

ІМУНОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ШКІРИ ЖІНОК З АНДРОГЕНЕТИЧНОЮ АЛОПЕЦІЄЮ ПРИ ЛІКУВАННІ ПЛАЗМОЮ, ЗБАГАЧЕНОЮ ТРОМБОЦИТАМИ У КОМБІНАЦІЇ З МІНОКСИДИЛОМ

Саленкова О. А., Данилюк С. В., Овчаренко Ю. С.

Вступ. За допомогою імуногістохімічного методу було досліджено біоптати шкіри 30 пацієнок з андрогенетичною алопецією до та після лікування плазмою, збагаченою тромбоцитами у комбінації з 2 % міноксидилом.

Ціль. Дослідження проводилося для вивчення імуногістохімічних змін у біоптатах шкіри голови пацієнок з андрогенетичною алопецією I-II стадій за шкалою Людвіга та для виявлення можливі зміни після використання ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми у поєднанні з місцевим 2 % лосьйоном міноксидилу.

Матеріали та методи. Досліджено біоптати шкіри 30 пацієнтів з андрогенетичною алопецією за допомогою імуногістохімічного дослідження до та після лікування, яке тривало 3 місяці та включало 3 сеанси PRP (один раз на місяць) та місцеве застосування міноксидилу 2 % лосьйон двічі на день.

Результати. Встановлено, що андрогенетична алореція супроводжується запальною перифолікулярною інфільтрацією Т-лімфоцитами CD3+, CD4+ і CD8+, макрофагами (CD68+); дисбалансом росткових поліпептидів VEGF, TGF- β 1, EGFR; накопиченням ферментів оксидативного стресу eNOS та iNOS; накопиченням патологічної фракції колагену IV. Ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми в поєднанні з місцевим застосуванням 2 міноксидилу у якості терапії андрогенетичної алопеції призводять до нормалізації імуногістохімічних показників шкіри, що свідчить про можливість застосування даної комбінації для тривалого лікувального ефекту.

Висновки. Це дослідження доповнило уявлення про патогенез андрогенетичної алопеції і служить основою для вдосконалення схем лікування даної патології. Але необхідні додаткові дослідження для подальшого вивчення патоморфології андрогенетичної алопеції та стандартизування техніки використання плазми, збагаченої тромбоцитами, у пацієнтів з цим захворюванням.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: андрогенетична алопеція, збагачена тромбоцитами плазма; міноксидил; імуногістохімічне дослідження біоптатів шкіри

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

Саленкова Олена Анатоліївна, асистент кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 6, Харків, Україна, 61022; e-mail: o.salenkova@karazin.ua, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5170-5447>

Данилюк Світлана Володимирівна, доцент кафедри патологічної анатомії та гістології Харківської медичної академії післядипломної освіти, вул. Амосова, 58, Харків, Україна, 61176; e-mail: danyliuksvit@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9971-0410>

Овчаренко Юлія Сергіївна, к. мед. н., професор, інфекційних хвороб та клінічної імунології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 6, Харків, Україна, 61022; e-mail: j.ovcharenko@karazin.ua, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2412-2251>

Для цитування:

Саленкова О.А., Данилюк С.В., Овчаренко Ю.С. ІМУНОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ШКІРИ ЖІНОК З АНДРОГЕНЕТИЧНОЮ АЛОПЕЦІЄЮ ПРИ ЛІКУВАННІ ПЛАЗМОЮ, ЗБАГАЧЕНОЮ ТРОМБОЦИТАМИ У КОМБІНАЦІЇ З МІНОКСИДИЛОМ. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Медицина». 2021: 43; С. 83–92. DOI: 10.26565/2313-6693-2021-43-09

АКТУАЛЬНІСТЬ

Сучасні дослідження відкрили величезний потенціал для розробки способів корекції та управління циклом росту волосся за допомогою біологічно активних речовин, факторів росту та

гормонів та фактично зробили революцію у цьому напрямку. На теперішній час агресивний вплив андрогенів на волоссяний фолікул в андроген-залежних зонах волосистої частини голови розглядається як основний етіопатогенетичний механізм АГА [5, 7, 13]. Однак останні наукові дані

демонструють, що в якості неандрогенних кофакторів її розвитку можна розглядати оксидативний стрес, мікрозапалення, апоптоз та фіброзування [11, 12]. Таргетний вплив лікувальних препаратів на кожну ланку патогенезу АГА, ймовірно, може призводити до більш вираженого та тривалого терапевтичного ефекту та доповнити існуючі схеми лікування даної патології.

Великі терапевтичні можливості передбачає застосування аутологічної плазми, збагаченої тромбоцитами, як методу, що опосередковано стимулює роботу клітин дермального сосочка [2, 16]. Дермальний сосочок і сполучнотканинна оболонка сформовані з тих самих клітин-попередників, що і фібробласти, що знаходяться у міжфолікулярній дермі, проте їх профіль експресії генів та біологічні функції кардинально відрізняються [4]. Якщо міжфолікулярні фібробласти сприяють зростанню і диференціюванню верхніх епітеліальних клітин (кератиноцитів), то дермальний сосочок і сполучнотканинна оболонка грають основну роль у регулюванні росту волосся. В основі методу плазмотерапії лежить концепція збагаченої тромбоцитами плазми як природного джерела сигнальних молекул, що надають паракринний ефект на інші клітини. Головними функціями тромбоцитів у відновленні пошкодженої тканини є модуляція запалення за допомогою взаємодії клітин вродженого імунітету, регуляція ангиогенезу і стимуляція клітинної міграції і проліферації [3].

