

ВЛИЯНИЕ СТАНДАРТНОЙ И ФОТОАКТИВИРОВАННОЙ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ НА ФИБРОХОНДРОЦИТЫ МЕНИСКА ЧЕЛОВЕКА ПРИ IL1 β -ИНДУЦИРОВАННОМ ВОСПАЛЕНИИ

К. Б. Керимов¹, А. С. Иванов^{1,2,3}✉, Т. П. Тананакина³, С. А. Кашченко³, И. А. Погорелова³

¹ Клиника «МЕДСИ», Клиническая больница № 1, Москва, Россия

² Научно-диагностический центр «Поликлиника на Смоленской», Москва, Россия

³ ФГБОУ ВО ЛГМУ имени Святого Луки Минздрава России, Россия

Патогенез дегенеративных изменений мениска важен для понимания и разработки новых методик лечения и включает в себя биохимические, структурные и микроциркуляторные изменения, затрагивающие все структуры сустава. Цель исследования — изучить влияние стандартной и фотоактивированной обогащенной тромбоцитами плазмы (PRP) *in vitro* на концентрацию IL6, IL17A, экспрессию COL2A1 и маркера апоптоза CD95 фиброхондроцитов мениска человека при IL1 β -индуцированном воспалении. Для эксперимента отобрали хрящевую ткань мениска коленного сустава человека у 12 соматически здоровых доноров от 18 до 35 лет. Клетки разделены на четыре группы: первая — интактная (контроль), вторая, третья и четвертая подвергались воздействию IL1 β для индукции дегенеративных изменений, во вторую вносили 0,9% NaCl, в третью — PRP доноров, в четвертую — PRP с фотоактивацией. Показатели определяли через 48 ч. Статистические расчеты проводили в GraphPad Prism 9. Для связанных групп применяли *rm*-ANOVA. Данные представлены как mean $\pm$ SD, при $p < 0,05$. Во II группе в сравнении с I возрастали IL6 (79,6 $\pm$ 4,3 пг/мл против 28,4 $\pm$ 2,1 пг/мл), IL17A (42,8 $\pm$ 2,5 пг/мл против 14,2 $\pm$ 1,0 пг/мл), CD95 (28,5 $\pm$ 2,2% против 6,8 $\pm$ 0,7%) соответственно; снизился COL2A1 (с 1,00 $\pm$ 0,08 до 0,42 $\pm$ 0,05); в III группе по сравнению со II снижались IL6 до 55,1 $\pm$ 3,4 пг/мл, IL17A — до 29,4 $\pm$ 2,1 пг/мл, CD95 до 17,2 $\pm$ 1,5%, COL2A1 повысился до 0,71 $\pm$ 0,06; IV группе по сравнению с III снижались IL6 до 38,2 $\pm$ 2,6 пг/мл, IL17A — до 18,6 $\pm$ 1,7 пг/мл, CD95 — до 9,4 $\pm$ 0,8%; повысился COL2A1 до 0,94 $\pm$ 0,07 ($p < 0,05$). Стандартная PRP оказывает положительное влияние на ткани мениска *in vitro* через 48 ч. Эффект усиливается после воздействия красного света на PRP.

Ключевые слова: мениск, фиброхондроциты, обогащенная тромбоцитами плазма, PRP, фотоактивация, красный свет, интерлейкин, COL2A1, CD95

Вклад авторов: К. Б. Керимов — дизайн исследования, экспериментальная часть работы, расчеты; А. С. Иванов — дизайн исследования, экспериментальная часть работы; Т. П. Тананакина — дизайн исследования, экспериментальная часть работы, научное сопровождение; С. А. Кашченко — научное редактирование, научное сопровождение, подготовка эксперимента; Погорелова И. А. — техническое редактирование, подготовка эксперимента.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЛГМУ имени Святого Луки, МЗ РФ (протокол № 2 от 26 мая 2026 г.), полностью соответствует рекомендации Коллегии ЕЭК «Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований от 14.11.2023 № 33», принципам Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, а также в соответствии с директивой Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, в научных целях. Все пациенты подписали письменное согласие на использование полученного материала для экспериментальных целей.

✉ **Для корреспонденции:** Алексей Сергеевич Иванов
ул. А. Дикого, д. 16А, кв. 73, 111396, г. Москва, Россия, sashatratmatolog1985@mail.ru

Статья получена: 27.06.2026 **Статья принята к печати:** 20.08.2026 **Опубликована онлайн:** 26.08.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.046

Авторские права: © 2026 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

EFFECTS OF STANDARD AND PHOTOACTIVATED PLATELET-RICH PLASMA ON HUMAN MENISCUS FIBROCHONDROCYTES IN IL-1 β -INDUCED INFLAMMATION

Kerimov KB¹, Ivanov AS^{1,2,3}✉, Tananakina TP³, Kashchenko SA³, Pogorelova IA³

¹ MEDSI Clinic, Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russia

² Scientific and Diagnostic Center "Polyclinic on Smolenskaya", Moscow, Russia

³ St. Luke Lugansk State Medical University, Russia

The meniscus degeneration pathogenesis is important for understanding and developing new treatment methods; it includes biochemical, structural, and microcirculatory alterations affecting all joint structures. The study aimed to perform *in vitro* assessment of the effects of standard and photoactivated platelet-rich plasma (PRP) on the IL6, IL17A concentrations, expression of COL2A1 and CD95 apoptosis marker in human meniscus fibrochondrocytes in the IL1 β -induced inflammation. The human knee meniscus cartilage tissue was collected from 12 somatically healthy donors aged 18 to 35 years for the experiment. Cells were divided into four groups: the first was intact (control), the second, third, and fourth ones were exposed to IL1 β to induce degenerative alterations; the second one was supplemented with 0.9% NaCl, the third one with donor PRP, and the fourth one with photoactivated PRP. Parameters were determined after 48 h. Statistical analysis was performed in GraphPad Prism 9. The *rm*-ANOVA was used for related groups. Data were presented as mean $\pm$ SD, at $p < 0.05$. IL6 (79.6 $\pm$ 4.3 pg/mL vs. 28.4 $\pm$ 2.1 pg/mL), IL17A (42.8 $\pm$ 2.5 pg/mL vs. 14.2 $\pm$ 1.0 pg/mL), CD95 (28.5 $\pm$ 2.2% vs. 6.8 $\pm$ 0.7%) levels increased in group II compared to group I; COL2A1 levels decreased from 1.00 $\pm$ 0.08 to 0.42 $\pm$ 0.5. IL6 levels decreased to 55.1 $\pm$ 3.4 pg/mL, IL17A — to 29.4 $\pm$ 2.1 pg/mL, CD95 — to 17.2 $\pm$ 1.5%, and COL2A1 levels increased to 0.71 $\pm$ 0.06 in group III compared to group II. IL6 levels decreased to 38.2 $\pm$ 2.6 pg/mL, IL17A — to 18.6 $\pm$ 1.7 pg/mL, CD95 — to 9.4 $\pm$ 0.8%, and COL2A1 levels increased to 0.94 $\pm$ 0.07 ($p < 0.05$) in group IV compared to group III. Standard PRP has a positive effect on meniscus tissue *in vitro* after 48 h. The effect is enhanced after the PRP exposure to red light.

Keywords: meniscus, fibrochondrocytes, platelet-rich plasma, PRP, photoactivation, red light, interleukin, COL2A1, CD95

Author contribution: Kerimov KB — study design, experimental procedure, calculations; Ivanov AS — study design, experimental design; Tananakina TP — study design, experimental design, scientific supervision; Kashchenko SA — scientific editing, scientific supervision, part in preparing the experiment; Pogorelova IA — technical proofreading, part in preparing the experiment.

Compliance with ethical standards: the study approved by the Ethics Committee of the St. Luke Lugansk State Medical University (protocol No. 2 dated May 26, 2026) was fully compliant with the Eurasian Economic Commission (EEC) Board "Guidelines for the Use of Laboratory (Experimental) Animals in Preclinical (Non-Clinical) Studies" dated November 14, 2023, No. 33, principles of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, as well as the Directive of the European Parliament and of the Council of the European Union on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes. All the patients submitted the written informed consent for the material collected to be used for experimental purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Aleksey S. Ivanov
A. Dikogo 16A, 73, 111396, Moscow, Russia, sashatratmatolog1985@mail.ru

Received: 27.06.2026 **Accepted:** 20.08.2026 **Published online:** 26.08.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.046

Copyright: © 2026 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Заболевания опорно-двигательного аппарата с дегенеративно-дистрофическим изменением мениска коленного сустава охватывают широкие слои населения, прежде всего трудоспособного и нередко становятся причиной инвалидности, что обуславливает медико-социальную и экономическую нагрузку для каждого пациента и общества в целом [1]. Патогенез дегенерации мениска включает в себя биохимические, структурные и микроциркуляторные изменения, затрагивающие все структуры сустава, и понимание его важно для разработки новых методик лечения [2]. Дегенеративное поражение хряща развивается в результате комплексного воздействия биологических и механических факторов, приводящих к нарушению суставного гомеостаза, последующему развитию персистирующего воспаления с повышением концентрации провоспалительных цитокинов, инициации процессов апоптоза, снижению экспрессии генов компонентов внеклеточного матрикса, и, в итоге, к уменьшению объема хрящевой ткани и изменению биомеханики сустава [3].

