

РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ СВОЙСТВА PRP ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 И 2 ТИПОВ

Власова Т.И., Бродовская Е.П., Мадонов К.С., Абелова А.П., Лошкарева А.И.

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, Россия;

MKS-34@yandex.ru

Цель исследования – изучение регенеративных свойств обогащенной тромбоцитами плазмы (PRP) у пациентов с сахарным диабетом (СД) 1 и 2 типов (СД1, СД2) *in vitro* в культуре фибробластов кожи человека (ФКЧ). В исследовании приняли участие 10 пациентов с СД1 и СД2 (5:5) и 10 условно-здоровых лиц, кровь которых была использована для изготовления PRP: забор при помощи вакуумных систем, однократное центрифугирование, отбор 1 мл верхней фракции из зоны над лейкоцитарным кольцом. PRP добавляли в культуральную среду ФКЧ в концентрации 10% с предварительной активацией тромбоцитов физико-химическим способом (размораживание после замораживания и добавление 10% р-ра хлорида кальция), для отрицательного контроля использовали среду без PRP, для положительного – заменяли PRP на бычью сыворотку в аналогичной концентрации. Проводили следующие тесты: МТТ-тест (оценка жизнеспособности ФКЧ по их метаболической активности), АФК-тест (оценка активности продукции активных форм кислорода ФКЧ), флуоресцентная микроскопия (оценка жизнеспособности ФКЧ и определение типа клеточной гибели), scratch-assay (оценка пролиферативной и миграционной активности ФКЧ), иммуноферментный анализ (оценка секреторной активности ФКЧ). Также определяли концентрации фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), трансформирующего фактора роста (TGF), тромбоцитарного фактора роста (PDGF), ингибитора активации плазминогена (PAI-1), интерлейкина 6 (IL-6), интерлейкина 10 (IL-10) в PRP. У пациентов с СД отмечено снижение IL-10 и TGF в PRP по сравнению с данными условно-здоровых лиц. При действии PRP пациентов с СД1 отмечено длительное (более 48 часов) снижение пролиферативной активности ФКЧ, выраженное повышение продукции активных форм кислорода и цитотоксические эффекты со снижением метаболической активности и жизнеспособности клеток и с повышением частоты некроза, при этом не отмечено влияния на миграционную активность ФКЧ. При действии PRP пациентов с СД2 отмечено менее продолжительное (до 24 часов) снижение пролиферативной и метаболической активности ФКЧ, а также увеличение частоты апоптоза и некроза. Результаты статистического анализа продемонстрировали значимость PAI-1, TGFB1, PDGF, VEGF для стимуляции регенерации при СД1, при СД2 выявлена значимость PAI-1, TGFB1, VEGF, IL6. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00278, (<https://rscf.ru/project/24-25-00278/>).

REGENERATIVE FEATURES OF PRP IN TYPE 1 AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Vlasova Tat'yana, Brodovskaya Ekaterina, Madonov Konstantin, Abelova Anna, Loshkareva Anna
Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia; MKS-34@yandex.ru

The aim of the research is to study the regenerative properties of platelet-rich plasma (PRP) in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus (DM, DM1, DM2) in vitro in human skin fibroblast (HSF) culture. The study involves 10 patients with DM1 and DM2 (5:5) and 10 conditionally healthy individuals whose blood was used to make PRP: sampling using vacuum systems, single centrifugation, and sampling of 1 ml of the upper fraction from the area above the buffy-coat. We added PRP to the HSF culture medium at a concentration of 10% with preliminary platelet activation by a physico-chemical method (thawing after freezing and adding 10% calcium chloride solution). We used a medium without PRP for negative control and we have PRP replaced with bovine serum at a similar concentration for positive control. We performed the following tests: MTT test (assessment of the viability of HSF by their metabolic activity), ROS test (assessment of the activity of the production of reactive oxygen species of HSF), fluorescence microscopy (assessment of the viability of HSF and determination of the type of cell death), scratch assay (assessment of the proliferative and migratory activity of HSF), enzyme immunoassay (assessment of secretory HSF activity). We also determined concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor (TGF), platelet-derived growth factor (PDGF), plasminogen activation inhibitor (PAI-1), interleukin 6 (IL-6), and interleukin 10 (IL-10) in PRP. We observed a decrease in IL-10 and TGF in PRP of patients with DM in comparison with the conditionally healthy individuals. We observed a prolonged (more than 48 hours) effect of PRP in patients with DM1: a decrease in the proliferative activity of HSF, a marked increase in the production of reactive oxygen species and cytotoxic effects with a decrease in metabolic activity and cell viability and an increase in the frequency of necrosis, while no effect on the migration activity of HSF was noted. The effect of PRP of patients with DM2 had a shorter duration (up to 24 hours): a decrease in the proliferative and metabolic activity of HSF, as well as an increase in the frequency of apoptosis and necrosis. The results of statistical analysis demonstrated the importance of PAI-1, TGFB1, PDGF, VEGF for stimulating regeneration in DM1, and PAI-1, TGFB1, VEGF, and IL6 in DM2. This research is funded by Russian Science Foundation, grant number 24-25-00278 (<https://rscf.ru/project/24-25-00278/>).