Попередні дослідження ефективності використання плазми, збагаченої тромбоцитами при АГА не враховували механізми управління системою фізіологічної дегенерації волоссяного фолікула.

Тому **метою** нашого дослідження стало вивчення імуногістохімічних (ІГХ) особливостей шкіри у жінок з АГА до та після лікування плазмою, збагаченою тромбоцитами у поєднанні з топічним міноксидилом 2 %.

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ

Матеріалом для дослідження послужили біоптати шкіри волосистої частини голови 30 жінок з АГА віком від

22 до 40 років, середній вік $32,13 \pm 5,03$ роки, які знаходилися під спостереженням у період з 2017 до 2020 років на клінічній базі кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету ХНУ імені В. Н. Каразіна – «Інститут трихології» (основна група). У якості терапії пацієнтки отримували ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми у комбінації з топічним міноксидилом 2 %.

У групі контролю було 20 зразків шкіри жінок без ознак АГА та інших захворювань у віці 25–40 років (середній вік $34,75 \pm 4,19$ роки), які зазнали автопсії в патологоанатомічному відділенні 17 КМБ м. Харкова.

Фіксація тканинних фрагментів була проведена за стандартною гістологічною методикою, пофарбовані гематоксиліном і еозином.

ІГХ дослідження проводилося на базі лабораторії кафедри патологічної анатомії Харківської медичної академії післядипломної освіти з використанням антитіл і системи візуалізації фірми Thermo scientific, Німеччина. Якісний склад запального інфільтрату вивчався за допомогою моноклональних антитіл (МКАТ) до CD 3, CD 4 Clone 4B12, CD8 (SP16) (пізні фракції Т-лімфоцитів, Ready-to-Use), CD 68 KP1 (маркер макрофагів, Ready-to-Use). Для виявлення оксидативних порушень досліджували експресію маркерів обміну оксиду азоту: ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS, Nitric Oxide Synthase, endothelial (eNOS), Rabbit Polyclonal Antibody в розведенні 1:50) і індукцйбельної синтази оксиду азоту (iNOS, Nitric Oxide Synthase, inducible (iNOS), Rabbit Polyclonal Antibody в розведенні 1:100). Характер ангиогенезу оцінювали за експресією фактора росту ендотелію судин (VEGF (VG1)), Ready-to-Use. Експресію епідермального фактора росту визначали з використанням поліклональних антитіл (ПКАТ) EGFR Polyclonal Antibody (титр 1:100). Як фактор індукції запального процесу, вивчали трансформуючий фактор росту (ПКАТ до TGF- β 1 (V) Antibody, Ready-to-Use). Bcl 2(124), Ready-to-Use, використовувався у якості маркеру апоптозу. Collagen IV (CIV22) з титром 1:50 виявляли у зонах фіброзування.

Демаскуюча термічна обробка була виконана за методом кип'ятіння зрізів в цитратному буфері (рН 6,0–7,0). Для візуалізації первинних антитіл використовувалася система детекції UltraVision Quanto Detection Systems HRP Polymer (Thermo scientific, Німеччина). У якості хромогену використовувався DAB (діамінобензідін).

Результати підраховували за допомогою окулярної сітки Автанділова [1] в 10 довільно вибраних полях зору при збільшенні $\times 400$. Оцінку ІГХ-мітки проводили за двома параметрами: ступінь поширення та інтенсивність забарвлення, враховуючи вираженість реакції та її локалізацію.

Ступінь поширення мітки враховували за процентним вмістом позитивно забарвлених в коричневий колір органел клітин від загальної кількості клітин в полі зору. Для оцінки ступеню інтенсивності забарвлення використовували напівкількісну шкалу: негативною (0) вважалася реакція при відсутності фарбування специфічних структур клітини, слабкою позитивною (1+) вважалася реакція при слабкому або вогнищевому фарбуванні від 0 до 30 % клітин, помірною позитивною (2+) – при достатньому або вогнищевому фарбуванні 30–60 % клітин, вираженою або дифузною (3+) вважалася реакція при фарбуванні 60–90 % клітин.

Комплекс морфологічних досліджень проводився на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) з використанням програми AxioCam (ERc 5s).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В усіх випадках основної групи дослідження до лікування дерма була потоншеною з ознаками втрати волосся. Волосся різного діаметру та ембріональне волосся (велус) зростало з мініатюризованих фолікулів. Кореневі волосяні цибулини проріджених волосяних фолікулів, у порівнянні з групою контролю, розташовувалися переважно у сітчастому шарі дерми зі значним їх зменшенням у гіподермі. Поміж збережених волосяних фолікулів, у зоні спустілих волосяних сумок в області верхньої частини волосяних фолікулів виявлялися ділянки фіброзування дерми, вони складались з концентрично

розташованих пучків сполучно-тканинних волокон. Кількість сальних залоз було збільшено у порівнянні зі шкірою здорових жінок. У 28 випадках з 30 периваскулярно, перифолікулярно та між ацинусами сальних залоз ми спостерігали лімфо-гістіоцитарний інфільтрат різного ступеню вираженості.

Близько $\frac{3}{4}$ клітин запального інфільтрату у основній групі було представлено CD3+ Т-лімфоцитами; 40 % з них приходилося на CD4+ Т-лімфоцити, причому спостерігалися вони переважно у перифолікулярній зоні поза осередками фіброзу, поміж ацинусами сальних та потових залоз. CD8+ Т-лімфоцити складали третину від усіх Т-лімфоцитів і виявлялись у сполучно-тканинних прошарках та периваскулярно у дермі та гіподермі. 11 % клітин запального інфільтрату приходилося на CD68+ макрофаги, які розташовувалися переважно у полях фіброзування.

