10.46235/1028-7221-17513-CCI

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ЛИЗАТА ТРОМБОЦИТОВ

Гончаров А. Г. [1],
Шуплецова В. В. [1],
Мелащенко О. Б. [1],
Газатова Н. Д. [1],
Хазиахматова О. Г. [1],
Малащенко В. В. [1],
Кабанчук Н. А. [2],
Затрускина И. С. [2],
Литвинова Л. С. [1]

[1] ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Калининград, Россия
[2] ГБУЗ «Станция переливания крови Калининградской области», Министерства здравоохранения Калининградской области, г. Калининград, Россия

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

10.46235/1028-7221-17513-CCI

CYTOKINE CONTENT IN CELL CULTURE SUPERNATANTS WHEN CULTURED WITH VARIOUS FORMS OF PLATELET LYSATE

Goncharov A. G. [a],
Shupletsova V. V. [a],
Melashchenko O. B. [a],
Gazatova N. D. [a],
Khaziakhmatova O. G. [a],
Malashchenko V. V. [a],
Kabanchuk N. A. [b],
Zatruskina I. S. [b],
Litvinova L. S. [a]

[a] Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Immanuel Kant Baltic Federal University" of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Kaliningrad, Russia
[b] GBUZ "Blood Transfusion Station of the Kaliningrad Region", Ministry of Health of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russia

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.46235/1028-7221-17513-CCI

Резюме

В специальной литературе описано высокое содержание в лизате тромбоцитов (ЛТ) широкого спектра цитокинов и ростовых факторов; кроме того, отмечается что происхождение его из донорской крови в большей степени соответствует для культивирования клеток человека. Нами, на основе ЛТ разработана трофико-пролиферативная добавка в «нативном» и лиофилизированном вариантах. Эффекты трофико-пролиферативной добавки не ограничиваются влиянием на пролиферативную активность стволовых клеток. Хорошо известны положительные результаты ЛТ при лечении ран различного генеза, которые опосредованы не только привлечением в рану активированных нейтрофилов и макрофагов на ранних этапах заживления, но и иммунорегуляторными эффектами на регенеративной стадии заживления. Отмечено, что наиболее положительные результаты достигаются при применении комбинации продуктов лизата тромбоцитов с препаратами на основе фибрина.

Целью нашей работы явился анализ содержания цитокинов в супернатантах клеточных культур ММСК, полученных с добавлением дефибринированной инактивированной сыворотки человека или фосфатносолевым буфером, обогащенных лизатом тромбоцитов и фибрином.

Методы. Оценивалось содержание гепарин-связывающего фактора (FGF), фактора роста тромбоцитов (PDGF), фáктора рóста эндотéлия сосýдов (VEGF) и провоспалительных медиаторов – фактора некроза опухоли-альфа (TNF-α) и интерлейкина 1-бета (IL-1β).

Результаты. Содержание исследуемых факторов роста: PDGF, FGF, VEGF и плейотропного цитокина IL-1b, во всех исследуемых образцах, независимо от применения / отсутствия лиофилизации, было значимо выше референсных значений в плазме крови, но различные по составу варианты ростовой добавки продемонстрировали различные уровни секреции ростовых факторов. Содержание TNF-α во всех исследуемых группах была значимо ниже чувствительности прибора и референсных значений в плазме крови.

Выводы. Полученные в эксперименте результаты демонстрируют теоретическое основание для использования, обогащенного 10 % фибрином лизата тромбоцитов, с целью лечения ран. Мы предполагаем, что присутствующие в тканях мезенхимальные стволовые клетки под влиянием разработанной нами ростовой добавки, могут активно секретировать ряд ростовых факторов: PDGF, FGF, VEGF и др., стимулирующих ангиогенез, пролиферацию эпителиальных, мышечных клеток, фибробластов и синтез внеклеточного матрикса, способствуя заживлению ран. Отмеченная секреция IL-1β мало различалась в исследуемых группах, однако его присутствие, с

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

10.46235/1028-7221-17513-CCI
одной стороны, обеспечивает иммуномодулирующий эффект, с другой - активирует клетки соединительной ткани.

Ключевые слова: Цитокины, клеточные культуры, донорская кровь, лизат тромбоцитов, фибриновый гель.

