

Плазмотерапия: методики и области применения

И. В. Кошелева, Л. И. Шадыжева, Н. О. Переверзина, Н. А. Кливитская

Регенеративная медицина — современное динамичное направление в терапии различных патологий, формирующееся на стыке биологии, биоинженерии и практической медицины. Методы регенеративной медицины направлены на стимуляцию процессов восстановления утраченной функции — либо через мобилизацию стволовых клеток самого организма, либо путем введения аллогенного (донорского) клеточного материала. В последнее время большое распространение получил метод плазмотерапии.

Понятие плазмотерапии и ее лечебные эффекты

Плазмотерапией называют использование в лечебных или косметических целях плазмы, полученной из аутологичной крови человека. Получение материала (плазмы) из собственной крови пациента обеспечивает безопасность лечения, так как в этом случае отсутствует опасность инфицирования и мутагенного эффекта.

Существует несколько методик плазмотерапии:

- плазмолифтинг (англ. «plasmolifting»);
- применение активированной (или неактивированной) — аутологичной плазмы крови, обогащенной тромбоцитарными факторами роста (AOT, Platelet-Rich-Plasma — PRP).

Лечебные эффекты плазмотерапии основываются на высвобождении из тромбоцитов — плоских безъядерных клеток, циркулирующих в кровотоке со сроком жизни 7–10 дней, в концентрации 150–400 тыс/мкл — различных факторов роста (ФР) — гормоноподобных полипептидов с широким спектром биологического действия, способных стимулировать или ингибировать митоз, хемотаксис, дифференцировку клеток. В цитоплазме тромбоцитов содержатся такие структуры, как электронно-плотные тельца, лизосомы и альфа-гранулы, в которых депонируется большое количество ФР, цитокинов, хемокинов и адгезивных белков (фибриноген, фибрин и др.). Основные ФР содержатся в альфа-гранулах и высвобождаются посредством экзоцитоза после активации тромбоцита и действуют локально, не существуя в свободной форме в кровотоке. К настоящему времени известно более 30 ФР; эффекты самых важных из них описаны в табл. 1.

Фактор	Название	Мишень	Функции
ЭФРТ	Эпидермальный фактор роста тромбоцитов	Клетки кровеносных сосудов, внешние клетки кожи, фибробласты и многие другие типы клеток	Поддерживает целостность кровеносных сосудов. Оказывает стимулирующее действие на эндотелиальные клетки. Обладает ангиогенным эффектом
ТрФР A + B	Тромбоцитарный фактор роста	Фибробласты, гладкомышечные клетки, хондроциты, остеобласты, стволовые мезенхимальные клетки	Обеспечивает усиленную пролиферацию клеток, ангиогенез, грануляцию, секрецию факторов роста, формирование матрикса коллагена и кости с участием костных морфогенетических белков (КМБ)
ТФР-β	Трансформирующий фактор роста	Ткань кровеносных сосудов, внешние клетки кожи, фибробласты, моноциты, класс ТФР, включая КМБ, остеобласты — высший уровень ТФР-βг	Индукцирует дифференцирование мезенхимальных клеток, вызывает множество клеточных и межклеточных ответов, включая продукцию других факторов роста. Ответственен за синтез коллагена, ингибирование роста, апоптоз, дифференциацию, активацию клеток
ИФР-I, II	Инсулиноподобный фактор роста	Кость, кровеносные сосуды, кожа и другие ткани; фибробласты	Стимулирует дифференцировку стволовых клеток, усиливает синтез коллагена с участием ТрФР
ФРЭС, ФРЭК	Фактор роста эндотелия сосудов, фактор роста эндотелиальных клеток	Клетки кровеносных сосудов	Участвуют в ангиогенезе, индуцируют пролиферацию эндотелиальных клеток. Являются гепарин-связывающими белками
ОФРФ	Основной фактор роста фибробластов	Кровеносные сосуды, гладкие мышцы, кожа, фибробласты и другие типы клеток	Ответственен за экспрессию в костной ткани, рост кровеносных сосудов, пролиферацию клеток и их миграцию

Основными физиологическими активаторами тромбоцитов являются: коллаген (главный белок внеклеточного матрикса), тромбин (сериновая протеиназа, центральный фермент плазменной системы свертывания), АДФ (адениновый нуклеотид, который выделяется из разрушенных клеток сосуда или секретируется плотными гранулами самих тромбоцитов), а также тромбоксан A2 — липид из класса эйкозаноидов, синтезируемый и выделяемый тромбоцитами. Действие каждого из тромбоцитарных активаторов опосредуется через специализированные рецепторы в мембране тромбоцита. В последние годы было установлено, что Ca^{2+} также играет важную роль в активации тромбоцитов, поэтому для оптимизации высвобождения ФР наиболее часто используют хлорид (иногда глюконат) кальция или собственный тромбин. Активация также может происходить за счет механического или температурного воздействия. Активация плазмы приводит к высвобождению тромбоцитами ФР, а также к полимеризации фибрина, после чего из суспензии PRP образуется гель. Высвобождаемые ФР (естественные полипептиды) воздействуют на клетки-мишени с высокой аффинностью, создавая оптимальную среду для регенерации и репарации тканей. Известно, что лечебный эффект достигается при концентрации тромбоцитов в плазме от 750 тыс. до 1 млн клеток на 1 мкл плазмы.

Плазмолифтинг



Рис. 1. Пробирка для плазмолифтинга

При плазмолифтинге (рис. 1) используется способ отделения цельной плазмы, аналогичный таковому при выполнении стандартных лабораторных исследований. Применяются обычные центрифуги и пробирки. Поэтому при приготовлении аутоплазмы клеточные оболочки клеток крови разрушаются, и в результате получается плазма, взвесь клеточных фрагментов и небольшое количество сохранившихся клеток. Лечебный эффект плазмолифтинга зависит от количества сохранных тромбоцитов. Считается, что высокая концентрация тромбоцитов в очаге введения достигается путем увеличения объема инъекционно вводимой плазмы, поэтому в очаге инъекций концентрация тромбоцитов больше, чем в циркулирующей крови. Также технология плазмолифтинга не предусматривает активацию тромбоцитов.