Експресія eNOS у шкірі здорових жінок виявлялась лише у поодиноких макрофагах, фібробластах та ендотеліоцитах судин, тоді як у основній групі спостерігалась і в чисельних макрофагах, фібробластах, ендотеліальній устліці та м'язовому шарі судин, а також у епітеліоцитах зовнішньої оболонки кореневої піхви. Індуцибельна синтаза оксиду азоту iNOS у групі контролю не визначалася, у біоптатах з АГА експресувалась у макрофагах, ендотеліоцитах судин, поодиноких епітеліоцитах фолікулів та сальних залоз та у фібробластах зони перифолікулярного фіброзування.

Вміст VEGF, як і колагену 4 типу було знижено: реакція з судинним фактором росту у ендотелії судин була слабкою (1+), особливо це було помітно у ділянках концентричного фіброзування зі збідненою васкуляризацією. Базальні мембрани епідермісу, залоз, волосяних фолікулів та судин втрачали спеціалізований колаген 4 типу, та, навпаки, його накопичення фіксувалось у нетипових зонах перифолікулярного фіброзування.

Підвищеним, у порівнянні з контрольною групою, був вміст TGF- β 1 та EGFR. Виражена позитивна реакція (3+) з ПКAT до трансформуючого фактору росту спостерігалась понад усе в чисельних

макрофагах навколо судин та серед сполучно-тканинних тяжів фіброзування. Епідермальний фактор росту маркував як стоншений епідерміс, так і клітини епітеліальних піхв волосся.

Розподіл антиапоптотичного білка Bcl-2 був помірним і, частіше, слабо вираженим (1+), експресія його виявлялась у клітинах запального інфільтрату та корелювала з підвищенням активності синтазу оксиду азоту, особливо індуцибельної.

Після лікування пацієток плазмою, збагаченою тромбоцитами у комбінації з міноксидилом 2% ми спостерігали наступне. Товщина дерми коливалась від 1,19 до 1,58 мм та дорівнювала у середньому 1,40 мм, що було на 0,04 мм менше у порівнянні з групою контролю, та

на 0,3 мм більше, ніж до лікування ($p \leq 0,05$). Волосся однакового діаметру зростало з фолікулів звичайних розмірів. Кореневі волоссяні цибулини волоссяних фолікулів, як і у групі контролю, розташовувалися рівномірно у сітчастому шарі дерми та у гіподермі. Ретикулярний шар відрізнявся мережею сполучно-тканинних волокон з вільним розташуванням сальних та потових залоз, як відзначалося у шкірі здорових жінок. В усіх 30 випадках, переважно періваскулярно, зустрічався розсіяний лімфогістіоцитарний інфільтрат, перифолікулярно та між ацинусами сальних залоз інфільтрації не спостерігалось.

CD3+ Т-лімфоцити склали 17,6% від усього пулу запального компоненту (рис. 1).

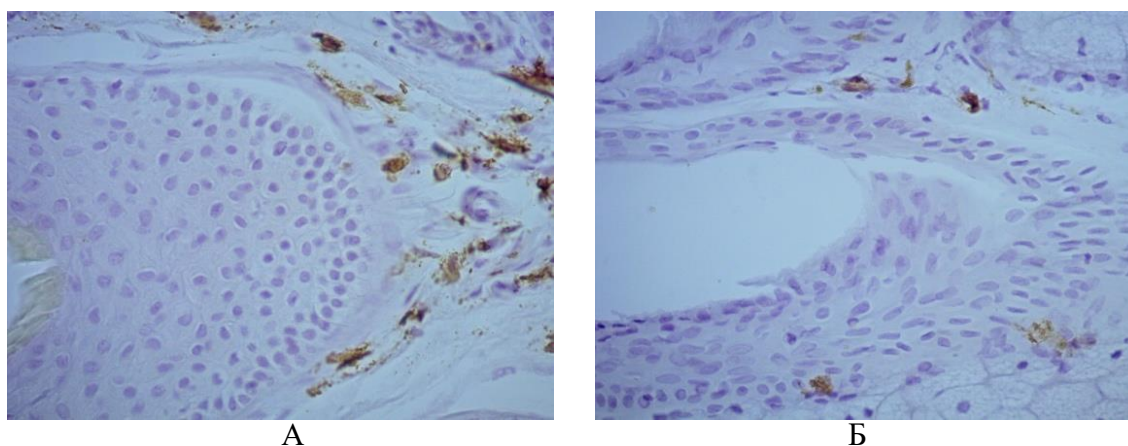


Рис. 1. CD3+ Т-лімфоцити у складі запального інфільтрату біоптатів шкіри основної групи дослідження до (А) та після (Б) лікування. Реакція з МКАТ до CD3, ×400
Fig. 1. CD3 + T lymphocytes in the inflammatory infiltrate of skin biopsies of the main study group before (A) and after (B) treatment. Reaction from MCAV to CD3, ×400

У запальному інфільтрату дерми 6,8% та 5,9% склали відповідно CD4+ та CD8+ Т-лімфоцити. 3,4% клітин запального інфільтрату приходилося на

CD68+ макрофаги, які розташовувалися переважно навколо судин та більш глибоких відділах дерми (таблиця 1).

