

**А. В. Ракуха**<sup>1,2</sup>, студентка II курсу магістратури  
**Є. Л. Голюк**<sup>2</sup>, к.мед.н., лікар ортопед-травматолог  
**Т. Є. Пшеничний**<sup>2</sup>, к.мед.н., лікар ортопед-травматолог  
**Т. С. Маслоva**<sup>2</sup>, лікар ортопед-травматолог

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
ННЦ «Інститут біології та медицини», кафедра мікробіології та імунології,  
проспект Академіка Глушкова 2, м. Київ, 03022, Україна.  
e-mail: annrakukha@mail.ru

<sup>2</sup>ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»,  
центр тканинної та клітинної терапії,  
вул. Бульварно-Кудрявська (Воровського) 27, м. Київ, 01601, Україна

## **ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ ЗБАГАЧЕНОЇ ТА ЗБІДНЕНОЇ НА ТРОМБОЦИТИ ПЛАЗМИ НА МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОФІЛЬ МОНОЦИТІВ АУТОЛОГІЧНОЇ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ *IN VITRO***

Метою роботи було провести порівняльну оцінку впливу плазми, збагаченої (L-PRP) та збідненої (PPP) на тромбоцити, на метаболізм аутологічних моноцитів периферичної крові здорових донорів *in vitro*. Дослідження проведені з використанням периферичної крові здорових чоловіків віком 35–40 років. Для характеристики метаболізму моноцитів визначали внутрішньоклітинну продукцію реактивних форм кисню (РФК) та фагоцитарну активність методом проточної цитофлуориметрії, продукцію нітритів у реакції Гріса та аргіназну активність колориметричним методом. Отримані результати свідчать про те, що обробка моноцитів аутологічними препаратами L-PRP і PPP спричиняє їх протизапальну метаболічну активацію.

**Ключові слова:** тромбоцити; збагачена, збіднена плазма; метаболічний профіль; моноцити.

Збагачена на тромбоцити плазма (PRP) набуває все більш широкого клінічного застосування. PRP – аутологічний препарат крові, що містить концентрат тромбоцитів, ресуспендований у невеликому об'ємі плазми. Результати низки клінічних досліджень дозволили рекомендувати концентрати тромбоцитів для активації репаративних процесів у щелепно-лицевій, серцевій хірургії, ортопедії, спортивній медицині, стоматології, естетичній медицині тощо [14, 17].

Вважають, що стимуляторний ефект PRP проявляється, якщо концентрація тромбоцитів у ній становить близько  $1 \cdot 10^6$ /мкл [15]. Препарати PRP містять фактори згортання, адгезивні білки, можуть утворювати фібриновий згусток. Активовані тромбоцити також виділяють низку факторів росту (ФР): епідермальний ФР, трансформований ФР бета, тромбоцитарний ФР, інсуліноподібний ФР, ФР фібробластів тощо), цитокіни (інтерлейкін-1 $\beta$ , інтерлейкін-8),

ангіогенні фактори (ФР ендотелію судин) [1, 8]. Використання PRP, завдяки підвищеній концентрації ФР, які стимулюють проліферацію клітин-попередників і васкуляризацію локальних ділянок тканини, дозволяє прискорити фізіологічні процеси репарації [2].

Препарати плазми, збідненої на тромбоцити (PPP), тривалий час використовувалися як контроль при порівняльній оцінці вмісту тромбоцитів у препаратах PRP, отриманих із застосуванням різних методичних підходів, а також як основа «фібринового клею» [10]. Однак, останнім часом за результатами експериментів кількох дослідницьких груп доведена здатність препаратів PPP самостійно стимулювати репаративні процеси [3, 12, 16].

Одними з ключових ефекторних клітин репаративних процесів, що активуються застосуванням препаратів PRP і PPP, є мононуклеарні фагоцити, у тому числі моноцити [5]. Однак, вплив концентратів тромбоцитів на метаболічний профіль цих клітин досліджений лише фрагментарно, а препаратів PPP – взагалі не досліджувався. Відомо, що обробка моноцитів PRP *in vitro* спричиняє зниження антигенпрезентувальної здатності цих клітин [4]. Алогенні препарати PRP гальмують диференціювання моноцитів на дендритні клітини [18]. Доведено, що концентрати тромбоцитів, застосовані як самостійно, так і у складі комплексної відновлювальної терапії, гальмують сигнальні шляхи мононуклеарних фагоцитів, що асоційовані з синтезом прозапальних цитокінів та ейкозаноїдів [6, 9].

