

**Abstract.** The paper presents the current views on the orthopedic treatment of small defects of dentition with resin bonded bridges. Dentition defects of small length in the frontal or lateral areas in patients of different ages are quite commonly observed. Currently, several methods for such defects replacing can be proposed. The concept of minimal invasiveness in treatment and prosthetics of hard dental tissues is intensively developing. The modern technologies and materials make it possible to provide teeth rehabilitation including restoration of their anatomical, functional and aesthetic characteristics, which is a convincing alternative to more complex and expensive orthopedic constructions.

Resin bonded bridges (RBB) are highly aesthetic designs providing the most sparing treatment of abutment hard tissues, biomechanical restoration of the dentition function and have low production cost.

Currently, there is no protocol for dental care of patients with small included dentition defects in case of RBB application. The world dental market presents a lot of reinforcing elements for RBB, which can be divided into metal and fiber according to material used. Fiberglass is considered to be the most promising group of reinforcing elements. The issues on determination of the optimal fiber element laying, their number, and the need for its application remain unsolved in RBB manufacturing by direct method. The results of RBB strength evaluation without reinforcement and with reinforcement of various elements in different variants were presented.

Sparing treatment of the abutment teeth, in particular, minimal preparation degree is one of the RBB advantages. But no unified view on the optimal design of the retention elements for RBB fixation on the abutment teeth has been suggested. One of the approaches presented the inlay MOD for premolars and inlay MO for molars as the strongest retainers. Other variants for providing the increase in construction strength included additional retention cuts in the area of final fiber segments. The results obtained have determined that the resin bonded bridges with reinforced fiber elements can possess certain durability. Perhaps, the duration of their application without complications will change the attitude to RBB as the temporary structures.

The systematization of data obtained and formation of investigation approach for the most effective RBB construction should be carried out to improve the quality of orthopedic treatment in case of dentition defects.

The solution of mentioned problems will provide the further development of differentiated approaches and will suggest the optimal constructions for resin bonded bridges considering specific clinical case as well as application of certain reinforcing elements and restoration materials.

**Key words:** dentition defects, resin bonded bridges, constructions, technologies.

*Рецензент – проф. Король М. Д.  
Стаття надійшла 17.05.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-2-144-73-78

УДК 611.018.52.

Холодкова О. Л.

### ТРОМБОЦИТИ: БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА КЛІНІЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ

Одеський національний медичний університет (м. Одеса)

sonshine22@ukr.net

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота виконана в рамках НДР кафедри анатомії людини Одеського національного медичного університету «Розробити та обґрунтувати способи корекції фіброзних змін печінки при хронічному гепатиті та цирозі печінки» (№ державної реєстрації 0116U008927).

Використання фізіологічних здібностей тромбоцитів широко розпочалося з 70-х років ХХ сторіччя в рамках лікування гематологічної патології [1]. Ключовою особливістю тромбоцитів є відсутність ядра, тобто основного носія спадкового матеріалу, що робить їх імунологічно безпечними для застосування в алогенному варіанті [2]. Але, тромбоцити містять велику кількість біологічно активних сполук, які залучені в широке коло процесів забезпечення гемостазу, активації неоангіогенезу, стимулювання регенераторних властивостей тканин, підтримки гомеостазу та ін. [3-5]. Так, в цитоплазмі тромбоцитів знаходяться три основні локуси зберігання – альфа та щільні (дельта) гранули та лізосоми [6,7]. З'ясовано, що альфа-гранули становлять більшість включень тромбоцитів, і містять цілу низку факторів росту (ФР, GF – growth factor): ФР з тромбоцитів (ФРТ, PDGF – platelet-derived GF), інсуліноподібний ФР (ІФР, IGF – insulin-like GF), судинний ендотеліаль-

ний ФР (СЕФР, VEGF – vascular endothelial GF), трансформуючий ФР β (ТФР-β, TGF – transforming GF), епідермальний ФР (ЕФР, EGF – epidermal GF) та ФР фібробластів основний (ФРФ, FGF – fibroblast GF) [8-10]. В дельта гранулах тромбоцитів знаходяться катехоламіни, гістамін, серотонін, АТФ, АДФ, іони кальцію та дофамін [6,11]. Ці речовини мають суттєвий вплив на проникність судин, активацію макрофагів, забезпечення регенерації та модулювання тканин [12,13]. Після агрегації тромбоцити починають реалізовувати вміст гранул, і цей процес найбільш активно триває протягом першої години, а синтез цитокінів продовжується ще, як мінімум, 7 діб [14]. Внаслідок виходу біомолекул утворюється сітка для формування фібринного згортка, який слугуватиме скаффолдом для факторів росту [15].

На поверхні тромбоцитів розташована велика кількість рецепторів, що відносяться до сімейств тромбоцитарної адгезії та агрегації, імуноглобулінів, інтегринів, тирозин-фосфатази, а також рецептори хемокінів, вазопресину, аденозину, серотоніну, дофаміну, інсуліну, лептину та ін. [16,17].

