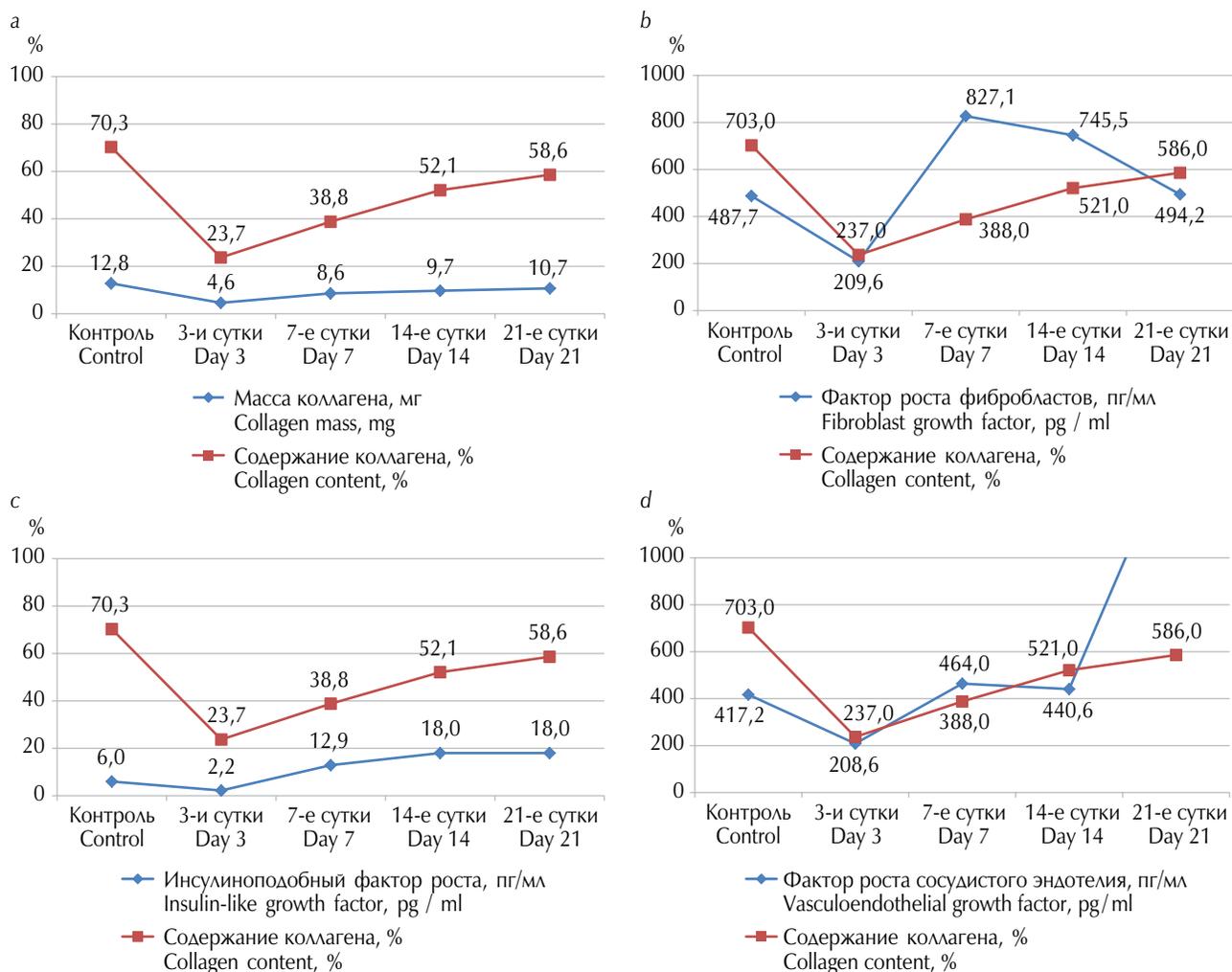


Рис. 2. Динамика концентрации факторов роста и содержания коллагена

Fig. 2. The dynamics of the concentration of growth factors and collagen content

кортикостероидов и адrenomокортикотропного гормона в ответ на холодовое повреждение, можно полагать, что механизмом, вызывающим эозинопению, является прекращение выхода в кровь костномозговых эозинофилов, что должно сопровождаться увеличением в красном костном мозге количества эозинофилов [26]. В соответствии с полученными данными увеличивается лишь содержание эозинофильных миелоцитов (с 12,0 % (10,0; 23,0) до 20,0 % (13,0; 24,0);  $Z = 0,88$ ;  $p = 0,41$ ), которые способны к митозу, а также эозинофильных метамиелоцитов (с 20,0 % (10,0; 21,0) до 24,0 % (19,0; 30,0);  $Z = 1,28$ ;  $p = 0,07$ ), которые вступать в митоз не могут [27]. В отношении зрелых костномозговых эозинофилов наблюдается обратная реакция — их содержание снижается (с 6,0 % (2,0; 9,0) до 2,0 % (2,0; 5,0);  $Z = 1,16$ ;  $p = 0,16$ ). Таким образом, складывается впечатление, что при локальной холодовой травме

эозинопения не возникает вследствие задержки выхода в кровь костномозговых эозинофилов. Это подтверждает развитие эозинопении у животных, перенесших адrenalэктомию [25]. Вполне вероятно, что эозинопения после локальной холодовой травмы развивается за счет секвестрации эозинофилов в зоне поражения. О секвестрации эозинофилов в тканях при аллергических и ревматических заболеваниях, а также при опухолях известно, но отличие от указанных состояний состоит в наличии эозинопении, а не эозинофилии после локальной холодовой травмы [28].

Представляет интерес изучение динамики реактивных изменений после локальной холодовой травмы. Так эозинопения проявляется уже на 3-и сутки. На 7-е сутки после локальной холодовой травмы медиана содержания костномозговых эозинофилов достигла минимального значения — 1,5 % (0,0; 5,75), в результате чего