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.46235/1028-7221-17513-CCI

Abstract

The literature describes the high content of a wide range of cytokines and growth factors in platelet lysate (PL). Furthermore, it is noted that its origin from donor blood is more suitable for culturing human cells. We have developed a trophic-proliferative supplement based on PL in both native and lyophilized forms. The effects of this trophic-proliferative supplement are not limited to its influence on the proliferative activity of stem cells. The positive results of PL in the treatment of wounds of various origins are well known. These results are mediated not only by the recruitment of activated neutrophils and macrophages to the wound in the early stages of healing, but also by immunoregulatory effects during the regenerative stage of healing. It has been noted that the most positive results are achieved with a combination of platelet lysate products and fibrin-based preparations. The aim of our study was to analyze cytokine levels in MMSC cell culture supernatants obtained with the addition of defibrinated inactivated human serum or phosphate-buffered saline, enriched with platelet lysate and fibrin.

Methods. We assessed the levels of heparin-binding factor (FGF), platelet-derived growth factor (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), and the proinflammatory mediators tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) and interleukin 1-beta (IL-1β).

Results. The levels of the studied growth factors (PDGF, FGF, VEGF), and the pleiotropic cytokine IL-1β) were significantly higher than plasma reference values in all samples, regardless of lyophilization. However, different growth supplement compositions demonstrated different levels of growth factor secretion. TNF-α levels in all study groups were significantly lower than the device's sensitivity and reference values in blood plasma.

Conclusions. The experimental results demonstrate a theoretical basis for using 10% fibrin-enriched platelet lysate for wound treatment. We hypothesize that mesenchymal stem cells present in tissues, under the influence of the growth supplement we developed, can actively secrete a number of growth factors (PDGF, FGF, VEGF, etc.), which stimulate angiogenesis, the proliferation of epithelial and muscle cells, fibroblasts, and extracellular matrix synthesis, promoting wound healing. The observed secretion of IL-1β differed little between the study groups; however, its presence provides an immunomodulatory effect and activates connective tissue cells.

Keywords: Cytokines, cell cultures, donor blood, platelet lysate, fibrin gel

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.46235/1028-7221-17513-CCI

1 Введение

Особенностью регенеративной медицины, в отличии от традиционной, является восстановление структуры и функции тканей и органов. В связи с этим, биомедицинские клеточные продукты представляют собой основные инструменты этого бурно развивающегося направления. Необходимым условием для получения высококлеточных и жизнеспособных культур клеток является использование качественных и доступных ростовых добавок. В практике клеточных биологов наиболее широко распространенной добавкой является фетальная бычья сыворотка (ФБС). Альтернативой ФБС выступает продукт, получаемый из лизата тромбоцитов (ЛТ). В специальной литературе хорошо описано содержание в ЛТ широкого спектра цитокинов и ростовых факторов; кроме того, отмечается что происхождение его из донорской крови в большей степени соответствует для культвирования клеток человека [5]. Однако, как отмечает большинство исследователей, продукты, получаемые из тромбоцитов, нуждаются в четкой стандартизации, как минимум, по содержанию основных ростовых факторов [11, 14]. Кроме того, желательным условием являются нетребовательность к температурным условиям и длительный срок хранения. Разработанная нами, на основе ЛТ - трофико-пролиферативная добавка в «нативном» и лиофилизированном вариантах, отвечает всем предъявляемым требованиям. Сравнительное исследование ростовой добавки с ФБС на различных культурах мезенхимальных мультпотентных стволовых клеток продемонстрировало по показателям жизнеспособности и пролиферативной активности или превосходящие, или как минимум, сопоставимые результаты [3, 4]. Эффекты трофико-пролиферативной добавки не ограничиваются влиянием на пролиферативную активность стволовых клеток. Хорошо известны положительные результаты ЛТ при лечении ран различного генеза, которые опосредованы не только привлечением в рану активированных нейтрофилов и макрофагов на ранних этапах заживления, но и иммунорегуляторными эффектами на регенеративной стадии заживления [12, 13, 15]. В специальной литературе отмечено, что наиболее положительные результаты достигаются при применении комбинации продуктов лизата тромбоцитов с препаратами на основе фибрина [9, 10]. Внеклеточный матрикс состоящий из нерастворимых фибриновых волокон, с одной стороны, формирует сгусток, препятствующий кровотечениям и защищающий от дополнительного инфицирования, с другой, способствует миграции в раневой очаг фибробластов и дополнительно стимулирует секрецию факторов ангиогенеза [6, 8]. Мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (МСК) присутствуют почти во всех тканях и играют фундаментальную роль в регенерации тканей. С одной стороны, будучи источниками экзосом, с другой обладая способностью секретировать ряд ростовых факторов и цитокинов, они модулируют воспалительную реакцию и ускоряют процессы заживления ран на молекулярном и клеточном уровнях [4, 7].