В развитии и прогрессировании дегенеративных изменений тканей мениска значительную роль играют провоспалительные цитокины (IL1 β , IL6, IL8, IL17A и фактор некроза опухолей). IL1 β приводит к угнетению синтеза нового коллагена и протеогликанов в хондроцитах, в том числе за счет активации ферментов металлопротеиназ. Фактор некроза опухолей локально в суставе индуцирует воспаление синовиальной оболочки и апоптоз хондроцитов. IL8 приводит к рекрутированию иммунных клеток (нейтрофилов и макрофагов) в полость сустава, за счет чего повреждение усиливается [4]. IL6 известен не только как фактор развития и прогрессирования воспаления, большое значение имеют его физиологические эффекты. Он продуцируется Т-, В-лимфоцитами, гранулоцитами, клетками гладких мышечных волокон, эозинофилами, тучными, глиальными клетками, кератоцитами и участвует в функционировании эндокринной, кроветворной, нервной систем [5]. В ранее проведенных исследованиях *in vitro* установлена способность IL6 индуцировать ингибиторы матриксных металлопротеиназ [6]. Повышение концентрации цитокина в синовиальной жидкости приводит к усилению боли, потере объема хрящевой ткани, особенно на терминальной стадии остеоартрита [1, 7]. Показано, что при сочетании ожирения и остеоартрита концентрация IL6 в крови пациентов повышена и коррелирует с прогрессированием данных заболеваний [8].

В патогенезе развития дегенеративных изменений ткани мениска коленного сустава важную роль играет IL17A. Продуцируют цитокин макрофаги, а также $\gamma\delta$ -клетки, расположенные в слизистых оболочках, и принимающие участие в противомикробном иммунитете. Есть предположение об участии данных клеток в регенерации костной ткани. При дегенеративных изменениях ткани мениска коленного сустава $\gamma\delta$ -клетки способны приводить к повышенной продукции интерлейкина наравне с NK-клетками, количество которых при остеоартрите повышено в синовиальной оболочке [9]. NK-клетки накапливаются в воспаленных тканях, где их стимулируют другие провоспалительные цитокины (IL12, IL15 и IL18), секретируемые моноцитами. Под действием IL17A происходит подавление анаболических факторов (например, снижается экспрессия гена *COL2A1*) в хондроцитах с последующими дегенеративными изменениями. Так, было установлено, что концентрация

провоспалительных цитокинов значительно снижается у пациентов после тотального эндопротезирования суставов [10–13].

Основным структурным компонентом внеклеточного матрикса является коллаген, обеспечивающий прочность, эластичность, регуляцию и регенерацию соединительной ткани. Коллаген II типа входит в состав хрящевой ткани, являясь основным компонентом альфа-цепи, и кодируется геном *COL2A1* [14, 15]. Тканеспецифический характер экспрессии *COL2A1* является основополагающим фактором в определении клинической картины ассоциированных заболеваний, разделенных на две группы в зависимости от вида пораженной ткани. В первую группу входят нарушения формирования опорно-двигательного аппарата (например, карликовость, кифосколиоз, укорочение конечностей, патологии суставов, нарушения формирования твердого неба) и его функциональная состоятельность во взрослом возрасте (например, остеоартрит суставов различной локализации). Во вторую группу включены внескелетные аномалии (потеря слуха, патология глазного аппарата, например миопия, отслойка сетчатки и др.) [16, 17].

Составляющими процесса дегенерации ткани мениска являются также апоптоз, окислительный стресс, возраст, питание и наследственность [18]. Запуск апоптоза происходит за счет активации рецептора CD95, располагающегося на цитоплазматической мембране клеток и являющегося представителем группы фактора некроза опухолей α (ФНО α) [19]. Запуск рецептора CD95 приводит к появлению мультибелкового комплекса, взаимодействие которого с адапторными молекулами приводит не только к гибели, но и пролиферации клеток. Наиболее часто апоптоз клетки происходит по митохондриальному пути, при котором митохондриальное содержимое попадает в цитоплазму за счет активации белка p53, активации ферментов, фрагментации ДНК, формирования проапоптотических телец и последующего фагоцитоза клетки [20].

Традиционно для лечения хондропатий различного генеза, в том числе при остеоартрите суставов, применяют нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), однако в последнее время все более широкое распространение получает обогащенная тромбоцитами плазма (PRP). В различных исследованиях показано, что PRP способна снижать воспаление и дегенерацию хондроцитов [21–24]. Фотоактивированная PRP усиливает биологическую активность тромбоцитов и их регенераторные способности за счет активного высвобождения факторов роста, содержащихся в альфа-гранулах, в частности за счет трансформирующего фактора роста β 1 (TGF- β 1), фактора роста фибробластов и тромбоцитарного фактора роста [25]. Эффективность применяемого метода лечения продемонстрирована на больших когортах пациентов, наряду с НПВП и глюкокортикостероидами, однако механизм изменения секреторного, фенотипического и матриксного профилей хондроцитов в дегенеративно измененной ткани мениска недостаточно изучен и представляет большой интерес для определения биологических мишеней при применении PRP.

Цель исследования — изучить влияние стандартной и фотоактивированной PRP *in vitro* на концентрацию провоспалительных цитокинов (IL6, IL17A), экспрессию гена коллагена II типа (*COL2A1*) и маркера апоптоза дегенеративных изменений мениска CD95 фиброхондроцитов мениска человека при IL1 β -индуцированном воспалении.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследования были использованы хондроциты, выделенные из менисков коленного сустава пациентов; фрагменты менисков были получены при артроскопической резекции в ходе реконструкции передней крестообразной связки. Экспериментальная часть работы была проведена на базе ФГБОУ ВО «ЛГМУ им Св. Луки» МЗ РФ.

Образцы хрящевой ткани мениска были отобраны у 12 соматически здоровых пациентов 18–35 лет. Критерии исключения: наличие у пациентов системных воспалительных заболеваний иммунного и инфекционного генеза; септический артрит; проведение внутрисуставной инъекционной терапии с использованием глюкокортикостероидов на протяжении последнего месяца перед вмешательством. Критерии включения: верифицированное дегенеративное повреждение менисков коленного сустава по данным магнитно-резонансной томографии коленного сустава, подтвержденное при проведении артроскопии; возможность получения достаточного количества образцов ткани в общем количестве 4–8 мм³, используемых в дальнейшем в эксперименте.

Полученные образцы ткани мениска всех 12 доноров промывали в растворах фосфатно-солевого буфера с добавлением пенициллина (100 Ед/мл) и стрептомицина (100 мкг/мл), после чего измельчали до 1–2 мм³ и подвергали дальнейшей ферментативной обработке с использованием 0,2% коллагеназы II типа (Thermo Fisher Scientific, США; каталожный номер 17101015, с удельной активностью ≥ 125 U/mg (Mandl units)). Выбор данного фермента обусловлен оптимальным соотношением сопутствующих протеаз, клотрипаина и липаз, необходимых для гидролиза жестких коллагеновых волокон II типа. Дезагрегацию хряща проводили на протяжении 12 ч при температуре 37 °C в атмосфере 5% CO₂ и постоянном покачивании. Полученную суспензию клеток фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 70 мкм и в последующем центрифугировали при 1500 об./мин на протяжении 5 мин. Выделенные в результате хондроциты культивировали в среде DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium / Nutrient Mixture F-12 (Модифицированная дьюлбекко среда Игла / Питательная смесь Ф-12)) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки и 1% раствора пенициллина и стрептомицина при 37 °C, 5% CO₂. Для проведения экспериментальной части работы использовали клетки 2–3 пассажа. Образцы ткани мениска от каждого донора были разделены на четыре группы [26]: первую группу воздействию не подвергали, на всех остальных образцах было смоделировано дегенеративное повреждение посредством добавления IL1 β , в клетки третьей группы вносили обычную PRP, четвертой — фотоактивированную PRP.

Дегенеративные изменения в клетках вызывали путем воздействия на конъюгированные культуры хондроцитов (80–90%) рекомбинантного человеческого IL1 β (R&D Systems (Bio-Techne, США; каталожный номер: 201-LB-005 на 5 мкг), в концентрации 10 нг/мл на протяжении 48 ч. Выбор данного экспериментального подхода был основан на ранее валидированных моделях остеоартроза и дегенеративного повреждения ткани мениска, при которых демонстрируется IL1 β -опосредованная активация каталитических сигнальных путей, деградация внеклеточного матрикса, продукция провоспалительных цитокинов и активация апоптоза [27].