различие в содержании эозинофилов в красном костном мозге и периферической крови исчезло ( $W = -1,6$ ;  $p = 0,1$ ), что явилось отличием от показателей в предыдущие и последующие сутки эксперимента. Снижение концентрации костномозговых эозинофилов сопровождалось снижением концентрации эозинофильных миелоцитов до минимума (10,5 % (9,0; 13,5)). На 14-е сутки увеличивалось содержание миелоцитов и костномозговых эозинофилов и восстанавливалось различие в концентрации эозинофилов в красном костном мозге и периферической крови ( $W = -2,03$ ;  $p = 0,04$ ). Только на 21-е сутки после локальной холодовой травмы содержание костномозговых эозинофилов и эозинофилов крови было сопоставимо с данными показателями в контрольной группе.

Известно, что на 3-и сутки при III степени отморожения эпидермис полностью слущен, сосочковый слой дермы разрушен, а в сетчатой дерме отмечается выраженный фибриноидный некроз [1–5]. Вполне очевидно, что низкое содержание коллагена к 3-м суткам оказалось минимальным в силу того, что коллаген разрушен, а новые волокна не синтезировались. Учитывая снижение доли коллагена дермы в пораженном участке, положительно коррелирующее со снижением концентрации эозинофилов крови ( $\tau = 0,77$ ;  $p = 0,04$ ), можно полагать, что секвестрация эозинофилов на 3-и сутки связана в том числе с возможным разрушением поврежденного коллагена коллагеназой, содержащейся в гранулах зрелых эозинофилов [29, 30].

К 7–14-м суткам после локальной холодовой травмы зафиксирован прирост коллагена поврежденного участка, что указывает на максимальную синтетическую активность фибробластов именно в этот период. На 7-е сутки содержание коллагена дермы положительно коррелировало уже с костномозговыми эозинофилами, но не с эозинофилами крови ( $\tau = 0,73$ ;  $p = 0,04$ ). Принимая во внимание наличие прямой корреляции между содержанием коллагена дермы и костномозговыми эозинофилами на фоне исчезновения различия в содержании костномозговых эозинофилов и эозинофилов крови, создается впечатление, что на 7-е сутки после локального холодового повреждения для контроля коллагенообразования задействуются уже костномозговые эозинофилы.

Общая тенденция изучаемых факторов роста в первые трое суток после локального холодового повреждения заключается в снижении их концентрации в сыворотке одновременно со снижением содержания коллагена дермы

и развитием эозинопении. На 3-и сутки выявлены прямые корреляции между содержанием эозинофильных миелоцитов и VEGF-C ( $\tau = 0,0,62$ ;  $p = 0,02$ ), а также эозинофилов крови с FGF-21 ( $\tau = 0,55$ ;  $p = 0,04$ ).