Зниження продукції прозапальних медіаторів є відмінною характеристикою фагоцитів протизапального або альтернативного (M2) метаболічного профілю [11], для яких властива посилена продукція протизапальних медіаторів і підвищена, у порівнянні з класично активованими (M1) фагоцитами, ендочитарна активність. M2 клітини регулюють активність запальної реакції, сприяють реконструкції і репарації тканин, пошкоджених при запаленні, активують ангіогенез [13].

Метою роботи було провести порівняльну оцінку впливу плазми, збагаченої (L-PRP) та збідненої (PPP) на тромбоцити, на метаболізм аутологічних моноцитів периферичної крові здорових донорів *in vitro*.

### **Матеріали і методи дослідження**

У дослідженні взяли участь 6 здорових донорів, чоловіків віком 35–40 років. Критеріями відбору учасників дослідження були: відсутність соматичної патології та патології крові, відсутність прийому лікарських засобів упродовж 1 місяця до проведення досліджень. Матеріалом для досліджень була периферична кров, взята з антикоагулянтом. Усі донори дали інформовану згоду на участь у дослідженні, яке було затверджене Комітетом з біоетики ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України».

**Виділення моноцитів периферичної крові та їх обробка концентратами тромбоцитів.** Моноцити виділяли у градієнті щільності фікол-урографіну ( $\rho=1,068$ ), кількість виділених живих клітин підраховували в камері Горяєва із використанням трипанового синього, після цього доводили концентрацію живих клітин до  $1 \cdot 10^6$ /мл. Обробку виділених клітин концентратами тромбоцитів проводили упродовж 30 хв за температури  $37^\circ\text{C}$  для оцінки продукції внутрішньоклітинних реактивних форм кисню та фагоцитарної активності, а також упродовж 14 год при  $37^\circ\text{C}$  для оцінки продукції NO та аргіназної активності.

**Виділення концентратів тромбоцитів.** У дослідженні застосовували два препарати плазми з різним вмістом тромбоцитів: L-PRP – плазму з високою концентрацією тромбоцитів і лейкоцитами та PPP – плазму збіднену на тромбоцити.

L-PRP – отримували шляхом подвійного центрифугування, проведеного у два етапи. На першому – зразок крові центрифугували для розподілу на три фракції (еритроцитарну, лейкоцитарну і плазму, яка містить тромбоцити). На другому етапі плазму та лейкоцитарний шар відбирали і центрифугували для осадження клітин та їх концентрування. PPP отримували з L-PRP шляхом відбору з поверхневого (безклітинного) шару надосадової рідини [8].

Аналіз клітинного складу концентратів тромбоцитів проводили на автоматичному гематологічному аналізаторі PCE-200 (ERMA Inc., Японія).

**Оцінка продукції внутрішньоклітинних реактивних форм кисню моноцитами периферичної крові.** Рівень продукції внутрішньоклітинних реактивних форм кисню (РФК) визначали методом проточної цитофлуориметрії, використовуючи барвник 2'7'-дихлордигідро-флюоресцеїн-діацетат (ДХФ) (carboxy-H2DCFDA, Invitrogen, США), який перетворюється внутрішньоклітинними естеразами на нефлюоресцентну мембранонепроникну похідну карбокси-H2DCF. Карбокси-H2DCF окиснюється до флюоресцентної похідної карбокси-DCF внутрішньоклітинними РФК [7].

**Оцінка фагоцитарної активності моноцитів периферичної крові.** Фагоцитарну активність визначали методом проточної цитофлуориметрії, використовуючи як об'єкт фагоцитозу клітини *S. aureus Cowan I* (з колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології та імунології ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка), які культивували на м'ясо-пептонному агарі, інактивували нагріванням і мітили флюоресцеїн ізотіоціанатом (FITC). Результати представляли як відсоток фагоцитуючих клітин (фагоцитарне число, ФЧ) та інтенсивність фагоцитозу (фагоцитарний індекс, ФІ).