Аутологичная плазма крови, обогащенная тромбоцитарными факторами роста (PRP)

Методика PRP более патогенетически обоснована, так как именно повышенная концентрация тромбоцитов, а не количество введенной плазмы запускает регенеративные способности организма. При PRP-терапии аутоплазма обогащается тромбоцитами за счет применения технологий «мягкого» центрифугирования в специальных пробирках в форме песочных часов.

В зависимости от биохимической структуры, получаемой с помощью различных методик и оборудования, PRP-продукты бывают нескольких видов:

- 1) PRP (Platelet Rich Plasma) — суспензия;
- 2) PRG (Platelet Rich Gel) — обогащенный тромбоцитами гель (активированная суспензия, в которой фибриноген преобразуется в фибрин в виде слабо сшитых волокон);
- 3) PRF (Platelet Rich Fibrin) — обогащенный тромбоцитами фибрин плазмы крови в виде сшитой фибриновой сети высокой плотности;
- 4) PRFM (Platelet Rich Fibrin Matrix) — представляет собой трехмерный фибриновый матрикс с высокой плотностью и степенью полимеризации фибрина за счет обогащения плазмы не только тромбоцитами, но и фибриногеном, с последующей активацией тромбоцитов. При этом сепарация клеточных компонентов происходит без использования антикоагулянтов.

Плотность препаратов (PRG, PRF) зависит от содержания в них фибриногена во время процесса концентрирования тромбоцитов и биохимической структуры образующегося фибрина. Формирование же фибриновой сети происходит в результате активации тромбином фибриногена, концентрация которого сильно варьирует в зависимости от метода получения. Волокнистый белок фибрин выступает в качестве временной матрицы, которая обеспечивает поддержку при заживлении раны. Эта матрица способствует фильтрации и пролиферации клеток, то есть схождению краев раны и ее заживлению.

Получение PRP-продуктов

Согласно современной международной классификации, PRP подразделяют на различные разновидности в зависимости не от биохимической структуры, а от содержания тромбоцитов, лейкоцитов и фибрина, поэтому для обозначения различных методов получения PRP определенного состава используются коммерческие названия (табл. 2). Например, сертифицированный на территории Российской Федерации метод Endoret при отсутствии активации *in vitro* позволяет получить PRP с достаточно высоким содержанием тромбоцитов, низкой плотностью фибрина и отсутствием лейкоцитов. При применении клеточного сепаратора PRP содержание тромбоцитов в конечном продукте больше, чем при применении метода Endoret. При применении систем Vivostat PRF, PRGF Anitua, PRP Nahita тромбоциты в конечном продукте содержатся в малом количестве, лейкоциты отсутствуют, фибрин — низкой плотности. Коммерческие системы по получению L-PRP позволяют получать плазму с высоким содержанием и тромбоцитов, и лейкоцитов, но с низкой плотностью фибрина. Однако к настоящему времени для применения на территории РФ сертифицированы только системы Regen PRP и Ycellbiokit.

Характеристика основных классов PRP					Таблица 2
Класс	Название	Метод получения	Содержание тромбоцитов	Содержание лейкоцитов	Плотность фибрина
P-PRP	Чистая обогащенная тромбоцитами плазма крови (Pure Platelet Rich Plasma)	Клеточный сепаратор PRP	Высокое	—	Низкая
		Vivostat PRF	Низкое	—	Низкая
		PRGF Anitua PRP Nuhita	Низкое	—	Низкая
		Endoret*	Невысокое	—	Низкая
L-PRP	Обогащенная лейкоцитами и тромбоцитами плазма крови (Leucocyte and Platelet Rich Plasma)	PCCS PRP SmartPRP PRF MagellanPRP GPS PRP Friadent PRP Curasan PRP Platelet PRP AcePRP Regen PRP*	Высокое	Высокое	Низкая
		YcellbioKit*	Очень высокое		
P-PRF	Чистый обогащенный тромбоцитами фибрин (Pure Platelet Rich Fibrin)	Fibrinet PRFM	Высокое	—	Высокая
L-PRF	Обогащенный лейкоцитами и тромбоцитами фибрин (Leucocyte and Platelet Rich Fibrin)	PRF Choukroun	Высокое	Высокое	Высокая

Примечания: * Сертифицированы на территории Российской Федерации.

На территории США единственным методом, который зарегистрирован и разрешен Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA) к использованию, является Fibrinet PRFM, позволяющий получить фибриновый матрикс, обогащенный тромбоцитами (PRF). Система состоит из двух пробирок. После забора крови и первого центрифугирования, без использования антикоагулянтов к плазме добавляют активатор (хлорид кальция). В результате происходит естественная полимеризация фибрина, с образованием сгустка PRF (обогащенного тромбоцитами фибрина), и высвобождение ФР; в зависимости от содержания лейкоцитов в сгустке выделяют L-PRF или P-PRF. После этого материал переносят в другую пробирку и повторно центрифугируют для образования прочного сгустка в виде трехмерной фибриновой сети — обогащенного тромбоцитами фибринового матрикса (PRFM). Высвобождение ФР происходит в течение 1 часа, потом тромбоциты «встраиваются» в фибриновую сеть, продолжая секретировать биоактивные вещества не менее 7 дней [1–3]. Считается, что такой трехмерный фибриновый матрикс является естественным «носителем» для тромбоцитов и ФР, интегрированных в фибриновую сеть во время полимеризации. PRFM способствует локальному увеличению концентрации ФР в очаге введения [4–6], что в совокупности с длительным секретированием ФР тромбоцитами способствует развитию устойчивого клинического эффекта.

Существуют общие принципы приготовления PRP. На первом этапе получения при центрифугировании кровь разделяется на 3 слоя (рис. 2):

- нижний, содержащий эритроциты;
- промежуточный, содержащий тромбоциты и лейкоциты (именно в нем содержится основное содержание тромбоцитов);
- верхний, плазма с низким (физиологическим) содержанием тромбоцитов.