PRP получали из периферической венозной крови доноров, которым принадлежали ткани мениска, после госпитализации перед проведением медикаментозного и оперативного лечения с целью минимизации воздействия лекарственных препаратов, применяемых при проведении наркоза и последующего лечения. Для обеспечения строгого контроля воспроизводимости метода и исключения контаминации клеточного состава и стандартизации дозирования для получения PRP использовали пробирки Ycellbio (Ycellbio Medical Co., Ltd., Южная Корея) и двухэтапный протокол центрифугирования. Забор цельной крови проводили непосредственно в пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта 3,8% раствор цитрата натрия в стандартном соотношении. Цитрат натрия использовали строго в качестве ингибитора преждевременной активации тромбоцитов во время забора крови и фракционирования. Выделение тромбоцитарного концентрата выполняли на специализированной лабораторной центрифуге PLC-02 (Ycellbio Medical Co., Ltd., Республика Корея), оснащенной фиксированным угловым ротором на 45° с максимальным радиусом вращения $R_{\max} = 13,5$ см. Первое центрифугирование проводили при 1500 об./мин (относительное центробежное ускорение — около 300 $\times g$) в течение 10 мин, через несколько секунд проводили второе центрифугирование при 3500 об./мин (относительное центробежное ускорение — около 1650 $\times g$) в течение 10 мин. Полученная в итоге по протоколу производителя PRP содержала $1,0\text{--}1,2 \times 10^6$ тромбоцитов/мкл, что соответствовало увеличению концентрации тромбоцитов в 4–5 раз по сравнению с исходным уровнем периферической крови. Согласно классификации PAW (Platelet, Activation, White blood cells): класс P3-A (высокое концентрирование тромбоцитов, отсутствие предварительной экзогенной активации, наличие лейкоцитарно-эритроцитарной фракции) [28].

Фотоактивацию экспериментальных образцов PRP без клеток хряща проводили путем воздействия красного света с использованием LED-системы фотоактивации (Juventix LED Activator, США) по следующим параметрам: длина волны — 650 ± 10 нм, плотность мощности — 80 мВт/см², полуширина спектра излучения — (FWHM) 20 нм, угол расходимости луча — 120°, время экспозиции — 7 мин, расстояние от источника света — 10 см, температура окружающей среды — 22–24 °C. Стабильность выходной плотности мощности (80 мВт/см²) обеспечивалась прецизионным источником питания тока со встроенной обратной связью по мощности, сертифицированным производителем оборудования. Цель выбранных параметров облучения состояла в высвобождении факторов роста из альфа-гранул тромбоцитов, за счет более интенсивного энергетического воздействия. Данные параметры активации PRP также были подобраны с учетом оптической плотности плазмы (возможность поглощения лучей белками). Сразу после фотоактивации PRP добавляли в культуральную среду, в которой находились хондроциты в конечной концентрации 10% [29].

Распределение биологических образцов, полученных от каждого донора, проводили равномерно по всем экспериментальным группам. Образцы от каждого донора ($n = 12$ биологических единиц (доноров)) были зашифрованы номерами, и лабораторную диагностику проводили слепым методом. Клетки от каждого донора были разделены на четыре экспериментальные группы, для каждой выполняли три технические реплики: первая

(контроль) — интактные хондроциты, экспериментальному воздействию интерлейкина не подвергались; вторая — хондроциты, подвергшиеся действию IL1 β с внесением физиологического раствора натрия хлорида 0,9%; третья — измененные под действием IL1 β клетки с внесением PRP без фотоактивации; четвертая — измененные под действием IL1 β клетки с внесением в них только фотоактивированной PRP. Физиологический раствор натрия хлорида 0,9% и PRP вносили в эквивалентных объемах. Исследование показателей IL6, IL17A, CD95, COL2A1 проводили через 48 ч после начала инкубации клеток с добавлением обычной и фотоактивированной PRP.

Определение концентрации IL6, IL17A проводили при помощи коммерческих наборов R&D Systems (бренд Bio-Techne), линейка: Quantikine ELISA (США), в соответствии с протоколом производителя. Маркер апоптоза CD95 оценивали при помощи метода проточной цитометрии, уровень экспрессии гена COL2A1 определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-qPCR).

Определение уровня экспрессии гена COL2A1 (коллагена II типа) выполняли методом количественной ПЦР в реальном времени (RT-qPCR) в строгом соответствии с международным стандартом MIQE [30].

Экстракцию тотальной РНК образцов хрящевой ткани проводили с использованием коммерческого набора RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с протоколом производителя. Концентрацию и чистоту выделенной РНК оценивали спектрофотометрически при помощи NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США) по соотношению оптической плотности A260/A280 (в пределах 1,8–2,0). Целостность РНК подтверждали электрофорезом в 1%-м агарозном геле. Синтез комплементарной ДНК (кДНК) осуществляли из 1 мкг тотальной РНК с использованием набора RevertAid RT Reverse Transcription Kit (Thermo Scientific, США) с применением смеси олиго (dT) и случайных праймеров.

Для исключения ошибок, связанных с использованием единственного невалидированного референса, нормализацию данных проводили по геометрическому среднему двух стабильных генов человека: GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) и ACTB (β -актин). Специфичные олигонуклеотидные праймеры для человека (NCBI Primer-BLAST) были подобраны на границах экзон-экзонных стыков (intron-spanning) для исключения амплификации геномной ДНК. Амплификацию проводили на приборе CFX96 Touch, (Bio-Rad, США) с интеркалирующим красителем SYBR Green с помощью мастер-микса PowerUp SYBR Green Master Mix, (Applied Biosystems, США). Протокол включал денатурацию (95 °C, 2 мин) и 40 циклов: денатурация (95 °C, 15 с), отжиг/элонгация (60 °C, 30 с). Для верификации специфичности продуктов после каждого запуска проводили анализ кривых плавления в диапазоне 65–95 °C; во всех реакциях регистрировали единственный пик плавления без димеров праймеров. Каждую биологическую пробу тестировали в технологических трипликатах с обязательной постановкой контролей без матрицы (NTC) и без обратной транскриптазы (NRT).

Эффективность амплификации (E) определяли по калибровочным кривым пятикратных серийных разведений пула кДНК. Наклон прямых составил от –3,31 до –3,34 ($R_2 > 0,99$), что продемонстрировало высокую и сопоставимую эффективность реакций: (E = 99,1%) для COL2A1, (E = 99,6%) для GAPDH и (E = 98,9%) для ACTB. Относительный уровень экспрессии мРНК гена COL2A1

рассчитывали сравнительным методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [31]. Значение ΔCt определяли, как разность между пороговым циклом гена-мишени и геометрическим средним пороговых циклов референсных генов (Ct_{COL2A1} — геом. среднее Ct_{ref}). Финальное значение кратности изменения экспрессии выражали относительно группы контроля (интактные/здоровые клетки без обработки).

Определение уровня экспрессии мембранного рецептора CD95 методом проточной цитометрии

Оценку относительного количества CD95-позитивных клеток и плотности экспрессии рецептора на мембране проводили с использованием моноклональных мышиных антител против CD95 человека (Mouse Anti-Human CD95, BioLegend, США). Для конъюгации антител применяли флуорохром фикоэритрин (PE) (BioLegend, Inc., США).

Суспензия хондроцитов в количестве 1×10^6 клеток на тест осаждали центрифугированием при $300 \times g$ в течение 5 мин. Клеточный осадок ресуспендировали в 100 мкл фосфатно-солевого буфера (PBS), содержащего 0,5% бычьего сывороточного альбумина (BSA) и 2 mM ЭДТА (буфер для цитометрии). С целью минимизации неспецифического связывания через Fc-рецепторы образцы предварительно инкубировали с реагентом для блокировки Fc-рецепторов (Human TruStain FcX (BioLegend), США), 10 мин при +4 °C. Добавляли моноклональные антитела Anti-CD95 (BioLegend, Inc., США) 5 мкл на тест и инкубировали в течение 30 мин в защищенном от света месте при температуре +4 °C. По окончании инкубации клетки дважды отмывали 1 мл избытка холодного буфера для цитометрии путем центрифугирования ($300 \times g$, 5 мин). Финальный осадок ресуспендировали в 300 мкл буфера. Для исключения артефактов за 5 мин до анализа в пробу вносили витальный краситель — пропидий иодид (PI) (Sigma-Aldrich (Merck), США) в концентрации 1 мкг/мл.

Гейтирование проводили на проточном цитометре BD FACSCanto II (BD Biosciences, США) с регистрацией для каждого образца не менее 50 000 целевых событий. Анализ данных проводили при помощи программы FlowJo (FlowJo, LLC (является дочерней компанией корпорации Becton, Dickinson and Company / BD Biosciences), США). Гейтирование живых клеток проводили при помощи построения гистограммы распределения флуоресценции витального красителя PI/7-AAD (Sigma-Aldrich, США; BD Biosciences, США). В дальнейших анализах использовали исключительно краситель отрицательной фракции (PI $^{-}$ /7-AAD $^{-}$), полностью исключавший погибшие клетки из анализа уровня экспрессии CD95. Финальное гейтирование проводили на гистограмме флуоресценции в канале детекции PE путем установления пороговой линии (гейта), разделявшей CD95 $^{-}$ и CD95 $^{+}$ -события. Позиционирование границы осуществляли строго по верхней границе флуоресценции изотипического / FMO-контроля (допускалось не более 0,1–0,5% ложноположительных событий в контроле). Оценивали количество в процентах CD95-позитивных клеток и среднюю интенсивность флуоресценции (MFI, Mean Fluorescence Intensity), отражающую плотность рецепторов Fas на клетке.