**Оцінка продукції NO та аргіназної активності моноцитів периферичної крові.** Для характеристики продукції NO моноцитами визначали рівень продукції ними нітритів за реакцією Гріса. Для визначення аргіназної активності проводили реакцію гідролізу L-аргініну. Облік результатів концентрації нітри-

тів та сечовини проводили спектрофотометричним методом на мікроплейтфометрі при довжині хвилі 545 нм та 540 нм відповідно. Рівень нітритів та сечовини визначали за калібрувальною кривою, побудованою з використанням стандартних розчинів [19].

Для кожного варіанту досліджуваної проби ставили у трьох повторах.

Статистичне опрацювання отриманих результатів проводили з використанням методів варіаційної статистики з визначенням  $M \pm m$ . Статистично достовірними вважали відмінності за умов  $p \leq 0,05$ .

### Результати дослідження та їх обговорення

Фагоцитарна активність мононуклеарних фагоцитів реалізується із залученням великої групи рецепторів, у тому числі й рецепторів очищення. Підвищення ендоцитарної активності пов'язане, як правило, з посиленням експресії цих рецепторів і є ознакою альтернативної (M2) поляризації клітин [13].

Як показали результати досліджень (рис. 1а) обробка моноцитів аутологічними препаратами L-PRP та PPP викликає збільшення кількості ендоцитуючих клітин (ФЧ) у 1,4 та 2,1 разів відповідно.

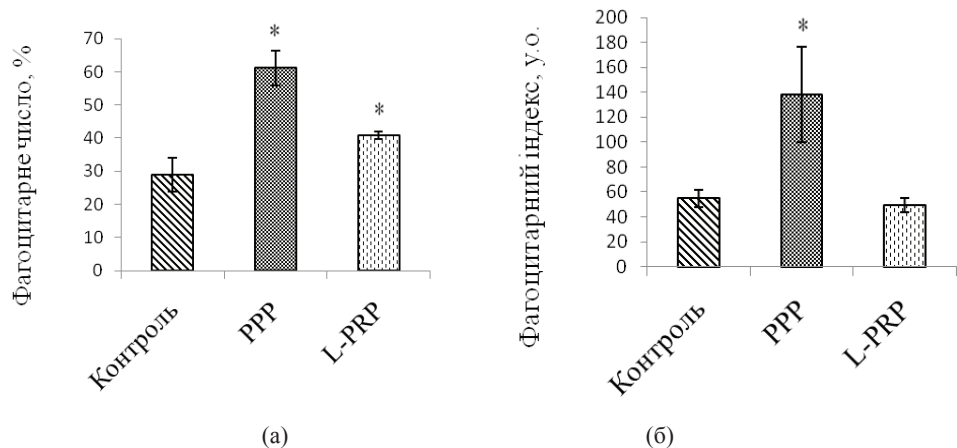


Рис. 1. Фагоцитарне число (а) та інтенсивність фагоцитозу (б) моноцитів периферичної крові здорових донорів ( $n=6$ ) після впливу PPP та L-PRP *in vitro*

Примітка: PPP – плазма збіднена на тромбоцити; L-PRP – плазма з високою концентрацією тромбоцитів та лейкоцитів; \* – достовірність відмінності показників клітин, інкубованих з PPP та L-PRP порівняно з необробленими клітинами,  $p \leq 0,05$ .

Інтенсивність фагоцитозу моноцитів, інкубованих з PPP, була більшою в 2,5 рази порівняно з контролем. На противагу цьому, істотних змін даного показника для клітин, інкубованих з L-PRP, не спостерігали (рис. 1б).

Продукція реактивних метаболітів кисню (РФК) та азоту (NO) асоціюється з цитотоксичною та антимікробною активністю мононуклеарних фагоци-

тів. Активація цих метаболічних процесів властива M1 макрофагам. Продукція РФК може спричинятися активацією внутрішньоклітинних естераз або НАДФН оксидаз. Застосований методичний підхід більшою мірою дозволяє оцінити продукцію РФК, опосередковану естеразами. За результатами досліджень рівень продукції внутрішньоклітинних РФК в клітинах, культивованих з L-PRP та PPP, був нижчим у 4,6 та 3,7 разів відповідно порівняно з аналогічним показником необроблених клітин (рис. 2)

Зниження оксидативного метаболізму після обробки моноцитів аутологічними препаратами L-PRP і PPP свідчить на користь зсуву їх метаболізму у бік протизапального профілю.