Таблиця 1
Table 1

Співвідношення імунокомпетентних клітин у складі інфільтрату дерми при АГА по групах дослідження
The ratio of immunocompetent cells in the dermis infiltrate in AGA by study groups

Імунокомпетентні клітини	Група контролю n = 20	Основна група n = 30	
		до лікування	після лікування
CD 3+	14,2 ± 7,8 %	76,6 ± 7,7 %	17,6 ± 6,9 %
CD 4+	3,3 ± 4,0 %	40,0 ± 1,05 %	6,8 ± 4,6 %
CD8+	4,6 ± 4,7 %	26,7 ± 8,1 %	5,9 ± 4,3 %
CD 68+	2,1 ± 3,2 %	11,0 ± 5,7 %	3,4 ± 3,3 %*

Примітки: * – $p \leq 0,05$, порівнювали показники імунокомпетентних клітин у складі запального інфільтрату в основній групі до та після лікування (інтервал 3 місяці) та у групі контролю.

Експресія синтаз азоту eNOS та iNOS у шкірі пацієток основної групи після лікування, як і в контрольній групі, була однонаправленою, виявлялась на рівні 1+ переважно у клітинах внутрішньої устїлки судин, поодиноких макрофагах, фібробластах.

Вміст та розташування ростових пептидів також були наближеними до

показників контрольної групи: судинно-ендотеліальний фактор росту VEGF, трансформуючий фактор TGF- β 1 маркували ендотелій чисельних капілярів сітчастого шару (2+ та 1+ відповідно). Епідермальний фактор росту EGFR визначався у вигляді слабкої реакції (1+) у епідермісі і клітинах епітеліальних піхв волосся (рис. 2).

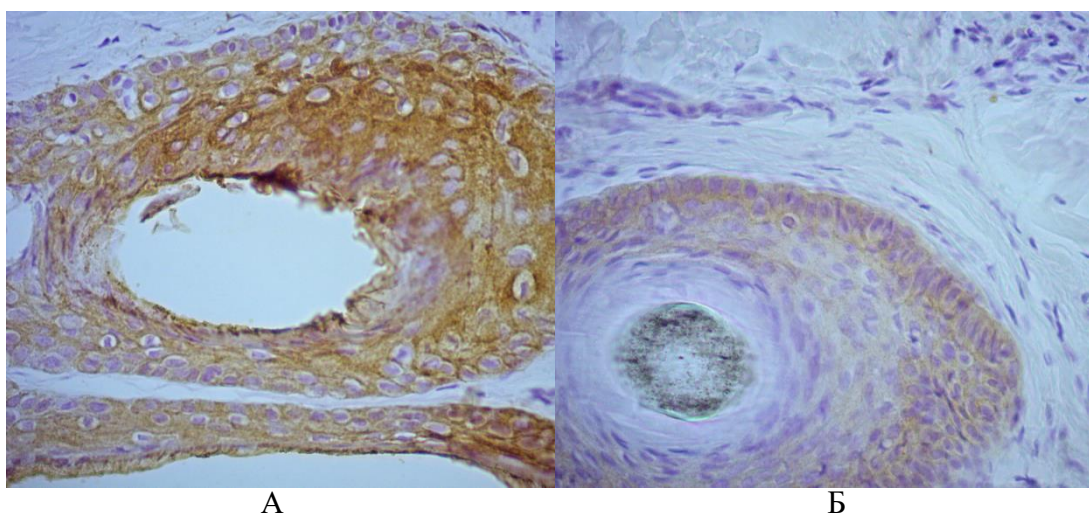


Рис. 2. Експресія EGFR у епітеліальних оболонках волосяного фолікула шкіри біоптатів основної групи дослідження до (А) та після (Б) лікування. Реакція з ПКАТ до EGFR Polyclonal Antibody, $\times 400$

Fig. 2. Expression of EGFR in the epithelial membranes of the hair follicle in skin biopsies of the main study group before (A) and after (B) treatment. Reaction with PCAB to EGFR Polyclonal Antibody, $\times 400$

Колаген 4 типу виявлявся лише у базальній мембрані епідермісу, сальних та

потових залоз, волосяних фолікулів та судин (рис. 3).

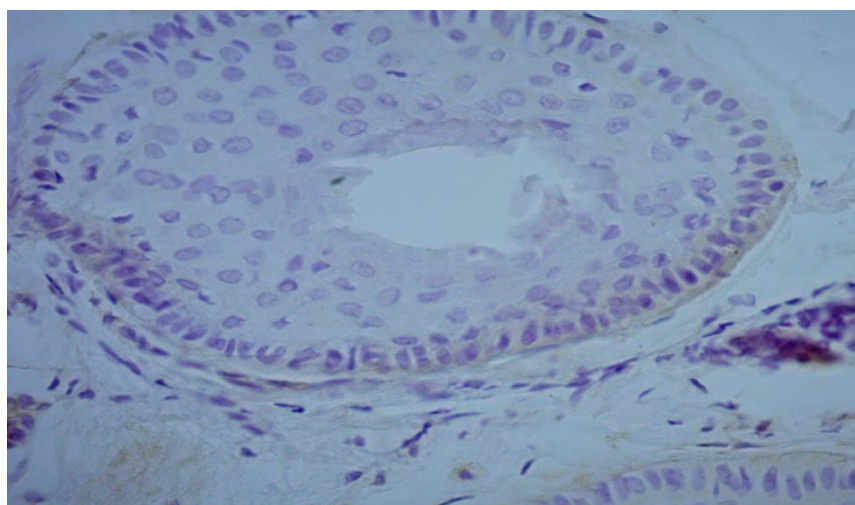


Рис. 3. Експресія колагену 4 типу у базальній мембрані волосяного фолікула біоптатів основної групи дослідження після лікування. Реакція з МКАТ до Collagen IV (CIV22), $\times 400$

Fig. 3 Expression of type 4 collagen in the basement membrane of the hair follicle biopsies of the main study group after treatment. Reaction from MCAB to Collagen IV (CIV22), $\times 400$

Експресія антиапоптозного білка Bcl-2 була помірною (2+), визначалась у поодиноких клітинах запального

інфільтрату, як у випадках після лікування, так і у контрольній групі (таблиця 2).