Певною мірою, біологічні властивості тромбоцитів визначаються вмістом в них 190 асоційованих з мембраною білків та понад 260 фосфорильованих протеїнів [14,18-20]. Джерелом тромбоцитів в ор-

ганізмі являються мегакаріоцити кісткового мозку [16,21]. Період життя тромбоцитів в крові становить 7-9 днів, в разі активації або адгезії при пошкодженні ендотелію тромбоцити змінюють форму і реалізують вміст гранул [22,23].

Збагачену тромбоцитами плазму (ЗТП) почали виготовлювати для клінічних цілей у 1970-і роки [1,24]. Вона представляє собою концентрат тромбоцитів у невеликому об'ємі плазми, при чому загальноприйнятним є підвищення концентрації тромбоцитів в 5 разів [25], але клінічну значущість має ЗТП з вмістом тромбоцитів не нижче 1 млн/мл [1]. Власне, в ЗТП містяться не лише тромбоцити, але й невелика кількість еритроцитів та лейкоцитів, в тому числі й прогениторні клітини різного ступеня зрілості [25]. Серед продуктів крові на основі суміші тромбоцитів використовуються: ЗТП (з низьким – мінімум у 5 разів менше, ніж у крові, або високим вмістом лейкоцитів), Бідна на тромбоцити плазма (БТП, PPP – platelets pure plasma), тромбоцитарний гель; збагачений тромбоцитами фібрин (ЗТФ) з низьким або високим вмістом лейкоцитів [26]. Кожний з таких продуктів має власні показання для клінічного використання.

Принцип виготовлення ЗТП простий й не потребує коштовного устаткування: подвійне центрифугування в різних режимах, спочатку – для відокремлення еритроцитів, потім – для виділення ЗТП. У якості активатора тромбоцитів може слугувати тромбін або хлорид кальцію [26-28]. На цей час існують автоматизовані системи для приготування ЗТП та інших препаратів на її основі, які дозволяють уникнути «людського фактору» (можливість контамінації, недотримання технології) та отримати стерильну суміш з достатньою кількістю тромбоцитів, у готовому для використання вигляді [29]. Тромбоцити в ЗТП утворюють згортку, що містить молекули адгезії – фібронектин, фібрин, вітронектин [30]. Ці молекули відіграють важливу роль в клітинній міграції, а згортку слугує матриксом, до якого приєднуються клітини, що розпочинають процес загоєння [15,30,31].

Деякі патологічні стани організму впливають на кількісні та якісні характеристики тромбоцитів і обмежують можливості використання їх в автологічному варіанті. До найбільш поширених ознак, що вказують на дисфункцію тромбоцитів, відносяться: надмірна гематома м'яких тканин, тривалі кровотечі слизових оболонок, менорагія, тяжка кровотеча при пологах [32]. За умов виникнення подібних станів зазвичай аналізують агрегацію, аглютинацію тромбоцитів, вміст фактору активації тромбоцитів та інші функціональні тести [33]. Наші дослідження виявили ультрамікроскопічні особливості тромбоцитів у щурів з індукованим токсичним гепатитом. Так, спостерігалося зміна співвідношення активованих та неактивованих тромбоцитів у бік збільшення останніх, значні коливання показника агрегації тромбоцитів в межах експериментальної групи, суттєве зниження щільності альфа і дельта гранул [34].

У хворих на діабет як I, так і II типу виявляється гіперагрегація тромбоцитів внаслідок підвищеної продукції 11-дегідро-тромбоксана B2 [35]. Також при діабеті спостерігається глікування мембранних білків, підвищення співвідношення холестерин-

фосфоліпиди спричинює зниження текучості мембран тромбоцитів, що призводить до гіперчутливості мембран до тромбіну [35].

Застосування збагаченої тромбоцитами плазми в регенеративній медицині розпочалося в кінці 1990-х років, коли було продемонстровано її ефективність для приживлення кісткових трансплантатів черепа [2]. Викид з тромбоцитів цитокінів, хемокінів та факторів росту стимулює активацію та проліферацію клітин заживлення: фібробластів, нейтрофілів, моноцитів, гладеньких м'язитів і мезенхімальних стовбурових клітин [12]. Після ініціації запалення репаративна відповідь потребує ангиогенезу, тобто модулювання активації, проліферації та міграції ендотеліоцитів для розбудови судин [28,36].

В процесі приготування ЗТП із висхідного зразка плазми, ЗТП1 (після першого центрифугування), ЗТП2 (після другого центрифугування), активованої кальцієм ЗТП2, активованої тромбіном ЗТП2, БТП і вимивання згортку виділяють майже 40 ФР і цитокінів, з них тільки 12 отримали з активованих тромбоцитів у статистично значущій відмінності [29]. Порівняння різних способів активації тромбоцитів в ЗТП показало кращу секрецію  $\alpha$ -гранул після активування тільки хлоридом кальцію [29].

