

АНАЛІЗ ДОЦІЛЬНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ У ЛІКУВАННІ АНДРОГЕНЕТИЧНОЇ АЛОПЕЦІЇ

Проф. Ю. С. ОБЧАРЕНКО, О. А. САЛЕНКОВА

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

Проаналізовано можливі результати застосування збагаченої тромбоцитами плазми у терапії андрогенетичної алопеції з урахуванням сучасних уявлень про етіологію цього захворювання та молекулярно-біологічних властивостей тромбоцитів у регенерації пошкодженої тканини.

Ключові слова: андрогенетична алопеція, збагачена тромбоцитами плазма, тромбоцити, фактори росту.

Прогрес у клінічній практиці та дослідницькій роботі допоміг виявити декілька неандрогенних ко-факторів комплексної етіології андрогенної алопеції (АГА), що стало підґрунтям для розробки нових терапевтичних стратегій, серед яких використання аутологічної, збагаченої тромбоцитами плазми (ЗТП) є однією з найбільш перспективних.

Зазначається, що великі терапевтичні можливості має застосування аутологічної ЗТП як метод, який опосередковано стимулює роботу клітин дермального сосочка [1]. Дермальний сосочок і сполучнотканинна оболонка сформовані з тих самих клітин-попередників, що і фібробласти, які містяться у міжфолікулярній дермі, проте їх профіль експресії генів та біологічні функції кардинально відрізняються [2]. Якщо міжфолікулярні фібробласти сприяють зростанню і диференціюванню верхніх епітеліальних клітин (кератиноцитів), то дермальний сосочок і сполучнотканинна оболонка відіграють основну роль у регулюванні росту волосся. В основі методу лежить концепція ЗТП як природного джерела сигнальних молекул, що мають паракринний ефект щодо інших клітин. Головними функціями тромбоцитів у відновленні пошкодженої тканини є модуляція запалення за допомогою взаємодії клітин вродженого імунітету, регуляція ангіогенезу і стимуляція клітинної міграції і проліферації [3].

ЗТП, виділена з цільної крові, характеризується наявністю факторів росту та стимулюючих медіаторів. Це аутологічний препарат тромбоцитів у концентрованій плазмі з їх концентрацією, що перевищує фізіологічну. Тромбоцити містять близько 70 гранул, які поділяються на три типи: α -гранули, щільні та лизосомальні. Активовані α -гранули тромбоцитів є найчисленнішими та великими (200–400 нм), вони виробляють понад 300 біоактивних субстанцій [4], що відіграють фундаментальну роль у гемостазі та регенерації тканин шляхом стимулювання клітинного хемотаксису, проліферації, диференціації, ангіогенезу

й осадження позаклітинного матриксу [5]. До цих субстанцій належать такі білки: фактор фон Віллебранда, фібрoneктин, фібриноген, Р-селектин, білок — попередник амілоїду, матриксні металопротеїнази, різні фактори коагуляції та росту. Серед факторів росту, що беруть участь у процесах відновлення пошкодженої тканини, треба відзначити такі: трансформуючий фактор росту бета (TGF- β), інсуліноподібний фактор росту (IGF), фактор росту ендотелію судин (VEGF), тромбоцитарний фактор росту (PDGF), епідермальний фактор росту (EGF), фактор росту кератиноцитів (KGF), базовий фактор росту фібробластів (bFGF) та фактор росту сполучної тканини (CTGF) [6]. Щільні гранули тромбоцитів містять малі молекули: серотонін аденозиндифосфат, аденозинтрифосфат та кальцій, а лизосомальні, що є нечисленними, — гідролази та деградаційні ензими. Гістамін та серотонін, що виробляються тромбоцитами, підвищують локальну проникність капілярів задля покращання доступу додаткових запальних клітин для ініціації репаративних процесів. Контрольований екзоцитоз під час активації тромбоцитів призводить до вивільнення активних речовин із гранул у позаклітинний простір. Незважаючи на те що фактори росту секретуються різними запальними клітинами, швидкість, із якою тромбоцити накопичуються у місці пошкодження судин, робить їх найважливішим і доступним джерелом цих медіаторів [7].

Установлено, що ЗТП має сприятливу дію при кісткових трансплантаціях, проведених при щелепно-лицьовій, ортопедичній хірургії та кардіохірургії [8]. Останнім часом зростає інтерес до ЗТП у дерматології, висловлюються пропозиції про її застосування як нового методу лікування АГА [9].