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.46235/1028-7221-17513-CCI

Целью нашей работы явился анализ содержания цитокинов в супернатантах клеточных культур ММСК, полученных с добавлением дефибринированной инактивированной сыворотки человека или фосфатносолевым буфером, обогащенных лизатом тромбоцитов и фибрином.

2 Материалы и методы:

В соответствии с целями и задачами исследования, был разработан алгоритм экспериментального блока, позволяющий оценить влияние ЛТ в лиофилизированной и не лиофилизированной формах на метаболические характеристики клеток в культуре in vitro. Для исследования использовались стволовые клетки жировой ткани (MMSC). Масштабирование ММСК перед экспериментом проводилось в полной питательной среде (ППС) DMEM с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (10%), 2 mM L-глутамина и по 100Ед/мкг/мл антибиотика с факторами роста EGF и FGF, в соответствии со стандартным протоколом.

После достижения 70-80% конфлюэнтности в масштабируемых флаконах, клетки снимали с подложки ферментативным методом, считали и высаживали в экспериментальные планшеты в количестве 0,1x10^6 кл/см2 в лунки 6-ти луночных планшетов содержащие четыре варианта экспериментальной среды:

Экспериментальная среда включала: базовую среду (DMEM/F12), L-глютамин 2 mM, раствор антибиотиков пенициллин 100ЕД/стрептомицин 100мкг/мл и в качестве ростовой добавки в нее вносили один из четырех вариантов ростовой добавки в соотношении 10%:

- Дефибринированную инактивированная сыворотку человека (СДИ), обогащенную лиофилизированным лизатом тромбоцитов (ТФКр) и фибрином (конечная концентрация в полной питательной среде 0,2 мг/мл), соотношение СДИ и ТФКр - 2:1;
- Дефибринированную инактивированная сыворотку человека, обогащенную не лиофилизированным лизатом тромбоцитов и фибрином (0,2 мг/мл), соотношение СДИ и ТФКр - 2:1;
- Фосфатносолевой буфер (PBS), обогащенный лиофилизированным лизатом тромбоцитов и фибрином (0,2 мг/мл), соотношение PBS и ТФКр - 2:1;
- Фосфатносолевой буфер, обогащенный не лиофилизированным лизатом тромбоцитов и фибрином (0,2 мг/мл), соотношение PBS и ТФКр - 2:1.

Лизат тромбоцитов в виде трофико-пролиферативной добавки получен в Центре иммунологии и клеточных биотехнологий БФУ им. И. Канта (Патент № RU2025108579A), Разработаны его «нативная» и лиофилизированная форма. Фибрин в форме фибринового геля выработан из донорской крови методом каскадной криопреципитации. В процессе эксперимента оценивалось субхроническое воздействие экспериментальных образцов, время экспозиции составляло 7 суток (ГОСТ Р ИСО 10993.11-99, ГОСТ ISO 10993-5-2023). Замена среды проводилась каждые 48 часов.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.46235/1028-7221-17513-CCI

Супернатанты клеточных культур ММСК собирали, в них проводили анализ следующих цитокинов: гепарин-связывающего фактора (FGF), фактора роста тромбоцитов (PDGF), фáктора рóста эндотéлия сосýдов (VEGF) и провоспалительных медиаторов – фактора некроза опухоли-альфа (TNF-α) и интерлейкина 1-бета (**IL-1β)** методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов для проведения ИФА (Вектор-БЕСТ, Россия; FineTest, Китай; Elabscience, США). Для каждого образца (варианта) ростовой добавки количество определений равнялось девяти.

3 Результаты и обсуждение

Перечень выбранных для тестирования цитокинов определялся, в первую очередь, функциональными характеристиками этих молекул. Молекулы семейства FGF стимулируют деление фибробластов, гладкомышечных клеток и эпителиоцитов. FGF, привлекает эндотелиальные и мезенхимные клетки к зонам повреждения, являются одним из факторов ангиогенеза. Факторы из семейства PDGF помимо модуляции воспалительной реакции, также участвуют в ангиогенезе, стимулируют пролиферацию фибробластов и синтез внеклеточного матрикса. Биологические активные молекулы из семейства VEGF, в первую очередь, участвуют в ангиогенезе и регенерации мышечной ткани. Цитокины TNF-α и IL-1β относятся к важнейшим провоспалительным медиаторам, модулирующим воспалительные реакции. в то же время IL-1β, активируя клетки соединительной ткани (фибробласты), участвует в процессах заживления ран [1]. Результаты, полученные в ходе экспериментов, отражены в таблице 1.