Викликає інтерес той факт, що в ЗТП концентрація факторів росту майже в 8 разів перебільшує їх вміст в цільній крові [37]. Хоча вміст ФР в БТП не підвищувався порівняно з ЗТП та плазмою, концентрація протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІФН- $\alpha$  і прозапальних ІЛ-17 та ФНП $\alpha$  зростала в БТП після другого центрифугування [29].

З'ясували, що ЗТП може підсилювати формування судин і стимулювати ендотеліальні попередники створювати судиноподібні структури [38]. Досліджено здатність ЗТП формувати фібринний матрикс для ангиогенезу [39]. У серії досліджень, виконаної нами на щурах [40,41], було продемонстровано значне поліпшення морфо-функціонального стану печінки у тварин з CCl<sub>4</sub>-індукованим хронічним гепатитом – фіброзом після введення ЗТП. Було відзначено, що введення ЗТП призводить до нормалізації біохімічних характеристик крові: майже всі показники загального аналізу крові, концентрація загального білку сягають величин інтактної групи, зберігається помірний лейкоцитоз та незначне підвищення вмісту загального білірубину; також виявляється регрес обсягу сполучної тканини і прискорення процесу регенерації тканини печінки з відтворенням її мікроструктури [42]. Також нами продемонстровано, що при застосуванні ЗТП за умов експериментального цирозу печінки у щурів спостерігаються ознаки активної регенерації органу: нормалізація розмірів печінки, відтворення часточкової організації, скупчення двоядерних гепатоцитів, новоутворені судини, зростання вмісту ШИК-позитивних речовин [43]. Дослідники виявили необхідність безпосереднього контакту тромбоцитів з гепатоцитами для реалізації проліферативного ефекту [44], оскільки він ініціює передачу сигналу для активації ФР.

З метою корекції дегенеративно-дистрофічних змін міжхребцевих дисків хребта нами була проведена експериментальна терапія ЗТП, внаслідок якої зменшується кількість вогнищ фібронекрозу, сту-

піль розшарування колагенових волокон, зростання висоти фіброзного кільця та епіфізів тіл хребців [45].

Група дослідників виявила, що нанесення ЗТП-гелю на відкриті абдомінальні травми шурів за умов експериментального перитоніту призводило до підвищення перфузії крові, появи більш зрілої грануляційної тканини, ніж при нанесенні БТП-гелю [46]. Використання аутологічного супернатанту активованих тромбоцитів виявило його ефективність при утворенні судин стовбуровими клітинами периферичної крові людини [47]. При цьому спостерігали, що стовбурові клітини з фракцією тромбоцитів стимулювали васкулогенез у мишей без тимуса [47]. В експериментах на кролях було показано стимуляцію регенерації Ахілова сухожилка при лікуванні за допомогою ЗТП: підсилювався ангиогенез та перегруповування колагенових волокон [48]. В ЗТП виявили ангиопоетин-1 [49]. В експериментальних дослідженнях було показано, що ангиопоетин-1 з тромбоцитів мишей здатний підвищувати проліферацію, міграцію та диференціацію ендотеліоцитів людини [49], а крім того, з'ясували, що пригнічення сигналів ангиопоетина-1 блокує ангиогенний потенціал збагаченого тромбоцитами фібринного матриксу. Також фібринний матрикс, який утворюється шляхом полімеризації плазматичного фібриногену при активації, має стимулюючий ефект на загоєння ран [49]. Матрикс створює «пастки» для тромбоцитів, щоби вони повільніше реалізовували природну комбінацію факторів росту, доки буде розбудована сітка для стовбурових клітин та фібробластів, що мігрують, разом з адгезивними глікопротеїнами [49].

Епідермальний фактор росту підсилює регенерацію епідермісу та покращує заживлення хронічних уражень [50].

Висока афінність поверхневих рецепторів до ФРТ є у клітин сполучної тканини, тому при його вивільненні реагують моноцити, нейтрофіли, фібробласти, які, в свою чергу, вивільняють власний ФРТ [51]. До функцій ФРТ також відносять вплив на клітинний ріст, міграцію, модуляцію мембранних рецепторів клітин [52]. Комплекс з чотирьох ізоформ ФРТ та двох рецепторних ланцюгів складає систему ФРТ, що має суттєвий вплив на процеси загоєння, атеросклерозу, фіброзу та онтогенезу шляхом клітинної проліферації, міграції, накопичення позаклітинного матриксу, синтезу про- та протизапальних цитокінів, зміни тканинної проникності та регуляції гемодинаміки [53]. Відомо, що ФРТ проявляє свою активність за кислих умов, на ранній стадії загоєння ран [28], при цьому відбувається підсилення проліферації фібробластів. Потужний синтез колагену стимулює ТФР- $\beta$ , який працює за нейтральних або лужних умов, що відповідає пізнішій стадії загоєння [23,54]. Через модулювання інтерлейкіну-1 ЗТП може пригнічувати надмірне раннє запалення, наслідком якого є формування щільного рубця [55].