Волосяні фолікули знаходяться на перетині складної нейроендокринної та імунної регуляції, що реалізує як місцевий, так і системний вплив численних ендогенних і екзогенних факторів, генному й епігенному. Подальше вивчення сигнальних шляхів, що беруть участь у зростанні волосся,

у майбутньому має відкрити нові мішені медикаментозного впливу.

Згідно з останніми даними, перехід із фази телогену в анаген асоційований з активацією сигнального шляху Shh, Wnt/beta-catenin/Lef-1 та Stat3 [10]. У фазі анагену в епітелії та мезенхімі активовано велику кількість шляхів передачі сигналу (Shh, Wnt та ін.) і факторів росту (BMP, FGF, HGF, IGF, PDGF, SCF та ін.), чітка координація яких необхідна для формування волосини.

Варто відзначити, що одні й ті самі чинники можуть впливати по-різному на клітини у складі волосяного фолікулу в різних фазах циклу. Сучасні дослідження відкрили величезний потенціал для розробки способів корекції та управління циклом росту волосся за допомогою біологічно активних речовин, факторів росту та гормонів і фактично зробили революцію у цьому напрямку.

Фактори росту — біологічно активні сполуки з широким спектром функціональної активності. Вони відіграють центральну роль у процесі тканинної регенерації, адже здатні стимулювати клітинну проліферацію, диференціацію, міграцію [11]. Фактори росту є сполучною ланкою між експресією генів організму та оточуючим середовищем — вони мають важливе значення у регуляції життєвого циклу волосяного фолікула. У наш час встановлено, що такі фактори, як EGF, TGF- β , IGF-1, VEGF, KGF беруть участь у регуляції циклу росту волосся [12].

Локалізацію рецепторів для ряду факторів росту в різних ділянках волосяного фолікула було продемонстровано за допомогою імуногістохімії та гібридизації *in situ*. Найбільшу імуногенореактивність щодо FGF-7, IGF, HGF та VEGF, які відіграють ключову роль у регуляції росту фолікула, продемонстрували клітини дермального сосочка [13].

Спочатку очікувалося, що застосування ростових факторів *in vivo* дасть змогу стимулюючим чином впливати на зростання волосини. Проте в ході досліджень було виявлено цікаву особливість: ефект впливу факторів росту на волосяний фолікул залежить від характеру реалізації їх дії.

Було встановлено, що такі фактори росту, як EGF, TGF- α , FGF-1, FGF-2 сповільнювали ріст волосся. Супресивний ефект також спостерігався у TGF- β в культурі тканини. Ця група факторів росту характеризувалась аутокринним механізмом дії.

Водночас було продемонстровано, що підшкірні ін'єкції паракринних факторів росту FGF-7, IGF-1, HGF мали стимулюючу дію на ріст волосяного фолікулу та модулювали цикл волосини *in vivo*. Такий ефект, імовірно, пов'язаний із паракринним характером реалізації факторів росту, що синтезуються у волосяному сосочку. Залишається нез'ясованим, чому лише паракринні фактори росту мають стимулюючу дію.

Дослідники M. Shahidi et al. [14] у 2018 р. продемонстрували вплив ЗТП на рецептор фак-

тора росту ендотелію судин — фактора росту (VEGFR-2) та CD34. У ході роботи цей вплив оцінювали за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції в реальному часі, проточної цитометрії, вестерн-блоту, імуноцитохімії та дослідження в культурі пупоподібної ендотеліальної клітини людини та в шкірі щура, що підтверджувало значний вплив ЗТП на експресію VEGFR-2 та CD34. Це дає можливість розглядати ЗТП як аутологічне джерело, необхідне для репарації тканини ангіогенезу.

VEGF є необхідним для багатьох процесів ангіогенезу як у нормальних умовах, так і в патологічних тканинах, він хімічно привабливий для остеобластів. VEGF-сигналізація модулюється ангіопоетином-1 (Ang1), який зв'язується з рецепторними тирозинкіназами [15]. Він стимулює утворення судин і підтримує виживання ендотеліальних клітин. VEGF, зв'язуючись із одним зі своїх рецепторів, сприяє проліферації ендотеліальних клітин, яка демонструє обмежений потенціал росту за відсутності стимуляції цим фактором. Стимуляція другого рецептора на мезодермальних стовбурових клітинах викликає трансформацію цих клітин в ендотеліальні. Перифолікулярна судинна сітка тісно пов'язана із циклом зростання волосини, розширюючись у стадії анагену і скорочуючись у телогені й катагені. Підвищення вироблення VEGF у зовнішній кореневій піхві кератиноцитів індукує перифолікулярну васкуляризацію та прискорює зростання волосини. Крім цього, VEGF як головний медіатор росту фолікула може сприяти зростанню волосини, збільшенню волосяного фолікула та розміру волосини.