Содержание исследуемых факторов роста: PDGF, FGF, VEGF и плейотропного цитокина IL-1b, во всех исследуемых образцах, независимо от применения / отсутствия лиофилизации, было значимо выше референсных значений в плазме крови. Обобщение полученных данных по оценке содержания ростовых факторов и цитокинов в супернатантах культур ММСК, культивированных с дефибринированной инактивированной сывороткой человека и фосфатносолевым буфером, обогащенных лизатом тромбоцитов и фибрином (10%) – с применением лиофилизации и без нее, показало, что наилучшие показатели для фактора PDGF были в образцах с добавлением дефибринированной инактивированной сывороткой человека и фосфатносолевым буфером, обогащенных лизатом тромбоцитов и фибрином (10%) / без лиофилизации. При этом уровень фактора PDGF в образцах супернатантов с дефибринированной инактивированной сывороткой человека (без лиофилизации) почти в 2 раза превышал аналогичные значения с добавлением фосфатносолевого буфера. По продукции ММСК ростового фактора FGF, самые высокие его значения регистрировались в образцах с добавлением дефибринированной инактивированной сыворотки человека, обогащенной лизатом тромбоцитов и фибрином (10%), в лиофилизированной и не лиофилированной форме. Содержание VEGF в супернатантах культур ММСК с добавлением дефибринированной инактивированной сыворотки человека, обогащенной лизатом тромбоцитов и фибрином (10%) с

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.46235/1028-7221-17513-CCI

применением лиофилизации и без таковой, значимо не отличались. Аналогичные результаты регистрировались при добавлении в среду культивирования фосфатносолевого буфера, обогащенного лизатом тромбоцитов и фибрином (10%). Следует отметить, что концентрация VEGF в культурах ММСК с добавлением дефибринированной инактивированной сыворотки человека, обогащенной лизатом тромбоцитов и фибрином (10%) с применением лиофилизации была значимо выше таковой при использовании фосфатносолевого буфера, обогащенного лиофилизированным лизатом тромбоцитов и фибрином (10%). Содержание провоспалительного фактора TNF-α во всех исследуемых группах была значимо ниже чувствительности прибора и референсных значений в плазме крови. Содержание плейотропного фактора IL-1β во всех исследуемых группах была сопоставима друг с другом, статистически значимых различий обнаружено не было.

4 Заключение

Полученные в эксперименте результаты по секреции ММСК ростовых факторов и цитокинов демонстрируют теоретическое основание для использования, обогащенного фибрином лизата тромбоцитов, с целью лечения ран. Мы предполагаем, что присутствующие в тканях мезенхимальные стволовые клетки под влиянием разработанной нами ростовой добавки, могут активно секретировать ряд ростовых факторов: PDGF, FGF, VEGF и др., стимулирующих ангиогенез, пролиферацию эпителиальных, мышечных клеток, фибробластов и синтез внеклеточного матрикса, способствуя заживлению ран. Интересно отметить тот факт, что различные по составу варианты ростовой добавки продемонстрировали различные уровни секреции ростовых факторов, что возможно будет иметь значение для лечения ран различного генеза. Отмеченная секреция IL-1β мало различалась в исследуемых группах, однако его присутствие, с одной стороны, обеспечивает иммуномодулирующий эффект, с другой - активирует клетки соединительной ткани.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

10.46235/1028-7221-17513-CCI

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Содержание PDGF, FGF, VEGF, TNF-α и IL-1β в супернатантах клеточных культур ММСК в разных условиях культивирования

Table 1. Content of PDGF, FGF, VEGF, TNF-α, and IL-1β in MMSC cell culture supernatants under different culture conditions

Условия культивирования ММСК **MMSC culture conditions**		**PDGF, пг/мл (референсные значения в плазме крови - 84 -2000 пг/мл)** **PDGF, пг/мл (референсные значения в плазме крови - 84 -2000 пг/мл)**	**FGF, пг/мл (референсные значения в плазме крови – 3-12 пг/мл)** **FGF, pg/ml (reference values in blood plasma - 3-12 pg/ml)**	**VEGF, пг/мл (референсные значения в плазме крови - 0 - 460 пг/мл)** **VEGF, pg/ml (reference values in blood plasma - 0-460 pg/ml)**	**TNF-α , пг/мл (референсные значения в плазме крови – 3-12 пг/мл)** **TNF-α, pg/ml (reference values in blood plasma - 3-12 pg/ml)**	**IL-1β, пг/мл (референсные значения в плазме крови – 3-12 пг/мл)** **IL-1β, pg/ml (reference values in blood plasma - 3-12 pg/ml)**
Сыворотка человека дефибринированная, инактивированная обогащенная лизатом тромбоцитов и фибрином (10%) **с лиофилизацией, n=9** Defibrinated human serum, inactivated, enriched with	**1**	**3005,6 (1682,6 - 4873,1)**	**953,5 (728,1-1060,8)**	**2441,6 (2155,4-2559,9)**	**< 1**	**178,7 (46,2 - 240,5)**