Рис. 2. Пробирка для PRP

Форма пробирки позволяет выделить PRP без смешения слоев. Далее к материалу добавляют антикоагулянты на основе солей цитрата натрия и раствора глюкозы — с аденином или без — для предотвращения спонтанной активации тромбоцитов, что важно для правильного приготовления PRP. Так как после однократного центрифугирования удастся получить плазму с физиологическим (а не увеличенным) содержанием тромбоцитов, необходим второй этап центрифугирования. В зависимости от слоя, который будет отобран, получают чистую PRP (P-PRP) или PRP с лейкоцитами (L-PRP). При приготовлении обогащенной тромбоцитами плазмы (P-PRP) после забора верхнего слоя и верхней части промежуточного слоя материала в другую пробирку, оставшаяся плазма подвергается высокоскоростному центрифугированию, после чего клеточный осадок с большой концентрацией тромбоцитов (1/3 от получившегося продукта) повторно суспендируют. При заборе полностью верхнего и промежуточного слоев и последующем центрифугировании также получается клеточный осадок, но состоящий

уже не только из тромбоцитов, но также и из лейкоцитов и небольшого количества эритроцитов, встречающихся в промежуточном слое; этот продукт и представляет собой плазму, обогащенную тромбоцитами и лейкоцитами: L-PRP. Активация P-PRP- и L-PRP-суспензий и преобразование их в гель отложена и происходит после контакта с тканями организма. Поэтому их иногда относят к «неактивированным» продуктам, имея в виду, что не происходит активации *in vitro* [7]. При добавлении активатора в пробирку после второго центрифугирования образуются P-PRP и L-PRP фибриновые гели, считающиеся активированными продуктами. Необходимо учитывать, что лейкоциты также высвобождают матриксные металлопротеиназы, например, коллагеназу и эластазу — цинк-зависимые протеолитические ферменты, способные разрушать компоненты межклеточного матрикса. Матриксные металлопротеиназы также участвуют в активации и деактивации хемокинов и цитокинов.

Области применения плазмотерапии

Плазмотерапия с успехом применяется в различных областях медицины. В травматологии PRP применяется при лечении артрозов, артритов, эпикондилитов, субакромиального синдрома, плантарного фасциита («пяточных шпор»); при этом реализуется спазмолитический эффект, восстанавливаются объем и состав суставной жидкости, активируется кровообращение в области пораженного сустава, укрепляются связки и мышцы, окружающие больной сустав. G. Bosh и соавт. в эксперименте с травмами сухожилий у лошадей исследовали влияние PRP на неоваскуляризацию и показали, что PRP способствует ангиогенезу [8].

В стоматологии метод плазмолифтинга успешно применяется для лечения воспалительных заболеваний — гингивитов, парадонтитов и др., а также при операциях удаления зубов и имплантациях. Уже через несколько процедур можно увидеть положительную динамику от лечения в виде улучшения показателей гигиенических и пародонтологических индексов, снижения кровоточивости десен [9, 10].

В 2016 г. на базе Сеченовского университета была доказана эффективность и безопасность применения аутологичной плазмы крови, обогащенной тромбоцитарными факторами роста для лечения эректильной дисфункции [11, 12]. В 2017 г. совместно с виварным экспериментальным комплексом МГУ им. М. В. Ломоносова начат доклинический эксперимент на крысах в области репродуктологии — оценка безопасности и эффективности применения PRP в различных модификациях для лечения мужского бесплодия [13].

Благодаря противовоспалительному, анальгетическому, противоотечному и гемостатическому эффектам PRP, сопоставимым с эффектом кортикостероидной терапии, данный метод нашел широкое применение в хирургии [14]. Способность запускать ангиогенез открывает новые возможности в кардиохирургии при введении PRP в очаги ишемизации у пациентов с инфарктом миокарда [15]. В офтальмологии PRP используют при лечении язв роговицы — показано, что аутоплазма, обогащенная тромбоцитами, способствует уменьшению воспаления, боли и субъективных ощущений [16]. Доказана эффективность PRP в составе комплексного лечения хронических заболеваний органов малого таза, сальпингоофоритов, эндометритов в гинекологии [17]. В 2017 г. B. Hersant и соавт. высказали положительное мнение о возможности применения PRP в микрохирургии [18].

Но, пожалуй, активнее всего аутологичная плазма крови, обогащенная тромбоцитарными ФР, используется в пластической хирургии, дерматологии и косметологии, так как очевидно, что ФР, цитокины и другие биологически активные вещества способны оказывать нормализующее влияние на процессы репарации и регенерации тканей. Поскольку ФР могут воздействовать на стволовые клетки в области фолликула волоса, стимулируя развитие новых фолликулов, способствуют неоваскуляризации и пролонгируют фазу анагеновой фазы роста волоса (период интенсивного деления клеток волосного фолликула), PRP активно используется в трихологии. A. Trink и соавт. провели рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование на 45 пациентах по оценке безопасности и эффективности PRP при лечении очаговой алопеции [19]. Разным группам пациентов применяли либо аутоплазму, обогащенную тромбоцитарными факторами роста, либо триамцинолон ацетонид (ТА), либо плацебо. Каждая процедура выполнялась однократно раз в месяц — всего в течение 3 месяцев. У пациентов, кому вводили PRP, по данным дермоскопии значительно увеличился рост волос по сравнению с двумя остальными группами, при этом маркер пролиферации клеток Ki-67 у них был значительно выше, чем у остальных. Экспрессия ядерного антигена Ki-67 указывает на клетки, находящиеся в активной фазе клеточного цикла, то есть стремительно делящиеся. Также в группе больных, получавших PRP, полная ремиссия в течение 12 месяцев выявлена у 27 пациентов, в то время как при лечении ТА — у 12 пациентов. В последующие 6 месяцев в группе больных, получавших ТА, рецидив выпадения волос наблюдался у 17 больных, а в группе PRP — ни у одного из пациентов. Еще через 12 месяцев рецидив при лечении ТА обнаружен у 32 пациентов, а при лечении аутоплазмой лишь у 14 пациентов.