Анализ данных выполняли в GraphPad Prism 9.4.1 (GraphPad Software, LLC (США) и G*Power 3.1.9.7 (Heinrich Heine University Düsseldorf, Германия). Априорный расчет мощности для модели rm -ANOVA (внутригрупповой фактор, четыре группы, $\alpha = 0,05$, мощность $1-\beta = 0,80$,

Таблица 1. Влияние интерлейкина-1 β на секреторный, фенотипический и матриксный профили хондроцитов мениска человека *in vitro* после 48-часовой инкубации ($M \pm SD$ [95% ДИ], $n = 12$).

Показатель	Контроль	p	IL1 β + 0,9% NaCl	p
IL6 (пг/мл)	28,4 $\pm$ 2,1 [27,1; 29,7]	0,01	79,6 $\pm$ 4,3* [76,9; 82,3]	0,04
IL17A (пг/мл)	14,2 $\pm$ 1,0 [13,6; 14,8]	0,05	42,8 $\pm$ 2,5* [41,2; 44,4]	0,05
CD95 (%)	6,8 $\pm$ 0,7 [6,4; 7,2]	0,04	28,5 $\pm$ 2,2* [27,1; 29,9]	0,05
COL2A1 (2- $\Delta\Delta$ Ct)	1,00 $\pm$ 0,08 [0,95; 1,05]	0,001	0,42 $\pm$ 0,05* [0,39; 0,45]	0,001

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

ожидаемый крупный размер эффекта $f = 0,45$ на основе пилотных данных) определил минимальный объем выборки $n = 10$. В исследование включено 12 индивидуальных доноров хондроцитов. Нормальность распределения оценивали критерием Шапиро–Уилка и Q-Q plots [31], однородность дисперсий — критерием Левена [32], сферичность — критерием Мокли. Для связанных групп применяли *rm*-ANOVA (с поправкой Гринхауса–Гейссера при нарушении сферичности) с указанием *F*-статистики $F(f_{\text{effect}}, df_{\text{error}})$. Учитывая параллельный анализ четырех показателей (IL6, IL17A, CD95, COL2A1), критический уровень значимости для *rm*-ANOVA скорректирован поправкой Бонферрони до $p_{\text{crit}} = 0,0125$. Парные пост-хок сравнения проводили критерием Тьюки ($p < 0,05$), основанным на внутрисубъектной остаточной дисперсии ошибки (MS_{error}). Данные представлены как $\text{Mean} \pm \text{SD}$ и Box-and-Whisker plots с индивидуальными точками. Рассчитывали 95% CI разности средних, частичную э́та-квадрат (η^2_p) для группового фактора и *d* Коэна (d_c) для парных сравнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под действием IL1 β в хондроцитах мениска человека *in vitro* через 48 ч наблюдалось формирование стабильных иммуно-воспалительных изменений на молекулярном уровне, при которых в значительной степени возрастает концентрация исследуемых провоспалительных цитокинов. Уровень IL6 вырос в 2,8 раза; $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [48,2; 54,2]; $\eta^2 = 0,984$. Аналогичные изменения наблюдали и для концентрации IL17A, которая увеличилась в 3 раза, $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [26,8; 30,4]; $\eta^2 = 0,984$. В культурах клеток доноров, вошедших во вторую группу, процентное содержание CD95-положительных хондроцитов увеличилось в 4,2 раза, $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [20,1; 23,3]; $\eta^2 = 0,980$, что указывает

на процессы инициации апоптоза фиброхондроцитов на фенотипическом уровне. Одновременно экспрессия основного матриксного белка COL2A1 угнеталась в 2,4 раза $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [–0,62; –0,54]; $\eta^2 = 0,954$, что может говорить в пользу угнетения синтеза коллагена и его деградации под действием IL1 β (табл. 1).

Внесение в образцы клеток мениска стандартной PRP приводило к частичному ослаблению индуцированных воспалительных и дегенеративных процессов во всех исследуемых культурах. Наглядно это проявилось в снижении концентрации IL6 в 1,4 раза; $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [–27,1; –21,9]; $\eta^2 = 0,911$, IL17A в 1,5 раза; $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [–15,4; –11,4]; $\eta^2 = 0,879$. На клеточном фенотипическом уровне процентное содержание CD95-положительных клеток уменьшалось в 1,66 раза; $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [–12,8; –9,8]; $\eta^2 = 0,919$. Выросла экспрессия гена COL2A1 в 1,7 раза, $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [0,24; 0,34]; $\eta^2 = 0,896$ (табл. 2).

После внесения фотоактивированной PRP наблюдали статистически значимую регрессию воспалительных изменений хондроцитов во всех исследуемых группах. Произошло снижение IL6 в 1,4 раза; $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [–19,1; –14,7]; $\eta^2 = 0,970$ по сравнению с показателями, полученными при внесении стандартной PRP. Концентрация IL17A снизилась в 1,6 раза; $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [–12,1; –9,5]; $\eta^2 = 0,972$. На фенотипическом уровне после внесения фотоактивированной PRP наблюдали уменьшение процентного количества CD95-положительных клеток в 1,8 раза; $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [–8,4; –7,2]; $\eta^2 = 0,975$ по сравнению с группами клеток, в которые вносили стандартную PRP. Возросла экспрессия гена COL2A1 в 1,3 раза, $p < 0,05$; 95% ДИ разности средних: [0,18; 0,28]; $\eta^2 = 0,931$, что практически сопоставимо с уровнем интактной группы (табл. 3).

Таблица 2. Влияние обогащенной тромбоцитами плазмы на воспалительный, фенотипический и матриксный профили хондроцитов мениска человека *in vitro* в условиях интерлейкин-1 β -индуцированного воспаления ($M \pm SD$ [95% ДИ], $n = 12$).

Показатель	IL1 β + 0,9% NaCl	p	IL1 β + PRP	p
IL6 (пг/мл)	79,6 $\pm$ 4,3 [76,9; 82,3]	0,04	55,1 $\pm$ 3,4# [52,9; 57,3]	0,001
IL17A (пг/мл)	42,8 $\pm$ 2,5 [41,2; 44,4]	0,05	29,4 $\pm$ 2,1# [28,1; 30,7]	0,05
CD95 (%)	28,5 $\pm$ 2,2 [27,1; 29,9]	0,05	17,2 $\pm$ 1,5# [16,2; 18,2]	0,01
COL2A1 (2- $\Delta\Delta$ Ct)	0,42 $\pm$ 0,05 [0,39; 0,45]	0,001	0,71 $\pm$ 0,06# [0,67; 0,75]	0,04

Примечание: # — $p < 0,05$ по сравнению с группой IL1 β .

Таблица 3. Сравнительный анализ влияния стандартной и фотоактивированной обогащенной тромбоцитами плазмы на воспалительный, фенотипический и матриксный профили хондроцитов мениска человека *in vitro* при интерлейкин-1 β -индуцированном воспалении ($M \pm SD$ [95% ДИ], $n = 12$)

Показатель	IL1 β + PRP	p	IL1 β + фотоактивированная PRP	p
IL6 (пг/мл)	55,1 $\pm$ 3,4 [52,9; 57,3]	0,001	38,2 $\pm$ 2,6† [36,5; 39,9]	0,01
IL17A (пг/мл)	29,4 $\pm$ 2,1 [28,1; 30,7]	0,05	18,6 $\pm$ 1,7† [17,5; 19,7]	0,001
CD95 (%)	17,2 $\pm$ 1,5 [16,2; 18,2]	0,01	9,4 $\pm$ 0,8† [8,9; 9,9]	0,003
COL2A1 (2- $\Delta\Delta C_t$)	0,71 $\pm$ 0,06 [0,67; 0,75]	0,04	0,94 $\pm$ 0,07† [0,90; 0,98]	0,04

Примечание: † — $p < 0,05$ по сравнению с группой стандартной PRP.

Динамика изменений исследуемых показателей во всех группах культур хряща менисков человека *in vitro* представлена на рисунке.

В сравнении с группой контроля концентрация IL6 во второй группе выросла на 180,3% (2,8 раза), IL17A на 201,4% (в 3 раза), CD95 на 319,1% (в 4,2 раза), COL2A1 снизился на 58,0% (в 2,4 раза) (рис.). Применение стандартной PRP приводит к снижению IL6 на 30,8%, IL17A на 31,3%, CD95 на 39,6%, тогда как COL2A1 вырос на 69,0% в сравнении со второй группой. Применение фотоактивированной PRP приводило по сравнению с показателями во второй группе к снижению уровня провоспалительных цитокинов — IL6 на 52,01% (в 2,08 раза), IL17A на 56,54% (в 2,30 раза) маркера апоптоза CD95 на 67,02% (в 3,03 раза), и росту COL2A1 на 123,81% (в 2,24 раза). При сравнении с показателями в третьей группе эффект фотоактивированной PRP над эффектами от стандартной PRP превалировал: для IL6 — на 30,67% (в 1,44 раза), для IL17A — на 36,73% (в 1,58 раза), для CD95 — на 45,35% (в 1,83 раза) и роста COL2A1 — на

32,39% (1,32 раза), что подтверждается попарным пост-хок-критерием Тьюки.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Дегенеративные изменения ткани мениска сопровождаются низкоинтенсивным воспалением за счет повышения уровня провоспалительных цитокинов и снижением объема хрящевой ткани [1, 5, 7]. В проведенном исследовании воздействие IL1 β приводит к запуску иммунореакции и дегенерации в ткани мениска *in vitro* уже через 48 ч после инкубации. В пользу этого свидетельствует значительное повышение уровня IL6 и IL17A в сравнении с группой контроля, рост маркера апоптоза и снижение экспрессии гена COL2A1. Это обстоятельство позволяет предположить, что при более длительном воздействии IL1 β способен приводить к более выраженным изменениям, являясь одним из ключевых цитокинов дегенеративного повреждения ткани мениска [8].