З'ясовано, що вивільнення ФРТ- $\beta$ , ТФР- $\beta$ , основного ФРФ та СЕФР регулюється об'ємом кальцію і тромбіну, які додають до ЗТП, при цьому супернатант ЗТП має більший мітогенний вплив на ендотеліоцити, ніж супернатант цільної крові [56]. Також виявлено, що концентрація ФРТ, СЕФР, ТФР- $\beta$  та ЕФР в ЗТП є значно вищою, ніж в цільній крові на відміну від ІФР [10,57].

ТФР- $\beta$  спричинює хемотаксичне впізнання та активацію моноцитів, макрофагів та фібробластів [58]. Джерелом ТФР- $\beta$  являються тромбоцити та макрофаги. Активовані фібробласти збільшують створення позаклітинного матриксу, колагену і підсилюють здатність клітин скорочувати тимчасовий матрикс рани [58].

ТФР та ФРТ у високій концентрації містяться також в згортку [16,51], тому вважають, що вони будуть повільно реалізовуватись в організмі, подовжуючи ефект ЗТП.

ІФР-1 індукуює проліферацію та диференціацію багатьох клітинних ліній [59]. В дослідженнях *in vitro* регулює ріст кісток, модулює апоптоз клітин, в комбінації з ТФР стимулює регенерацію кісток [60].

Сімейство СЕФР у ссавців включає: СЕФР-А, СЕФР-В та СЕФР-С/СЕФР-Д пару з єдиним рецептором [61]. СЕФР-А являється проангиогенним цитокіном в період ембріогенезу і відповідає за стан міжклітинних зв'язків ендотеліоцитів [62,63]. СЕФР-В міститься, переважно, в бурому жирі, міокарді та скелетних м'язах [64]. СЕФР-С/СЕФР-Д регулюють лімфангиогенез [65]. Рецептори нейрофілін-1 та нейрофілін-2 специфічно зв'язують членів родини СЕФР, і важливі для нейрогенезу та ембріонального ангиогенезу [66]. СЕФР-А вміщують мегакаріоцити та тромбоцити, і реалізують його після активації тромбіном *in vitro* [67,68]. СЕФР-А підсилює судинну проникність, збільшує експресію урокінази, активатора тканинного плазміногена, конексіну, остеопонтину та молекул судинно-клітинної адгезії [36].

Ангиогенний потенціал тромбоцитів забезпечується також наявністю в них ФРГ, ІЛ-8, ІЛ-3,  $\alpha\beta\gamma 3$ -інтегрину 212, матриксних металопротеїназ [69,70].

Слід зазначити на відсутність кореляції між вмістом в ЗТП ФР та кількістю тромбоцитів [71]. Припускають, що ці показники певною мірою залежать від віку пацієнтів, стану здоров'я, висхідного вмісту тромбоцитів в крові, а також від методу отримання ЗТП, умов обробки та зберігання зразків [22].

До цього часу клінічне застосування продуктів тромбоцитів припускалося в таких варіантах: ін'єкційне позасудинне введення ЗТП/БТП, поверхнє нанесення тромбоцитарного гелю, фібринного матриксу, додавання ЗТП до клітинної суміші при клітинній терапії або при введенні трансплантатів, використання ЗТП або її супернатанту для живильного середовища при культивуванні клітин для клітинної терапії [24,72-74]. Застосування тромбоцитарного гелю з високим вмістом фібрину покращує результати хірургічних втручань, прискорює гемостаз, знижує крововилив і кількість ускладнень [75].

Продемонстровано, що додавання до середовища, в якому культивуються мезенхімальні стовбурові клітини з кісткового мозку або з періодонтальної зв'язки, фракцій з тромбоцитів замість тваринної сироватки, призводить до стимуляції проліферації, скорочення терміну досягнення злиття, підвищення розмірів одиниць, що формують колонії, та підсилення підтримки їх остеогенної, хондрогенної або адипогенної диференціації [76-78]. Також показано, що заміна ксеногенної бичачої сироватки тромбоцитарним концентратом в культуральному середовищі позитивно впливає на морфо-функціональний стан клітин матриксу пуповини [79].

Таким чином наведені дані свідчать, що на цей час експериментальні дослідження доводять високий клінічний потенціал тромбоцитів, який в клініці задіяний далеко не повною мірою. Унікальність цих клітин обумовлена, в першу чергу, можливістю застосування їх як в аутологічному, так і в гетеро-

генному вигляді, можливістю використання продуктів з тромбоцитів та клітинних сумішей у різних біотехнологічних варіантах, а також доступністю та відносною легкістю приготування для клінічного використання.