Спрямованість метаболізму аргініну – один з визначних маркерів метаболічного профілю мононуклеарних фагоцитів. Для альтернативно поляризованих фагоцитів характерна підвищена активність аргінази, що дозволяє їм конвертувати аргінін на орнітин, попередник поліамінів і колагену. Це сприяє формуванню позаклітинного матриксу. Крім того, утворені з орнітину поліаміни можуть впливати і на продукцію цитокінів, пригнічуючи клональну експансію лімфоцитів [20].

За результатами досліджень (рис. 3) аргіназна

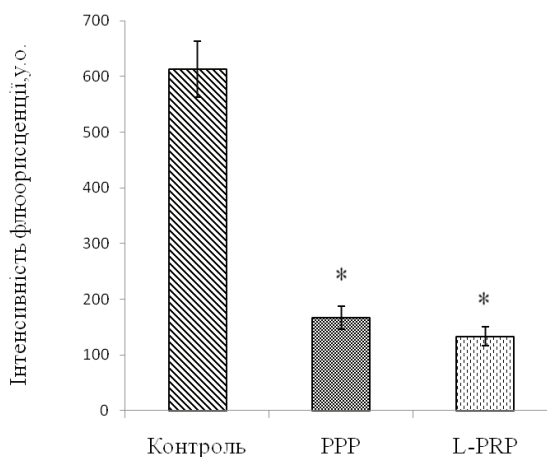


Рис. 2. Вплив PPP та L-PRP на продукцію внутрішньоклітинних реактивних форм кисню моноцитами периферичної крові здорових донорів ( $n=6$ ) *in vitro*

Примітка: всі позначення як на рис. 1.

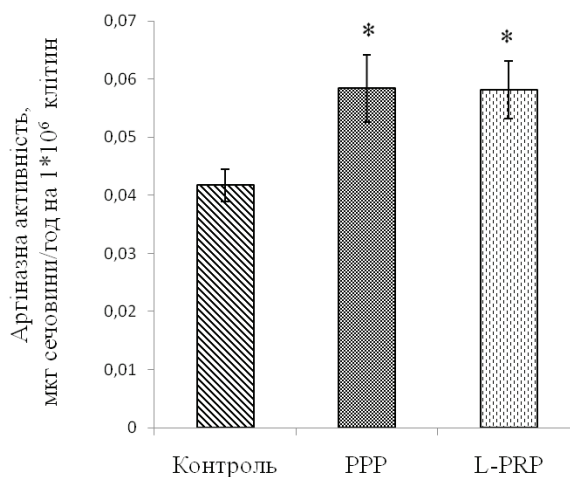


Рис. 3. Аргіназна активність моноцитів периферичної крові здорових донорів ( $n=6$ ) після впливу PPP та L-PRP *in vitro*

Примітка: всі позначення як на рис. 1.

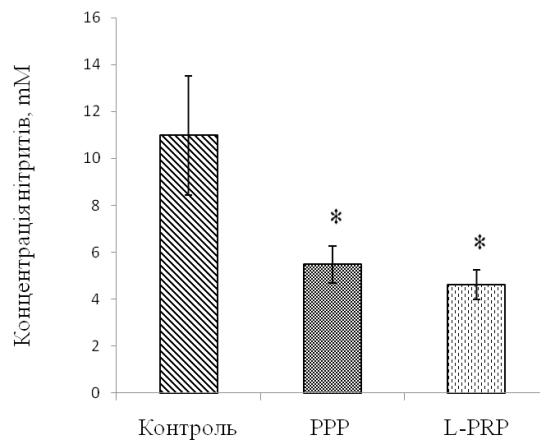


Рис. 4. Вплив PPP та L-PRP на продукцію NO моноцитами периферичної крові здорових донорів ( $n=6$ ) *in vitro*

Примітка: всі позначення як на рис. 1.

синтезу NO фагоцитами. За результатами досліджень рівень нітритів у супернатантах моноцитів, оброблених аутологічними препаратами L-PRP та PPP, був в 2,4 і 2 рази нижчим, ніж у супернатантах контрольних необроблених клітин (рис. 4).