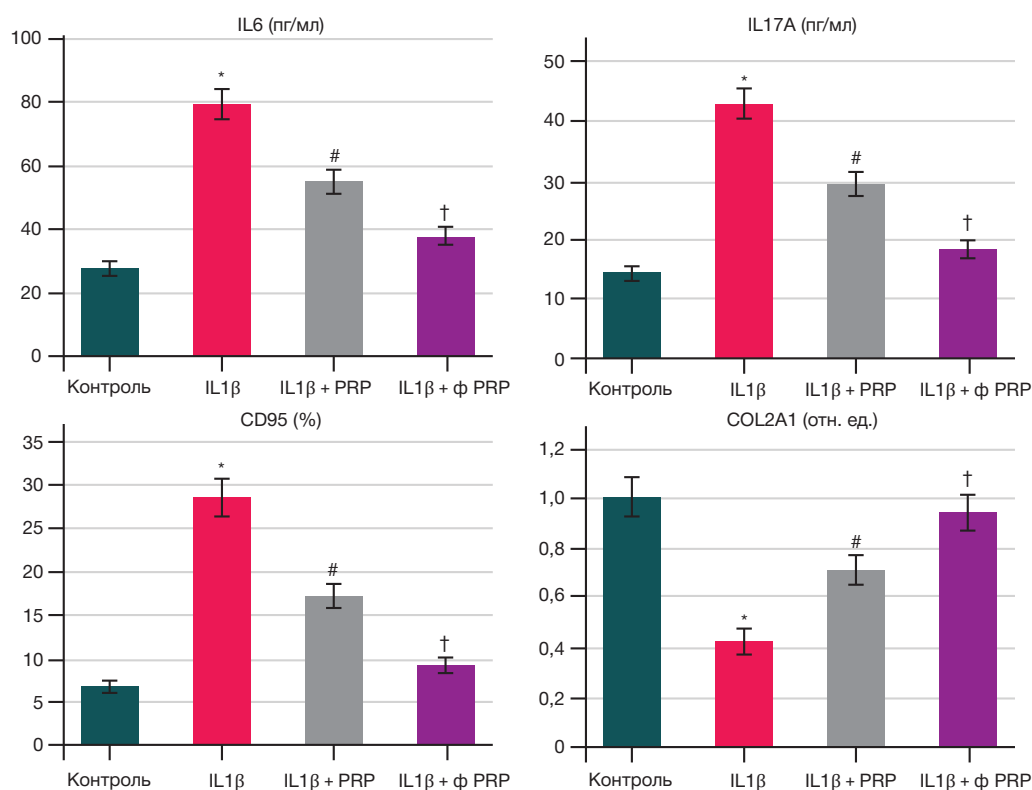


Рис. Воспалительный (IL6, IL17A), фенотипический (CD95) и матриксный (COL2A1) профили хондроцитов мениска человека *in vitro* при IL1 β -индуцированном воспалении и коррекции стандартной и фотоактивированной PRP. Контроль — интактная группа контроля без воздействия IL1 β ; IL1 β + 0,9% NaCl — вторая группа, IL1 β + PRP — третья группа; IL1 β + ф PRP — четвертая группа. Каждая индивидуальная точка на графике соответствует усредненному значению технических реплик для одного из 12 биологических доноров. # — $p < 0,05$ по сравнению с группой «IL1 β »; † — $p < 0,05$ по сравнению с группой «IL1 β + PRP» (пост-хок-критерий Тьюки для повторных измерений)

Выбор гена *COL2A1* как одного из молекулярных показателей дегенеративных изменений фиброзно-хрящевой ткани мениска обусловлен его высокой патогенетической значимостью при моделировании остеоартрита. Ткань мениска гетерогенна за счет преобладания в сосудистой зоне коллагена I типа, обеспечивающего растяжимость; в аваскулярной зоне, которая забиралась нами для исследования, строение близко к гиалиновому хрящу за счет хондроцитоподобных клеток и экспрессии коллагена II типа [33]. При воспалении, ассоциированном с остеоартритом и ожирением, происходит фенотипический сдвиг в клетках мениска, что приводит к процессам апоптоза и снижению синтеза коллагена II типа (*COL2A1*). Этот ген является маркером дегенерации экстрацеллюлярного матрикса аваскулярной зоны мениска и потери амортизирующих свойств, до появления разрывов [34]. Исследование данного показателя позволяет верифицировать способность терапии сохранять хондроцитоподобный фенотип клеток мениска и блокировать катаболический каскад, что невозможно оценить, изолированно анализируя исключительно маркеры фиброзного замещения (коллаген I типа) [35].

Коррекция плазмой, обогащенной тромбоцитами, способна снизить проявления дегенеративных изменений в хондроцитах и приводит к снижению уровня воспалительного процесса наподобие действия нестероидных противовоспалительных препаратов или глюкокортикостероидов [2, 21–24]. При этом PRP не содержит дополнительных химических компонентов, а только тромбоциты, которые помимо регенераторных свойств, способны уменьшать проявление воспаления. В ходе эксперимента установлено снижение концентрации IL6 и IL17A и маркера CD95, увеличение уровня экспрессии *COL2A1* за счет биологической активности PRP. Отдельные исследования *in vitro* и *ex vivo* говорят о том, что PRP способна приводить к пролиферации хондроцитов. Этот процесс может идти в ущерб зрелым клеткам, которые в подобных условиях проявляют свойства фибробластов, снижающих экспрессию *COL2A1*, и синтезируют фиброзный коллаген I типа (*COL2A1*) [36], что в проведенной работе не подтвердилось.

Использование фотоактивированной плазмы, как установлено в проделанном эксперименте, приводит к еще большему усилению биологической активности и регенеративных способностей тромбоцитов. Это может происходить за счет активного высвобождения тромбоцитарных факторов роста, которые депонированы в альфа-гранулах, и модуляции воспалительных сигнальных путей. Ключевую роль в процессах регенерации фиброзно-хрящевой ткани и уменьшении повреждения играют трансформирующий фактор роста β -1 (TGF- β 1), фактор роста фибробластов (bFGF/FGF2) и тромбоцитарный фактор роста (PDGF) [24, 25]. Полученные молекулярно-генетический и клеточный эффекты особенно значимы были в четвертой группе — снижение уровней IL6, IL17A и CD95, увеличение экспрессии гена *COL2A1* произошли практически до показателей интактных хондроцитов первой группы. Снижение уровня провоспалительных цитокинов происходит за счет ингибирования ключевого провоспалительного транскрипционного фактора NF- κ B (ядерного фактора каппа-Би). Под действием PRP блокируются фосфорилирование и деградация ингибиторного белка I κ B, что впоследствии приводит к выключению генов провоспалительных цитокинов. Фотоактивация приводит к усилению подобного

эффекта за счет активации цитохром-с-оксидазы митохондрий, стимуляции аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и кратковременного высвобождения активных форм кислорода, активирующего эндогенные противовоспалительные факторы. Активация каскада фосфорилирования приводит к ингибированию проапоптотических белков семейства Bcl-2 (Bax и Bad), блокировке транскрипционного фактора FoxO, в результате происходит деактивация рецепторов CD95 и дальнейший запуск эффекторных каспаз [37].

Увеличение экспрессии гена *COL2A1* при добавлении фотоактивированной PRP происходит за счет активации сигнального пути Smad2/3 под действием TGF- β 1, связывающегося с рецепторами TGFBR1/TGFBR2, в результате чего происходит фосфорилирование белков Smad2 и Smad3; в результате полученный комплекс транслоцируется в область ядра и связывается с промотором гена SOX9, отвечающего за хондрогенез. В активированном состоянии ген приводит к запуску каскада экспрессии мРНК *COL2A1*, что приводит к увеличению синтеза коллагена II типа и плотности внеклеточного матрикса мениска [38]. Применение стандартной PRP имеет меньший потенциал в отношении *COL2A1* в сравнении с фотоактивированной формой, так как имеет меньшую кинетику дегрануляции. Резкая и избыточная пролиферативная стимуляция хондроцитов стандартной PRP способна вызвать их транзиторную дифференцировку, приводящую к угнетению синтеза ключевых структурных маркеров [39]. Фотоактивированная плазма при нарушении протокола облучения может иметь перестроенную кинетику дегрануляции, что обеспечивает растянутое во времени высвобождение факторов роста (PDGF, bFGF). Их избыток приводит к непрерывному делению хондроцитов, обуславливающему выключение анаболического синтеза клеточного матрикса *COL2A1* и ACAN [25].