TGF- β — це надсімейство факторів росту та диференціювання, що включає, в тому числі, і BMP (кістковий морфогенетичний протеїн), TGF- β 1, TGF- β 2, які беруть участь у регенерації кісток у мітогенезі попередників остеобластів, демонструючи паракринний ефект факторів росту. TGF- β стимулює ангіогенез та хондрогенез, утворення фібронектину, глікозаміногліканів та колагену в сполучній тканині. Крім того, він гальмує проліферацію лімфоцитів. Фібробласти під впливом TGF- β посилюють синтез колагену, фібронектину й інтегрину. Він також пригнічує ферменти, які руйнують ці білки, а також сприяє ангіогенезу та виробленню позаклітинного матриксу. Хемотаксичний фактор TGF- β стимулює проліферацію та диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин і сприяє синтезу колагену 1-го типу. Суперсімейство TGF- β — велика група білків, що регулюють початок і закінчення фази катагену [16]. Синтез TGF- β 2 у клітинах сосочка волосини індукується під дією дигідротестостерону. Цей фактор росту відіграє ключову роль у розвитку АГА, оскільки знижує диференціювання епітелію й активує систему внутрішніх каспаз, що надалі призводить до клітинного апоптозу.

EGF має мітогенний ефект на фібробласти та епітеліальні клітини. Він відіграє важливу роль

у регуляції росту, проліферації й диференціації клітин, зв'язуючись із рецептором EGFR. Рецептори до EGF присутні в зовнішній кореневій піхві зрілого волосяного фолікула й активно сприяють регуляції зростання волосяного фолікула. EGF впливає на синтез ДНК у клітинах зовнішньої кореневої піхви та волосяної цибулини, індукуючи перехід волосяних фолікулів у період регресії. На ранніх етапах формування фолікула TGF-а та EGF пригнічують формування волосяного фолікула [17].

IGF стимулює проліферацію та диференціацію мезенхімальних стовбурових клітин у ході хондрогенезу, адипогенезу, міогенезу, сприяє диференціації нейронів та впливає на клітини судинного епітелію. IGF об'єднує цілу групу пептидів. Дermalний сосочок синтезує у великій кількості IGF-1 та рецептори до нього, тоді як волося-

на цибулина — ні, що свідчить про паракринний характер дії цього чинника [18]. Уведення IGF-1 ззовні призводило до збільшення синтезу ДНК та проліферації кератиноцитів, а також сприяло росту в шкірі людини *in vitro*, при цьому IGF-1 впливав на інші клітини, але не на клітини волосяного сосочка. Експерименти *in vivo* продемонстрували, що місцеві ін'єкції IGF-1 підтримували зростання волосини, особливо на ранніх етапах циклу, перешкоджаючи вступу волосини до фази катагену.

Тромбоцити можливо розглядати як джерело багатьох медіаторів, здатних активувати та регулювати запальні й імунні реакції у пошкодженій тканині. Аналіз публікацій щодо впливу факторів росту на процеси репарації патологічно зміненої тканини стає підґрунтям до подальшого вивчення впливу ЗТП при патологічних змінах волосся, зокрема при АГА.