Отримані дані свідчать на користь переважання в оброблених клітинах метаболізму аргініну аргіназами, що є однією з ознак їх протизапальної поляризації.

### Висновки

Сукупність отриманих результатів свідчить про те, що обробка моноцитів аутологічними препаратами L-PRP і PPP спричиняє їх протизапальну метаболічну активацію. Слід відмітити, що статистично вірогідної різниці між модуляторним ефектом препаратів PPP та L-PRP не було зареєстровано. Це дозволяє розглядати препарати PPP як ефективний засіб активації протизапального метаболічного профілю фагоцитів, необхідного у процесах реконструкції і репарації тканин.

### Перспективи подальших досліджень

Використання препаратів PPP у регенеративній медицині дозволить запобігти інгібіторному впливу тромбоцитів, присутніх у препаратах L-PRP, на функціональне дозрівання регуляторних T-клітин, необхідних для ефективного перебігу репаративних реакцій.

Стаття надійшла до редакції 22.03.2017

### Список використаних джерел

1. Anitua E. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration / E. Anitua, I. Andia, B. Ardanza [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2004. – Vol. 91. – P. 4–15.
2. Boyapati L. The role of platelet-rich plasma in sinus augmentation: a critical review / L. Boyapati, H. L. Wang // *Implant Dent.* – 2006. – Vol. 15. – P. 160–170.
3. Caceres M. Effects of platelet-rich and -poor plasma on the reparative response of gingival fibroblasts / C. Martínez, J. Martínez, P. C. Smith // *Clin Oral Implants Res.* – 2012. – Vol. 23, № 9. – P. 1104–1111.
4. Czakai K. Influence of Platelet-rich Plasma on the immune response of human monocyte-derived dendritic cells and macrophages stimulated with *Aspergillus fumigatus* / K. Czakai, M. Dittrich, M. Kaldorf [et al.] // *Int J Med Microbiol.* – 2016. – Vol. 9. – P. 1–13.
5. Das A. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration / A. Das, M. Sinha, S. Datta [et al.] // *Am J Pathol.* – 2015. – Vol. 185, № 10. – P. 2596–2606.
6. El-Sharkawy H. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties / H. El-Sharkawy, A. Kantarci, J. Deady [et al.] // *J Periodontol.* – 2007. – Vol. 78, № 4. – P. 661–669.
7. Hor-Yue Tan. The Reactive Oxygen Species in Macrophage Polarization: Reflecting Its Dual Role in Progression and Treatment of Human Diseases / Hor-Yue Tan [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2016. – Vol. 2017. – P. 16.
8. Kakudo N. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts / N. Kakudo, T. Minakata, T. Mitsui [et al.] // *Plast Reconstr Surg.* – 2008. – Vol. 122. – P. 1352–1360.
9. Kim Y. H. Enhancement of bone regeneration by dual release of a macrophage recruitment agent and platelet-rich plasma from gelatin hydrogels / Y. H. Kim, H. Furuya, Y. Tabata // *Biomaterials.* – 2014. – Vol. 35, № 1. – P. 214–224.
10. Man D. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery / D. Man, H. Plosker, J. E. Winland-Brown // *Plast Reconstr. Surg.* – 2001. – Vol. 107, № 1. – P. 229–37.
11. Mantovani A. Macrophage diversity and polarization.: in vivo veritas / A. Mantovani // *Blood.* – 2006. – Vol. 108, № 2. – P. 408–409.
12. Martínez C. E. Platelet-poor and platelet-rich plasma stimulate bone lineage differentiation in periodontal ligament stem cells / C. E. Martínez, S. A. Gonzalez, V. Palma, P. C. Smith // *J. Periodontol.* – 2016. – Vol. 87, № 2. – P. 18–26.
13. Martinez F. O. Macrophage activation and polarization / F. O. Martinez, A. Sica, A. Mantovani, M. Locati // *Front. Biosci.* – 2008. – Vol. 1, № 13. – P. 453–461.
14. Marx R. E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use / R. E. Marx // *J. Oral Maxillofac Surg.* – 2004. – Vol. 62. – P. 489–496.
15. Marx R. E. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? / R. E. Marx // *Implant Dent.* – 2001. – Vol. 10, № 4. – P. 225–228.
16. Miroshnychenko O. The use of platelet-rich and platelet-poor plasma to enhance differentiation of skeletal myoblasts / O. Miroshnychenko, W. T. Chang, J. L. Drago // *Am. J. Sports Med.* – 2016. – Vol. 1. – P. 36.
17. Niewczas P. Use of platelet-rich plasma in orthopaedics and traumatology / P. Niewczas [et al.] // *Medical Studies/Studia Medyczne.* – 2016. – Vol. 32, № 1. – P. 63–68.
18. Papait A. Allogeneic platelet-rich plasma affects monocyte differentiation to dendritic cells causing an anti-inflammatory microenvironment putatively fostering the wound healing / A. Papait, R. Cancedda, M. Mastrogiacomo, A. Poggi // *J. Tissue Eng Regen Med.* – 2016. – P. 1–31.
19. Reiner N. E. Macrophages and dendritic cells. Methods and Protocols / N. E. Reiner // NY: Humana Press. – 2009. – P. 368.
20. Vega M. A. Human macrophage activation: too many functions and phenotypes for a single cell type / M. A. Vega, A. L. Corbi // *Immunologia.* – 2006. – Vol. 25. – P. 248–272.
21. Yang G. Y. Induced nitric oxide synthase as a major player in the oncogenic transformation of inflamed tissue / G. Y. Yang, S. Taboada, J. Liao // *Methods Mol Biol.* – 2009. – Vol. 512. – P. 119–156.