J. Donavan в 2015 г. опубликовал данные о случае успешного лечения офииазиса с использованием PRP. Эта форма гнездовой алопеции характеризуется появлением очагов облысения в области затылка (или, иногда, в лобной области), которые, сливаясь, в виде ленты распространяются в сторону ушных раковин, достигая висков. Очень часто офииазис характеризуется торпидностью к проводимой терапии. В наблюдении J. Donavan длительность заболевания составила более 10 лет (рис. 3), заболевание было резистентно к лечению кортикостероидными препаратами и миноксидилу. При проведении PRP-терапии положительный эффект наблюдался уже после первой процедуры. PRP вводили однократно в месяц, всего 3 инъекции на курс лечения. Через 3 месяца длина волоса у

пациентки составила 2,8 см. Авторы считают, что PRP может эффективно использоваться при лечении стероид-резистентных форм очаговой алопеции или при непереносимости стероидных препаратов [20].

В 2016 г. Thamer Mubki с соавт. также провели исследование эффективности PRP в лечении очаговой алопеции у пациентки с длительностью заболевания более 5 лет, которой проводилось лечение 0,05% клобетазола пропионатом, 2% миноксидилом, 2% кремом антралина. Эффективность данной терапии была признана недостаточной, так как был отмечен лишь частичный рост волос, в связи с чем пациентке был проведен курс лечения PRP и ТА на правую половину волосистой части головы; при этом на левую половину наносили только ТА. На правую половину волосистой части головы всего было проведено 8 процедур в течение 16 недель: по 4 инъекции PRP и ТА, на левую — только 4 инъекции ТА. Данные цифровой трихоскопии показали, что при использовании PRP и ТА увеличение количества волос составило 16% от исходных данных. Лечение ТА дало результат 12%. Однако при этом на правой половине головы (где применялись PRP и ТА) было отмечено увеличение среднего диаметра волоса на 35%, а на левой половине головы (лечение только ТА) — наоборот было отмечено уменьшение диаметра волоса. Таким образом, было констатировано, что лечение с применением аутоплазмы, обогащенной тромбоцитарными факторами роста, в комплексе с ТА дало лучшие результаты в лечении очаговой алопеции, чем терапия только стероидными препаратами (ТА) [21]. Также положительная динамика от терапии PRP отмечена при лечении андрогенной алопеции (АГА) в исследовании V. Cervelli и соавт. [22]. Было отмечено, что аутоплазма, обогащенная тромбоцитарными ФР, увеличивала транскрипционную активность β -катенина, являющегося белком сигнального пути Wnt, который определяет различные направления дифференцировки клеток. Также PRP увеличивала уровень антиапоптотических белков BCL-2, защищая клетки от апоптоза. Активация Akt- и ERK-сигнальных путей стимулирует перемещение β -катенина в ядро, обуславливая пролиферацию и дифференцировку клеток. Кроме того, PRP увеличивала экспрессию факторов роста фибробластов (ФРФ). Было обнаружено, что при лечении АГА особенно увеличивался уровень ФРФ-7, также известного как фактор роста кератиноцитов, который продлевал фазу анагена в цикле роста волос. Механизмы действия PRP при АГА описаны в табл. 3.

Таблица 3	
Механизм действия PRP при андрогенной алопеции	
Увеличение транскрипционной активности β -катенина → дифференцировка стволовых клеток в клетки волосных фолликулов	
Увеличение количества BCL-2 ¹ → подавление апоптоза → увеличение времени жизни клеток дермального сосочка	
Активация Akt и ERK сигнальных путей → увеличение времени жизни клеток дермального сосочка	
Экспрессия FGF-7 ² — в клетках дермального сосочка → удлинение фазы анагена в цикле роста волос	
Увеличение VEGF ³ и PDGF ⁴ → увеличение перифолликулярной сосудистой сети	
Примечание. ¹ Белок-регулятор апоптоза (от англ. B-cell lymphoma 2); ² фактор роста кератиноцитов; ³ фактор роста эндотелия сосудов; ⁴ тромбоцитарный фактор роста.	

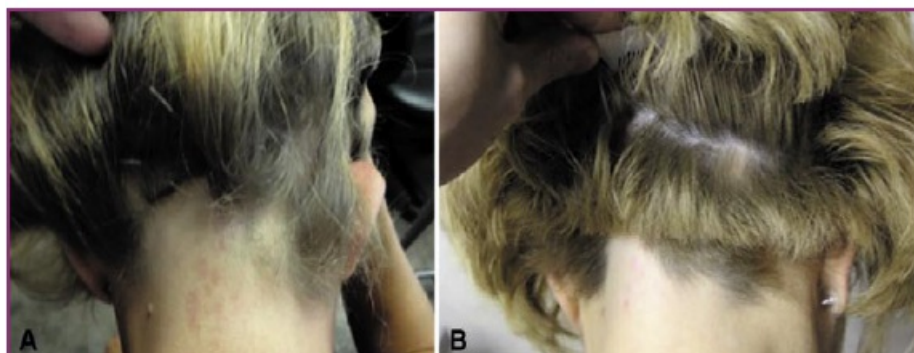


Рис. 3. А — участки потери волос на затылочной области до лечения PRP; В — участки затылочного роста волос через 3 месяца лечения PRP

Метаанализ, проведенный в 2017 г. Salvatore Giordano и соавт., касательно применения PRP при лечении АГА показал, что данный метод клеточной терапии увеличивает количество волос, их структура становится толще при том, что побочные эффекты от малоинвазивной процедуры PRP минимальны [23]. Однако к настоящему времени еще не предложены конкретные стандартизированные протоколы приготовления PRP и лечения АГА аутоплазмой, обогащенной тромбоцитарными ФР.