Полученные в ходе эксперимента данные свидетельствуют в пользу возможности применения обогащенной тромбоцитами плазмы по стандартной методике и с фотоактивацией для регенерации хрящевой ткани и ее применения при реконструктивных операциях на менисках и хондропластике.

Ограничения исследования

Исключительно высокая величина эффекта ($\eta^2 = 0,879–0,984$) и низкая междонорная вариабельность ($CV \approx 5–8\%$) для человеческого материала обусловлены жесткой биологической стандартизацией (использование клеток раннего пассажа, синхронизация клеточного цикла) и математической спецификой модели *rm*-ANOVA. Данный дизайн изолирует индивидуальную вариабельность доноров из дисперсии ошибки, что закономерно завышает долю дисперсии (η^2_p), объясняемую групповым фактором, и может ограничивать прямую экстраполяцию данных *in vivo*.

Выводы

В процессе проведенного исследования установлено, что воздействие IL1 β на культуру хондроцитов ткани мениска человека *in vitro* приводит к увеличению концентрации в ней провоспалительных цитокинов IL6, IL17, маркера апоптоза CD95⁺-клеток и снижению уровня экспрессии гена *COL2A1*. Данные изменения демонстрируют иммунорегуляторный паттерн с запуском апоптоза хондроцитов и деградации

экстрацеллюлярного матрикса в хряще под воздействием IL1 β . Применение PRP, обладающей биологической активностью и регенеративным потенциалом за счет высокого содержания тромбоцитов, способно снижать выраженность воспаления и апоптоза в хрящевой ткани и положительно влияет на регенерацию и синтез коллагена II типа, т. е. эффективно влияет на секреторный (IL6, IL17A), матриксный (COL2A1) и фенотипический (CD95) профили фиброхондроцитов мениска человека при IL1 β -индуцированном воспалении *in vitro*. В исследовании было показано, что фотоактивированная PRP способна оказывать более выраженную биологическую

активность в отношении всех изучаемых параметров за счет более активного высвобождения факторов роста из тромбоцитов и снижения уровня воспаления и апоптоза клеток, сопровождается нормализацией секреторного, фенотипического и матриксного профилей. Дальнейшее изучение влияния обычной и фотоактивированной PRP в клинической практике с разработкой оптимальных сроков и кратности внутрисуставного введения позволит более точно оценить механизм регенерации хондроцитов при выборе методов клеточной терапии у пациентов с дегенеративным поражением хрящевой ткани мениска, в том числе при остеоартрите.

Литература

1. Гладкова Е. В., Иванов А. Н. Взаимосвязь структурных нарушений суставного гиалинового хряща и параметров системных проявлений воспалительной реакции в патогенезе ранних стадий первичного остеоартроза. Саратовский научно-медицинский журнал. 2018; 14 (3): 518–23. Доступно по ссылке: <https://cyberleninka.ru/article/n/vzaimosvyaz-strukturnykh-narusheniy-sustavnogo-gialinovogo-hryascha-i-parametrov-sistemnykh-proyavleniy-vospalitelnoy-reaktsii-v> (дата обращения: 27.06.2026).
2. Иванов А. С., Тананакина Т. П., Кащенко С. А., Погорелова И. А. Экспрессия микроРНК miR146a в плазме крови крыс с ожирением и артрозом коленного сустава на фоне введения дексаметазона. Вестник РГМУ. 2025; 6: 223–9. DOI: 10.24075/vrgmu.2025.056.
3. Плехова Н. Г., Кабалык М. А., Просекова Е. В., Шуматов В. Б. Провоспалительные цитокины, хемокин CXCL17 и белки теплового шока при остеоартрите коленного сустава. Российский иммунологический журнал. 2025; 28 (1): 129–34. DOI: 10.46235/1028-7221-16975-PCC.
4. Chow YY, Chin KY. The Role of Inflammation in the Pathogenesis of Osteoarthritis. Mediators Inflamm. 2020; 2020: 8293921. DOI: 10.1155/2020/8293921.
5. McGregor NE, Murat M, Elango J, Poulton IJ, Walker EC, et al. IL6 exhibits both cis- and trans-signaling in osteocytes and osteoblasts, but only trans-signaling promotes bone formation and osteoclastogenesis. J Biol Chem. 2019; 294 (19): 7850–63. DOI: 10.1074/jbc.RA119.008074.
6. Vadalà G, Di Giacomo G, Ambrosio L, Cannata F, Cicione C, Papalia R, Denaro V. Irisin Recovers Osteoarthritic Chondrocytes In Vitro. Cells. 2020; 9 (6): 1478. DOI: 10.3390/cells9061478.
7. Li L, Li Z, Li Y, Hu X, Zhang Y, et al. Profiling of inflammatory mediators in the synovial fluid related to pain in knee osteoarthritis. BMC Musculoskelet Disord. 2020; 21 (1): 99. DOI: 10.1186/s12891-020-3120-0.
8. Федулчев Н. П. Провоспалительные цитокины в патогенезе остеоартрита. Университетская клиника. 2024; 4 (53): 70–81. Доступно по ссылке: <https://cyberleninka.ru/article/n/provospalitelnye-tsitokiny-v-patogeneze-osteoartrita> (дата обращения: 27.06.2026).
9. Jaime P, García-Guerrero N, Estella R, Pardo J, GarcíaÁlvarez F, et al. CD56+/CD16- Natural Killer cells expressing the inflammatory protease granzyme are enriched in synovial fluid from patients with osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2017; 25 (10): 1708–18. DOI: 10.1016/j.joca.2017.06.007.
10. Mimpfen JY, Carr AJ, Dakin SG, Snelling SJ. Inhibition of interleukin-17-induced effects in osteoarthritis — An in vitro study. Osteoarthritis Cartilage. 2018; 26: S118. DOI: 10.1016/j.joca.2018.02.258.
11. Babaei M, Javadian Y, Narimani H, Ranaei M, Heidari B, et al. Correlation between systemic markers of inflammation and local synovitis in knee osteoarthritis. Caspian J Intern Med. 2019; 10 (4): 383–7. DOI: 10.22088/cjim.10.4.383.
12. Snelling SJ, Bas S, Puskas GJ, Dakin SG, Suva D, et al. Presence of IL17 in synovial fluid identifies a potential inflammatory osteoarthritic phenotype. PLoS One. 2017; 12 (4): e0175109. DOI: 10.1371/journal.pone.0175109.
13. Lee YH, Song GG. Association between IL17 gene polymorphisms and circulating IL17 levels in osteoarthritis: a meta-analysis. Z Rheumatol. 2020; 79 (5): 482–90. DOI: 10.1007/s00393-019-00720-2.
14. Дыдыкина И. С., Коваленко П. С., Коваленко А. А., Аболешина А. В. Значение неденатурированного коллагена для нормализации функции хрящевой ткани суставов. Медицинский совет. 2022; 16 (14): 145–53. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-14-145-153.
15. Zhang B, Zhang Y, Wu N, Li J, Liu H, Wang J. Integrated analysis of COL2A1 variant data and classification of type II collagenopathies. Clin Genet. 2020; 97: 383–95. DOI: 10.1111/cge.13680.
16. Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V, Hall C, Krakow D, Mundlos S, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision. Am J Med Genet A. 2019; 179 (12): 2393–419. DOI: 10.1002/ajmg.a.61366.
17. Viakhireva I, Bychkov I, Markova T, Shatokhina O, Karandasheva K, Udalova V, Bekhtereva Y, Ryzhkova O, Skoblov M. The molecular complexity of COL2A1 splicing variants and their significance in phenotype severity. Bone. 2024; 181: 117013. DOI: 10.1016/j.bone.2024.117013.
18. Huan Yu, Sai Yao, Chengchong Zhou, Fangda Fu, Huan Luo, Weibin Du, et al. Morroniside attenuates apoptosis and pyroptosis of chondrocytes and ameliorates osteoarthritic development by inhibiting NF- κ B signaling. Journal of Ethnopharmacology. 2021; 266: 113447. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113447.
19. Hussain A, Tarahomi T, Singh L, Bollampally M, Heydari-Kamjani M, Kesselman MM. Cardiovascular Risk Associated with TNF Alpha Inhibitor Use in Patients with Rheumatoid Arthritis. Cureus. 2021; 13 (9): e17938. DOI: 10.7759/cureus.17938.
20. Абрамова Т. Я., Блинова Е. А., Пашкина Е. А., Гришина Л. В., Ильина Н. А., Чумасова О. А., Сизиков А. Э., Козлов В. А. Исследование эффекторных молекул автономного и неавтономного влияния апоптоза Т-лимфоцитов в условиях «клеточного соседства» в культуре у здоровых людей и пациентов с РА. Медицинская иммунология. 2022; 24 (6): 1119–38. DOI: 10.15789/1563-0625-SOE-2527.
21. Bagmut IYu, Ivanov OS, Sheremet MI, Smirnov SM, Kolisnyk IL, Ivanova JV, et al. Isolation of megakaryocytes using magnetic cell separation and adverse effects induced by diclofenac toxicity in an experiment. J Med Life. 2022; 15 (1): 65–70. DOI: 10.25122/jml-2020-0129.
22. Ivanov O, Haidash O, Voloshin V, Kondratov S, Smirnov A. Influence of the acting substance sodium diclofenac on bone marrow cells. Georgian Medical News. 2020; 306: 137–42. PMID: 33130661.
23. Ivanova YuV, Gramatiuk SM, Kryvoruchko IA, Prasol VO, Pulyaeva IS, Miasoiedov KV, et al. The Effect of pulsed photobiomodulation on proliferation and migration of human mesenchymal stem cells in vitro. Clinical and preventive medicine. 2024; (5): 87–92. DOI: 10.31612/2616-4868.5.2024.11.
24. Медведев В. Л., Ополский А. М., Коган М. И. Перспективы