**А. В. Ракуха<sup>1,2</sup>, Е. Л. Голюк<sup>2</sup>, Т. Е. Пшеничный<sup>2</sup>, Т. С. Маслова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, ОНЦ «Институт биологии и медицины», кафедра микробиологии и иммунологии, проспект Академика Глушкова 2, Киев, 03022, Украина.

<sup>2</sup>ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», центр тканевой и клеточной терапии, ул. Бульварно-Кудрявская (Воровского) 27, Киев, 01601, Украина

### **ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ОБОГАЩЕННОЙ И ОБЕДНЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ МОНОЦИТОВ АУТОЛОГИЧНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO***

#### **Резюме**

Целью работы было провести сравнительную оценку влияния плазмы, обогащенной (L-PRP) и обедненной (PPP) тромбоцитами, на метаболизм аутологичных моноцитов периферической крови здоровых доноров *in vitro*. Исследования проведены с использованием периферической крови здоровых доноров, мужчин в возрасте 35–40 лет. Для характеристики метаболизма моноцитов определяли внутриклеточную продукцию реактивных форм кислорода (РФК) и фагоцитарную активность методом проточной цитофлюориметрии, продукцию нитритов в реакции Гриса и аргиназную активность колориметрическим методом. Полученные результаты свидетельствуют о том, что обработка моноцитов аутологичными препаратами L-PRP и PPP вызывает их противовоспалительную метаболическую активацию.

**Ключевые слова:** обогащенная и обедненная тромбоцитами плазма, метаболический профиль моноцитов.

**A. V. Rakukha<sup>1,2</sup>, Y. L. Holiuk<sup>2</sup>, T. Y. Pshenychnyi<sup>2</sup>, T. S. Maslova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, ESC Institute of Biology and medicine, department of microbiology and general immunology, 2, Glushkov Ave., Kyiv, 03022, Ukraine.

<sup>2</sup>Institute of Orthopedics and Traumatology of NAMS of Ukraine, center of tissue and cell therapy, 27, Bulvarno-Kudriavska Street, Kyiv, 01601, Ukraine

### **THE EFFECT OF PLATELET-RICH AND PLATELET-POOR PLASMA ON METABOLIC PROFILE OF AUTOLOGOUS HUMAN MONOCYTES *IN VITRO***

#### **Abstract**

The aim of the study was to perform the comparative investigation of the effect of platelet-rich (PRP) and platelet-poor (PPP) plasma on autologous human monocyte metabolism *in vitro*. Adult healthy 35–40 year old men were recruited to participate in the study. To characterize monocyte metabolism intracellular production of reactive oxygen species (ROS) and phagocytic activity were determined by flow



cytometry, with nitrite production being determined in Griess reaction and arginase activity – in colorimetric assay.

The obtained results suggest that treatment of monocytes with autologous L-PRP and PPP preparations causes their anti-inflammatory metabolic activation.