Фото- и хроностарение кожи представляют собой полиэтиологические биологические процессы, при которых происходят изменения гомеостаза коллагена, основного структурного компонента кожи. Это приводит к нарушению опорного каркаса кожи, изменению ее морфологических свойств, формированию морщин. Источником коллагена являются фибробласты, которые помимо этого структурного белка вырабатывают практически все компоненты межклеточного матрикса дермы. Кроме того, они контролируют взаимодействие между кератиноцитами, эндотелиоцитами и обеспечивают гомеостаз и морфофункциональную организацию кожи [24].

Так как биоактивные вещества, вырабатываемые PRP, индуцируют пролиферативную и синтетическую активность фибробластов дермы, этот метод позволяет эффективно проводить коррекцию возрастных изменений кожи [25].

A. Redaelli с соавт. проводилась оценка эффективности применения PRP для коррекции морщин в области лица и шеи, а также рубцовых изменений кожи при постакне [26]. Под наблюдением в течение 3 месяцев было 23 пациента; контроль эффективности лечения проводился при помощи дерматоскопии и фотодокументирования. Был сделан вывод, что использование аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, приводит к улучшению текстуры кожи лица и шеи, уменьшению выраженности мелких морщин, выравниванию тона кожи и увеличению ее эластичности.

A. Sclafani проводил исследования по использованию обогащенного тромбоцитами фибринового матрикса PRFM с целью коррекции мелких, средних и глубоких морщин, а также субцизией рубцовой ткани [3, 5, 6]. Результаты показали визуально заметное уменьшение глубины морщин [3]. В другом проведенном исследовании A. Sclafani продемонстрировал выраженное уменьшение носогубных складок после 1 процедуры введения PRFM. Улучшение состояния кожи отмечалось через 2 недели после проведения инъекции, а эффект сохранялся более 10 недель [5]. По шкале оценки морщин WAS (Wrinkle Assessment Scale) средний показатель снизился на $2,12 \pm 0,56$ через 1 неделю. После 2, 6, и 12 недель показатель снижался на $0,97 \pm 0,75$, $1,08 \pm 0,59$ и $1,13 \pm 0,72$ соответственно.

Cabrera-Ramírez и соавт. в проведенном в 2017 г. исследовании приводят данные об уменьшении процессов фотостарения кожи рук при проведении процедуры PRP. Для определения результата была произведена биопсия кожи с дорсальной поверхности руки с целью проведения гистологического исследования. Данные показали увеличение числа фибробластов и коллагена, активацию ангиогенеза, что способствовало уменьшению проявлений старения кожи, количества морщин, снижению эластола [27].

Н. В. Просяникова и соавт. доказали эффективность применения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитарными ФР, в лечении хронических язвенных дефектов кожи, образовавшихся вследствие хронической венозной недостаточности или диабетической ангиопатии [28]. PRP оказала значительный эффект на длительно незаживающие раны в виде улучшения процессов регенерации, ускорения заживления дефектов. Гистологическая структура кожи стала более организованной и определенной, появились отчетливые признаки эпителизации. По данным бактериологического исследования снижался уровень микробной обсемененности. Авторы полагают, что PRP приводит к активизации местного иммунитета в ране, скорее всего, посредством привлечения в патологический очаг иммунных клеток. Тем не менее данная гипотеза требует дальнейшего исследования.

И. В. Фирсова и соавт. оценили эффективность PRP-терапии при эрозивно-язвенной форме красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта [29]. В исследовании пациенты были разделены на две группы: в первой проводилась общепринятая медикаментозная терапия; во второй дополнительно применялась аутоплазма, обогащенная тромбоцитами. У пациентов второй группы уже через неделю была отмечена положительная динамика в виде улучшения показателей гигиенических и пародонтологических индексов, снижения размеров площади очагового поражения, активации эпителизации, исчезновения гиперемии и отека слизистой оболочки, приобретения папулезным рисунком бледно-сероватого цвета. Данные цитологического исследования показали появление незрелых и зрелых форм метаплазированных клеток, что свидетельствует о повышении активности процесса регенерации эпителия. Также наблюдалось уменьшение количества нейтрофилов и кокковой микрофлоры, уменьшение признаков дегенеративных изменений в эпителиоцитах, а в последующем — более раннее увеличение количества эпителиальных клеток в сравнении с пациентами первой группы. При применении PRP процесс нормализации состояния эпителия слизистой оболочки рта в области очагов поражения протекал в более короткие сроки.

F. Casabona и соавт. (2017) полагают, что локальные инъекции PRP оказывают положительный терапевтический эффект при лечении склеротического лишая полового члена [30]. Они считают, что препаратами первой линии все же остаются кортикостероиды, однако аутоплазма, обогащенная тромбоцитарными ФР, способствует регенерации в местах рубцевания, уменьшает симптоматику и улучшает качество жизни. Необходимы дальнейшие исследования для оценки долгосрочных результатов.

Также описано применение различных терапевтических комбинаций плазмотерапии с другими лечебными факторами.

В 2017 г. J. X. Law и соавт. опубликовали результаты доклинического эксперимента на мышах для оценки эффективности применения суспензии PRP с добавлением аутологических кератиноцитов и фибробластов для заживления ран [31]. На спине у лабораторных мышей наносили колотую глубокую рану площадью $1,767 \text{ см}^2$. Полученные после биопсии с передней брюшной стенки образцы кожи очищали от жировой ткани и волосяных луковиц, а затем последовательно переваривали в коллагеназе типа I (Worthington, Lakewood, США) и трипсин-ЭДТА (Mediatech, Manassas, США) для выделения кератиноцитов и фибробластов. Изолированные клетки культивировали в среде Epilife/F12/DMEM (2:1:1, Gibco, Grand Island, США), с добавлением 5% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS, PAA Laboratories, Pasching, Austria). Клетки культивировали при 37°C и 5% CO_2 два дня. Затем кератиноциты и фибробласты разделяли дифференциальной трипсинизацией и подвергали обработке

трипсин-ЭДТА в течение 4 минут. Затем их добавляли к PRP в концентрациях: кератиноциты — 2×10^4 клеток/1 см², фибробласты — 3×10^4 клеток/1 см². Такая комбинация способствовала лучшей эпителизации ткани, образованию более плотных коллагеновых пучков, дерма была подвергнута обширному ремоделированию. Окрашивание инволюкрином показало присутствие базальных кератиноцитов и дифференцированных кератиноцитов в верхнем слое эпидермиса. Такие показатели указывают на то, что эпидермис группы PRP + клетки был более зрелым и напоминал нормальную кожу. Авторы считают, что комбинация суспензии PRP с аутологичными кератиноцитами и фибробластами оказывает синергичный эффект и может быть эффективным методом заживления свежих ран.