### Література

1. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is and what is not PRP? *Implant Dentistry*. 2001;10:225-8.
2. Marx R, Carlson E, Eichstaedt R, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1998;85(6):6438-46.
3. Weyrich AS, Schwartz H, Kraiss LW, Zimmerman GA. Protein synthesis by platelets: historical and new perspectives. *Journal of thrombosis and haemostasis*. 2009;7(2):241-6.
4. Bendinelli P, Mateucci E, Dogliotti G, Corsi MM, Banfi G, Maroni P, et al. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasmas on human chondrocytes: mechanisms of NF- $\kappa$ B inhibition via HGF. *J. Cell Physiol*. 2010;225:757-66.
5. Mazzocca AD, McCarthy BR, Intravia J, Beitzel K, Apostolakis J, Cote MP, et al. In vitro evaluation of the anti-inflammatory effects of platelet-rich plasma, ketorolac, and methylprednisolone. *Arthroscopy*. 2013;29:675-83.
6. Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and function. *Platelets*. 2001;12(5):261-73.
7. Flaumenhaft R. Molecular basis of platelet granule secretion. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2003;23(7):1152-60.
8. Diacovo TG, Roth SJ, Buccola JM, Bainton DF, Springer TA. Neutrophil rolling, arrest and transmigration across activated, surface-adherent platelets via sequential action of P-selectin and the  $\beta$ 2-integrin CD11b/CD18. *Blood*. 1996;88(1):146-57.
9. Folkman J. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nature reviews drug discovery*. 2007;6(4):273-86.
10. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and haemostasis*. 2004;91(1):4-15.
11. Thon JN, Italiano E. Platelets: production, morphology and ultrastructure. *Handbook of experimental pharmacology*. 2012;210:3-22.
12. Thushara RM, Hemshekhar M, Kemparaju Basappa K, Rangappa KS, Girish KS. Biologicals, platelet apoptosis and human diseases: an outlook. *Crit. Rev. Oncol. Hematol*. 2015;93:149-58.
13. Nachman RL, Rafii S. Platelets, petechiae, and preservation of the vascular wall. *The New England Journal of medicine*. 2008;359(12):1261-70.
14. Senzel L, Gnatenko DV, Bahou WF. The platelet proteome. *Curr. Opin. Hematol*. 2009;5:329-33.
15. Mautner K, Malanga G, Smith J, Shiple B, Ibrahim V, Sampson S, et al. Call for a standard classification system for future biologic research: the rationale for new PRP nomenclature. *PMR*. 2015;7:53-9.
16. Ghoshal K, Bhattacharyya M. Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. *The Scientific World Journal*. 2014;ID 781857.
17. Kauskot A, Hoylaerts MF. Platelet receptors. *Handbook of experimental pharmacology*. 2012;210:23-57.
18. Qureshi AH, Chaoui V, Maiguel D, Faridi MH, Barth CJ, Salem SM, et al. Proteomic and phosphor-proteomic profile of human platelets in basal, resting state: insights into integrin signaling. *PLoS One*. 2009;4(10):ID e7627.
19. Parguina AF, Rosa I, Garcia A. Proteomics applied to the study of platelet-related diseases: aiding the discovery of novel platelet biomarkers and drug targets. *Journal of proteomics*. 2012;76:275-86.
20. Macaulay IC, Carr P, Gusnanto A, Ouweland WH, Fitzgerald D, Watkins NA. Platelet genomics and proteomics in human health and disease. *J. Clin. Invest*. 2005;115:3370-7.
21. Speth C, Rambacha G, Würzner R, Lass-Flörl C, Kozarcanin H, Hamad OA. Complement and platelets: mutual interference in the immune network. *Mol. Immunol*. 2015;67:108-18.
22. Jurk K, Kehrel BE. Platelets: physiology and biochemistry. *Semin. Thromb. Hemost*. 2005;31:381-92.
23. Cole B. Platelet-rich plasma: where are we now and where are we going? *Sports Health*. 2010;2(3):203-10.
24. Mei-Dan O, Laver L, Nyska M, Mann G. Platelet-rich plasma – a new biotechnology for treatment of sports injuries. *Harefuah*. 2011;150(5):453-7.
25. Brass L. Understanding and evaluating platelet function. *Hematology. The Education Program of the American Society of Hematology Education Program*. 2010. p. 387-96.
26. Martinez CE, Smith PC, Palma Alvarado VA. The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair. *Front. Physiol*. 2015;6:290.
27. Furman MI, Liu L, Benoit SE, Becker RC, Barnard MR, Michelson AD. The cleaved peptide of the thrombin receptor is a strong platelet agonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(6):3082-7.
28. Liu Y, Kalen A, Risto O, Wahlstrom O. Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent. *Wound repair and regeneration*. 2002;10(5):336-40.
29. Amable PR, Carias RB, Texeira MV, Pacheco IC, Amaral RJ, Granjeiro JM, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem cell res. Ther*. 2013;4,67.10.1186/scrt218.
30. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological reviews*. 2003;83(3):835-70.
31. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am. J. Sports Med*. 2009;37(11):2259-72.
32. Sharathkumar AA, Shapiro A. Platelet function disorders. *Treatment for hemophilia*. 2008;19:134-40.
33. Harrison P, Mackie I, Mumford A. Guidelines for laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *British J. of hematology*. 2014;155(1):30-44.
34. Kholodkova OL. Teoretychno obgruntuvannya klichnogo zastosuvannya zbagachenoi trombozitamii plazmi. Suchasni naukovi doslidzhennya predstavnykiv medychnoi nauky – progress medicyny maibutnyogo: Zbirnyk naukovykh robot uchasnykiv mizhnarodnoi nauko-vo-praktychnoi konferencii. Kyiv; 2018. s. 16-7. [in Ukrainian].
35. Rosove MH, Frank JL, Harwig SS. Plasma  $\beta$ -thromboglobulin, platelet factor 4, fibrinopeptide A, and other hemostatic functions during improved, short-term glyceemic control in diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1984;7(2):174-9.
36. Lucerna M, Zerneck A, de Nooijer R, de Jager SC, Bot I, van der Lans C, et al. Vascular endothelial growth factor-A induces plaque expansion in ApoE knock-out mice by promoting de novo leukocyte recruitment. *Blood*. 2007;109(1):122-9.
37. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*. 2004;114(6):1502-8.
38. Li X, Hou J, Wu B, Chen T, Luo A. Effects of platelet-rich plasma and cell co-culture on angiogenesis in human dental pulp stem cells and endothelial progenitor cells. *J. Endod*. 2014;40:1810-4.
39. Anitua E, Pelacho B, Prado R, Aguerre JJ, Sanches M, Padilla S. Infiltration of plasma rich in growth factors enhances in vivo angiogenesis and improves reperfusion and tissue remodeling after severe hind limb ischemia. *J. Control Release*. 2015;28:31-9.