Таблиця 2
Table 2

Експресія ІГХ маркерів при АГА по групах дослідження
Expression of IHC markers in AGA by study groups

ІГХ маркер	Група контролю n = 20	Основна група n = 30	
		до лікування	після лікування
eNOS	1+	3+	1+
iNOS	-	3+	-
VEGF	3+	1+	2+
EGFR	1+	3+	1+
TGF-β1	1+	3+	1+
Bcl 2	2+	1+	2+
Collagen IV	1+	3+	1+

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Діагностика АГА включає оцінку клінічних проявів захворювання, виявлення патології з боку щитоподібної залози, гіпофізу, захворювань яєчників і надниркових залоз, печінки, [8, 9] без детального урахування молекулярно-біологічних особливостей саме шкіри пацієнток. Відомо, що основна кількість регуляторних білків і факторів росту, таких як VEGF, TGF-β1, EGFR, синтезується в області дермального сосочка [19]. Фібробласти, епітеліоцити, ендотеліоцити капілярів в умовах запального процесу, який ми виявили в 93,3 % спостережень основної групи дослідження, як і Т-лімфоцити і макрофаги запального інфільтрату втрачають здатність до повноцінної продукції цих контролюючих субстанцій [10]. У свою чергу матрикс волосяного фолікулу і прилегла дерма починають накопичувати продукти ферментативного розпаду оксиду азоту eNOS та iNOS, що можна розцінювати, як прояв оксидативного стресу [6, 21]. У сполучно-тканинних волокнах дерми та пучках концентричного перифолікулярного фіброзування спостерігається відкладення колагену 4 типу. На кожному з цих етапів приєднується апоптоз-опосередкована загибель клітин.

На теперішній час пошук найбільш ефективних протоколів лікування АГА триває. В якості перспективних напрямків етіопатогенетичної терапії АГА

обговорюються методики з вираженою антиоксидантною, протизапальною і імунокоригуючою дією [21, 22]. Застосування фінастериду, міноксидилу, інших місцевих та пероральних препаратів, інструментальних методів не призводить до тривалого ефекту [14, 15, 17, 18, 23]. Використання плазми, збагаченої тромбоцитами у поєднанні з топічним міноксидилом є досить поширеним методом у трихологічних клініках світу, тому нами було здійснено спробу пошуку імунологічного підґрунтя лікування АГА саме цією комбінацією.

ВИСНОВКИ

Результати ІГХ реакції в дермі пацієнток з АГА у вигляді підвищення експресії синтаз оксиду азоту eNOS та iNOS свідчать про наявність оксидативних порушень з дисбалансом імунокомпетентних Т-лімфоцитів CD3+, CD4+ та CD8+, макрофагів (CD68+) та факторів росту VEGF, TGF-β1, EGFR. В основі прогресуючого облісіння полягає продукція фібробластами волосяних фолікулів патологічної фракції колагену 4 типу з розвитком перифолікулярного фіброзування та зростання апоптозу. Використання у якості терапії АГА плазми, збагаченої тромбоцитами у поєднанні з 2 % міноксидилом призводить до відновлення функціональної морфології шкіри, що проявляється змінами експресії ІГХ маркерів до рівнів наближених до нормальної шкіри. Подальше вивчення