S. Tenna и соавт. в 2017 г. показали, что комбинация PRP с аутологичной жировой трансплантацией «Nano Fat grafting» совместно или по отдельности с лазерной шлифовкой может быть эффективна при коррекции атрофических рубцов после угревой болезни [32, 33]. Nano Fat grafting (микролипофилинг) представляет собой процедуру, при которой полученный аутологичный липоаспират проходит несколько этапов эмульгирования и фильтрации, а затем микроинъекционно вводится в корректируемые области. Как правило, зонами-донорами становятся колени и внутренняя поверхность бедра. В полученном образце практически отсутствуют зрелые адипоциты, однако имеется большое количество мезенхимальных стволовых клеток. Данная жидкая суспензия может быть введена в разные подкожные слои через тонкие иглы (27 G), такие же, как и при инъекции гиалуроновой кислоты, ботокса или инсулина [34]. Высвобождаемые факторы роста PRP при комбинированной терапии приводят к лучшему усвоению мезенхимальных стволовых клеток, увеличению пролиферации клеток и их дифференцировке. Результаты ряда клинических исследований показывают, что терапия методом микролипофилинга совместно с PRP приводила к увеличению толщины эпидермиса, усилению пролиферации фибробластов, увеличению синтеза коллагена [35–37]. Такая комбинированная терапия используется и при лечении хронических язв нижних конечностей [35].

M. Asif и соавт. изучали эффективность и безопасность применения PRP совместно с микроигльной терапией (Microneedling) для лечения рубцовых изменений после угревой болезни [38]. Принцип Microneedling заключается в иницировании синтеза коллагена. Это достигается за счет микроповреждений дермы с использованием микроигл — настолько тонких, что повреждение ткани незначительно, однако такое воздействие через «нервный стимул» активирует процесс заживления. При этом происходит высвобождение ФР, которые способствуют миграции фибробластов в очаг воздействия и стимуляции эндотелиальных клеток, что промотирует неоваскуляризацию. Кроме того, высвобождаемые из PRP ФР дополнительно стимулируют продукцию коллагена, запускают клеточную дифференцировку, а также оказывают противовоспалительный и антибактериальный эффект. Антибактериальное действие обеспечивается наличием в плазме антимикробных пептидов (фибринопептид А, фибринопептид В, тимозин b-4, основной белок тромбоцитов, активирующий соединительную ткань 3 пептид, RANTES, 4 фактор тромбоцитов) и содержащихся в L-PRP и L-PRF лейкоцитов, что оказывает прямой и опосредованный эффект за счет антиген-специфичных иммунных реакций. Данные эффекты дополнительно обуславливают эффективность комбинации PRP с травматизацией микроиглами [39, 40].

Совместное применение PRP с лазерной шлифовкой CO₂-фракционным лазером описано в исследовании J.-I. Na и соавт. [41]. Лазерная шлифовка CO₂-фракционным лазером часто используется с целью устранения морщин на лице. Однако нередко встречаются такие осложнения, как рубцевание и длительная эритема. В исследовании 25 пациентам была выполнена процедура с применением абляционного CO₂-лазера на внутренние поверхности обеих рук для разглаживания морщин. После обработки лазером на одну руку местно наносили активированную хлоридом кальция PRP; поверхность кожи второй руки использовалась в качестве контроля. Исследование показало, что комбинация лазерной шлифовки CO₂-фракционным лазером и PRP приводит к уменьшению выраженности побочных явлений от воздействия лазером (гиперпигментации, возникающей как следствие длительного воспалительного процесса, сопровождающегося выраженной эритемой). При гистологическом анализе, проведенном через месяц после процедуры, в срезах кожи, обработанных PRP, наблюдается большая толщина эпидермиса, более организованный роговой слой и толстые пучки коллагеновых волокон по сравнению с контрольными образцами. M. Shin и соавт. в аналогичном исследовании применяли комбинацию неабляционной лазерной шлифовки CO₂-фракционным лазером и PRP с целью устранения морщин [42]. В результате в местах проведения комбинированной терапии наблюдалось большее количество фибробластов и большая плотность коллагена, чем в участках применения только лишь CO₂-фракционного лазера. Также отмечены более высокие показатели эластичности кожи и, соответственно, выраженности моделирующего эффекта. Однако механизм действия PRP при применении ее после лазеротерапии до конца не изучен. Предполагают, что основную роль играют проангиогенные факторы, индуцирующие ангиогенез и регулирующие образование кровеносных сосудов, которые повреждаются под действием лазера [43]. Очевидно, что описанные лечебные комбинации при совместном применении оказывают синергическое действие, приводящее к более выраженному эффекту, чем достигаемый при использовании каждой из методик по отдельности.

Описано сочетание плазмолифтинга с введением ботулотоксина типа А [17]. По мнению Р. Р. Ахмерова, комбинация этих инъекций позволяет одновременно разгладить мимические морщины и улучшить качество кожи. Вместе с тем аутоплазма может быть полезна при коррекции побочных эффектов от избыточного введения ботулотоксина А (например, в виде опущения верхнего века), так как ее введение способствует улучшению

кровоснабжения ткани и ускорению реиннервации. Также показана эффективность комбинации плазмолифтинга с контурной пластикой, филлерами на основе гиалуроновой кислоты, мезотерапией, биоревитализацией, интралипотерапией, химическими пилингами, нитевым лифтингом [17, 44].