После 3-х суток содержание факторов роста начинает увеличиваться, но характер последующей динамики у них различен. Так, концентрация FGF-21 достигает пикового значения в период максимальной синтетической активности фибробластов (с 7-х по 14-е сутки) и положительно коррелирует с концентрацией эозинофилов крови ( $\tau = 0,8$ ;  $p = 0,04$ ), а возвращается к контрольным значениям на 21-е сутки. Уровень IGF-1 в сыворотке достигает пикового значения на 14-е сутки и сохраняется до 21-х суток. Содержание VEGF-C достигает максимального значения только к 21-м суткам. Вследствие того что пик концентрации FGF-21 наблюдается с 7-х по 14-е сутки, IGF-1 — с 14-х по 21-е сутки, VEGF-C — на 21-е сутки, складывается впечатление о последовательном вовлечении в репаративный процесс изучаемых факторов роста.

Максимального значения уровень FGF-21 достигает в период с 7-х по 14-е сутки, когда наблюдается максимальная синтетическая активность фибробластов, что подтверждается увеличением содержания коллагена дермы. Поскольку в первые трое суток фокальные контакты между коллагеновым матриксом и фибробластами нарушены, можно полагать, что FGF-21 выступает совместно с эозинофилами тем стимулирующим фактором, который необходим для усиления синтетической функции фибробластов.

Максимальная секреция IGF-1 приходится на 14-е сутки и продолжается до 21-х суток. Вероятно, в этот период IGF-1 более активно участвует в регенерации при отсутствии корреляций с содержанием эозинофильных лейкоцитов красного костного мозга и крови.

Процессы ангиогенеза, формирования коллатерального кровообращения, восстановления подачи кислорода к тканям начинают более активно проявляться после 21-х суток, когда концентрация VEGF-C становится максимальной и в этот период также не коррелирует с уровнем эозинофилов.

Итак, реактивные изменения после локальной холодовой травмы не только в периферической крови, но и в красном костном мозге могут свидетельствовать об участии эозинофилов в процессах восстановления тканей после локальной холодовой травмы.