сигнальных шляхів, що приймають участь у зростанні волосся, у майбутньому має

відкрити нові мішені медикаментозного впливу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов ГГ. Основы количественной патологической анатомии. Москва: Медицина; 2002. 240 с.
2. Овчаренко ЮС, Качук ЮВ. Андрогенетическая алопеция. *Les Nouvelles Esthetiques* (Украина). 2015; 3 (91): 70–8.
3. Серебряная НБ, Шанин СН, Фомичева ЕЕ, Якуцени ПП. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 1, Основные характеристики тромбоцитов как воспалительных клеток. *Мед. иммунология*. 2018; 20 (6): 785–96.
4. Злотогорский А, Шапиро Д, Литус А, Овчаренко Ю. Трихология. 2-е изд., доп. и перераб. Киев: Киев; 2016. 276 с.
5. Agabalyan NA, Borys BS, Sparks HD, Boon K, Raharjo EW, et al. Enhanced Expansion and Sustained Inductive Function of Skin-Derived Precursor Cells in Computer-Controlled Stirred Suspension Bioreactors. *Stem Cells Transl Med*. 2017; 6 (2): 434–43.
6. Alves R, Grimalt R. Randomized Placebo-Controlled, Double-Blind, Half-Head Study to Assess the Efficacy of Platelet-Rich Plasma on the Treatment of Androgenetic Alopecia. *Dermftol Surg*. 2016 Apr; 42 (4): 491–7. Doi: <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000000665>.
7. Anitua E, Pino A, Martinez N, Orive G, Berridi D. The effect of plasma rich in growth factors on pattern hair loss: a pilot study. *Dermatol Surg*. 2017; 3: 658–70. Doi: <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000001049>.
8. do Nascimento I, Harries M, Rocha VB, Thompson JY, Wong CH., Varkanek HK, et al. Effect of Oral Minoxidil for Alopecia: Systematic Review. *Int J Trichology*. 2020; 12 (4): 147–55. Doi: https://doi.org/10.4103/ijt.ijt_19_20.
9. Gentile P, Garcovich S, Bielli A, Scioli MG, Orlandi A, Cervelli V. The effect of platelet-rich plasma in hair regrowth: a randomized placebo-controlled trial. *Stem Cells Transl Med*. 2015; 4: 1317–23. Doi: <https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0107>.
10. Gupta S, Revathi TN, Sacchidanand S, Nataraj HV. A study of the efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of androgenic alopecia in males. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2017; 83 (3): 412. Doi: <https://doi.org/10.4103/0378-6323.191128>.
11. Jin M, Chen Y-L, He X, Hou Y, Chan Z, Zeng R. Amelioration of Androgenetic Alopecia by Algal Oligosaccharides Prepared by Deep-Sea Bacterium Biodegradation. *Front Microbiol*. 2020; 11: 567060. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.567060>.
12. Kim BJ, Kim SY, Kwon TR, Lee YH, Song YS. Platelet-rich plasma promoting hair growth in human hair follicle dermal papilla cells associated with VEGF and VEGFR-2. *J Invest Dermatol*. 2013; 133: 1398.
13. Lee SH, Zheng Z, Kang J-S, Kim D-Y, Oh SH, Cho SB. Therapeutic efficacy of autologous platelet-rich plasma and polydeoxyribonucleotide on female pattern hair loss. *Wound Repair Regen*. 2015; 23 (1): 30–6. Doi: <https://doi.org/10.1111/wrr.12250>.
14. Mapar MA, Shahriari S, Haghizadeh MH. Efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of androgenetic (male-patterned) alopecia: a pilot randomized controlled trial. *J Cosmet Laser Ther*. 2016; 18 (8): 452–5. Doi: <https://doi.org/10.1080/14764172.2016.1225963>.
15. Najem I, Chen H. Use of low-level laser therapy in treatment of the androgenic alopecia, the first systematic review. *J Cosmet Laser Ther*. 2018 Aug; 20 (4): 252–7. Doi: <https://doi.org/10.1080/14764172.2017.1400174>.
16. Ovcharenko J, Salenkova O. Autologous platelet-rich plasma: a review of scientific articles on the study of efficiency in treatment of androgenic alopecia in men and women. *Journal of V. N. Karazin` KhNU*. 2018;36:72–9. Doi: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2018-36-11>.
17. Panchaprateep R, Lueangarun S. Efficacy and Safety of Oral Minoxidil 5 mg Once Daily in the Treatment of Male Patients with Androgenetic Alopecia: An Open-Label and Global Photographic Assessment. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2020; 10 (6): 1345–57. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13555-020-00448-x>.
18. Puig CJ, Reese R, Peters M. Double-blind, placebo-controlled pilot study on the use of platelet-rich plasma in women with female androgenic alopecia. *Dermatol Surg*. 2016; 42: 1243–7. Doi: <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000000883>.
19. Sadick NS, Callender VD, Kircik LH, Kogan S. New Insight Into the Pathophysiology of Hair Loss Trigger a Paradigm Shift in the Treatment Approach. *J Drugs Dermatol*. 2017; 16 (11 Suppl): s. 135–40.
20. Sperling LC, Lupton GP. Histopathology of nonscarring alopecia. *J Cutan Pathol*. 1995 Apr; 22 (2): 97–114. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0560.1995.tb01391.x>.

21. Tanaka Y, Aso T, Ono J, Hosoi R, Kaneko T. Androgenetic Alopecia Treatment in Asian Men. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*. 2018; 11 (7): 32–5.
22. Trink A, Sorbellini E, Bezzola P, Rodella L, Rezzani R, Ramot Y, et al. A randomized, double blind, placebo- and active-controlled, half-head study to evaluate the effect of platelet-rich plasma on alopecia areata. *Br J Dermatol*. 2013; 169 (3): 690–4. Doi: <https://doi.org/10.1111/bjd.12397>.
23. Yoon JS, Ku WY, Lee JH, Ahn HC. Low-level light therapy using a helmet-type device for the treatment of androgenetic alopecia: A 16-week, multicenter, randomized, double-blind, sham device-controlled trial. *Medicine (Baltimore)*. 2020 Jul 17; 99 (29): e21181. Doi: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000021181>.