Выводы

Таким образом, плазмотерапия представляет собой динамично развивающийся метод клеточной терапии, саногенетические эффекты которого востребованы в различных областях медицины. Наиболее активно происходит внедрение данной технологии в дерматовенерологию и косметологию, причем лечение плазмой все чаще применяется в качестве монотерапии. Однако метод остается все еще недостаточно полно изученным, к настоящему времени пока не накоплены достаточные статистические данные о результатах его применения и, соответственно, отсутствуют стандартизированные лечебные протоколы. Таким образом, дальнейшим направлением научного поиска в этой области является проведение полноценных долгосрочных двойных слепых рандомизированных плацебо-контролируемых исследований полезных свойств аутоплазмы, реализуемых посредством применения различных лечебных методик.

Литература

1. Andia I., Abate M. Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates // *Regen Med*. 2013; 8 (5): 645–658.
2. Freymiller E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use // *J Oral Maxillofac Surg*. 2004; 62: 1046.
3. Wrotniak M., Bielecki T., Gazdzik T. S. Current opinion about using the platelet-rich gel in orthopaedics and trauma surgery // *Ortop Traumatol Rehabil*. 2007; 9: 227–238.
4. Scalfani A. Safety, efficacy and utility of platelet-rich fibrin matrix in facial plastic surgery // *Arch Facial Plast Surg*. 2011; 13 (4): 247–250.
5. Scalfani A. Platelet-rich fibrin matrix for improvement of deep nasolabial folds // *J Cosm Dermatol*. 2010; 9: 66–71.
6. Scalfani A. Applications of platelet-rich fibrin matrix in facial plastic surgery // *Arch Facial Plast Surg*. 2009; 25 (4): 271–276.
7. Ehrenfest D. M., Bielecki T., Mishra A. et al. In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes // *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 13 (7): 1131–1137.
8. Bosch G., Moleman M., Barneveld A. et al. The effects of platelet-rich plasma on the neovascularization of surgically created equine superficial digital extensor tendon lesions // *Scand J Med Sci Sports*. 2011; 21 (4): 554–561.
9. Ахмеров Р. Р., Овечкина М. В., Цыплаков Д. Э., Воробьев А. А., Мансурова Т. Г. Технология Plasmolifting — инъекционная форма тромбоцитарной аутоплазмы для лечения хронических пародонтитов I–II степени тяжести // *Пародонтология*. 2013. № 1 (66). С. 45–47.
10. Ахмеров Р. Р., Зарудий Р. Ф., Овечкина М. В., Цыплаков Д. Э., Воробьев А. А. Технология Plasmolifting — инъекционная форма тромбоцитарной аутоплазмы для лечения хронических катаральных гингивитов // *Пародонтология*. 2012. № 4 (65). С. 80–84.
11. Чалый М. Е. и соавт. Способ лечения эректильной дисфункции. Патент РФ № 2514639.
12. Глыбочко П. В., Аляев Ю. Г., Чалый М. Е., Епифанова М. В., Краснов А. О. Применение клеточных технологий в андрологической практике // *Урология*. 2016; 1 (приложение 1).
13. Глыбочко П. В., Аляев Ю. Г., Чалый М. Е., Епифанова М. В., Переверзина Н. О., Артеменко С. А. Клеточные технологии в лечении мужского бесплодия, обусловленного необструктивной азооспермией // *Урология*. 2017.
14. Andia I., Abate M. Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates // *Regenerative Medicine*. 2013; 8 (5): 645–658.
15. Li X., Zhou X., Zeng S. et al. Effects of intramyocardial injection of platelet-rich plasma on the healing process after myocardial infarction // *Coron Artery Dis*. 19 (5); 363–370.
16. Lopes-Plandolit, Morales M. et al. Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects // *Cornea*. 2010; 29 (8): 843–848.
17. Ахмеров Р. Р. Регенеративная медицина на основе аутологичной плазмы. Технология PlasmoliftingTM. М.: Литтерра, 2014.
18. Hersant B., La Padula S., SidAhmed-Mezi M., Rodriguez A. M., Meningaud J. P. Use of platelet-rich plasma (PRP) in microsurgery // *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 2017, Jun 19. pii. S2468–7855 (17)30103–9. DOI: 10.1016/j.jormas.2017.05.009.
19. Trink A., Sorbellini E., Bezzola P. et al. A randomized, double-blind, placebo- and active-controlled, half-head study to evaluate the effects of platelet-rich plasma on alopecia areata // *Br J Dermatol*. 2013; 169: 690–694.
20. Donovan J. Successful treatment of corticosteroid-resistant alopecia areata with platelet-rich plasma // *JAAD Case reports*. 2015; 1 (5): 305–307.
21. Thamer Mubki et al. Platelet-rich plasma combined with intralesional triamcinolone acetonide for the treatment of Alopecia Areata: A case report // *Journal of Dermatology and Dermatologic Surgery*. 2016; (20): 87–90.
22. Cerevelli V., Garcovich S. et al. The effect of Autologous Activated platelet-rich plasma (AA-PRP) injections on pattern hair loss: clinical and histomorphometric evaluation // *Biomed Reserch International*. 2014; 760–709.
23. Giordano S., Romeo M., Lankinen P. Platelet-rich plasma for androgenetic alopecia: Does it work? Evidence from