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

10.46235/1028-7221-17513-CCI

platelet lysate and fibrin (10%) with lyophilization, n=9						
Сыворотка человека дефибринированная, инактивированная обогащенная лизатом тромбоцитов и фибрином (10%) / **без лиофилизации, n=9** Defibrinated human serum, inactivated, enriched with platelet lysate and fibrin (10%) / without lyophilization, n=9	**2**	**6203,3 (5483,2-7114,17)** p1<0,05	**1101,5 (691,2 – 1126,3)**	**2302,3 (2181,4 – 2506,2)**	**< 1**	**131,9 (37,4 – 294,3)**
Фосфатносолевой буфер обогащенный лизатом тромбоцитов и фибрином (10%) / **с лиофилизацией, n=9** Phosphate-buffered saline enriched with platelet lysate and fibrin (10%) / with lyophilization, n=9	**3**	**1476, 7 (1368,4-1585,0)** p2<0,05	**874,3 (651,7-1016,0)**	**2048,4 (1968,9-2105,6)** p2<0,05	**< 1**	**193,4 (74,2 – 293,3)**

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

10.46235/1028-7221-17513-CCI

Фосфатносолевой буфер обогащенный лизатом тромбоцитов и фибрином (10%) / **без лиофилизации, n=9** Phosphate-buffered saline enriched with platelet lysate and fibrin (10%) / without lyophilization, n=9	**4**	**2679,5 (633,5 – 6702,6)** p3<0,05 p4<0,05	**461,747 (356,7 – 796,9)** p3<0,05 p4<0,05	**2218,4 (2075,3 – 2319,4)**	**< 1**	**191,5 (70,8 – 300,1)**

Примечания: p1<0,05 – достоверные различия между группами образцов 1 и 2; p2<0,05 – достоверные различия между группами образцов 1 и 3;
p3<0,05 – достоверные различия между группами образцов 2 и 4; p4<0,05 – достоверные различия между группами образцов 3 и 4;
n – число образцов в каждой группе исследования
Notes: p1<0.05 – significant differences between sample groups 1 and 2; p2<0.05 – significant differences between sample groups 1 and 3;
p3<0.05 – significant differences between sample groups 2 and 4; p4<0.05 – significant differences between sample groups 3 and 4;
n – number of samples in each study group

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

10.46235/1028-7221-17513-CCI

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Гончаров Андрей Геннадьевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»; Минобрнауки России, Калининград, Россия;
Адрес: Россия, Калининградская область, Калининград, пр. Победы 189-15, 236010
Телефон: +79118652066 (WhatsApp)
e-mail: agoncharov59@mail.ru
Goncharov Andrey Gennadievich, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University; Ministry of Education and Science of Russia, Kaliningrad, Russia;
Address: Russia, Kaliningrad region, Kaliningrad, Pobedy ave. 189-15, 236010
Telephone: +79118652066 (WhatsApp)
e-mail: agoncharov59@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Шуплецова Валерия Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»; Минобрнауки России, Калининград, Россия;
Shupletsova Valeria, Candidate of Biological Sciences, senior researcher at the Center for Immunology and Cellular Biotechnology of the Immanuel Kant Baltic Federal University; Ministry of Education and Science of Russia, Kaliningrad, Russia;

Мелащенко Ольга Борисовна, научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»; Минобрнауки России, Калининград, Россия;
Melashchenko Olga Borisovna, Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University; Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Kaliningrad, Russia;

Газатова Наталья Динисламовна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией экспериментальных исследований препаратов крови Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»; Минобрнауки России, Калининград, Россия;
Gazatova Natalia Dinislamovna, PhD (Biology, Head of the Laboratory of Experimental Studies of Blood Products, Center for Immunology and Cellular

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University; Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Kaliningrad, Russia;