Список літератури

1. *Ovcharenko J., Salenkova O.* Autologous platelet – rich plasma: a review of scientific articles on the study of efficiency in treatment of androgenetic alopecia in men and women // *J. KhNU.* 2019. P. 72–79.
2. Трихология / А. Злотогорский, Д. Шапиро, А. Литус, Ю. Овчаренко; под ред. А. Литуса; пер. с англ. Ю. Овчаренко. 2-е изд., доп. и перераб. К., 2016. 276 с.
3. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 1: Основные характеристики тромбоцитов как воспалительных клеток / Н. Б. Серебряная, С. Н. Шанин, Е. Е. Фомичева, П. П. Якуцени // *Медицинская иммунология.* 2018. Т. 20, № 6. С. 785–796.
4. Alpha-Granules in Resting Human Platelets Are a Spatially Clustered, Single Major Population / I. D. Pokrovskaya et al. // *Blood.* 2018. Vol. 132 (Suppl. 1). 865 p. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-119483>
5. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry / D. M. Maynard et al. // *J. Thromb. Haemost.* 2007. Vol. 5, № 9. P. 1945–1955.
6. Shailendra Singh, Alistair Young, Clare-Ellen McNaught. The physiology of wound healing // *Surgery.* Oxford. 2017. Vol. 35, iss. 9. P. 473–477. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2017.06.004>
7. Биологические эффекты тромбоцитарных концентратов в культуре фибробластов кожи человека / В. Г. Богдан, М. М. Зафранская, Д. А. Толстов, С. С. Багатка // *Медицинский журн.* 2012. № 2. С. 22–25.
8. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies / E. Anitua et al. // *Trends in Biotechnol.* 2006. № 24 (5). P. 227–234. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.02.010>
9. *Giordano S., Romeo M., Lankinen P.* Platelet – rich plasma for androgenetic alopecia: Does it work? Evidence from meta analysis // *J. Cosmet. Dermatol.* 2017. № 16. P. 374–381. doi: <https://doi.org/10.1111/jocd.12331>
10. *Botchkarev V. A., Kishimoto J.* Molecular control of epithelial-mesenchymal interactions during hair follicle cycling // *J. of Investigative Dermatology Symposium Proceedings.* 2003. Vol. 8 (iss. 1). P. 46–55. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2003.12171.x>
11. Platelets and wound healing / A. T. Nurden et al. // *Front. Biosci.* 2008. Vol. 13. P. 3532–3548.
12. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration / E Anitua et al. // *Thromb. Haemost.* 2004. Vol. 91. P. 4–15. doi: <https://doi.org/10.1160/th03-07-0440>
13. Promotional effect of platelet-rich plasma on hair follicle reconstitution in vivo / Y. Miao et al. // *Dermatol. Surg.* 2013. Vol. 39 (12). P. 1868–1876.
14. The Generation of Hematopoietic Progenitor Cells from Endothelial Cells by Silymarin / M. Shahidi, R. Sharifi, F. Sadeghi-Shirazi, F. Parhizkary // *Clinical. Laboratory.* 2018. Vol. 64 (11). doi: <https://doi.org/10.7754/clin.lab.2018.180534>
15. *Ferrara N., Gerber H., LeCouter J.* The biology of VEGF and its receptors / *Nat. Med.* 2003. Vol. 9. P. 669–676. doi: <https://doi.org/10.1038/nm0603-669>
16. New insights into TGF-β/Smad signaling in tissue fibrosis / He-He Hu et al. // *Chemico-Biological Interactions.* 2018. Vol. 292. P. 76–83.
17. *Rinaldi F., Sorbellini E., Bezzola P.* The role of up-stimulation of growth factors in hair transplantation: improve the revascularization of transplanted hair growth mediated by angiogenesis // *Hair Transplant. Forum Int.* 2007. Vol. 17 (4). P. 125–127.
18. The effect of plasma rich in growth factors on pattern hair loss: a pilot study / E. Anitua et al. // *Dermatol. Surg.* 2017. Vol. 43. P. 658–670. doi: <https://doi.org/10.1097/dss.0000000000001049>

АНАЛИЗ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ В ЛЕЧЕНИИ АНДРОГЕНЕТИЧЕСКОЙ АЛОПЕЦИИ

Ю. С. ОБЧАРЕНКО, Е. А. САЛЕНКОВА

Проанализированы возможные результаты применения обогащенной тромбоцитами плазмы в терапии андрогенетической алопеции с учетом современных представлений об этиологии этого заболевания и молекулярно-биологических свойств тромбоцитов в регенерации поврежденной ткани.

Ключевые слова: андрогенетическая алопеция, обогащенная тромбоцитами плазма, тромбоциты, факторы роста.

ANALYSIS OF EXPEDIENCY TO USE PLATELET-ENRICHED PLASMA FOR TREATMENT OF ANDROGENETIC ALOPECIA

Yu. S. OVCHARENKO, O. A. SALYENKOVA

Possible results of using the platelet-enriched plasma in the treatment of androgenetic alopecia have been analyzed, taking into account the current ideas about this disease etiology and the molecular and biological properties of platelets in regeneration of a damaged tissue.

Key words: androgenetic alopecia, platelet-enriched plasma, platelets, growth factors.

Надійшла 09.09.2019