40. Holodkova OL, Gorchag DM. Mozhlyvosti vykorystannya zbagachenoj trombocitami plasmy pry eksperymentalnyj terapij toksychnogo urazhennya pechinky. *Ukrainskij morfoloichnyi almanah*. 2013;11(3):63-5. [in Ukrainian].
41. Kholodkova OL, Romak OI. Experimental grounds of using platelet-rich plasma to stimulate the liver regeneration in case of chronic hepatitis. *Deutscher Wissenschaftsherold*. 2016;2:56-9.
42. Gorchag DM, Kholodkova OL, Perepeliuk MM. Pathogenesis of the hepatic fibrosis and possibilities of its correction. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016;6(10):586-600.
43. Zaporozhan VM, Holodkova OL, Yuzvak OM, Neskromna NV, Romak OI. Sposib vidtvorennja tkanyny pechinky v eksperimenti pry cyrozi. Patent Ukrainy na vynahid № 111669 C2 MPK G09B 23/28 (2006.01). Opubl. 25.05.2016, Byul. 10:1-4. [in Ukrainian].
44. Matsuo R, Ohkohchi N, Murata S, Ikeda O, Nakano Y, Watanabe M, et al. Platelets strongly induce hepatocyte proliferation with IGF-1 and HGF in vitro. *J. Surg. Res.* 2008;145:279-86.
45. Holodkova OL, Tsyurupa OV, Sadovskaya YuA, Goryuk IA. Morfoloicheskiye proyavleniya degenerativno-distroficheskij porazhenij pozvonochnika v eksperimente i posle korrekcii. *Molodyj vcheny*. 2016;7(34):291-5. [in Russian].
46. Zhou B, Ren J, Ding C, Wu Y, Hu D, Gu G. Rapidly in situ forming platelet-rich plasma gel enhances angiogenic responses and augments early wound healing after open abdomen. *Gastroenterol. Res. Pract.* 2013;926764. 10.1155/2013/926764.
47. Kang J, Hur J, Kang JA, Yun JY, Choi JI, Ko SB. Activated platelet supernatant can augment the angiogenic potential of human peripheral blood stem cells mobilized from bone marrow by G-CSF. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2014;75:64-75.
48. Lyras DN, Kazakos K, Verettas D, Polychronidis A, Tryfonidis M, Botaitis S, et al. The influence of platelet-rich plasma on angiogenesis during the early phase of tendon healing. *Foot Ankle Int.* 2009;30:1101-6.
49. Mammoto T, Jiang A, Jiang E, Mammoto A. Platelet-rich plasma extract promotes angiogenesis through the angiopoietin1-Tie2 pathway. *Microvasc. Res.* 2013;89:15-24.
50. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *Journal of Biological Chemistry*. 1962;237:155-62.
51. Hosgood G. Wound healing: the role of platelet-derived growth factor and transforming growth factor beta. *Veterinary surgery*. 1993;22(6):490-5.
52. Antoniades HN. Human platelet-derived growth factor: structure and function. *Federation Proceed.* 1983;42(9):2630-4.
53. Floege J. A new look at platelet-derived growth factor in renal disease. *J. of American Society of Nephrology*. 2008;19(1):12-23.
54. Bir SC, Esaki J, Marui A. Angiogenic properties of sustained release platelet-rich plasma: characterization in-vitro and in the ischemic hind limb of the mouse. *J. of vascular surgery*. 2009;50(4):870-9.
55. Mishra A, Pavelko T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *Am. J. of Sports Medicine*. 2006;34(11):1774-8.
56. Frechette JP, Martineau I, Cagnon G. Platelet-rich plasmas: growth factor content and roles in wound healing. *J. of Dental research*. 2005;84(5):434-9.
57. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlation with donor age, sex and platelet count. *J. of Craniomaxillofacial Surgery*. 2002;30(2):97-102.
58. Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Griffin GL, Senior RM, et al. Transforming growth factor  $\beta$  reverses the glucocorticoid-induced wound healing deficit in rats. Possible regulation in macrophages by platelet-derived growth factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989;86(7):2229-33.