Хазиахматова Ольга Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»; Минобрнауки России, Калининград, Россия;
Khaziakhmatova Olga Gennadyevna, PhD (Biology), Senior Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University; Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Kaliningrad, Russia;

Малащенко Владимир Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»; Минобрнауки России, Калининград, Россия;
Vladimir Vladimirovich Malashchenko, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University; Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Kaliningrad, Russia;

Кабанчук Нина Августовна, и.о. главного врача ГБУЗ "Станция переливания крови Калининградской области"; Министерства здравоохранения, Калининград, Россия;
Kabanchuk Nina Avgustovna, Acting Chief Physician, Blood Transfusion Station of the Kaliningrad Region; Ministry of Health, Kaliningrad, Russia;

Затрускина Ирина Станиславовна, медицинская сестра ГБУЗ "Станция переливания крови Калининградской области"; Министерства здравоохранения, Калининград, Россия; e-mail: zatrusckina@mail.ru; ORCID: 0009-0009-8836-3925
Irina Stanislavovna Zatrusckina, nurse, State Budgetary Healthcare Institution "Blood Transfusion Station of the Kaliningrad Region"; Ministry of Health, Kaliningrad, Russia; e-mail: zatrusckina@mail.ru; ORCID: 0009-0009-8836-3925

Литвинова Лариса Сергеевна, доктор медицинских наук, директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»; Минобрнауки России, Калининград, Россия.
Litvinova Larisa Sergeevna, MD, PhD, Director, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University; Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Kaliningrad, Russia.

10.46235/1028-7221-17513-CCI

Блок 3. Метаданные статьи

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ЛИЗАТА ТРОМБОЦИТОВ

CYTOKINE CONTENT IN CELL CULTURE SUPERNATANTS WHEN CULTURED WITH VARIOUS FORMS OF PLATELET LYSATE

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:
ЦИТОКИНЫ
CYTOKINES

Ключевые слова: Цитокины, клеточные культуры, донорская кровь, лизат тромбоцитов, фибриновый гель.
Keywords: Cytokines, cell cultures, donor blood, platelet lysate, fibrin gel.

Школа Клинической Иммунологии «Сочи-2026».
Количество страниц текста – 4,
Количество таблиц – 1,
Количество рисунков – 0.
20.04.2026

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Симбирцев, А. С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека / А. С. Симбирцев. - СПб. : Фолиант, 2018. - 512 с. ISBN: 978-5-93929-283-2	Simbirtsev, A. S. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases / A. S. Simbirtsev. - St. Petersburg: Foliant, 2018. - 512 p. ISBN: 978-5-93929-283-2 (In Russ.).	ISBN: 978-5-93929-283-2
2	Шуплецова В.В. и др. Содержание фактора роста тромбоцитов bb в лизатах тромбоцитов, полученных из донорской крови //Российский иммунологический журнал. – 2025. - Т. 28. - № 2. – С. 171-176. doi: 10.46235/1028-7221-17025-COB	Shupletsova V.V. et al. Content of platelet growth factor bb in platelet lysates obtained from donor blood // Russian Journal of Immunology. - 2025. - Vol. 28. - No. 2. - P. 171-176. doi: 10.46235/1028-7221-17025-COB (In Russ.).	doi: 10.46235/1028-7221-17025-COB
3	Шуплецова В.В. и др. Содержание хемокинов RANTES, IL-8 и MIP-1β в лизатах тромбоцитов, полученных из донорской	Shupletsova V.V. et al. Content of chemokines RANTES, IL-8 and MIP-1β in platelet lysates obtained from donor blood // Russian Journal of Immunology. - 2025. - Vol. 28. - No. 4. - P. 931-	doi: 10.46235/1028-7221-17237-COR