REFERENCES

1. Avtandilov GG. *Osnovy kolichestvennoi patolohicheskoi anatomii*. Moskva: Medicina; 2002. 240 s. [in Russian].
2. Ovcharenko YuS, Kachuk YuV. Androheneticheskaia alopeciia. *Les Nouvelles Esthetiques (Ukraina)*. 2015; 3 (91): 70–8 [in Russian].
3. Serebrianaia NB, Shanin SN, Fomicheva EE, Iakuceni PP. Trombocyt kak aktivatory i rehuatory vospalitel`nykh i immunnykh reakcii. Chast` 1, Osnovnye kharakteristiki trombocytov kak vospalitel`nykh kletok. *Med immunolohiia*. 2018; 20 (6): 785–96 [in Russian].
4. Zlotohorskii A, Shapiro D, Litus A, Ovcharenko Yu. *Trikhologiiia*. 2-e izd., dop. i pererab. Kiev: Kiev; 2016. 276 s. [in Russian].
5. Agabalyan NA, Borys BS, Sparks HD, Boon K, Raharjo EW, et al. Enhanced Expansion and Sustained Inductive Function of Skin-Derived Precursor Cells in Computer-Controlled Stirred Suspension Bioreactors. *Stem Cells Transl Med*. 2017; 6 (2): 434–43.
6. Alves R, Grimalt R. Randomized Placebo-Controlled, Double-Blind, Half-Head Study to Assess the Efficacy of Platelet-Rich Plasma on the Treatment of Androgenetic Alopecia. *Dermftol Surg*. 2016 Apr; 42 (4): 491–7. Doi: <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000000665>.
7. Anitua E, Pino A, Martinez N, Orive G, Berridi D. The effect of plasma rich in growth factors on pattern hair loss: a pilot study. *Dermatol Surg*. 2017; 43: 658–70. Doi: <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000001049>.
8. do Nascimento I, Harries M, Rocha VB, Thompson JY, Wong CH., Varkaneh HK, et al. Effect of Oral Minoxidil for Alopecia: Systematic Review. *Int J Trichology*. 2020; 12 (4): 147–55. Doi: https://doi.org/10.4103/ijt.ijt_19_20.
9. Gentile P, Garcovich S, Bielli A, Scioli MG, Orlandi A, Cervelli V. The effect of platelet-rich plasma in hair regrowth: a randomized placebo-controlled trial. *Stem Cells Transl Med*. 2015; 4: 1317–23. Doi: <https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0107>.
10. Gupta S, Revathi TN, Sacchidanand S, Nataraj HV. A study of the efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of androgenic alopecia in males. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2017;83(3):412. Doi: <https://doi.org/10.4103/0378-6323.191128>.
11. Jin M, Chen Y-L, He X, Hou Y, Chan Z, Zeng R. Amelioration of Androgenetic Alopecia by Algal Oligosaccharides Prepared by Deep-Sea Bacterium Biodegradation. *Front Microbiol*. 2020; 11: 567060. Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.567060>.
12. Kim BJ, Kim SY, Kwon TR, Lee YH, Song YS. Platelet-rich plasma promoting hair growth in human hair follicle dermal papilla cells associated with VEGF and VEGFR-2. *J Invest Dermatol*. 2013; 133: 1398.
13. Lee SH, Zheng Z, Kang J-S, Kim D-Y, Oh SH, Cho SB. Therapeutic efficacy of autologous platelet-rich plasma and polydeoxyribonucleotide on female pattern hair loss. *Wound Repair Regen*. 2015; 23 (1): 30–6. Doi: <https://doi.org/10.1111/wrr.12250>.
14. Mapar MA, Shahriari S, Haghhighizadeh MH. Efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of androgenetic (male-patterned) alopecia: a pilot randomized controlled trial. *J Cosmet Laser Ther*. 2016; 18 (8): 452–5. Doi: <https://doi.org/10.1080/14764172.2016.1225963>.
15. Najem I, Chen H. Use of low-level laser therapy in treatment of the androgenic alopecia, the first systematic review. *J Cosmet Laser Ther*. 2018 Aug; 20 (4): 252–7. Doi: <https://doi.org/10.1080/14764172.2017.1400174>.
16. 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. *Journal of V. N. Karazin` KhNU*. 2018; 36: 72–9. Doi: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2018-36-11>.
17. Panchaprateep R, Lueangaran S. Efficacy and Safety of Oral Minoxidil 5 mg Once Daily in the Treatment of Male Patients with Androgenetic Alopecia: An Open-Label and Global Photographic Assessment. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2020; 10 (6): 1345–57. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13555-020-00448-x>.

18. Puig CJ, Reese R, Peters M. Double-blind, placebo-controlled pilot study on the use of platelet-rich plasma in women with female androgenetic alopecia. *Dermatol Surg.* 2016; 42: 1243–7. Doi: <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000000883>.
19. Sadick NS, Callender VD, Kircik LH, Kogan S. New Insight Into the Pathophysiology of Hair Loss Trigger a Paradigm Shift in the Treatment Approach. *J Drugs Dermatol.* 2017; 16 (11 Suppl):s. 135–40.
20. Sperling LC, Lupton GP. Histopathology of nonscarring alopecia. *J Cutan Pathol.* 1995 Apr; 22 (2): 97–114. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0560.1995.tb01391.x>.
21. Tanaka Y, Aso T, Ono J, Hosoi R, Kaneko T. Androgenetic Alopecia Treatment in Asian Men. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology.* 2018;11(7):32–5.
22. Trink A, Sorbellini E, Bezzola P, Rodella L, Rezzani R, Ramot Y, et al. A randomized, double blind, placebo- and active-controlled, half-head study to evaluate the effect of platelet-rich plasma on alopecia areata. *Br J Dermatol.* 2013; 169 (3): 690–4. Doi: <https://doi.org/10.1111/bjd.12397>.
23. Yoon JS, Ku WY, Lee JH, Ahn HC. Low-level light therapy using a helmet-type device for the treatment of androgenetic alopecia: A 16-week, multicenter, randomized, double-blind, sham device-controlled trial. *Medicine (Baltimore).* 2020 Jul 17; 99 (29): e21181. Doi: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000021181>

IMMUNOMORPHOLOGICAL FEATURES OF WOMEN'S SKIN WITH ANDROGENETIC ALOPECIA IN THE TREATMENT OF PLASMA ENRICHED WITH PLATELETS IN COMBINATION WITH TOPICAL MINOXIDIL 2 % LOTION

Salenkova O. A., Danilyuk S. V., Ovcharenko Yu. S.

Introduction. The skin biopsies of 30 patients with androgenetic alopecia before and after treatment with platelet-rich plasma in combination with 2 % minoxidil were examined by immunohistochemistry.

Goal. The study looked at immunohistochemical changes in the scalp biopsies of patients with stage I-II androgenetic alopecia according to the Ludwig scale and to identify possible changes after injection of platelet-rich plasma in combination with topical 2 % minoxidil lotion.