59. Rechler MM, Nissley SP. Insulin-like growth factors. In: *Handbook of experimental Pharm: Peptide growth factors and their receptors*. 1990. Eds.: Sporn MB, Roberts AB. p. 263-6.
60. Spencer EM, Tokunaga A, Hunt TK. Insulin-like growth factor binding protein-3 is present in the  $\alpha$ -granules of platelets. *Endocrinology*. 1993;132(3):996-1001.
61. Tammella T, Enholm B, Alitalo K, Paavonen K. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovascular Research*. 2005;65(3):550-63.
62. Lee S, Chen TT, Barber CL, Gordan MC. Autocrine VEGF signaling is required for vascular homeostasis. *Cell*. 2007;130(4):691-703.
63. Carmeliet P, Jain R. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*. 2011;473:298-307.
64. Olofsson B, Jeltsch M, Eriksson U, Alitalo K. Current biology of VEGF-B and VEGF-C. *Current opinion in biotechnology*. 1999;10(6):528-35.
65. Partanen TA, Arola J, Saaristo A, Jussila L, Ora A, Miettinen M, et al. VEGF-C and VEGF-D expression in neuroendocrine cells and their receptor, VEGFR-3, in fenestrated blood vessels in human tissues. *FASEB journal*. 2000;14(13):2087-96.
66. Klagsbrun M, Takashima S, Mamluk R. The role of neuropilin in vascular and tumor biology. *Advances in experimental medicine and biology*. 2002;515:33-48.
67. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *The New England journal of medicine*. 2004;350(7):672-83.
68. Mohle R, Green D, Moore MA, Nachman RL, Rafii SC. Constitutive production and thrombin-induced release of vascular endothelial growth factor by human megacaryocytes and platelets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997;94(2):663-8.
69. Cenni E, Peruti F, Baldini N. In vitro models for the evaluation of angiogenic potential in bone engineering. *Acta Pharmacol. Clin.* 2011;32:21-30.
70. Klement GL, Shai E, Varon D. The role of platelets in angiogenesis. In: *Platelets*. Eds.: Michelson AD, Elsevier, San-Diego, California. 2013. p. 487-502.
71. McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. *Journal of orthopedic research*. 2009;27(8):1033-42.
72. Ahmerov RR. Regenerativnaya medicina na osnove autologichnoi plasmy. *Tehnologiya Plasmalifting™*. Littera; 2014. 149 s. [in Russian].
73. Gainutdinova EG, Gabidullina RI, GaleevAA, Shaihetdinova AT, Mihailova ON, Marapov DI, i dr. Vliyaniye bogatoi trombocitami plasmy na process vasculyarisacii shva na matke posle operacii kesareva secheniya. *Practicheskaya medicina*. 2017;7(17):46-50. [in Russian].
74. Tolstov DA, Bogdan VG. Trombocitarnyye koncentraty: klassifikaciya, tehnologii polucheniya, biologicheskiye efekty. Minsk: BGMU; 2012. 196 s. [in Russian].
75. Popov PA, Popov YuP, Magomedova LA. Lecheniye oslozhnenij posle operacij na organah bryushnoj polosti s ispolzovaniyem obogashchennoj trombocitami plasmy. *Hirurg*. 2014;6:4-11. [in Russian].
76. Tonti GA, Manello F. From bone marrow to therapeutic applications: different behavior and genetic/epigenetic stability during mesenchymal stem cell expansion in autologous and foetal bovine sera? *Int. J. Rev.* 2008;52:1023-32.
77. Pavlenko OV, Bida RYu. Plasma zbagachena trombocitamy: vid fundamentalnoi nauky do klinichnoi praktyky. *Visnyk problem biologii i medicyny*. 2016;2,1(128):241-4. [in Ukrainian].
78. Ben Azuna N, Jenhani F, Regava Z, Berraais L, Ben Othman T, Ducrocq E. Phenotypical and functional characteristics of mesenchymal stem cells from bone marrow: comparison of culture using different media supplemented with human platelet lysate or fetal bovine serum. *Stem Cell Res. Ther.* 2012;14,6.10.1186/srct97.
79. Maslova O, Ostrovska G. Modyfikovani umovy kultyvuvannya yak sposib vplyvu na morfofunkcionalni vlastyvyosti mesenhimalnyh klityn pupoviny lyudyny. *Visnyk Kyivskogo nac. univ. im. T. Shevchenka. Seriya: Biologiya*. 2014;1(66):33-7. [in Ukrainian].