	крови //Российский иммунологический журнал. – 2025. - Т. 28. - № 4. – С. 931-938. doi: 10.46235/1028-7221-17237-COR	938. doi: 10.46235/1028-7221-17237-COR (In Russ.).	
4	Farabi B, Roster K, Hirani R, Tepper K, Atak MF, Safai B. The Efficacy of Stem Cells in Wound Healing: A Systematic Review. Int J Mol Sci. 2024 Mar 5;25(5):3006. doi: 10.3390/ijms25053006. PMID: 38474251; PMCID: PMC10931571	Farabi B, Roster K, Hirani R, Tepper K, Atak MF, Safai B. The Efficacy of Stem Cells in Wound Healing: A Systematic Review. Int J Mol Sci. 2024 Mar 5;25(5):3006. doi: 10.3390/ijms25053006. PMID: 38474251; PMCID: PMC10931571	doi: 10.3390/ijms25053006
5	Immalaraju S, Goyal S, Jonnalagadda R. Towards the standardization of human platelet lysate production and its comparison to fetal bovine serum for human hematopoietic cell culture: a scoping review. Front Toxicol. 2025 Jun 27;7:1496231. doi: 10.3389/ftox.2025.1496231. PMID: 40655131; PMCID: PMC12245862	Immalaraju S, Goyal S, Jonnalagadda R. Towards the standardization of human platelet lysate production and its comparison to fetal bovine serum for human hematopoietic cell culture: a scoping review. Front Toxicol. 2025 Jun 27;7:1496231. doi: 10.3389/ftox.2025.1496231. PMID: 40655131; PMCID: PMC12245862	doi: 10.3389/ftox.2025.1496231
6	Kearney KJ, Ariëns RAS, Macrae FL. The Role of Fibrin(ogen) in	Kearney KJ, Ariëns RAS, Macrae FL. The Role of Fibrin(ogen) in Wound Healing and Infection	doi: 10.1016/j.lfs.2024.123066.

	Wound Healing and Infection Control. Semin Thromb Hemost. 2022 Mar;48(2):174-187. doi: 10.1055/s-0041-1732467. Epub 2021 Aug 24. PMID: 34428799	Control. Semin Thromb Hemost. 2022 Mar;48(2):174-187. doi: 10.1055/s-0041-1732467. Epub 2021 Aug 24. PMID: 34428799	
7	Li S, Li Y, Zhu K, He W, Guo X, Wang T, Gong S, Zhu Z. Exosomes from mesenchymal stem cells: Potential applications in wound healing. Life Sci. 2024 Nov 15;357:123066. doi: 10.1016/j.lfs.2024.123066. Epub 2024 Sep 19. PMID: 39306326	Li S, Li Y, Zhu K, He W, Guo X, Wang T, Gong S, Zhu Z. Exosomes from mesenchymal stem cells: Potential applications in wound healing. Life Sci. 2024 Nov 15;357:123066. doi: 10.1016/j.lfs.2024.123066. Epub 2024 Sep 19. PMID: 39306326	doi: 10.1055/s-0041-1732467.
8	Miron RJ, Estrin NE, Ahmad P, Farshidfar N, Fujioka-Kobayashi M, Zhang Y, Romandini M, Gruber R. Thirty Years of Autologous Platelet Concentrates: From Platelet-Rich Plasma to Platelet-Rich Fibrin. J Periodontal Res. 2025 Aug 4. doi: 10.1111/jre.70013. Epub ahead of print. PMID: 40757985	Miron RJ, Estrin NE, Ahmad P, Farshidfar N, Fujioka-Kobayashi M, Zhang Y, Romandini M, Gruber R. Thirty Years of Autologous Platelet Concentrates: From Platelet-Rich Plasma to Platelet-Rich Fibrin. J Periodontal Res. 2025 Aug 4. doi: 10.1111/jre.70013. Epub ahead of print. PMID: 40757985	doi: 10.1111/jre.70013
9	Miron RJ, Gruber R, Farshidfar N, Sculean A, Zhang Y. Ten years of injectable platelet-rich fibrin. Periodontol 2000. 2024	Miron RJ, Gruber R, Farshidfar N, Sculean A, Zhang Y. Ten years of injectable platelet-rich fibrin. Periodontol 2000. 2024 Feb;94(1):92-113.	doi: 10.1111/prd.12538

	Feb;94(1):92-113. doi: 10.1111/prd.12538. Epub 2023 Nov 30. PMID: 38037213	doi: 10.1111/prd.12538. Epub 2023 Nov 30. PMID: 38037213	
10	Monami M, Scatena A, Ragghianti B, Miranda C, Monge L, Silverii A, Uccioli L, Vermigli C; Panel of the Italian Guidelines for the Treatment of Diabetic Foot Syndrome; SID and AMD. Effectiveness of most common adjuvant wound treatments (skin substitutes, negative pressure wound therapy, hyperbaric oxygen therapy, platelet-rich plasma/fibrin, and growth factors) for the management of hard-to-heal diabetic foot ulcers: a meta-analysis of randomized controlled trials for the development of the Italian Guidelines for the Treatment of Diabetic Foot Syndrome. Acta Diabetol. 2025 Jul;62(7):1081-1095. doi: 10.1007/s00592-024-02426-7. Epub 2024 Dec 26. PMID: 39724338	Monami M, Scatena A, Ragghianti B, Miranda C, Monge L, Silverii A, Uccioli L, Vermigli C; Panel of the Italian Guidelines for the Treatment of Diabetic Foot Syndrome; SID and AMD. Effectiveness of most common adjuvant wound treatments (skin substitutes, negative pressure wound therapy, hyperbaric oxygen therapy, platelet-rich plasma/fibrin, and growth factors) for the management of hard-to-heal diabetic foot ulcers: a meta-analysis of randomized controlled trials for the development of the Italian Guidelines for the Treatment of Diabetic Foot Syndrome. Acta Diabetol. 2025 Jul;62(7):1081-1095. doi: 10.1007/s00592-024-02426-7. Epub 2024 Dec 26. PMID: 39724338	doi: 10.1007/s00592-024-02426-7