## Литература

1. Карайланов М.Г., Шелепов А.М., Сидельников В.О., и др. Термоизоляция пораженных тканей как профилактика некрозов при холодовых поражениях в вооруженных конфликтах // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2008. – № 1. – С. 70–73. [Karaylanov MG, Sheleпов AM, Sidel'nikov VO, et al. Termoisolation of the damage tissue – as prevention of necrosis at frostbites in the military conflicts. *Vestnik Rossiiskoi voenno-meditsinskoi akademii*. 2008;(1):70-73. (In Russ.)]
2. Мовчан К.Н., Коваленко А.В., Зиновьев Е.В., и др. Опыт проведения некрэктомии при глубоких отморожениях физическими способами воздействия на ткани // Вестник хирургии имени И.И. Грекова. – 2011. – Т. 170. – № 1. – С. 36–40. [Movchan KN, Kovalenko AV, Zinov'ev EV, et al. Experience with surgical necrectomy for deep frostbitis using physical means to influence the tissue. *Vestn Khir Im I I Grek*. 2011;170(1):36-40. (In Russ.)]
3. Никитенко В.И., Павловичев С.А., Полякова В.С., и др. Использование факторов роста фибробластов для лечения ран и ожогов // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2012. – № 12. – С. 72–76. [Nikitenco VI, Pavlovichev SA, Polyakova VS, et al. The use of fibroblast growth factor in wound and burn treatment. *Khirurgii (Mosk)*. 2012;(12):72-76. (In Russ.)]
4. Плотников Г.А., Ардашев И.П., Григорук А.А., и др. Диагностика поражения тканей в раннем периоде отморожений // Материалы конференции «Новые направления в клинической медицине»; Ленинск-Кузнецкий, 15–16 июня 2000 г. – Ленинск-Кузнецкий, 2000. – С. 162–163. [Plotnikov GA, Ardashev IP, Grigoruk AA, et al. Diagnostika porazheniya tkaney v rannem periode otmorozheniy. In: Proceedings of the Conference “Novye napravleniya v klinicheskoy meditsine”; Leninsk-Kuznetskiy, 15-16 Jun 2000. Leninsk-Kuznetskiy; 2000. P. 162-163. (In Russ.)]
5. Banzo J, Martinez Villen G, Abos MD, et al. Frostbite of the upper and lower limbs in an expert mountain climber: the value of bone scan in the prediction of amputation level. *Rev Esp Med Nucl*. 2002;21(5):366-369.
6. FINDERLE Z, CANKAR K. Delayed treatment of frostbite injury with hyperbaric oxygen therapy: a case report. *Aviat Space Environ Med*. 2002;73(4):392-394.
7. Байрейтер К., Франц П., Родеман Х. Фибробласты при нормальной и патологической терминальной дифференцировке, старении, апоптозе и трансформации // Онтогенез. – 1995. – Т. 26. – № 1. – С. 22–37. [Bayreyter K, Frants P, Rodeman Kh. Fibroblasty pri normal'noy i patologicheskoy terminal'noy differentsirovke, starenii, apoptoze i transformatsii. *Ontogenez*. 1995;26(1):22-37. (In Russ.)]
8. Бозо И.Я., Деев Р.В., Пинаев Г.П. «Фибробласт» – специализированная клетка или функциональное состояние клеток мезенхимного происхождения? Цитология. – 2010. – Т. 52. – № 2. – С. 99–109. [Bozo IY, Deev RV, Pinaev GP. Is «fibroblast» a specialized cell or a functional condition of mesenchymal cells derivatives? *Cell and tissue biology*. 2010;52(2):99-109. (In Russ.)]
9. Омеляненко Н.П., Слуцкий Л.И. Соединительная ткань. – М.: Известия, 2009. – 378 с. [Omel'yanenko NP, Slutskiy LI. Soedinitel'naya tkan'. Moscow: Izvestiya; 2009. 378 p. (In Russ.)]
10. Sorrell JM, Caplan AI. Fibroblast heterogeneity: more than skin deep. *J Cell Sci*. 2004;117(Pt 5):667-675. <https://doi.org/10.1242/jcs.01005>.
11. Grinnell F. Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. *Trends Cell Biol*. 2003;13(5):264-269. [https://doi.org/10.1016/s0962-8924\(03\)00057-6](https://doi.org/10.1016/s0962-8924(03)00057-6).
12. Kharitononkov A, Shanafelt AB. Fibroblast growth factor-21 as a therapeutic agent for metabolic diseases. *BioDrugs*. 2008;22(1):37-44. <https://doi.org/10.2165/00063030-200822010-00004>.
13. Завьялова О.В., Спиваковский Ю.М., Захарова Н.Б., и др. Ангиогенез и васкулоэндотелиальный фактор роста, роль в патологии желудочно-кишечного тракта // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – № 10. – С. 77–82. [Zav'yalova OV, Spivakovskiy YM, Zakharova NB, et al. Angiogenesis and vascular endothelial growth factor, role in the pathology of the gastrointestinal tract. *Experimental & clinical gastroenterology*. 2014;(10):77-82. (In Russ.)]
14. Казакова В.С., Чувев В.П., Новиков О.О., и др. Использование факторов роста в восстановлении костной ткани (обзор) // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия «Медицина. Фармация». – 2011. – № 4-2. – С. 5–12. [Kazakova VS, Chueev VP, Novikov OO, et al. Ispol'zovanie faktorov rosta v vosstanovlenii kostnoy tkani (obzor). *Meditsina, farmatsiia*. 2011;(4-2):5-12. (In Russ.)]
15. Прошай Г.А., Ворохобина Н.В., Загарских Е.Ю., и др. Фактор роста фибробластов 21 и его влияние на метаболические процессы в организме человека // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2018. – Т. 13. – № 1. – С. 38–45. [Proshchay GA, Vorokhobina NV, Zagarskikh EY, et al. Fibroblast growth factor 21 and its influence on metabolic processes in the human body. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 11, Meditsina*. 2018;13(1):38-45. (In Russ.)]
16. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol*. 1995;146(5):1029-1039. 1869291.
17. Анаев Э.Х. Эозинофилы и эозинофилии // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2002. – № 3. – С. 15–18. [Anaev EK. Eozinofily i eozinofilii. *Atmosphere*. 2002;(3):15-18. (In Russ.)]
18. Бережная Н.М., Чехун В.Ф., Сепиашвили Р.И. Эозинофилы, базофилы и иммуноглобулин Е в противо-