- meta analysis // J Cosmet Dermatol. 2017, Mar 13. DOI: 10.1111/jocd.12331.
24. Kim W., Park B., Park S., Kim H. et al. Antiwrinkle effect of adipose-derived stem cell: activation of dermal fibroblast by secretory factors // J Dermatol Sci. 2009; 53: 96–102.
 25. Kakudo N., Minakata T., Mitsui T., Kushida S., Notodihardjo F. Z., Kusumoto K. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts // Plast Reconstr Surg. 2008; 22: 1352–1360.
 26. Redaelli A., Romano D., Marciano A. Face and neck revitalization with platelet-rich plasma (PRP): clinical outcome in a series of 23 consecutively treated patients // J Drugs Dermatol. 2010; 9 (5): 466–472.
 27. Cabrera-Ramírez J. O., Puebla-Mora A. G., González-Ojeda A., García-Martínez D., Cortés-Lares J. A., Márquez-Valdés A. R., Contreras-Hernández G. I., Bracamontes-Blanco J., Saucedo Ortiz J. A., Fuentes-Orozco C. Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Photodamage of the Skin of the Hands // Actas Dermosifiliogr. 2017, Jun 15. Pii: S0001-7310 (17)30208-9. DOI: 10.1016/j.ad.2017.04.006.
 28. Просяникова Н. В., Липова Е. В., Покровский К. А., Тарасенко Г. Н. Тромбоцитарная масса при хронических язвенных дефектах кожи // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2013. № 2. С. 20.
 29. Фирсова И. В., Поройский С. В., Македонова Ю. А., Питерская Н. В., Михальченко В. Ф. Эффективность прр-терапии при эрозивно-язвенной форме красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта. 2016. Вып. 1 (57).
 30. Casabona F., Gambelli I., Casabona F., Santi P., Santori G., Baldelli I. Autologous platelet-rich plasma (PRP) in chronic penile lichen sclerosus: the impact on tissue repair and patient quality of life // Int Urol Nephrol. 2017, Apr; 49 (4): 573–580. DOI: 10.1007/s11255-017-1523-0.
 31. Law J. X., Chowdhury S. R., Saim A. B., Idrus R. B. H. Platelet-rich plasma with keratinocytes and fibroblasts enhance healing of full-thickness wounds // J Tissue Viability. 2017, Aug; 26 (3): 208–215. DOI: 10.1016/j.jtv.2017.05.003.
 32. Barone M., Tenna S., Cogliandro A., Panasiti V., Nobile C., Persichetti P. Application of regenerative medicine in treatment of acne scars // Plast Aesthet Res. 2016; 3: 235–239.
 33. Tenna S., Cogliandro A., Barone M., Panasiti V., Tirindelli M., Nobile C., Persichetti P. Comparative Study Using Autologous Fat Grafts Plus Platelet-Rich Plasma With or Without Fractional CO2 Laser Resurfacing in Treatment of Acne Scars: Analysis of Outcomes and Satisfaction With FACE-Q // Aesthetic Plast Surg. 2017, Jun; 41 (3): 661–666. DOI: 10.1007/s00266-017-0777-3.
 34. Lo Furno D., Tamburino S., Mannino G., Gili E., Lombardo G., Tarico M. S., Vancheri C., Giuffrida R., Perrotta R. E. NANOFAT 2.0: experimental evidence for a fat grafting rich in mesenchymal stem cells // Physiol Res. 2017, Apr 12.
 35. Cervelli V., Gentile P., Grimaldi M. Regenerative surgery: use of fat grafting combined with platelet-rich plasma for chronic lower-extremity ulcers // Aesthetic Plast Surg. 2009; 33: 340–345. [PubMed].
 36. Marco K., Marazzi M., Luisa Torre M. L., Vigo D. Fat injection for cases of severe burn outcomes: a new perspective of scar remodeling and reduction // Aesthetic Plast Surg. 2008; 32: 465–469. [PubMed].
 37. De Benito J., Fernandez I., Nanda V. Treatment of depressed scars with a dissecting cannula and an autologous fat graft // Aesthetic Plast Surg. 1999; 23: 367–370. [PubMed].
 38. Asif M., Kanodia S., Singh K. Combined autologous platelet-rich plasma with microneedling verses microneedling with distilled water in the treatment of atrophic acne scars: a concurrent split-face study // J Cosmet Dermatol. 2016, Dec; 15 (4): 434–443. DOI: 10.1111/jocd.12207. Epub 2016 Jan 8.
 39. Bharadwaj D. Collagen induction therapy with dermaroller // Community Based Med J. 2012; 1: 35–37.
 40. Majid I. Microneedling therapy in atrophic facial scars: an objective assessment // J Cutan Aesthet Surg. 2009; 2: 26–30.
 41. Na J., Choi M., Choi H., Jeong J. et al. Rapid Healing and Reduced Erythema after Ablative Fractional Carbon Dioxide Laser Resurfacing Combined with the Application of Autologous Platelet-Rich Plasma // Dermatol Surg. 2011; 37: 463–468.
 42. Shin M., Lee J., Lee S., Kim N. Platelet-Rich Plasma Combined with Fractional Laser Therapy for Skin Rejuvenation // Dermatol Surg. 2012; 38: 623–630.
 43. Fife D., Fitzpatrick R., Zachary C. Complications of fractional CO2 laser resurfacing: four cases // Lasers Surg Med. 2009; 41: 179–184.?
 44. Пальцев М. А., Терских В. В., Васильев А. В. Что есть стволовая клетка. В кн.: Биология стволовых клеток и клеточные технологии / Под. ред. М. А. Пальцева. М.: Медицина; Шико, 2009. Т. 1. С. 13–30.

И. В. Кошелева*, доктор медицинских наук, профессор

Л. И. Шадыжева*

Н. О. Переверзина¹**

Н. А. Кливитская***, кандидат медицинских наук

* **ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Москва**

** **ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова МЗ РФ, Москва**

*** **ФГБОУ ВО РНИМУ, Москва**

¹ Контактная информация: natalia.pereverzina@gmail.com

Плазмотерапия: методики и области применения/ И. В. Кошелева, Л. И. Шадыева, Н. О. Переверзина, Н. А. Кливитская

Для цитирования: Лечащий врач № 1/2018; Номера страниц в выпуске: 59-66

Теги: косметология, регенеративная медицина, плазма крови

© «Открытые системы», 1992-2018. Все права
защищены.