11	Rath M, Spinnen J, Kuhrt LD, Priglinger E, Seika P, Runge D, Schubring S, Laue D, Wickert M, Erdem M, Ertel W, Shopperly LK. Platelet-rich plasma - A comprehensive review of isolation, activation, and application. Acta Biomater. 2025 Sep 15;204:52-75. doi: 10.1016/j.actbio.2025.07.050. Epub 2025 Jul 23. PMID: 40712724	Rath M, Spinnen J, Kuhrt LD, Priglinger E, Seika P, Runge D, Schubring S, Laue D, Wickert M, Erdem M, Ertel W, Shopperly LK. Platelet-rich plasma - A comprehensive review of isolation, activation, and application. Acta Biomater. 2025 Sep 15;204:52-75. doi: 10.1016/j.actbio.2025.07.050. Epub 2025 Jul 23. PMID: 40712724	doi: 10.1016/j.actbio.2025.07.050
12	Scopelliti F, Cattani C, Dimartino V, Mirisola C, Cavani A. Platelet Derivatives and the Immunomodulation of Wound Healing. Int J Mol Sci. 2022 Jul 28;23(15):8370. doi: 10.3390/ijms23158370. PMID: 35955503; PMCID: PMC9368989	Scopelliti F, Cattani C, Dimartino V, Mirisola C, Cavani A. Platelet Derivatives and the Immunomodulation of Wound Healing. Int J Mol Sci. 2022 Jul 28;23(15):8370. doi: 10.3390/ijms23158370. PMID: 35955503; PMCID: PMC9368989	doi: 10.3390/ijms23158370
13	Şeker Ş, Elçin AE, Elçin YM. Current trends in the design and fabrication of PRP-based scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. Biomed Mater. 2025 Jan 20;20(2).	Şeker Ş, Elçin AE, Elçin YM. Current trends in the design and fabrication of PRP-based scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. Biomed Mater. 2025 Jan 20;20(2). doi: 10.1088/1748-605X/ada83f. PMID: 39787704	doi: 10.1088/1748-605X/ada83f

	doi: 10.1088/1748-605X/ada83f. PMID: 39787704		
14	Wu WS, Chen LR, Chen KH. Platelet-Rich Plasma (PRP): Molecular Mechanisms, Actions and Clinical Applications in Human Body. Int J Mol Sci. 2025 Nov 6;26(21):10804. doi: 10.3390/ijms262110804. PMID: 41226837; PMCID: PMC12608683. J Exp Med. 2020 Sep 7;217(9):e20191206. PMID: 32706855; PMCID: PMC7478734	Wu WS, Chen LR, Chen KH. Platelet-Rich Plasma (PRP): Molecular Mechanisms, Actions and Clinical Applications in Human Body. Int J Mol Sci. 2025 Nov 6;26(21):10804. doi: 10.3390/ijms262110804. PMID: 41226837; PMCID: PMC12608683	doi: 10.3390/ijms262110804
15	Zamani M, Masumzadeh M, Mohammadi Hosn M, Pouladkhay F. Blood derivatives as monotherapy and combination therapy: A promising strategy for wound healing. Regen Ther. 2025 Nov 1;30:999-1012. doi: 10.1016/j.reth.2025.10.018. PMID: 41244153; PMCID: PMC12616125	Zamani M, Masumzadeh M, Mohammadi Hosn M, Pouladkhay F. Blood derivatives as monotherapy and combination therapy: A promising strategy for wound healing. Regen Ther. 2025 Nov 1;30:999-1012. doi: 10.1016/j.reth.2025.10.018. PMID: 41244153; PMCID: PMC12616125	doi: 10.1016/j.reth.2025.10.018

10.46235/1028-7221-17513-CCI

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)