Materials and methods. Skin biopsies of 30 patients with androgenetic alopecia were examined using an immunohistochemical study before and after treatment, which lasted 3 months and included 3 sessions of PRP (once per month) and topical application of minoxidil 2 % lotion twice a day.

Results. It was found that androgenetic alopecia is accompanied by inflammatory perifollicular infiltration by T-lymphocytes CD3 +, CD4 + and CD8 +, macrophages (CD68 +); imbalance of germ polypeptides VEGF, TGF- β 1, EGFR; accumulation of oxidative stress enzymes eNOS and iNOS; accumulation of pathological fraction of collagen IV. Injections of platelet-rich plasma in combination with topical administration of 2 % minoxidil as a treatment for androgenetic alopecia lead to normalization of immunohistochemical parameters of the skin, which indicates the possibility of using this combination for long-term therapeutic effect.

Conclusions. This study complemented the understanding of the pathogenesis of AGA and serves as a basis for improving treatment regimens for this pathology. However, additional studies are needed to further study the pathomorphology of androgenetic alopecia and to standardize the technique of using platelet-rich plasma in patients with this disease.

KEY WORDS: androgenetic alopecia, platelet-rich plasma; minoxidil; immunohistochemical examination of skin biopsies

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Salenkova Olena, Assistant of the Department of infectious diseases and clinical immunology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Medical Faculty, 6, Svobody sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; e-mail: o.salenkova@karazin.ua, ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-5170-5447>

Danyliuk Svitlana, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Histology of the Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, 58, Amosova st., Kharkov, Ukraine, 61176; e-mail: danyliuksvit@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9971-0410>

Ovcharenko Yuliya, PhD, Professor, Department of infectious diseases and clinical immunology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Medical Faculty, 6, Svobody sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; e-mail: j.ovcharenko@karazin.ua, ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-2412-2251>

For citation:

Salenkova OA, Danilyuk SV, Ovcharenko Yu.S. IMMUNOMORPHOLOGICAL FEATURES OF WOMEN'S SKIN WITH ANDROGENETIC ALOPECIA IN THE TREATMENT OF PLASMA ENRICHED WITH PLATELETS IN

**ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОЖИ ЖЕНЩИН С
АНДРОГЕНЕТИЧЕСКОЙ АЛОПЕЦИЕЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПЛАЗМОЙ, ОБОГАЩЕННОЙ
ТРОМБОЦИТАМИ В КОМБИНАЦИИ С МИНОКСИДИЛОМ**

Саленкова Е. А., Данилюк С. В., Овчаренко Ю. С.

Вступление. С помощью иммуногистохимического метода были исследованы биоптаты кожи 30 пациенток с андрогенетической алопецией до и после лечения плазмой, обогащенной тромбоцитами в комбинации с 2 % миноксидилом.

Цель. Исследование проводилось для изучения иммуногистохимических изменений в биоптатах кожи головы пациенток с андрогенетической алопецией I-II стадий по шкале Людвига и для выявления возможных изменений после использования инъекции обогащенной тромбоцитами плазмы в сочетании с местным применением 2 % лосьона миноксидила.

Материалы и методы. Исследованы биоптаты кожи 30 пациентов с андрогенетической алопецией с помощью иммуногистохимического исследования до и после лечения, которое длилось 3 месяца и включало 3 сеанса PRP (один раз в месяц) и местное применение миноксидила 2 % лосьона дважды в день.

Результаты. Установлено, что андрогенетическая алопеция сопровождается воспалительной перифолликулярной инфильтрацией Т-лимфоцитами CD3+, CD4+ и CD8+, макрофагами (CD68+); дисбалансом ростковых полипептидов VEGF, TGF-1, EGFR; накоплением ферментов оксидативного стресса eNOS и iNOS; накоплением патологической фракции коллагена IV. Инъекции обогащенной тромбоцитами плазмы в сочетании с местным применением 2 % миноксидила в качестве терапии андрогенетической алопеции приводят к нормализации иммуногистохимических показателей кожи, что свидетельствует о возможности применения данной комбинации для длительного лечебного эффекта.

Выводы. Это исследование дополнило представление о патогенезе андрогенетической алопеции и служит основой для усовершенствования схем лечения данной патологии. Но необходимы дополнительные исследования для дальнейшего изучения патоморфологии андрогенетической алопеции и стандартизации техники использования плазмы, обогащенной тромбоцитами, у пациентов с этим заболеванием.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: андрогенетическая алопеция, обогащенная тромбоцитами плазма; миноксидил; иммуногистохимическое исследование биоптатов кожи

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Саленкова Елена Анатольевна, ассистент кафедры инфекционных болезней и клинической иммунологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, площадь Свободы, 6, Харьков, Украина, 61022; e-mail: o.salenkova@karazin.ua, ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-5170-5447>

Данилюк Светлана Владимировна, доцент кафедры патологической анатомии и гистологии Харьковской медицинской академии последипломного образования, ул. Амосова, 58, Харьков, Украина, 61176; e-mail: danyliuksvit@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9971-0410>

Овчаренко Юлия Сергеевна, к. мед. н., профессор, кафедра инфекционных болезней и клинической иммунологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, площадь Свободы, 6, Харьков, Украина, 61022; e-mail: j.ovcharenko@karazin.ua, ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-2412-2251>

Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Конфликт интересов: отсутствует.

Отримано: 08.10.2021

Прийнято до друку: 09.11.2021

Received: 08.10.2021

Accepted: 09.11.2021