- опухоловой защите // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т. 6. – № 1. – С. 38–49. [Berezhnaya NM, Chekhun VF, Sepiashvili RI. Eozinofily, bazofily i immunoglobulin E v protivopukholevoy zashchite. *Allergologiya i immunologiya*. 2005;6(1):38-49. (In Russ.)]
19. Гриншпун Г.Д., Виноградова Ю.Е. Эозинофилы и эозинофилии // Терапевтический архив. – 1983. – Т. 55. – № 10. – С. 87–90. [Grinshpun GD, Vinogradova YE. Eozinofily i eozinofilii. *Ter Arkh*. 1983;55(10):87-90. (In Russ.)]
20. Джальчинова В.Б., Чистяков Г.М. Эозинофилы и их роль в патогенезе аллергических заболеваний // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 1999. – Т. 44. – № 5. – С. 42–45. [Dzhal'chinova VB, Chistyakov GM. Eozinofily i ikh rol' v patogeneze allergicheskikh zabolevaniy. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii*. 1999;44(5):42-45. (In Russ.)]
21. Яковлева В.В., Степанова Т.Ф., Андросова Е.В., и др. Рост содержания лизосомальных катионных белков полиморфно-ядерных лейкоцитов как ответ организма на описторхозную инвазию // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2003. – № 3. – С. 7–10. [Yakovleva VV, Stepanova TF, Androsova EV, et al. Rost sodержaniya lizosomal'nykh kationnykh belkov polimorfno-yadernykh leykotsitov kak otvet organizma na opistorkhoznuyu invaziyu. *Med Parazitol (Mosk)*. 2003;(3):7-10. (In Russ.)]
22. Бойко В.В., Миловидова А.Э., Яновская Л.Г., и др. Изучение морфологических особенностей в тканях экспериментальных животных при моделировании холодовой травмы // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16. – № 3. – С. 526–528. [Boyko VV, Milovidova AE, Yanovskaya LG, et al. Izuchenie morfologicheskikh osobennostey v tkanyakh eksperimental'nykh zhyvotnykh pri modelirovanii kholodovoy travmy. *Visnik morfologii*. 2010;16(3):526-528. (In Russ.)]
23. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Провалова Н.В., и др. Роль нервной системы в регуляции кроветворения. – Томск: Изд-во Томского ун-та, 2004. – 146 с. [Gol'dberg ED, Dygay AM, Provalova NV, et al. Rol' nervnoy sistemy v regulyatsii krovetvoreniya. Tomsk: Izdatel'stvo Tomskogo univversiteta; 2004. 146 p. (In Russ.)]
24. Патент РФ на изобретение № 2689337/ 02.07.2018. Малявская С.И., Шутский Н.А., Шагров Л.Л., и др. Способ количественного определения коллагена в ткани. [Patent RUS №2689337/ 02.07.2018. Malyavskaya SI, Shutskiy NA, Shagrov LL, et al. Sposob kolichestvennogo opredeleniya kollagena v tkani. (In Russ.)]
25. Bass DA, Gonwa TA, Szejda P, et al. Eosinopenia of acute infection: Production of eosinopenia by chemotactic factors of acute inflammation. *J Clin Invest*. 1980;65(6):1265-1271. <https://doi.org/10.1172/JCI109789>.
26. Troen AM, Mitchell B, Sorensen B, et al. Unmetabolized folic acid in plasma is associated with reduced natural killer cell cytotoxicity among postmenopausal women. *J Nutr*. 2006;136(1):189-194. <https://doi.org/10.1093/jn/136.1.189>.
27. Speirs RS, Speirs EE, Ponzio NM. A Role for Eosinophils in Adaptive Humoral Immunity. *Open Immunol J*. 2010;2(1):168-186. <https://doi.org/10.2174/1874226200902010168>.
28. Lim KG, Weller PF. Eosinophilia and Eosinophil-Related Disorders In Middleton. In: *Allergy: Principles and Practice*. 5<sup>th</sup> ed. Mosby-Year Book; 1998. P. 950-956.
29. Rothenberg ME, Hogan SP. The eosinophil. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:147-174. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.24.021605.090720>.
30. Lacy P, Moqbel R. Eosinophil cytokines. *Chem Immunol*. 2000;76:134-155. <https://doi.org/10.1159/000058782>.

◆ Адрес автора для переписки (*Information about the author*)

Леонид Леонидович Шагров / Leonid L. Shagrov

<https://orcid.org/0000-0003-2655-9649>

E-mail: leonidshagrov@mail.ru