- развития регенеративных технологий. Современные знания об аутоплазме, обогащенной тромбоцитами и возможности ее применения в лечении урологических заболеваний. Кубанский научный медицинский вестник. 2018; 25 (3): 155–61. DOI: 10.25207/1608-6228-2018-25-3-155-161.
25. Irmak G, Gümüşderelioglu M. Photo-activated platelet-rich plasma (PRP)-based patient-specific bio-ink for cartilage tissue engineering. *Biomed Mater*. 2020; 15 (6): 065010. DOI: 10.1088/1748-605X/ab9e46.
 26. Gramatiuk S, Kryvoruchko I, Ivanova Y, Emily Hubbard, Maria Noebauer-Babenko, Karine Sargsyan. Artificial Intelligence-Based Quality Control of Cell Lines. *Biopreserv Biobank*. 2025; DOI: 10.1177/19475535251367317.
 27. Li Y, Wang F, Ji B, Amati A, Cao L. FHL2 deteriorates IL-1 β induced inflammation, apoptosis, and extracellular matrix degradation in chondrocyte-like ATDC5 cells by mTOR and NF- κ B pathways. *BMC Musculoskelet Disord*. 2025; 26 (1): 331. DOI: 10.1186/s12891-025-08536-9.
 28. Collins T, Alexander D, Barkatali B. Platelet-rich plasma: a narrative review. *EFORT Open Rev*. 2021; 6 (4): 225–35. DOI: 10.1302/2058-5241.6.200017.
 29. Mishra Kanchan, Desai Pooja, Khanna Manish, Malhotra Sayesha. Photoactivated platelet-rich plasma (PA-PRP): A safe and effective treatment for musculoskeletal disorders. *IP International Journal of Orthopaedic Rheumatology*. 2025; 11: 71–75. DOI: 10.18231/j.ijor.25218.1765359797.
 30. Bustin SA, Ruijter JM, van den Hoff MJB, Kubista M, Pfaffl MW, Shipley GL, et al. MIQE 2.0: Revision of the Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments Guidelines. *Clin Chem*. 2025; 71 (6): 634–51. DOI: 10.1093/clinchem/hvaf043.
 31. Videla-Jiménez P, Ruz F, López-Martín M. Research on box plot knowledge in statistical education: a systematic review of the literature. *Eur J Psychol Educ*. 2025; 40: 141. DOI: 10.1007/s10212-025-01048-z.
 32. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001; 25 (4): 402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
 33. Raut RD, Chakraborty AK, Neogi T, Michael Albro, Brian Snyder, Thomas P. Schaer, et al. A multi-tissue human knee single-cell atlas identifies that osteoarthritis reduces regenerative tissue stem cells while increasing inflammatory pain macrophages. *Commun Biol*. 2025; 8: 1146. DOI: 10.1038/s42003-025-08586-8.
 34. Mocanu V, Timofte DV, Zără-Dăncănu C-M, Labusca L, Obesity. Metabolic Syndrome, and Osteoarthritis Require Integrative Understanding and Management. *Biomedicines*. 2024; 12: 1262. DOI: 10.3390/biomedicines12061262.
 35. Galicia-Canales BE, del Rocío Aguilar-Gaytán M, Álvarez-Pérez MA, Jarquín-Yáñez K, et al. Effect of pericicero on human meniscal fibrochondrocyte inflammation induced by IL-1 β and TNF- α through the NF- κ B signaling pathway. *Cellular and Molecular Biology*. 2026; 72 (3): 36–44. DOI: 10.14715/cmb/2025.72.3.5.
 36. Rijkers M, Dijkstra K, Terhaard BF, Admiraal J, Levato R, Malda J, et al. Platelet-Rich Plasma Does Not Inhibit Inflammation or Promote Regeneration in Human Osteoarthritic Chondrocytes In Vitro Despite Increased Proliferation. *Cartilage*. 2021; 13 (2_suppl): 991S–1003S. DOI: 10.1177/1947603520961162.
 37. Zhao H, Zhu W, Mao W, Shen C. Platelet-rich plasma inhibits Adriamycin-induced inflammation via blocking the NF- κ B pathway in articular chondrocytes. *Mol Med*. 2021; 27 (1): 66. DOI: 10.1186/s10020-021-00314-2.
 38. O'Donnell C, Migliore E, Grandi FC, et al. Platelet-Rich Plasma (PRP) From Older Males With Knee Osteoarthritis Depresses Chondrocyte Metabolism and Upregulates Inflammation. *J Orthop Res*. 2019; 37: 1760–70. DOI: 10.1002/jor.24322.
 39. Li M, Jing C, Liu Q, Zhang Y, Li K. Platelet-rich plasma in cartilage repair: biological mechanisms and clinical perspectives. *Front Sports Act Living*. 2026; 8: 1785754. DOI: 10.3389/fspor.2026.1785754.

References

1. Gladkova EV, Ivanov AN. Vzaimosvyaz' strukturnykh narushenij sustavnogo gialinovogo hryashcha i parametrov sistemnykh proyavlenij vospalitel'noj reakcii v patogeneze rannih stadij pervichnogo osteoartritoza. *Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal*. 2018; 14 (3): 518–23. Dostupno po ssylke: [https://cyberleninka.ru/article/n/vzaimosvyaz-strukturnykh-narusheniy-sustavnogo-gialinovogo-hryashcha-i-parametrov-sistemnykh-proyavleniy-vospalitel'noy-reaktsii-v-\(data-obrashcheniya:27.06.2026\)](https://cyberleninka.ru/article/n/vzaimosvyaz-strukturnykh-narusheniy-sustavnogo-gialinovogo-hryashcha-i-parametrov-sistemnykh-proyavleniy-vospalitel'noy-reaktsii-v-(data-obrashcheniya:27.06.2026).). Russian.
2. Ivanov AS, Tananakiina TP, Kashchenko SA, Pogorelova IA. Expression of microRNA miR146a in the blood plasma of rats with obesity and knee arthrosis after administration of dexamethasone. *Bulletin of RSMU*. 2025; 6: 209–15. DOI: 10.24075/brsmu.2025.056.
3. Plekhova NG, Kabalyk MA, Prosekova EV, Shumatov VB. Provospalitel'nye citokiny, hemokin CXSL17 i belki teplovogo shoka pri osteoartrite kolennogo sustava. *Rossiiskij immunologicheskij zhurnal*. 2025; 28 (1): 129–34. DOI: 10.46235/1028-7221-16975-PCC. Russian.
4. Chow YY, Chin KY. The Role of Inflammation in the Pathogenesis of Osteoarthritis. *Mediators Inflamm*. 2020; 2020: 8293921. DOI: 10.1155/2020/8293921.
5. McGregor NE, Murat M, Elango J, Poulton IJ, Walker EC, et al. IL6 exhibits both cis- and trans-signaling in osteocytes and osteoblasts, but only trans-signaling promotes bone formation and osteoclastogenesis. *J Biol Chem*. 2019; 294 (19): 7850–63. DOI: 10.1074/jbc.RA119.008074.
6. Vadalà G, Di Giacomo G, Ambrosio L, Cannata F, Cicione C, Papalia R, Denaro V. Irisin Recovers Osteoarthritic Chondrocytes In Vitro. *Cells*. 2020; 9 (6): 1478. DOI: 10.3390/cells9061478.
7. Li L, Li Z, Li Y, Hu X, Zhang Y, et al. Profiling of inflammatory mediators in the synovial fluid related to pain in knee osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2020; 21 (1): 99. DOI: 10.1186/s12891-020-3120-0.
8. Fedulichev NP. Provospalitel'nye citokiny v patogeneze osteoartrita. *Universitetskaya klinika*. 2024; 4 (53): 70–81. Dostupno po ssylke: [https://cyberleninka.ru/article/n/provospalitel'nye-tsitokiny-v-patogeneze-osteoartrita-\(data-obrashcheniya:27.06.2026\)](https://cyberleninka.ru/article/n/provospalitel'nye-tsitokiny-v-patogeneze-osteoartrita-(data-obrashcheniya:27.06.2026).). Russian.
9. Jaime P, García-Guerrero N, Estella R, Pardo J, GarcíaÁlvarez F, et al. CD56+/CD16- Natural Killer cells expressing the inflammatory protease granzyme are enriched in synovial fluid from patients with osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017; 25 (10): 1708–18. DOI: 10.1016/j.joca.2017.06.007.
10. Mimpfen JY, Carr AJ, Dakin SG, Snelling SJ. Inhibition of interleukin-17-induced effects in osteoarthritis — An in vitro study. *Osteoarthritis Cartilage*. 2018; 26: S118. DOI: 10.1016/j.joca.2018.02.258.
11. Babaei M, Javadian Y, Narimani H, Ranaei M, Heidari B, et al. Correlation between systemic markers of inflammation and local synovitis in knee osteoarthritis. *Caspian J Intern Med*. 2019; 10 (4): 383–7. DOI: 10.22088/cjim.10.4.383.
12. Snelling SJ, Bas S, Puskas GJ, Dakin SG, Suva D, et al. Presence of IL17 in synovial fluid identifies a potential inflammatory osteoarthritic phenotype. *PLoS One*. 2017; 12 (4): e0175109. DOI: 10.1371/journal.pone.0175109.
13. Lee YH, Song GG. Association between IL17 gene polymorphisms and circulating IL17 levels in osteoarthritis: a meta-analysis. *Z Rheumatol*. 2020; 79 (5): 482–90. DOI: 10.1007/s00393-019-00720-2.
14. Dydykina IS, Kovalenko PS, Kovalenko AA, Aboleshina AV. Znachenie nadenaturirovannogo kollagena dlya normalizatsii funktsii hryashchevoj tkani sustavov. *Medicinskij sovet*. 2022; 16 (14): 145–53. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-14-145-153. Russian.
15. Zhang B, Zhang Y, Wu N, Li J, Liu H, Wang J. Integrated analysis of COL2A1 variant data and classification of type II collagenopathies. *Clin Genet*. 2020; 97: 383–95. DOI: 10.1111/cge.13680.
16. Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V, Hall C, Krakow D, Mundlos S, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision. *Am J Med Genet A*. 2019; 179 (12): 2393–419. DOI: 10.1002/ajmg.a.61366.
17. Viakhireva I, Bychkov I, Markova T, Shatokhina O, Karandasheva K,

