

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-65

ИЗУЧЕНИЕ РЕПАРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА PRP ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ НАРУШЕНИЕМ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

STUDY OF THE REPARATIVE POTENTIAL OF PRP IN PATIENTS WITH ACUTE INFLAMMATORY PROCESS

Т. И. Власова¹, Е. П. Бродовская^{1,2}, К. С. Мадонов¹, А. П. Абелова¹

¹Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва, Саранск

²Федеральный центр развития биотехнологий и медицины, Саранск

Т. И. Vlasova¹, Е. П. Brodovskaya^{1,2}, К. С. Madonov¹, А. П. Abelova¹

¹Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk

²Federal Center for Biotechnology and Medicine Development, Saransk

✉ abelova.ann@yandex.ru

Аннотация

Одним из применяемых методов лечения в регенеративной медицине является богатая тромбоцитами плазма (PRP) [1]. PRP — высокоэффективный аутологичный продукт, содержащий высокую концентрацию тромбоцитов, которые при активации высвобождают более 300 молекул, стимулирующих заживление тканей [2]. Однако по ряду причин действие препарата может существенно ухудшаться [3]. В исследовании выполнен анализ влияния сахарного диабета (СД) на терапевтические свойства PRP.

Abstract

One of the treatment methods used in regenerative medicine is platelet-rich plasma (PRP) [1]. PRP is a highly effective autologous product containing a high concentration of platelets, which, when activated, release more than 300 molecules that stimulate tissue healing [2]. However, a number of reasons can significantly worsen the effect of the drug [3]. The study analyzes the effect of diabetes mellitus on the therapeutic properties of PRP.

Цель — определить влияние СД на регенеративные свойства PRP путем оценки пролиферативной, миграционной, метаболической и секреторной активности дермальных фибробластов человека после их стимуляции PRP разных групп.

Материалы и методы

В исследовании участие 2 группы пациентов: 1-ю группу (К1) составили условно здоровые лица 30–40 лет, 2-ю группу (СД1) — больные СД той же возрастной категории. В общем анализе крови количество тромбоцитов достигало для К1 239,00 [232,75; 245,25]/мл, для СД1 — 212,00 [204,00; 217,00]/мл. PRP была получена с помощью одноэтапного центрифугирования. В готовых образцах число изучаемых форменных элементов у К1 достигло Me [IQR]: 647,0 [615;663]/мл, у СД1 — 623,0 [598;654]/мл.

Работа проведена с использованием иммортализованных дермальных фибробластов человека hTERT-HDFa (d220), предоставленных УНУ «Коллекция клеточных культур» ИБР РАН. Для реализации группы экспериментов предварительно замороженную плазму в концентрации 10 % активировали CaCl_2 (20 мкг/мл). В качестве отрицательного контроля 0 (К) выбраны образцы без добавления PRP, а положительного 0 (К 10 % FBS) — пробы с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (FBS).

Метаболическая активность клеток оценивалась с помощью МТТ-теста в течение 24, 48 и 72 ч. Жизнеспособность клеток оценивалась относительно 0 (К), взятого за 100 %.

Секреторная активность клеток анализировалась в течение 2,4 и 24 ч путем оценки степени окисления 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата (Lumiprobe, Россия). Изучение миграционной и пролиферативной активности проведено *in vitro* (scratch assay) через 0 и 24 ч. С помощью проточного цитометра устанавливалось количество экзосом.

Результаты

Через 24 ч после внесения PRP СД1 метаболическая активность и жизнеспособность фибробластов были значительно снижены как в сравнении с 0 (К) и 0 (К 10 % FBS), так и в сравнении с К1. Показатели К1 были сопоставимы с 0 (К 10 % FBS), где жизнеспособность оказалась наивысшей.

Через 48 ч после наблюдения за обеими группами показатель жизнеспособности клеток был выше относительно 24 ч. Однако через 72 ч в группе К1, в отличие от группы СД1, метаболическая активность клеток снизилась ввиду увеличения их числа.

В группе СД1 генерация АФК была достоверно выше относительно 0 (К 10 % FBS) и К1.

Внесение PRP СД1 увеличило число некрозов фибробластов в 7–15 раз ($p < 0,001$) относительно К1. Статистически значимых межгрупповых различий по параметру «Апоптоз клеток» выявлено не было.

Через 48 ч регистрировали полное закрытие раны, поэтому достоверных различий между группами при оценке миграционной и пролиферативной активности ДФЧ после стимуляции PRP выявлено не было. Такие же результаты были получены при анализе секреторной активности клеток и количества экзосом.

Выводы

Таким образом, выявлено, что PRP пациентов с СД обладает более выраженными прооксидантными свойствами, чем PRP условно здоровых доноров. Отмечено, что внесение PRP СД1 существенно снижает метаболическую активность и жизнеспособность ДФЧ, что может быть обусловлено токсическими веществами плазмы. Увеличение некроза также ассоциировано с СД, а повышенный синтез АФК влечет за собой снижение пролиферативной активности клеток. Проведенные исследования открывают новые направления в изучении путей повышения эффективности PRP-терапии при заболеваниях, в том числе с СД.

Литература

1. Makarevich P. I., Tkachuk V. A. Fundamental and Practical Perspectives in Regenerative Medicine // Int. J. Mol. Sci. 2024. Vol. 25 (21).
2. Everts P. A., Lana J. F., Alexander R. W. et al. Profound Properties of Protein-Rich, Platelet-Rich Plasma Matrices as Novel, Multi-Purpose Biological Platforms in Tissue Repair, Regeneration, and Wound Healing // Int. J. Mol. Sci. 2024. Vol. 25 (14).
3. Mastrogiacomo M., Nardini M., Collina M. C. et al. Innovative Cell and Platelet Rich Plasma Therapies for Diabetic Foot Ulcer Treatment: The Allogeneic Approach // Front. Bioeng. Biotechnol. 2022. Vol. 10.