### ТРОМБОЦИТИ: БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА КЛІНІЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ

Холодкова О. Л.

**Резюме.** В статті представлений огляд робіт, де розглянуто морфологію, вміст та біологічні властивості тромбоцитів. Автором систематизовано дані щодо застосування тромбоцитів в різних біотехнологічних варіантах в експериментальних та клінічних дослідженнях, а також викладені результати власного досвіду роботи зі збагаченою тромбоцитами плазмою при моделюванні патологічних процесів у тварин.

**Ключові слова:** тромбоцити, корекція патологічних процесів, збагачена тромбоцитами плазма.

### ТРОМБОЦИТЫ: БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И КЛИНИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

Холодкова Е. Л.

**Резюме.** В статье представлен обзор работ, где рассмотрена морфология, содержимое и биологические свойства тромбоцитов. Автором систематизированы данные о применении тромбоцитов в разных биотехнологических вариантах в экспериментальных и клинических исследованиях, а также изложены результаты собственного опыта работы с обогащенной тромбоцитами плазмой при моделировании патологических процессов у животных.

**Ключевые слова:** тромбоциты, коррекция патологических процессов, обогащенная тромбоцитами плазма.

### PLATELETS: BIOLOGICAL PROPERTIES AND CLINICAL POTENTIAL

Kholodkova O. L.

**Abstract.** The key feature of platelets is the absence of the nucleus what makes them immunologically safe for use in the allogenic variant. However, platelets contain a large number of biologically active compounds that are involved in a wide range of hemostasis processes, activation of neoangiogenesis, stimulation of regenerative properties of tissues, support of homeostasis, and others. After aggregation, the platelets begin to realize the contents of the granules, and this process most actively lasts for the first hour, and the synthesis of cytokines continues for at least 7 days.

Platelet-rich plasma (PRP) began to be manufactured for clinical purposes in the 1970s. It is a platelet concentrate in a small amount of plasma, with 5 times increase of the platelet concentration, but the clinical significance has a PRP with a platelet content of not less than  $1 \times 10^6$  / ml. Actually, not only platelets, but also a small number of red blood cells and leukocytes, including progenitor cells of varying degrees of maturity, are present in the PRP.

Some pathological conditions of an organism influence quantitative and qualitative characteristics of platelets and limit the possibility of their use in the autologous version. Our studies have revealed the ultra-microscopic features of platelets in rats with induced toxic hepatitis. Thus, there was a change in the ratio of activated and unactivated platelets to the increase of the latter, significant fluctuations of the plate aggregation index within the experimental group, a significant decrease in the density of alpha and delta granules.

The release of cytokines, chemokines and growth factors from platelets stimulates the activation and proliferation of regenerative cells: fibroblasts, neutrophils, monocytes, smooth myocytes and mesenchymal stem cells. Of interest is the fact that the concentration of growth factors in PRP almost 8 times exceeds their content in the whole blood.

In a series of studies we performed on rats demonstrated a significant improvement of morpho-functional state of the liver in animals with CCl<sub>4</sub>-induced chronic hepatitis after PRP administration. It was noted that the introduction of PRP leads to normalization of blood biochemical characteristics, revealed the amount of connective tissue and speed up the process of regeneration of liver tissue. We also demonstrated the application of PRP under the experimental liver cirrhosis in rats induces active regeneration, normalization of liver size, rebuilt lobular organization, the newly formed blood vessels, increase content of PAS-positive substances. The researchers found the need for direct contact of the platelets and hepatocytes to implement proliferative effect because it triggers signaling to activate the growth factors.

To correct degenerative changes in the intervertebral discs of the spine we carried out experimental therapy by PRP that reduce the number of lesions fibronecrosis, the degree of desorganisation of collagen fibers, increase the height of the fibrous ring and the vertebral epiphysis.

Thus, these data indicate that currently experimental studies show high clinical potential of platelets, which is not substantially involved in the clinic. The uniqueness of these cells is due, above all, the ability to use them both autologous and in heterogeneous form, the use of products with platelets and cell mixtures in various biotechnological options also availability and relatively simple preparation for clinical use.

**Key words:** platelets, pathological processes correction, platelet-rich plasma.

*Рецензент – проф. Міщенко І. В.*

*Стаття надійшла 14.05.2018 року*