- Udalova V, Bekhtereva Y, Ryzhkova O, Skoblov M. The molecular complexity of COL2A1 splicing variants and their significance in phenotype severity. *Bone*. 2024; 181: 117013. DOI: 10.1016/j.bone.2024.117013.
18. Huan Yu, Sai Yao, Chengchong Zhou, Fangda Fu, Huan Luo, Wein Du, et al. Morroniside attenuates apoptosis and pyroptosis of chondrocytes and ameliorates osteoarthritic development by inhibiting NF- κ B signaling. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021; 266: 113447. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113447.
 19. Hussain A, Tarahomi T, Singh L, Bollampally M, Heydari-Kamjani M, Kesselman MM. Cardiovascular Risk Associated with TNF Alpha Inhibitor Use in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Cureus*. 2021; 13 (9): e17938. DOI: 10.7759/cureus.17938.
 20. Abramova TYa, Blinova EA, Pashkina EA, Grishina LV, Ilina NA, Chumasova O. A., i dr. Issledovanie effektivnykh molekul avtonomnogo i neavtonomnogo vliyaniya apoptoza T-limfocitov v usloviyakh «kletchnogo sosledstva» v kul'ture u zdorovykh lyudey i pacientov s RA. *Meditsinskaya immunologiya*. 2022; 24 (6): 1119–38. DOI: 10.15789/1563-0625-SOE-2527. Russian.
 21. Bagmut IYu, Ivanov OS, Sheremet MI, Smirnov SM, Kolisnyk IL, Ivanova JV, et al. Isolation of megakaryocytes using magnetic cell separation and adverse effects induced by diclofenac toxicity in an experiment. *J Med Life*. 2022; 15 (1): 65–70. DOI: 10.25122/jml-2020-0129.
 22. Ivanov O, Haidash O, Voloshin V, Kondratov S, Smirnov A. Influence of the acting substance sodium diclofenac on bone marrow cells. *Georgian Medical News*. 2020; 306: 137–42. PMID: 33130661.
 23. Ivanova YuV, Gramatiuk SM, Kryvoruchko IA, Prasol VO, Pulyaeva IS, Miasoedov KV, et al. The Effect of pulsed photobiomodulation on proliferation and migration of human mesenchymal stem cells in vitro. *Clinical and preventive medicine*. 2024; (5): 87–92. DOI: 10.31612/2616-4868.5.2024.11.
 24. Medvedev VL, Opolskij AM, Kogan MI. Perspektivy razvitiya regenerativnykh tekhnologij. *Sovremennye znaniya ob autoplazme, obogashchennoi trombocitami i vozmozhnosti ee primeneniya v lechenii urologicheskikh zabolevaniy*. Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik. 2018; 25 (3): 155–61. DOI: 10.25207/1608-6228-2018-25-3-155-161.
 25. Irmak G, Gümüşderelioğlu M. Photo-activated platelet-rich plasma (PRP)-based patient-specific bio-ink for cartilage tissue engineering. *Biomed Mater*. 2020; 15 (6): 065010. DOI: 10.1088/1748-605X/ab9e46.
 26. Gramatiuk S, Kryvoruchko I, Ivanova Y, Emily Hubbard, Maria Noebauer-Babenko, Karine Sargsyan. Artificial Intelligence-Based Quality Control of Cell Lines. *Biopreserv Biobank*. 2025; DOI: 10.1177/19475535251367317.
 27. Li Y, Wang F, Ji B, Amati A, Cao L. FHL2 deteriorates IL-1 β induced inflammation, apoptosis, and extracellular matrix degradation in chondrocyte-like ATDC5 cells by mTOR and NF- κ B pathways. *BMC Musculoskelet Disord*. 2025; 26 (1): 331. DOI: 10.1186/s12891-025-08536-9.
 28. Collins T, Alexander D, Barkatali B. Platelet-rich plasma: a narrative review. *EFORT Open Rev*. 2021; 6 (4): 225–35. DOI: 10.1302/2058-5241.6.200017.
 29. Mishra Kanchan, Desai Pooja, Khanna Manish, Malhotra Sayesha. Photoactivated platelet-rich plasma (PA-PRP): A safe and effective treatment for musculoskeletal disorders. *IP International Journal of Orthopaedic Rheumatology*. 2025; 11: 71–75. DOI: 10.18231/j.ijor.25218.1765359797.
 30. Bustin SA, Ruijter JM, van den Hoff MJB, Kubista M, Pfaffl MW, Shipley GL, et al. MIQE 2.0: Revision of the Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments Guidelines. *Clin Chem*. 2025; 71 (6): 634–51. DOI: 10.1093/clinchem/hvaf043.
 31. Videla-Jiménez P, Ruz F, López-Martín M. Research on box plot knowledge in statistical education: a systematic review of the literature. *Eur J Psychol Educ*. 2025; 40: 141. DOI: 10.1007/s10212-025-01048-z.
 32. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001; 25 (4): 402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
 33. Raut RD, Chakraborty AK, Neogi T, Michael Albro, Brian Snyder, Thomas P. Schaer, et al. A multi-tissue human knee single-cell atlas identifies that osteoarthritis reduces regenerative tissue stem cells while increasing inflammatory pain macrophages. *Commun Biol*. 2025; 8: 1146. DOI: 10.1038/s42003-025-08586-8.
 34. Mocanu V, Timofte DV, Zără-Dănceanu C-M, Labusca L, Obesity. Metabolic Syndrome, and Osteoarthritis Require Integrative Understanding and Management. *Biomedicines*. 2024; 12: 1262. DOI: 10.3390/biomedicines12061262.
 35. Galicia-Canales BE, del Rocío Aguilar-Gaytán M, Álvarez-Pérez MA, Jarquín-Yáñez K, et al. Effect of penicicrol on human meniscal fibrochondrocyte inflammation induced by IL-1 β and TNF- α through the NF- κ B signaling pathway. *Cellular and Molecular Biology*. 2026; 72 (3): 36–44. DOI: 10.14715/cmb/2025.72.3.5.
 36. Rikkers M, Dijkstra K, Terhaard BF, Admiraal J, Levato R, Malda J, et al. Platelet-Rich Plasma Does Not Inhibit Inflammation or Promote Regeneration in Human Osteoarthritic Chondrocytes In Vitro Despite Increased Proliferation. *Cartilage*. 2021; 13 (2_suppl): 991S–1003S. DOI: 10.1177/1947603520961162.
 37. Zhao H, Zhu W, Mao W, Shen C. Platelet-rich plasma inhibits Adriamycin-induced inflammation via blocking the NF- κ B pathway in articular chondrocytes. *Mol Med*. 2021; 27 (1): 66. DOI: 10.1186/s10020-021-00314-2.
 38. O'Donnell C, Migliore E, Grandi FC, et al. Platelet-Rich Plasma (PRP) From Older Males With Knee Osteoarthritis Depresses Chondrocyte Metabolism and Upregulates Inflammation. *J Orthop Res*. 2019; 37: 1760–70. DOI: 10.1002/jor.24322.
 39. Li M, Jing C, Liu Q, Zhang Y, Li K. Platelet-rich plasma in cartilage repair: biological mechanisms and clinical perspectives. *Front Sports Act Living*. 2026; 8: 1785754. DOI: 10.3389/fspor.2026.1785754.