**Key words:** platelet-rich and platelet-poor plasma, monocyte metabolic profile.

## References:

- Anitua E., Andia I., Ardanza B., Nurden P., Nurden A. T. (2004) «Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration», *Thromb Haemost*, No 91, pp 4–15.
- Boyapati L., Wang H. L. (2006) «The role of platelet-rich plasma in sinus augmentation: a critical review», *Implant Dent*, No 15, pp 160–170.
- Caceres M., Martínez C., Martínez J., Smith P. C. (2012) «Effects of platelet-rich and -poor plasma on the reparative response of gingival fibroblasts», *Clin Oral Implants Res*, No 23, 9, pp 1104-11.
- Czakai K., Dittrich M., Kaldorf M., et al. (2016) «Influence of Platelet-rich Plasma on the immune response of human monocyte-derived dendritic cells and macrophages stimulated with *Aspergillus fumigatus*», *Int J Med Microbiol*, No 9, pp 30199-0.
- Das A., Sinha M., Datta S., Abas M., Chaffee S., Sen C. K., Roy S. (2015) «Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration», *Am J Pathol*, No 185, 10, pp 2596-606.
- El-Sharkawy H., Kantarci A., Deady J., Hasturk H., Liu H., Alshahat M., Van Dyke T. E. (2007) «Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties», *J Periodontol*, No 78, 4, pp 661-9.
- Hor-Yue Tan et al. (2016) «The Reactive Oxygen Species in Macrophage Polarization: Reflecting Its Dual Role in Progression and Treatment of Human Diseases», *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, No 16.
- Kakudo N., Minakata T., Mitsui T., Kushida S., Notodihardjo F. Z., Kusumoto K. (2008) «Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts», *Plast Reconstr Surg*, No 122, pp 1352–1360.
- Kim Y. H., Furuya H., Tabata Y. (2014) «Enhancement of bone regeneration by dual release of a macrophage recruitment agent and platelet-rich plasma from gelatin hydrogels», *Biomaterials*, No 35, 1, pp 214-24.
- Man D., Plosker H., Winland-Brown J. E. (2001) «The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery», *Plast Reconstr Surg*, No 107, 1, pp 229-37.
- Mantovani A. (2006) «Macrophage diversity and polarization.: in vivo veritas», *Blood*, No 108, 2, pp 408–409.
- Martinez C. E., Gonzalez S. A., Palma V., Smith P. C. (2016) «Platelet-poor and platelet-rich plasma stimulate bone lineage differentiation in periodontal ligament stem cells», *J Periodontol*, No 87, 2, pp 18-26.
- Martinez F. O., Sica A., Mantovani A., Locati M. (2008) «Macrophage activation and polarization», *Front. Biosci*, No 1, 13, pp 453-461.
- Marx R. E. (2004) «Platelet-rich plasma: evidence to support its use», *J Oral Maxillofac Surg*, No 62, pp 489-496.
- Marx R. E. (2001) «Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP?», *Implant Dent*, No 10, 4, pp 225-228.
- Miroshnychenko O., Chang W. T., Drago J. L. (2016) «The use of platelet-rich and platelet-poor plasma to enhance differentiation of skeletal myoblasts», *Am J Sports Med*, No 1, pp 36.
- Niewczas P., et al. (2016) «Use of platelet-rich plasma in orthopaedics and traumatology», *Medical Studies/ Studia Medyczne*, No 32, 1, pp 63-68.
- Papait A., Cancedda R., Mastrogiacomo M., Poggi A. (2016) «Allogeneic platelet-rich plasma affects monocyte differentiation to dendritic cells causing an anti-inflammatory microenvironment putatively fostering the wound healing», *J Tissue Eng Regen Med*, No 15, pp. 1-31.
- Reiner Neil E. (2009) «Macrophages and dendritic cells. Methods and Protocols», NY: Humana Press, pp 368.
- Vega M. A., Corbi A. L. (2006) «Human macrophage activation: too many functions and phenotypes for a single cell type», *Immunologia*, No 25, pp 248-272.
- Yang G. Y., Taboada S., Liao J. (2009) «Induced nitric oxide synthase as a major player in the oncogenic transformation of inflamed tissue», *Methods Mol Biol*, No 512, pp 119-56.